



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PARABENOS EM EFLUENTE HOSPITALAR:
QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE
METABÓLITOS E SUBPRODUTOS DE OXIDAÇÃO
AVANÇADA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Francieli Martins Mayer

Santa Maria, RS, Brasil

2013

PARABENOS EM EFLUENTE HOSPITALAR: QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS E SUBPRODUTOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADA

Francieli Martins Mayer

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Química.**

Orientador: Prof. Emérito Tit.Dr. Ayrton Figueiredo Martins

Santa Maria, RS, Brasil

2013

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada aprova a Dissertação de
Mestrado**

**PARABENOS EM EFLUENTE HOSPITALAR: QUANTIFICAÇÃO E
IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS E SUBPRODUTOS DE
OXIDAÇÃO AVANÇADA**

elaborada por
Francieli Martins Mayer

como requisito parcial da obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Ayrton Figueiredo Martins, Prof. Emérito Dr.
(Orientador/Presidente)

Osmar Damian Prestes, Prof. Dr. (UFSM)

Daniel Ricardo Arsand, Prof. Dr. (IFSul)

Santa Maria, 22 de março de 2013.

Dedicatória

Dedico esta dissertação de mestrado aos meus pais
Geci e Telmo Mayer

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Emérito Ayrton Martins pela oportunidade e orientação ao longo deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, financiador desta dissertação.

Aos Professores Daniel Ricardo Arsand e Osmar Damian Prestes pela participação e sugestões na banca examinadora.

À Professora Martha Bohrer Adaime pela participação e sugestões no exame de qualificação.

Ao Prof. José Neri Paniz pela ajuda com as lâmpadas-UV.

Ao funcionário eletrotécnico Paulino pelas colaborações.

Aos funcionários do PPGQ.

Aos colegas e ex-colegas do LATER pelo convívio, incentivo e colaboração durante o período de iniciação científica e, principalmente, no desenvolvimento desta dissertação.

Aos eternos amigos dos tempos de graduação, por estarem presentes em todos os momentos, tornando meus dias mais alegres.

As minhas colegas e amigas Carla Brenner, Daiane Skupin e Sheila Montipó pelo apoio, incentivo, colaboração e conselhos durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais por todo amor, carinho, incentivo e compreensão

Aos demais familiares e amigos que sempre me incentivaram.

E a Deus por me dar coragem e força para buscar tudo aquilo que almejo.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

PARABENOS EM EFLUENTE HOSPITALAR: QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS E SUBPRODUTOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADA

AUTORA: FRANCIELI MARTINS MAYER
ORIENTADOR: AYRTON FIGUEIREDO MARTINS
Santa Maria, 22 de março de 2013.

Neste trabalho foi desenvolvida metodologia analítica para a quantificação de parabenos (PBs), em efluente hospitalar (Hospital Universitário de Santa Maria - HUSM), utilizando extração em fase sólida (SPE) seguida de cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD). As principais variáveis da SPE foram investigadas com planejamento multivariado e otimizadas para a extração/recuperação de metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP), butilparabeno (BuP) e benzilparabeno (BeP). As taxas de recuperação variaram entre 75% e 109% ($\pm 1,0\%$ e $13,0\%$) para solução aquosa e, entre 72% e 106% ($\pm 7,0\%$ e $15,5\%$), para efluente hospitalar. MeP e PrP apresentaram concentrações mais elevadas em relação aos demais PBs nos pontos de coleta 'HUSM Geral' (HG) e 'Corpo Receptor' (CR). A concentração de BuP ficou abaixo do limite de detecção (LD). A Cromatografia Líquida acoplada a espectrômetro de massas sequencial com ionização por eletrospray (LC-ESI-MS/MS) foi usada para a identificação do metabólito, ácido *p*-hidroxibenzóico, em efluente hospitalar. Fotólise e fotocatalise heterogênea foram aplicadas na degradação de PBs e as variáveis (temperatura, pH, catalisador) foram investigadas com planejamento multivariado. Um reator tanque agitado provido de jaqueta termostática foi empregado nos processos de oxidação avançada. Barras de adsorção com dióxido de titânio (TiO₂) suportado em polímeros de polidimetilsiloxano (PDMS) e poliuretano (PU) foram preparadas a fim de comparar sua eficiência com o catalisador em suspensão. Foram feitos estudos cinéticos das reações de oxidação e os produtos de degradação foram identificados por LC-ESI-MS/MS, num total de onze produtos de oxidação. A análise preliminar de risco revelou que todos os PBs apresentam baixo risco ambiental, MEC/PNEC < 1.

Palavras-chave: Efluente hospitalar; Parabenos; Cromatografia líquida; Metabólitos; PAOs; Produtos de degradação; Risco ambiental.

ABSTRACT

Master Dissertation
Post-Graduation Course in Chemistry
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

AUTHOR: FRANCIELI MARTINS MAYER
ADVISER: AYRTON FIGUEIREDO MARTINS
Santa Maria, March 22, 2013.

In this study, it was developed an analytical methodology for the quantification of parabens (PBs) in hospital effluent (University Hospital of Santa Maria - HUSM), by using solid phase extraction (SPE) followed by liquid chromatography coupled to diode array detector (HPLC-DAD). The main SPE variables were investigated by multivariate planning and optimized for the extraction/recovery of methylparaben (MeP), ethylparaben (EtP), propylparaben (PrP), butylparaben (BuP) and benzylparaben (BeP). The recovery rates varied from 75% upto 109% ($\pm 1,0\%$ upto $13,0\%$) for aqueous solution, and from 72% upto 106% ($\pm 7,0\%$ upto $15,5\%$) for hospital effluent. MeP e PrP showed the highest concentrations related to the other PBs on the sampling points 'HUSM General' (HG) e 'Receptor Water Course' (CR). The BuP concentration laid below the limit of detection (LD). Liquid Chromatography coupled to a sequential mass spectrometer provided with electrospray ionization (LC-ESI-MS/MS) was used for the identification of the metabolite, *p*-hydroxybenzoic acid, in hospital effluent. Photolysis and Heterogeneous photocatalysis were applied to the degradation of PBs and the variables were investigated with multivariate planning. A stirring tank reactor provide with a thermostatic jacket was used for the advance oxidation processes. Adsorption bars with titan dioxide (TiO₂) supported on polydimethylsiloxane (PDMS) and polyurethane (PU) polymers were used and the efficiency was compared to the catalyst in suspension. Kinetic studies of the oxidation reactions were conducted and a total of eleven degradation products were identified by LC-ESI-MS/MS. A preliminary risk evaluation revealed that all the PBs showed a low environmental risk, MEC/PNEC < 1.

Keywords: Hospital effluent; Parabens; Liquid Chromatography; Metabolites; AOPs; Subproducts; Risk Assessment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do sistema de tratamento de efluentes adotado pelo HUSM: (a) fossa séptica conjugada a (b) filtro anaeróbio. Fonte: WILDE, 2012; DA SILVA, 2012.	10
Figura 2 - Mecanismo simplificado para a fotoativação do catalisador TiO ₂ (e ⁻ : elétron fotogerado na banda de condução; h ⁺ : lacuna gerada na banda de valência; RX _{ads} : substrato; RX ⁺ _{ads} : substrato oxidado). Fonte: adaptado de HERRMANN, 2010.....	16
Figura 3 - Fluxograma experimental.	22
Figura 4 - Sistema de esgoto do HUSM e pontos de amostragem; (a) efluente geral (EG) e (b) corpo receptor (CR). Adaptado de: DA SILVA, 2012.	23
Figura 5 - Fluxograma experimental do procedimento da SPE para PBs.	25
Figura 6 - (a) Esquema da barra de TiO ₂ imobilizado em polímeros produzida em laboratório para a aplicação de PAOs; (b) foto das barras de PDMS/TiO ₂ . Fonte: DA SILVA, 2012.	28
Figura 7 - (1) Reator tanque agitado <i>home made</i> utilizado na aplicação dos PAOs. (2) Barras poliméricas, com TiO ₂ suportado, em volta do tubo de quartzo. (3) Esquema representativo do sistema fotocatalítico: (a) reator – vista interna; (b) barras poliméricas com TiO ₂ suportado; (c) lâmpada UV com tubo protetor de quartzo; (d) termômetro digital; (e) bomba dosadora; (f) reservatório com água e gelo; (g) entrada e (h) saída de água; (i) agitador magnético; (j) orifício para coleta de amostras; (k) rolha de silicone. Fonte: DA SILVA, 2012.	29
Figura 8 - Espectro de emissão da lâmpada de vapor de mercúrio usada na aplicação de PAOs: (a) sem bulbo de proteção e (b) com o bulbo de proteção. Fonte: WILDE, 2006; DA SILVA, 2012.	32
Figura 9 - Cromatograma HPLC-DAD dos analitos PBs (150 µg L ⁻¹) em 259 nm.	33
Figura 10 - Diagrama de pareto para SPE de PBs.	37
Figura 11 - Perfis para os valores preditos e desejabilidade da recuperação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP.	38
Figura 12 - Concentrações diárias de PBs detectadas nos pontos de coleta (a) EG e (b) CR.	42
Figura 13 - EM referente ao experimento de MS2 Scan para (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP.	45
Figura 14 - Abundância do íon precursor dos PBs a partir da otimização da energia de fragmentação para (a) MeP, 70 V; (b) EtP, 40 V; (c) PrP, 20 V; (d) BuP, 45 V; (e) BeP, 20 V.	45
Figura 15 - Espectro de íon produto com energia de colisão otimizada para (a) MeP, 20 V; (b) EtP, 20 V; (c) PrP, 20 V; (d) BuP, 20 V; (e) BeP, 15 V.	46
Figura 16 - Espectro de íon precursor para (a) MeP; (b) EtP; (c) PrP; (d) BuP; (e) BeP.	46
Figura 17 - Espectro de perda neutra constante do (a) MeP; (b) EtP; (c) PrP; (d) BuP; (e) BeP.	47
Figura 18 - Espectro de íons produto e caminho de fragmentação proposto para o metabólito <i>p</i> -hidroxibenzóico no efluente CR.	48
Figura 19 - Espectro de íons produto de caminho de fragmentação proposto para o metabólito <i>p</i> -hidroxibenzóico no efluente EG.	49
Figura 20 - Desempenho dos PAOs na degradação de PBs em (a) solução aquosa e (b) efluente hospitalar. Condições: pH 5, 20 °C.	51
Figura 21 - Diagramas de Pareto para a degradação (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BeP em solução aquosa por meio de PAOs.	54

Figura 22 - Valores preditos e desejabilidade para degradação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP e (d) BeP em solução aquosa por meio de PAOs.	55
Figura 23 - Diagramas de Pareto para a degradação (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP, (e) BeP em efluente hospitalar por meio de PAOs.	57
Figura 24 - Valores preditos e desejabilidade para degradação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP em efluente hospitalar por meio de PAOs.	58
Figura 25 - Gráfico de degradação de PBs em solução aquosa após aplicação de fotólise.	60
Figura 26 - Cromatograma de degradação dos PBs em solução aquosa em diferentes tempos de fotólise.	61
Figura 27 - Gráfico de degradação de PBs em efluente hospitalar após aplicação de fotocatalise heterogênea.	62
Figura 28 - Cromatograma de degradação dos PBs em efluente hospitalar em diferentes tempos de fotocatalise heterogênea.	62
Figura 29 - Estudo cinético da degradação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP em solução aquosa (60 minutos).	65
Figura 30 - Estudo cinético da degradação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP em efluente hospitalar (60 minutos).	66
Figura 31 - EM e caminho de fragmentação para MeP em solução aquosa.	69
Figura 32 - EM e caminho de fragmentação para MeP em efluente hospitalar.	70
Figura 33 - EM e caminho de fragmentação para EtP em solução aquosa.	71
Figura 34 - EM e caminho de fragmentação para EtP em efluente hospitalar.	72
Figura 35 - EM e caminho de fragmentação para PrP em solução aquosa.	73
Figura 36 - EM e caminho de fragmentação para PrP em efluente hospital.	74
Figura 37 - EM e caminho de fragmentação para BuP em solução aquosa.	75
Figura 38 - EM e caminho de fragmentação para BuP em efluente hospitalar.	76
Figura 39 - EM e caminho de fragmentação para BeP em solução aquosa.	77
Figura 40 - EM e caminho de fragmentação para BeP em efluente hospitalar.	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - PBs e ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico: estrutura molecular e propriedades físico-químicas.	8
Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos médios do efluente do HUSM.	10
Tabela 3 - Potencial de oxidação (IUPAC) de alguns oxidantes em meio aquoso.	13
Tabela 4 - Condições cromatográficas utilizadas na separação de PBs.	26
Tabela 5 - Caracterização do reator utilizado na degradação de PBs.	30
Tabela 6 - Figuras-de-mérito do método HPLC-DAD para PBs.	34
Tabela 7 - Recuperações dos compostos PBs em diferentes cartuchos de SPE.	34
Tabela 8 - Matriz do DCCR, variáveis independentes e resultados da recuperação de PBs.	35
Tabela 9 - Coeficientes de determinação do modelo para a extração de PBs.	36
Tabela 10 - Condições ótimas para a extração de PBs por SPE.	39
Tabela 11 - Recuperações de PBs em solução aquosa e efluente hospitalar em diferente fatores de pré-concentração para a metodologia SPE seguida de HPLC-DAD ($n = 3$).	40
Tabela 12 - Figuras-de-mérito da metodologia de determinação de PBs por SPE seguida de HPLC-DAD.	41
Tabela 13 - Condições operacionais do espectrômetro de massas para PBs.	43
Tabela 14 - Coeficientes de determinação do modelo para a degradação de PBs em solução aquosa e em efluente hospitalar.	52
Tabela 15 - Matriz experimental do planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}) para a otimização da degradação de PBs por meio de PAOs, com variáveis investigadas e taxas de degradação em solução aquosa.	53
Tabela 16 - Matriz experimental do planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}) para a otimização da degradação de PBs por meio de PAOs, com variáveis investigadas e taxas de degradação em efluente hospitalar.	56
Tabela 17 - Condições ótimas para a degradação de PBs em solução aquosa e efluente hospitalar por meio de PAOs.	59
Tabela 18 - Coeficientes de regressão para a degradação de PBs em solução aquosa e em efluente hospitalar.	64
Tabela 19 - Constantes cinéticas do estudo de degradação de PBs em solução aquosa e $t_{1/2}$	66
Tabela 20 - Constantes cinéticas do estudo de degradação de PBs em efluente hospitalar e $t_{1/2}$	67
Tabela 21 - Metabólito e subprodutos de oxidação encontrados.	68
Tabela 22 - Valores de K_{ow} e $\log K_{ow}$ para os PBs.	79
Tabela 23 - MEC, PNEC e QR real dos PBs.	79
Tabela 24 - Níveis de concentrações dos PBs para obtenção da curva analítica.	99
Tabela 25 - Teste de Controle de qualidade (matéria prima de MeP e PrP)	105
Tabela 26 - Concentração de PBs no ponto de coleta EG durante oito dias de amostragem.	106
Tabela 27 - Concentração de PBs no ponto de coleta CR durante oito dias de amostragem.	106
Tabela 28 - Condições otimizadas do EM para determinação de PBs.	109
Tabela 29 - Figuras-de-mérito do método desenvolvido.	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ϕ : Diâmetro.

ANOVA: Análise de variância.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BC: Banda de condução.

BV: Banda de valência.

CR: Corpo receptor.

DCCR: Delineamento composto central rotacional.

E° : Potencial de oxidação.

EG: Efluente geral.

ETEs: Estação de tratamento de efluentes.

EPIs: Equipamentos de Proteção Individual.

GC: Cromatografia gasosa (*do inglês - Gas Chromatography*)

HPLC-DAD: Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (*do inglês High Performance Liquid Chromatography with Diodes Array Detection*).

HO^\bullet : Radical hidroxil.

HUSM: Hospital Universitário de Santa Maria.

$h\nu$: Quantum de radiação eletromagnética.

k : Número de fatores.

LATER: Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Efluentes e Resíduos.

LC-ESI-MS/MS: Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas em Série e Ionização Eletrospray (*do inglês- Liquid Chromatography with tandem mass spectrometry detection*)

LD: Limite de detecção.

LQ: Limite de quantificação.

MEV: Microscopia eletrônica de varredura.

MRM: Monitoramento de reações múltiplas (*do inglês - multiple reaction monitoring*).

P.A.: Padrão analítico.

PAOs: Processos avançados de oxidação.

PBs: Parabenos.

PC: Ponto central.

PCPs: Produtos de cuidado pessoal (*do inglês - Personal Care Product*).

PDMS: Polidimetilsiloxano.

Peb: Ponto de ebulição.

Pf: Ponto de fusão.

PI: Íon produto (*do inglês - product ion*)

PM: Peso molecular.

PREC: Íon precursor (*do inglês - precursor ion*).

PPCPs: Fármacos e produtos de cuidado pessoal (*do inglês - Pharmaceuticals and Personal Care Products*).

PU: Poliuretano.

r^2 : Coeficiente de correlação.

RSD: Desvio padrão relativo.

SBSE: Extração sortiva em barra de agitação (*do inglês stir bar sorptive extraction*).

SIM: Monitoramento de íon selecionado (*do inglês selected ion monitoring*).

SPE: Extração em fase sólida (*do inglês solid phase extraction*).

SPME: Microextração em fase sólida (*do inglês solid phase microextraction*).

UFSM: Universidade Federal de Santa Maria.

UV: Radiação eletromagnética ultravioleta.

λ : Comprimento de onda.

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	ix
INTRODUÇÃO.....	1
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
1.1 Fármacos e produtos de cuidado pessoal	5
1.2 Parabenos.....	6
1.3 Efluente hospitalar.....	9
1.4 Extração em fase sólida (SPE) e cromatografia aplicada à determinação de PBs	11
1.5 Processos avançados de oxidação (PAOs)	13
1.5.1 Fotólise	14
1.5.2 Fotocatálise heterogênea	15
1.6 Planejamento Fatorial.....	17
1.7 Avaliação do risco ambiental dos PBs	18
2 MATERIAIS E MÉTODOS	21
2.1 Reagentes e soluções	21
2.2 Fluxograma experimental.....	21
2.3 Coleta de amostras de efluente hospitalar	22
2.4 Determinação de PBs por SPE seguida de HPLC-DAD	24
2.4.1 Otimização do processo SPE.....	24
2.4.2 Determinação por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos (HPLC-DAD).....	25
2.5 Identificação de metabólitos e subprodutos por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série e ionização electrospray LC-ESI-MS/MS.....	26
2.6 Aplicação de PAOs para a degradação de PBs	27
2.6.1 Preparo de barras de TiO ₂ imobilizada em polímeros.....	27
2.6.2 Reator fotocatalítico	28
2.6.3 Otimização dos PAOs	30
2.6.4 Estudo cinético	31
2.6.5 Espectro de emissão da lâmpada UV	31
2.7 Gerenciamento de resíduos	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1 Métodos de determinação e identificação dos compostos PBs e seu metabólito.....	33
3.1.1 Método HPLC-DAD para PBs	33
3.1.2 Otimização multivariado do método SPE	34
3.1.3 Aplicação da metodologia SPE	40
3.1.4 Figuras-de-mérito da metodologia SPE seguida de HPLC-DAD	41
3.1.5 Determinação de PBs em efluente hospitalar por SPE seguida de HPLC-DAD	42
3.1.6 Otimização da análise de PBs no sistema LC-ESI-MS/MS	43
3.1.7 Identificação dos metabólitos dos PBs em amostras de efluente hospitalar por LC-ESI-MS/MS	48
3.2 Aplicação de PAOs para a degradação de PBs e identificação de possíveis produtos de degradação.....	50
3.2.1 Catalisador.....	50

3.2.2	Otimização dos PAOs	52
3.2.3	Condições ótimas para a aplicação dos PAOs e degradação de PBs	59
3.2.4	Estudo cinético de degradação de PBs	63
3.3	Identificação de subprodutos de PBs por aplicação de PAOs	68
3.3.1	Produtos de degradação do MeP em solução aquosa e efluente hospitalar	69
3.3.2	Produtos de degradação do EtP em solução aquosa e efluente hospitalar	71
3.3.3	Produtos de degradação do PrP em solução aquosa e efluente hospitalar	73
3.3.4	Produtos de degradação do BuP em solução aquosa e efluente hospitalar	75
3.3.5	Produtos de degradação do BeP em solução aquosa e efluente hospitalar	76
3.4	Verificação do risco potencial para PBs	78
4	CONCLUSÕES	81
	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	83
	REFERÊNCIAS	85
	APÊNDICE	103

INTRODUÇÃO

Diariamente se faz uso de uma vasta gama de compostos químicos que, quase inevitavelmente, acabam sendo introduzidos no meio ambiente, onde, embora em concentrações traços (ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$) são suficientes para causar toxicidade ao meio (GOTTSCHAL et al., 2012). Uma grande parte destes compostos é formada por um grupo denominado Produtos de Cuidado Pessoal (PCPs) que atingem águas superficiais, majoritariamente, através de plantas de tratamento de efluentes, incapazes de eliminar por completo estes contaminantes (BUCHBERGER et al., 2011; KÜMMERER et al., 2011; WANG et al., 2011; ALBERO et al., 2012).

Os conservantes são importantes componentes do grupo de PCPs constituído também pelas fragrâncias, compostos antimicrobianos (triclosan), bloqueadores ultravioleta (UV), antioxidantes e repelente de insetos (N,N-Dietil-3-metilbenzamida – DEET) (PIETROGRANDE & BASAGLIA, 2007; BRAUSCH & RAND, 2011). Utilizados para evitar a contaminação microbiológica de produtos, como, alimentos, bebidas, fármacos e cosméticos, durante a fabricação e estocagem, os ésteres do ácido *p*-hidroxibenzóico, mais conhecidos como parabenos (PBs) possuem destaque no grupo dos conservantes (LUNDOV et al., 2009). A alta atividade antimicrobiana unida à boa estabilidade em ampla faixa de pH fazem com que os PBs sejam usados especialmente em produtos cosméticos (SONI et al., 2005; NÚNEZ et al., 2008).

Nos últimos anos, pesquisas referentes à ocorrência destes conservantes, principalmente, no meio aquático vem ganhando destaque (MARINÑO et al., 2011a; 2011b; RAMASWANY et al., 2011; ALBERO et al., 2012). Estudos recentes comprovam existência de atividade estrogênica ligada aos PBs, classificando-os como disruptores endócrinos (BOBERG et al., 2010; DAGHER et al., 2012; SHIRAI et al., 2012). Assim interferem na produção, liberação, transporte, metabolismo, ligação, ação e eliminação de hormônios naturais do corpo responsáveis, majoritariamente, pelo crescimento e reprodução (BILA & DEZOTTI, 2007; KOZLOWSKA et al., 2010).

O efluente hospitalar caracteriza-se por conter considerável concentração de fármacos como antibióticos, agentes citostáticos, anestésicos, como também detergentes, metais pesados e desinfetantes, além de grande quantidade de conservantes usados nos mais diversos fármacos e cosméticos (VERLICCHI et al., 2012). O efluente hospitalar diferencia em

quantidade e qualidade de um efluente doméstico, necessitando, por isso, de um destino e tratamento diferenciado. Como a maioria dos hospitais, o Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) oferece ao seu efluente um tratamento doméstico através de fossas sépticas conjugada a filtros anaeróbios, sendo o efluente tratado descartado em um córrego que corta o campus da universidade (VASCONCELOS et al., 2009a; DA SILVA, 2012; WILDE et al., 2012).

As etapas preliminares à análise são de fundamental importância (preparo da amostra), principalmente, quando se tratam de microcontaminantes presentes em matriz complexa. Para determinação de PBs, geralmente, opta-se pela extração em fase sólida (SPE), pois, além de garantir a pré-concentração do analito na amostra, também realiza a etapa de *clean up*. (MARIÑO et al., 2011a). As técnicas cromatográficas são as mais relatadas na literatura para a determinação de PBs em diferentes amostras ambientais, como, águas de rio (PENG et al., 2008; RAMASWAMY et al., 2011), águas residuais (MARIÑO et al., 2011b; ALBERO et al., 2012), amostras sólidas (NÚÑEZ et al., 2008) e amostras biológicas (YE et al., 2008; DÍAZ et al., 2011; SHANMUGAM et al., 2010).

Nos últimos anos, o Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Efluentes e Resíduos (LATER) vem realizando estudos voltados à determinação e degradação de microcontaminantes em efluente hospitalar, tendo como matriz de estudo o efluente do HUSM. Promovendo assim, o desenvolvimento de técnicas miniaturizadas de tratamento de amostra e novas metodologias analíticas de quantificação. Além disso, aplicação de Processos Avançados de Oxidação (PAOs) para a degradação de espécies recalcitrantes do efluente hospitalar, enfatizando áreas como Quimiometria e Química Analítica Ambiental (MARTINS et al., 2008, 2009, 2011; VASCONCELOS et al., 2009a, 2009b; BRENNER et al., 2011; HENRIQUES et al., 2012; WILDE et al., 2012; DA SILVA et al., 2013).

Neste contexto, o presente trabalho objetivou:

- * Com auxílio da quimiometria, otimizar a etapa de SPE e desenvolver um método para determinação de PBs por SPE seguida de HPLC-DAD;
- * Detectar e quantificar o lançamento de PBs na canalização do efluente geral do HUSM e no córrego receptor em particular, por meio de SPE seguida de HPLC-DAD;
- * Identificar o principal metabólito dos PBs, ácido *p*-hidroxibenzóico, em amostras de efluente hospitalar e propor uma rota de fragmentação;

- * Avaliar os processos de fotólise direta e fotocatalise heterogênea (com TiO_2 suportado em polímeros) para a degradação de PBs em efluente hospitalar utilizando reator tanque agitado *home made*;
- * Identificar os principais produtos de degradação gerados pela aplicação do processo de fotólise e fotocatalise heterogênea (com TiO_2 suportado em polímeros) por meio de LC-ESI-MS/MS;
- * Avaliar, preliminarmente, o potencial de risco ambiental relativo ao descarte de PBs no efluente hospitalar do HUSM.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Fármacos e produtos de cuidado pessoal

Fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs) e seus possíveis efeitos nocivos ao meio ambiente têm sido alvo de investigação e preocupação na comunidade acadêmica, onde estudos têm monitorado a presença destes em matrizes ambientais, especialmente em efluentes e cursos d'água (GROS et al., 2009; KUMAR & XAGORARAKI, 2010; RATOLA et al., 2012; YU & WU, 2012; GARCÍA et al., 2013). A entrada de PPCPs no meio ambiente pode ser de diferentes formas, como, através de resíduos industriais, efluente hospitalar, doméstico e pelo descarte irregular de medicamentos, fazendo com que alcancem águas superficiais em sua forma metabolizada ou não metabolizada (KHALEEL et al., 2012).

A presença de contaminantes, seus metabólitos, ou mesmo seus produtos de degradação, podem trazer uma série de problemas aos recursos hídricos e ecossistemas ligados, mesmo estando em concentrações muito baixas (VALCÁRCEL et al., 2011). Sua capacidade de acumulação e de permanecerem ativos por longo tempo no ambiente aquático, compromete não só a segurança do ambiente, mas também, representa sério risco à saúde humana (GUILLÉN et al., 2012; SASU et al., 2012). Grande parte destas substâncias pode interferir no sistema endócrino de seres humanos e outros animais, mesmo se a exposição ocorrer em níveis de concentrações muito baixas, prejudicando a saúde, crescimento e reprodução destes seres vivos (BILA & DEZOTTI, 2007).

Há relatos na literatura a respeito da ocorrência de PPCPs em estações de tratamento de efluentes (ETEs) e efluentes em geral (YU et al., 2006; GARCÍA et al., 2013), efluentes hospitalares (MARTINS et al., 2008; 2009; 2011; BRENNER et al., 2011; HENRIQUES et al., 2012; WILDE et al., 2012), águas superficiais (PENG et al., 2008; YOON et al., 2010), rios (VALCÁRCEL et al., 2011) águas subterrâneas e água potável.

Os Produtos de Cuidado Pessoal (PCPs) formam um grande grupo de compostos largamente utilizados no setor industrial. Diferente dos fármacos, a maioria dos PCPs são de uso externo e teoricamente não sofrem alterações metabólicas. Porém, muitos deles são absorvidos pela pele, inalados ou até ingeridos, sendo então metabolizados no organismo e excretados pela urina e/ou fezes inalterados ou na forma de metabólitos (SHIRAI et al., 2012; DAGHER et al., 2012). Estudos recentes relatam grande parte dos PCPs são persistentes,

bioativos e com potencial de bioacumulação, embora, pouco se saiba sobre sua real toxicidade (BRAUSCH & RAND, 2011; GOTTSCHAL et al., 2012).

Fazem parte dos PCPs as fragrâncias, compostos antimicrobianos (triclosan); bloqueadores UV; antioxidantes e conservantes (fenóis e PBs); e repelente de insetos (DEET) (PIETROGRANDE & BASAGLIA, 2007; BRAUSCH & RAND, 2011). A maioria destes atinge águas superficiais, majoritariamente, através de ETEs, incapazes de eliminar por completo estes contaminantes (BUCHBERGER, 2011; ALBERO et al., 2012).

Os conservantes ou preservantes têm como finalidade primária garantir a preservação e evitar danos ou deteriorações causados por micro-organismos durante a fabricação e estocagem dos mais diversos produtos (alimentos, bebidas, fármacos, cosméticos etc.) (ANVISA, 2011). Há uma infinidade de conservantes presentes no mercado, cada um com características específicas e ideais para diferentes classes de produtos. A indústria, porém, se detém à utilização de poucos, tais como: PBs, formaldeído, liberadores de formaldeído e metil-cloro-iso-tiazolinona/metil-iso-tiazolinona (LUNDOV et al., 2009).

1.2 Parabenos

PBs são alquil ésteres do ácido *p*-hidroxibenzóico. Por mais de setenta e cinco anos são utilizados como inibidores do crescimento microbiano na indústria alimentícia, farmacêutica e principalmente de cosméticos, como por exemplo, cremes para o corpo, antitranspirantes, sabonetes e protetores solares (DÍAZ et al., 2011; SHIRAI et al., 2012; AUBERT et al., 2012; DAGHER et al., 2012). Dentre os principais PBs estão: Metilparabeno (MeP), Etilparabeno (EtP), Propilparabeno (PrP), Butilparabeno (BuP), e Benzilparabeno (BeP) (Tabela 1).

A atividade antimicrobiana destes conservantes aumenta conforme aumento da cadeia carbônica do grupamento éster, conseqüentemente, ocorre diminuição da solubilidade em água. Por isso, os PBs de cadeia curta acabam por serem mais utilizados. O excelente efeito sinérgico do MeP unido ao PrP, faz com que sejam comumente usados em formulações de cosméticos (SONI et al., 2005; NÚNEZ et al., 2008; BRAUSCH & RAND, 2011). Em conseqüência, estudos que relatam a ocorrência de PBs em matrizes ambientais mostram concentrações mais elevadas de MeP e PrP nas amostras, quando comparados aos demais do mesmo grupo.

Os PBs reúnem características fundamentais de bons conservantes como, estabilidade em ampla faixa de pH, baixa volatilidade unida à boa atividade antimicrobiana (SONI et al., 2005; NÚÑEZ et al., 2008). Porém, a segurança e o baixo potencial de bioacumulação apresentado pelos PBs começam a serem questionados, pois, estudos *in vivo* e *in vitro* revelaram a presença de atividade endócrina, o que representa risco à saúde humana e demais animais (BOBERG et al., 2010; DAGHER et al., 2012; SHIRAI et al., 2012).

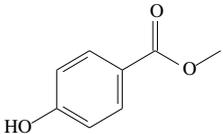
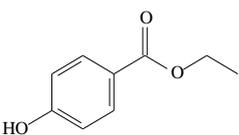
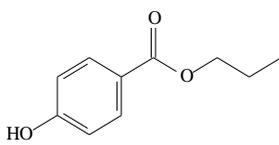
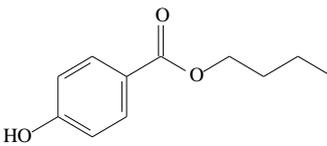
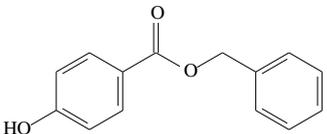
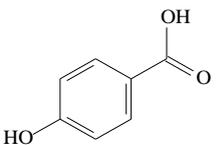
Estudos realizados relataram atividade androgênica e estrogênica dos PBs ocasionando diminuição da quantidade e qualidade do esperma de roedores quando submetidos ao tratamento com os conservantes (OISHI, 2002; CHEN et al., 2007).

Os PBs quando aplicados sobre a pele são absorvidos e metabolizados no organismo na presença de enzima específica. A literatura relata como sendo o ácido *p*-hidroxibenzóico o principal metabólito destes compostos, o qual apresenta atividade estrogênica nula ou muito inferior aos seus ésteres (BOBERG et al., 2010; SHIRAI et al., 2012). A hidrólise dos PBs ocorre na presença da enzima carboxilesterase, no entanto, concentração não suficiente de enzimas leva à não hidrólise do éster, o que pode acarretar na bioacumulação dos PBs em determinado tecido (CHEN et al. 2007; DAGHER et al., 2012; SHIRAI et al., 2012).

A presença de PBs e seu metabólito tem sido frequentemente relatados em tecidos de diferentes tipos de câncer, para tanto, DAGHER et al (2012) avaliaram a toxicidade de três compostos PBs e seu metabólito frente a célula específica do tecido do câncer de mama. O metabólito (ácido *p*-hidroxibenzóico) apresentou toxicidade inferior aos demais, seguido pelo MeP. No entanto, a taxa de metabolismo dos PBs presentes no tecido é baixa devido à estabilidade dos mesmos, acentuando assim a bioacumulação e aumento dos malefícios causados.

Na tabela 1 a estrutura molecular e principais propriedades físico-químicas dos PBs e ácido *p*-hidroxibenzóico, estão explicitadas.

Tabela 1 - PBs e ácido *p*-hidroxibenzoico: estrutura molecular e propriedades físico-químicas.

Estrutura	PM (g mol ⁻¹)	Solubilidade ^c	pKa	Log KoW
 MeP	152,15	2,45	8,17	1,96
 EtP	166,16	1,2	8,22	2,19
 PrP	180,18	0,4	8,35	3,04
 BuP	194,23	< 0,4	8,37	3,81
 BeP	228,30	-	8,47	3,59
 Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	138,1	5,0	4,58	-

^a ponto de fusão; ^b ponto de ebulição; ^c em água (g L⁻¹ à 25 °C)

A concentração de PBs usada nos cosméticos é relativamente baixa, no Brasil, a ANVISA limita o uso destes conservantes a um máximo de concentração de 0,4% (expresso como ácido) individual e 0,8% (expresso como ácido) para misturas dos sais ou ésteres (ANVISA 2012). Seu alto uso e a entrada constante no meio ambiente permite com que sejam

considerados “pseudo-persistentes” apesar de prontamente biodegradáveis em condições aeróbicas (ALBERO et al., 2012).

PBs têm sido frequentemente relatados em diferentes matrizes ambientais como águas de rio (PENG et al., 2008; YAMAMOTO et al., 2011; RAMASWAMY et al., 2011), águas residuais (CANOSA et al., 2006; MARIÑO et al., 2011b; ALBERO et al., 2012), amostras de solo e sedimentos (NÚÑEZ et al., 2008) e amostras biológicas, como, soro (YE et al., 2008), tecido de placenta humana (DÍAZ et al., 2011) e tecido cancerígeno (SHANMUGAM et al., 2010).

1.3 Efluente hospitalar

Os efluentes hospitalares constituem risco potencial para os ecossistemas por serem uma matriz complexa, carregada de micropoluentes, metais pesados, substâncias químicas tóxicas e elementos radioativos, e, muitas vezes, são descartados diretamente para o ambiente (frequente em países subdesenvolvidos) ou na rede de esgoto urbano sendo transportados a estações de tratamento (KUMAR et al., 2007; SUAREZ et al., 2009; VERLICCHI et al., 2012). No entanto, são poucos os trabalhos que abordam o monitoramento de PPCPs em efluente hospitalar (MARTINS et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2009; BRENNER et al., 2011; MARTINS et al., 2011; HENRIQUES et al., 2012; WILDE et al., 2012).

O HUSM disponibiliza 302 leitos à população regional e sua força de trabalho é composta, em média, por 1650 pessoas (médicos, enfermeiras, professores, servidores, residentes e bolsistas), tendo área de abrangência envolvendo 112 cidades, somando população de aproximadamente 3 milhões de habitantes (<http://www.husm.ufsm.br>).

O tratamento das águas servidas, geradas no hospital, é feito através de sistema simples, dotado de tanque séptico conjugado a filtro anaeróbio, e o efluente tratado é descartado em corpo receptor (córrego) que corta o campus da UFSM (Figura 1) (VASCONCELOS et al., 2009a; WILDE, 2012).

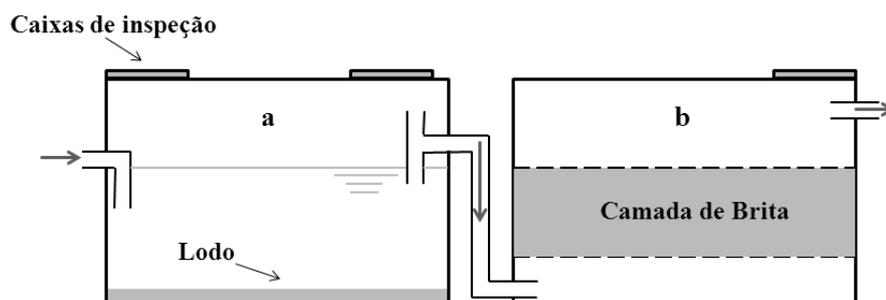


Figura 1 - Representação esquemática do sistema de tratamento de efluentes adotado pelo HUSM: (a) fossa séptica conjugada a (b) filtro anaeróbio. Fonte: WILDE, 2012; DA SILVA, 2012.

As características físico-químicas do efluente do HUSM, após o tratamento, bem como os limites permitidos para estes parâmetros de acordo com o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), são apresentados e mostram que mesmo após tratamento, o efluente apresenta alta carga orgânica variável e alguns parâmetros acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA (Tabela 2).

Tabela 2 - Parâmetros físico-químicos médios do efluente do HUSM.

Parâmetro	Valor	Limites (CONAMA)
DBO ₅ (mg L ⁻¹)	303,7	≤ 120
DQO (mg L ⁻¹)	200-612	≤ 200
A _{UV 254}	1,254	-
Nitrogênio amoniacal (mg L ⁻¹)	52,0	20
Nitrogênio total (mg L ⁻¹)	59,1	10
Alcalinidade (mg L ⁻¹)	200	-
NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	0,680	<10
Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	132	-
PO ₄ ³⁻ total (mg L ⁻¹)	7,5	1
SO ₄ ²⁻	4,0	-
K ⁺ (mg L ⁻¹)	21,9	-
Na ⁺ (mg L ⁻¹)	150,5	-
Sólidos suspensos (mg L ⁻¹)	57,0	≤ 150
Sólidos totais a 105 °C (mg L ⁻¹)	484,0	-
pH	7-8	5-9
Temperatura média (°C)	23	< 40

Fonte: MARTINS et al.,2009; MINETTO, 2009; CONAMA, 2011; WILDE, 2012; DA SILVA, 2012.

Neste contexto, o LATER vem realizando estudos enfocando a presença de fármacos e contaminantes emergentes (PPCPs) no efluente do HUSM e abordando questões relativas ao risco ecotoxicológico potencial e proposição de possíveis soluções para o problema (MARTINS et al., 2008, 2009, 2011; VASCONCELOS et al., 2009a, 2009b; BRENNER et al., 2011; HENRIQUES et al., 2012; DA SILVA et al., 2012).

1.4 Extração em fase sólida (SPE) e cromatografia aplicada à determinação de PBs

Estudos recentes relatam a ocorrência de PBs em níveis traços de concentrações (ng L^{-1} , $\mu\text{g L}^{-1}$) nas mais diversas matrizes ambientais. A grande parte dos trabalhos na área desenvolve métodos para quantificação destes compostos em águas potáveis, de superfície, residuais e ETEs (PEDROUZO et al., 2009; JONKERS et al., 2010; RAMASWAMY et al., 2011; MARINÕ et al., 2011). Porém, não há relatos na literatura sobre a ocorrência dos conservantes PBs em amostras de efluente hospitalar.

As técnicas cromatográficas mais usadas para determinação de PBs no meio ambiente são: cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (GROSA et al., 2006; JONKERS et al., 2010; MARIÑO et al., 2011a) e cromatografia gasosa (GC) (MARIÑO et al., 2011b; RAMASWANY et al., 2011; ALBERO et al., 2012), acopladas a diferentes detectores, como por exemplo, ultra violeta (UV), arranjo de diodos (DAD) e espectrômetros de massas (MS). No entanto, a HPLC se mostra a técnica mais apropriada, pois, não necessita derivatização, apresenta boa estabilidade e simplicidade no desenvolvimento do método (XU et al., 2013).

A confiabilidade dos resultados é de extrema importância para qualquer metodologia analítica por esse motivo a etapa de validação do método é fundamental. A validação tem por objetivo diminuir ou controlar os fatores que levam à imprecisão ou inexatidão dos dados, dentre eles contaminação, calibração ineficiente dentre outros. Os principais parâmetros do processo de validação são: linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) (STÖCKLD et al., 2009)

Apesar da evolução dos métodos cromatográficos que possibilitam quantificação em níveis de traços dos mais diversos contaminantes, ainda se faz necessário emprego de técnicas de extração com intuito de pré-concentrar o analito de interesse na amostra, bem como, a realização de *clean up* da mesma, principalmente, quando se trata de matrizes complexas, como neste caso, o efluente hospitalar.

Dentre as técnicas de extração/pré-concentração de PCPs relatadas na literatura pode-se citar: SPE, capaz de realizar o *clean-up*, bem como, a pré-concentração do analito (LEE et al., 2005; JONKERS et al., 2010; ZOTOU et al., 2010; RAMÍREZ et al., 2011); visando uma menor quantidade de solvente e tempo de preparo da amostras difundem-se a microextração em fase sólida (SPME) (CANOSA et al., 2006) e a extração sortiva em barras de agitação (SBSE) (FERREIRA et al., 2011; RAMÍREZ et al., 2011).

A SPE possui um grande número de variáveis, tais como: fluxo, composição e quantidade de solventes para eluição e condicionamento. Essas variáveis constituem várias etapas experimentais, que devem ser otimizadas (CAMEL, 2003; PAVLOVIĆ et al., 2007). O estudo dos parâmetros de forma univariada gera grande quantidade de experimentos e não avalia a interação entre variáveis. Por isso, a aplicação de planejamento multivariado de experimentos torna-se de extrema importância para o desenvolvimento de métodos e também para a otimização de processos (WILDE et al., 2012).

São vários os relatos na literatura da SPE para extração de PBs, cada qual com adaptações importantes levando em conta os analitos em estudo, matriz da amostra e técnica analítica disponível para análise.

Em 2010, JONKERS et al. determinaram a ocorrência de disruptores endócrinos fenólicos, dentre eles PBs, nas águas do Rio Aveiro, Portugal. Para tal, utilizaram cartuchos Oasis HLB obtendo recuperação entre 107% a 121% para os PBs (JONKERS et al., 2010). O mesmo cartucho foi usado para quantificar PBs em influentes e efluentes de ETEs na Espanha, onde todas as amostras acusaram presença destes analitos (RAMÍREZ et al., 2011). PEDROUZO et al. (2009) usando Oasis HLB como cartucho extraíram diferentes PCPs de águas de superfície e esgoto.

Cartuchos de SPE da marca Oasis MAX foram estudados por LEE et al. (2005) para determinar a ocorrência de disruptores endócrinos em amostras de esgoto. A recuperação variou de 89% a 93% com RSD < 6 para os PBs em estudo. Strata C18-E também foi relatado na literatura como um cartucho possível para a extração de diferentes classes de compostos (carmabazepina, triclosan e PBs), RAMASWAMY et al. (2011) identificaram a presença destes grupos em águas de rio na Índia.

1.5 Processos avançados de oxidação (PAOs)

A contaminação ambiental, e por consequência a qualidade das águas, é uma questão discutida na atualidade. Muita ênfase se dá ao esgoto doméstico e ao seu tratamento, deixando muitas vezes de lado o esgoto de hospitais. O efluente hospitalar carrega os mais diversos tipos de contaminante, na sua maioria, farmacologicamente ativo, os quais não são removidos em processos convencionais de tratamento (DA CRUZ et al., 2010).

Os PCPs, em geral, não são facilmente removidos por tratamentos convencionais em plantas de tratamento de esgoto (YANG et al., 2011, LI et al., 2012). Neste caso, os PAOs surgem como alternativa para o tratamento de águas e efluentes por promoverem a degradação quase completa de poluentes, ou ainda, levar à formação de contaminantes menos tóxicos (MALATO et al., 2009; MELO et al., 2009; RYAN et al., 2011; OLLER et al., 2011; YANG et al., 2008; 2010a; 2010b; 2011; LI et al., 2012; RODRÍGUEZ et al., 2012; SOUSA et al., 2012).

Os PAOs são apontados como técnicas promissoras no tratamento de águas. Muitas são as variantes do processo, mas todas têm em comum a geração de radicais hidroxila livres (HO^\bullet), que reagem indiscriminadamente com compostos orgânicos e são capazes de oxidar a maioria destes, convertendo-os a dióxido de carbono, água e ânions inorgânicos (BRITTO e RANGEL, 2008; MALATO et al., 2009; FUKAHORI et al., 2012). O radical hidroxil (HO^\bullet) apresenta alto poder de oxidação (2,8 V), sendo capaz de mineralizar os compostos mais recalcitrantes presentes na amostra, como mostrado na tabela 3.

Tabela 3 - Potencial de oxidação (IUPAC) de alguns oxidantes em meio aquoso.

Oxidante	E° (V, 25 °C)
HO^\bullet	2,80
O_3	2,07
H_2O_2	1,77
HO_2^\bullet	1,70
MnO_4^-	1,67
HClO	1,48
ClO_2	1,50
Cl_2	1,36
O_2	1,23

Fonte: adaptado de MALATO et al., 2009; MINETO et al., 2009; DA SILVA et al., 2012

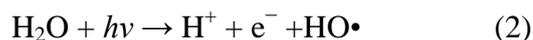
O radical HO• é altamente reativo e pode ser gerado por reações envolvendo oxidantes fortes, como ozônio e peróxido de hidrogênio; semicondutores, como o dióxido de titânio (TiO₂), combinados com radiação ultravioleta (UV) e apenas por radiação UV (LAMSAL et al., 2011; OHTANI, 2011; RAZAVI et al., 2011; WANG & CHEN, 2011).

Pode-se destacar a fotocatalise heterogênea com catalisador de TiO₂ em suspensão fotólise direta, fotólise assistida por peróxido de hidrogênio e ozonização (BLEDZKA et al., 2009, 2010; LIN et al., 2009, 2011; TAY et al., 2010) como principais PAOs estudados para a degradação de PBs em águas contaminadas.

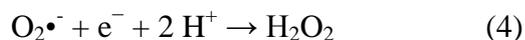
1.5.1 Fotólise

A fotólise tem se mostrado uma alternativa para o tratamento de águas contaminadas, visando sua desinfecção. Em função da elevada eficiência da radiação UV na destruição de microorganismos, muitos equipamentos fundamentados na utilização de lâmpadas a vapor de mercúrio foram comercializados, principalmente para servirem de alternativa à desinfecção química (TIBURTIUS et al., 2004).

A fotólise direta envolve a interação da luz com moléculas de água que passam a absorver fótons de radiação UV emitida, gerando espécies eletronicamente excitadas que podem transferir elétrons para aceptores presentes no meio, formando radicais livres (BRITO & RANGEL, 2008) (Equação 1 e 2).



Estas espécies radicalares podem reagir com oxigênio molecular, gerando radicais peróxi (R-O-O-R') que tendem a se decompor naturalmente, formando intermediários parcialmente oxidados como o ânion radical superóxido (O₂•⁻), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o radical hidroxil (HO•) (Equação 3-6) (GONZALEZ et al., 2004).

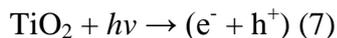


BLEDZKA et al. (2009) investigaram a degradação de BuP por meio de fotólise direta em matriz sintética, além da avaliação das principais variáveis do processo. Os pesquisadores alcançaram 99% de redução da concentração de BuP em 1 h e 50 minutos de fotólise, no entanto, experimentos de carbono orgânico total (COT) e demanda química de oxigênio (DQO) apresentaram valores não favoráveis a total mineralização. Indicando a necessidade da aplicação de PAOs mais eficientes como fotocatalise heterogênea ou fotólise assistida por peróxido de hidrogênio.

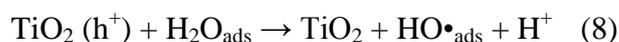
1.5.2 Fotocatálise heterogênea

O processo de fotocatalise heterogênea baseia-se na geração de HO•, por meio da ativação de semicondutores por luz solar ou artificial, capazes de promover a oxidação química de contaminantes presentes no meio. TiO₂ é o semicondutor mais utilizado, reunindo características importantes como foto-estabilidade, estabilidade química em ampla faixa de pH, baixo custo e toxicidade (HASHIMOTO et al., 2005; MALATO et al., 2009; WANG et al., 2009).

Para a geração de HO• é necessária a absorção de um fóton com energia igual ou superior à energia do “band-gap” do semicondutor empregado, TiO₂ é de 3,2 eV ($\lambda = 387,5$ nm), para promover o elétron da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC) com consequente geração de par elétron/lacuna ($\text{e}^- + \text{h}^+$) (Equação 7).



O caráter oxidante da lacuna da BV gera HO• pela oxidação de moléculas de H₂O adsorvidas na superfície do semiconductor (mecanismo indireto) (Equação 8) e também, é capaz de oxidar diretamente moléculas orgânicas via lacuna fotogerada (Equação 9). No entanto, o mecanismo de oxidação indireta dos contaminantes predomina sobre o direto devido à alta concentração de moléculas de água adsorvidas na superfície do semiconductor (YANG et al., 2008; MELO et al., 2009).



Na figura 2 é representado o mecanismo para a fotoativação do catalisador TiO₂.

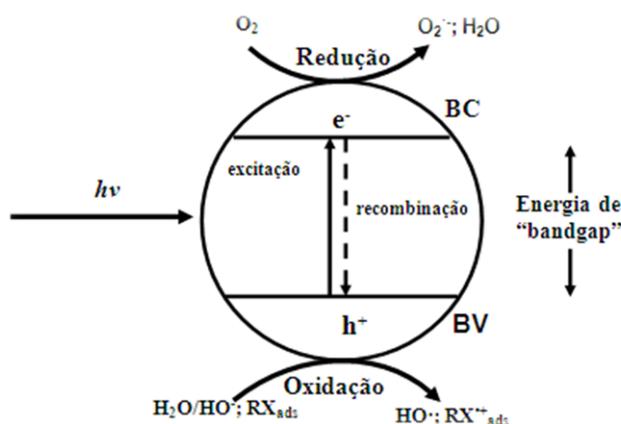


Figura 2 - Mecanismo simplificado para a fotoativação do catalisador TiO₂ (e⁻: elétron fotogerado na banda de condução; h⁺: lacuna gerada na banda de valência; RX_{ads}: substrato; RX⁺_{ads}: substrato oxidado). Fonte: adaptado de HERRMANN, 2010.

A eficiência dos processos de oxi-redução está ligado ao processo de recombinação do par elétron/lacuna, sendo que, quanto menor a recombinação, maior a eficiência do semiconductor. Este processo pode ser favorecido pela presença de doadores ou receptores de

elétrons pré-adsorvidos ao catalisador. As lacunas (h^+) formadas na superfície das partículas do semiconductor possuem alto poder oxidante devido a potenciais positivos (+2,0 a +3,5 V), reagindo com água ou grupos $OH\cdot$ pré-adsorvidos na superfície do catalisador. Enquanto que os elétrons presentes na BC são responsáveis pela distribuição das cargas negativas e podem migrar para a superfície da partícula, sendo bons redutores com potenciais de oxidação entre 0 e -1,0 V (HERRMANN, 2010).

Dependendo do fotorreator utilizado no processo de fotocatalise heterogênea os catalisadores podem aparecer em suspensão ou imobilizados em vidros, materiais cerâmicos, polímeros e inclusive metais. Quando se trabalha com TiO_2 suportado os principais objetivos a serem alcançados são: o aumento da área (TiO_2) irradiada, bem como da superfície de adsorção e influenciar na seletividade da reação fotocatalítica (CARP et al., 2004). Além da não necessidade de filtração após o tratamento, impedindo a recombinação do par elétron-lacuna (10^{-12} s) após terminado o processo (TIBURTIUS et al., 2004).

Não são muitos os trabalhos sobre a aplicação do processo de fotocatalise heterogênea para a degradação de PBs, os que relatam o estudo utilizam como matriz solução aquosas e o catalisador de TiO_2 suspenso (LIN et al., 2009; 2011).

1.6 Planejamento Fatorial

A necessidade crescente da otimização de metodologias analíticas e dados, minimizando custos e tempos, maximizando a qualidade da informação obtida, dentre outros objetivos, tem levado profissionais de diferentes áreas buscarem técnicas sistemáticas de planejamento de experimento (BEZERRA et al., 2008; FERREIRA et al., 2007; RODRIGUES e IEMMA, 2009).

Naturalmente, cabe ao pesquisador investir algum tempo no planejamento do processo e no estudo das variáveis envolvidas, coletando informações na literatura, para que a definição da estratégia de realização dos ensaios possa agregar melhor qualidade aos resultados obtidos (RODRIGUES e IEMMA, 2009).

A metodologia do planejamento fatorial é uma ferramenta fundamentada na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro (análise univariada). O primeiro passo de otimização

multivariada é a triagem dos fatores estudados, a fim de obter os efeitos significativos do sistema de análise (FERREIRA et al., 2007).

Os limites experimentais a serem estudados são definidos, primeiramente, em um intervalo onde se pode obter uma resposta precisa para o modelo. O número de experimentos é dado por $2^K + 2K + n$, onde K é o número de variáveis e n , o número de experimentos no ponto central. A modelagem, normalmente, é feita ajustando a modelo linear e quadrático (BEZERRA et al., 2008).

Outro aspecto importante é que para experimentos com um grande número de fatores sendo considerados, o fatorial completo resulta em um número extremamente grande de combinações para serem testadas. O número de ensaios necessários para se fazer um planejamento 2^k completo aumenta rapidamente com k , número de fatores investigados.

Considerando, por exemplo, seis variáveis independentes, a aplicação de um planejamento fatorial completo ($2^6 = 64$ experimentos) proporciona uma quantidade de ensaios inviável, dependendo do processo, envolvendo material, mão-de-obra, tempo, uso de grandes volumes de reagentes e amostra. Desta forma, planejamentos fatoriais fracionários são amplamente utilizados na investigação experimental quando o objetivo do processo em questão é fazer uma triagem de variáveis.

Um planejamento fatorial fracionado é construído selecionando um subconjunto de tamanho 2^{k-p} de todos os pontos possíveis de um planejamento 2^k e executando a simulação somente para os pontos escolhidos.

Por outro lado, em muitas situações não se conhece a relação completa de todas as variáveis que afetam significativamente a resposta. Para não correr o risco de excluir fatores que podem vir a ser importantes, deve-se estudar, nesse estágio, o maior número possível de variáveis sem aumentar o número de ensaios, usando planejamentos fracionários (NETO et al., 2003).

1.7 Avaliação do risco ambiental dos PBs

A importância de estudos teóricos que avaliam o risco ambiental de determinado composto está intimamente ligada na previsão de possível contaminação no meio ambiente por determinada substância, possibilitando tomada de decisão a fim de minimizar seus impactos. A avaliação deste potencial de risco ambiental pode ser conduzida de diferentes

formas e empregando dados como consumo, características físico-químicas, etc. (EMEA, 2006).

A Agência Europeia de Avaliação de Medicamentos (EMEA) propõe três fases de estudo para a avaliação preliminar de risco. A primeira fase compreende a Predição da Concentração Ambiental (PEC), ou seja, uma forma de avaliar teoricamente a quantidade de fármaco lançada no meio ambiente de acordo com seu uso e exposição. (EMEA, 2006).

Quociente de Risco (QR) também pode ser aceito para a avaliação de risco de uma substância. Para o cálculo deste quociente é considerada a Concentração Predita que Não Causa Efeito (PNEC) no meio ambiente. O PNEC deriva do valor de toxicidade aguda (LC_{50} , EC_{50} ou IC_{50}) dividido por fator de 1000 (HERNANDO et al., 2006).

HERNANDO et al. (2006) propuseram o uso da Concentração Ambiental Mensurada (MEC) para o cálculo de QR. Além disso, foi proposto um critério mais apurado para a avaliação de risco usando $QR < 0,1$ como mínimo risco para organismos aquáticos, $0,1 \leq QR < 1$ risco médio e $QR \geq 1$ risco alto. O QR tem o valor limite de 1, quando o fator excede 1 representa risco ecotoxicológico.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes e soluções

Os padrões analíticos de EtP (CAS 120-47-8), BuP (CAS 94-26-8) e BeP (CAS 94-18-8) foram adquiridos da Sigma Aldrich (Deisenhofen, Alemanha). Já os padrões analíticos de MeP (99-76-8) e PrP (CAS 93-13-3) foram comprados como matéria prima com controle de qualidade e as tabelas com os resultados de testes de qualidade estão em Apêndice A. Todos os PBs apresentaram pureza acima de 99%.

As soluções estoques de PBs (10 mg L^{-1}) foram preparadas a partir da pesagem direta dos padrões e solubilização em metanol (MeOH). As soluções de trabalho ($1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) foram preparadas por diluição simples das soluções estoque com acetonitrila (MeCN).

Todos os reagentes usados nas análises cromatográficas foram de grau HPLC: metanol (MeOH) e acetonitrila (MeCN) (J.T.Baker, Xalostoc, México). As soluções injetadas no cromatógrafo a líquido foram preparadas com água de alta pureza ($18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) de um aparelho Direct-Q 3 Ultrapure Water Systems da Millipore (<http://www.millipore.com>).

Ácido *orto*-fosfórico (H_3PO_4) 20% *v/v* e hidróxido de sódio (NaOH) 1 mol L^{-1} foram usados para o ajuste do pH (das soluções aquosas e do efluente hospitalar) na otimização da SPE e dos PAOs.

Água destilada foi utilizada como amostra de solução aquosa nos experimentos de degradação.

2.2 Fluxograma experimental

A figura 3 apresenta o fluxograma experimental do presente trabalho, enfatizando a etapa de: coleta de amostras de efluente hospitalar do HUSM; desenvolvimento da metodologia para a quantificação de PBs por SPE seguida de HPLC-DAD; aplicação de PAOs (fotólise e fotocatalise heterogênea) e avaliação do desempenho do catalisador de TiO_2 ; e identificação de subprodutos da oxidação avançada e metabólitos por Cromatografia

Líquida acoplada a Espectrometria de Massas em Série e Ionização Eletrospray (LC-ESI-MS/MS).

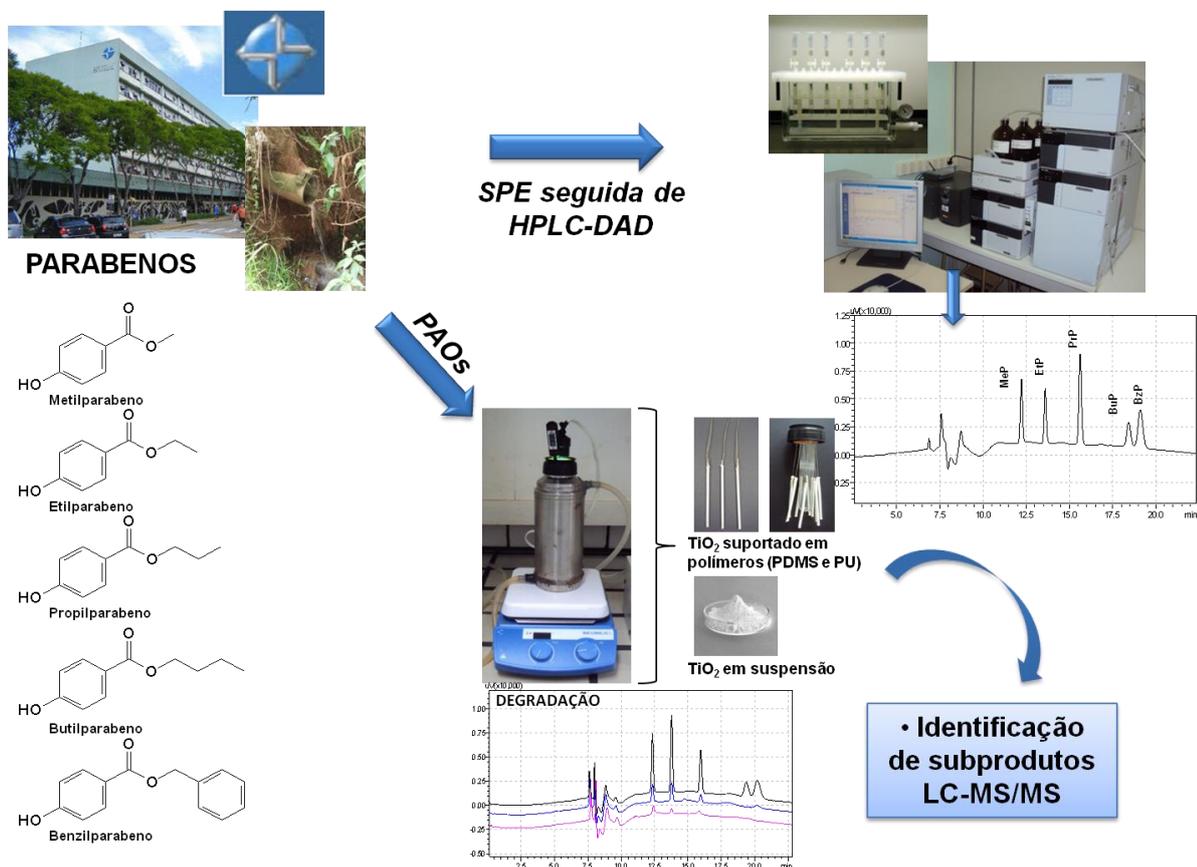


Figura 3 - Fluxograma experimental.

2.3 Coleta de amostras de efluente hospitalar

Esta pesquisa foi desenvolvida na cidade de Santa Maria, localizada na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram coletadas em dois pontos distintos, ambos, após o sistema de tratamento de efluentes (fossa séptica e filtro anaeróbio) do HUSM, denominados como 'Efluente Geral' (EG) e 'Corpo Receptor' (CR). Os pontos de coleta (ou amostragem) foram escolhidos levando-se em conta a saída da tubulação da corrente efluente da lavanderia do HUSM, em que há maior ocorrência de PBs.

O EG constitui a maior parte do esgoto lançado pelo HUSM, incluindo aí, a bloco principal do HUSM, as secções de oncologia e psiquiatria, a lavanderia do hospital e a biblioteca central da UFSM. A coleta do tratado foi feita sempre na saída da canalização para o corpo receptor, após o sistema tratamento. O segundo ponto é o corpo receptor, curso d'água natural, que recebe os efluentes, distante aproximadamente 12 metros do EG (primeiro ponto de coleta, figura 4).

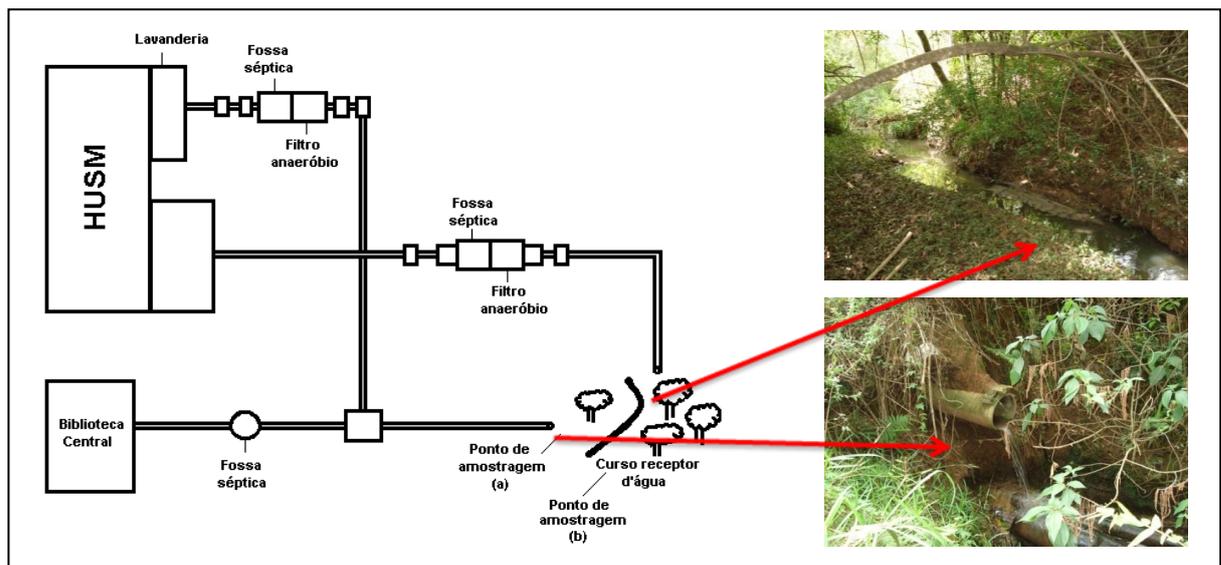


Figura 4 - Sistema de esgoto do HUSM e pontos de amostragem; (a) efluente geral (EG) e (b) corpo receptor (CR). Adaptado de: DA SILVA, 2012.

O procedimento de coleta adotado foi o de amostragem composta. Realizaram-se as coletas durante oito dias seguidos (22 a 30 de julho de 2012), das 8h às 20h, de hora em hora. No horário noturno, questões de segurança pessoal e o difícil acesso ao local impediram as coletas. As amostras foram imediatamente filtradas em filtro qualitativo (celulose, 26 μm) e ao fim do dia foram homogeneizadas, por fim, acondicionadas em frascos de polietileno e mantidas sob refrigeração (4–8 $^{\circ}\text{C}$) e no escuro (na geladeira).

Para garantir a segurança em termos de higiene ocupacional, na etapa de amostragem, todos os alunos participantes da pesquisa foram submetidos à de imunização contra algumas das principais doenças infecciosas (Hepatite A, B e tétano).

2.4 Determinação de PBs por SPE seguida de HPLC-DAD

2.4.1 Otimização do processo SPE

A otimização da SPE em efluente hospitalar para a extração de PBs foi feita através de DCCR, ou seja, um planejamento 2^2 incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições do ponto central, totalizando uma matriz experimental composta de 11 ensaios. Os parâmetros de extração otimizados foram: pH da água de lavagem e pH da amostra, ambas variando entre pH 4 e 10. As variáveis mais significativas do processo, segundo PAVLOVIC et al., 2007, foram estudadas através de testes prévios seguidos de planejamento multivariado.

Diferentes cartuchos de extração foram testados; dois cartuchos à base de sílica: Chromabond RP-18 ec (500 mg/3 mL) (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha), Strata C18 – E (200 mg/3 mL) (Phenomenex, Torrence, EUA) e um cartucho com base polimérica: Strata X (200 mg/3 mL) (Phenomenex, Torrence, EUA). A etapa de eluição foi testada com diferentes solventes: MeCN, MeOH:MeCN 90:10 e 95:5 v/v, MeOH, e MeOH 0,1% ácido fórmico.

A otimização multivariada foi feita com base nas recuperações obtidas a partir das amostras de efluente hospitalar, fortificadas. Os experimentos foram conduzidos com 4 mL de amostra, sem pré-concentração; a concentração final para a leitura no HPLC-DAD foi de $150 \mu\text{g L}^{-1}$, escolhida para verificar possíveis perdas por não retenção na etapa de passagem da amostra e adsorção dos analitos, bem como, na etapa de lavagem com água.

O procedimento geral para otimização da SPE está descrito no fluxograma da figura 5.

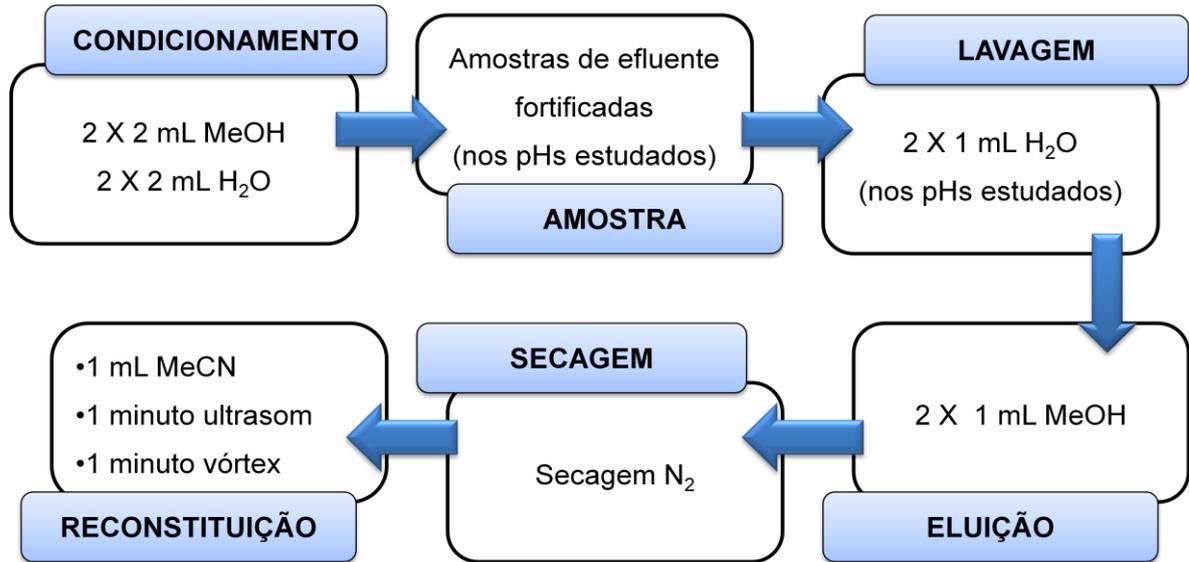


Figura 5 - Fluxograma experimental do procedimento da SPE para PBs.

Os experimentos foram conduzidos em ordem randômica. Um sistema Manifold a vácuo para SPE Varian e bomba de vácuo Weg modelo B481194 foram usados nas etapas de avaliação das variáveis até a validação do método. A passagem da amostra pelos cartuchos na etapa de otimização e validação da metodologia não ultrapassou a vazão de 2 mL min^{-1} .

Após otimização, uma pré-concentração de 200 vezes foi testada com concentrações para que se pudesse aproximar-se ao LQ do método cromatográfico e chegar-se a quantificação destes compostos no efluente hospitalar. Posteriormente a matriz (efluente hospitalar isento dos compostos em estudo) foi enriquecida com PBs nas mesmas concentrações testadas em solução para verificar o efeito da matriz na pré-concentração e etapa de *clean up*.

2.4.2 Determinação por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos (HPLC-DAD)

O sistema cromatográfico a líquido utilizado para a determinação de PBs foi um equipamento Shimadzu Prominence (Kyoto, Japão) com uma bomba quaternária (LC-20AT), degaseificador (DGU), amostrador automático (SIL-20A), detector de arranjo de diodos (SPD-M20A), modulo comunicador (CBM-20A) e Software LC Solution (Sinc do Brasil, São

Paulo, Brasil). A separação foi conduzida em coluna de fase reversa C18 Shim-pack CLC-ODS(M) (250 x 4,6 mm, 4 μ m) e pré-coluna Shimadzu G-ODS (4 mm). Na tabela 4 são descritas as condições cromatográficas para a determinação de PBs.

Tabela 4 - Condições cromatográficas utilizadas na separação de PBs.

Condições cromatográficas	
Coluna	Shim-pack CLC-ODS(M) (250 x 4,6 mm, 4 μ m)
Pré-coluna	Shimadzu G-ODS (4 mm)
Fase móvel	Fase orgânica: MeCN; Fase aquosa: Água milli-Q; 40% FA (0,1 – 10 min); FA 85% (10 – 15 min); FA 40% (15 – 23 min)
Vazão da fase móvel	0,6 mL min ⁻¹
Eluição	Modo gradiente
Comprimento de onda	259 nm
Volume de injeção	20 μ L
Tempo de retenção (min)	12,2 (MeP); 13,6 (EtP); 15,6 (PrP); 18,4 (BuP); 19,1 (BeP)
Corrida cromatográfica	23 minutos

2.5 Identificação de metabólitos e subprodutos por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial com ionização electrospray

O desenvolvimento da metodologia para identificação de metabólitos e subprodutos de oxidação avançada de PBs em efluente hospitalar por LC-ESI-MS/MS também teve como objetivo a determinação de PBs e metabólitos em água canalizada e superficial na cidade de Guadalajara, Jalisco, México. Esta etapa foi desenvolvida durante intercâmbio acadêmico (3 meses) na Universidade de Guadalajara. Os resultados referentes à determinação de PBs em águas estão descritos no Apêndice C.

Para a identificação dos metabólitos e produtos de degradação dos compostos PBs um sistema de cromatografia líquida Agilent Series 1100 (Agilent Technologies, USA) equipado com bomba binária, desgaseificador, forno para coluna e autosampler foi utilizado. As condições operacionais usadas foram às seguintes: Coluna Pinnacle 3 μ m, C18, 50 X 4,6 mm (Rastek); fase móvel acetonitrila e água Milli-Q, ambas com 0,1% de ácido fórmico, operando em modo isocrático 90:10 v/v, com uma vazão de 0,5 mL min⁻¹, volume de injeção de 20 μ L e temperatura do forno da coluna de 30 °C. As condições basearam-se na injeção de padrões de PBs em uma concentração de 1000 μ g L⁻¹.

A identificação/quantificação foi por meio de um equipamento Agilent Technologies modelo G6410B Triplo Quadrupolo LC/MS (Agilent Technologies, USA), fonte de ionização Turbo Ion Spray (electrospray). O software Mass Hunter Agilent Technologies foi usado para aquisição dos dados quantitativos e qualitativos.

A otimização das condições do espectrômetro de massas foi conduzida pela injeção direta de 20 μL de uma solução de trabalho de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ contendo os compostos PBs, separadamente, com vazão da fase móvel de 0,3 mL min^{-1} . O espectrômetro de massas foi operado em modo de aquisição de monitoramento de reações múltiplas (MRM). Condições operacionais da fonte de ionização foram: pressão do gás nebulizador 25 psi, temperatura do gás de nebulização 350 $^{\circ}\text{C}$, voltagem do capilar 4 kV e fluxo do gás de 10 L min^{-1} . A confirmação de cada composto foi realizada por 2 transições MRM e a transição MRM mais intensa foi selecionada para propósitos quantitativos.

Após as condições otimizadas, a identificação dos metabólitos nas amostras de efluente hospitalar (EG e CR) foi através da injeção direta das amostras (20 μL) para varredura do campo magnético (scan), seguido do monitoramento do íon selecionado (SIM) para identificar a m/z do íon precursor dos metabólitos a serem identificados e posteriormente a identificação dos íons produto gerados a partir do íon precursor em questão. Para experimentos de identificação de subprodutos de oxidação os mesmos procedimentos foram realizados.

2.6 Aplicação de PAOs para a degradação de PBs

2.6.1 Preparo de barras de TiO_2 imobilizada em polímeros

Para experimentos de fotocatalise heterogênea o catalisador TiO_2 foi imobilizado em polímeros preparados com adesivo comercial à base de PDMS (Henkel Ltda., Itapevi, SP, Brasil), cuja composição é borracha de silicone (polidimetilsiloxano), fungicida e ácido acético. Adesivo comercial à base de poliuretano (PU) (Brascola, Joenvile, SC, Brasil) constituído de adesivo selante monocomponente à base de polióis.

Utilizaram-se, ainda, para o preparo das barras de TiO_2 imobilizado nos polímeros (PDMS e PU), canudos de polipropileno (Regina Ind. Com. SA, Presidente Prudente, SP,

Brasil) e haste de aço galvanizado revestido com pintura epóxi (clipes metálicos) (Bacchi Ind. Com. Ltda., Embu, SP, Brasil). Todos os materiais foram adquiridos no comércio local (DA SILVA, 2012).

Barras cilíndricas (90 mm x ϕ 5 mm) foram preparadas utilizando 0,750 g de TiO_2 P-25 da Degussa. O catalisador foi misturado com 1,6 g de polidimetilsiloxano (PDMS) ou 4,5 g de poliuretano (PU), adesivos comerciais. As misturas foram acondicionadas no interior de canudos de polipropileno (90 mm; ϕ 5 mm), o qual serviu de molde. No interior do canudo contendo a mistura TiO_2 +polímero inseriu-se uma haste de aço galvanizado (200 mm) revestido com pintura epóxi. O conjunto foi submetido a processo de cura (5 a 7 dias, temperatura ambiente) e posteriormente o canudo foi removido. Um esquema da barra de TiO_2 imobilizado em polímeros é ilustrado na figura 6.

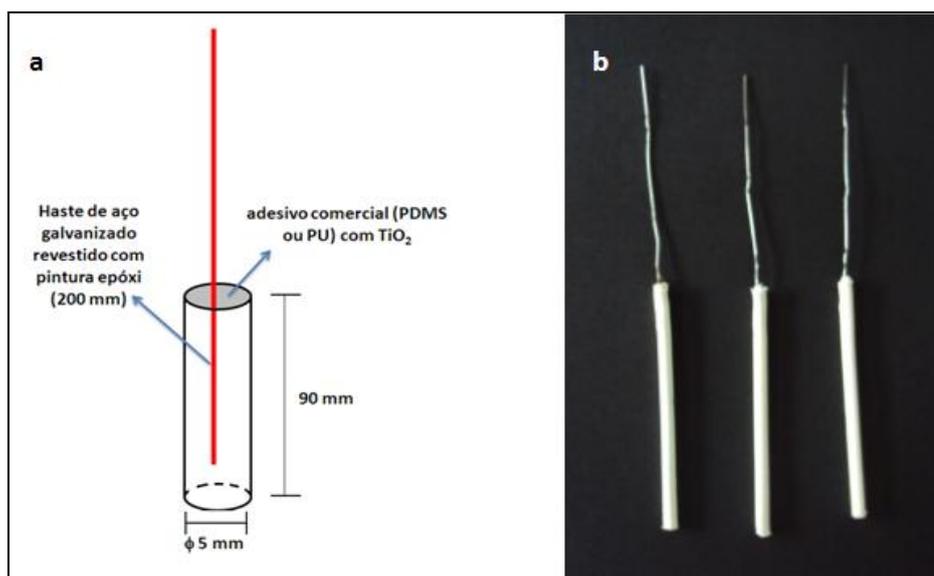


Figura 6 - (a) Esquema da barra de TiO_2 imobilizado em polímeros produzida em laboratório para a aplicação de PAOs; (b) foto das barras de PDMS/ TiO_2 . Fonte: DA SILVA, 2012.

2.6.2 Reator fotocatalítico

Para a aplicação dos processos oxidativos de degradação, fotocatalise heterogênea e fotólise, empregou-se um reator tipo tanque agitado *home made* com jaqueta termostática. A radiação UV foi gerada por lâmpada de vapor de mercúrio (Philips) de pressão média, 125 W

e 401 W m^{-2} . O bulbo de proteção original da lâmpada foi substituído por um tubo de quartzo imerso nas amostras.

Uma fonte Intral (<http://www.intral.com.br>) foi usada como fonte para a lâmpada de vapor de mercúrio. A temperatura foi controlada por meio de arrefecimento com circulação de água com gelo; para a recirculação da água usou-se uma bomba dosadora pulsante ProMinent (<http://www.prominent.com.br>). A agitação da solução foi feita com o auxílio de um agitador magnético IKA C-MAG HS 7 (<http://www.ika.com>) com barra de agitação, colocada no fundo do reator.

Durante os experimentos de fotocatalise heterogênea, as barras de TiO_2 imobilizado nos polímeros foram mantidas em volta do tubo de quartzo com lâmpada UV, fixadas em uma rolha de silicone que fecha o reator fotocatalítico. O monitoramento da temperatura da solução no interior do reator foi acompanhado com auxílio de um termômetro digital, também fixado na rolha de silicone, a qual contém um pequeno orifício para a coleta das amostras. O reator fotocatalítico e o sistema completo utilizado na aplicação dos PAOs é representado no esquema da figura 7.

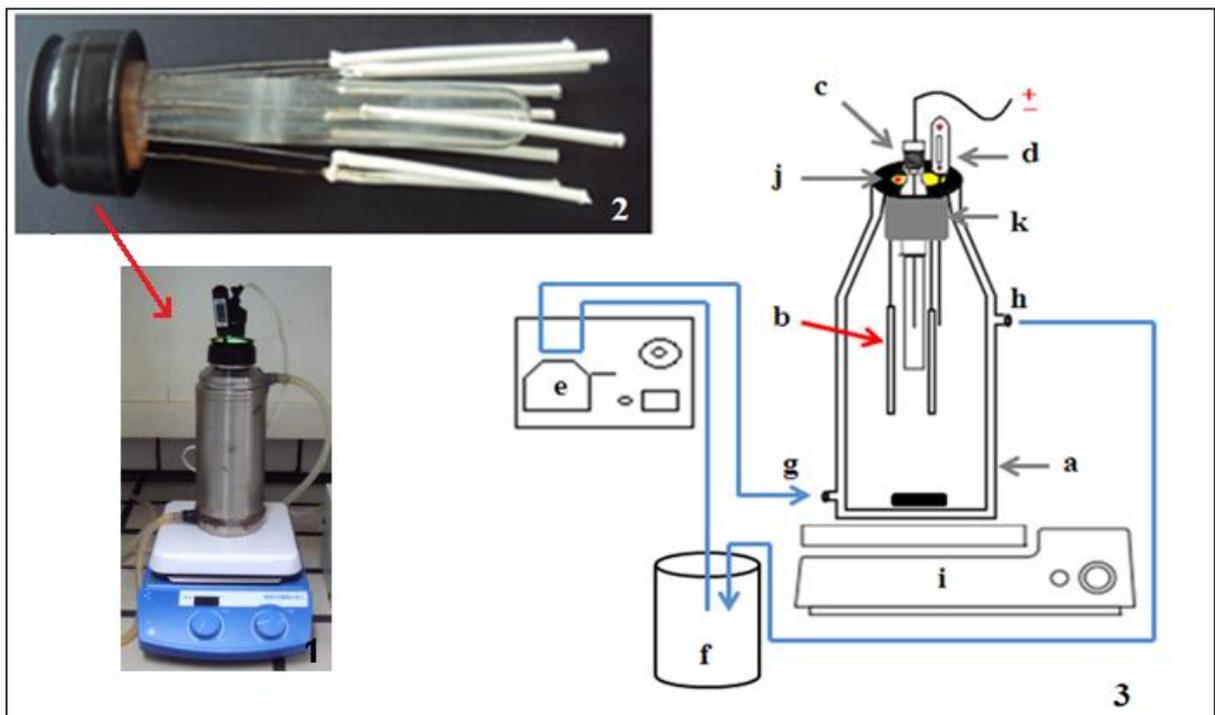


Figura 7 - (1) Reator tanque agitado *home made* utilizado na aplicação dos PAOs. (2) Barras poliméricas, com TiO_2 suportado, em volta do tubo de quartzo. (3) Esquema representativo do sistema fotocatalítico: (a) reator – vista interna; (b) barras poliméricas com TiO_2 suportado; (c) lâmpada UV com tubo protetor de quartzo; (d) termômetro digital; (e) bomba dosadora; (f) reservatório com água e gelo; (g) entrada e (h) saída de água; (i) agitador magnético; (j) orifício para coleta de amostras; (k) rolha de silicone. Fonte: DA SILVA, 2012.

As condições características do reator empregado na degradação de PBs em solução aquosa e em efluente hospitalar são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Caracterização do reator utilizado na degradação de PBs.

Características	Especificação
Tipo de reator	tanque agitado jaqueta termostática
Dimensão interna	19 x 7 cm
Capacidade	800 mL
Material	Aço inox
Área superficial interna	~ 0,04 m ²
Resfriamento	Água gelada
Radiação UV	254 nm
	Pressão Média
Lâmpada	Potência 125 W
	Intensidade 401 W m ⁻²
Fonte para lâmpada	220 V; 60 Hz
Tubo de quartzo	$\phi_e = 24$ mm; $\phi_i = 22$ mm; h = 200 mm
Barras agitação magnética	3 x 0,5 cm
Velocidade de agitação	750 rpm
Fluxo de fótons* q (mol s ⁻¹)	$1,06 \times 10^{-4} \pm 1,45 \times 10^{-5}$
Eficiência fotônica* ζ (%)	$16,07 \pm 0,55$

* Método Actinométrico (Ver anexo B)

2.6.3 Otimização dos PAOs

A otimização das variáveis para o processo de degradação de PBs, em solução aquosa e em amostras de efluente hospitalar fortificado com PBs, foi feita por meio de planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}), com três variáveis independentes e três níveis. A matriz experimental resultante é composta de 11 ensaios, dentre eles três replicatas do ponto central (PC).

As variáveis independentes investigadas no planejamento fatorial foram: temperatura, pH e catalisador (presença ou ausência de TiO_2 suportado em polímeros – PDMS ou PU). O tempo de irradiação utilizado na degradação de PBs foi de 120 min.

Testes prévios, em solução aquosa e efluente hospitalar fortificado com PBs, foram feitos para avaliar o desempenho do sistema com catalisador TiO_2 em suspensão (0,750 g – mesma quantidade utilizada no preparo das barras de TiO_2 suportado) e imobilizado nos polímeros (PDMS e PU), utilizando o mesmo sistema fotocatalítico com o reator *home made* e as condições apresentadas anteriormente na tabela 5.

2.6.4 Estudo cinético

A partir das condições otimizadas pelo planejamento fatorial foram feitos estudos cinéticos. Os experimentos foram repetidos (triplicata), nas melhores condições otimizadas, e alíquotas foram coletadas a cada 5 minutos de reação durante os 120 minutos. As alíquotas coletadas foram levadas para análise em HPLC-DAD. Os dados obtidos foram tratados conforme as curvas de ordem zero e primeira ordem.

2.6.5 Espectro de emissão da lâmpada UV

Na figura 8 é apresentado o espectro de emissão da lâmpada UV 125 W, e pode se observar a emissão em 254 nm. Para este procedimento, utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica colocando-se a lâmpada de vapor de mercúrio no local destinado às lâmpadas do aparelho (WILDE, 2006; DA SILVA et al., 2012). Com isso foi possível perceber que o tubo de quartzo utilizado como protetor nos experimentos de fotólise e fotocatalise heterogênea não interferem na penetrabilidade da radiação nas amostras.

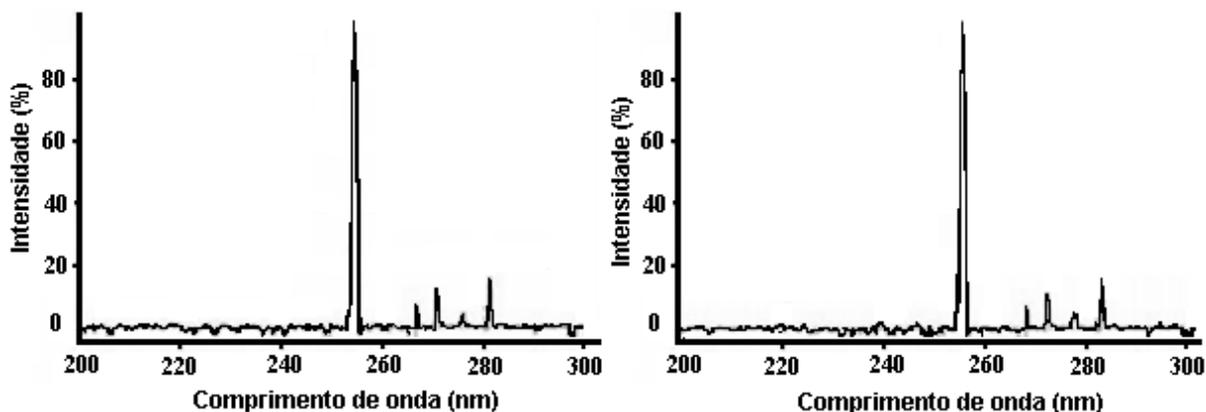


Figura 8 - Espectro de emissão da lâmpada de vapor de mercúrio usada na aplicação de PAOs: (a) sem bulbo de proteção e (b) com o bulbo de proteção. Fonte: WILDE, 2006; DA SILVA, 2012.

2.7 Gerenciamento de resíduos do laboratório

Os resíduos gerados no LATER são, primeiramente, segregados e, após isto, encaminhados ao Programa de Gerenciamento de Resíduos Químicos do Departamento de Química da UFSM, que destina os resíduos à firma especializada, credenciada em tratamento de resíduos químicos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Métodos de determinação e identificação de PBs e de metabólito

3.1.1 Método HPLC-DAD para PBs

O desenvolvimento da método analítico HPLC-DAD para determinação de PBs em efluente hospitalar, descritos no item 2.4, foi previamente estudada em trabalhos consultados na literatura e usados como base (NUÑEZ et al., 2010).

A separação cromatográfica foi conduzida em modo gradiente, usando mistura de água e acetonitrila como fase móvel, conforme condições descritas no item 2.4.2. A coluna cromatográfica foi equilibrada com fase móvel durante 1 minuto, antes da primeira injeção. As condições cromatográficas como vazão, gradiente de fase móvel e comprimento de onda, foram ajustados, visando uma cromatografia com menos interferentes e melhor resolução entre os picos dos analitos, levando em conta a complexidade da matriz (efluente hospitalar). O cromatograma HPLC-DAD obtido para PBs estão na figura 9.

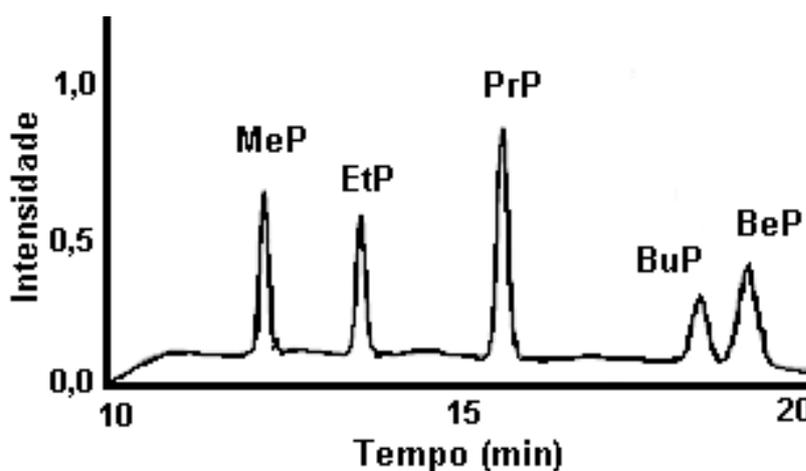


Figura 9 - Cromatograma HPLC-DAD dos analitos PBs ($150 \mu\text{g L}^{-1}$) em 259 nm.

A validação do método instrumental, ou seja, a resposta do equipamento às condições cromatográficas aplicadas foi feita pela injeção de soluções-padrão dos PBs em sete níveis de concentração (Ver anexo – A). Etapa que permitiu a obtenção do limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ), bem como, a construção da curva de calibração para aquisição dos dados necessários às principais figuras-de-mérito (Tabela 6).

Tabela 6 - Figuras-de-mérito do método HPLC-DAD para PBs.

Analito	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	r^{2a}	LD^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ^c ($\mu\text{g L}^{-1}$)
MeP	15-360	0,999	3,1	10,3
EtP	10-240	0,997	2,7	8,9
PrP	23-540	0,999	5,0	16,6
BuP	23-540	0,998	4,6	15,3
BeP	10-240	0,998	2,9	8,3

^apara 7 níveis de concentração.

^bLimite de detecção para S/N = 3 ($n=3$).

^cLimite de quantificação para S/N = 10 ($n=3$).

3.1.2 Otimização multivariado do método SPE

Estudos individuais foram feitos objetivando eliminar algumas variáveis do processo. Primeiramente, foram testados três diferentes cartuchos, conforme citados no item 2.4.1 e as recuperações alcançadas são descritas na tabela 7.

Tabela 7 - Recuperações dos compostos PBs em diferentes cartuchos de SPE (N5).

Cartuchos de SPE	Rec_{MeP}%	Rec_{EtP}%	Rec_{PrP}%	Rec_{BuP}%	Rec_{BeP}%
Strata C18 – E	53,2 ± 3,4	70,6 ± 5,8	99,9 ± 7,4	101,1 ± 8,2	92,2 ± 7,9
Strata X	58,6 ± 12,4	108,1 ± 10,9	80,2 ± 8,9	80,2 ± 11,4	28,6 ± 8,3
Cromabond C18 ec	245,7 ± 18,9	143,5 ± 15,3	99,4 ± 10,4	126,9 ± 13,4	86,6 ± 7,4

Valores muito elevados de recuperação são indícios de que, algum interferente está eluindo ao mesmo tempo em que o analito. O cartucho Strata C18-E apresentou valores de

recuperação mais próximo dos valores recomendados pela ANOVA, variando entre 53,2% - 101,1% e RSD de 3,4% - 8,2%.

Avaliações com diferentes solventes de eluição foram realizados e o solvente metanol foi mais apropriado para a extração, proporcionando melhores taxas de recuperação. LEE et al (2005) desenvolveram método (SPE) para extração de compostos fenólicos e outros PPCPs em águas residuais, para isso, escolheram como solvente de eluição o metanol, devido ser o solvente mais apropriado para extração de compostos fenólicos.

As variáveis que se mostraram mais significativas para extração de PBs foram: pH da amostra e pH da água de lavagem, por isso, tais variáveis foram avaliadas através de DCCR, ou seja, 2^2 incluindo 4 ensaios na condições axiais e 3 repetições do ponto central, totalizando 11 experimento. A tabela 8 apresenta a matriz de delineamento com seus 11 ensaios, e a taxa de recuperação (%) de cada analito.

Tabela 8 - Matriz do DCCR, variáveis independentes e resultados da recuperação de PBs.

Item	Variáveis↓	Níveis→					
		-1,41	-1	0	1	1,41	
X ₁	pH da amostra	4	5	7	9	10	
X ₂	pH da H ₂ O	4	5	7	9	10	
Exp.	pH da amostra	pH da H ₂ O	Rec. _{MeP} (%)	Rec. _{EtP} (%)	Rec. _{PtP} (%)	Rec. _{BiP} (%)	Rec. _{BzP} (%)
1	5 (-1)	5 (-1)	107,8	98,5	100,5	101,4	111,4
2	9 (1)	5 (-1)	106,8	102,1	101,4	81,1	88,1
3	5 (-1)	9 (1)	91,2	99,7	98,6	105,0	131,6
4	9 (1)	9 (1)	90,7	86,3	92,9	97,9	97,8
5	4 (-1,41)	7 (0)	109,7	103,6	107,1	136,2	143,1
6	10 (1,41)	7 (0)	81,3	88,5	91,3	118,8	94,8
7	7 (0)	4 (-1,41)	78,6	92,5	101,2	59,5	119,6
8	7 (0)	10 (1,41)	90,9	90,3	93,5	100,3	94,6
9	7 (0)	7 (0)	95,1	100,0	99,9	83,2	95,0
10	7 (0)	7 (0)	112,5	100,2	100,0	86,1	98,4
11	7 (0)	7 (0)	111,7	97,8	97,1	87,8	94,7

Os parâmetros da ANOVA para o modelo foram utilizados na análise estatística. A ANOVA para o MeP mostra que o coeficiente de regressão ($R^2 = 0,73$) não foi significativo pois, 27% da variância não é explicada pelo modelo proposto. Os demais PBs obtiveram R^2 altamente significativos, como pode ser avaliado na tabela 9, podendo concluir que o modelo se ajusta bem aos dados experimentais.

Tabela 9 - Coeficientes de determinação do modelo para a extração de PBs.

Analito	Coeficiente de determinação do modelo (R^2)
MeP	0,73
EtP	0,84
PrP	0,82
BuP	0,92
BeP	0,94

A faixa de estudo do pH levou em consideração que em $\text{pH} < 3$ os PBs apresentam-se na forma protonada e que sua maior estabilidade encontra-se em pH em torno de 5.

Segundo o diagrama de Pareto (Figura 10) o estudo das variáveis não mostrou nenhuma influência na extração de MeP com 95% de confiança. No entanto a variável linear (L) do pH da amostra apresentou significância para EtP e PrP exercendo efeito negativo sobre estes, ou seja, a variação do nível -1 ao nível +1 causa a diminuição das taxas de recuperação. Para BuP, as variáveis quadrática (Q) do pH da amostra e pH da água (L) apresentaram efeitos positivos, ou seja, do nível -1 ao nível +1 houve aumento da taxa de extração. O BeP foi influenciado pela variável (L + Q) pH da amostra de maneira negativa.

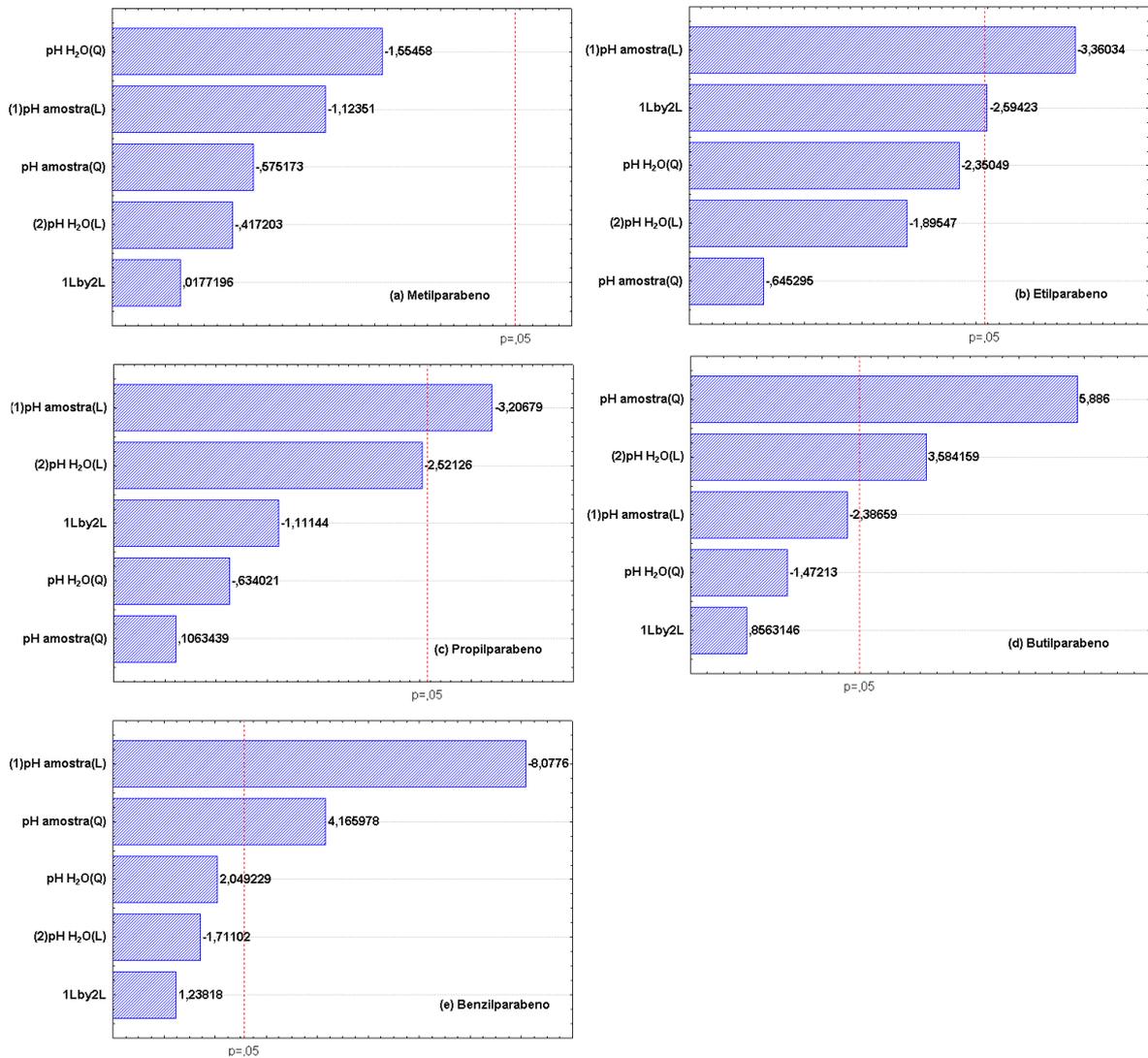


Figura 10 - Diagrama de pareto para SPE de PBs.

O pKa dos compostos PBs variam de 8,22 até 8,47 e apresentam-se em sua forma não ionizada no intervalo de pH que varia entre 3 e 6, sendo assim possuem maior interação com a sílica do cartucho, ou seja, maior retenção em pHs levemente ácidos (LEE et al., XU et al. 2013).

O efeito do pH da amostra e pH da água de lavagem na recuperação de PBs pode ser acompanhado no diagrama de valores preditos da função de desejabilidade para extração/recuperação de PBs. Como pode ser observado nos diagramas de valores preditos para a maioria dos compostos PBs estudados a faixa de maior extração/recuperação encontrou-se quando o pH foi mantido ajustado entre 4 e 7.

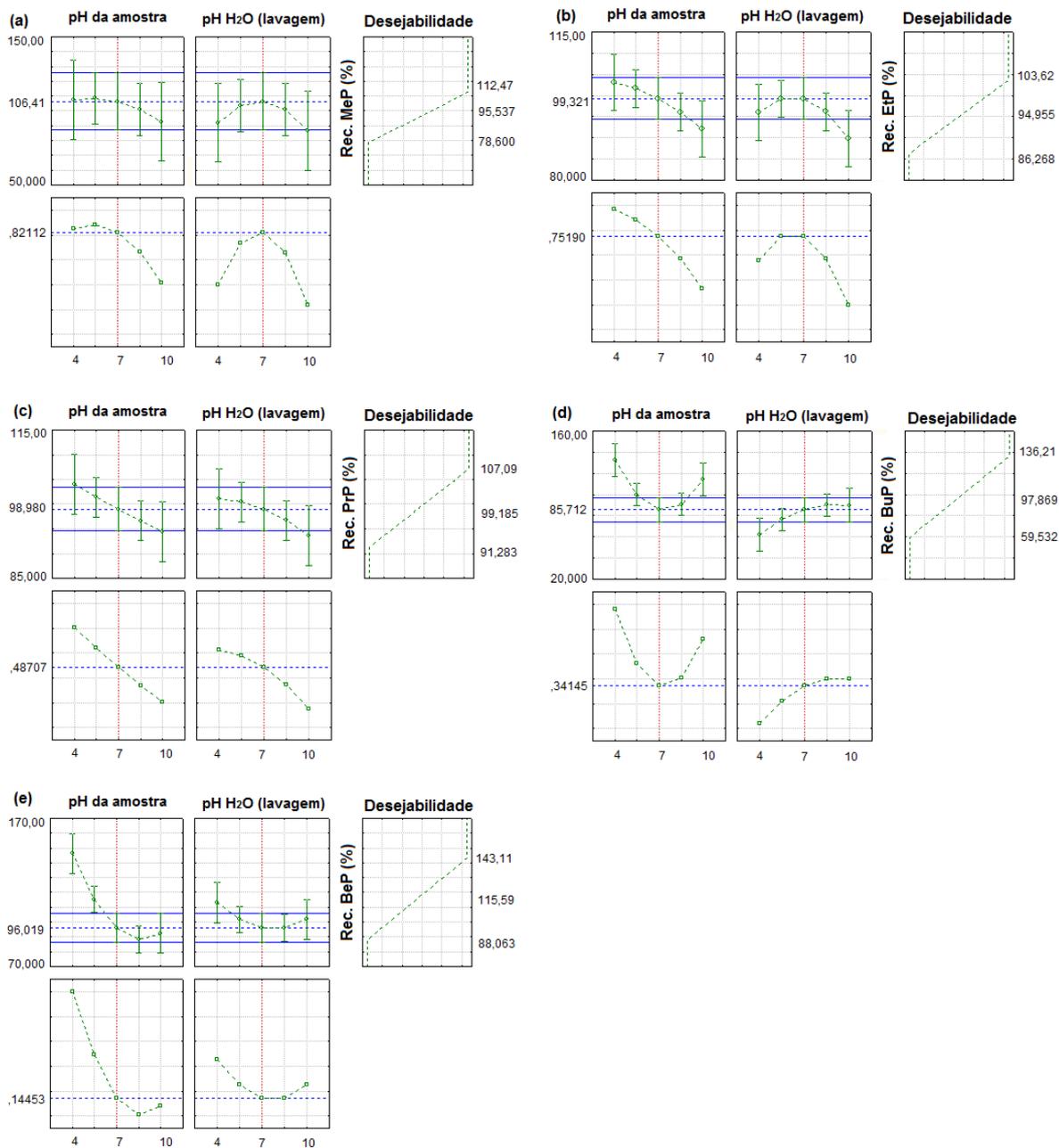


Figura 11 - Perfis para os valores preditos e desejabilidade da recuperação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP.

Segundo diagrama de pareto nenhuma variável foi significativa para a extração/recuperação do MeP, o que podemos confirmar através do diagrama de desejabilidade (Figura 11a) onde praticamente todos os níveis estudados ficaram ajustados em torno dos valores médios. Porém, pode-se afirmar através dos gráficos de tendência que as

taxas mais elevadas de recuperação foram alcançadas em pHs da amostra entre 4 e 7, pH da H₂O de lavagem igual a 7.

Avaliando o perfil das duas variáveis, associadas a sua desejabilidade, pode-se concluir que as condições ótimas para a extração de EtP foram quando o pH da amostra foi ajustado para 4 e o pH da H₂O de lavagem ficou entre 5,5 e 7 (Figura 11b).

Comportamento semelhante pode ser observado para PrP na variável pH da amostra, onde, a melhor condição foi obtida em pH igual a 4. Já para a variável pH da H₂O de lavagem, o ajuste para pH ácido (4) alcança recuperações em torno de 100% (Figura 11c).

Segundo o perfil do diagrama de desejabilidade (Figura 11d) a diminuição do pH da amostra acarreta o aumento na porcentagem de recuperação do BuP. Ao contrário disso, a recuperação é favorecida para pH da H₂O de lavagem básicos, como mostrou os valores significativos e positivos do diagrama de Pareto.

O composto BeP alcançou sua melhor taxa de extração/recuperação em valores ácidos de pH em ambas as variáveis investigadas, como mostra o gráfico de tendência da Figura 11e.

Com base nos diagramas de Pareto e perfis de desejabilidade as melhores condições para a extração de PBs, em matriz de efluente hospitalar, pela aplicação do planejamento fatorial são apresentadas na tabela 10.

Tabela 10 - Condições ótimas para a extração de PBs por SPE

Variáveis independentes	Matriz
pH amostra	pH 5
pH H ₂ O de lavagem	pH 5

O condicionamento do sorvente em SPE é um fator determinante para preparar a retenção dos analitos de interesse. Assim, para melhor ativação do sorvente, a primeira etapa do condicionamento foi conduzida com solvente metanol, seguido por água, em ordem crescente de polaridade (WILDE et al., 2012). Sendo assim, a variável pH da H₂O de lavagem não apresentou significância na extração de PBs, ou seja, a etapa de lavagem do cartucho de SPE, feito nas mesmas características do condicionamento não resultou em perdas dos analitos com a mudança do pH da água.

3.1.3 Aplicação da metodologia SPE

A metodologia SPE foi validada, primeiramente, em solução aquosa em 3 níveis de concentração (dentro da faixa linear do método) e, posteriormente, em efluente hospitalar (livre de PBs, matriz isenta), fortificado com concentrações conhecidas dos PBs para testes de duzentas vezes de recuperação. A tabela 11 mostra a recuperação alcançada, bem como, RSD% em cada nível avaliado.

Tabela 11 - Recuperações de PBs em solução aquosa e efluente hospitalar em diferente níveis de concentração para metodologia SPE seguida de HPLC-DAD ($n = 3$).

Analito	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Solução Aquosa		Efluente Hospitalar	
		Média (%) ($n=3$)	RSD%	Média (%) ($n=3$)	RSD%
MeP	1,8	83,4	8,0	78,4	8,0
	0,9	105,0	9,2	79,0	10,2
	0,07	78,0	7,5	72,0	7,5
EtP	1,2	95,0	5,0	93,0	15,5
	0,6	93,0	8,0	96,0	8,0
	0,05	101,0	6,2	106,0	6,2
PrP	2,7	109,0	3,5	100,0	6,5
	1,3	102,0	7,0	98,0	7,0
	0,1	92,0	12,0	82,0	12,0
BuP	2,7	95,0	9,4	95,0	9,4
	1,3	95,0	1,5	85,0	8,5
	0,1	87,0	1,3	89,0	7,3
BeP	1,2	75,0	13,0	105,0	13,0
	0,6	86,0	11,5	88,0	11,5
	0,05	98,0	9,7	78,0	9,7

RIBANI et al. (2004) afirma que os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica da amostra o valor pode variar de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$. Os dados obtidos para recuperação de PBs nos testes de validação variaram de 75,0 – 109,0% com RSD 1,0 – 13,0% em solução aquosa e de 72,0 – 106,0% com RSD 7,0 – 15,5% em efluente enriquecido com os compostos o que mostra que a

metodologia analítica proposta para determinação de PBs em efluente hospitalar está de acordo com as normas estabelecidas.

3.1.4 Figuras-de-mérito da metodologia SPE seguida de HPLC-DAD

A validação da metodologia foi feita considerando a pré-concentração necessária nas determinações dos compostos nas amostras de efluente hospitalar. Na validação do método SPE seguida de HPLC-DAD foram conseguidas as seguintes figuras-de-mérito (Tabela 12).

Tabela 12 - Figuras-de-mérito da metodologia de determinação de PBs por SPE seguida de HPLC-DAD.

Analito	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	r^2	LD^a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)
MeP	0,07-1,80	0,999	0,015	0,051
EtP	0,05-1,20	0,997	0,013	0,044
PrP	0,12-2,70	0,999	0,025	0,083
BuP	0,12-2,70	0,998	0,023	0,076
BeP	0,05-1,20	0,998	0,014	0,046

^bLimite de detecção para S/N = 3 ($n=3$).

^cLimite de quantificação para S/N =10 ($n=3$).

Os coeficientes de correlação (r^2) do método de determinação de PBs, SPE seguida de HPLC-DAD, variaram de 0,997 a 0,999, alcançando assim, valores satisfatórios. Segundo a ANVISA o critério mínimo aceitável é $r = 0,99$. As curvas analíticas foram construídas com 7 níveis de concentração, a ANVISA recomenda um mínimo de 5 níveis. Os limites de detecção (LDs) e limites de quantificação (LQs), levando-se em conta os fatores de pré-concentração de 200 vezes, foram obtidos com base nos cálculos da relação sinal ruído (S/N:3 e S/N:10 respectivamente), os valores variaram de 0,013 a 0,025 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o LDs e de 0,044 a 0,083 $\mu\text{g L}^{-1}$ para LQs.

A pureza dos picos foi averiguada pelo detector DAD e as respostas encontradas foram $> 0,999$ para MeP, EtP, PrP, BuP e BeP, mostrando que a metodologia é seletiva para os cinco conservantes estudados.

3.1.5 Determinação de PBs em efluente hospitalar por SPE seguida de HPLC-DAD

A amostragem de efluente hospitalar para determinação e quantificação dos PBs foi feita em dois pontos de amostragem, durante 8 dias, conforme descrito no item 2.3. As amostras compostas diárias foram submetidas à etapa de *clean up*/extração por SPE (triplicata) e posteriormente à determinação por HPLC-DAD, segundo condições descritas nos itens 3.5.1 e 3.4.1, respectivamente. Os gráficos de concentrações diárias quantificadas para os PBs nos dois pontos de amostragem estão expostos na figura 12. A tabela de concentração e respectivos RSDs são apresentados em anexo (Ver Apêndice - B).

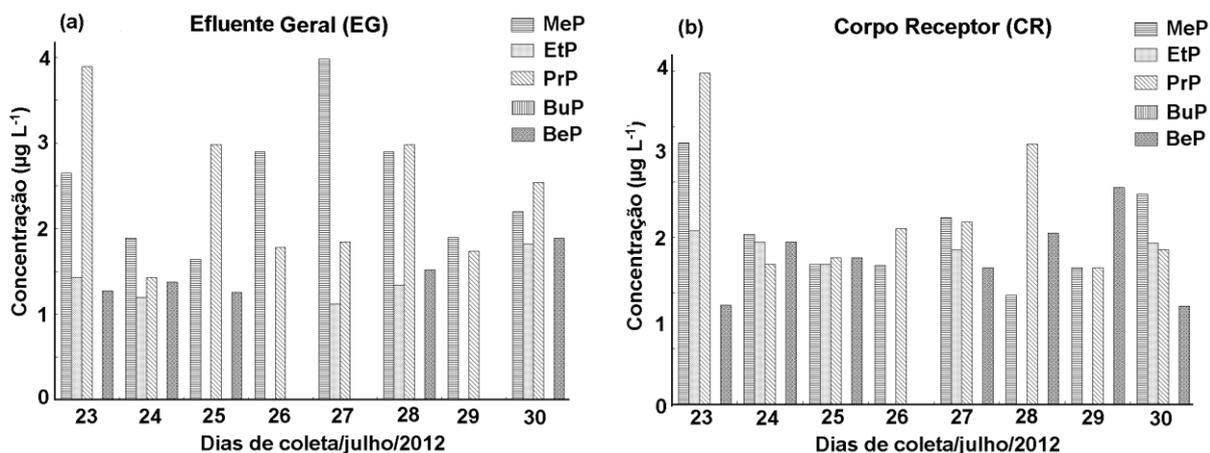


Figura 12 - Concentrações diárias de PBs detectadas nos pontos de coleta (a) EG e (b) CR.

As concentrações encontradas em ambos os pontos de amostragem são bastante semelhantes, resultado que pode ser atribuído à proximidade entre os pontos de coleta, onde, não há diluição significativa. Outro fator importante é o descarte, no CR, do efluente hospitalar referente ao pronto atendimento (PA) do HUSM, que pode conter concentrações consideráveis de PBs.

MeP e PrP foram encontrados em concentrações mais elevadas em ambas as amostras analisadas. As concentrações de MeP no EG do HUSM foram detectadas na faixa de 1,64 – 3,90 $\mu\text{g L}^{-1}$ com RSD variando entre 5,6 e 10,2% e no ponto CR do HUSM as concentrações ficaram entre 0,98 – 2,35 $\mu\text{g L}^{-1}$ e RSD 6,8 e 11,2%. O PrP foi encontrado em concentrações

que variaram de 1,43 – 3,89 $\mu\text{g L}^{-1}$ (RSD 5,6 – 9,3%) e 1,23 – 2,98 $\mu\text{g L}^{-1}$ (RSD 5,1 – 9,0%) nos pontos de coleta EG e CR respectivamente.

Dentre os conservantes estudados neste trabalho o MeP e PrP são os mais comumente utilizados em cosméticos, muitas das vezes juntos devido seus efeitos sinérgicos. Estudos sobre a ocorrência de PBs em diferentes tipos de matrizes também os têm detectado em concentrações mais elevadas quando comparados aos demais PBs (MARIÑO et al., 2011; ALBERO et al., 2012; JONKERS et al., 2010). BuP apresentou concentrações abaixo do LD do método em todas as amostras analisadas.

Não foram encontrados relatos na literatura sobre a determinação de PBs em amostras de efluente hospitalar. No entanto, estudos apontam a ocorrência de PBs em amostras de efluente doméstico, ETEs e rios em concentrações semelhantes às encontradas no efluente do HUSM. MARIÑO et al (2011) reportaram que MeP e PrP foram encontrados em concentrações de 0,3 – 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ em ETEs. Em 2008, PENG et al estudaram a ocorrência destes mesmos PBs em amostras de água de rio no sul da China, as concentrações encontradas ficaram na faixa de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para MeP e PrP. Quatro PBs (MeP, EtP, PrP e BuP) foram encontrados em uma concentrações que variaram de 0,2 – 2,43 $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de efluente doméstico (LEE et al., 2005).

3.1.6 Otimização da análise de PBs no sistema LC-ESI-MS/MS

A otimização das condições do EM foi realizada conforme descrito no item 2.5. A Tabela 13 apresenta as principais condições operacionais usadas para identificação dos metabólitos e produtos de degradação. A polaridade da fonte de ionização, íon precursor, íon produto, voltagem de fragmentação e energia de colisão, foram otimizados a partir dos cinco experimentos apresentados a seguir.

Tabela 13 - Condições operacionais do espectrômetro de massas para PBs.

Composto	Íon Precursor	Íon Produto	Energia de fragmentação (V)	Energia de Colisão (V)	Polaridade da fonte
MeP	151,1	92,1	70	20	Negativa
EtP	165,1	92,1	40	20	Negativa
PrP	179,1	92,1	20	20	Negativa
BuP	193,1	92,1	45	20	Negativa
BeP	227,1	92,1	20	15	Negativa

Na figura 13 encontram-se os espectros de massas do experimento MS2 Scan do padrão de MeP, EtP, PrP, BuP e BeP com as respectivas m/z do íons precursores, identificados em modo negativo de ionização. Em (a) pode-se observar o MeP, m/z 151,1; em (b) o EtP, m/z 165,1; (c) o PrP, m/z 179,1; em (d) o BuP, m/z 193,1; e em (e) o BeP, m/z 227,1.

A definição da energia de fragmentação, ou seja, aquela que proporciona a maior abundância relativa de m/z para cada compostos é definida através de experimentos de MS2 SIM. Na figura 14 pode-se observar que as melhores energias de fragmentação variaram entre 20 e 70 V proporcionando uma abundância relativa fixada entre 10^5 e 10^6 para os cinco PBs, demonstrando fragmentação adequada para os compostos estudados.

O íon precursor é fixado para a definição da melhor energia de colisão para o fragmento de quantificação dos PBs, baseando-se na abundância de sinal do íon produto de cada analito. Pode-se observar na figura 15 que o fragmento de maior intensidade de sinal de m/z 92,1, é comum aos cinco PBs. Fato este explicado pela semelhança na estrutura destes compostos (PEDROUZO et al., 2009). Sendo que para o MeP, EtP, PrP e BuP o fragmento obteve maior intensidade com a energia de colisão ótima de 20 V e para o BeP a maior intensidade de sinal foi com uma energia de colisão de 15 V.

Para confirmação do íon precursor a m/z do íon produto foi fixada bem como as condições de voltagem de fragmentação e energia de colisão previamente definidas. Através da figura 16 pode-se confirmar o íon produto como sendo o m/z 92,1 já que, os íons precursores dos PBs foi confirmada.

Para finalizar, a confirmação do íon precursor foi feita através da perda de masa neutra entre o precursor e o produto. A perda de massa neutra sugerida para o MeP foi de 59,02; para EtP foi 73,0; para PrP 87,0; BuP 101,0 e para BeP 135,0. Na figura 17 os espectros podem ser analisados.

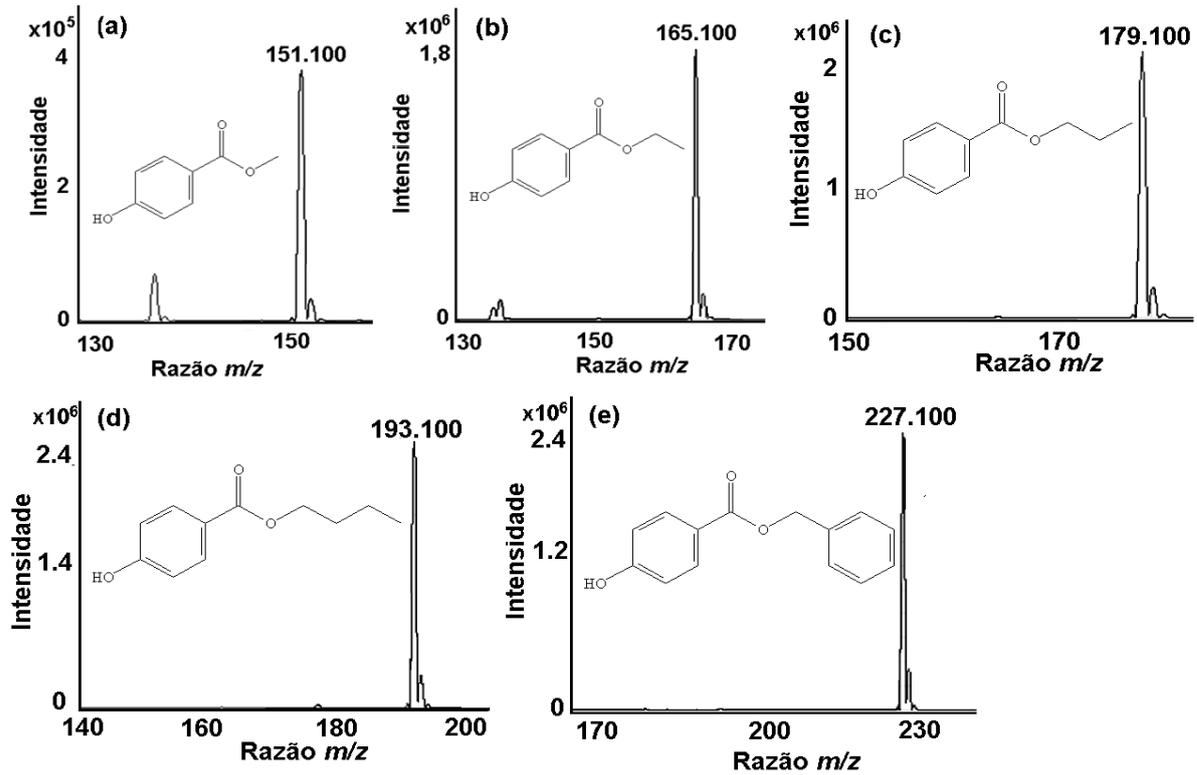


Figura 13 - Espectro de massas referente ao experimento de MS2 Scan para (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP.

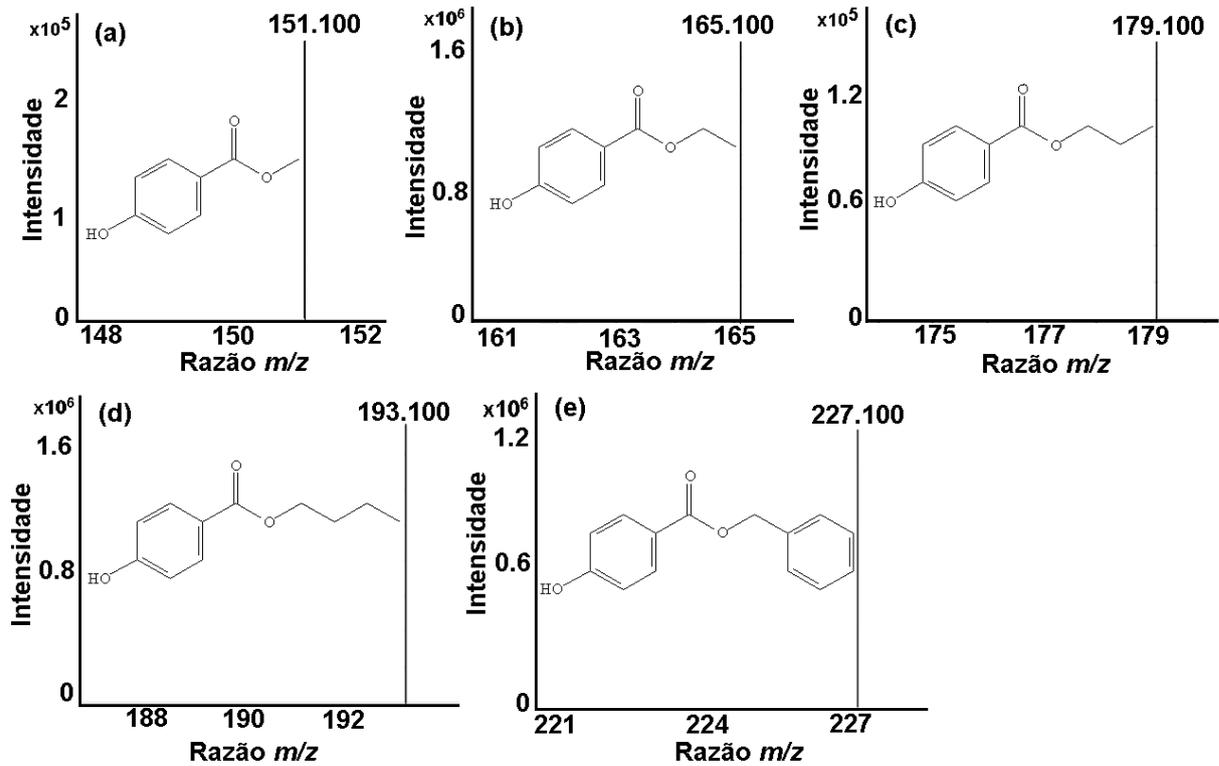


Figura 14 - Abundância do íon precursor dos PBs a partir da otimização da energia de fragmentação para (a) MeP, 70 V; (b) EtP, 40 V; (c) PrP, 20 V; (d) BuP, 45 V; (e) BeP, 20 V.

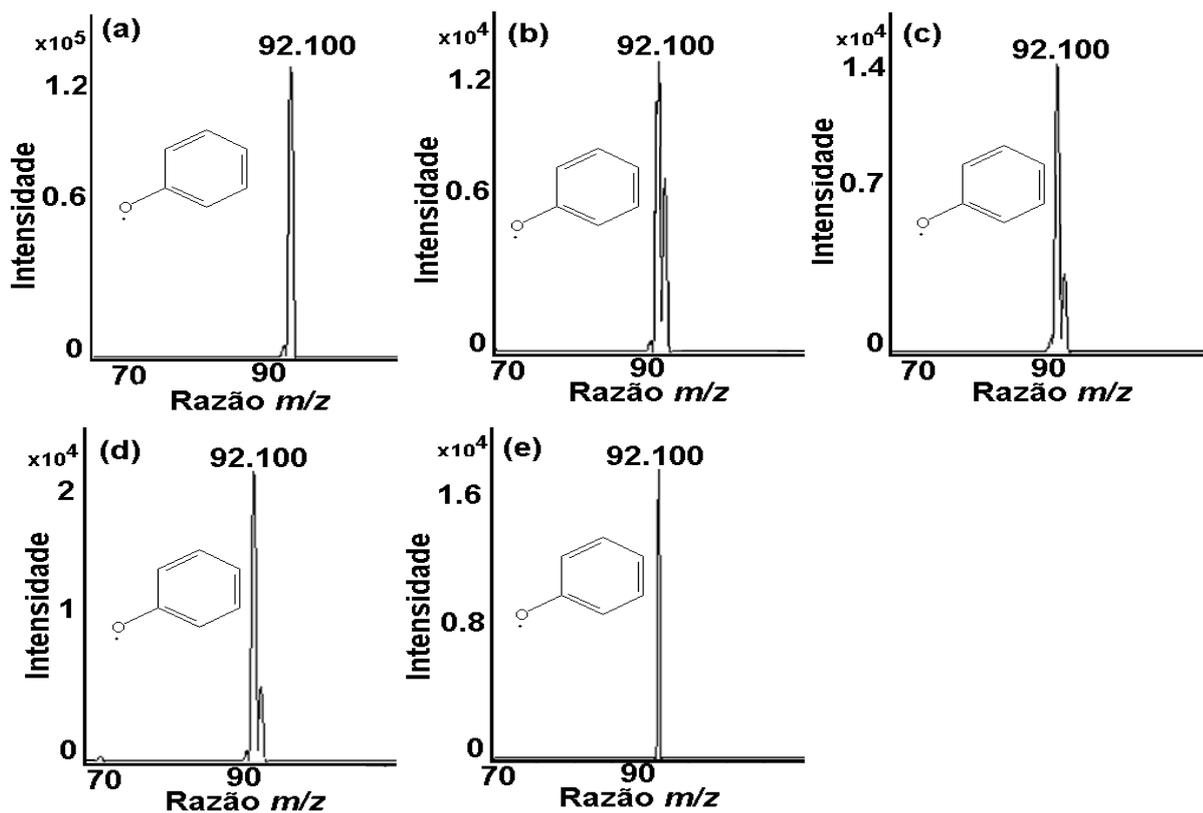


Figura 15 - Espectro de íon produto com energia de colisão otimizada para (a) MeP, 20 V; (b) EtP, 20 V; (c) PrP, 20 V; (d) BuP, 20 V; (e) BeP, 15 V.

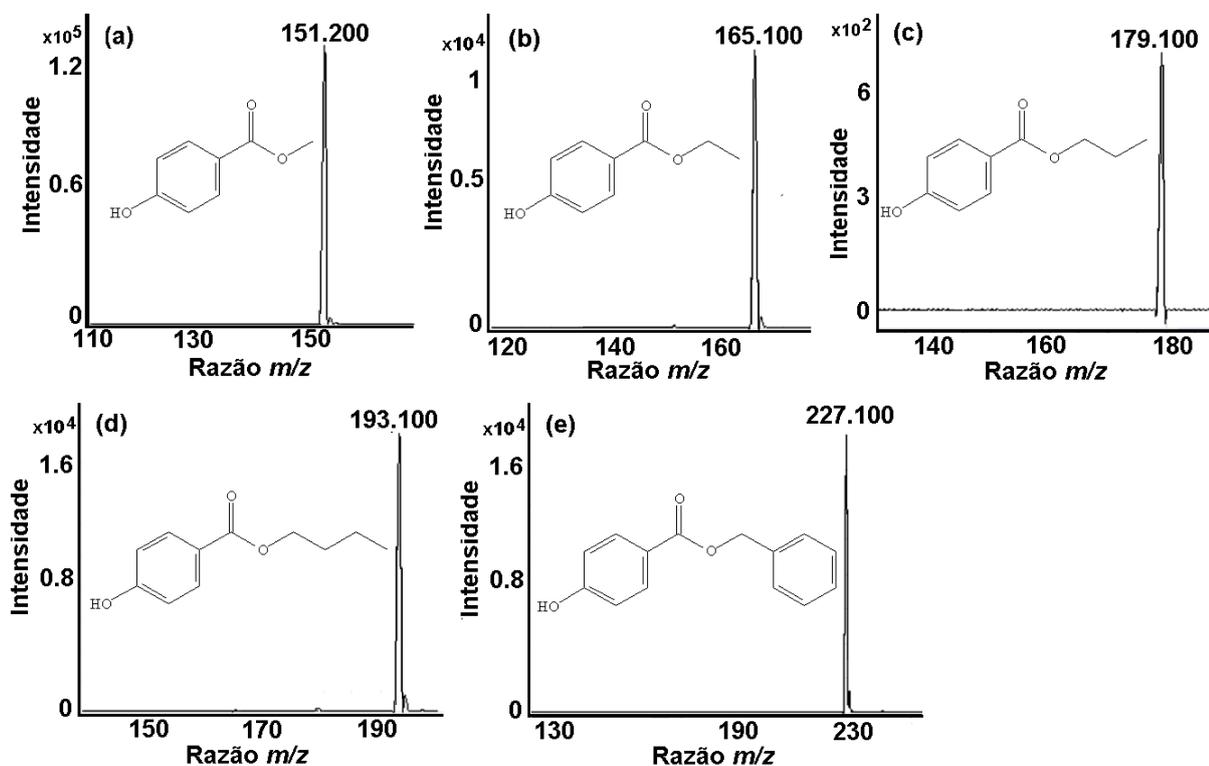


Figura 16 - Espectro de íon precursor para (a) MeP; (b) EtP; (c) PrP; (d) BuP; (e) BeP.

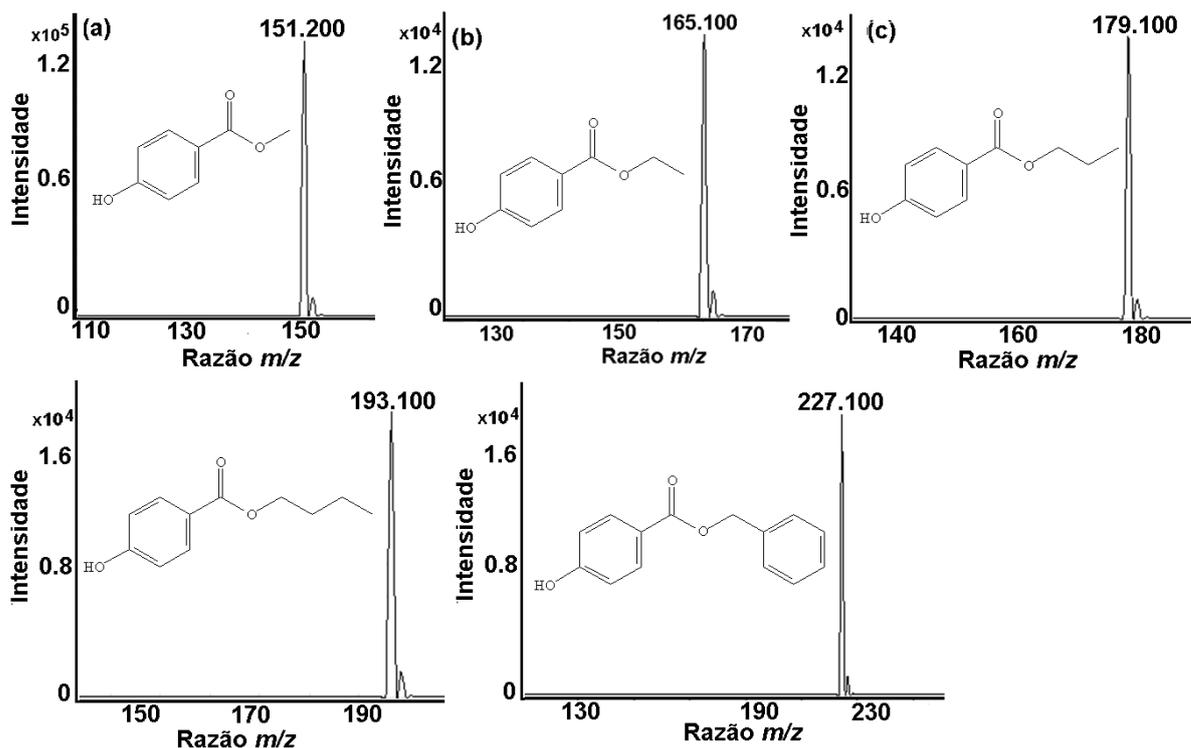


Figura 17 - Espectro de perda neutra constante do (a) MeP; (b) EtP; (c) PrP; (d) BuP; (e) BeP.

Trabalhos relatados na literatura confirmam o fragmento de maior intensidade como sendo o de m/z 92,1. NUÑEZ et al. (2008) em um estudo sobre a determinação de PBs em amostras sólidas utilizando LC-ESI-MS/MS, considerou como fragmento de quantificação a m/z 92,0 para o MeP, EtP, PrP, BuP e BeP. Com a mesma técnica em 2011, DÍAZ et al estudaram a presença de PBs em amostras de placenta humana, os fragmentos de maior intensidade encontrados foram o m/z 91,9 para o MeP, EtP e BuP e o fragmento m/z 92,0 para PrB. PEDROUZO et al. (2009) não só encontrou como fragmento mais intenso o de m/z 92,0 para quatro dos PBs estudados como também propôs sua estrutura molecular como sendo $(C_6H_4O)^-$. A estrutura do fragmento de maior intensidade foi proposta e pode ser vista na figura 15.

3.1.7 Identificação dos metabólitos dos PBs em amostras de efluente hospitalar por LC-ESI-MS/MS

Para identificação e estudo dos metabólitos os experimentos de otimização das condições do LC-ESI-MS/MS foram feitos, como descrito no item 2.5.

O principal metabólito dos PBs relatado na literatura atual é o ácido *p*-hidroxibenzóico (BOBERG et al., 2010). A m/z 137,1 foi encontrada em todas as amostras de efluente hospitalar (EG e CR) analisadas (MS2 SCAN) como sendo o metabólito. O experimento de MS2 SIM foi realizado para todos os PB (condições experimentais – Tabela 13) e aquele (PB) no qual a abundância relativa do metabólito foi a mais elevada seguiu para a realização dos experimentos para identificação do espectro de íons produto.

Apartir do espectro de íon produto do ácido *p*-hidroxibenzóico (m/z 137,1) sua rota de fragmentação foi proposta e é descrita na figura 18.

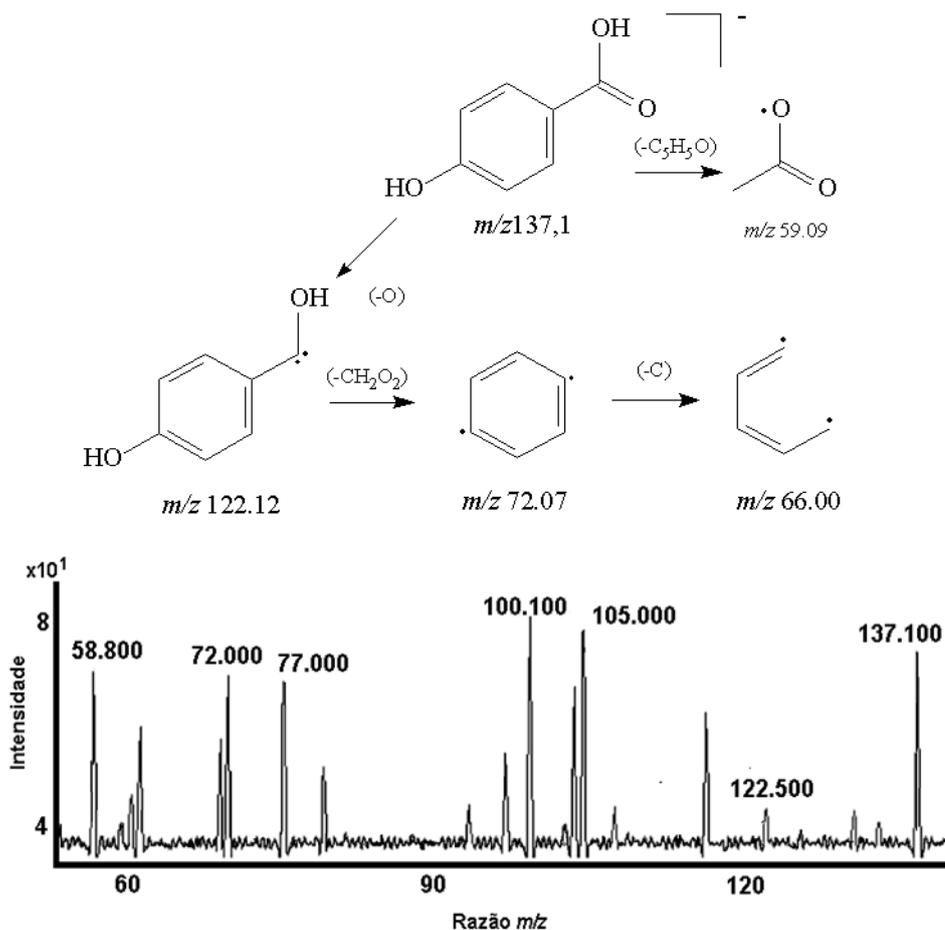


Figura 18 - Espectro de íons produto e caminho de fragmentação proposto para o metabólito *p*-hidroxibenzóico no efluente CR.

A rota de fragmentação proposta para o metabólito *p*-hidroxibenzoico m/z 137,1 inicia com a saída do oxigênio da carbonila, dando origem ao fragmento m/z 122,12. Segue a fragmentação com a perda dos substituintes do anel aromático e mais 4 hidrogênios gerando a m/z 72,02 como fragmento. A m/z 72,02 gera o fragmento de m/z 66,00 pela ruptura do anel aromático. A ruptura do grupamento do ácido carboxílico da origem a m/z 59,09.

O mesmo fragmento de m/z 137,1 foi observado nas amostras de efluente hospitalar provenientes do ponto de coleta denominado HUSM geral. O EM do experimento de íon produto para o metabólito *p*-hidroxibenzoico pode ser visto na figura 19.

De acordo com o espectro de massas apresentado como sendo a fragmentação do metabólito *p*-hidroxibenzoico, propuseram-se estruturas para os fragmentos adquiridos (Figura 19).

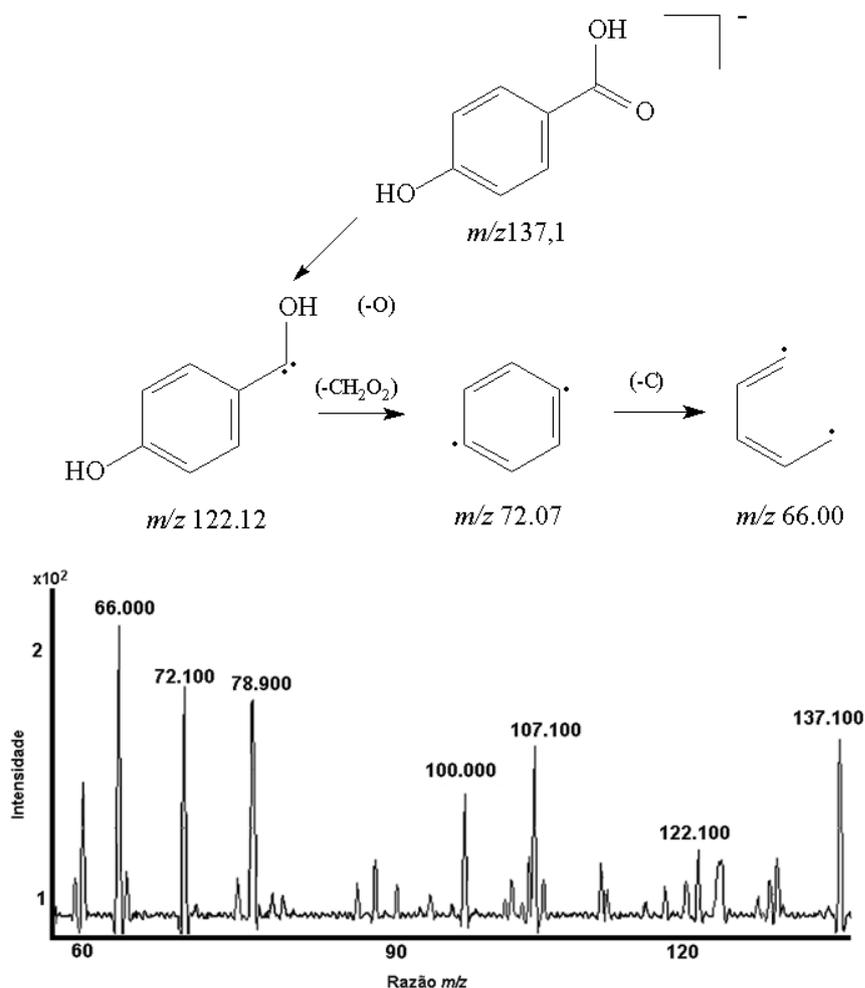


Figura 19 - Espectro de íons produto de caminho de fragmentação proposto para o metabólito *p*-hidroxibenzoico no efluente EG.

Comparando os espectros de massas do experimento de íon para ambos os efluentes (HUSM geral e córrego receptor) pode-se perceber a semelhança nos fragmentos m/z 122,50, 72,07 e 66,00.

3.2 Aplicação de PAOs para a degradação de PBs e identificação de possíveis produtos de degradação.

O objetivo desta etapa do trabalho consistiu na aplicação de PAOs para degradação de PBs, onde, planejamento multivariado foi usado como ferramenta para verificar a influência das variáveis pH, temperatura e catalisador (presença ou ausência). Primeiramente, a eficiência do catalisador de TiO_2 em suspensão, imobilizado em barras polimérica (PDMS e PU) e ausência de TiO_2 foi avaliada, destacando o uso de barras poliméricas com TiO_2 imobilizado em polímeros, dentre eles PDMS e PU, resolvendo assim a etapa problemática de remoção do catalisador do sistema quando se usa TiO_2 em suspensão.

Vários parâmetros operacionais podem provocar mudanças nas taxas de degradação entre dois ou mais contaminantes, fatores como temperatura, pH, presença de íons, concentração do catalisador, irradiação UV, entre outros (PAZ, 2006). Por este motivo, avaliou-se o efeito do pH, da temperatura e do catalisador (presença/ausência de barras poliméricas com TiO_2 suportado em PDMS ou PU).

Os produtos de degradação gerados após o processo em solução aquosa e efluente hospitalar, ambos fortificados com compostos PBs, foram sugeridos.

3.2.1 Catalisador

As barras poliméricas desenvolvidas em laboratório por Da Silva (2011) para estudo da degradação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX) em amostras de efluente hospitalar por meio de fotocatalise heterogênea foram reproduzidas para estudo da degradação de PBs por meio de PAOs em solução aquosa e efluente hospitalar.

Os testes de desempenho do catalisador (TiO_2) mostraram que, os sistemas PU/ TiO_2 PDMS/ TiO_2 foram mais eficientes que TiO_2 em suspensão e até mesmo fotólise para amostras

de efluente hospitalar. Na figura 20 pode-se observar a eficiência dos sistemas para degradação de PBs em solução aquosa e efluente hospitalar. Níveis intermediários de temperatura e pH foram usados. Fotólise e PU/TiO₂ apresentaram eficiência semelhante em solução aquosa, degradando cerca de 90% dos PBs em 120 minutos de processo.

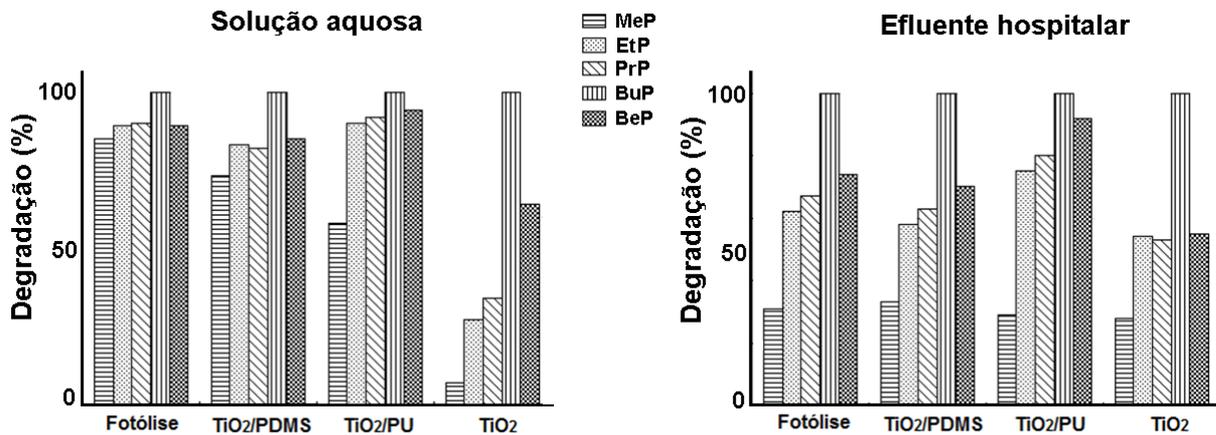


Figura 20 - Desempenho dos PAOs na degradação de PBs em (a) solução aquosa e (b) efluente hospitalar. Condições: pH 5, 20 °C.

Caracterizado por ser uma matriz complexa, o efluente hospitalar não favoreceu a degradação completa dos PBs. A eficiência foi aumentada com o uso do sistema PU/TiO₂ e cerca de 80% dos PBs foram degradados em 120 minutos de processo. A presença de catalisador no meio promove a formação de mais HO[•], favorecendo a fotocatalise heterogênea com PU/TiO₂.

O catalisador em suspensão para fotocatalise heterogênea apresenta desvantagens, primeira, é a dificuldade de irradiar todas as partículas do catalisador do sistema, já que, o meio turvo limita a penetrabilidade da luz na suspensão; segunda desvantagem é a necessidade de remoção do catalisador da solução por etapa de micro-filtração e posterior análise cromatográfica (CARP et al., 2004; TIBURTIUS et al., 2004).

A avaliação da eficiência do catalisador proporcionou a escolha das melhores variáveis e seus 3 níveis para o desenvolvimento do planejamento fatorial. Bem como, o tempo total de reação, sendo fixado 120 minutos para a aplicação dos PAOs.

3.2.2 Otimização dos PAOs

A partir da aplicação do planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}) em solução aquosa e efluente hospitalar, fortificados, foi feita a otimização dos processos.

A tabela 14 apresenta os coeficientes de determinação do modelo (R^2) para PBs em solução aquosa e efluente hospitalar. A ANOVA do modelo resultante da otimização multivariada para PBs em solução aquosa, apresentou valores de $R^2 > 0,90$, ou seja, cerca de 10% da variância total não foi explicada pelo modelo resultante. Para BuP nenhuma das variáveis foi considerada estatisticamente influente sobre a degradação em solução aquosa. Valores de R^2 variaram de 0,75 para MeP e 0,91 para PrP, em efluente hospitalar.

Tabela 14 - Coeficientes de determinação do modelo para a degradação de PBs em solução aquosa e em efluente hospitalar.

Analito	Coeficiente de determinação do modelo (R^2)	
	Solução aquosa	Efluente hospitalar
MeP	0,96	0,75
EtP	0,90	0,87
PrP	0,93	0,91
BuP	-	0,80
BeP	0,98	0,90

Com os resultados obtidos experimentalmente aplicando o planejamento fatorial fracionado, utilizou-se o programa *Statistica 6.0* (StatSoft, Inc. USA, 2004) para geração dos diagramas de Pareto, com intervalos de confiança de 95% e gráficos de desejabilidade. A variável dependente considerada foi o percentual de degradação dos analitos.

3.2.2.1 Solução aquosa

A matriz experimental do planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}), com variáveis e taxas de degradação de PBs em solução aquosa é apresentada na tabela 15.

Tabela 15 - Matriz experimental do planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}) para a otimização da degradação de PBs por meio de PAOs, com variáveis investigadas e taxas de degradação em solução aquosa.

Variáveis Níveis	X ₁	X ₂	X ₃					
	Temperatura (°C)	pH	Catalisador					
(-1)	20	3	Ausência de TiO ₂ (Fotólise simples)					
(0)	30	6	TiO ₂ imobilizado em PDMS					
(1)	40	9	TiO ₂ imobilizado em PU					
Exp.	X ₁	X ₂	X ₃	Deg. _{MeP} (%)	Deg. _{EtP} (%)	Deg. _{PrP} (%)	Deg. _{BuP} (%)	Deg. _{BeP} (%)
1	20 (-1)	3 (-1)	Sem TiO ₂ (-1)	100	100	100	100	100
2	20 (-1)	6 (0)	TiO ₂ /PU (1)	74	84	84	100	89
3	20 (-1)	9 (1)	TiO ₂ /PDMS (0)	67	73	74	100	77
4	30 (0)	3 (-1)	TiO ₂ /PU (1)	77	85	88	100	96
5 (PC)	30 (0)	6 (0)	TiO ₂ /PDMS (0)	65	95	94	100	91
6	30 (0)	9 (1)	Sem TiO ₂ (-1)	51	70	72	100	73
7	40 (1)	3 (-1)	TiO ₂ /PDMS (0)	89	97	95	100	99
8	40 (1)	6 (0)	Sem TiO ₂ (-1)	70	72	73	100	92
9	40 (1)	9 (1)	TiO ₂ /PU (1)	55	62	63	100	76
10 (PC)	30 (0)	6 (0)	TiO ₂ / PDMS (0)	52	91	93	100	94
11 (PC)	30 (0)	6 (0)	TiO ₂ / PDMS (0)	56	87	89	100	92

De maneira geral, dentre as variáveis independentes investigadas na degradação de PBs, pH foi a variável que apresentou efeitos estatisticamente significativos ($p < 0,5$) e negativos nas taxas de degradação dos compostos em solução aquosa, ou seja, aumentando o pH, do nível -1 para o nível +1, ocorreu diminuição das taxas de degradação dos analitos (Figura 21)

Como pode ser visto na tabela 15 todas as condições estudadas levaram a degradação total de BuP, por isso, nenhum gráfico pode ser gerado pelo programa, já que, nenhuma variável influenciou na degradação.

A figura 21a apresenta o diagrama de pareto para degradação de MeP em solução aquosa, as variáveis pH e temperatura mostraram-se significativas, apresentando efeito negativo, ou seja, o aumento do pH e temperatura levou a diminuição dos níveis de degradação de MeP. LIN et al (2009) avaliaram a degradação de MeP por meio de fotocatalise heterogênea e a temperatura também foi fixada em 20° C para o processo.

Efeito significativo e negativo para a variável pH foi observado na degradação de EtP (L), PrP (L) e BeP (L + Q) em solução aquosa, sendo assim, o pH ácido levou ao aumento das taxas de degradação destes analitos (Figura 21b, c e d).

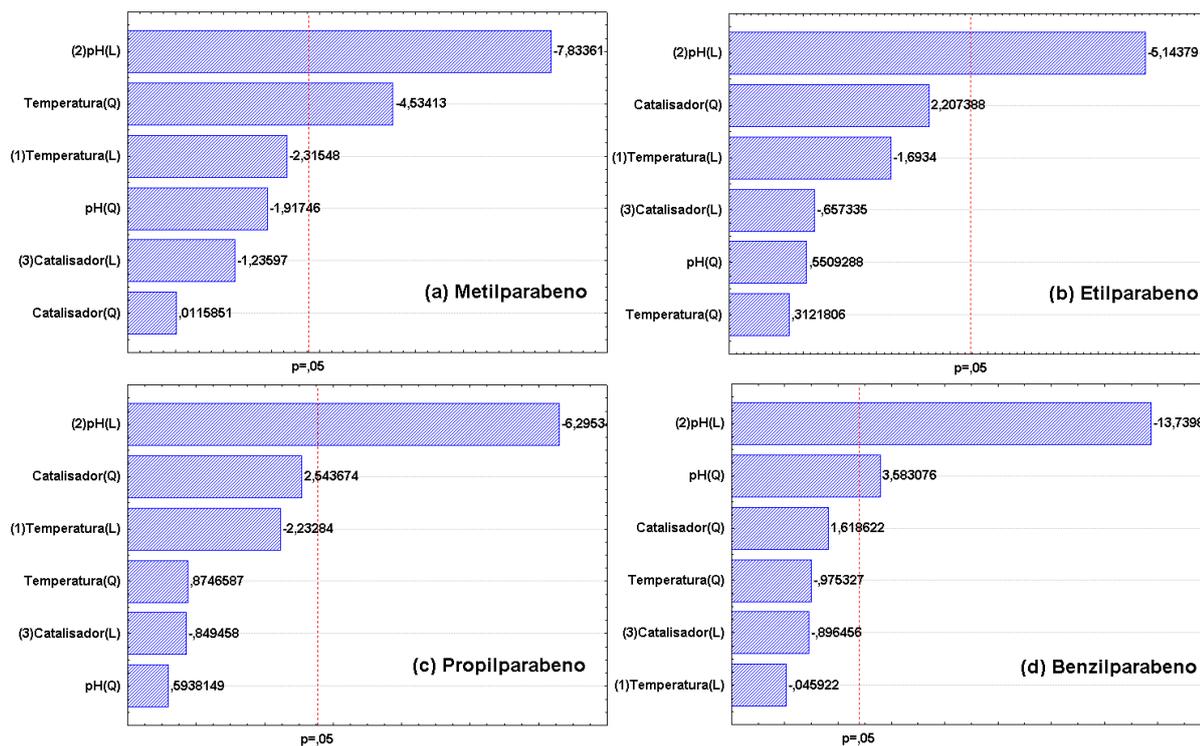


Figura 21 - Diagramas de Pareto para a degradação (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BeP em solução aquosa por meio de PAOs.

Através do diagrama de valores preditos (Figura 22) pode-se observar a tendência das variáveis durante cada experimento, auxiliando na interpretação dos resultados, juntamente com os gráficos de Pareto (Figura 21). A figura 22 mostra os gráficos de desejabilidade para PBs submetidos aos PAOs em solução aquosa.

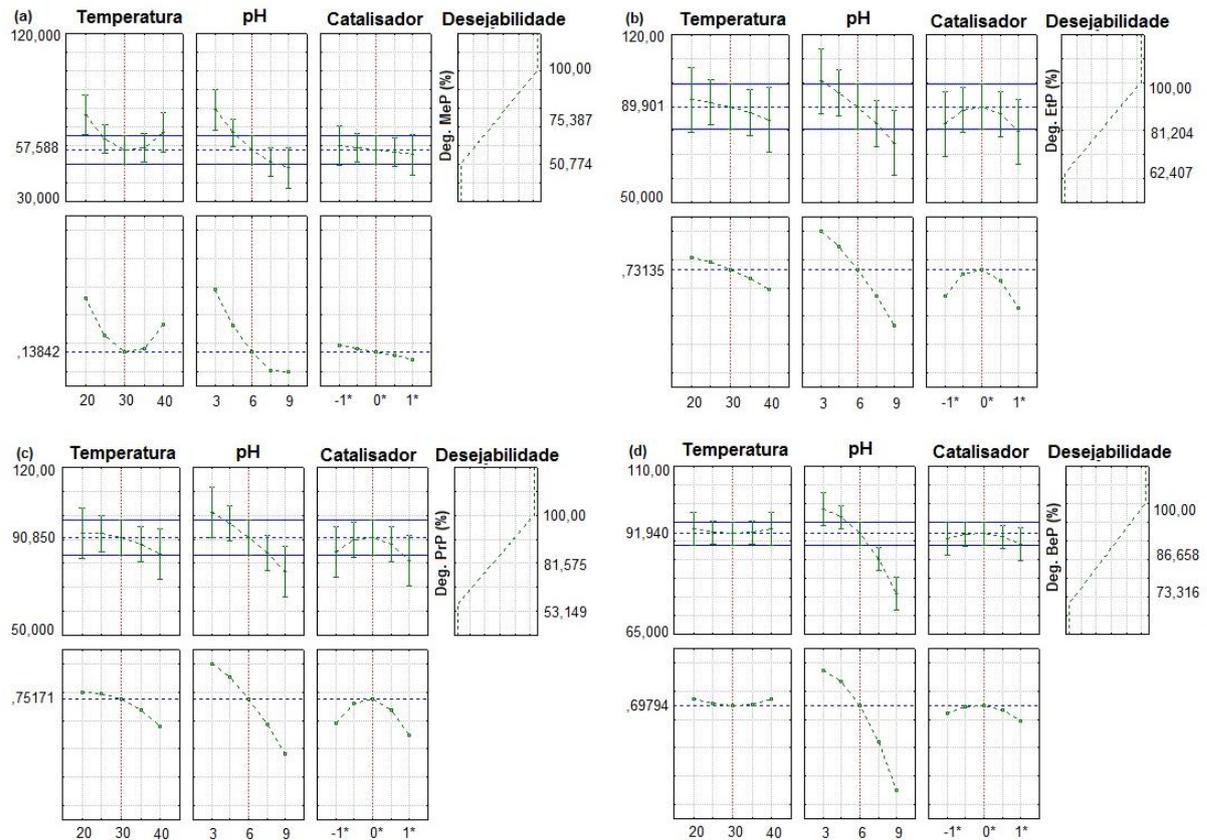


Figura 22 - Valores preditos e desejabilidade para degradação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP e (d) BeP em solução aquosa por meio de PAOs.

Para MeP a variável pH apresenta curva linear (negativa) e taxas de degradação maiores em pH ácido. Temperaturas mais baixas acarretaram maiores níveis de degradação, sendo a curva representada na forma de parábola (positiva). O catalisador manteve-se na faixa ótima não afetando a degradação do MeP.

Quando comparada ao MeP semelhanças no formato da curva foram observados para EtP na variável pH (Figura 22b). Comportamento linear e negativo da linha de tendência da variável temperatura mostrou que temperatura próxima aos 20° C apresenta melhores taxas de degradação. Já o catalisador apresentou tendência na forma de parábola (negativa) e o ponto central alcançou o maior nível de degradação. Comparando os gráficos de desejabilidade do composto EtP e PrP ambos apresentam a mesma tendência em todas as variáveis (Figura 22b, c).

Para BeP os gráficos de desejabilidade possuem tendência na forma de parábolas, com exceção dos gráficos de pH, com comportamento linear e resposta igual aos demais PBs (pH

ácido). Os valores máximos de degradação obtidos foram na temperatura que varia de 20 a 25°C, pH igual. A variável catalisador nos três níveis apresentaram degradação dentro de um valor médio (Figura 22d).

3.2.2.2 Efluente hospitalar

A matriz experimental do planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}), com as variáveis e as taxas de degradação dos PBs em efluente hospitalar (120 min de irradiação) é apresentada na tabela 16.

Tabela 16 – Matriz experimental do planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}) para a otimização da degradação de PBs por meio de PAOs, com variáveis investigadas e taxas de degradação em efluente hospitalar.

Variáveis Níveis	X ₁	X ₂	X ₃					
	Temperatura (°C)	pH	Catalisador					
(-1)	20	3	Ausência de TiO ₂ (Fotólise simples)					
(0)	30	6	TiO ₂ imobilizado em PDMS					
(1)	40	9	TiO ₂ imobilizado em PU					
Exp.	X ₁	X ₂	X ₃	Deg. _{MeP} (%)	Deg. _{EiP} (%)	Deg. _{PrP} (%)	Deg. _{BuP} (%)	Deg. _{BeP} (%)
1	20 (-1)	3 (-1)	Sem TiO ₂ (-1)	73	74	78	100	77
2	20 (-1)	6 (0)	TiO ₂ /PU (1)	65	75	83	100	89
3	20 (-1)	9 (1)	TiO ₂ /PDMS (0)	60	64	65	100	63
4	30 (0)	3 (-1)	TiO ₂ /PU (1)	64	76	83	100	92
5 (PC)	30 (0)	6 (0)	TiO ₂ /PDMS (0)	68	62	59	50	54
6	30 (0)	9 (1)	Sem TiO ₂ (-1)	38	41	41	96	42
7	40 (1)	3 (-1)	TiO ₂ /PDMS (0)	62	73	77	100	77
8	40 (1)	6 (0)	Sem TiO ₂ (-1)	62	75	77	100	76
9	40 (1)	9 (1)	TiO ₂ /PU (1)	55	62	70	100	82
10 (PC)	30 (0)	6 (0)	TiO ₂ /PDMS (0)	73	69	65	50	59
11 (PC)	30 (0)	6 (0)	TiO ₂ /PDMS (0)	64	65	68	75	71

Mais uma vez o pH mostrou-se uma das variáveis mais importantes do processo influenciando de maneira negativa, ou seja, pHs ácidos favorecem a degradação de PBs. Tratando-se de fotocatalise heterogênea MOLINARI et al. (2006) mostraram que quanto maior a solubilidade do analito em água, menor sua capacidade de adsorção pelas partículas de TiO₂, impossibilitando-o de consumir HO•, ou seja, de ser degradado. Quando os PBs

encontram-se entre pHs 2 e 6 estão em sua forma estável (neutra) (XU et al., 2013) pouco solúveis em águas.

Os diagramas de Pareto para degradação de MeP e BuP (Figura 23a, d), em efluente hospitalar, mostraram que nenhuma das variáveis estudadas no planejamento fatorial foram significativas para degradação destes compostos. Para EtP (Figura 23b) o pH foi a única variável que se destacou com efeitos negativos, sendo que pHs ácidos proporcionam maiores taxas de degradação.

No processo de degradação de PrP (Figura 23c), em efluente hospitalar, todas as variáveis independentes investigadas foram significativas. O efeito apresentado pelo pH e temperatura foram negativos, ou seja, variando do nível -1 ao nível +1, ocorreu a redução nas taxas de degradação destes analitos. A variável catalisador teve efeito positivo e o catalisador PU/TiO₂ revelou-se mais eficiente. O mesmo comportamento para as variáveis pH e catalisador foram observadas no composto BeP (Figura 23e).

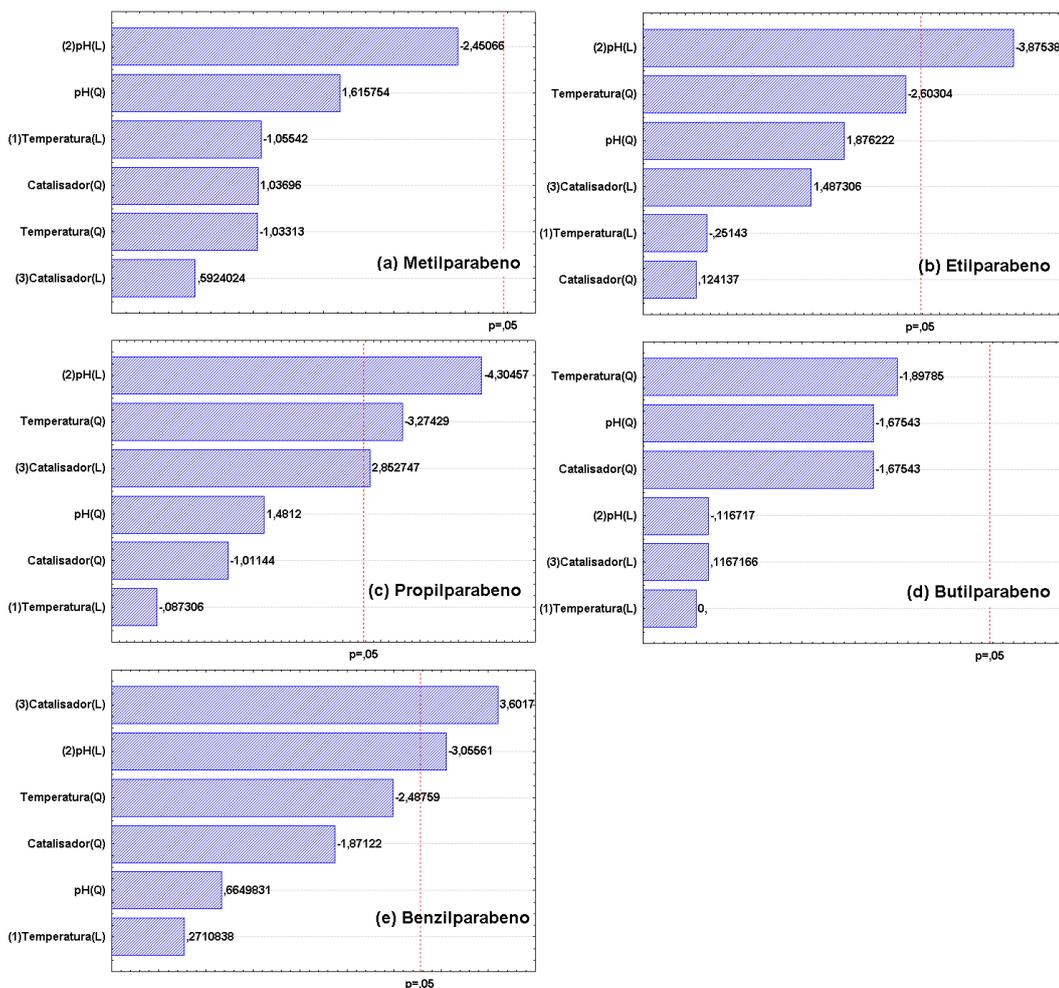


Figura 23 - Diagramas de Pareto para a degradação (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP, (e) BeP em efluente hospitalar por meio de PAOs.

Assim como na seção 3.2.2.1, os perfis das variáveis independentes em função da desejeabilidade para valores mínimos (0) e máximo (1) de recuperação dos PBs foram avaliados.

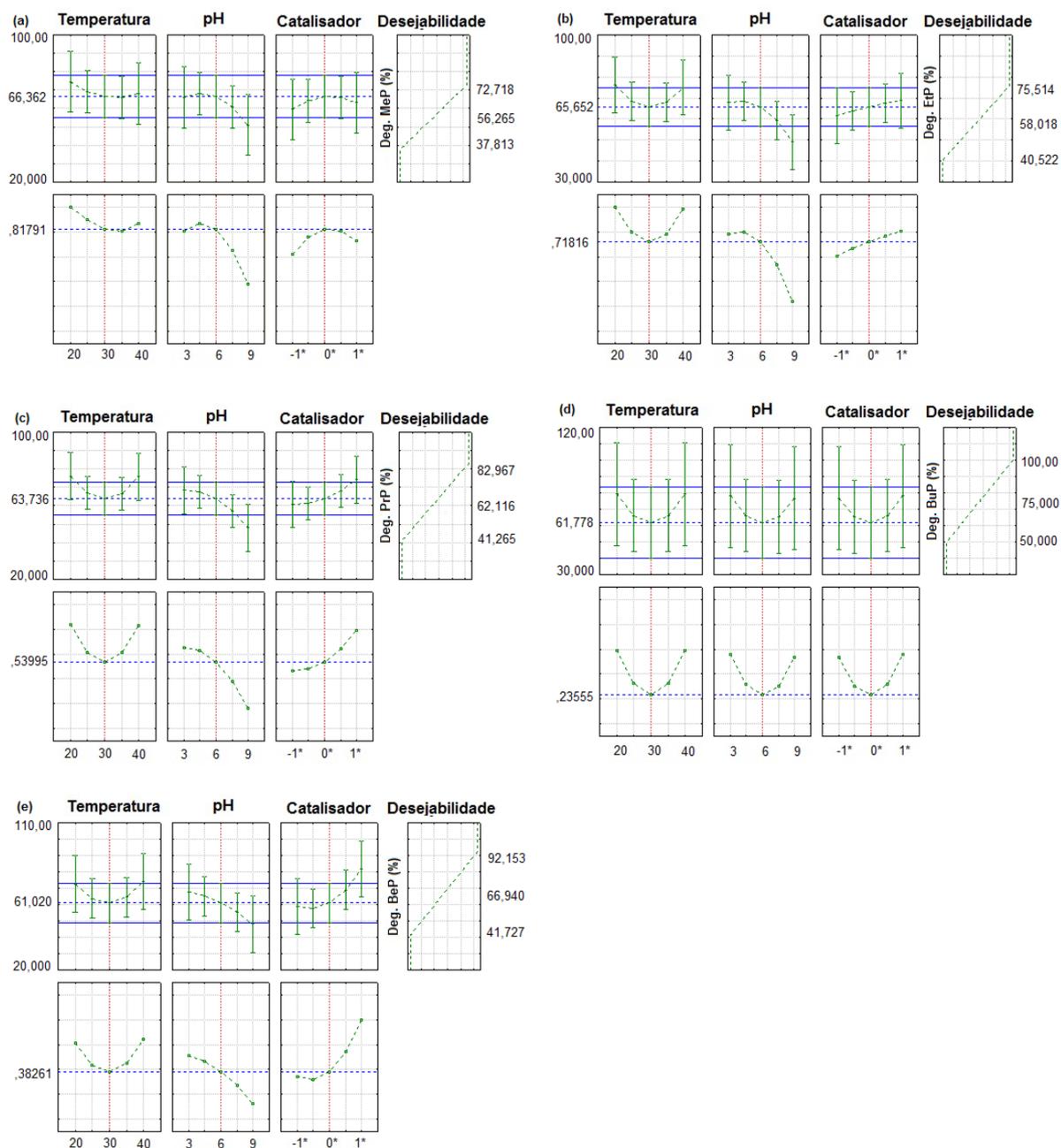


Figura 24 - Valores preditos e desejeabilidade para degradação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP em efluente hospitalar por meio de PAOs.

Os gráficos apontam que as melhores condições para a degradação MeP (Figura 24a), foram: temperatura 20, pH entre 3 e 6 e catalisador PDMS/TiO₂. O mesmo comportamento foi observado para o EtP (Figura 24b). PrP tem suas linhas de tendência na forma de parábolas. As temperaturas em que se alcançou degradação acima de 70% foram em 20 e 40°C, pH entre 3 a 4 e catalisador PU/TiO₂ (Figura 24c).

Segundo diagrama de Pareto para o BuP (Figura 24d) nenhuma das variáveis apresentaram significância na degradação. No entanto, o gráfico de tendência afirma que a degradação atinge seu máximo nas condições: temperatura de 20 e 40°C, pH de 3 e catalisador PU/TiO₂.

Os gráficos de tendência para BeP apresenta semelhança aos de BuP, onde a temperatura ótima para degradação foi 20 e 40°. Confirmando os diagramas de Pareto, pH ácido e sistema de catalisador PU/TiO₂ alcançou maior degradação de BeP, comportamento semelhante a maioria dos PBs estudados (Figura 24e).

3.2.3 Condições ótimas para a aplicação dos PAOs e degradação de PBs

Com base nos dados da matriz experimental (Tabela 15 e Tabela 16), gráficos de Pareto (Figura 21 Figura 23) e tendências de desejabilidade (Figura 22 e Figura 24), as melhores condições do planejamento fatorial para degradação de PBs aplicando PAOs em solução aquosa e efluente hospitalar foram estimados (Tabela 17).

Tabela 17 - Condições ótimas para a degradação de PBs em solução aquosa e efluente hospitalar por meio de PAOs.

Variáveis independentes	Solução aquosa	Efluente hospitalar
Temperatura	20 °C	30 °C
pH	3	3
Catalisador	Ausência de TiO ₂ (Fotólise simples)	PU/TiO ₂ + UV

O comportamento das variáveis estudadas, em ambas as matrizes, foi bastante semelhante. A variável pH apresentou maior significância, tanto em solução aquosa como em efluente hospitalar, sendo que, pHs ácidos apresentaram melhores resultados.

A influência do pH na eficiência do processo UV+PU/TiO₂ é de difícil interpretação, pois, este interfere tanto no equilíbrio de protonação do substrato, como nas propriedades do catalisador (CRUZ et al., 2011). O efeito do pH no processo de fotocatalise heterogênea está intimamente relacionado com o processo de adsorção. O pH do meio tem influência na capacidade de adsorção dos compostos presentes no efluente pelas partículas de TiO₂ e, quanto maior o número de compostos adsorvidos, mais rapidamente ocorrerão as oxirreduções (HAQUE e MUNEER, 2007).

No gráfico mostrado na figura 25 pode-se visualizar as taxas de degradação dos PBs, após a aplicação dos PAOs (fotólise) em solução aquosa, durante 120 minutos de processo. Todos os PBs têm degradação total com 120 minutos de processo, sendo o BuP degradado completamente após 40 minutos.

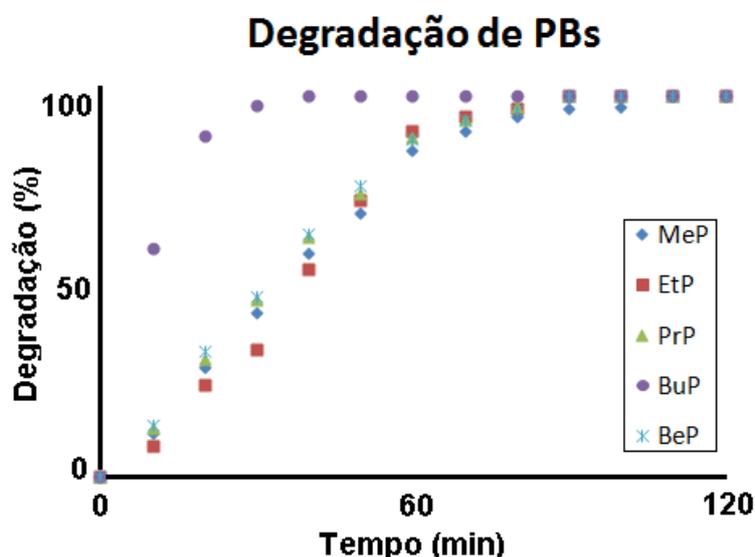


Figura 25 - Gráfico de degradação de PBs em solução aquosa após aplicação de fotólise.

BLEDZCA et al (2009) estudaram a degradação de BuP em solução aquosa por fotocatalise heterogênea e alcançaram facilmente a degradação do mesmo em 120 minutos de reação. As principais variáveis do processo também foram avaliadas e os autores concluíram que em pH alcalino houve uma diminuição de cinco vezes na velocidade de degradação do

BuP quando comparado a pHs ácidos. Entretanto demais estudos apontam a melhor eficiência na degradação de MeP e BeP em pHs ligeiramente básicos (LIN et al., 2009; 2011).

A figura 26 faz comparação dos cromatogramas obtidos em três diferentes tempos de processo (0, 60 e 120 minutos) para solução aquosa, após a aplicação de fotólise, sob condições otimizadas descritas na tabela 17. Pode-se observar que o cromatograma não apresenta sinal nos tempos de retenção referentes aos analitos, após 120 minutos de processo.

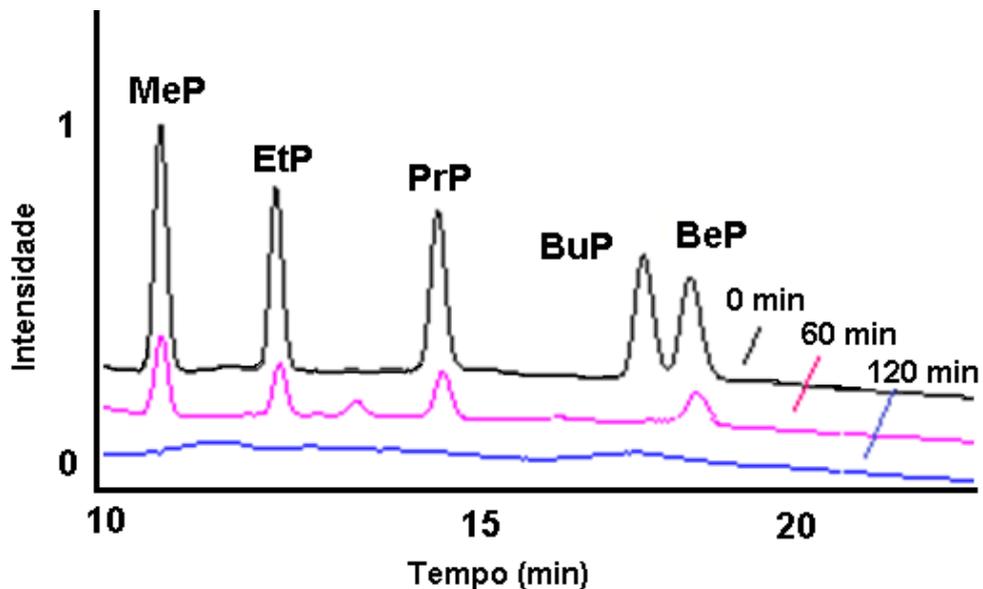


Figura 26 - Cromatograma de degradação dos PBs em solução aquosa em diferentes tempos de fotólise.

No gráfico mostrado na figura 27 pode-se visualizar as taxas de degradação dos PBs, após a aplicação dos PAOs (fotocatálise heterogênea) em efluente hospitalar, durante 120 minutos de processo. Apenas BuP apresentou degradação total após 70 minutos de processo.

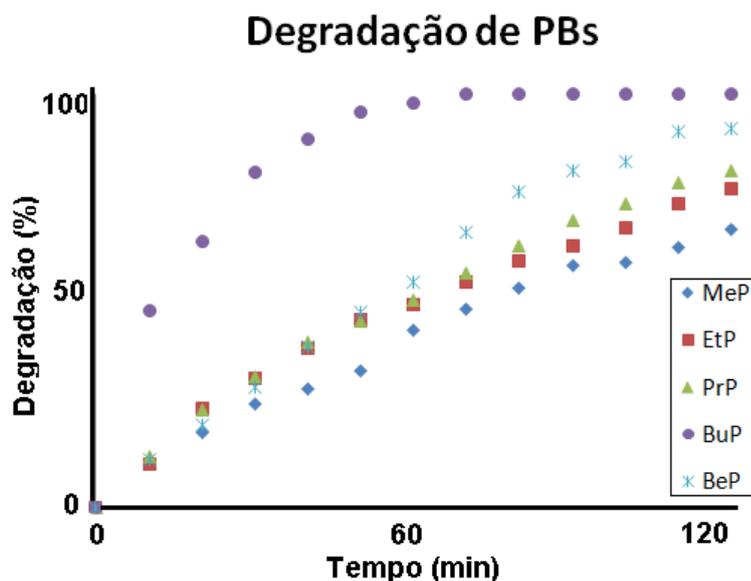


Figura 27 - Gráfico de degradação de PBs em efluente hospitalar após aplicação de fotocatalise heterogênea

A figura 28 faz comparação dos cromatogramas obtidos em três diferentes tempos de processo (0, 60 e 120 minutos) para efluente hospitalar, após a aplicação de fotocatalise heterogênea, sob condições otimizadas descritas na Tabela 17. Em efluente hospitalar após 120 minutos de reação os PBs ainda encontram-se em concentrações superiores aos seus LQs com exceção do BuP que alcançou a degradação esperada após 70 minutos de processo (Figura 28).

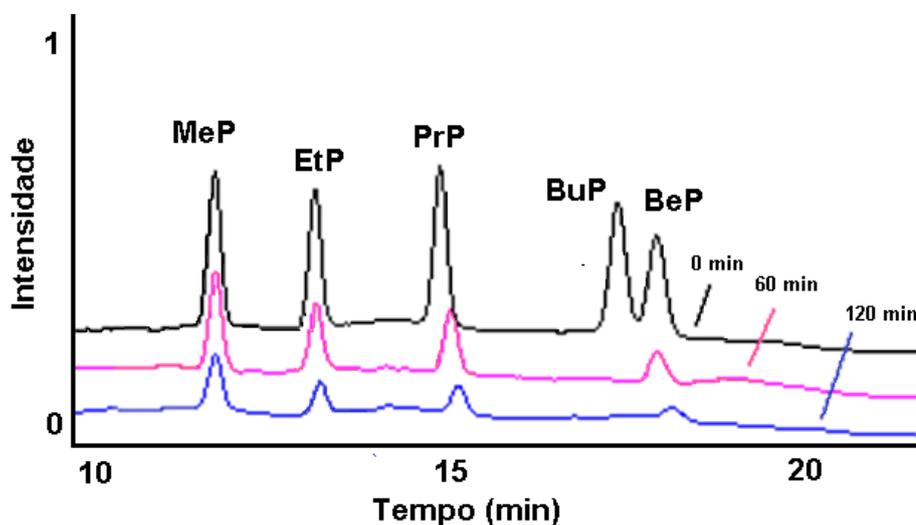


Figura 28 - Cromatograma de degradação dos PBs em efluente hospitalar em diferentes tempos de fotocatalise heterogênea.

A degradação aparente dos PBs em efluente hospitalar ficou em torno de 83%. LIN et al (2009) estudaram a degradação de MeP em solução aquosa por meio de fotocatalise heterogênea com catalisador de TiO_2 em suspensão, após 120 minutos de processo apenas 50% de MeP foi degradado. A degradação de 80% (MeP) só foi possível após 6 horas de reação.

Em solução aquosa, transparente, contendo os analitos, a fotólise apresentou maior eficiência. Evidenciou-se, portanto, a influência negativa da matriz complexa do efluente hospitalar no fenômeno de fotólise simples. Já na fotocatalise heterogênea, a ação das barras poliméricas com TiO_2 suportado induzem maior formação de $\text{OH}\cdot$, proporcionando fotodegradação mais eficiente.

3.2.4 Estudo cinético de degradação de PBs

Para estudo cinético dos PBs em solução aquosa e efluente hospitalar experimentos de degradação foram feitos conforme condições ótimas, previamente otimizadas através do planejamento fatorial fracionado, descritas no item 3.2.2. Estes experimentos foram feitos em triplicata e as amostras foram coletadas a cada 10 minutos.

Para determinação da ordem de reação e constante cinética dos PBs foram estudados os decaimentos das curvas experimentais obtidas ajustado-as a dois modelos representados pela Equação 10 (para cinética de ordem zero) e Equação 11 (para cinética de primeira ordem).

$$[C] = [C_0] - k.t \quad (10)$$

$$\ln[C] = \ln[C_0] - k.t \quad (11)$$

onde: C_0 é concentração inicial do analito, C é a concentração em determinado tempo (tempo de coleta das amostras), e k é a constante de velocidade reacional (dado pelo coeficiente angular da curva).

Comparando os coeficientes de regressão (R) obtidos pode-se dizer que o modelo de cinética de primeira ordem se ajustou bem aos dados experimentais. Na tabela 18 são apresentados os coeficientes de regressão para solução aquosa e efluente hospitalar.

Tabela 18 - Coeficientes de regressão para a degradação de PBs em solução aquosa e em efluente hospitalar.

Analito	R ² (Solução aquosa)		R ² (Efluente hospitalar)	
	Ordem zero	Primeira ordem	Ordem zero	Pseudo Primeira ordem
MeP	0,9946	0,9911	0,9776	0,9798
EtP	0,9786	0,9893	0,9537	0,9917
PrP	0,9879	0,9904	0,9795	0,9953
BuP	0,7969	0,9434	0,9509	0,9874
BeP	0,9767	0,9816	0,9869	0,9953

A partir das curvas $\ln C/C_0$ versus tempo pode-se determinar a constante cinética de degradação (k) de todos os compostos dada pelo coeficiente angular de cada curva e o tempo de meia vida, calculado através da Equação 12.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (12)$$

Na figura 29 são apresentados os gráficos com as respectivas constantes cinéticas da degradação de PBs em solução aquosa.

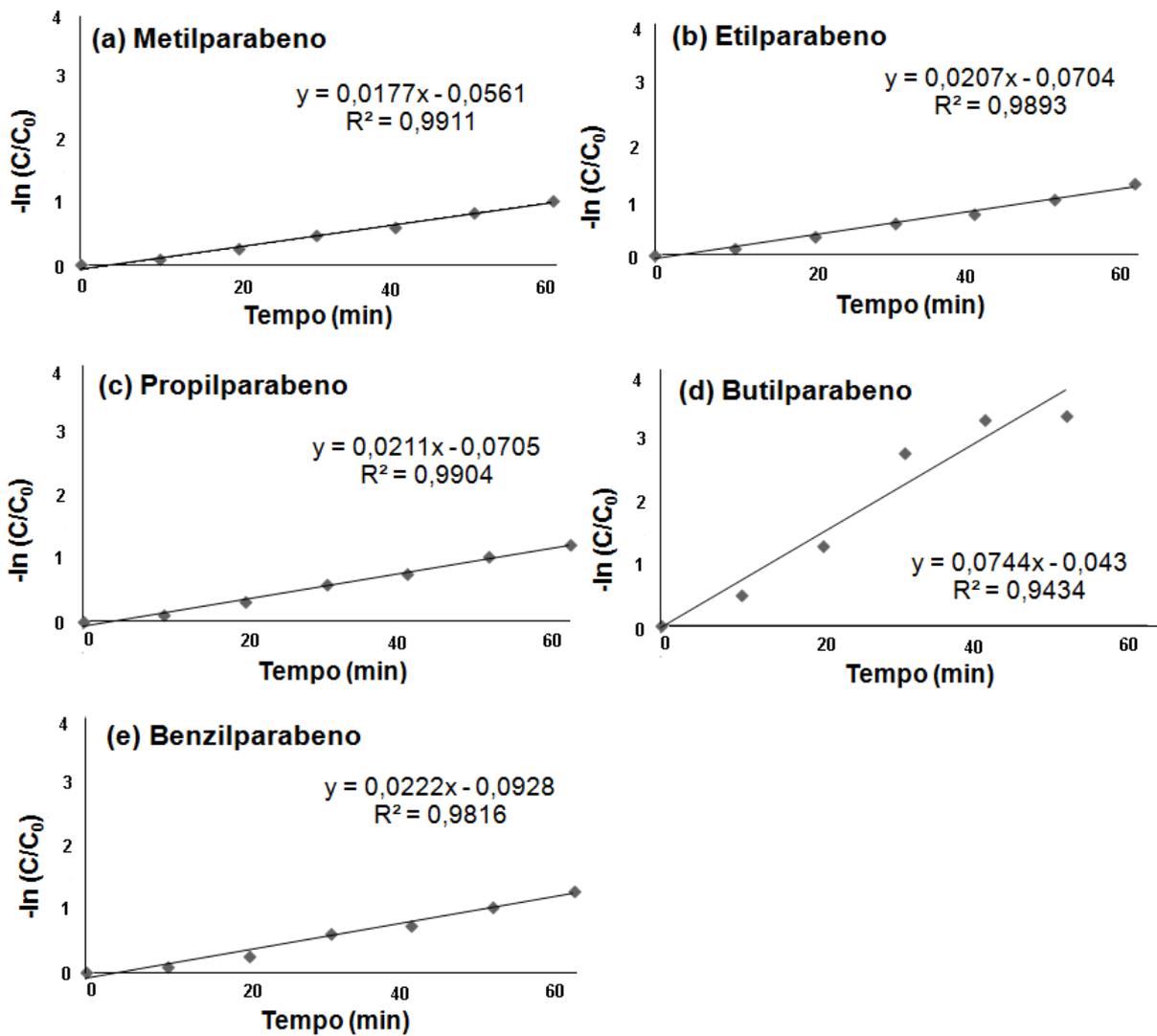


Figura 29 - Estudo cinético da degradação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP em solução aquosa (60 minutos).

Analisando-se as constantes cinéticas (k) (Tabela 19), do estudo de degradação de PBs por meio de PAOs, pode-se observar que BuP, em solução aquosa, apresenta maior valor de k , sendo assim sua degradação completa ocorre em um tempo menor se comparado com os demais analitos.

Tabela 19 - Constantes cinéticas do estudo de degradação de PBs em solução aquosa e $t_{1/2}$.

Analitos	Constante cinética (k) (min^{-1})	Tempo de meia vida ($t_{1/2}$)	Degradação completa (min)
MeP	$1,77 \times 10^{-2}$	39,2	120
EtP	$2,07 \times 10^{-2}$	33,5	90
PrP	$2,11 \times 10^{-2}$	32,8	90
BuP	$7,44 \times 10^{-2}$	9,3	40
BeP	$2,22 \times 10^{-2}$	31,1	90

Na figura 30 são apresentados os gráficos do estudo cinético de PBs em efluente hospitalar e constantes cinéticas aparentes.

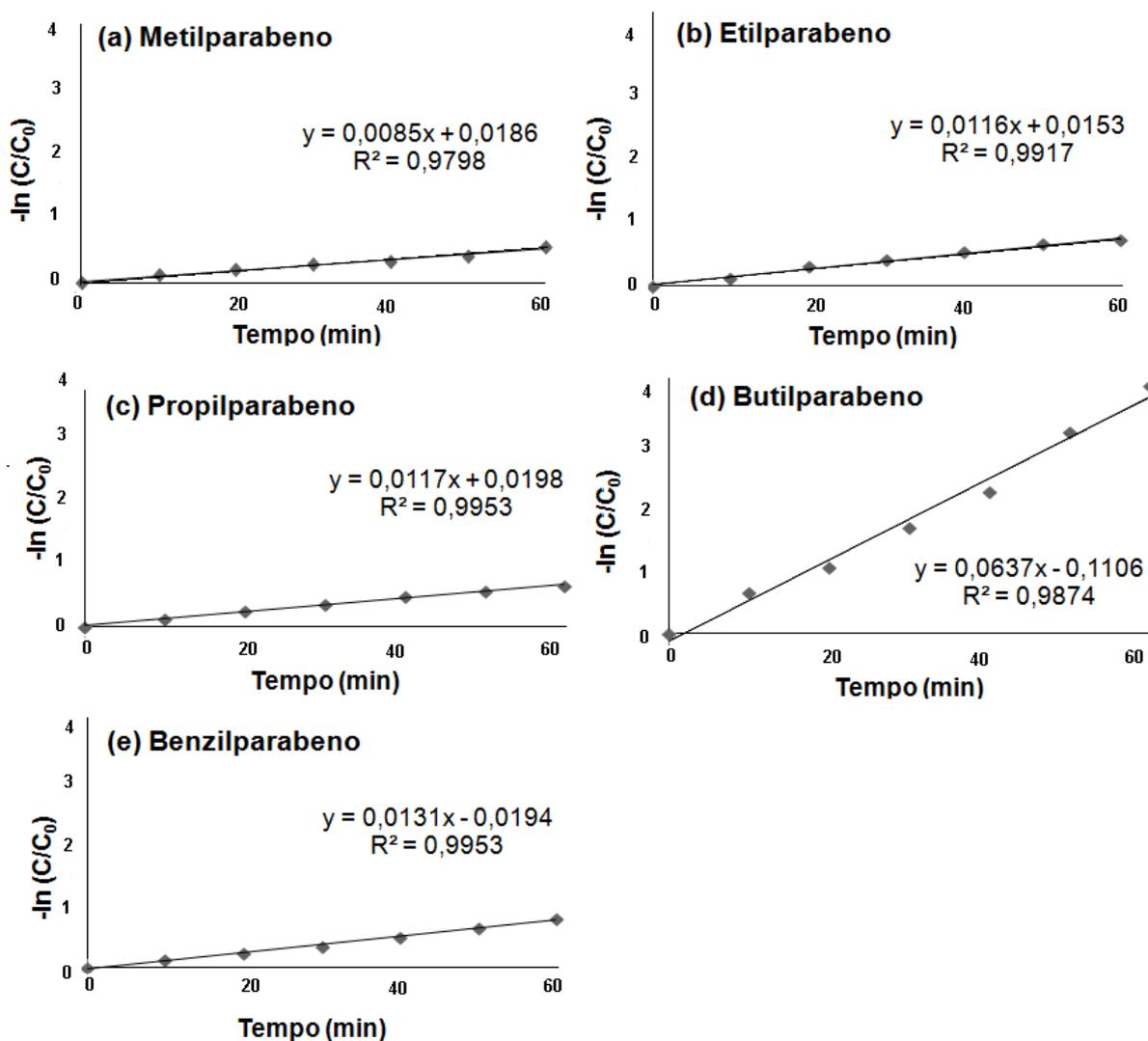


Figura 30 - Estudo cinético da degradação de (a) MeP, (b) EtP, (c) PrP, (d) BuP e (e) BeP em efluente hospitalar (60 minutos).

Na tabela 20 são apresentadas as constantes cinéticas aparentes da degradação fotocatalítica de PBs em efluente hospitalar, obtidas a partir do coeficiente angular.

Tabela 20 - Constantes cinéticas do estudo de degradação de PBs em efluente hospitalar e $t_{1/2}$.

Analito	Constante cinética (k_{ap}) (min^{-1})	Tempo de meia vida ($t_{1/2}$)	Degradação completa (min)
MeP	$0,85 \times 10^{-2}$	81,5	-
EtP	$1,16 \times 10^{-2}$	59,7	-
PrP	$1,17 \times 10^{-2}$	59,2	-
BuP	$6,37 \times 10^{-2}$	10,9	70
BeP	$1,31 \times 10^{-2}$	52,9	-

A degradação completa do BuP foi alcançada depois de 120 minutos de processo, porém, os demais analitos investigados não foram completamente degradados.

O efluente hospitalar é uma matriz extremamente complexa e apresenta grande quantidade de espécies inorgânicas que acabam por inibir a degradação fotocatalítica. O principal motivo desta inibição se dá principalmente pela afinidade dos íons pelo TiO_2 (ZHANG et al., 2005; CHONG et al., 2011). Diante destes fatores inibindo o processo, neste caso, se pode apenas determinar uma constante cinética aparente (k_{ap}) para a degradação dos compostos.

Os resultados da tabela 18 indicam que a cinética de degradação fotocatalítica para ambos os compostos, tanto em solução aquosa ou efluente hospitalar, estão de acordo com uma cinética de pseudoprimeira ordem de reação, ou seja, a taxa de degradação dos PBs é proporcional a sua degradação. Este modelo cinético também foi verificado por Lin (2009 e 2011) em seu estudo sobre a degradação fotocatalítica de MeP ($k_{ap} = 1,81 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$) e BeP ($k_{ap} = 1,17 \times 10^{-2}$). Este tipo de cinética (pseudoprimeira ordem) tem sido também reportado em muitos estudos envolvendo a degradação fotocatalítica de PPCs (YANG et al., 2010a, b; ABRAMOVIC et al., 2011).

3.3 Identificação de subprodutos de PBs por aplicação de PAOs

Através de planejamento fatorial as condições dos PAOs foram otimizadas em solução aquosa e efluente hospitalar. Alíquotas analisadas por meio de LC-ESI-MS/MS (item 2.5) foram coletadas nas melhores condições e em diferentes tempos de reação (0, 10, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos).

O resumo dos principais produtos de degradação gerados pela oxidação de PBs, submetidos aos processos de fotólise e fotocatalise heterogênea em solução aquosa e efluente hospitalar, estão na tabela 21.

Tabela 21 - Metabólito e subprodutos de oxidação encontrados.

PBs	Metabólito	Subprodutos de fragmentação	
		Total	Iguais
MeP	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	Solução aquosa: 5 Efluente hospitalar: 5	93,1; 137,1;160,1
EtP	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	Solução aquosa: 4 Efluente hospitalar: 4	83,0; 137,1; 198,1
PrP	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	Solução aquosa: 2 Efluente hospitalar: 3	137,1
BuP	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	Solução aquosa: 3 Efluente hospitalar: 4	160,1; 209,9
BeP	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico	Solução aquosa: 2 Efluente hospitalar: 5	81,1; 198,1

A semelhança estrutural entre os analitos (PBs) resultou na similaridade de alguns produtos de degradação formados (Tabela 21). No entanto, diferentes condições frente à fonte de ionização unida à complexidade da matriz (efluente hospitalar), gerando interferentes, contribuiram para pequenas diferenças dos produtos formados. Totalizaram-se 11 produtos de degradação encontrados em ambas as matrizes (Tabela 21).

3.3.1 Produtos de degradação do MeP em solução aquosa e efluente hospitalar

Para estudo da fragmentação estrutural do MeP, em solução aquosa, após aplicação de fotólise com tempo reacional de 120 minutos, fez-se varredura do espectro. Pode-se observar através da figura 31 a presença predominante de quatro produto de degradação. De acordo com as m/z encontradas na varredura, seguido de seu monitoramento para obtenção da fragmentação estrutural, foram propostas estruturas (Figura 31).

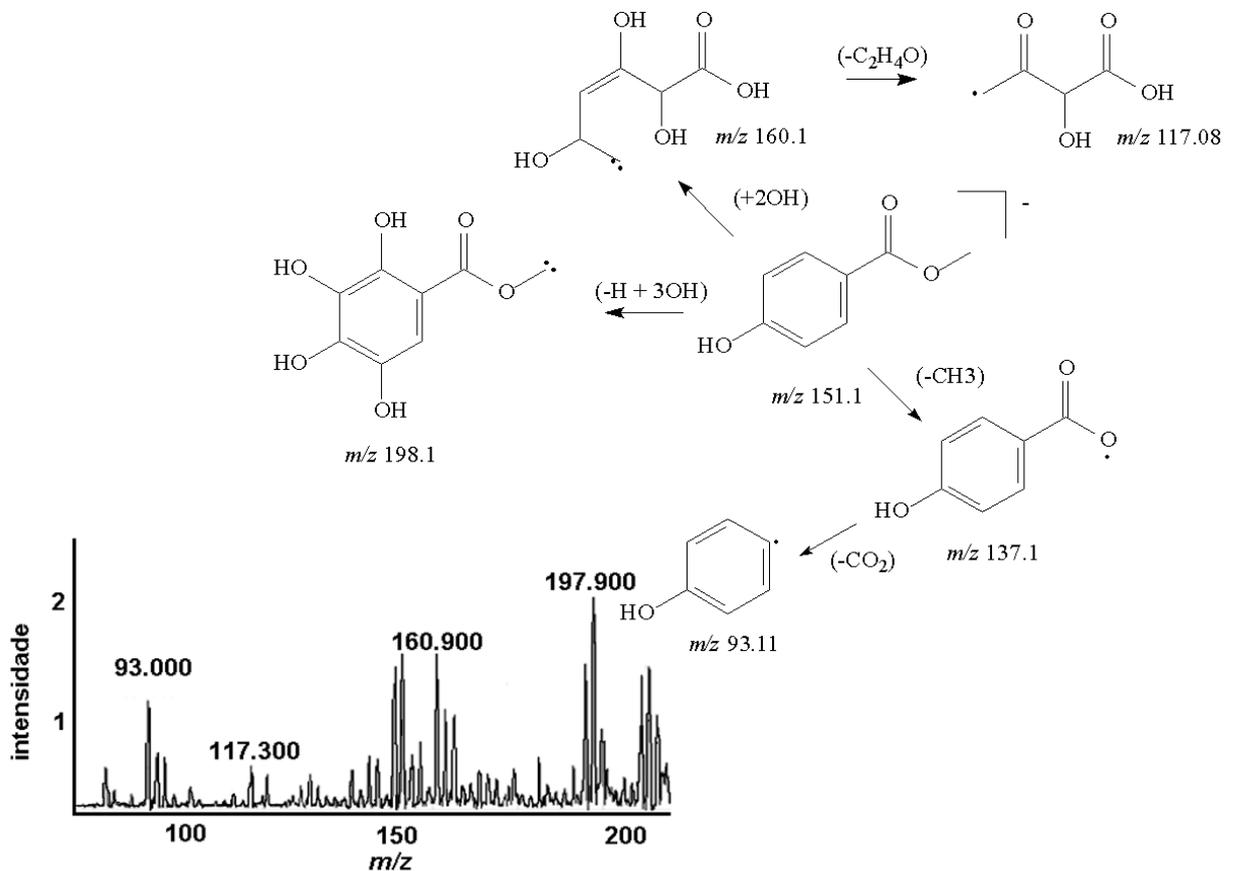


Figura 31 - EM e caminho de fragmentação para MeP em solução aquosa.

O fragmento de sinal mais intenso, que pode ser observado no EM (Figura 31) é de m/z 198,1, gerado pela hidroxilação do anel aromático (entrada de três OH) e saída de dois hidrogênios da metila do grupamento éster. Produto de fragmento de m/z 161,0 também foi encontrado, gerado pelo ataque dos radicais hidroxila e clivagem do anel aromático, assim

como reportado na literatura (MATTHEWS, 1998; CHATTERJEE et al., 1994). O produto é oxidado a pequenas moléculas, dentre elas, a m/z 117,08 (LIN et al., 2009).

A oxidação leva a perda do grupamento metila (MeP) com formação do ácido *p*-hidroxibenzóico (m/z 137,1), encontrado em até 30 minutos de reação (LIN et al., 2009), que por sua vez, dá origem ao produto de degradação de m/z 93,0 (LIN et al., 2009).

O estudo da fragmentação estrutural em efluente hospitalar (enriquecido), após aplicação de fotocatalise heterogênea, também foi realizado e os produtos foram comparados aos fragmentos gerados em solução aquosa. Na figura 32 encontram-se o EM e caminho de fragmentação proposto.

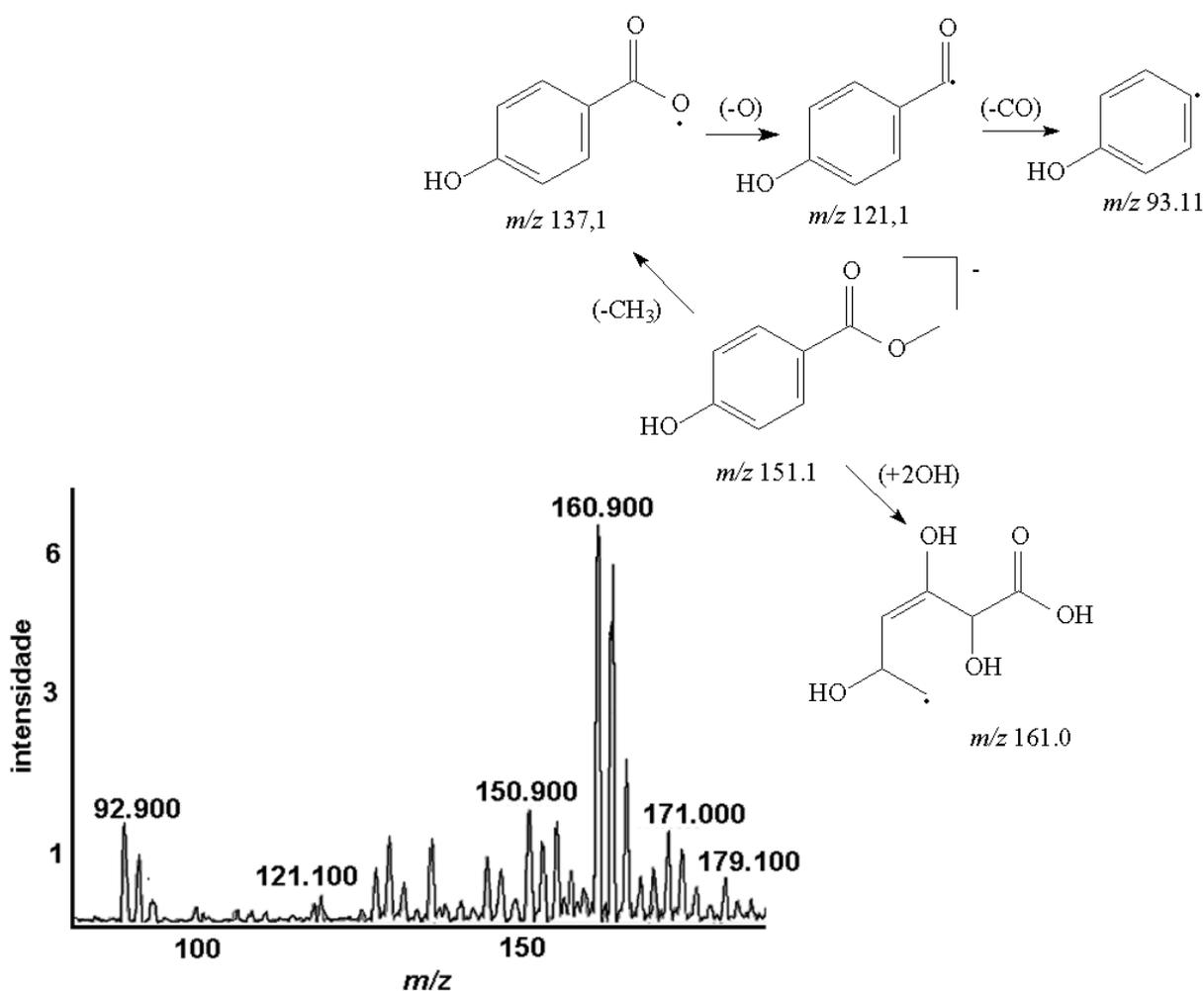


Figura 32 - EM e caminho de fragmentação para MeP em efluente hospitalar.

Os produtos de degradação de m/z 161 e 137,1 (ácido *p*-hidroxibenzoico), também podem ser visualizados na varredura da matriz de efluente hospitalar, após aplicação de fotocatalise heterogênea. Partindo do ácido *p*-hidroxibenzoico, a perda da molécula de oxigênio dá origem a m/z 121,1 e por fim a formação do produto de degradação m/z 93,1 (LIN et al., 2009) formado pela saída do grupamento carbonílico (Figura 32).

3.3.2 Produtos de degradação do EtP em solução aquosa e efluente hospitalar

Os produtos de degradação para EtP após aplicação do processo de fotólise em solução aquosa foram propostos e podem ser conferido juntamente com o EM na figura 33.

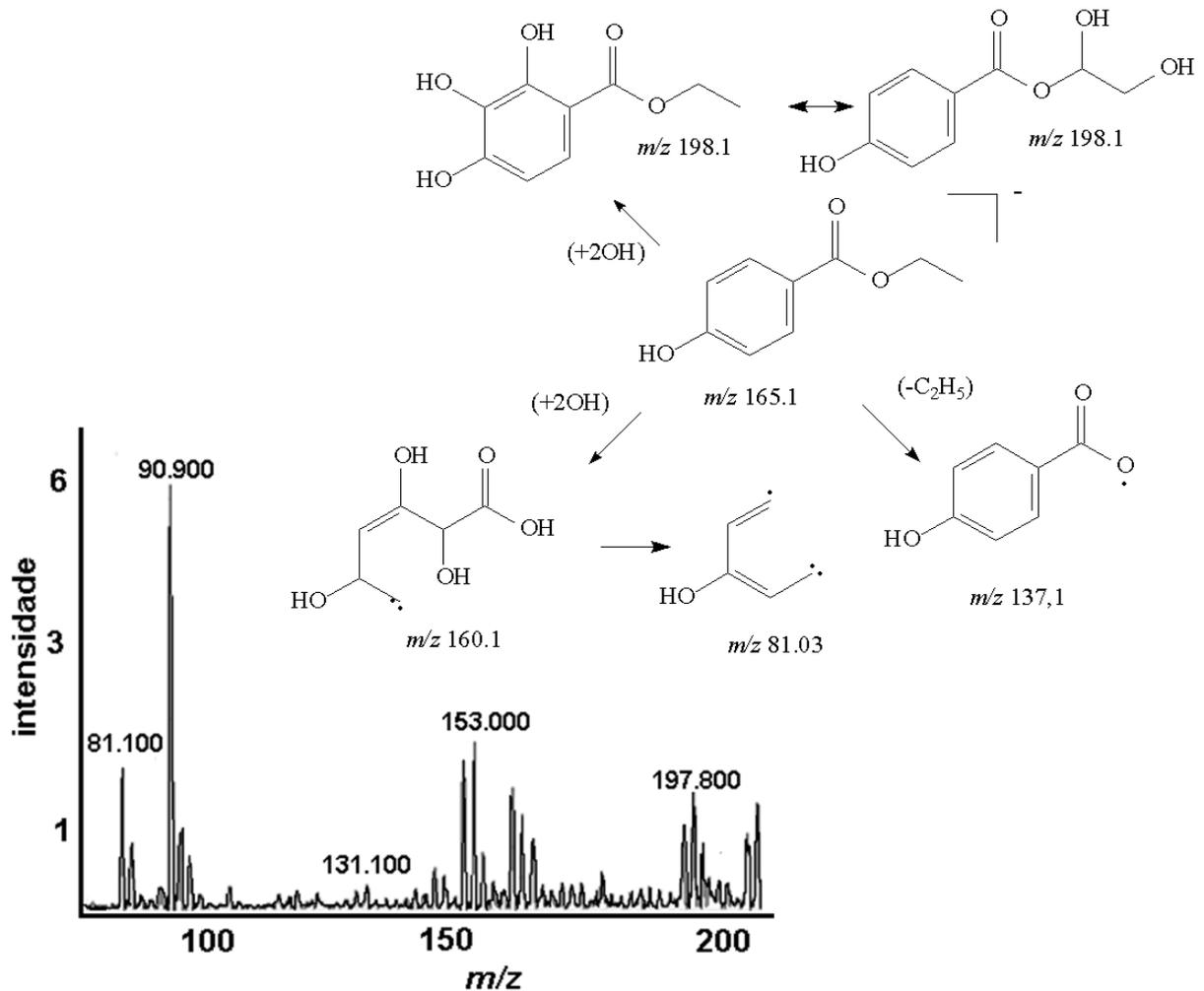


Figura 33 - EM e caminho de fragmentação para EtP em solução aquosa.

Em solução aquosa o produto de fragmento de m/z 161,0 foi identificado, assim como para MeP, gerado pelo ataque dos radicais hidroxila e clivagem do anel aromático, como reportado na literatura (MATTHEWS, 1998; CHATTERJEE et al., 1994). O produto é oxidado a pequenas moléculas, dentre elas, a m/z 81,0 (LIN et al., 2009). A saída do grupamento etil, ligado a cadeia do éster, dá origem ao produto de m/z 137,1 (ácido *p*-hidroxibenzóico) com identificação até 30 minutos de processo.

A hidroxilação do EtP deu origem ao produto de m/z 198,1, onde, a entrada da hidroxila pode ocorrer no grupamento éster, gerando o produto 1,2 dihidroxi-etilparabeno ou na cadeia carbônica, dihidroxi-etilparabeno (TAY et al., 2010).

Os produtos gerados pela fotodegradação de EtP em efluente hospitalar podem ser conferidos na figura 34 juntamente com o EM.

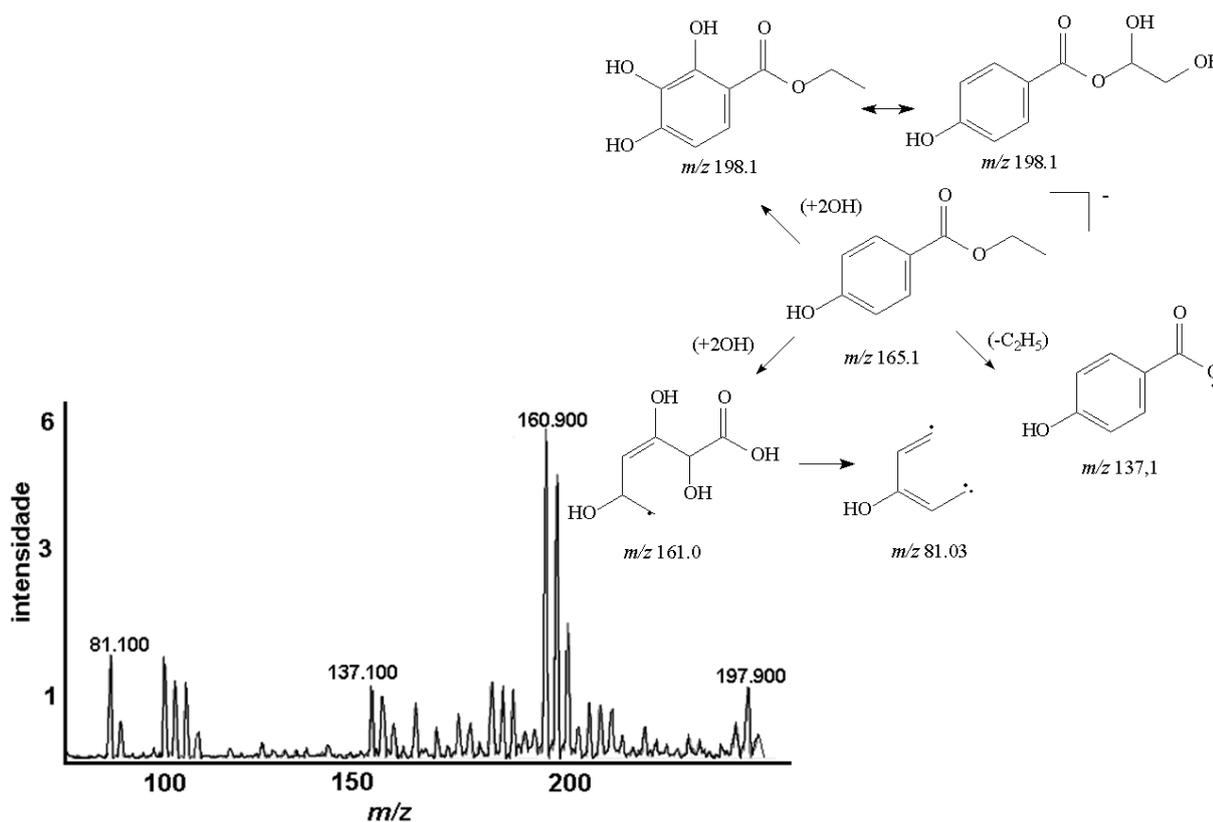


Figura 34 - EM e caminho de fragmentação para EtP em efluente hospitalar.

Na comparação dos EM (solução aquosa e efluente hospitalar) pode-se observar que os mesmos produtos foram formados (m/z 81,03, 137,1 e 198,1 e 161,0)

3.3.3 Produtos de degradação do PrP em solução aquosa e efluente hospitalar

Da mesma maneira os experimentos foram conduzidos para gerar produtos de degradação de PrP em solução aquosa, após 120 minutos de processo e propor rotas (Figura 35).

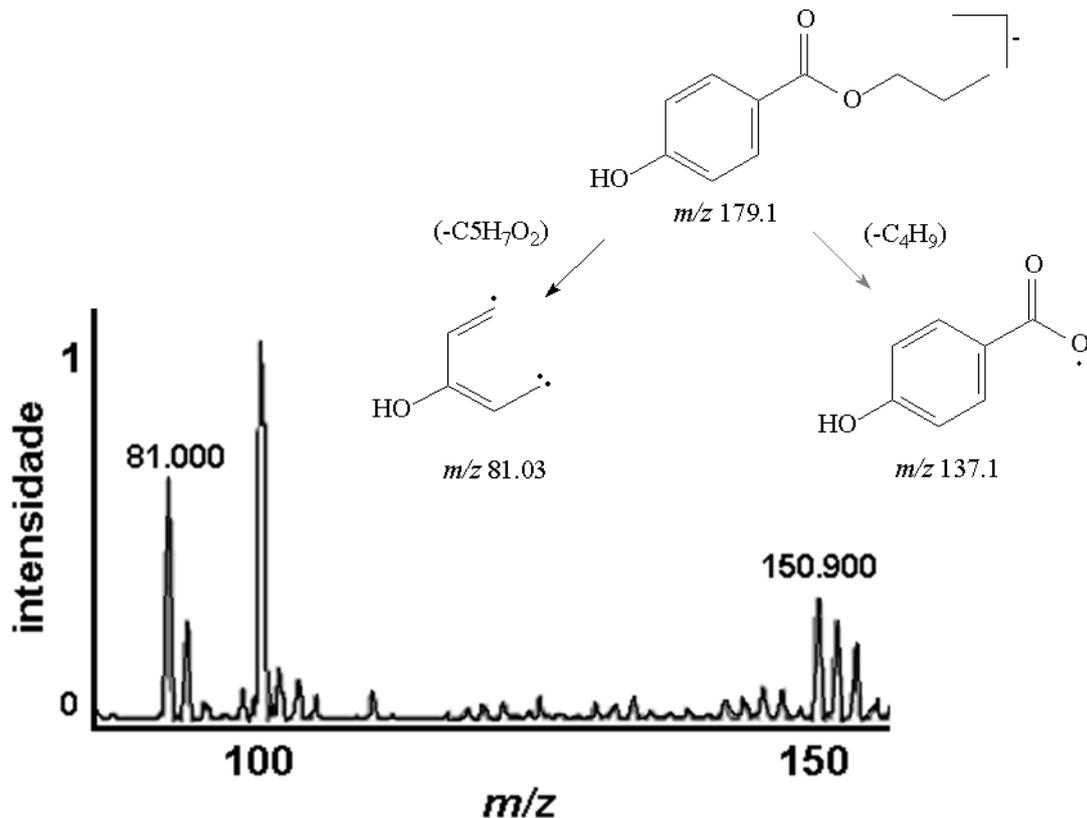


Figura 35 - EM e caminho de fragmentação para PrP em solução aquosa.

O EM (Figura 35) mostra os principais produtos de degradação gerados por fotólise de PrP. A m/z 81,03 resulta da quebra do anel aromático, como reportado na literatura (MATTHEWS, 1998; CHATTERJEE et al., 1994) e resultado de fragmentação de moléculas maiores, que, não podem ser visualizados no EM. O ácido *p*-hidroxibenzóico (m/z 137,1)

também foi encontrado, porém, em tempos de reação inferiores a 60 minutos, após é degradado, o mesmo fragmento foi identificado no experimento de fotólise para MeP e EtP.

Em amostras de efluente hospitalar, os produtos de degradação foram confrontados com os produtos obtidos em solução aquosa para o mesmo analito.

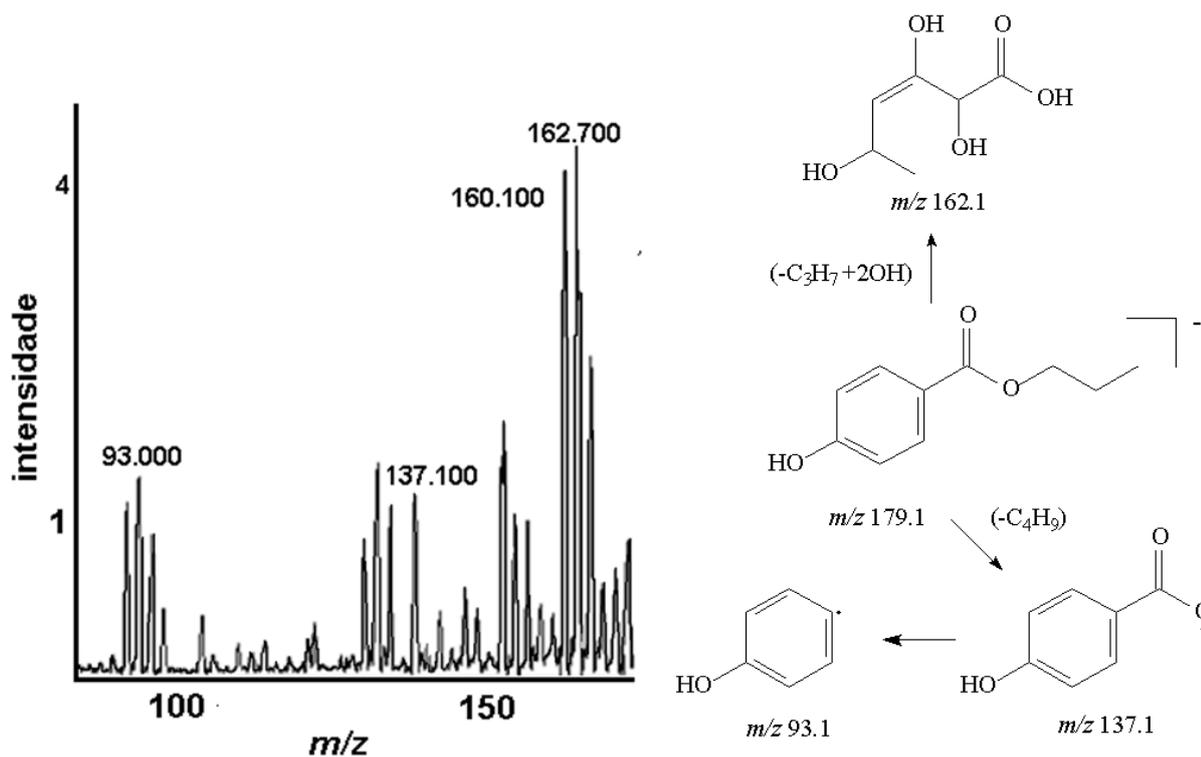


Figura 36 - EM e caminho de fragmentação para PrP em efluente hospitalar.

A figura 36 mostra os principais produtos encontrados. O ácido *p*-hidroxibenzóico (m/z 137,0) é único produto comum em solução aquosa. A saída do grupamento CO₂ do ácido *p*-hidroxibenzóico gera a m/z 93,1 (fenol). O fragmento de m/z 162,1 foi identificado como produto de degradação para PrP, resultado da entrada de um hidrogênio ao produto de degradação (m/z 161,0) identificado nos EM do MeP e EtP.

3.3.4 Produtos de degradação do BuP em solução aquosa e efluente hospitalar

Os produtos de degradação identificados para BuP em solução aquosa, após 120 minutos de fotólise estão na figura 37. Três foram os fragmentos propostos segundo as m/z 81,1, 160,1 e 209,2 identificadas.

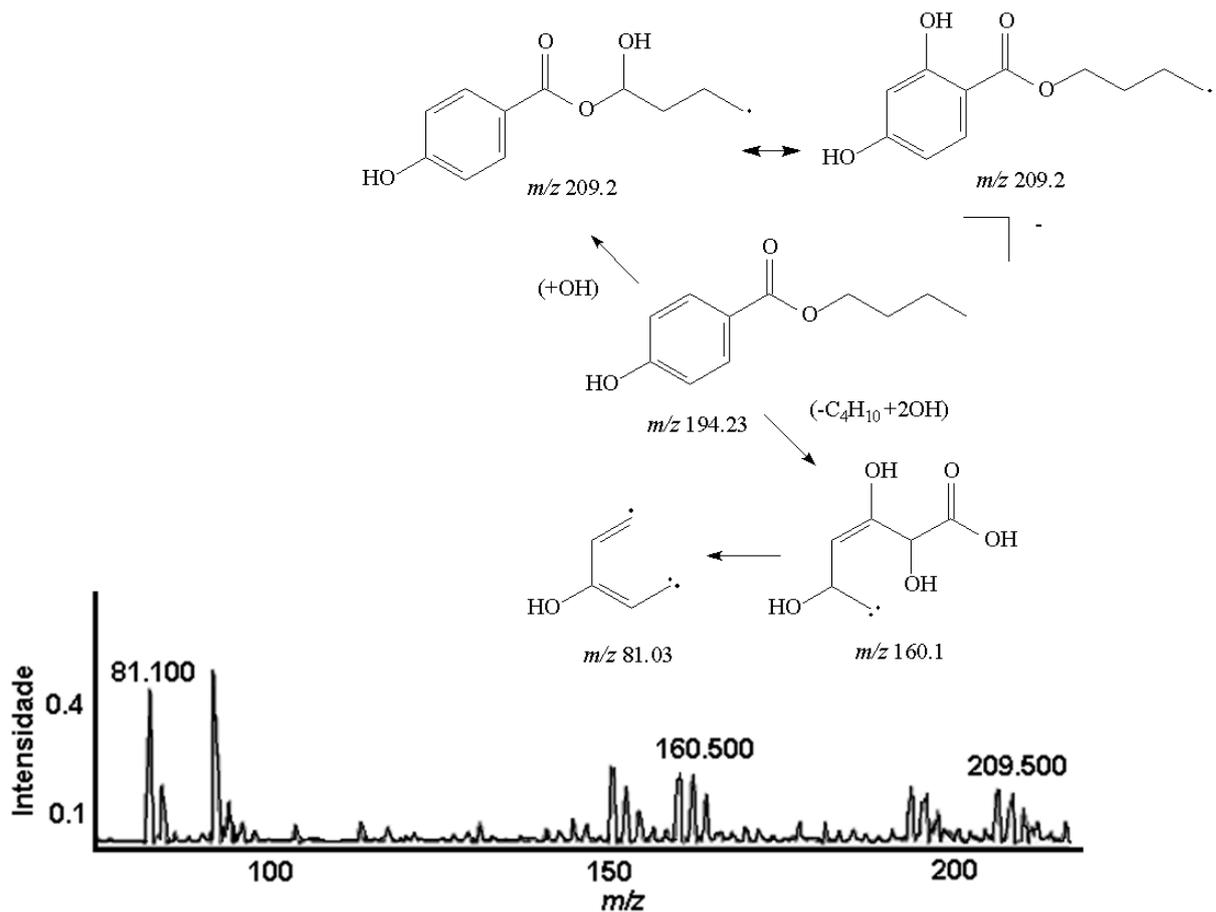


Figura 37 - EM e caminho de fragmentação para BuP em solução aquosa.

A m/z 209,2 é resultado da adição do grupamento hidroxila ao BuP. A aplicação do processo de ozonização em solução aquosa também resultou na hidroxilação do BuP, duas foram às estruturas sugeridas pelos autores, a primeira pela adição da hidroxila ao anel aromático e a segunda na cadeia de éster (TAY et al., 2010).

A m/z 209,2 encontrada em solução aquosa também foi identificado como produto de degradação do BuP em efluente hospitalar, após a aplicação de fotocatalise heterogênea (Figura 38).

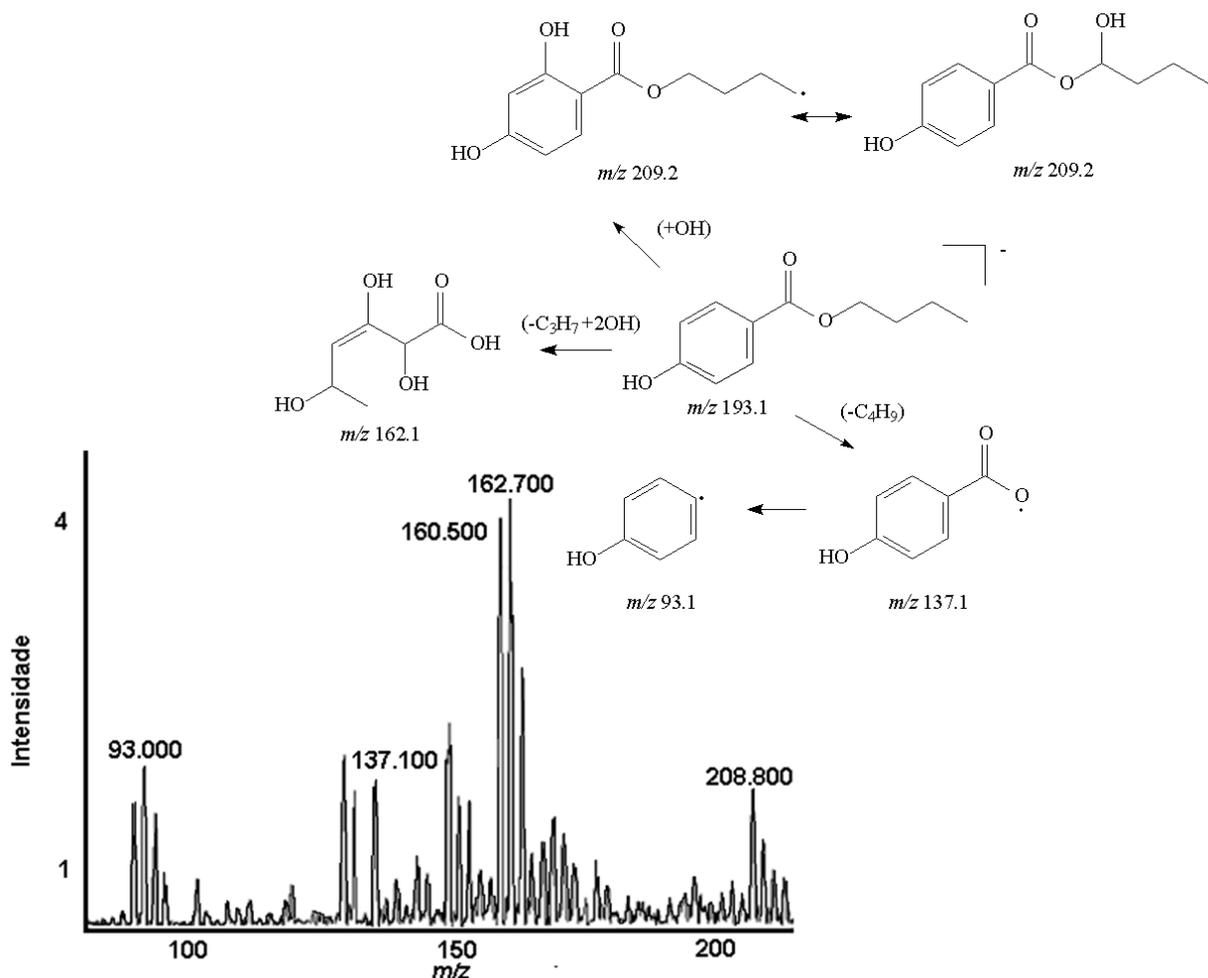


Figura 38 - EM e caminho de fragmentação para BuP em efluente hospitalar.

Mais três fragmentos de m/z 93,1; 137,1 e 162,7 (LIN et al., 2009; 2010) foram propostos como produtos de degradação, os quais, foram identificados em EM dos PBs anteriores. O fragmento de m/z 93,1 se origina da saída do grupamento éster do anel benzênico, formando o fenol.

3.3.5 Produtos de degradação do BeP em solução aquosa e efluente hospitalar

O estudo da fragmentação estrutural do BeP foi feito em solução aquosa e efluente hospitalar. A figura 39 mostra os principais produtos gerados pela fotólise em solução aquosa. O fragmento m/z 198,1 foi identificado, proveniente da saída do grupamento benzil ligado ao

éster, seguido da hidroxilação do anel aromático (entrada de três OH). A ruptura do anel aromático, gerando o produto de m/z 81,0 foi o segundo produto que teve sua abundância relativa aumentada com o decorrer do processo de fotólise, resultado da oxidação de moléculas intermediárias.

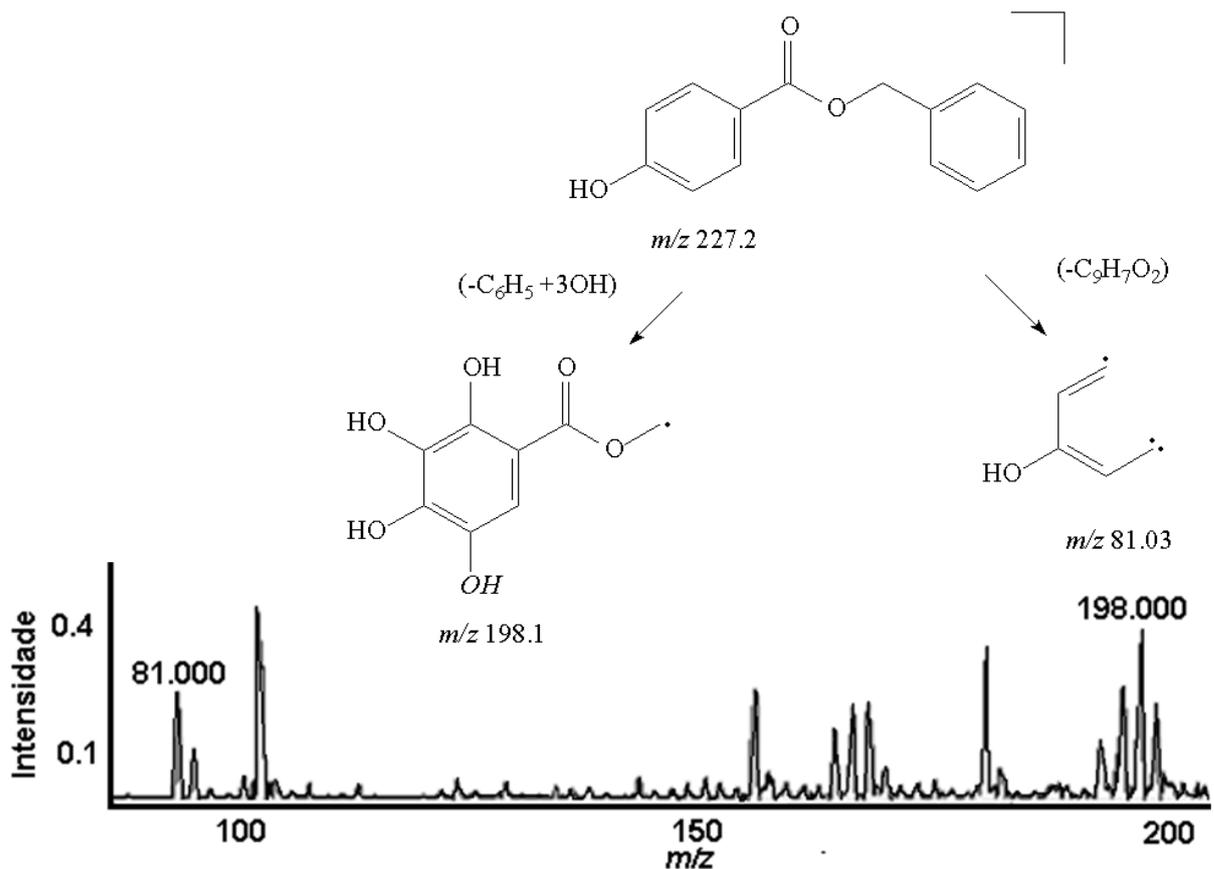


Figura 39 - EM e caminho de fragmentação para BeP em solução aquosa.

Comparando as figuras 39 e 40, pode-se perceber os fragmentos de m/z 198,1 e 81,0 foram encontrados em ambas as amostras submetidas aos processos. Além destes, m/z 137,1; e 162,1 foram identificados e tiveram sua estrutura proposta (Figura 40).

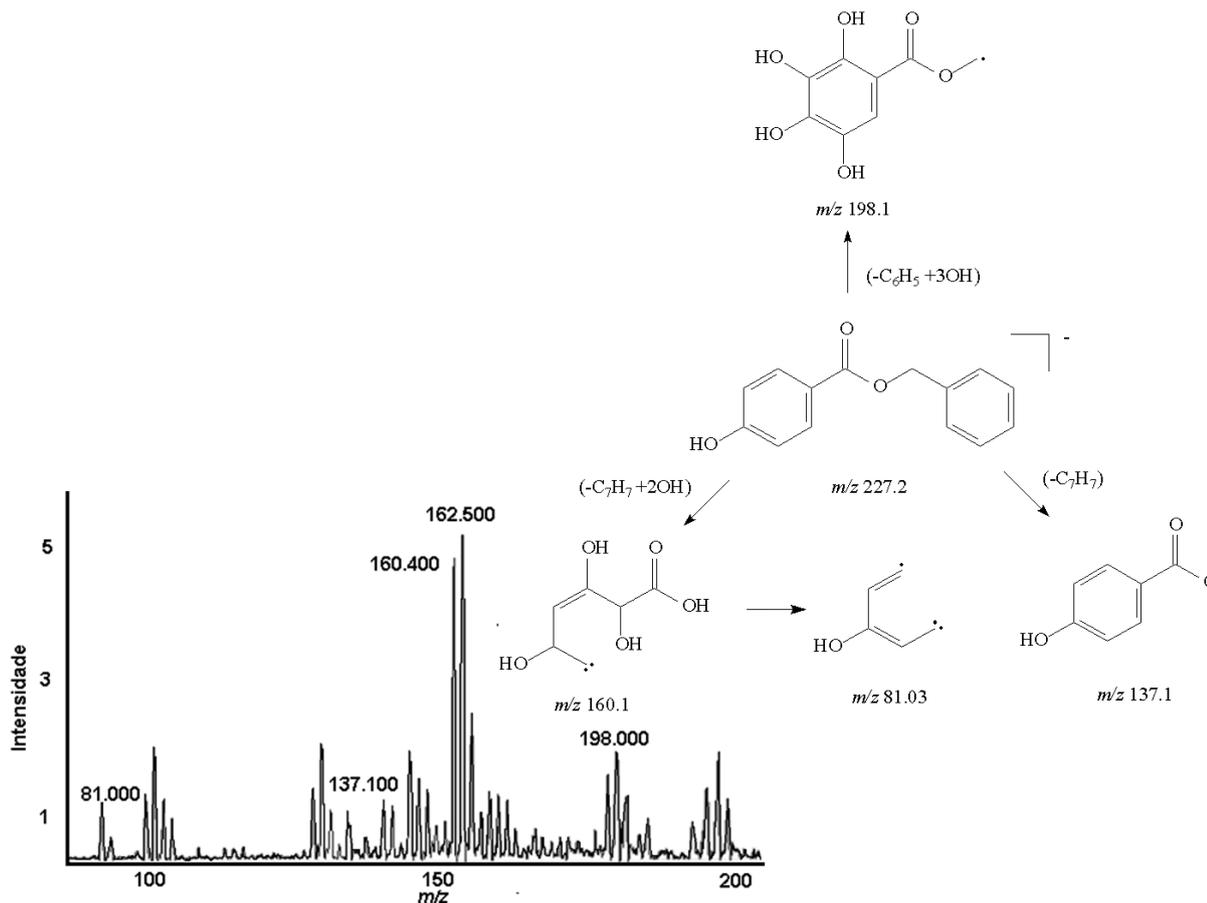


Figura 40 - EM e caminho de fragmentação para BeP em efluente hospitalar.

3.4 Verificação do risco potencial para PBs

Uma atenção maior foi dada à estimativa das quantidades de PBs lançados pelo HUSM para o sistema de esgotos e, ao final, para águas de superfície (curso d'água receptor).

Um dos parâmetros físico-químicos fundamentais para o estudo da avaliação do risco potencial é o valor de K_{ow} . Este indica a polaridade da substância em estudo e, conseqüentemente, seu potencial de ser bioacumulado no ambiente (ARSAND, 2010).

Assim, primeiramente, avaliou-se a capacidade de bioacumulação no ambiente dos PBs, através dos seus valores de K_{ow} e $\log K_{ow}$ (Tabela 22).

Tabela 22 - Valores de Kow e log Kow para os PBs.

Compostos	Kow	log Kow
MeP	91,20	1,96
EtP	295,12	2,47
PrP	1.096,47	3,04
BuP	2.511,89	3,40
BeP	3.801,89	3,58

Substâncias com log Kow 4,5 ou superior são classificadas como substâncias de risco, devido à fácil bioacumulação, sem exigências de estudos complementares. Como os PBs atingem este limiar, os passos seguintes de investigação propostos pela EMEA (2006) para a verificação de risco destas substâncias no ambiente, devem ser seguidos. Dentro deste contexto, observando-se a tabela 22, a substância que apresenta maior risco ecológico é o BeP, e a substância com menor risco, é MeP (mais alta hidrossolubilidade).

A verificação do risco potencial foi feita usando como parâmetro o QR real, ou seja, a razão entre MEC/PNEC. Os valores de PNEC encontrados na literatura se referem ao crustáceo *Daphnia magna* indicando que para esses organismos a quantidade lançada pelo HUSM não apresentaria risco (Tabela 23) (YAMAMOTO et al., 2011)

Tabela 23 - MEC, PNEC e QR real dos PBs.

Compostos	MEC^a	PNEC^b	QR real MEC/PNEC
MeP	1,91	34	0,056
EtP	1,24	7,4	0,167
PrP	1,84	3,5	0,525
BuP	-	3,3	-
BeP	1,25	2,1	0,595

^{a, b} $\mu\text{g L}^{-1}$

Os valores de QR real apresentaram valores < 1 , ou seja, PBs apresentam risco mínimo ao ecossistema aquático, porém pode-se destacar que BeP, comparado aos demais, apresenta o maior risco ao ecossistema. Os valores experimentais comparados aos da literatura apresentam similaridade, QR calculado para PBs em efluente doméstico e águas de rio, considerando os valores de PNEC referentes ao crustáceo *Daphnia magna*, foram < 1 (RAMASWAMY et al., 2011; YAMAMOTO et al., 2011).

4 CONCLUSÕES

A metodologia SPE seguida de HPLC-DAD para a determinação de PBs mostrou-se adequada, segundo as principais figuras-de-mérito. As percentagens de recuperação alcançadas variaram de 75% a 109% com RSD entre 1,0% e 13,0% para solução aquosa, e 72% a 106% (RSD de 7,0% a 15,5%) para efluente hospitalar. MeP e PrP estão presentes em todas as amostras de efluentes analisadas e apresentam concentrações superiores às dos demais PBs.

A aplicação de quimiometria, em especial, a utilização de planejamento multivariado dos experimentos, permitiu a avaliação da interação entre as variáveis, evitando-se com isso a execução de experimentos desnecessários.

O metabólito, ácido *p*-hidroxibenzóico, foi identificado nas amostras de efluente hospitalar por meio de LC-ESI-MS/MS e sua rota de fragmentação foi proposta, sendo que, fragmentos semelhantes foram encontrados em ambos os (EG e CR).

Para a fotocatalise heterogênea de efluente hospitalar, o sistema usando catalisador TiO₂ imobilizado em barras poliméricas apresentou eficiência mais elevada, quando comparado ao sistema usando o mesmo catalisador, em suspensão; o que se explica pela maior penetrabilidade da radiação no sistema com catalisador imobilizado. As barras poliméricas com TiO₂ suportado, ademais, induziram maior formação de radicais (hidroxil), com fotodegradação média geral para os PBs da ordem de 83%, em 120 minutos de processo.

A influência negativa da matriz complexa do efluente ficou evidenciada na menor eficiência da fotólise, comparada à fotocatalise heterogênea. Além da influência do catalisador, a variável pH mostrou-se significativa, também, influenciando os processos de degradação, sendo que, pHs ácidos favorecem a fotodegradação.

O estudo cinético mostrou que a reação de degradação de PBs é de pseudo-primeira, em todos os casos estudados, ou seja, a taxa de degradação é proporcional à concentração inicial de PBs. Pelo exame das constantes cinéticas verifica-se que o BuP apresenta velocidade de degradação mais elevada, quando comparado aos demais PBs.

A grande semelhança na estrutura dos PBs garante a similaridade dos produtos de degradação, identificados por meio de LC-ESI-MS/MS. Porém, foram observadas diferenças consideráveis da razão *m/z* em amostras de efluente hospitalar e em solução aquosa. Isto se deve, possivelmente, à complexidade da matriz do efluente hospitalar. Ao total foram identificados 11 produtos de oxidação em ambos os meios estudados.

A avaliação preliminar de risco mostrou que PBs apresentam baixo risco para os ecossistemas ($MEC/PNEC < 1$). Fator de destaque deve ser atribuído ao BeP, que além de mostrar um valor de $\log K_{ow}$ mais elevado que os demais (possibilidade de maior bioacumulação), também apresentou o quociente de risco ecotoxicológico mais alto de todos os PBs estudados ($QR_{real}=0,59$).

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Pesquisar sobre outros PBs e PPCPs;
- Aplicação de novas metodologias de extração, como SBSE e LLME;
- Desenvolver metodologias analíticas para a determinação e o estudo da ocorrência de PBs, seus metabólitos e produtos da degradação em outras matrizes ambientais (águas de abastecimento público e superficial, solos e sedimentos, e efluentes diversos), como também alimentos, em especial (carnes, laticínios e derivados);
- Aplicação de diferentes PAOs para degradação de PBs do efluente hospitalar (ozonização e foto-fenton);
- Estudar biodegradabilidade e toxicidade PBs e produtos de degradação;
- Utilizar novos materiais de construção para as barras de adsorção: diferentes tipos de polímeros, grafeno e nano-TiO₂.

REFERÊNCIAS

ABRAMOVIC, B. et al. Photocatalytic degradation of metoprolol tartrate in suspensions of two TiO₂-based photocatalysts with different surface area. Identification of intermediates and proposal of degradation pathways. **J. Hazard. Mater.**, 198, 123-132, 2011.

ALBERO, R. et al. Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain). **J. Hazard. Mater.**, 239-240, 48-55, 2012.

ANVISA, 2004. Resolução n. 306, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 7 dez. 2004. Acesso em Setembro 2011. Available at: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2004/rdc/306_04rdc.htm.

AUBERT, N.; AMEELLER, T.; LEGRAND, J-J. Systemic exposure to parabens: Pharmacokinetics, tissue distribution, excretion balance and plasma metabolites of [¹⁴C]-methyl-, propyl- and butyl paraben in rats after oral, topical or subcutaneous administration. **Food Chem. Toxicol.**, 50, 445-454, 2012.

BEZERRA, M. A. et al. Response Surface Methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, 76, 965-977, 2008.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: Efeitos e consequências. **Química Nova**, 30 (3), 651-666, 2007.

BLEDZKA, D. et al. Degradation of *n*-butylparaben and 4-tert-octylphenol in H₂O₂/UV system. **Radiat. Phys. Chem.**, 79, 409-416, 2010.

BLEDZKA, D.; GRYGLIK, D.; MILLER, J. S. Photodegradation of butylparaben in aqueous solution by 254 nm irradiation. **J. Photochem. Photobiol. A: Chem.**, 203, 131-136, 2009.

BOBERG, J. et al. Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites. **Reprod. Toxicol.**, 30, 301-312, 2010.

BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental Concentrations and toxicity. **Chemosphere**, 82, 1518-1532, 2011.

BRENNER, C. G. B. et al. Determination of sulfamethoxazole and trimethoprim and their metabolites in hospital effluent. **Clean-Soil Air Water**, 39, 28-34, 2011.

BRITTO, J. M.; RANGEL, M. C. Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais. **Química Nova**, 31 (1), 114-122, 2008.

BUCHBERGER, W. W. Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. **J. Chromatog. A**, 1218, 603-618, 2011.

CAMEL, V. Solid phase extraction of trace elements. **Spectrochim. Acta**, 58, 1177-1233, 2003.

CANOSA, P. et al. Optimization of a solid-phase microextraction method for the determination of parabens in water samples at the low ng per liter level. **J. Chromatog. A**, 1124, 3-10, 2006.

CARP, O.; HUISMAN, C. L.; RELLER, A. Photoinduced reactivity of titanium dioxide. **Progress in Solid State Chemistry**, 32, 33-177, 2004.

CHEN, J. et al. Antiandrogenic properties of parabens and other phenolics containing small molecules in personal care products. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, 221, 278-284, 2007.

CHONG, M. N. et al. Recent development in photocatalytic water treatment technology: A review. **Water Res.**, 44, 227-3027, 2010.

CONAMA, 2011. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução N° 430, de 13 de maio de 2011.

DA CRUZ, L. H. et al. Degradação fotocatalítica de sulfametoxazol, trimetoprima e diclofenaco em solução. **Química Nova**, 33 (6) 1270-1274, 2010.

DA SILVA, D. S. 2012. **BTEX: Desenvolvimento de barras de extração sortiva, determinação em efluente hospitalar e degradação por meio de fotocatalise heterogênea com tio₂ suportado em polímeros**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, RS.

DA SILVA, D. S. et al. PDMS extraction bars for the determination of volatile aromatic hydrocarbons in water and wastewater. **J. Sep. Sci.**, 36, 362–368, 2013.

DAGHER, Z. et al. *p*-Hydroxybenzoate esters metabolism in MCF7 breast cancer cells. **Food Chem. Toxicol.**, 50, 4109-4114, 2012.

DÍAZ, I. J. et al. A new liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for determination of parabens in human placental tissue samples. **Talanta**, 84, 702-709, 2011.

EMA & European Medicines Agency, 2006. Committee for medicinal products for human use (CHMP). *Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4447/00*. Available at: www.emea.europa.eu/pdfs/human/swp/444700en.pdf.

ESPLUGAS, S. et al. Ozonization and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. **J. Hazard. Mater.**, 149, 631-642, 2007.

FERREIRA, A. M. C. et al. Stir bar sorptive extraction of parabens, triclosan and methyl triclosan from soil, sediment sludge with in situ derivatization and determination by gas chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatog. A**, 1218, 3837-3844, 2011.

FERREIRA, S. L. C. et al. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Anal. Chim. Acta**, 597, 179-186, 2007.

FUKAHORI, S. et al. Photocatalytic decomposition of crotamiton over aqueous TiO₂ suspensions: Determination of intermediates and their action pathway. **Chemosphere**, 89, 213-220, 2012.

GARCÍA, et al. Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain. **Sci. Total Environ.**, 444, 451-465, 2013.

GOLDSTEIN, S.; RABANI, J. The ferrioxalate and iodide-iodate actinometers in the UV region. **J. Photochem. Photobiol. A: Chem.**, 193, 50-55, 2008.

GONZALEZ, M. G. et al. Vacuum-ultraviolet photolysis of aqueous reaction systems. **J. Photochem. Photobiol. C**, 5, 225-246, 2004.

GOTTSCHAL, N. et al. Pharmaceutical and personal care products in groundwater, subsurface drainage, soil, and wheat grain, following a high single application of municipal biosolids to a field. **Chemosphere**, 87, 194-203, 2012.

GROS, M.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and automated library searching. **Anal. Chem.**, 81, 898-912, 2009.

GROSA, G. et al. Simultaneous, stability indicating, HPLC-DAD determination of guaifenesin and methyl and propyl-paraben in cough syrup. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, 41, 798-803, 2006.

GUILLÉN, D. et al. Prioritization of chemicals in the aquatic environment based on risk assessment: Analytical, modeling and regulatory perspective. **Sci. Total Environ.**, 440, 236-252, 2012.

HAQUE, M. M.; MUNEEER, M. Photodegradation of norfloxacin in aqueous suspensions of titanium dioxide. **J. Hazard. Mater.**, 145, 51-57, 2007.

HASHIMOTO, K.; IRIE, H.; FUJISHIMA, A. TiO₂ photocatalysis: a historical overview and future perspectives. **J. Appl. Phys.**, 44, 8269-8285, 2005.

HENRIQUES D. M. Nonylphenol polyethoxylate in hospital wastewater: A study of the subproducts of electrocoagulation. **J. Environ. Sci. Health A**, 47, 497-505, 2012.

HERNANDO, M. D. et al. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. **Talanta**, 69, 334-342, 2006.

HERRMANN, J. Photocatalysis fundamentals revisited to avoid several misconceptions. **Appl. Catal. B**, 99, 461-468, 2010.

JONKERS, N. et al. Occurrence and sources of selected phenolic endocrine disruptors in Ria de Aveiro, Portugal. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, 17, 834-843, 2010.

KHALEEL, N. D. H. et al. Photolysis of sulfamethoxypyridazine in various aqueous media: Aerobic biodegradation and identification of photoproducts by LC-UV-MS/MS. **J. Hazard. Mater.**, 244-245, 654-661, 2012.

KOZLOWSKA-T, K.; NAMIEŚNIK, J.; GÓRECKI, T. Determination of Estrogenic Endocrine Disruptors in Environmental Samples - A Review of Chromatographic Methods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 40 (3), 194-201, 2010.

KUMAR, A.; KUMAR, S.; SABUMON, P. C. Preliminary study of physico-chemical treatment options for hospital wastewater. **J. Environ. Manage.**, 83, 298-306, 2007.

KUMAR, A.; XAGORARAKI, I. Pharmaceuticals, personal care products and endocrine-disrupting chemicals in U.S. surface and finished drinking waters: A proposed ranking system. **Sci. Total Environ.**, 408, 5972-5989, 2010.

KÜMMERER, K. Emerging contaminants versus micro-pollutants. **Clean-Soil, Air, Water**, 39 (10), 889-890, 2011.

LAMSAL, R.; WALSH, M. E.; GAGNON, G. A. Comparison of advanced oxidation processes for the removal of natural organic matter. **Water Res.**, 45, 3263-3269, 2011.

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. **J. Chromatog. A**, 1094, 122-129, 2005.

LI, W. et al. Effects of Fenton treatment on the properties of effluent organic matter and their relationships with the degradation of pharmaceuticals and personal care products. **Water Res.**, 46, 403-412, 2012.

LIN, Y. et al. Photocatalytic degradation of methylparaben by TiO₂: Multivariable experimental design and mechanism. **Appl. Catal. B**, 88, 32-42, 2009.

LIN, Y. et al. Study of benzylparaben photocatalytic degradation by TiO₂. **Appl. Catal. B**, 104, 353-360, 2011.

LUNDOV, M. D. et al. Contamination versus preservation of cosmetics: a review on legislation, usage, infections, and contact allergy. **Contact Dermatitis**, 60, 70-78, 2009.

MALATO, S. et al. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. **Catal. Today**, 147, 1-59, 2009.

MARIÑO, I. G. et al. Evaluation of the occurrence and biodegradation of parabens and halogenated by-products in wastewater by accurate-mass liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS). **Water Res.**, 45, 6770-6780, 2011a.

MARIÑO, I. G. et al. Fully automated determination of parabens, triclosan and methyl triclosan in wastewater by microextraction by packed sorbents and gas chromatography-mass spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, 684, 59-66, 2011b.

MARTINS, A. F. et al. A Study of Photocatalytic Processes Involving the Degradation of the Organic Load and Amoxicillin in Hospital Wastewater. **Clean-Soil Air Water**, 37, 365-371, 2009.

MARTINS, A. F. et al. Concentration of Ciprofloxacin in Brazilian hospital effluent and preliminary environmental risk assessment: A Case Study. **Clean-Soil Air Water**, 36, 264-269, 2008.

MARTINS, A. F. et al. Occurrence of the Antimicrobials Sulfamethoxazole and Trimethoprim in Hospital Effluent and Study of Their Degradation Products after Electrocoagulation. **Clean-Soil Air Water**, 39, 21-27, 2011.

MELO, S. A. S. et al. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, 32, 188-197, 2009.

MOLINARI, R. et al. Heterogeneous photocatalytic degradation of pharmaceuticals in water by using polycrystalline TiO₂ and a nanofiltration membrane reactor. **Catal. Today**, 118, 205-213, 2006.

MUROV, S.L. Handbook of photochemistry, 2nd ed., Marcel Dekker, New York, 299-313, 1993.

NETO, B. B.; SCARMINO, I. S.; BRUNS, E. D. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Unicamp, 2003.

NÚÑEZ, L. et al. Determination of parabens in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. **J. Chromatog. A**, 1214, 178-182, 2008.

NÚÑEZ, L. et al. Molecularly imprinted polymer for the extraction of parabens from environmental solid samples prior to their determination by high performance liquid chromatography-ultraviolet detection. **Talanta**, 80, 1782-1788, 2010.

OHTANI, B. Photocatalysis A to Z – What we know and what we do not know in a scientific sense. **J. Photochem. Photobiol. C**, 11, 157-178, 2011.

OISHI, S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. **Food Chem. Toxicol.**, 40, 1807-1813, 2002.

OLLER, I.; MALATO, S.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J. A. Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater decontamination-A review. **Sci. Total Environ.**, 409, 4141-4166, 2011.

PAVLOVIĆ, D. M. et al., 2007. Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. **Trends Analyt. Chem.**, 26 (11), 1062-1075, 2007.

PAZ, Y. Preferential photodegradation – why and how? **C. R. Chimie**, 9, 774-787, 2006.

PEDROUZO, M. et al. Ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for determining the presence of eleven personal care products in surface and wastewaters. **J. Chromatog. A**, 1216, 6994-7000, 2009.

PENG, X. et al. Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China. **Sci. Total Environ.**, 397, 158-166, 2008.

PIETROGRANDE, M. C.; BASAGLIA, G. GC-MS analytical methods for the determination of personal-care products in water matrices. **Trends Analyt. Chem.**, 26 (11), 1086-1094, 2007.

RAMASWAMY, B. R. et al. GC–MS analysis and ecotoxicological risk assessment of triclosan, carbamazepine and parabens in Indian rivers. **J. Hazard. Mater.**, 186, 1586-1593, 2011.

RAMÍREZ, N.; MARCÉ, R. M.; BORRULL, F. Determination of parabens in house dust by pressurised hot water extraction followed by stirbar sorptive extraction and thermal desorption- gas chromatography-mass spectrometry. **J. Chromatog. A**, 1228 (37), 6226-6231, 2011.

RATOLA, N. et al. Occurrence of organic microcontaminants in the wastewater treatment process. A mini review. **J. Hazard. Mater.**, 239-240, 1-18, 2012.

RAZAVI, B. et al. Treatment of statin compounds by advanced oxidation processes: Kinetic considerations and destruction mechanisms. **Radiat. Phys. Chem.**, 80, 453-461, 2011.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, 27 (5), 771-780, 2004.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. Campinas: Casa do Espírito Amigo Fraternidade e Amor, 2009.

RODRÍGUEZ, L. P. et al. Application of solar AOPs and ozonization for elimination of micropollutants in municipal wastewater treatment plant effluents. **Water Res.**, 47 (4), 1521-1528, 2012.

RYAN, C. C.; TAN, D. T.; ARNOLD, W. A. Direct and indirect photolysis of sulfamethoxazole and trimethoprim in wastewater treatment plant effluent. **Water Res.**, 45, 1280-1286, 2011.

SASU, S.; KÜMMERER, K.; KRANERT, M. Assessment of pharmaceutical waste management at selected hospitals and homes in Ghana. **Waste Manag. Res.**, 30, 625-630, 2012.

SHANMUGAM, G. et al. GC–MS method for the determination of parabens preservatives in the human breast cancerous tissue. **Microchem. J.**, 96, 391–396, 2010.

SHIRAI, S. et al. Urinary excretion of parabens in pregnant Japanese women. **Reprod. Toxicol.**, 35, 96-101, 2012.

SONI, M. G.; CARABIN, I. G.; BURDOCK, G. A. Safety assessment of esters of *p*-hydroxybenzoic acid (parabens). **Food Chem. Toxicol.**, 43, 985-1015, 2005.

SOUSA, M. A. et al., Suspended TiO₂-assisted photocatalytic degradation of emerging contaminants in a municipal WWTP effluent using a solar pilot plant with CPCs. **Chem. Eng. J.**, 198-199, 301-309, 2012.

SUAREZ, S.; LEMA, J. M.; OMIL, F. Pre-treatment of hospital wastewater by coagulation-flocculation and flotation. **Bioresour. Technol.**, 100, 2138–2146, 2009.

TAY, K. S.; RAHMAN, N. A.; ABAS, M. R. B. Ozonization of parabens in aqueous solution: Kinetics and mechanism of degradation. **Chemosphere**, 81, 1446-1453, 2010.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P.; LEAL, E. S. Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. **Química Nova**, 27 (3), 441-446, 2004.

VALCÁRCEL, Y.; GONZÁLES, A. S.; RODRÍGUEZ-GIL, J. L. Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. **Chemosphere**, 84, 1336–1348, 2011.

VASCONCELOS, T. G. et al. Ciprofloxacin in hospital effluent: Degradation by ozone and photoprocesses. **J. Hazard. Mater.**, 169, 1154-1158, 2009.

VASCONCELOS, T. G. et al. Photo-degradation of the antimicrobial ciprofloxacin at high pH: Identification and biodegradability assessment of the primary by-products. **Chemosphere**, 76, 487-493, 2009.

VERLICCHI, P. et al. Hospital effluent: Investigation of the concentration and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment. **Sci. Total Environ.**, 430, 109-108, 2012.

WANG, C. et al. Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Water Res.**, 45, 1818-1828, 2011.

WANG, H. et al. Analysis of TiO₂ photocatalysis in pulsed discharge system for phenol degradation. **J. Electrostat.**, 67, 886-889, 2009.

WANG, H.; CHEN, X. Kinetic analysis and energy efficiency of phenol degradation in a plasma-photocatalysis system. **J. Hazard. Mater.**, 186, 1888-1892, 2011.

WILDE, M. L. 2006. **Tratamento de efluente da produção de trifluralina por oxidação-coagulação com ferrato de potássio e processos Fenton combinados**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, RS.

WILDE, M. L. 2011. **β-bloqueadores em efluente hospitalar: ocorrência, degradação por processos avançados de oxidação e identificação de subprodutos**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, RS.

WILDE, M. L.; KÜMMERER, K.; MARTINS, A. F. Multivariate Optimization of Analytical Methodology and a First Attempt to an Environmental Risk Assessment of β-Blockers in Hospital Wastewater. **J. Braz. Chem. Soc.**, 00, 1-9, 2012.

XU, J. et al. Analysis of preservatives with different polarities in beverage samples by dual-phase dual stir bar sorptive extraction combined with high-performance liquid chromatography. **J. Chromatog. A**, 1278, 8-15, 2013.

XUA, J. et al. Simultaneous determination of pharmaceuticals, endocrine disrupting compounds and hormone in soils by gas chromatography–mass spectrometry. **J. Chromatog. A**, 1202, 189-195, 2008.

YANG, H. et al. Photocatalytic degradation kinetics and mechanism of environmental pharmaceuticals in aqueous suspension of TiO₂: A case of β -blockers. **J. Hazard. Mater.**, 179, 834-839, 2010.

YANG, H. et al. Photocatalytic degradation kinetics and mechanism of environmental pharmaceuticals in aqueous suspension of TiO₂: A case of sulfa drugs. **Catal. Today**, 1553, 200-207, 2010.

YANG, L.; YU, L. E.; RAY, M. B. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ photocatalysis. **Water Res.**, 42, 3480-3488, 2008.

YANG, X. et al. Occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in an advanced wastewater reclamation plant. **Water Res.**, 45, 5218-5228, 2011.

YAMAMOTO, H. et al. Aquatic toxicity and ecological risk assessment of seven parabens: Individual and additive approach. **Sci. Total Environ.**, 410-411, 102-111, 2011.

YE, X. et al. Automated on-line column-switching HPLC–MS/MS method for measuring environmental phenols and parabens in serum. **Talanta**, 76, 865–871, 2008.

YOON, Y. et al. Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea). **Sci. Total Environ.**, 208, 636-643, 2010.

YU, J. T.; BOUWER, E. J.; COELHAN, M. Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent. **Agricultural Water Management**, 86, 72-80, 2006.

YU, Y.; WU, L. Analysis of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, 89, 258-263, 2012.

ZHANG, W. et al. Effects of anions on the photocatalytic and photoelectrocatalytic degradation of reactive dye in a packed-bed reactor. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, 80, 223-229, 2005.

ZOTOU, A.; SAKLA, I.; TZANAVARAS, P. D. LC-determination of five paraben preservatives in saliva and tooth paste samples using UV detection and a short monolithic column. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, 53, 785-789, 2010.

ANEXOS

Anexo A – Níveis de concentração para curvas de calibração dos PBs

Tabela 24 - Níveis de concentrações dos PBs para obtenção da curva analítica.

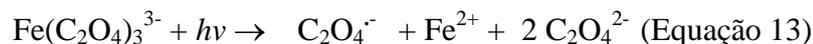
Níveis de concentração	MeP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EtP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	PrP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	BuP ($\mu\text{g L}^{-1}$)	BeP ($\mu\text{g L}^{-1}$)
N1	15	10	23	23	10
N2	60	40	90	90	40
N3	120	80	180	180	80
N4	180	120	270	270	120
N5	240	160	360	360	160
N6	300	200	450	450	200
N7	324	216	486	486	216
N8	360	240	540	540	240

Anexo B – Método actinométrico

1. Actinometria

A intensidade da radiação ultravioleta utilizada para promover as reações nos fotorreatores foi medida com auxílio de solução actinométrica que permite quantificar a radiação média, diretamente, pela transformação fotoquímica. A medida actinométrica foi determinada com base na metodologia descrita por Murov (MUROV, 1993).

Ferrioxalato de potássio, conhecido como actinômetro de Parker, foi o actinômetro usado; este, quando exposto à radiação UV, se decompõe em oxalato de potássio e oxalato de ferro, com redução de Fe^{3+} para Fe^{2+} , conforme Reações 5 e 6 (GOLDSTEIN & RABANI, 2008)



Para a realização dos experimentos, o ferrioxalato de potássio foi sintetizado misturando-se três volumes de uma solução $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ de oxalato de potássio com um volume de cloreto férrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (Reação 7), sob agitação, por 24 h, utilizando-se agitador magnético. O sobrenadante foi descartado e os cristais foram dissolvidos em água e repetindo a cristalização por três vezes. Ao final, os cristais foram secos em estufa a $45 \text{ }^\circ\text{C}$. A síntese foi realizada no escuro.



A solução de ferrioxalato de potássio $0,006 \text{ mol L}^{-1}$ foi irradiada por 60 segundos no reator. A pesagem dos reagentes e a preparação das soluções, bem como toda manipulação, foram feitas em sala escura, excluindo a incidência de luz.

A quantidade de Fe^{2+} produzida foi determinada espectrofotometricamente, em 510 nm, por meio da complexação de Fe^{2+} com o reagente 1-10 fenantrolina, utilizando-se espectrofotômetro UV-1800 (Shimadzu).

O fluxo de fótons emitidos pela lâmpada de vapor de mercúrio de 125 W e intensidade de $401,17 \text{ W m}^{-2}$, foi calculado conforme a Equação 4:

$$q = \frac{\Delta A \cdot V_1 \cdot V_3}{\Phi(\lambda) \cdot \alpha(510\text{nm}) \cdot V_2 \cdot l \cdot t} \quad (\text{Equação 16})$$

onde: q = fluxo de fótons (mol s^{-1}); ΔA = variação absorvância (510 nm); V_1 = capacidade volumétrica do reator (L); V_3 = volume de solução preparada para medida no espectrofotômetro (L); $\Phi(\lambda)$ = eficiência quântica da produção de Fe^{2+} em 254 nm (1,24); V_2 = volume da amostragem (L); α (510 nm) = absorvância molar ($11.100 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); l = caminho ótico (1 cm); t = tempo (s).

2. Eficiência fotônica

Baseada no abatimento da DQO para os processos aplicados ao efluente hospitalar, a eficiência fotônica foi calculado como mostra a Equação 5 (MARTINS et al., 2009).

$$\zeta(\%) = \frac{\Delta DQO \cdot \Delta t \cdot V \cdot E}{A \cdot I_0} \cdot 100 \quad (\text{Equação 17})$$

onde: ΔDQO (conversão de: $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ para: $\text{mol O}_2 \text{ L}^{-1}$); Δt = tempo de tratamento (s); V = volume de efluente no reator (L); E = energia contida em 1 mol de fótons ($\lambda_{\text{máx}} = 254 \text{ nm}$) = 1 Einstein; A = área total irradiada (m^2); I_0 = intensidade da radiação incidente (W m^{-2})

3. Atividade actinométrica do fotorreator

Calculado conforme a (Equação 16, pode-se observar que o fluxo de fótons no fotorreator foi de $1,06 \times 10^{-4} \pm 1,45 \times 10^{-5} \text{ mol s}^{-1}$. A eficiência fotônica do tratamento do efluente hospitalar por fotocatalise heterogênea também foi calculada, conforme a (Equação 17 sendo $16,07 \pm 0,55\%$.

A eficiência fotônica pode estar diretamente atribuída ao formato do reator, aos materiais de construção e à disposição do TiO_2 nestes, que no presente trabalho ficam suportados em polímeros, aumentando a penetrabilidade da radiação.

Em 2009, Martins et al mediram o fluxo de fótons utilizando o actinômetro de ferrioxalato de potássio e a eficiência fotônica para fotorreator de frasco de Dewar, com lâmpada de mercúrio imersa, este reator foi empregado nos experimentos de fotocatalise heterogênea e foto-Fenton para o tratamento de efluente hospitalar. Os autores obtiveram com este reator um fluxo de fótons de $q = 1,71 \times 10^{-5} \pm 1,25 \times 10^{-7}$ e eficiência fotônica de $30,0 \pm 0,67\%$ para o processo foto-Fenton e, $19,02 \pm 0,88\%$, para o processo fotocatalítico heterogêneo.

APÊNDICE

Apêndice A – Teste de controle de Qualidade da matéria prima dos padrões de MeP e PrP.

Tabela 25 - Teste de Controle de qualidade (matéria prima de MeP e PrP)

COMPOSTO	ENSAIO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO	
Metilparabeno	Descrição	Pó branco (LF)	De acordo	
	Solubilidade	– Pouco solúvel em água (aquecimento) – Facilmente solúvel em álcool e metanol	De acordo	
	Identificação	Ponto de fusão (banho de silicone) 125°C – 128°C	128°C	
	Acidez	Espectro Infravermelho Máximo de 0,1 mL de NaOH 0,1 M	De acordo 0,1 mL de NaOH 0,1 M	
	Densidade	Aparente	0,8699 g/mL	
	Cinza sulfatada	Máximo 0,1%	0,06%	
	Aparência da solução	Solução “S” é límpida e não mais intensa que a coloração da solução de referência BY6	De acordo	
	Doseamento	Por potenciometria 98,0% - 102,0%	99%	
	Solventes	Residuais – Metanol	0,0 ppm	
	ENSAIOS ADICIONAIS REALIZADOS PELO FABRICANTE			
	Cor da Substância	Solução cumpre com padrão Relatadas ultravioleta a 254 nm	De acordo De acordo	
	Segurança	Ficha de segurança Acondicionar em recipientes herméticos ao abrigo do calor e umidade. Armazenar abaixo de 40C protegido da luz		
	Parecer Técnico	Dentro dos itens pesquisados o lote cumpre as especificações		
	Propilparabeno	Descrição	Pó cristalino branco	Pó cristalino branco
Identificação		IV – o espectro da amostra está de acordo com o padrão Ponto de fusão: 96°C a 99°C	Positivo 96,5°C	
Solubilidade		Muito pouco solúvel em água. Facilmente solúvel em álcool e em metanol	Conforme	
Aparência da solução		A solução “S” é límpida e não mais intensa que a solução BY6	De acordo	
Cinzas sulfatadas		< 0,1%	0,02%	
Substâncias relacionadas		< 0,5%	< 0,5%	
Acidez		Máximo de 0,1 mL de NaOH 0,1 M	0,1 mL de NaOH 0,1 M	
Teor		98,0% - 102,0%	99,65%	
TESTE ADICIONAL				
Densidade aparente	Informativo (sem comparação)	0,61 g/mL		

Apêndice B - Concentração de PBs encontrados nos dois pontos de coleta (EG e CR) durante os oito dias de amostragem e seus respectivos RSDs.

Tabela 26 - Concentração de PBs no ponto de coleta EG durante oito dias de amostragem.

Amostragens	Amostragem Efluente geral									
	MeP		EtP		PrP		BuP		BeP	
	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD%	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD%	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD %	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD%	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD %
1	2,65	8,50	1,43	5,60	3,89	9,30	ND	-	1,28	8,50
2	1,89	7,20	1,2	8,30	1,43	8,30	ND	-	1,38	8,80
3	1,64	8,30	ND	-	2,98	4,80	ND	-	1,26	10,30
4	2,9	6,00	ND	-	1,78	9,00	ND	-	ND	-
5	3,9	10,20	1,12	4,90	1,85	7,90	ND	-	ND	-
6	2,9	7,45	1,34	3,60	2,98	6,80	ND	-	1,52	7,80
7	1,9	8,70	ND	-	1,74	7,85	ND	-	1,87	9,70
8	2,2	5,60	1,82	5,30	1,54	5,65	ND	-	ND	-

* Concentração não detectada.

Tabela 27 - Concentração de PBs no ponto de coleta CR durante oito dias de amostragem.

Amostragens	Amostragem Corpo receptor									
	MeP		EtP		PrP		BuP		BeP	
	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD%	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD%	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD %	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD%	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD %
1	2,35	9,80	1,56	7,50	2,98	8,50	ND	-	0,89	9,80
2	1,53	7,20	1,46	7,90	1,26	5,45	ND	-	1,46	7,20
3	1,26	7,50	1,26	8,30	1,32	8,70	ND	-	1,32	7,80
4	1,25	8,00	ND	-	1,58	9,00	ND	-	ND	-
5	1,68	10,20	1,39	7,20	1,64	7,70	ND	-	1,23	10,20
6	0,98	7,80	ND	-	2,34	5,10	ND	-	1,54	11,55
7	1,23	7,50	ND	-	1,23	7,85	ND	-	1,95	8,70
8	1,89	6,80	1,45	5,00	1,39	5,75	ND	-	0,88	7,50

* Concentração não detectada.

Apêndice C – Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de PBs e metabólitos em águas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tandem e ionização eletrospray.

A metodologia analítica para determinação de PBs foi desenvolvida no Laboratório de Farmacocinética da Universidade de Guadalajara (Guadalajara, Jalisco, México). As amostras de água canalizada foram coletadas em diferentes pontos da cidade de Guadalajara, bem como, a de água superficial coletada no lago Chapala. As amostras foram submetidas à filtração em filtro de membrana 0,22 µm e, posteriormente, injetadas diretamente no LC-ESI-MS/MS. As condições operacionais e otimização da fonte de ionização foram descritos nos itens 2.5 e 3.1.6 respectivamente.

INTRODUÇÃO

Diariamente se faz uso de uma vasta gama de compostos químicos que, quase inevitavelmente, acabam sendo introduzidos no meio ambiente. Grande parte destes são PCPs, que atingem águas superficiais, majoritariamente, através de plantas de tratamento de efluentes, incapazes de eliminar por completo estes contaminantes (BUCHBERGER, 2011; WANG, C. et al., 2011; ALBERO, B. et al., 2012). Embora as concentrações detectadas sejam em níveis traços (ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$) são suficientes para causar toxicidade ao meio (GOTTSCHAL. N. et al., 2012).

Neste trabalho, foi desenvolvida metodologia analítica usando-se cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial e ionização eletrospray (LC-ESI-MS/MS) para determinação de cinco PBs (MeP, EtP, PrP, BuP e BeP), em água canalizada e de superfície da cidade de Guadalajara, Jalisco, México. Da mesma forma, desenvolveu-se estratégia para a identificação do único metabólito detectado (ácido 4-hidroxibenzóico). A aplicação da metodologia desenvolvida será objeto de futura investigação.

1. PARTE EXPERIMENTAL

1.1 Reagentes

As soluções-estoque foram preparadas a partir da diluição de padrões adquiridos da Sigma-Aldrich (Deisenhofen-Germany) em solvente metanol (JT Baker, Cidade do México), México). As soluções de trabalho foram preparadas por meio de simples diluição. Todos os solventes e reagentes utilizados no trabalho foram de grau analítico ou HPLC; água Milli-Q ultrapura foi usada (18 M Ω cm).

1.2 Amostragem

As amostras de água canalizada foram coletadas em diferentes pontos da cidade de Guadalajara, bem como, a de água superficial coletada no lago Chapala. As amostras foram submetidas à filtração em filtro de membrana 0,22 μ m e, posteriormente, injetadas diretamente no LC-ESI-MS/MS.

1.3 Determinação por LC-ESI-MS/MS

A separação cromatográfica de PBs foi feita com o auxílio de equipamento Agilent Series 1100 (Agilent Technologies) equipado com bomba binária, degaseificador, forno para coluna e autosampler. As condições operacionais usadas foram: Coluna Pinnacle 3 μ m, C18, 50 X 4,6 mm (Rastek); fase móvel acetonitrila e água milli-Q, ambas com 0,1% de ácido fórmico, operando em modo isocrático 90:10 v/v, com uma vazão de 0,5 mL min⁻¹. O volume de injeção usado foi 20 μ L. O forno de coluna foi mantido em temperatura de 30 °C.

Os PBs foram identificados/quantificados por meio de espectrômetro de massas Agilent Technologies modelo G6410B Triplo Quadrupolo LC/MS (USA, Agilent Technologies), com fonte de ionização Turbo Íon Spray (electrospray). As condições

operacionais da fonte de ionização foram as seguintes: pressão do gás nebulizador 25 psi, temperatura do gás de nebulização 350 °C, voltagem do capilar 4000 V e fluxo do gás de 10 L min⁻¹. Por meio de infusão direta dos compostos PBs, separadamente, na concentração de 1000 µg L⁻¹, as condições do espectrômetro de massas foram otimizadas, como pode ser visto na Tabela 28.

Tabela 28 - Condições otimizadas do EM para determinação de PBs.

PBs	Íon Precursor	Íon Produto	Dwell time	Fragmentador (V)	Energia de Colisão (V)	Polaridade
MeP	151,1	92,1	200	70	20	Negativa
EtP	165,1	92,1	200	40	20	Negativa
PrP	179,1	92,1	200	20	20	Negativa
BuP	193,1	92,1	200	45	20	Negativa
BeP	227,1	92,1	200	20	15	Negativa

1.4 Identificação de metabólitos

Para estudo e identificação dos metabólitos nas amostras de água, primeiramente, fez-se uma varredura das massas dos compostos presentes na amostra, por meio de um experimento MS2 SCAN. O monitoramento dos íons selecionados (experimento MS2 SIM) foi feito para identificar a *m/z* do íon precursor (metabólito). Finalizando, foi conduzido experimento de PI (íon produto) em voltagem otimizada, para o único metabólito identificado.

1.5 Figuras-de-mérito

Uma curva de calibração, com oito níveis de concentração, foi preparada com solvente ACN e, outra curva, com matriz isenta (amostra de água sem sinal detectável para os analitos), a fim de avaliar o efeito da supressão de sinal e linearidade. A determinação dos PBs foi feita com base em padrões diluídos em ACN. Os limites de detecção (LDs) e de quantificação (LQs) foram calculados através da relação sinal ruído (S/N:3 e S/N:10, respectivamente)

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As principais figuras-de-mérito para determinação de PBs podem ser vistas na Tabela 29.

Tabela 29 - Figuras-de-mérito do método desenvolvido.

PBs	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$) $n=8$	TR	r^2	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
MeP	5 - 100	0.91	0.996	4.3	15.0
EtP	5 - 100	0.88	0.997	1.1	3.6
PrP	5 - 100	0.96	0.999	3.0	10.0
BuP	5 - 100	1.02	0.998	1.5	5.0
BeP	5 - 100	0,96	0,998	1.7	6.0

Testes de recuperação em amostras de água foram feitos em quatro níveis de concentração. As recuperações variaram de 55% até 150% com RSD que variaram de 0,5% até 20,3%.

Foram analisadas 20 amostras de água canalizada (15) e superficial (5) e não foi detectada a presença de PBs em concentrações acima dos respectivos LODs. Por esta razão, será necessário o uso de técnica pré-concentração (por exemplo, SPE) na próxima etapa do trabalho. O principal metabólito dos PBs (ácido 4-hidroxibenzóico) foi detectado através de experimentos de MS2 SIM e PI. Uma rota de fragmentação foi proposta com base nos experimentos de PI.

3. CONCLUSÃO

A metodologia analítica desenvolvida para identificação de PBs e seu principal metabólito em água canalizada e de superfície demonstrou não ser suficientemente sensível para determinação direta dos analitos, presentes em concentrações muito baixas (em ng L^{-1}). Uma etapa de pré-concentração das amostras será necessária para tanto.

Apesar da baixa concentração, foi possível ainda detectar o principal metabólito dos PBs nas amostras de águas e uma rota de fragmentação foi proposta.

Estes foram os resultados preliminares, resultantes do estágio de 3 meses no Laboratório Farmacocinética da Universidade de Guadalajara (México), que terão continuidade agora, no Laboratório de Pesquisas em Tratamento de Efluentes e Resíduos (UFSM, Santa Maria, RS – Brasil).