



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

**CEFALOSPORINAS E SURFACTANTE NÃO-IÔNICO EM  
EFLUENTE HOSPITALAR: DETERMINAÇÃO, DEGRADAÇÃO POR  
MEIO DE FOTÓLISE E ELETROCOAGULAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO  
DE SUBPRODUTOS E METABÓLITOS**

**TESE DE DOUTORADO**

**Danielle Marranquiel Henriques**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2009**

**CEFALOSPORINAS E SURFACTANTE NÃO-IÔNICO EM EFLUENTE  
HOSPITALAR: DETERMINAÇÃO, DEGRADAÇÃO POR MEIO DE  
FOTÓLISE E ELETROCOAGULAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE  
SUBPRODUTOS E METABÓLITOS**

**por**

**Danielle Marranquiel Henriques**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do 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 **Doutora em Química.**

**Orientador: Prof. Dr. Ayrton F. Martins**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2009**

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Tese de Doutorado

**CEFALOSPORINAS E SURFACTANTE NÃO-IÔNICO EM  
EFLUENTE HOSPITALAR: DETERMINAÇÃO, DEGRADAÇÃO POR  
MEIO DE FOTÓLISE E ELETROCOAGULAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO  
DE SUBPRODUTOS E METABÓLITOS**

elaborada por  
**Danielle Marranquiel Henriques**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutora em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Ayrton F. Martins, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

---

**Ednei Gilberto Primel, Dr. (FURG)**

---

**Rogério Marcos Dallago, Dr. (URI)**

---

**Renato Zanella, Dr. (UFSM)**

---

**Tibiriçá Gonçalves Vasconcelos, Dr. (UFSM)**

Santa Maria, 06 de abril de 2009.

**Dedico aos meus pais  
Jussara e Clayton,  
a minha mana Bárbara  
e ao meu marido Luiz.**

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Ayrton pela capacidade de nos estimular a enfrentar novos desafios dia a dia, proporcionando nosso crescimento; obrigado pela oportunidade e pelos incentivos.

Ao Prof. Klaus Kümmerer pela orientação e oportunidade dos estudos em Freiburg na Alemanha e pela atmosfera de trabalho sempre agradável;

Aos professores Djalma Dias da Silveira, Tibiriçá Gonçalves Vasconcelos, Sérgio Roberto Mortari e José Neri Paniz pelas sugestões prestadas no exame de qualificação;

Aos professores Rogério Marcos Dallago, Ednei Gilberto Primel, Renato Zanella, Tibiriçá Gonçalves Vasconcelos pela participação na banca examinadora e sugestões;

Ao professor Carlos Mallmann pela disponibilidade do laboratório LAMIC e seus equipamentos;

Aos colegas do LATER: André, Carla B., Carla F., Daniel, Daiane, Juraci, Marcelo, Magali, Paulo e Francieli pelo convívio e apoio durante a realização desta tese.

Aos colegas da Uniklinikum Freiburg: Armin, Andreas, Chris, Inez, Marleys e Petra, pelo convívio e apoio durante a realização desta tese.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e ao Deutscher Akademischer Austauschdienst – DAAD, pelo suporte financeiro.

As minhas amigas: Michele, Jociane, Ana Carina, Marion, Dessy, Karine, Isabel e Cynthia.

Aos amigos: Fawad e Andreas.

Ao colega e amigo Tibiriçá pela ajuda e colaboração prestados na realização desta tese.

Ao Luiz por tornar as horas difíceis mais amenas, pelo amor e dedicação.

Aos familiares pelo apoio e apreço.

Aos meus pais e minha irmã por fazerem da nossa família um verdadeiro lar, transmitindo toda experiência, incentivo e amor.

## Conscientização

Ah! Os rios claros e piscosos do passado,  
Plenos de vida, extuantes de beleza,  
Vão morrendo aos poucos sufocados,  
Ante a invasão de tanta impureza.

E este solo fértil e que por certo  
Aguarda a semente que irá desabrochar,  
Poderá ser amanhã, um mísero deserto  
Se o homem só usa-lo e dele não cuidar.

E as matas verdejantes ao raiar d'aurora,  
Cobertas de mil flores orvalhadas  
Serão apenas lembranças de outrora,  
Em telas e em paredes retratadas.

É a subserviência ao cofre recheado,  
Ao mundo, o poder e a glória vã.  
O futuro cobrará com juro redobrados  
Se não despertarmos, hoje, para o amanhã

É o homem da argamassa e calculista  
Que se ergue estrutural mas cheio de incerteza,  
Porque frio, inconstante e egoísta  
Esqueceu o bem maior: a própria natureza.

Manoel Antônio Marranquiel

## RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Química  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

### **CEFALOSPORINAS E SURFACTANTE NÃO-IÔNICO EM EFLUENTE HOSPITALAR: DETERMINAÇÃO, DEGRADAÇÃO POR MEIO DE FOTÓLISE E ELETROCOAGULAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS E METABÓLITOS**

AUTORA: DANIELLE MARRANQUIEL HENRIQUES  
ORIENTADOR: AYRTON FIGUEIREDO MARTINS  
Santa Maria, 06 de abril de 2009.

O consumo atual excessivo e equivocado de medicamentos e surfactantes, principalmente de uso doméstico, vêm preocupando a comunidade científica de todo o mundo, em especial, devido às conseqüências ambientais relacionadas à resistência bacteriana (característica dos antibióticos) e à alteração de sistemas hormonais (também induzidas pelos produtos de degradação dos nonilfenóis polietoxilados, NPEO). Desta forma, pesquisas sobre o comportamento destes xenobióticos no ambiente tornam-se necessárias.

Neste trabalho, estudou-se a degradação de cefalosporinas (cefazolina e ceftazidima), em solução sintética e em efluente hospitalar, por meio de fotólise, e, a remoção do surfactante não-iônico nonilfenol etoxilado (NP9EO), através de eletrocoagulação, em solução sintética e, também, como constituinte de efluente hospitalar - avaliando-se a possível formação do disruptor endócrino 4-nonilfenol (NP). Além dos estudos de degradação, metodologias de determinação foram adaptadas com o intuito de avaliar a presença de tais contaminantes no efluente hospitalar.

Os parâmetros de processo estudados foram: concentração de cefazolina, ceftazidima, NP9EO e NP (determinada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência - HPLC - e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas - LC-MS), carbono orgânico dissolvido (COD), demanda química de oxigênio (DQO), toxicidade (teste de luminescência por meio de *Vibrio fischeri*) e biodegradabilidade (*Closed Bottle Test* (CBT) e Teste Respirométrico Manométrico).

As etapas de determinação e pré-concentração adotadas para as substâncias estudadas se mostraram adequadas. A concentração do NP9EO nas amostras de efluente coletadas variou de 0,075 mg L<sup>-1</sup> a 4,1 mg L<sup>-1</sup>. O composto NP não foi detectado em nenhuma das amostras. Devido à dificuldade de determinação de antibióticos β-lactâmicos, conhecidos pela susceptibilidade à hidrólise, não foi possível encontrar cefalosporinas no efluente hospitalar. Estudos iniciais foram conduzidos com o objetivo de investigar os produtos de transformação destes compostos em matrizes complexas. Foi verificado a possibilidade da presença de espécies formadas a partir dos antibióticos cefalosporânicos no efluente.

Para os experimentos de fotólise dos antibióticos, em solução sintética, foi utilizado um reator com capacidade para 1 L, com sistema de resfriamento e lâmpada de mercúrio (150 W). Soluções contendo 10 mg L<sup>-1</sup> de cefazolina e ceftazidima em diferentes pH (4, 7 e 9) foram submetidas a 1 h de processo, e degradações superiores a 90% foram alcançadas. A cinética de reação demonstrou ser de primeira ordem. O abatimento de COD, foi da ordem de 75%, em 1 hora de fotoprocessamento.

Em efluente hospitalar, degradações acima de 96% foram obtidas para as cefalosporinas, após 1 hora de fotólise, mas quase não houve decaimento de DQO (abaixo de 10%).

Os experimentos de eletrocoagulação da solução sintética e efluente hospitalar contendo NP9EO foram feitos em reator tipo tanque agitado, de 500 mL de capacidade, com resfriamento, eletrodos de alumínio e distância entre os eletrodos de 3,5 cm. Foi aplicada corrente de 1,5 A em soluções contendo 20 e 40 mg L<sup>-1</sup>. A remoção do NP9EO em solução sintética foi de 95%, em 30 min, verificando-se cinética de reação de primeira ordem. A presença de NP não foi detectada na solução eletrocoagulada por 30 min, mas, provavelmente, ocorreu a formação de outros subprodutos de degradação, como o NP1EC, também conhecido por possuir atividade estrogênica. Em efluente hospitalar, a remoção do NP9EO foi de 89%, enquanto que a DQO obteve decaimento de 26%, após 30 min de eletrocoagulação.

Com o objetivo de avaliar a biodegradabilidade das cefalosporinas, antes e após a fotólise, foi empregado *Closed Bottle Test* (CBT). Da mesma maneira, o teste respirométrico manométrico foi utilizado para prever a biodegradabilidade do NP9EO, antes e após eletrocoagulação. De acordo com os testes, todos os



xenobióticos investigados, não podem ser classificados como prontamente biodegradáveis.

Testes de toxicidade com *Vibrio fischeri* foram aplicados aos fármacos, antes e após os experimentos de fotólise; um aumento de toxicidade foi observado, porém, testes mais abrangentes precisam ser realizados.

Verificou-se que a simples fotólise consegue degradar, rapidamente, as cefalosporinas, tanto em solução sintética como em efluente hospitalar, mas os resultados de toxicidade demonstraram maior toxicidade dos produtos de fotólise (após tratamento de 60 min apenas). Ainda foi observado que espécies originadas das cefalosporinas podem estar presente no efluente. Não foi possível determinar-se se estas espécies geradas podem ser mais tóxicas (assim como os produtos pós-fotólise), sendo necessária pesquisa mais aprofundada neste ponto.

O NP9EO foi removido com sucesso através de eletrocoagulação, em solução aquosa e no efluente hospitalar e não há a formação do disruptor endócrino NP após a aplicação deste tratamento. No entanto, foram detectados produtos de degradação e existe a possibilidade da formação do NP1EC, que, assim como o NP, pode causar alteração em sistemas hormonais. Apesar da formação de alguns subprodutos, pode-se concluir que a eletrocoagulação é um processo bastante adequado para o tratamento de efluentes recalcitrantes desde que seja adequadamente otimizado para obter-se o resultado desejado, podendo eliminar em grande parte a carga orgânica, especialmente, se aplicada associada a outros tratamentos complementares.

## ABSTRACT

Doctoral Thesis  
Programa de Pós-Graduação em Química  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

### **CEFALOSPORINS AND NON IONIC SURFACTANTS IN HOSPITAL WASTEWATER: DETERMINATION, DEGRADATION BY MEANS OF PHOTOLYSIS AND ELECTROCOAGULATION AND IDENTIFICATION OF BY-PRODUCTS AND METABOLITES**

AUTHOR: DANIELLE MARRANQUIEL HENRIQUES  
ADVISER: PROF. TIT. DR. AYRTON FIGUEIREDO MARTINS  
Santa Maria, April 06, 2009.

The currently incorrect and excessive consumption of pharmaceuticals and surfactants, mainly domestic usage, has become a concern to the scientific community around the world, due to the environmental consequences with regard to the bacterial resistance (characteristic of antibiotics), and alteration of hormonal systems (provoked by the degradation products of nonylphenols polyethoxylates (NPEO)). Hence, research about the behaviour of these xenobiotics has become necessary.

In this study, the degradation of cephalosporins (cefazolin and ceftazidime) in synthetic solution and in hospital wastewater by photolysis was investigated as well as the removal of non-ionic surfactant nonylphenol ethoxylate (NP9EO) by electrocoagulation, in synthetic solution and also as a component of effluent discharge, evaluating the possible formation of the endocrine disruptor 4-nonylphenol (NP). In addition to the studies of degradation, methodologies of determination were adapted with the objective of evaluating the presence of these contaminants in hospital wastewater.

The studied process parameters were: concentration of cefazolin, ceftazidime, NP9EO and NP (measured by high performance liquid chromatography - HPLC and liquid chromatography with detector coupled to a mass spectrometer - LC-MS), dissolved organic carbon (DOC), chemical oxygen demand (COD), toxicity (luminescent test by *Vibrio fischeri*) and biodegradability (Closed Bottle Test (CBT) and Manometric Respirometry test).

The methodology of determination and pre-concentration, adapted for the substances employed, demonstrated to be adequate. The concentration of NP9EO in the effluent collected exhibited a variation between 0,075 mg L<sup>-1</sup> and 4.1 mg L<sup>-1</sup>. The compound NP was not detected in any of the samples. Due to difficulty in the determination of beta-lactamics antibiotics (which can be susceptible to hydrolysis) it was not possible to find the cephalosporins in hospital effluent. Initial studies were carried out with the aim to investigate the products of transformation of these compounds in complex matrices. It was verified the possibility of the presence of species generated from the cephalosporanic antibiotics in the effluent.

For the photolysis experiments of the antibiotics in synthetic solution, a reactor with a capacity of 1 L, with a cooling system and mercury lamp (150 W) was used. Solutions containing 10 mg L<sup>-1</sup> of cefazolin and ceftazidime in different pH (4, 7 and 9) were submitted for 1 hour to the process and degradations up to 90% were reached. The kinetics of reaction proved to be of the first order. The decay of DOC reached around 75% in one hour of photoprocess.

In hospital effluent, cephalosporins degradations of over 96% were found, after 1 hour of photolysis, and almost no decay of COD, lower than 10%, was observed.

The experiments of electrocoagulation of the synthetic solution and hospital effluent containing NP9EO were carried out in stirred tank reactor, 500 mL capacity, with cooling, aluminum electrodes and distance between electrodes of 3.5 cm. Current of 1.5 A was applied in solutions containing 20 and 40 mg L<sup>-1</sup>. Removal of the NP9EO in synthetic solution was 95% after 30 min, proving to be the first order of kinetics. The presence of NP was not identified in electrocoagulated solution for 30 min, but the formation of other by-products of degradation such as NP1EC, also recognized for having estrogenic activity probably occurred. In hospital effluent, removal of NP9EO was 89% while the COD reached a decay of 26% after 30 min of electrocoagulation.

In order to evaluate the biodegradability of cephalosporins, before and after photolysis, Closed Bottle Test (CBT) was employed. Similarly the manometric respirometry test was used to predict the biodegradability of NP9EO before and after electrocoagulation process. According to the tests, all xenobiotics investigated, can not be classified as readily biodegradable.

Toxicity tests with *Vibrio fischeri* were applied to the pharmaceuticals, before and after the photolysis experiments; An increase in toxicity was observed, but more extensive tests should be realized.

It was verified that direct photolysis can degrade quickly, the two cephalosporins in both aqueous solution and in hospital wastewater, but the results of toxicity showed a higher toxicity of photolysis products. It was also observed that species originated from the cephalosporins may be present in the effluent. It is not known whether these species generated, (as the products formed after photolysis), are more toxic, so further research on the behavior of these drugs should be performed.

The NP9EO was removed successfully by electrocoagulation, in aqueous solution and hospital effluent and there is no formation of the endocrine disruptor NP, after applying this treatment. However, degradation products were detected, and there is a possibility NP1EC formation, that similar to NP, can cause changes in hormone systems. Despite the formation of some by-products, through improved experimental conditions for electrocoagulation, it was concluded, that this process is very suitable for recalcitrant effluents treatments and can reasonably remove the organic matter, especially when used with other concomitant treatments.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fontes e distribuição de fármacos no meio ambiente <sup>5</sup> .....	25
Figura 2 - Dados anuais da variação da resistência na Europa, com relação aos três maiores patógenos humanos. ....	27
Figura 3 - Mecanismo de transferência genética na bactéria <sup>26</sup> .....	28
Figura 4 - Uso de cafosporinas de amplo espectro em hospitais da Alemanha <sup>23</sup> .	30
Figura 5 - Estereoquímica do isômero natural da $\beta$ -lactamadiidrotiazínica. ....	31
Figura 6 - Fórmula estrutural da cefazolina. ....	32
Figura 7 - Fórmula estrutural da ceftazidima .....	33
Figura 8 - Estrutura do nonilfenol oxietilenado (NP <sub>n</sub> EO). ....	37
Figura 9 - Estrutura dos metabólitos (a) NP, (b) NP <sub>n</sub> EO (n=1,2) e (c) NP <sub>n</sub> EC (n=1,2), formados a partir dos surfactantes nonilfenóis oxietilenados. ....	37
Figura 10 - Caminhos de degradação de compostos AP <sub>n</sub> EO em tratamentos convencionais de água e efluentes <sup>46</sup> . ....	38
Figura 11 - Interações observadas durante a eletrocoagulação.....	40
Figura 12 - Esquema do tratamento de efluentes do PA-HUSM. ....	48
Figura 13 - Local de coleta do efluente utilizado nos experimentos com ceftazidima e cefazolina. ....	49
Figura 14 - Esquema do tratamento de efluentes da lavanderia do HUSM. ....	50
Figura 15 - Local da coleta dos efluentes utilizados nos experimentos com NP <sub>9</sub> EO e NP. ....	51
Figura 16 - Esquema e fotografia do fotorreator utilizado em fotocatalise. ....	62
Figura 17 - Esquema e fotografia do sistema de eletrocoagulação.....	63
Figura 18 - Frascos com sensores utilizados no teste respirométrico manométrico. ....	65
Figura 19 - Teste de estabilidade, percentagem de redução da concentração da ceftazidima (a) e da cefazolina (b) em solução sintética (10 mg L <sup>-1</sup> ) em diferentes pH, após 24 h. ....	69
Figura 20 - Cromatograma do efluente hospitalar com a adição de 10 mg L <sup>-1</sup> dos compostos ceftazidima (1) e cefazolina (2). (a) após a passagem por cartucho catiônico X-CW. (b) após a passagem por cartucho C18 .....	71
Figura 21 - Cromatograma dos fármacos ceftazidima (1) e cefazolina (2).....	72

Figura 22 - Espectro de massas da cefazolina no modo positivo (a) e no modo negativo (b) .....	73
Figura 23 - Espectro de massa da ceftazidima em modo positivo (a) e modo negativo (b).....	74
Figura 24 - Experimento de IDA com Precursor Ion $m/z$ 354 seguido de Enhanced Product Ion.....	75
Figura 25 - Experimento de IDA com Precursor Ion $m/z$ 185 seguido de Enhanced Product Ion.....	76
Figura 26 - Experimento de IDA com Precursor Ion $m/z$ 329 seguido de Enhanced Product Ion.....	76
Figura 27 - Processo fotoinduzido de degradação da cefazolina e ceftazidima em solução sintética. a) decaimento da concentração da cefazolina e decaimento de 1° ordem; b) decaimento da concentração de ceftazidima e decaimento de 1° ordem.....	78
Figura 28 - Cromatograma da fotodegradação da cefazolina em solução sintética e pH 7, volume 800 mL, nos tempos 0, 30, 60 e 300 s .....	80
Figura 29 - Cromatograma da fotodegradação da ceftazidima em solução sintética, pH 7, volume de 800 mL, nos tempos 0, 30, 60, 90 e 300 s .....	80
Figura 30 - Decaimento do COD para cefazolina (a) e ceftazidima (b), em solução sintética, contendo inicialmente $10 \text{ mg L}^{-1}$ , nos pH 4, 7 e 9, durante 60 min de fotodegradação, volume 800 mL.....	81
Figura 31 - Cromatograma da fotólise da (a) cefazolina ( $m/z$ 455) e (b) ceftazidima ( $m/z$ 547).....	82
Figura 32 - Cromatograma do pico de $m/z$ 185 (modo positivo) da cefazolina após 60 min de fotólise. Condições fotólise: volume de 800 mL, concentração de $10 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 7 .....	83
Figura 33 - Cromatograma do pico de $m/z$ 331 (modo positivo) da ceftazidima (a) 0 s de fotólise, (b) 30 s de fotólise e (c) 60 s de fotólise .....	84
Figura 34 - Fotólise do efluente hospitalar. (a) decaimento da concentração de cefazolina e ceftazidima e (b) decaimento da DQO do efluente hospitalar fortificado com cefazolina e ceftazidima.....	85
Figura 35 - Cromatogramas da fotólise de $10 \text{ mg L}^{-1}$ de ceftazidima (a) e da cefazolina (b) em efluente hospitalar, durante 60 min.....	86

Figura 36 - <i>Closed Bottle Test</i> aplicado a amostras irradiadas e não irradiadas contendo (a) cefazolina e (b) ceftazidima ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) .....	89
Figura 37 - Cromatograma do NP9EO ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ) e NP ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) em solução sintética.....	93
Figura 38 - Cromatogramas: do efluente hospitalar coletado no ponto A, (a) sem adição de NP e sem pré-concentração e (b) com adição de $10 \text{ mg L}^{-1}$ de NP e com pré-concentração .....	94
Figura 39 - Cromatogramas com adição de $3,2 \text{ mg L}^{-1}$ de NP: (a) efluente coletado no ponto A e (b) efluente coletado no ponto de coleta C .....	96
Figura 40 - Eletrocoagulação do NP9EO ( $20$ e $40 \text{ mg L}^{-1}$ ) em solução sintética. (a) decaimento da concentração e (b) cinética de reação com solução de $40 \text{ mg L}^{-1}$ .....	98
Figura 41 - Espectro de massa do NP9EO em solução sintética ( $20 \text{ mg L}^{-1}$ ) em modo positivo.....	98
Figura 42 - Espectro de massa do NP em solução sintética ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) em modo negativo.....	99
Figura 43 - Espectro de massa da eletrocoagulação do NP9EO após 30 min de tratamento.....	100
Figura 44 - Decaimento da concentração de NP9EO em efluente hospitalar coletado no ponto A e da DQO.....	101
Figura 45 - Teste de biodegradabilidade da solução sintética de NP9EO ( $40 \text{ mg L}^{-1}$ ) antes e após 30 min de eletrocoagulação.....	102

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades farmacocinéticas dos antibióticos cefazolina e ceftazidima. Tabela adaptada de Suárez e Gudiol <sup>36</sup> .....	33
Tabela 2 – Resumo das condições utilizadas no preparo das amostras de cefazolina e ceftazidima.....	53
Tabela 3 – Resumo das condições utilizadas no preparo das amostras de NP9EO e NP.....	54
Tabela 4 - Parâmetros do LC-MS, procedimento 1.....	56
Tabela 5 – Condições da fonte de ionização, procedimento 3.....	57
Tabela 6 – Resumo das condições utilizadas na determinação das cefalosporinas (procedimentos 1, 2 e 3). .....	58
Tabela 7 - Parâmetros do LC-MS, procedimento 5.....	60
Tabela 8 – Resumo das condições empregadas na determinação das amostras de NP9EO e NP (procedimentos 4 e 5). .....	60
Tabela 9 – Diluição das amostras de cefazolina e ceftazidima para o teste de toxicidade.....	66
Tabela 10 - Resultados de recuperação das substâncias Cefazolina e Ceftazidima utilizando-se os cartuchos C18 e X-CW.....	70
Tabela 11 - Parâmetros de validação na determinação da cefazolina e da ceftazidima .....	71
Tabela 12 - Análise cinética da fotodegradação para cefazolina e ceftazidima em solução sintética.....	79
Tabela 13 - Caracterização química do efluente hospitalar coletado na fossa séptica do PA-HUSM <sup>7</sup> . .....	84
Tabela 14 - Toxicidade das amostras de ceftazidima e cefazolina em solução aquosa expostas à fotólise .....	87
Tabela 15 - Características do reagente nonilfenol etoxilado (com 9 moles de óxido de etileno), de acordo com a indústria fornecedora .....	90
Tabela 16 - Propriedades do 4-nonilfenol .....	91



Tabela 17 - Caracterização química dos efluentes hospitalares efetuadas no laboratório. ....	92
Tabela 18 - Parâmetros de validação na determinação do NP e do NP9EO .....	92
Tabela 19 - Resultados de recuperação dos compostos NP9EO e NP, após extração em fase sólida, em efluente hospitalar coletado no ponto A, n = 3. ....	93
Tabela 20 - Determinação do NP9EO em efluente Hospitalar .....	94
Tabela 21 – Testes de recuperação por SPE para o NP, no efluente A, pré-concentrado 50 vezes .....	95
Tabela 22 – Testes de recuperação por SPE para o NP, no efluente C, pré-concentrado 50 vezes .....	95
Tabela 23 - Biodegradação do NP9EO em solução sintética antes da eletrocoagulação e após 30 min de tratamento .....	103

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN - Acetonitrila

AEO - álcoois etoxilados, do inglês *alcohols ethoxylates*

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AP - alquilfenol, do inglês *alkylphenol*

APEO - alquilfenóis oxietilenados, do inglês *alkylphenoethoxylate*

AP1EO - alquilfenol etoxilado, do inglês *alkylphenol ethoxylate*

AP2EO - alquilfenol dietoxilado, do inglês *alkylphenol diethoxylate*

AP1EC - ácido alquilfenóxiacético, do inglês *alkylphenoxyacetic acid*

AP2EC - ácido alquilfenóxiethoxiacético, do inglês *alkylphenoxyethoxyacetic acid*

C18 - Sílica modificada com hidrocarboneto linear C18

CE<sub>10</sub> - concentração que atenua a mobilidade de 10% da população exposta, em um tempo definido

CE<sub>50</sub> - concentração que atenua a mobilidade de 50% da população exposta, em um tempo definido

CFT - cefalosporinas

COD - carbono orgânico dissolvido

COT - carbono orgânico total

DBO - demanda bioquímica de oxigênio

DES - disruptores endócrinos

DNA - ácido desoxirribonucléico, do inglês *Deoxyribunocleic acid*

DQO - demanda química de oxigênio

EARSS - Sistema de Supervisão de Resistência Antimicrobial Européia, do inglês *European Antimicrobial Resistance Surveillance System*

FLD - detector de fluorescência, do inglês *Fluorescence Detector*

h - altura

HO• - radical hidroxila

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*

h $\nu$  - energia radiante

HUSM - Hospital Universitário de Santa Maria

k - constante de velocidade

LAS - linear alquil benzeno sulfonado, do inglês linear alkylbenzene sulfonate  
LATER - Laboratório de Pesquisa em Tratamentos de Efluentes e Resíduos  
LC-MS - cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas  
LD - Limite de detecção  
LQ - Limite de quantificação  
MeOH - metanol  
NP9EO - nonilfenol polietoxilado com 9 moles de óxido de etileno  
NP - p-nonilfenol, do inglês *p-nonylphenol*  
NP<sub>n</sub>EO - nonilfenol polietoxilado com n moles de óxido de etileno  
NP1EO - nonilfenol etoxilado, do inglês *nonylphenol ethoxylate*  
NP2EO - nonilfenol dietoxilado, do inglês *nonylphenol diethoxylate*  
NP3EO - nonilfenol trietoxilado, do inglês *nonylphenol triethoxylate*  
NP1EC - ácido nonilfenóxiacético, do inglês *nonylphenoxyacetic acid*  
NP2EC - ácido nonilfenóxiethoxyacético, do inglês *nonylphenoxyethoxyacetic acid*  
OP - octilfenol, do inglês *octilphenol*  
PAO's - processos avançados de oxidação  
PA-HUSM - unidade de pronto atendimento do Hospital Universitário de Santa Maria  
RSD - Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*  
SPE - Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid-Phase Extraction*  
ThOD - oxigênio teórico dissolvido, do inglês Theoretical Oxygen Demand  
uma - unidades de massa atômica  
UV - ultravioleta  
v/v - volume por volume  
X-CW - Sílica modificada com polímero catiônico  
W - watt  
Ø – diâmetro  
λ – comprimento de onda

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xiii
LISTA DE TABELAS .....	xvi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS .....	xviii
SUMÁRIO.....	xx
1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	25
2.1 Fármacos no meio ambiente .....	25
2.2 Resistência a antibióticos.....	27
2.2.1 Mecanismos Genéticos de resistência .....	28
2.2.1.1 Mutação.....	28
2.2.1.2 Resistência plasmidial .....	29
2.3 Antibióticos .....	29
2.3.1 Cefalosporinas.....	31
2.3.1.1 Cefazolina .....	32
2.3.1.2 Ceftazidima .....	32
2.4 Fotólise.....	34
2.4.1 Fotólise direta .....	34
2.4.2 Fotólise Indireta .....	35
2.5 Surfactantes no meio ambiente.....	36
2.5.1 Nonilfenóis polietoxilados .....	36
2.6 Eletrocoagulação.....	39
2.7 Efluente Hospitalar .....	42
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
3.1 Equipamentos e Acessórios .....	44
3.2 Reagentes e soluções.....	46
3.3 Caracterizações do local de estudo .....	46
3.4 Coleta de efluente hospitalar .....	47
3.5 Preparo de amostras .....	52
3.5.1 Fármacos.....	52
3.5.2 NP9EO e NP .....	53
3.6 Determinação .....	54
3.6.1 Fármacos.....	55
3.6.1.1 Procedimento 1 .....	55
3.6.1.2 Procedimento 2 .....	56
3.6.1.3 Procedimento 3 .....	57
3.6.2 NP9EO e NP .....	58
3.6.2.1 Procedimento 4 .....	58
3.6.2.2 Procedimento 5 .....	59
3.7 Estabilidades dos fármacos.....	61
3.8 Descrição do sistema de fotodegradação utilizado .....	61
3.9 Descrição do sistema de eletrocoagulação .....	62
3.10 Estudo da biodegradabilidade .....	63
3.10.1 <i>Closed Bottle Test</i> (CBT).....	63
3.10.2 Teste respirométrico manométrico .....	64
3.11 Bioensaio para avaliação da toxicidade .....	65

3.12 Carbono Orgânico Dissolvido (COD) .....	67
4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....	68
4.1 Fármacos .....	68
4.1.1 Estabilidade dos fármacos.....	68
4.1.2 Extração em Fase Sólida.....	70
4.1.3 Determinação dos fármacos .....	71
4.1.4 Fotodegradação dos fármacos em solução sintética.....	77
4.1.5 Fotodegradação dos fármacos em efluente hospitalar .....	84
4.2.1 Toxicidade .....	86
4.2.2 Biodegradabilidade .....	88
4.2 Surfactantes .....	90
4.2.1 Determinação do NP9EO e NP .....	92
4.2.2 Eletrocoagulação de NP9EO em solução sintética .....	97
4.2.3 Eletrocoagulação do NP9EO em efluente hospitalar.....	101
4.2.4 Teste de Biodegradabilidade .....	102
5. CONCLUSÕES .....	104
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	107
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	108

## 1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Drogas de uso humano e veterinário são continuamente liberadas no meio ambiente, principalmente, como resultado de processos de produção, disposição de produtos não utilizados ou com prazo de uso expirado, e por excreção de usuários, seja por consumo hospitalar ou doméstico. A concentração de fármacos e seus metabólitos bioativos no meio ambiente pode ainda ser considerada muito baixa. Contudo, a sua liberação continuada pode levar, a longo prazo, à acumulação de quantidades significativas, e promover contínuos, e geralmente não prontamente percebido, efeitos adversos em organismos aquáticos e terrestres<sup>1</sup>.

**Ternes**<sup>2</sup> investigou a ocorrência de 32 fármacos de diferentes classes em plantas de tratamentos de efluentes, rios e águas profundas, verificando que acima de 80% dos fármacos selecionados, foram detectados após a passagem pelo tratamento. Pelo menos 20 drogas foram encontradas em rios e águas profundas. Assim também, **Tixier et al.**<sup>3</sup> determinaram carbamazepina, ácido clofíbrico, diclofenaco, ibuprofeno, cetoprofeno e naproxeno em plantas de tratamento de efluentes, rios e em lago da Suíça. Concentrações de  $0,95 \mu\text{g L}^{-1}$  de carbamazepina e de  $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$  de ácido clofíbrico foram encontradas, concluindo-se que tais substâncias são levemente mais persistentes em ambientes naturais, como rios e lagos, quando comparados com os fármacos determinados anteriormente. Já **Lindberg et al.**<sup>4</sup> verificaram a presença de 6 xenobióticos em esgoto hospitalar na ordem de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , aproximadamente.

Quando antibióticos e seus metabólitos alcançam o meio ambiente, em especial, o meio hídrico, podem ser completamente eliminados por ação de microorganismos ou sofrer degradação parcial. Podem, ainda, persistir sem alteração alguma e, desta maneira, contribuir para o surgimento de cepas de bactérias resistentes<sup>5</sup>.

O Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) é a mais importante instituição de saúde da região centro do estado do Rio Grande do Sul<sup>6</sup>. Entre os antibióticos mais administrados no HUSM estão a cefazolina e a cefazidima (consumo anual de aproximadamente 15 e 3 kg, respectivamente<sup>7</sup>), sendo que a unidade de pronto atendimento (PA-HUSM) é aquela que mais utiliza tais medicamentos. O tratamento das águas servidas geradas pelo hospital é feito através de sistema de fossas sépticas com tratamento anaeróbico, sendo o resíduo

tratado, descartado em um córrego que corta o campus da universidade<sup>6</sup>. Além destes constituintes, o efluente do HUSM ainda contém uma quantidade significativa de detergentes, intensamente utilizados na etapa de lavagem de roupas e peças de tecido do hospital.

Tais surfactantes estão entre os poluentes orgânicos mais relevantes de origem antropogênica, com potencial para alcançar o meio ambiente. Dentre os detergentes não-iônicos mais utilizados encontram-se álcoois etoxilados (AEO) e alquilfenóis etoxilados (APEO)<sup>8</sup>. A degradação primária de APEO em plantas de tratamento de efluentes, ou no meio ambiente, pode gerar subprodutos de cadeias mais curtas, mais persistentes, como nonilfenol (NP), octilfenol (OP) e alquilfenóis mono, bi, e trietoxilados (NP1EO, NP2EO e NP3EO)<sup>9</sup>. Os níveis de concentração destes subprodutos no meio ambiente podem estar acima do limite mínimo para induzir desregulação endócrina em animais selvagens<sup>9</sup>.

A liberação de uma complexa mistura por meio dos diferentes departamentos hospitalares pode representar um problema ambiental real. Assim, é de crucial importância prever o destino dos poluentes hospitalares depois da sua descarga no meio ambiente<sup>10</sup>.

Torna-se evidente, então, a necessidade de pesquisas sobre a degradação desses medicamentos, surfactantes e demais concomitantes com potencial poluente, bem como a aplicação de testes de avaliação da sua toxicidade e biodegradabilidade. Há necessidade de verificação, também, se tais metabólitos e/ou subprodutos são nocivos ao meio ambiente, constituindo outra séria ameaça aos ecossistemas.

Nos últimos anos, o uso de radiação UV, isoladamente ou de forma combinada (processos avançados de oxidação, PAOs), vem sendo amplamente investigado na degradação de fármacos<sup>11,12,13</sup>. A fotólise direta, por exemplo, se baseia em reações fotoquímicas onde moléculas são transformadas em outras menores através da absorção da luz<sup>14</sup>.

Tratamentos eletroquímicos, também estão sendo estudados como alternativa na remoção de espécies recalcitrantes de efluentes distintos<sup>15,16,17</sup>. Na eletrocoagulação, o coagulante é gerado *in situ* por oxidação eletrolítica de um ânodo de material apropriado que leva a formação de hidróxidos de metais insolúveis capazes de remover poluentes por complexação ou atração eletrostática<sup>18</sup>.

No presente trabalho investigou-se a fotodegradação dos antibióticos cefazolina e ceftazidima (cefalosporinas), bem como a eletrocoagulação do surfactante não-iônico nonilfenol etoxilado 9 (NP9EO), nas suas formas isoladas (em solução sintética) e como constituinte de efluente hospitalar (uma matriz complexa), avaliando-se a formação de subprodutos e suas toxicidades e biodegradabilidades.

Assim os objetivos desta investigação são:

- Adaptar metodologia rápida para determinação da cefazolina, ceftazidima, NP e NP9EO em solução sintética e constituindo efluente hospitalar, por HPLC-UV e FLD e LC-MS.
- Adequar e aprimorar métodos de pré-concentração de efluente hospitalar para a posterior determinação de NP9EO, NP, bem como cefazolina e ceftazidima através de HPLC.
- Investigar o desempenho da fotólise na degradação das cefalosporinas cefazolina e ceftazidima em solução sintética e como constituinte de efluente hospitalar. Da mesma forma, avaliar o potencial de abatimento de carga poluente, deste mesmo efluente, através do referido processo;
- Verificar a remoção do surfactante NP9EO em solução sintética, bem como em efluente hospitalar, por meio de eletrocoagulação, avaliando a possível formação do disruptor endócrino NP;
- Aplicar teste de biodegradabilidade (*Closed Bottle Test* e respirométrico manométrico) e teste de toxicidade (Luminescência com *Vibrio fischeri*) nos subprodutos de fotodegradação e eletrocoagulação dos compostos citados acima.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Fármacos no meio ambiente

A presença de fármacos no meio ambiente tem gerado preocupação, em vista dos resultados que mostram uma clara possibilidade de que drogas possam passar através dos modernos e avançados sistemas de tratamentos de águas (Figura 1).

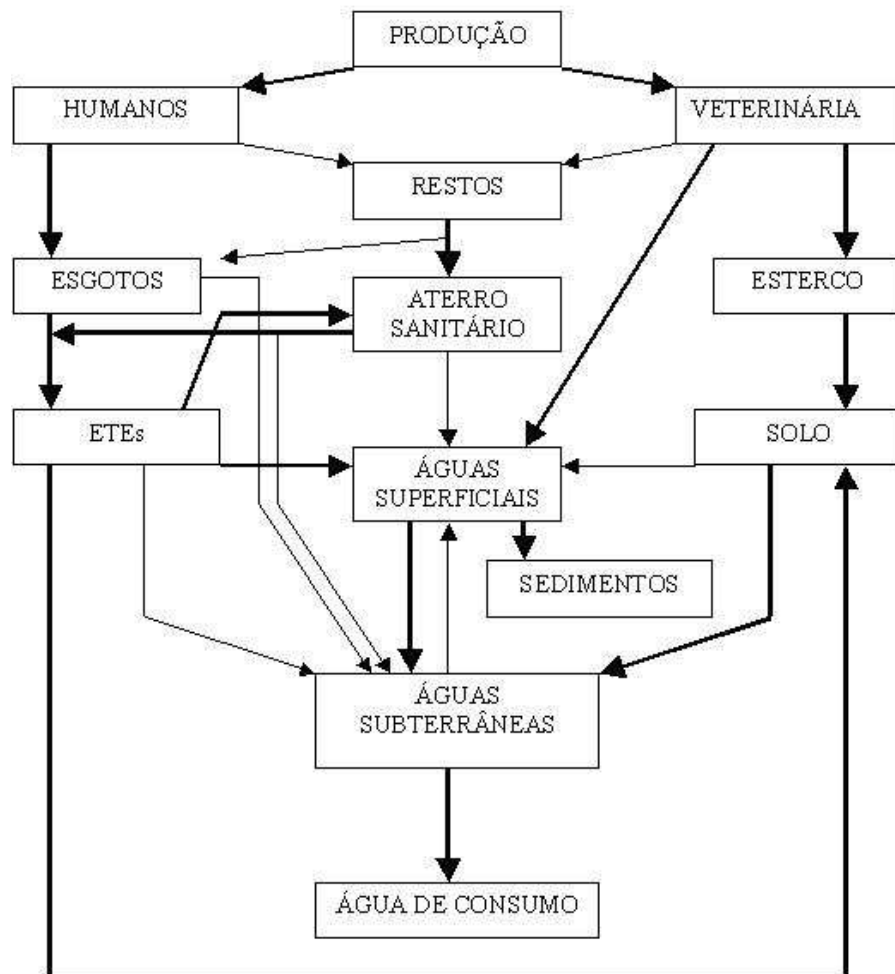


Figura 1 - Fontes e distribuição de fármacos no meio ambiente<sup>5</sup>

Além disso, as pesquisas vêm demonstrando que significativas quantidades de drogas diversas são liberadas por meio das plantas de tratamentos de esgoto para o meio ambiente. Conseqüentemente, há um risco de exposição para os seres humanos através da água potável. O potencial para efeitos adversos não deve, portanto, ser negligenciado, especialmente porque pouco se conhece dos perigos ao

meio ambiente e à saúde humana por exposição crônica a níveis sub-terapêuticos de fármacos ou seus produtos de transformação<sup>19</sup>. A presença de antibióticos é reconhecida como uma das características mais preocupantes devido à possibilidade de desenvolvimento de resistência em cepas bacterianas, levando a sérios danos para a saúde pública, já que mais e mais infecções não poderão ser tratadas com o conhecido antídoto<sup>20</sup>. É pouco provável que tais concentrações possam ser altas o suficiente em águas potáveis para causar algum tipo de efeito danoso. Contudo, exposição contínua, a poluentes-traço, durante toda a vida, é uma hipótese não explorada na toxicologia e as várias possibilidades que podem teoricamente estar envolvidas não foram extensivamente estudadas<sup>19</sup>. Em águas superficiais, o principal mecanismo de eliminação destes fármacos são: biodegradação, sorção e fotodegradação. Muitos deles podem ser fotoativos devido à presença de heteroátomos, anéis aromáticos e outros grupos funcionais em sua estrutura, que podem absorver radiação solar ou reagir com espécies transientes fotogeradas em águas naturais. Em alguns casos, no entanto, a fotodegradação desses medicamentos origina produtos que podem ser perigosos ao meio ambiente<sup>20</sup>.

Existe pouca informação a respeito dos efeitos ecotoxicológicos de fármacos em organismos aquáticos e terrestres<sup>21</sup>.

Pesquisa adicional para definir o potencial risco à saúde humana em água potável seria útil devido às várias razões relacionadas abaixo<sup>20</sup>:

- Drogas são elaboradas para serem biologicamente ativas, e é possível que efeitos não intencionais, em organismos não-alvos e ou receptores, ocorram em mais baixas concentrações do que em efeitos terapêuticos intencionais.

- Efeitos devido à longa exposição podem ocorrer em muito mais baixas concentrações e seguem diferentes mecanismos toxicodinâmicos do que aqueles extrapolados por estudos de curta duração.

- Os efeitos, em níveis sub-terapêuticos, de complexas misturas de drogas (e outros poluentes) são ainda desconhecidos.

- Embora a evidência toxicológica seja raramente incontroversa ou unânime, praticamente, não existem, dados com relação à potencial toxicidade da exposição crônica à baixas doses de fármacos.

## 2.2 Resistência a antibióticos

A resistência aos antibióticos, que está claramente aumentando na maioria dos patógenos humanos, está sendo reconhecida como um assunto de saúde pública, geralmente considerada uma consequência do grande e equivocado uso de antibióticos (Figura 2)<sup>22</sup>. Em contraste com o esperado, hospitais não são a principal fonte de fármacos no esgoto municipal; normalmente, o uso pela comunidade local é relativamente maior do que em hospitais<sup>23</sup>.

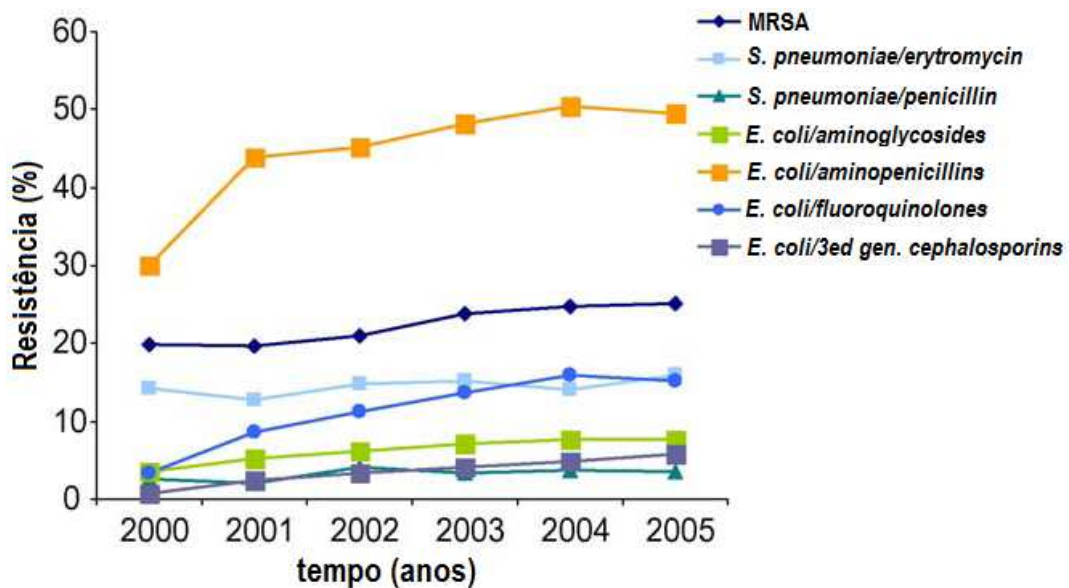


Figura 2 - Dados anuais da variação da resistência na Europa, com relação aos três maiores patógenos humanos. Dados adaptados do Sistema de Supervisão de Resistência Antimicrobial Européia (EARSS)<sup>22</sup>.

A multiresistência tem se desenvolvido e propagado entre a comunidade de bactérias em um tempo evolucionário bastante pequeno<sup>24</sup>.

A resistência é a propriedade de uma bactéria, que lhe confere a capacidade de inativar ou excluir antibióticos, ou um mecanismo que bloqueia a inibição, ou ainda, que interrompe os efeitos dos antibióticos. Pode ser inerente, ou seja, uma característica própria do organismo ou adquirida por meios de mutação no seu próprio DNA ou aquisição de DNA resistente de outra fonte<sup>25,26</sup>.

### 2.2.1 Mecanismos Genéticos de resistência

Vários mecanismos (Figura 3) têm sido desenvolvidos pelas bactérias com o objetivo de sobreviver aos antibióticos, mas todos requerem, ou modificação ou aquisição, de novo material genético<sup>26</sup>.

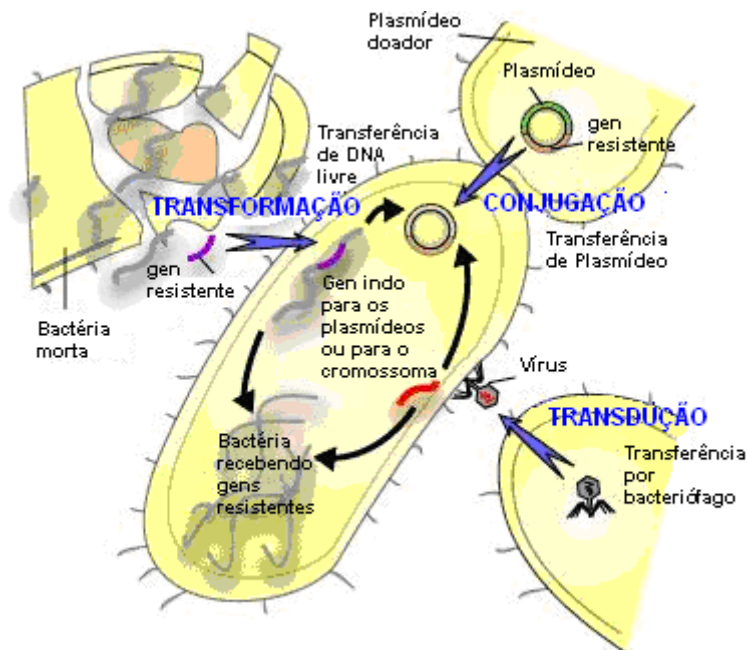


Figura 3 - Mecanismo de transferência genética na bactéria<sup>26</sup>.

#### 2.2.1.1 Mutação

A mutação ocorre espontaneamente no DNA bacteriano que modifica ou elimina o alvo de ação do antibiótico, ou causa modificações na superfície da bactéria, ou ainda pode promover a produção de uma enzima que inativa o antibiótico. A excreção do antibiótico pela célula bacteriana é outra consequência da mutação<sup>25</sup>.

A frequência de mutação espontânea para a resistência bacteriana é na ordem de cerca de  $10^{-8}$ – $10^{-9}$ . Isto significa que uma em cada  $10^8$ - $10^9$  bactérias desenvolverão resistência em uma infecção pelo processo de mutação espontânea<sup>24,26</sup>.

### 2.2.1.2 Resistência plasmidial

O DNA da bactéria está presente nos cromossomas e nos plasmídeos (pequenos pedaços do DNA que replicam separadamente do cromossoma)<sup>25</sup>.

Certos plasmídios possuem genes responsáveis pela síntese de enzimas que destroem um antibiótico antes que ele destrua a bactéria, ou ainda, possuem genes que permitem sua passagem de uma bactéria para outra<sup>25</sup>.

### 2.2.2 Transferência genética<sup>25</sup>

*Conjugação*: quando há contato direto célula-célula entre duas bactérias onde os plasmídeos são capazes de passar diretamente entre as bactérias por meio de um tubo de conjugação.

*Transdução*: material genético é transferido por um vírus bacteriófago a outra bactéria.

*Transformação*: incorporação de pedaços do DNA livres no ambiente por uma célula bacteriana.

## 2.3 Antibióticos

São substâncias formadas a partir de fungos ou bactérias que, em quantidades reduzidas, inibem o crescimento e levam à morte outros microorganismos. Atualmente este termo também é empregado para substâncias sintéticas<sup>27</sup>.

Antibióticos são substâncias químicas específicas derivadas de organismos vivos ou produzidas por eles, bem como seus análogos estruturais obtidos por síntese, capazes de inibir processos vitais de outros organismos, mesmo em concentrações diminutas<sup>28</sup>.

Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, incluindo os subgrupos das penicilinas, cefalosporinas e como fração menor carbapenêmicos e outros, estão entre os mais consumidos por humanos na maioria dos países. Eles são responsáveis por aproximadamente 50-70% do total de uso de antibióticos. Apesar do consumo de

fármacos ser normalmente maior pela comunidade local do que em hospitais, as cefalosporinas são amplamente empregadas nos hospitais (Figura 4)<sup>23</sup>.

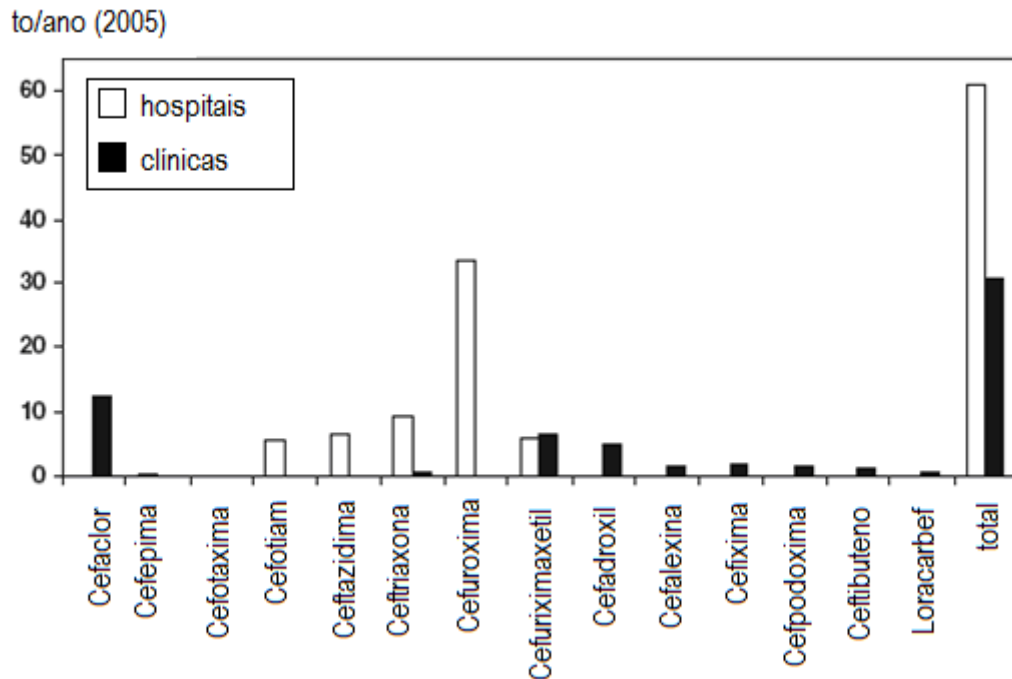


Figura 4 - Uso de cefalosporinas de amplo espectro em hospitais da Alemanha<sup>23</sup>. Projeções calculadas de: Centro médico universitário de Freiburg via proporção de leitos hospitalares.

Antibióticos tem sido determinados em diversas amostras ambientais. Um programa de monitoramento das águas subterrâneas de Baden-Württemberg foi elaborado por **Sacher et al.**<sup>29</sup>, que avaliaram 60 fármacos, incluindo antibióticos. Os autores identificaram sulfametoxazol, sulfadiazina, sulfadimidina, ronidazol, roxitromicina e outros, em concentrações acima de 10 ng L<sup>-1</sup>. **Hirsch et al.**<sup>30</sup> examinaram, rios e plantas de tratamento de efluentes na Alemanha e detectaram 5 dos 18 compostos investigados (eritromicina, roxitromicina, claritromicina, sulfametoxazol e trimetropim), em concentrações de 1 a 6 µg L<sup>-1</sup>. **Martins et al.**<sup>31</sup> determinaram ciprofloxacina, em concentrações de 32 a 99 µg L<sup>-1</sup> no efluente hospitalar do HUSM. **Lindberg et al.**<sup>4</sup> encontraram metronidazol, sulfametoxazol, ofloxacina, trimetropim e ciprofloxacina, numa faixa de concentração de 0,1 a 101 µg L<sup>-1</sup>, em efluente hospitalar. Os autores também investigaram a presença de duas cefalosporinas (cefalexina e cefadroxila), mas, segundo eles, os fármacos se

encontravam abaixo do limite de detecção do método. **Gulkowska et al.**<sup>32</sup> conseguiram determinar uma cefalosporina (cefalexina) nas concentrações de 10 a 182 ng L<sup>-1</sup>, dentre três estudadas (cefazolina e cefotaxima) em águas superficiais de Hong-Kong. De acordo com vários autores, antibióticos  $\beta$ -lactâmicos como penicilinas e cefalosporinas, podem ser facilmente hidrolisados em ambientes aquáticos<sup>30,32,33</sup>. Devido a dificuldade na determinação e a escassez de pesquisa relacionada a estes compostos, torna-se difícil saber de seu comportamento no meio ambiente.

### 2.3.1 Cefalosporinas

As cefalosporinas são derivadas de um antibiótico natural, a Cefalosporina C, produzida pela cepa *Cephalosporium acremonium*. Este composto pode ser hidrolisado em meio ácido, gerando o ácido 7-amino-cefalosporânico. A adição de diferentes cadeias em posições determinadas modifica a molécula para dar origem aos vários antibióticos da classe das cefalosporinas<sup>34</sup>.

São basicamente antibióticos  $\beta$ -lactâmicos relacionados às penicilinas, estrutural e farmacologicamente. Possuem um anel  $\beta$ -lactâmico aderido a um anel dihidrotiazólico<sup>35</sup>, contendo dois centros quirais. Assim, existem quatro formas opticamente ativas. O isômero natural apresenta estereoquímica de acordo com a Figura 5.

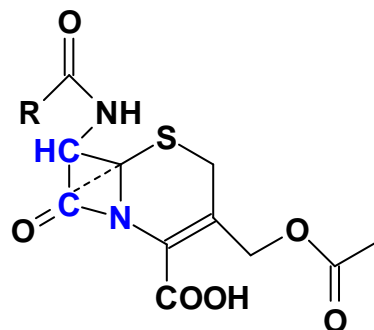


Figura 5 - Estereoquímica do isômero natural da  $\beta$ -lactamadiidrotiazínica.

Os anéis condensados não são coplanares, porém dobrados ao longo da ligação C-6, N-5, mas de forma menos acentuada que nas penicilinas. O átomo de carbono ligado à amida (C-7) possui configuração L. As propriedades físico-químicas das cefalosporinas são muito semelhantes às das penicilinas. Por exemplo, a maior parte das cefalosporinas é encontrada na forma de sais hidrossolúveis ou como anfóteros<sup>28</sup>.

Hoje em dia, são classificadas como 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações, de acordo com seu espectro de ação e estão disponíveis por via oral ou parenteral<sup>35</sup>.

### 2.3.1.1 Cefazolina

A cefazolina (Figura 6) é uma cefalosporina semi-sintética de primeira geração para administração parenteral<sup>35</sup>. Possui boa atividade contra bactérias gram-positivas e modesta atividade contra organismos gram-negativos<sup>34</sup>. É indicada em infecções respiratórias por *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, em infecções urinárias por *E. coli*, *P. mirabilis* e *Klebsiella spp.*, em infecções cutâneas causados por *S. aureus* e outras<sup>35</sup>.

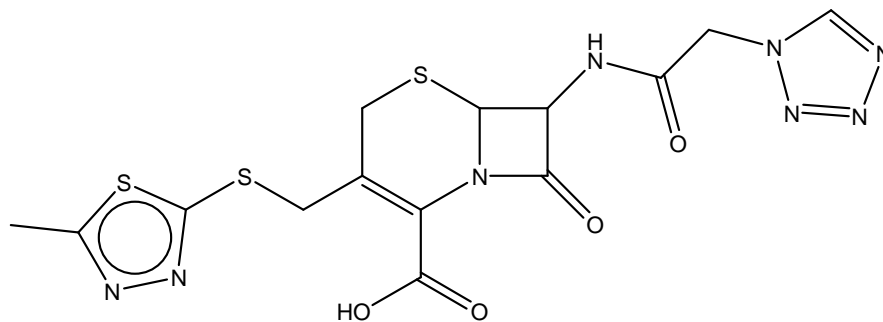


Figura 6 - Fórmula estrutural da cefazolina.

### 2.3.1.2 Ceftazidima

É uma cefalosporina semi-sintética de terceira geração. Tem baixa atividade contra bactérias gram-positivas, mas é bem mais ativa contra bactérias gram-



negativas<sup>34</sup>. É pouco absorvida no trato digestivo e indicada em infecções do trato urinário (não complicadas por *Pseudomonas*), febre em pacientes leucopênicos, casos selecionados de pneumonia nosocomial, meningite por *P. aeruginosa* e outros<sup>35</sup>. A estrutura da ceftazidima pode ser observada na Figura 7.

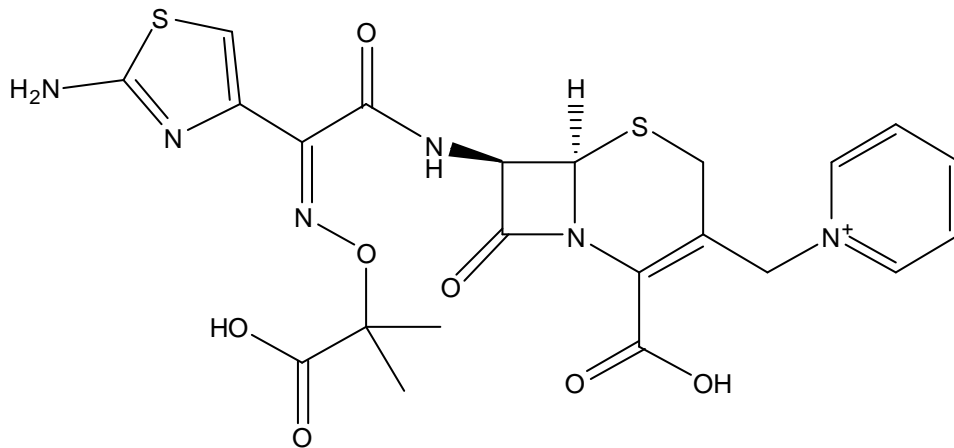


Figura 7 - Fórmula estrutural da ceftazidima

Na Tabela 1 encontram-se algumas propriedades farmacocinéticas da cefazolina e ceftazidima. O metabolismo da maioria dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos é praticamente nulo. Se mantém em sua forma ativa até sua eliminação renal, mediante filtrado glomerular (líquido claro que flui por um sistema tubular aonde diversas substâncias são reabsorvidas ou excretadas) e secreção tubular (passagem de substância do sangue diretamente para a urina nos tubulos proximais)<sup>36</sup>.

Tabela 1 - Propriedades farmacocinéticas dos antibióticos cefazolina e ceftazidima. Tabela adaptada de Suárez e Gudiol<sup>36</sup>.

	Posologia <sup>a</sup>	Semivida (h)	Excreção urinária (%)
Cefazolina	1-2 g 8 h <sup>-1</sup>	1,8	95
Ceftazidima	2 g 8 h <sup>-1</sup>	1,8	85

<sup>a</sup> A posologia indicada é a mais habitual para adultos e com função renal normal. Pode variar em função da indicação.

Estudos recentes têm demonstrado que fármacos são suscetíveis a fotodegradação no meio ambiente. Sendo assim, a fotólise empregada direta e indiretamente pode desempenhar um papel importante na degradação de antibióticos<sup>11</sup>.

## 2.4 Fotólise

### 2.4.1 Fotólise direta

A fotólise direta ocorre quando um composto absorve luz, tornando-se instável, originando subsequente decomposição<sup>11</sup>. Durante a fotólise direta a radiação absorvida é usada para produzir estados eletronicamente excitados das espécies fotosensíveis, iniciando o processo de desativação ou da formação de fotoprodutos<sup>37</sup>.

O fluxo de fótons necessários para iniciar este processo pode ser fornecido pela luz solar ou por lâmpadas artificiais. Existe uma ampla variedade de fontes artificiais de radiação: lâmpadas negras, germicidas, lâmpadas simuladoras solares e outras. As mais comumente utilizadas são as lâmpadas de mercúrio de baixa, média e alta pressão, e lâmpadas de xenônio para gerar radiação UV<sup>14</sup>.

O uso de radiação UV, já é bem estabelecido na desinfecção de águas para consumo e uma tecnologia crescente na purificação de efluentes, sendo eficiente na inativação de microorganismos patogênicos como vírus e bactérias, além de cistos de protozoários como a *Giardia* e *Cryptosporidium* que não seriam eliminados por cloração<sup>38</sup>.

Além desta utilidade, a radiação vem sendo empregada na simulação de condições ambientais para se estudar o comportamento de fármacos em águas superficiais e rios. Acredita-se que um dos mecanismos principais de reação nestes ecossistemas seria a fotodegradação por meio de luz solar. Entretanto, ainda não se tem suficiente conhecimento dos subprodutos formados e que podem por sua vez, apresentar uma toxicidade maior do que seus compostos de origem<sup>39,40</sup>.

**Doll et al.**<sup>40</sup> utilizaram lâmpada de xenônio para simular radiação solar na fotodegradação de ácido clofíbrico e carbamazepina e observaram um decréscimo na concentração do ácido e de carbamazepina após 70 h de tratamento. No entanto, os autores observaram a formação de intermediários no decorrer do processo. A existência de quantidades pequenas de matéria orgânica natural aumentou a degradação fotoquímica da carbamazepina o que pode ser explicado devido a formação de espécies ativas. Entretanto, o excesso de matéria orgânica natural promoveu um decréscimo no rendimento da fotólise, provavelmente, devido ao efeito sequestrador de radicais. Sendo assim, a matéria orgânica natural pode influenciar, tanto positiva como negativamente na fotólise de fármacos, podendo atuar como um sequestrador de radicais e/ou ainda como precursor de espécies reativas<sup>40</sup>.

#### 2.4.2 Fotólise Indireta

A eficiência da fotólise é geralmente maior quando combina-se irradiação com, por exemplo, peróxido de hidrogênio, que pode sofrer dissociação fotolítica e originar radicais hidroxil. A este processo dá-se o nome de fotólise indireta<sup>41</sup>. O radical hidroxil, uma espécie química com capacidade para promover a oxidação não-seletiva de uma ampla gama de substâncias<sup>42</sup>, tem se mostrado eficiente na degradação de compostos persistentes, que demonstraram fotodegradação lenta através de fotólise direta. Outras propriedades, como o espectro de absorbância, o rendimento quântico da fotólise, a concentração de peróxido de hidrogênio e a matriz, são igualmente importantes na eficiência da degradação de fármacos por fotólise indireta<sup>41</sup>. **Yuan et al.**<sup>43</sup> promoveram a degradação de quatro fármacos (ibuprofeno, difenidramina, fenazona e fenitoína) por fotólise direta e indireta, através de lâmpada UV de baixa pressão. A fenazona e a fenitoína apresentaram alto grau de fotodegradação por fotólise direta, 96 e 88%, respectivamente, enquanto os outros compostos estudados não obtiveram o mesmo comportamento. Somente após a adição de peróxido de hidrogênio ao meio reacional é que ambos foram totalmente degradados por meio de radicais hidroxil gerados no processo.

## 2.5 Surfactantes no meio ambiente

Surfactantes são um grupo de compostos usados diariamente em grandes quantidades, em geral, em aplicações domésticas e como agentes de limpeza industriais. Sendo assim, eles estão entre os poluentes orgânicos de origem antropogênica de maior relevância e com potencial para atingir o meio ambiente<sup>8</sup>.

Dentre os surfactantes aniônicos mais utilizados, se encontra o alquil-benzeno linear sulfonado (LAS), largamente empregado como agente de limpeza em detergentes de lavanderias e tinturaria, e que normalmente, depois de seu uso, é descartado no sistema de esgotos. Na categoria dos surfactantes catiônicos, os compostos de amônio quaternário são constituintes de produtos comerciais como condicionadores de cabelo, amaciantes e outros. O produto residual é descartado, geralmente, para as plantas de tratamento de esgotos ou diretamente em águas superficiais, e por serem catiônicos, são adsorvidos fortemente em cargas negativas superficiais de lodo, solo e sedimentos<sup>44</sup>. Como representante principal da classe dos surfactantes não-iônicos, destacam-se os compostos alquil-fenólicos (nonilfenol polietoxilados), bastante empregados em detergentes domésticos, formulações de pesticidas e produtos industriais. Estes são liberados pelas estações de tratamentos de efluentes, que não são eficazes na degradação destes surfactantes, ou, diretamente, no meio ambiente<sup>9</sup>.

### 2.5.1 Nonilfenóis polietoxilados

São uma classe de surfactantes não-iônicos, que fazem parte de um amplo grupo de compostos, conhecidos como alquilfenóis oxietilenados (APEO). Sua estrutura pode ser observada na Figura 8. Têm sido utilizados por mais de 40 anos como constituinte de detergentes, emulsificantes, dispersantes e agentes umectantes, nas mais variadas áreas, como têxteis, processamento do papel, tintas, resinas, processos de limpeza em hospitais e outras<sup>45</sup>.

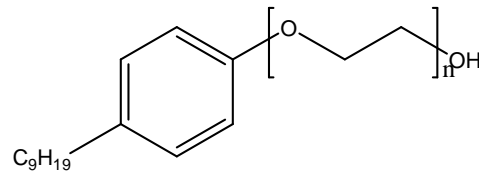


Figura 8 - Estrutura do nonilfenol oxietilado ( $\text{NP}_n\text{EO}$ ).

Sob condições aeróbias e anaeróbias de tratamento de efluentes municipais e industriais, os nonilfenóis oxietilados são biodegradados a metabólitos mais tóxicos como p-nonilfenol (NP), nonilfenol etoxilado (NP1EO), nonilfenol dietoxilado (NP2EO), ácido nonilfenoxiacético (NP1EC) e ácido nonilfenoxetoxiacético<sup>45</sup> (NP2EC). As estruturas destas espécies são mostradas na Figura 9.

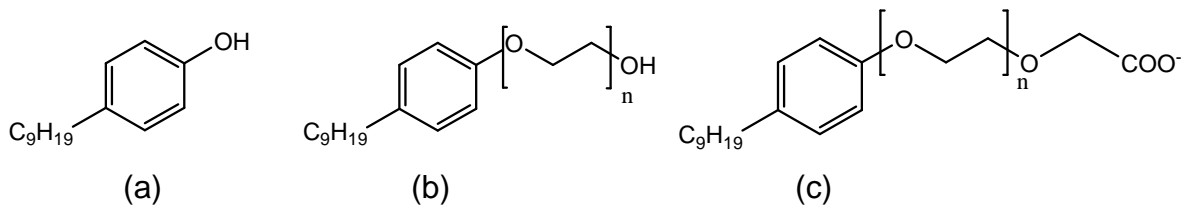


Figura 9 - Estrutura dos metabólitos (a) NP, (b)  $\text{NP}_n\text{EO}$  ( $n=1,2$ ) e (c)  $\text{NP}_n\text{EC}$  ( $n=1,2$ ), formados a partir dos surfactantes nonilfenóis oxietilados.

O mecanismo de formação dos produtos de degradação dos  $\text{AP}_n\text{EO}$  apresentado na Figura 10, inicia com a redução da cadeia etoxilada e a formação do AP, AP1EO e AP2EO. Em seguida, ocorre a oxidação do grupamento hidroxila da unidade terminal a grupamento carboxila, produzindo AP2EC e, então, AP1EC<sup>46</sup>.

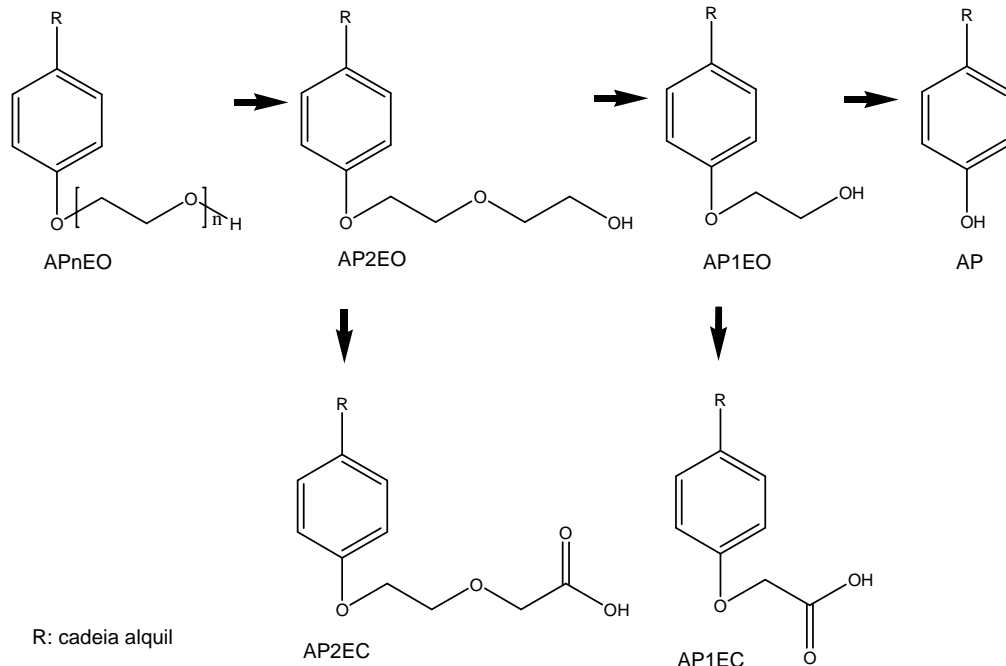


Figura 10 - Caminhos de degradação de compostos APnEO em tratamentos convencionais de água e efluentes<sup>46</sup>.

Estudos com peixes e mamíferos demonstraram que estas substâncias, no meio ambiente, são suspeitas também de apresentarem atividade estrogênica<sup>47,48,49</sup>. Este potencial estrogênico e a toxicidade destes compostos aumentam à medida que a cadeia etoxilada diminui<sup>50,51</sup>. A toxicidade aguda e crônica da substância NP tem sido amplamente estudada<sup>51,52</sup>. Valores relativamente baixos de concentração média efetiva ( $CE_{50}$ ) (concentração de amostra que causa um efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição e nas condições do teste) foram encontrados para o NP que variam entre 234 e 380  $\mu\text{g L}^{-1}$ , quando expostos ao organismo *D. magna*. **Farré et al.**<sup>53</sup> avaliaram a toxicidade de vários efluentes de indústrias têxteis, couro e doméstico, antes e após tratamento, que por sua vez, contém alta concentração de surfactantes não-iônicos como APnEO. Os efluentes industriais mostraram-se os mais tóxicos, não sendo suficiente o tratamento para eliminar substâncias como o NP ( $CE_{50} = 0,36 \text{ mg L}^{-1}$ ). Outro efeito danoso significativo para microorganismos causado por estes contaminantes de cadeia mais curta é o seu potencial de bioacumulação. **Correa-Reyes et al.**<sup>54</sup> avaliaram o efeito do NP na cadeia trófica. Os autores verificaram a acumulação de NP em microalgas, reduzindo seu crescimento rapidamente e proporcionando um fator de

bioconcentração de aproximadamente 7000. Um fator de bioconcentração de 10000 também foi encontrado por **Ahel et al.**<sup>55</sup> na avaliação do potencial de bioacumulação do mesmo composto em algas. Como este vegetal é a primeira etapa na cadeia alimentar de vários organismos, afetando o crescimento de crustáceos, por exemplo, pode-se concluir que a presença de NP no meio ambiente deve ser considerada como um risco real em um ecossistema.

Inúmeras tecnologias têm sido estudadas para a remoção dos APnEO de cadeias mais curtas do meio ambiente. Fotocatálise com  $\text{BiVO}_4$  e irradiação por meio de simulação solar foi utilizada por **Kohtani et al.**<sup>56</sup> na degradação de alquilfenóis. Os autores verificaram a adsorção favorecida do NP em  $\text{BiVO}_4$  devido ao seu caráter hidrofóbico. Após 80 min de fotoprocesso houve a completa degradação do NP e desaparecimento da atividade estrogênica. **Ning et al.**<sup>57</sup> investigaram a reação indireta de NP, com radicais hidroxil, durante a ozonização numa faixa de pH 6-9. Os autores obtiveram, degradações acima de 50% de NP, principalmente em pH mais elevados, devido ao crescimento da formação de radicais hidroxil. A oxidação eletroquímica do NP, através de ânodo de fibra de carbono em solução aquosa, foi empregada por **Kuramitz et al.**<sup>58</sup>. Uma boa eficiência foi obtida aplicando-se potencial de 0,7 V, ocorrendo formação de um filme polimerizado e sua remoção, após 60 min de tratamento. Outro processo eletroquímico que vem sendo utilizado na remoção de surfactantes de efluentes recalcitrantes é a eletrocoagulação.

## 2.6 Eletrocoagulação

Envolve a geração *in situ* de coagulantes através da oxidação eletrolítica de um ânodo de material apropriado, levando à geração de hidróxidos metálicos insolúveis capazes de remover poluentes pela complexação superficial ou atração eletrostática<sup>18</sup>.

A Figura 11 ilustra a natureza complexa e interdependente do processo de eletrocoagulação.

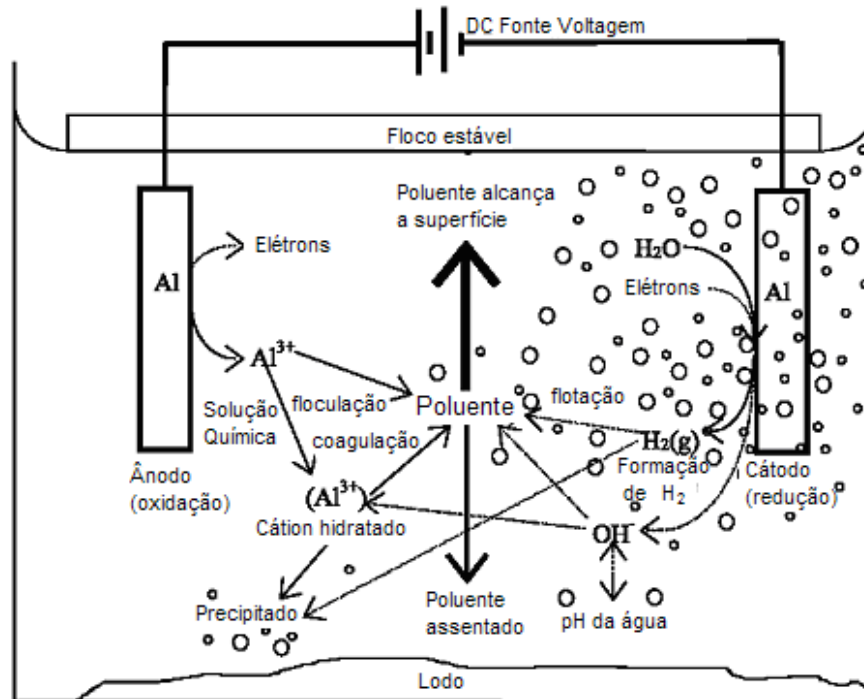


Figura 11 - Interações observadas durante a eletrocoagulação<sup>59</sup>.

As espécies iônicas carregadas são removidas do efluente através da reação com um íon de carga oposta ou com os flocos dos hidróxidos metálicos gerados no seio do efluente<sup>60</sup>.

É possível identificar três principais processos interdependentes, operando ao mesmo tempo: eletroquímico, de coagulação e hidrodinâmico<sup>59</sup>.

Primeiramente ocorrem reações eletrolíticas na superfície do eletrodo, seguido de formação de coagulantes na fase aquosa e adsorção de poluentes solúveis ou coloidais nos coagulantes, com remoção por sedimentação ou flotação<sup>61</sup>.

As vantagens relacionadas ao sistema de eletrocoagulação são as seguintes<sup>61</sup>:

- Requer equipamento simples e de fácil operação;
- O lodo formado tende a ser rapidamente decantado e é de fácil desidratação, visto que ele é composto por uma série de hidróxidos e óxidos metálicos, diferentemente do lodo gerado com os coagulantes convencionais.
- A eletrocoagulação gera efluentes com uma menor quantidade de sólidos dissolvidos, comparado com tratamentos químicos;
- Evita a adição de substâncias químicas, diminuindo a possibilidade de poluição secundária;



- As bolhas de gases produzidos durante a eletrólise podem favorecer o processo de eletroflotação, onde as partículas sólidas são carregadas para o topo da solução. Assim, tem-se uma maior facilidade de concentração, coleta e remoção dos poluentes

Dentre as limitações do processo temos que<sup>60</sup>:

- Os eletrodos são eletrodissolvidos nas correntes efluentes e precisam ser constantemente substituídos;
- O alto consumo de energia elétrica eleva o custo operacional do processo;
- Uma camada de óxido pode ser formada na superfície do cátodo, levando à perda de eficiência do processo;
- Alta condutividade da suspensão do efluente é requerida;
- Formação de lodo eletroquímico.

As reações abaixo são observadas durante o processo de eletrocoagulação<sup>62</sup>:

Para o ânodo de alumínio:



Em condições alcalinas:



Em condições ácidas:



Em adição, ocorre a evolução de oxigênio:



A reação no cátodo é:



Se o potencial do ânodo é suficientemente alto, reações secundárias podem ocorrer na sua superfície, como a oxidação direta de compostos orgânicos e de  $\text{H}_2\text{O}$  ou  $\text{Cl}^-$ , presentes no efluente<sup>18</sup>.



O cloro produzido sofre reações de hidrólise em pH acima de 3-4<sup>18</sup>.



Estas reações demonstram a natureza complexa da eletrocoagulação. Além disso, a eficiência do processo depende de vários parâmetros operacionais, como natureza e área do eletrodo, pH inicial, temperatura, presença de eletrólito, densidade de corrente e diferença de potencial.

**Önder et al.**<sup>63</sup> avaliaram dois destes parâmetros na remoção de surfactantes catiônicos em solução aquosa por meio de eletrocoagulação e verificaram que o uso de densidades de corrente maiores proporciona uma remoção mais eficiente do surfactante, devido à elevada formação de íons ferro. Também, a adição de um eletrólito reduz o potencial repulsivo entre os colóides, possibilitando a agregação e diminuindo a energia consumida durante o processo, promovendo assim uma significativa remoção do surfactante.

## 2.7 Efluente Hospitalar

Uma portaria da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) permite que o descarte dos efluentes sanitários hospitalares seja feito através da rede de esgotos, ou em corpo receptor, desde que atendam respectivamente as diretrizes estabelecidas pelos órgãos ambientais, gestores de recursos hídricos e de saneamento competentes<sup>64,65</sup>.

De acordo com a ANVISA, resíduos de produtos hormonais e produtos antimicrobianos, citostáticos, antineoplásicos, imunossupressores, digitálicos, imunomoduladores e anti-retrovirais, quando descartados por serviços assistenciais de saúde, farmácias, drogarias e distribuidores de medicamentos ou apreendidos, devem ser submetidos a tratamento ou disposição final específicos<sup>65</sup>.

Normalmente, os tratamentos de efluentes hospitalares consistem em uma fossa séptica (onde encontram-se bactérias vivas que irão consumir o material mais sólido), seguida de caixa de contato (desenvolvida para possíveis imprevistos, como

---

entupimentos das saídas das caixas e verificação dos níveis dos efluentes), filtro anaeróbio (onde ocorre a decomposição anaeróbia em leito fixo), cloração (onde são preparados a água clorada para ser lançada na colméia) e corpo receptor (o efluente se mistura então, com a água clorada)<sup>66</sup>.

Segundo **Vasconcelos**<sup>6</sup>, nos últimos anos o atendimento do HUSM foi intensificado, porém, nenhuma medida foi tomada no sentido de adequar a rede de esgotos à nova demanda e à legislação específica.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os aparelhos e acessórios utilizados durante o desenvolvimento deste trabalho são parte integrante do Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Efluentes e Resíduos – LATER e do Laboratório de Análises Micotoxicológicas – LAMIC, ambos da Universidade Federal de Santa Maria (Brasil) e do Laboratório de Medicina Ambiental e Epidemiologia Hospitalar do Hospital Universitário de Freiburg (Alemanha).

#### 3.1 Equipamentos e Acessórios

- Equipamento de HPLC constituído de duas bombas LC 10 AT, amostrador automático, forno para coluna, detector de ultravioleta SPD-10A P ( $\lambda$ : 258 nm;  $\lambda$ : 272 nm) e detector de fluorescência RF-10A ( $\lambda_{\text{ex}}$ : 227 nm;  $\lambda_{\text{em}}$ : 313 nm), utilizando-se sistema (Shimadzu, [www.shimadzu.com](http://www.shimadzu.com));
- Agilent Series 1100 LC (Agilent Technologies, [www.chem.agilent.com](http://www.chem.agilent.com)) equipado com duas bombas binárias, desgaseificador, forno para coluna e amostrador automático;
- Cromatógrafo a líquido Shimadzu (Shimadzu, <http://www.shimadzu.com>), bomba LC-10AD equipado com detector espectrofotométrico UV-Visível SPD-10AV ou Detector de fluorescência HP 1046A ([www.hp.com](http://www.hp.com));
- LC-MS/MS Esquire 3000 plus (Bruker Daltonics, [www.bdal.com](http://www.bdal.com)) com fonte ortogonal de ionização electrospray e analisador ion trap;
- Cromatógrafo Agilent Série 1200 (equipado com bomba binária, desgaseificador, autosampler, forno para coluna) acoplado a espectrômetro de massas API 4000 Q-Trap – Applied Biosystems equipado com fonte de ionização electrospray;
- Reator de Eletrocoagulação: recipiente de vidro ( $\varnothing=10$  cm, h=11 cm), com capacidade para 600 mL;
- Sistema de extração em fase sólida (SPE) Alltech (Alltech, <http://www.alltechweb.com>), para pré-concentração simultânea de 16 amostras;

- Reator Labor-UV-Reaktorsystems 2 com sistema de resfriamento (Heraeus, [www.uv-consulting.de](http://www.uv-consulting.de));
- Lâmpada TQ 150 Heraeus revestida por uma camisa de quartzo (Heraeus, [www.uv-consulting.de](http://www.uv-consulting.de));
- Aparelho para determinação de carbono orgânico dissolvido (COD) TOC-5000 e ASI-5000 (Shimadzu, [www.shimadzu.com](http://www.shimadzu.com));
- Termobloco Lumistherm 15°C Dr. Lange GmbH (Hach Lange, [www.hach-lange.de](http://www.hach-lange.de));
- Luminímetro LUMIStox 300 Dr. Lange GmbH (Hach Lange, [www.hach-lange.de](http://www.hach-lange.de));
- Cubetas de vidro (LZP 187) Dr. Lange GmbH (Hach Lange, [www.hach-lange.de](http://www.hach-lange.de));
- Teste para determinação de peróxido Merck na faixa de 0,5 – 25 mg L<sup>-1</sup> (Merck, <http://www.merck.de>);
- Incubadora para testes de biodegradabilidade Closed Bottle Test (Memmert, [www.memmert.com](http://www.memmert.com));
- Condutivímetro modelo Digimed CD-21 (Digimed, <http://www.digimed.ind.br>);
- Ultra-som modelo Thornton T14 (Bandelin, <http://www.schalltec.de/html/bandelin>);
- Bomba de vácuo Weg modelo B481194 (Weg Motores LTDA, <http://www.weg.com.br>);
- Fonte geradora de energia ErnsLeitz GMBH Wetzlar 30A e 50V (Alemanha);
- Eletrodo de alumínio com dimensões de 0,15 x 3 x 10 cm.
- Lâmpada de vapor de mercúrio UV-Visível 125 W (Philips, <http://www.philips.com.br>), desprovida de bulbo.
- Instrumento de análise de oxigênio dissolvido (OXITOP, <http://www.globalw.com/products/oxitop.html>);
- Multímetro modelo Buker DT830B;
- Bomba dosadora pulsante (ProMinent, [www.prominent.com.br](http://www.prominent.com.br));
- Estufas, balanças analíticas, vidrarias e acessórios de laboratório.

### 3. 2 Reagentes e soluções

Todos os reagentes empregados foram, no mínimo, de grau analítico e, as soluções, preparadas com água ultrapura Milli-Q.

- Soluções para determinação de demanda química de oxigênio (DQO): preparadas conforme **Standard Methods**<sup>67</sup>;

- Soluções utilizadas para *Closed Bottle Test* (CBT)<sup>68</sup>;

- Solução reativadora para teste de luminescência<sup>69</sup>;

- Soluções empregadas no teste respirométrico<sup>70</sup>;

- Solução aquosa de NaCl (2%) (m/v);

- Soluções aquosas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:3, v/v), HCl (1 mol L<sup>-1</sup>) e NaOH (6 mol L<sup>-1</sup>) utilizadas nos ajustes de pH;

- Solução de HCl etanólico 10% (m/m) para descontaminação da vidraria, utilizada nos experimentos com o surfactante NP9EO.

- Solução aquosa de HCl e hexametilenotetramino para limpeza dos eletrodos preparada conforme **Koby et al.**<sup>62</sup>

- Solução aquosa de ácido fórmico (0,1%, v/v);

- Solução tampão formiato de sódio/ácido fórmico pH 3,0 (0,0418 mol de ácido fórmico e 0,0081 mol de formiato de sódio para 1 L);

- Água previamente purificada por sistema Milli-Q (resistividade de 18,2 MΩ cm, Millipore), para análises em HPLC;

- Acetonitrila (ACN) grau HPLC para cromatografia em fase líquida Merck (Merck, [www.merck.de](http://www.merck.de));

- Metanol (MeOH) grau HPLC para cromatografia em fase líquida J. T. Baker (J.T. Baker, [www.jtbaker.com](http://www.jtbaker.com)).

- Hexano e diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) grau analítico, Merck (Merck, [www.merck.de](http://www.merck.de));

### 3.3 Caracterizações do local de estudo

Os efluentes estudados foram coletados no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), em Santa Maria-RS, Brasil. O hospital possui 309 leitos de unidade

de internação e 27 leitos da unidade de tratamento intensivo. A equipe de trabalho é composta por 2611 pessoas, entre elas, funcionários, professores, estagiários, residentes, mestrandos e doutorandos. Segundo a média mensal de 2006 foram realizadas 914 internações, 549 cirurgias, 166 partos, 10332 consultas, 4285 consultas no pronto atendimento, 1144 seções de fisioterapia e 63808 exames<sup>71</sup>.

O HUSM é caracterizado como hospital regional e possui sistema de tratamento primário do tipo filtro anaeróbio, comumente empregado na maioria dos hospitais brasileiros.

### 3.4 Coleta de efluente hospitalar

Com relação aos antibióticos, estima-se que o maior consumo de ceftazidima e cefazolina pelo HUSM é, em geral, na unidade de pronto atendimento (PA-HUSM). A rede de esgotos do hospital é dividida em duas linhas que abrangem as alas norte e sul do hospital, separadamente. A rede do PA-HUSM, devido ao fato de esta unidade ter sido construída recentemente, encontra-se com a rede sul num ponto externo, onde passam por um sistema de tratamento com fossa séptica conjugado a filtro anaeróbio, para depois serem descartadas em um curso d'água que corta o campus da UFSM (Figura 12). O efluente oriundo da ala sul do Hospital Universitário passa, primeiramente, pela fossa séptica, com capacidade volumétrica de 38,4 m<sup>3</sup>. Na seqüência, o resíduo é conduzido através de tubulação localizada na parte superior da fossa, por gravidade, para a parte inferior do filtro anaeróbio. O filtro anaeróbio, com capacidade para 7,56 m<sup>3</sup>, possui uma divisória de lajes pré-moldadas, com orifícios de 3 cm e, à medida que aumenta o volume, o efluente atravessa os orifícios atingindo uma camada de brita. A parte superior do filtro possui uma calha que conduz o sobrenadante para fora da caixa, encerrando o tratamento. A vazão de saída no filtro anaeróbio é da ordem 191 m<sup>3</sup> dia<sup>-1</sup>. Após o tratamento, o efluente é despejado no córrego localizado dentro do Campus Universitário<sup>7</sup>.

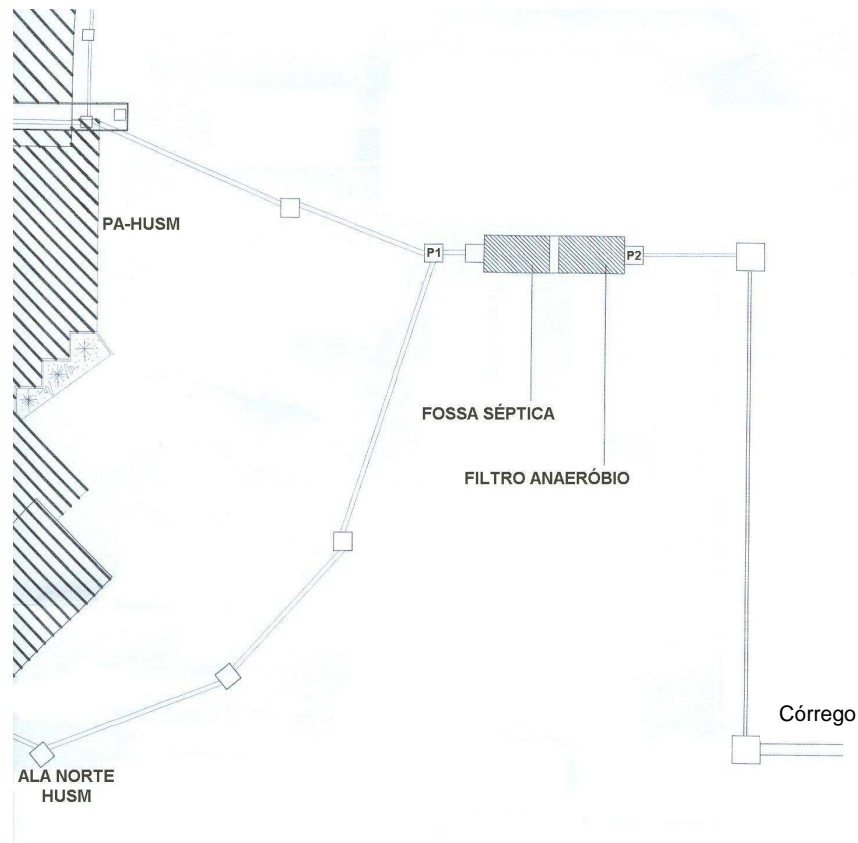


Figura 12 - Esquema do tratamento de efluentes do PA-HUSM.

As amostras foram coletadas depois da fossa séptica com filtro integrado (Figura 13). Após coleta adequada em frascos de polietileno, as amostras foram imediatamente filtradas com papel filtro de porosidade 14 e  $0,22\ \mu\text{m}$ , na sequência. Em seguida, ajustou-se o pH a 4 com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:3, v/v), para redução da ação biológica e armazenou-se no escuro, a  $4\ \text{°C}$ . A caracterização química da amostra de efluente pode ser observada na seção 4.1.5 (Tabela 13).





Figura 13 - Local de coleta do efluente utilizado nos experimentos com ceftazidima e cefazolina. Fossa séptica localizada na ala sul do pronto socorro do PA-HUSM.

Com relação aos surfactantes, sabe-se que no HUSM são lavadas em torno de 1900 a 2000 kg de roupa por dia. Os processos de lavagem se diferenciam de acordo com o tipo de sujidade: pesado (lava roupas cirúrgicas contaminadas com sangue), leve (lava lençóis, fronhas e diversos) e cobertores. Com relação ao procedimento para o tipo de sujidade leve são necessárias quatro etapas na limpeza destes tecidos, utilizando-se 700 mL de surfactantes por 100 kg de roupa seca, na lavagem e amaciamento. Para o tipo de sujidade pesada 8 etapas são necessárias, empregando-se 1700 mL de surfactantes por 100 kg de roupa seca, na umectação,

pré-lavagem, lavagem e amaciamento. Um dos constituintes destes detergentes utilizados neste procedimento é o NP9EO.

O tratamento destes resíduos é feito por meio de fossa séptica integrada a filtro aneróbio, logo na saída do processo de lavagem, seguindo então para outro sistema de fossa séptica que irá desaguar em uma espécie de vala com comunicação com o curso d'água próximo a biblioteca central e ao restaurante universitário (Figura 14).

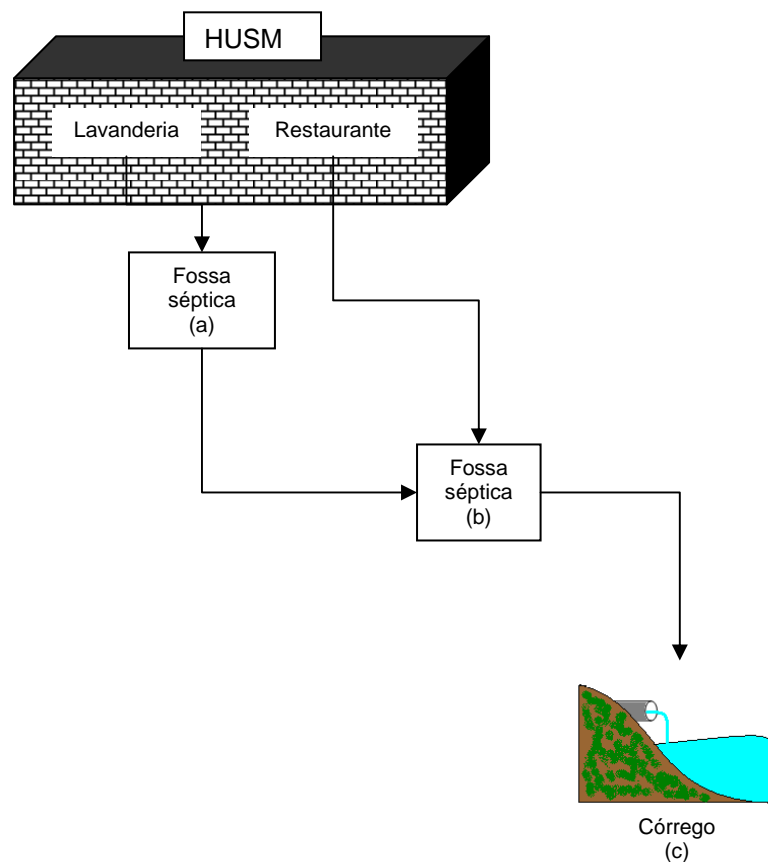


Figura 14 - Esquema do tratamento de efluentes da lavanderia do HUSM.

Foram coletadas amostras em três pontos diferentes: logo na saída da lavanderia (a), na fossa séptica (b) (localizada aos fundos da Biblioteca Central) e no curso d'água situado nessa mesma região (c). O local das coletas pode ser observado nas fotos da Figura 15. Para posterior determinação dos compostos, coletaram-se amostras durante 7 dias, a cada 2 horas, num total de 5 coletas por dia. Ao final do dia misturou-se um volume igual de todas as amostras, filtrou-se com



filtro de porosidade 14  $\mu\text{m}$  e ajustou-se o pH. Alguns parâmetros dos efluentes coletados podem ser observados na seção 4.2 (Tabela 17).



Figura 15 - Local da coleta dos efluentes utilizados nos experimentos com NP9EO e NP. A – Fossa séptica na saída da lavanderia do hospital, B – Fossa séptica próxima a biblioteca central, C – Curso d'água situado perto do RU.

### 3.5 Preparo de amostras

#### 3.5.1 Fármacos

Com o intuito de pré-concentrar e purificar a amostra de efluente hospitalar foi empregada SPE. As condições experimentais mais apropriadas seguem abaixo.

Com o objetivo de determinar as cefalosporinas no efluente, empregou-se um procedimento para pré-concentração da amostra, também por meio de SPE. Na fotólise dos fármacos em efluente hospitalar, não foi necessário pré-concentração.

Para a cefazolina em solução sintética, utilizaram-se cartuchos C18 (octadecilsilano endcaped) contendo 200 mg do adsorvente em tubos de 3 mL, Strata (Phenomenex, [www.phenomenex.com](http://www.phenomenex.com)). Na etapa de condicionamento empregaram-se 3 mL de MeOH e 3 mL de tampão formiato/ácido fórmico pH 3,0. Percolaram-se, então, 20 mL de amostra, lavando-se a seguir com 3 mL de água. Eluiu-se, duas vezes, com 1 mL de acetonitrila:H<sub>2</sub>O (30:70, v/v), resultando uma pré-concentração de 10 vezes.

Para a ceftazidima em solução sintética foi utilizado cartucho Strata X-CW contendo 200 mg de polímero catiônico fraco. As etapas de condicionamento e lavagem foram as mesmas da cefazolina em solução sintética. Percolaram-se 100 mL de amostra e eluiu-se com 4 mL de acetonitrila:H<sub>2</sub>O (50:50, v/v), ocorrendo uma pré-concentração de 25 vezes.

Para a fotólise em efluente hospitalar não foi necessário pré-concentrar as amostras porque a concentração de ambos os fármacos empregada nos experimentos de fotodegradação foi de 10 mg L<sup>-1</sup>. Para estes ensaios, introduziram-se 5 mL de amostra contendo cefazolina em cartucho Strata X-CW (o mesmo utilizado anteriormente) e 5 mL de amostra contendo ceftazidima em cartucho C-18 (o mesmo utilizado anteriormente). Após a secagem do cartucho, eluiu-se com 5 mL de acetonitrila:H<sub>2</sub>O (50:50, v/v), sendo o eluato submetido à análise por HPLC. As etapas de condicionamento e lavagem foram as mesmas descritas para as cefalosporinas em solução sintética. Na Tabela 2 observa-se o resumo das condições empregadas na preparação das amostras de cefazolina e ceftazidima.

Tabela 2 - Resumo das condições utilizadas no preparo das amostras de cefazolina e ceftazidima.

	cefazolina	ceftazidima
Cartucho	C18 fase reversa	X-CW catiônico
Condicionamento	3 mL de MeOH e 3 mL de tampão formiato	3 mL de MeOH e 3 mL de tampão formiato
Amostra	20 mL / 5 mL <sup>a</sup>	100 mL / 5 mL <sup>a</sup>
Lavagem	3 mL de água	3 mL de água
Eluição	ACN: H <sub>2</sub> O (30:70, v/v) 1 mL, 2 vezes / 5 mL ACN:H <sub>2</sub> O (50:50, v,v) <sup>a</sup>	ACN: H <sub>2</sub> O (50:50, v/v) 2 mL, 2 vezes / 5 mL ACN: H <sub>2</sub> O (50:50, v/v) <sup>a</sup>
Pré-concentração	10 vezes	25 vezes

<sup>a</sup>condições utilizadas nos experimentos de fotólise

### 3.5.2 NP9EO e NP

O procedimento de SPE mostrou-se bastante efetivo na recuperação dos dois compostos estudados (NP e NP9EO). Utilizaram-se cartuchos Strata C18 (octadecilsilano endcaped) de 3 mL contendo 200 mg do adsorvente (Phenomenex, www.phenomenex.com). O método para extração baseou-se em **Gatidou et al.**<sup>72</sup>, com modificações, o condicionamento foi efetuado através da adição de 6 mL de MeOH (duas vezes de 3 mL) e 2 mL de água (duas vezes de 1 mL). Logo após, percolaram-se 100 mL de amostra. A etapa de lavagem foi conduzida empregando-se 3 mL de água. Posteriormente o cartucho foi seco para então efetuar-se a etapa de eluição. No caso do NP, utilizaram-se 2 mL de diclorometano (2 vezes de 1 mL) e 2 mL de hexano (2 vezes de 1 mL), porém para o NP9EO, além dos solventes citados na eluição do NP, foi ainda necessário acrescentar-se 2 mL de MeOH (2 vezes de 1 mL). Evaporou-se com fluxo de nitrogênio (N<sub>2</sub>) e redissolveu-se com 2 mL de acetonitrila:H<sub>2</sub>O (50:50, v/v), pré-concentrando-se 50 vezes. O resumo das condições empregadas no preparo das amostras de NP9EO e NP encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Resumo das condições utilizadas no preparo das amostras de NP9EO e NP.

NP9EO e NP	
Cartucho	C18 fase reversa
Condicionamento	6 mL de MeOH (2 vezes de 3 mL) e 2 mL de H <sub>2</sub> O (2 vezes de 1 mL)
Amostra	100 mL
Lavagem	3 mL de água
Eluição	NP: 2 mL de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> e 2 mL de Hexano NP9EO: 2 mL de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 2 mL de Hexano e 2 mL de MeOH
Evaporação	com N <sub>2</sub>
Redissolução	2 mL de ACN:H <sub>2</sub> O (50:50, v/v)
Pré-concentração	50 vezes

### 3.6 Determinação

As amostras-padrão de cefazolina e ceftadizima foram obtidas do Instituto de Medicina Ambiental e Epidemiologia Hospitalar (Hospital Universitário de Freiburg - Alemanha). O nonilfenol etoxilado, com 9 moles de óxido de etileno (NP9EO) foi disponibilizado por indústria de tensoativos e, o padrão de 4-nonilfenol (NP), fornecido por Supelco (Supelco, [www.sigma-aldrich.com.br](http://www.sigma-aldrich.com.br)). Como os experimentos foram conduzidos parte na UFSM e parte no Hospital Universitário de Freiburg, diferentes equipamentos e procedimentos foram utilizados na elaboração desta tese.

### 3.6.1 Fármacos

#### 3.6.1.1 Procedimento 1

Para a determinação da degradação, por meio de fotólise, da solução sintética das cefalosporinas, foi utilizado o sistema HPLC-UV constituído de duas bombas LC 10 AT, amostrador automático, forno para coluna, empregando-se coluna de fase reversa (C18 CC 125x4 mm Nuclodur 100-5 Macherey-Nagel, [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)) e pré-coluna (C18 RP18 CC 8x4 mm Nucleosil 100-5 Macherey-Nagel, [www.mn-net.com](http://www.mn-net.com)) com detector de ultravioleta SPD-10A P (Shimadzu, [www.shimadzu.com](http://www.shimadzu.com)) acoplado.

O método baseou-se em **Tuerk et al.**<sup>73</sup> com algumas modificações. A fase móvel empregada foi 0,1% de ácido fórmico em água ultrapura (A) e acetonitrila contendo água ultrapura numa proporção de 90:10 (B). Injetaram-se 100 µL de amostra e o gradiente utilizado foi de 0-1 min (95% A), 1-10 min (10% A), 10-13 min (10% A), 13-13,01 min (95% A) e 13,01-15 min (95% A). A temperatura da coluna foi de 35 °C e, a vazão, de 0,5 mL min<sup>-1</sup>. Os comprimentos de onda para as determinações com UV foram 258 nm, para a ceftazidima, e 272 nm, para a cefazolina.

Primeiramente, soluções-padrão das substâncias cefazolina e ceftazidima foram preparadas em balões volumétricos separados, contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> cada, em água Milli-Q. Diluiu-se a solução-mãe, novamente, com H<sub>2</sub>O:acetonitrila (50:50, v,v), até obterem-se padrões contendo 0,5, 1, 2,5, 5 e 10 e 100 mg L<sup>-1</sup>.

Os subprodutos de degradação dos ensaios de fotólise da solução sintética dos antibióticos foram determinados por LC-MS, com detector com fonte ortogonal de ionização electrospray e analisador ion trap. Foi empregado o método descrito anteriormente, com diferença no volume de amostra injetado (50 µL). Na Tabela 4 estão os parâmetros utilizados no LC-MS/MS.

Tabela 4 - Parâmetros do LC-MS, procedimento 1.

Parâmetro	Resultado
pressão do gás nebulizador	30 psi
Vazão do gás seco	10,0 L min <sup>-1</sup>
Temperatura	300 °C
voltagem do spray	4 kV
saída do capilar	-128,5 V
amplitude do RF do octopolo	120,0 Vpp
Trap drive	59,5
lente 2	60,0 V
Rolling averages	2 cts
Faixa do scan	100-1000 m/z
Tempo máximo de acumulações	200 ms
ion charge control target	30000
Controle da carga	On

### 3.6.1.2 Procedimento 2

Para a determinação das cefalosporinas nos ensaios conduzidos com efluente hospitalar, bem como para a avaliação da fotólise dos compostos gerados com esta amostra, empregou-se aparelho HPLC equipado com bomba LC-10AD e detector espectrofotométrico UV-Visível SPD-10AV. Utilizou-se coluna de fase reversa, C18 (250 x 4.6 mm; 4 µm) e pré-coluna (20 x 1 mm). O volume injetado foi de 20 µL. A fase móvel foi constituída de acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (60:40, v,v), com o sistema operando no modo isocrático na vazão de 0,5 mL min<sup>-1</sup>. Foi possível empregar-se o mesmo comprimento de onda (258 nm) para ambos os fármacos.



### 3.6.1.3 Procedimento 3

Na determinação dos produtos de transformação das cefalosporinas em efluente hospitalar empregou-se Cromatógrafo Agilent Série 1200 equipado com bomba binária, desgaseificador, autosampler e forno para coluna, mantendo-se a temperatura em 30 °C. A coluna utilizada foi Gemini-NX, C18 (5 µm; 4,6 x 150 mm). A fase móvel empregada foi acetonitrila contendo ácido fórmico 1% na proporção de 90:10 (v/v) (A) e, água, contendo 1% (v/v) de ácido fórmico (B), com o seguinte gradiente: 0-2 min 100% de A, 2-10 min (100% B), 10-15 min (100%B), 15,01-19,00 100% A. A quantidade de amostra injetada foi 10 µL e, a vazão, 0,7 mL min<sup>-1</sup>.

Empregou-se um espectrômetro de massas API 4000 Q-Trap, equipado com fonte de ionização electrospray, operando no modo IDA (Information data acquisition) nas condições da fonte de ionização, observadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Condições da fonte de ionização, procedimento 3.

Parâmetros	Resultados
Collision gas	Medium
Curtain gas	15 psi
Ion source gas 1	50 psi
Ion source gas 2	50 psi
Temperatura	600 °C
Voltagem do íon spray	5500 V

O resumo das condições empregadas na determinação das cefalosporinas pode ser observado na Tabela 6 (procedimentos 1, 2 e 3).

Tabela 6 - Resumo das condições utilizadas na determinação das cefalosporinas (procedimentos 1, 2 e 3).

	Procedimento 1	Procedimento 2	Procedimento 3
Experimento	Fotólise das cefalosporinas em solução sintética	Fotólise das cefalosporinas em efluente hospitalar	Investigação dos fármacos no efluente hospitalar
Fase móvel	(A) ACN:H <sub>2</sub> O (90:10, v/v) (B) HCOOH (0,1%)	ACN:HCOOH (0,1%) (60:40, v/v)	(A) ACN:HCOOH (1%) (90:10, v/v) (B) HCOOH (1%)
Gradiente	0-1 min 95% B, 10 min 10% B, 13 min 10% B, 13,01 min 95% B e 15 min 95% B	Isocrático	0-2 min 100% A, 2-10 min 100% B, 10-15 min 100% B, 15,01-19,00 100% A
Volume de injeção (µL)	100	20	10
Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	0,5	0,5	0,7
λ (nm)	258 (ceftazidima) 272 (cefazolina)	258 (cefazolina e ceftazidima)	-

### 3.6.2 NP9EO e NP

#### 3.6.2.1 Procedimento 4

As determinações dos compostos NP9EO e NP nos efluentes hospitalares do HUSM (pontos A, B e C), bem como a degradação do NP9EO e possível formação do NP durante o processo de eletrocoagulação, em efluente da lavanderia (ponto A), foram conduzidas por meio de HPLC equipado com bomba LC-10AD e detector de fluorescência HP 1046A ( $\lambda_{\text{ex}}$ : 227 nm;  $\lambda_{\text{em}}$ : 313 nm), com base nas metodologias descritas por **Núñez et al.**<sup>74</sup> e **Xiao et al.**<sup>75</sup>, empregando-se como fase móvel acetonitrila e água, numa razão de 70:30 (v/v), no modo isocrático. A vazão utilizada

foi de  $1 \text{ mL min}^{-1}$  e o volume injetado de  $20 \text{ }\mu\text{L}$  de amostra. Empregou-se coluna de fase reversa, C18 (250 x 4.6 mm;  $4 \text{ }\mu\text{m}$ ) e pré-coluna (20 x 1 mm). Soluções-padrão foram preparadas contendo as duas substâncias na faixa de  $0,1$  a  $5 \text{ mg L}^{-1}$  para NP e, de  $1$  a  $50 \text{ mg L}^{-1}$ , no caso do NP9EO.

### 3.6.2.2 Procedimento 5

As determinações nas soluções sintéticas de NP9EO durante o processo de eletrocoagulação foram feitas em HPLC-FLD, constituído de bomba binária LC 10 AT, amostrador automático, forno para coluna empregando-se coluna de fase reversa (C18 CC 125x4 mm Nuclodur) e pré-coluna (C18 RP18 CC 8x4 mm Nucleosil) e detector de fluorescência RF-10A utilizando-se os comprimentos de onda  $\lambda_{\text{ex}}$ : 227 nm e  $\lambda_{\text{em}}$ : 313 nm. A fase móvel foi constituída de acetonitrila e ácido fórmico (0,1%) numa razão 65:35 (v/v), usando-se modo isocrático. A vazão empregada foi de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$  e, o volume de amostra injetado, de  $100 \text{ }\mu\text{L}$ .

Os subprodutos de degradação do NP9EO por eletrocoagulação foram avaliados por meio de LC-MS, com equipamento Agilent Series 1100 LC acoplado a detector MS Esquire 3000 plus, com fonte ortogonal de ionização electrospray e ion trap. A mesma metodologia anterior (procedimento 5) foi empregado, com diferença no volume de amostra injetado ( $50 \text{ }\mu\text{L}$ ). Na Tabela 7 estão os parâmetros utilizados em LC-MS.

Tabela 7 - Parâmetros do LC-MS, procedimento 5.

Parâmetro	Resultado
pressão do gás nebulizador	30 psi
vazão do gás seco	12,0 L min <sup>-1</sup>
Temperatura	350 °C
saída do capilar	113.6,5 V
amplitude do RF do octopolo	150,0 Vpp
trap drive	37.2
lente 2	- 60,0 V
Rolling averages	2 cts
Faixa do scan	50-1000 m/z
Tempo máximo de acumulações	200 ms
ion charge control target	40000
Controle da carga	On

Na Tabela 8 verifica-se o resumo das condições utilizadas na determinação das amostras de NP9EO e NP (procedimento 4 e 5).

Tabela 8 - Resumo das condições empregadas na determinação das amostras de NP9EO e NP (procedimentos 4 e 5).

	Procedimento 4	Procedimento 5
Experimento	Determinação de NP9EO e NP e eletrocoagulação de NP9EO nos efluentes	Determinação de NP9EO e NP nas soluções sintéticas da eletrocoagulação
Fase móvel	ACN:H <sub>2</sub> O (70:30, v/v)	ACN:HCOOH (0,1%) (65:35, v/v)
Gradiente	Isocrático	Isocrático
Volume de injeção (µL)	20	100
Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	1	0,7
λ (nm)	Excitação 227 Emissão 313	Excitação 227 Emissão 313

### 3.7 Estabilidades dos fármacos

Soluções de cefazolina e ceftazidima contendo  $10 \text{ mg L}^{-1}$  foram preparadas em acetonitrila:H<sub>2</sub>O (50:50, v/v), adicionando-se os dois padrões no mesmo balão volumétrico, como também, separadamente, cada padrão em balões volumétricos distintos. As amostras foram dispostas em temperatura ambiente, com e sem a presença de luz, bem como em geladeira a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e freezer a  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , no período de 1 mês, e determinadas a cada 5 dias por meio de HPLC-UV, procedimento 1 (3.6.1.1), para avaliar a estabilidade dos compostos estudados.

Paralelamente, foi conduzido outro estudo verificando-se o comportamento das cefalosporinas em diferentes pH. Foram feitas soluções aquosas das duas cefalosporinas, separadamente, contendo  $10 \text{ mg L}^{-1}$ . O pH foi ajustado com NaOH ( $6 \text{ mol L}^{-1}$ ) e HCl ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) na faixa de 3 a 14 e as amostras foram deixadas em temperatura ambiente por 24 h. As determinações dos compostos foram feitas por LC-MS antes e após 24 h, por meio de procedimento 1 (seção 3.6.1.1).

### 3.8 Descrição do sistema de fotodegradação utilizado

O sistema de irradiação empregado para os ensaios de fotólise das soluções sintéticas das cefalosporinas, consiste de fotorreator com capacidade para 1000 mL, termômetro, lâmpada de mercúrio de média pressão de 150 W e sistema de resfriamento. A temperatura foi mantida entre  $20$  e  $22 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . A lâmpada foi ligada 2 min antes de cada experimento, a fim de alcançar a sua estabilização. Para os ensaios foram empregadas 800 mL de soluções contendo  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , em diferentes pH (4, 7 e 9). O tempo de tratamento foi fixado em 60 min. Na Figura 16 encontram-se o esquema e foto do reator utilizado.

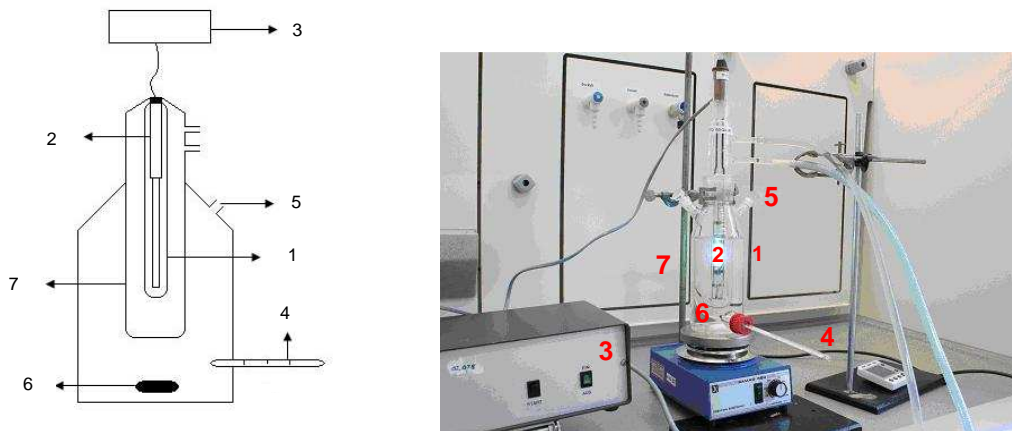


Figura 16 - Esquema e fotografia do fotorreator utilizado em fotocatalise. (1) bulbo de quartzo, (2) lâmpada de mercúrio, (3) fonte de alimentação, (4) termômetro, (5) coleta de amostra, (6) barra magnética, (7) sistema de resfriamento.

Para os experimentos de fotodegradação das cefalosporinas em efluente hospitalar, utilizou-se um reator em batelada, com capacidade para 1000 mL, acoplado à lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão de 125 W de potência. O sistema foi resfriado por meio de serpentina com água e gelo, empregando-se bomba dosadora pulsante. Foram introduzidos no reator 800 mL de amostras do efluente hospitalar filtrado em papel filtro com porosidade de 14  $\mu\text{m}$ . Não houve ajuste do pH com vistas a trabalhar-se com condições mais próximas às reais, ambientais. O tempo de tratamento foi de 60 min.

### 3.9 Descrição do sistema de eletrocoagulação

As condições experimentais, foram de acordo com planejamento fatorial efetuado na dissertação de mestrado<sup>15,16</sup>, onde trabalhou-se com efluente têxtil e determinou-se uma concentração de aproximadamente 20 mg L<sup>-1</sup> de NP9EO no efluente. Devido a isto, as concentrações escolhidas de surfactante foram de 20 e 40 mg L<sup>-1</sup> em volume de 500 mL. Empregaram-se eletrodos de alumínio com área imersa de 24 cm<sup>2</sup> e distância entre eles de 3,5 cm. A concentração de cloreto de sódio (eletrólito) foi de 2800 mg L<sup>-1</sup> e, a corrente, de 1,5 A. O tempo reacional foi 30 min. Foram retiradas alíquotas de 10 mL no início e durante o processo, em

intervalos de 5 minutos. As alíquotas foram filtradas e, o pH, ajustado para 5 com HCl ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) para posterior determinação. Na Figura 17 pode-se ver a representação do sistema utilizado para os ensaios de eletrocoagulação. Empregou-se reator em batelada, com agitação magnética e aquecimento. Foram acoplados eletrodos de alumínio de dimensões descrita no item 3.1.1. Utilizou-se um amperímetro para o acompanhamento e ajuste da corrente durante o decurso do processo. Um sistema de resfriamento foi empregado para manter a temperatura constante durante os experimentos.

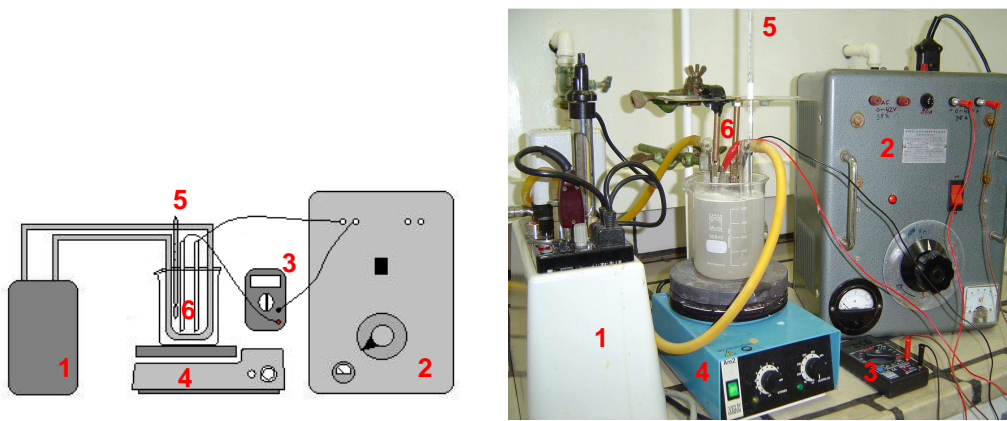


Figura 17 - Esquema e fotografia do sistema de eletrocoagulação: (1) sistema de resfriamento, (2) fonte geradora, (3) amperímetro, (4) agitador magnético, (5) termômetro, (6) eletrodos.

### 3.10 Estudo da biodegradabilidade

#### 3.10.1 *Closed Bottle Test* (CBT)

O CBT foi feito segundo teste padrão guia OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) 301D<sup>68,76</sup>, no escuro, à temperatura de  $20 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , como descrito em detalhes por **Kümmerer et al.**<sup>77</sup>. O período padrão do CBT é 28 d. Cada teste consiste de quatro diferentes séries: controle de qualidade (acetato de sódio, correspondente a um valor de oxigênio teórico dissolvido,  $\text{ThOD} = 5 \text{ mg L}^{-1}$ ), amostra em branco, amostras do fotoprocesso e controle de toxicidade (amostras do fotoprocesso e acetato de sódio). Os experimentos foram realizados em duplicata. Todos os frascos foram inoculados com uma alíquota de efluente final de uma estação de tratamento de efluentes (ETE) não impactada por efluentes hospitalares.

A fim de alcançar condições adequadas de ThOD para o CBT, os experimentos de fotoprocesso foram realizados utilizando-se soluções de cefazolina e ceftazidima de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  e as alíquotas foram retiradas nos tempos 0, 1, 3 e 60 min, coletando-se um volume de 800 mL. Devido ao grande volume utilizado, foi necessário fazer um experimento para cada tempo de fotólise. Também houve necessidade de saturar-se com ar a solução dos medicamentos trabalhados após o fotoprocesso. Com isto visou-se a obtenção de concentrações adequadas de oxigênio para o CBT. Amostras tomadas após 0, 1, 3 e 60 min foram submetidas ao CBT e monitoradas em diferentes dias (0, 1, 7, 14 e 28) do processo. Um composto teste é classificado como “prontamente biodegradável” se a biodegradabilidade expressa como percentagem de oxigênio consumido no recipiente exceder 60% do consumo máximo teórico, num período de 10 dias, depois de ter alcançado 10% do consumo teórico de oxigênio<sup>78</sup>.

### 3.10.2 Teste respirométrico manométrico

Como a concentração de NP9EO nos experimentos de electrocoagulação foram  $40 \text{ mg L}^{-1}$ , utilizou-se o teste respirométrico manométrico devido a possibilidade de faixa de concentração maior.

O teste respirométrico manométrico foi conduzido de acordo com o guia OECD (301 F)<sup>65</sup> e avalia a biodegradabilidade de uma substância através de microorganismos existentes na água, por meio do consumo de oxigênio<sup>79</sup>. Este consumo é medido através de sensores (Figura 18). Devido à atividade microbiológica, o oxigênio é consumido da fase gasosa através de reações dentro do frasco, hermeticamente fechado, enquanto que o dióxido de carbono liberado é absorvido por KOH em um pequeno tubo e o resultado da redução da pressão de ar dentro do sistema é medido, podendo-se então calcular diretamente a demanda bioquímica de oxigênio (DBO)<sup>80</sup>.

Amostras de NP9EO contendo  $40 \text{ mg L}^{-1}$ , antes e após 30 min de electrocoagulação, em duplicata, foram submetidas ao teste. O volume empregado em cada frasco foi de 432 mL. Assim como no CBT (seção 3.10.1), o ensaio é feito no escuro, num período de 28 dias. Cada teste consiste de 5 diferentes séries, controle de qualidade (acetato de sódio correspondente a um valor de ThOD de 50 a



100 mg L<sup>-1</sup> e inóculo), amostra em branco (somente inóculo), amostras teste e inóculo, controle de toxicidade (amostras teste, acetato de sódio e inóculo) e controle abiótico estéril (amostras teste e agente esterilizante). O inóculo consiste de uma alíquota de efluente final de uma ETE não impactada por efluentes hospitalares. Como o pH ao final da eletrocoagulação é básico, houve necessidade de ajuste do pH das amostras para 7, além da etapa de filtração. A forma de apresentação dos resultados é a mesma do CBT ou seja, um composto teste é considerado como “prontamente biodegradável”, se a biodegradabilidade, expressa como percentagem de oxigênio consumido no recipiente, exceder 60% do consumo máximo teórico num período de 10 dias, depois de alcançar 10% do consumo teórico de oxigênio<sup>70</sup>.



Figura 18 - Frascos com sensores utilizados no teste respirométrico manométrico.

### 3.11 Bioensaio para avaliação da toxicidade

A toxicidade é uma propriedade que reflete o potencial de uma substância em causar efeito danoso a um organismo vivo<sup>81</sup>. Com o intuito de verificar-se se a fotólise origina subprodutos de degradação mais tóxicos que os compostos originais, teste de luminescência com a cepa bacteriana *Vibrio fischeri* foi conduzido, utilizando-se o Lumistox LCK 482 (Dr. Lange GmbH). O presente teste avalia a toxicidade aguda e tem como objetivo estimar a concentração de um agente tóxico que seria capaz de produzir uma resposta específica mensurável no organismo teste *Vibrio fischeri* em um período de tempo curto (30 min). Os resultados foram expressos em CE<sub>10</sub> (concentração efetiva média) que significa a concentração de amostra que causa um efeito agudo a 10% dos organismos no tempo de exposição e nas condições do teste<sup>81</sup>. O pH das amostras foi ajustado com HCl (2 mol L<sup>-1</sup>) ou NaOH (6 mol L<sup>-1</sup>) para 6,8-7,5 e foi adicionado NaCl até a concentração final de 2%,

para sobrevivência das bactérias. As amostras contendo as soluções sintéticas da cefazolina e ceftazidima antes e após fotólise, em diluições específicas (Tabela 9) para o teste, foram colocadas no termobloco, atingindo a temperatura padrão de 15 °C. Como as bactérias estão liofilizadas, é necessária reativação com solução contendo cloreto de magnésio hexahidratado, cloreto de sódio e água, (0,5 mL) e espera de 15 min, no termobloco, para o alcance da temperatura ideal. Após este tempo, introduziu-se mais 12 mL de solução reativadora. Esta solução, contendo também as bactérias, foi adicionada nas cubetas (0,5 mL) já anteriormente dispostas no termobloco. Esperou-se 15 min, havendo então a medição no luminímetro e adição de 0,5 mL da amostra. Após 30 min fez-se a segunda medição. Os dados coletados foram analisados pelo software Excel<sup>®</sup> e os gráficos elaborados pelo programa R. É preciso acrescentar que foram coletadas amostras antes da fotólise e após as soluções terem sido submetidas ao fotoprocessamento nos tempos (0,1, 3, 5 e 60 min); além disso, foram fotolisadas soluções de cefazolina e ceftazidima com concentrações iniciais de 10, 50 e 1000 mg L<sup>-1</sup>.

Tabela 9 - Diluição das amostras de cefazolina e ceftazidima para o teste de toxicidade.

Testes	Concentrações de fármaco		
	(µg mL <sup>-1</sup> )		
1	10	50	1000
2	5	25	500
3	2,5	10	250
4	1	5	100
5	0,5	2,5	50
6	0,25	1	10
7	0,1	0,5	5
8	0,05	0,1	1

### **3.12 Carbono Orgânico Dissolvido (COD)**

O aparelho analisador de COT utiliza a oxidação catalítica à alta temperatura 680 °C. Volumes contendo 7 mL (em triplicata) foram coletados antes e durante o fotoprocessamento e introduzidos diretamente no analisador, assim como, os padrões de biftalato de potássio nas concentrações de 1, 5 e 10 mg L<sup>-1</sup> de COD; por meio de radiação infravermelha não dispersiva faz-se a análise, automaticamente.

## 4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 4.1 Fármacos

#### 4.1.1 Estabilidade dos fármacos

O objetivo dos testes de estabilidade segundo **Isla et al.**<sup>82</sup> é identificar e avaliar qualquer degradação significativa do analito quando submetido ao armazenamento a longo prazo e condições adversas.

De acordo com **Péhourcq & Jarry**<sup>83</sup>, cefalosporinas em solução são instáveis quando comparadas com outras drogas solúveis. A estabilidade é dependente de vários fatores, como temperatura e pH da solução. Por esta razão, foram feitos dois testes relativos à estabilidade dos compostos.

Com relação a temperatura foi verificado que, após 24 h, não existe decaimento do sinal cromatográfico de ambas as substâncias em todas as condições propostas. Este padrão foi também observado por **Isla et al.**<sup>82</sup> em testes de estabilidade com a ceftazidima em soluções de plasma. Após 5 dias, à temperatura ambiente, na ausência e presença de luz, observa-se uma degradação de 7% para a cefazolina e de 19% para a ceftazidima. Mas, a 4 °C, ambos os compostos não apresentam decaimento.

Ao término de 30 dias foi verificada degradação de 36 e 64% para a cefazolina e ceftazidima, respectivamente, à temperatura ambiente. Também foi observado que não há interferência da luz na degradação das substâncias estudadas e que as mesmas permanecem sem alteração após 20 dias, a 4 °C. **Isla et al.**<sup>82</sup> verificaram resultados semelhantes para duas cefalosporinas (ceftazidima e cefepima), armazenadas a -20 e -80 °C por um período de até 60 dias.

Como os experimentos de fotólise foram feitos em pH 4, 7 e 9, e o pH do efluente do HUSM se encontra na faixa de 6-7, um teste com diferentes pH foi elaborado para avaliar a estabilidade da cefazolina e da ceftazidima, após 24 h. Com relação ao teste para a ceftazidima (Figura 19a) pode-se observar que este composto é relativamente estável até o pH 9. Acima deste pH, os picos apresentam deformidades e são bastante reduzidos, tanto quando na verificação do espectro de massas como dos cromatogramas. Após 24 h, constata-se uma pequena redução

dos picos para os ensaios conduzidos em pH entre 3 a 9. Acima de pH 9 observa-se um decaimento acentuado do pico, além da formação de outros picos. O comportamento da cefazolina foi bastante semelhante. Em pH 11 tem-se uma redução significativa do pico de  $m/z$  455, que corresponde a massa principal da cefazolina, sendo acompanhado pelo surgimento de novos picos, indicando uma possível degradação. Após 24 horas de teste, verifica-se redução acima de 80% para os ensaios conduzidos com pH > 10 (Figura 19b).

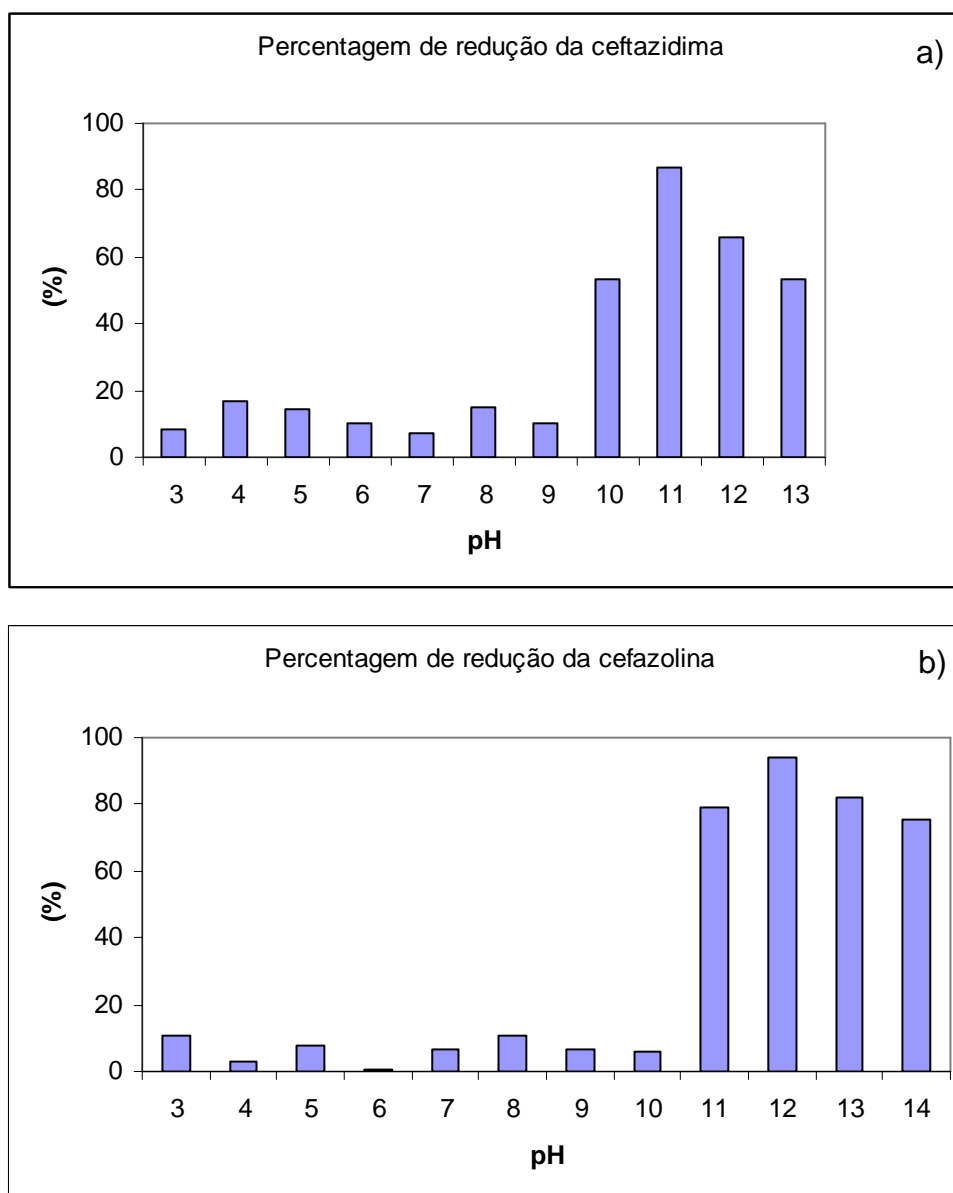


Figura 19 - Teste de estabilidade, percentagem de redução da concentração da ceftazidima (a) e da cefazolina (b) em solução sintética ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) em diferentes pH, após 24 h.

#### 4.1.2 Extração em Fase Sólida

A recuperação da substância ceftazidima foi de 92,7% utilizando-se cartuchos C18 e, de 90,1%, com cartuchos X-CW (Tabela 10). **Hanes et al.**<sup>84</sup> também obtiveram recuperações significativas com C18 para este mesmo composto quando testaram amostras de plasma humano fortificadas com ceftazidima.

Para a cefazolina (Tabela 10), as recuperações observadas foram de 94,9% empregando-se cartucho C18 e, de 101,9% com cartucho X-CW. **Sørensen & Snor**<sup>85</sup> pesquisaram a determinação de algumas cefalosporinas em leite bovino, dentre elas, a cefazolina. Para isso, utilizaram SPE e cartucho C18, que concluíram ser, dentre muitos testados, o de melhor recuperação.

Mesmo não havendo diferenças significativas entre as fases, utilizou-se cartucho C18 para a ceftazidima e, X-CW, para a cefazolina.

Tabela 10 - Resultados de recuperação das substâncias Cefazolina e Ceftazidima utilizando-se os cartuchos C18 e X-CW.

	Recuperação C18 (%)	RSD (%)	Recuperação X-CW (%)	RSD (%)
Ceftazidima	92,7	2,7	90,1	1,0
Cefazolina	94,9	2,5	101,9	1,6

n = 3

As Figuras 20-a e 20-b, apresentam os cromatogramas dos extratos de efluente hospitalar contaminados com os compostos (cefazolina e ceftazidima) após extração em X-CW e C18.

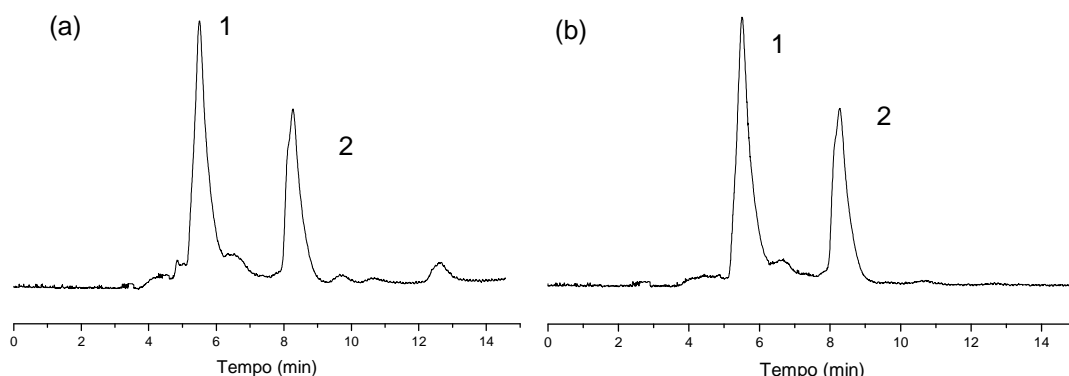


Figura 20 - Cromatograma do efluente hospitalar com a adição de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  dos compostos ceftazidima (1) e cefazolina (2). (a) após a passagem por cartucho catiônico X-CW. (b) após a passagem por cartucho C18. Vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $\lambda = 258 \text{ nm}$ . Fase móvel acetoneitrila:ácido fórmico 0,1% (60:40) v/v, modo isocrático, volume da alça de amostragem  $20 \mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18, procedimento 2 (seção 3.6.1.2).

#### 4.1.3 Determinação dos fármacos

A Tabela 11 identifica os principais parâmetros para a determinação dos compostos por HPLC. O coeficiente de determinação obtido para a curva de calibração foi adequado, com  $r^2 > 0,999$ . A metodologia adotada para a determinação do limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foi a da razão sinal / ruído igual a 3 e 10 vezes, respectivamente. Os valores encontrados para a ceftazidima foram  $0,12 \text{ mg L}^{-1}$  (LD) e  $0,4 \text{ mg L}^{-1}$  (LQ), enquanto que, para a cefazolina, foram  $0,35 \text{ mg L}^{-1}$  (LD) e  $1,2 \text{ mg L}^{-1}$  (LQ). O tempo de retenção (tR) identificado para a ceftazidima foi de 7,0 a 7,4 min e de 8,7 a 9,0 min para a cefazolina. Na Figura 21, observa-se o cromatograma com ambos os compostos determinados através de HPLC-UV.

Tabela 11 - Parâmetros de validação na determinação da cefazolina e da ceftazidima

	$r^2$	tR (min)	Equação da reta	LD ( $\text{mg L}^{-1}$ )	LQ ( $\text{mg L}^{-1}$ )
Ceftazidima	0,999	7-7,4	$y = 490678x - 131,19$	0,12	0,4
Cefazolina	0,999	8,7-9	$y = 221427x - 13140$	0,35	1,2

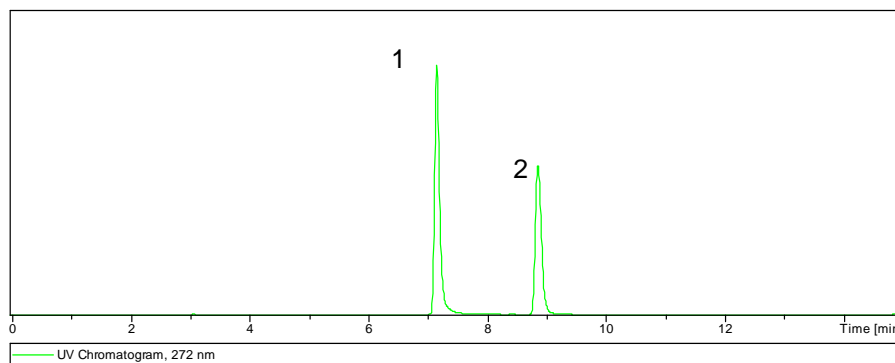


Figura 21 - Cromatograma dos fármacos ceftazidima (1) e cefazolina (2). Condições: Concentração dos compostos  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $\lambda = 258 \text{ nm}$  (ceftazidima) e  $\lambda = 272 \text{ nm}$  (cefazolina), fase móvel acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (90:10) v/v, volume da alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18, gradiente segundo procedimento 1 (seção 3.6.1.1).

Niessen<sup>86</sup> destacou a importância do LC-MS, em especial, com ionização por eletrospray (ESI) e ionização química à pressão atmosférica (APCI), em pesquisa na área farmacêutica, para a identificação de novos produtos, na busca de impurezas em produtos sintéticos e formulações, na caracterização de metabólitos, bem como, na análise quantitativa em amostras biológicas.

A Figura 22a apresenta o espectro de massas da substância cefazolina. Verifica-se, um sinal principal de  $m/z$  455,2 e outro secundário de  $m/z$  323,2, no modo positivo, assim como foi observado por Tuerk *et al.*<sup>73</sup> na determinação de antibióticos, como a cefazolina em urina e outras amostras. Acredita-se que ocorre a perda do anel tiadiazol sulfanil metílico, originando-se o fragmento de  $m/z$  323,2.

No espectro de massa apresentado na Figura 22b observam-se as massas da cefazolina no modo negativo do LC-MS. Pode-se verificar as massas de razão  $m/z$  907,6, 321,2, 251, 207 e 166,9. A massa de razão  $m/z$  907,6 foi vinculada a um dímero do composto, ou seja, a união de duas moléculas da cefazolina. Para o fragmento  $m/z$  321,2 a perda do anel tiadiazol-sulfanil-metil pode ser uma possibilidade, como foi visto, também, para o fragmento no modo positivo de razão  $m/z$  323,2. Supõe-se que, após a clivagem do anel beta-lactâmico da estrutura de razão  $m/z$  323,2 (modo positivo), a perda de uma molécula de dióxido de carbono e possível rearranjo, pode-se formar o fragmento de razão  $m/z$  251. Farina *et al.*<sup>87</sup> estudando a estabilidade de soluções de ceftazidima propuseram a clivagem do anel beta-lactâmico, juntamente com processos de epimerização e isomerização. Como as estruturas das cefalosporinas possuem a mesma estrutura básica, foi proposto



neste trabalho, que a cefazolina poderia apresentar o mesmo comportamento.

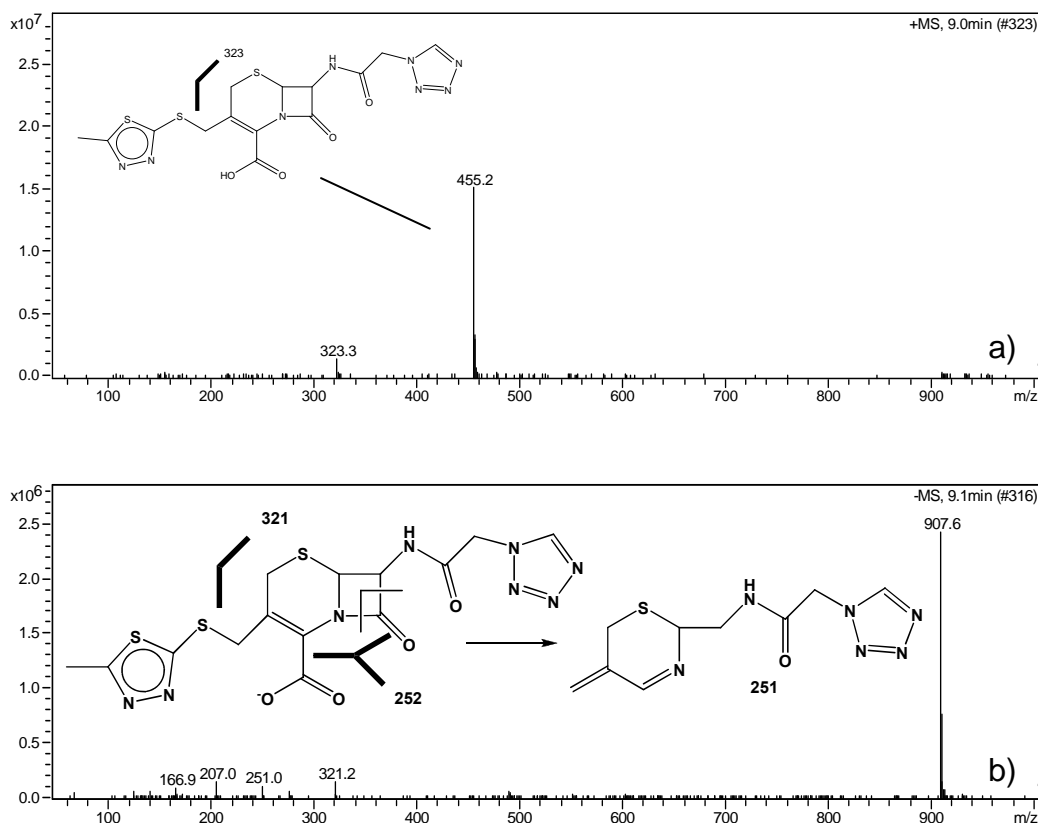


Figura 22 - Espectro de massas da cefazolina no modo positivo (a) e no modo negativo (b). Condições: Concentração do composto  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ , fase móvel acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (90:10) v/v, volume da alça de amostragem  $50 \mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18, gradiente segundo procedimento 1 (seção 3.6.1.1).

Na Figura 23a encontram-se a massa principal ( $m/z$  547,3) e, secundárias ( $m/z$  468,3, 396,2 e 274,3) da ceftazidima, determinadas no modo positivo do LC-MS. A formação do fragmento  $m/z$  274 pode ser relacionada à clivagem da ligação no carbono próximo ao anel  $\beta$ -lactâmico da molécula de ceftazidima. Provavelmente, ocorre a perda de piridina ( $m/z$  80) com formação do fragmento 468,3, seguida de abertura do anel  $\beta$ -lactâmico e perda de dióxido de carbono para dar origem ao fragmento de  $m/z$  396,2, que, segundo **Farina et al.**<sup>87</sup>, pode sofrer rearranjo.

O espectro de massa da ceftazidima no modo negativo, bem como de seus fragmentos, podem ser observados na Figura 23b. Os fragmentos relacionados às razões  $m/z$  501,3 e  $m/z$  422,3, possivelmente, são devidos à perda de uma molécula

de dióxido de carbono apenas ( $m/z$  501), que pode ser a precursora da estrutura seguinte de  $m/z$  422.3, onde ocorre a perda de uma piridina.

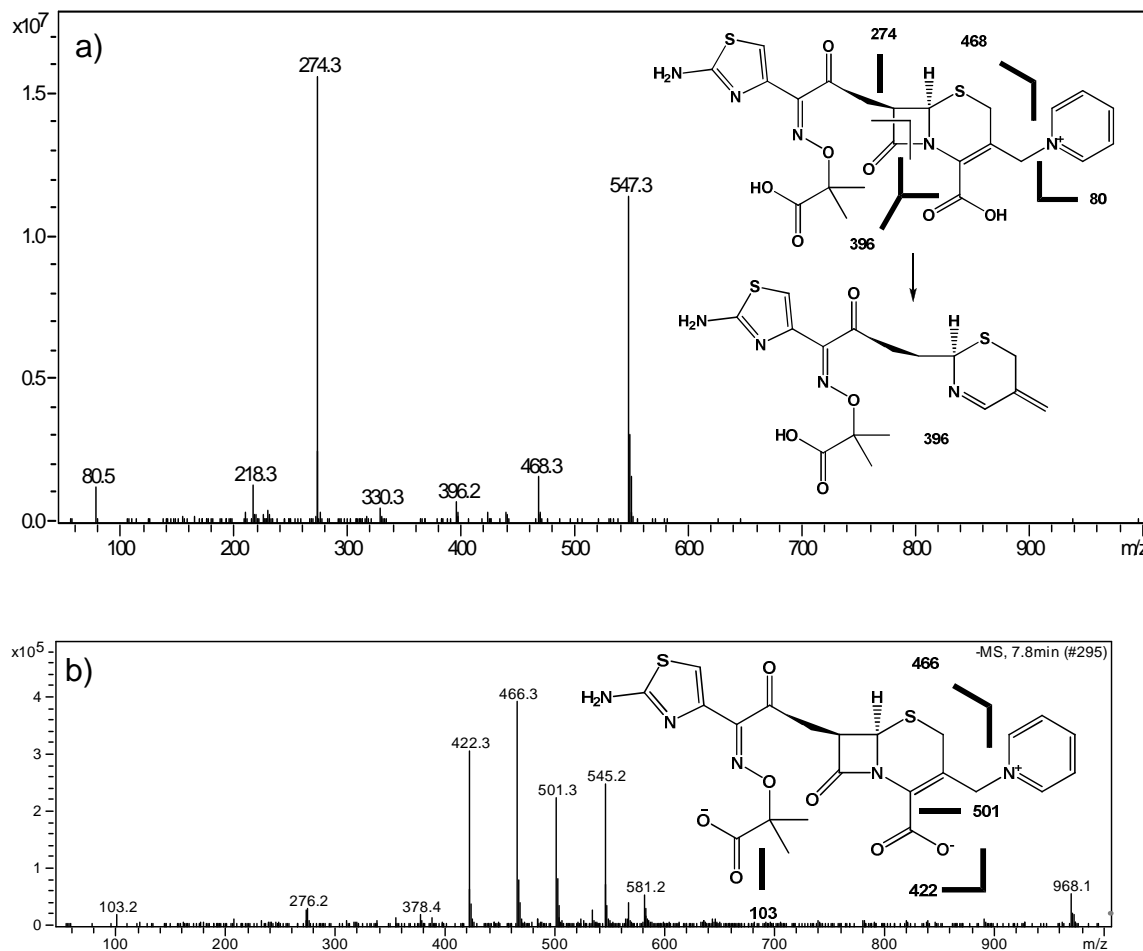


Figura 23 - Espectro de massa da ceftazidima em modo positivo (a) e modo negativo (b). Condições: Concentração do composto  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ , fase móvel ACN e ácido fórmico 0,1% (90:10) v/v, volume da alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18 Nuclodur, gradiente segundo procedimento 1 (seção 3.6.1.1).

Não foi possível a determinação das cefalosporinas em efluente hospitalar. Muitos autores citam a dificuldade de se encontrar tais substâncias em efluentes complexos devido a facilidade de hidrólise que fármacos com anéis  $\beta$ -lactâmicos possuem<sup>30,32,33</sup>. Uma série de experimentos foi feito com a intenção de verificar os metabólitos ou os produtos de hidrólise da cefazolina e ceftazidima no efluente do HUSM. Verificou-se algumas massas relativas aos compostos iniciais, porém, devido a complexidade da matriz, uma pesquisa mais aprofundada precisa ser feita.

O estudo foi elaborado para prever as massas relacionadas aos compostos (cefazolina e ceftazidima) já hidrolisados, que poderiam estar no efluente hospitalar. Por meio da técnica de Precursor Ion (PI), seguido de Enhanced Product ion (EPI), fez-se a fragmentação das prováveis massas existentes e encontrou-se alguma evidência que, outras espécies, originadas a partir das cefalosporinas (cefazolina e ceftazidima), possam estar presente no efluente hospitalar. Neste experimento obteve-se a  $m/z$  354 no modo negativo (Figura 24). Esta massa poderia estar relacionada à cefazolina e formaria-se-ia a partir da perda do anel tiadiazol-sulfanil-metilico. Esta molécula poderia, então, se hidrolizar, abrindo-se o anel  $\beta$ -lactâmico e originando a  $m/z$  242, que, após perda de monóxido de carbono poderia formar a  $m/z$  183.

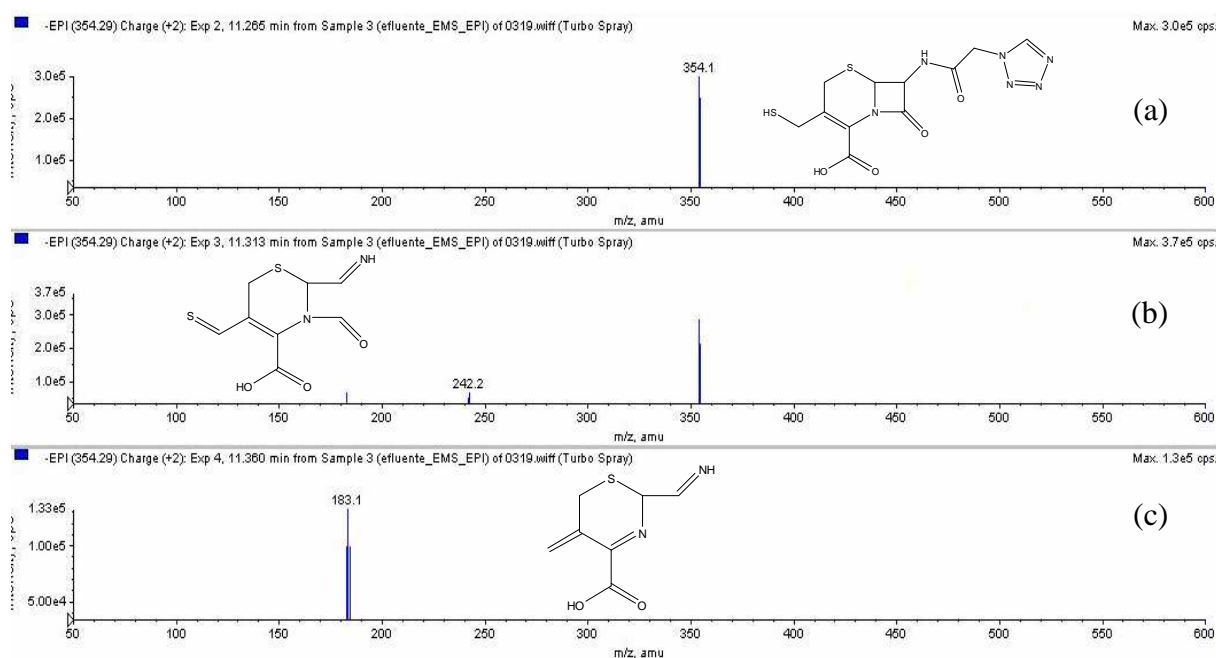


Figura 24 - Experimento de IDA com Precursor Ion  $m/z$  354 seguido de Enhanced Product Ion. (a) Espectro de massas Enhanced Product Ion, energia de colisão de 20 V. (b) Espectro de massas Enhanced Product Ion, energia de colisão de 35 V (c) Espectro de massas Enhanced Product Ion, energia de colisão de 50 V, procedimento 3 (seção 3.6.1.3).

O pico de  $m/z$  185 no modo positivo, também foi fragmentado através da técnica de Precursor Ion (PI), seguido de Enhanced Product Ion (EPI), e obteve-se o espectro da Figura 25. A partir da estrutura formada anteriormente, relacionada a cefazolina, a perda de uma molécula de dióxido de carbono poderia ocorrer,

originando a  $m/z$  141, que, através da quebra da ligação do carbono próximo ao nitrogênio poderia formar a  $m/z$  113.

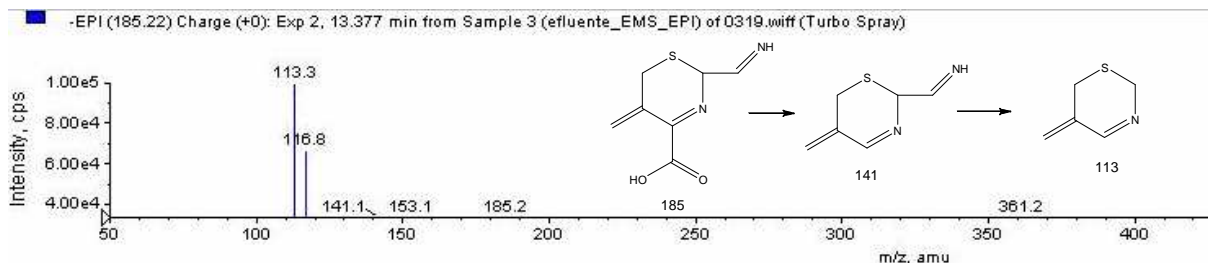


Figura 25 - Experimento de IDA com Precursor Ion  $m/z$  185 seguido de Enhanced Product Ion. Espectro de massas Enhanced Product Ion, energia de colisão de 20 V, procedimento 3 (seção 3.6.1.3).

O composto que origina o fragmento de  $m/z$  329, pode ter sido formado, primeiramente, pela hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico da ceftazidima, seguido da perda das moléculas de amino tiazol, metil piridina e dióxido de carbono. Este composto de  $m/z$  329 foi fragmentado obtendo-se os picos de  $m/z$  239 e 180. A estrutura de pico de  $m/z$  239 pode ter sido formada através da perda de duas moléculas de dióxido de carbono e rearranjo da molécula, enquanto que a molécula de pico  $m/z$  180 pode ter se originado pela clivagem da ligação entre o nitrogênio e o oxigênio do composto, como é demonstrado na Figura 26.

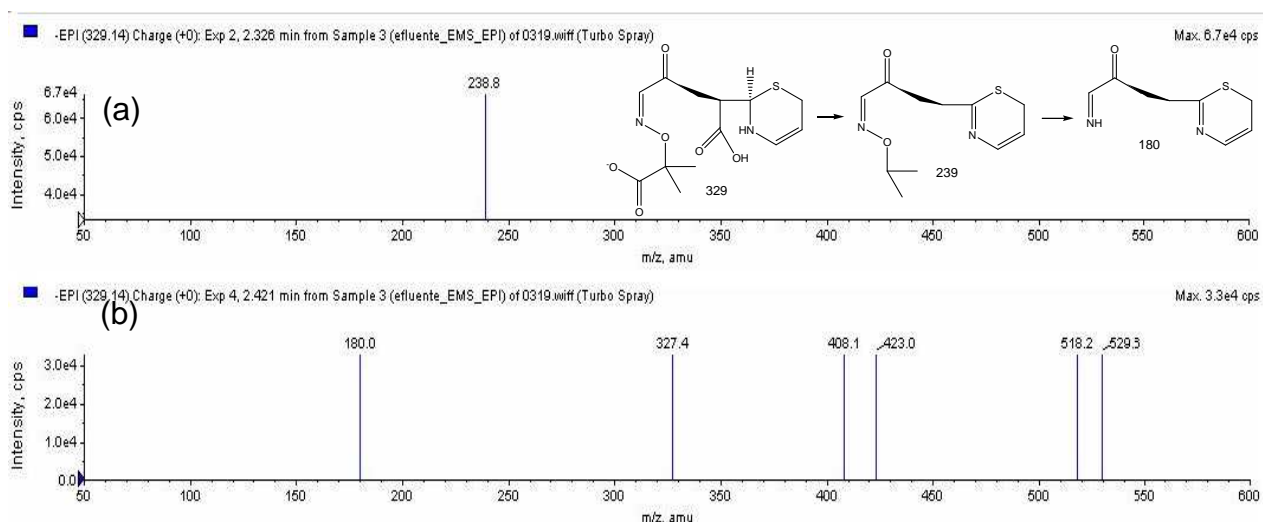


Figura 26 - Experimento de IDA com Precursor Ion  $m/z$  329 seguido de Enhanced Product Ion. (a) Espectro de massas Enhanced Product Ion, energia de colisão de 20 V. (b) Espectro de massas Enhanced Product Ion, procedimento 3, energia de colisão de 35 V (seção 3.6.1.3).

Os espectros de massas mostram apenas dados de uma pesquisa inicial no tema abordado, mas, diante destas possibilidades, pesquisa mais aprofundada com relação aos produtos de transformação dos compostos cefazolina e ceftazidima deve ser futuramente elaborada.

#### 4.1.4 Fotodegradação dos fármacos em solução sintética

Na Figura 27 encontram-se dados de degradação dos compostos cefazolina e ceftazidima após fotólise com radiação UV, bem como a cinética de reação. Verifica-se o rápido decaimento da concentração de ambos os fármacos. Em 30 s de irradiação obteve-se quase que completa degradação da cefazolina (90%) e, em 60 s, alcançou-se 93% de degradação para a ceftazidima, ambas em pH 7. Pode-se observar na Figura 27-a que não houve mudança significativa no comportamento da degradação da cefazolina quando os experimentos foram feitos em diferentes pH. Para a ceftazidima nota-se degradação levemente mais rápida em pH 7 e 9 do que em pH 4. **Jiao et al.**<sup>88</sup> também verificaram aumento na degradação do antibiótico tetraciclina por fotólise, em pH mais elevado que pH 4. Os autores explicam este comportamento devido ao caráter anfotérico do fármaco, que em virtude da desprotonação em pH mais elevado se torna mais instável, provocando deslocamento de seu comprimento de onda de absorção. Ainda de acordo com os autores, moléculas carregadas negativamente tendem a atrair espécies reativas, como o radical hidroxil ( $\cdot\text{OH}$ ), devido à alta densidade eletrônica no sistema do anel, o que facilitaria a fotólise da tetraciclina. O pKa da cefazolina é 2,1, enquanto a ceftazidima possui pKa de 1,9, 2,7 e 4,1, podendo assim, ocorrer também desprotonação da ceftazidima e maior instabilidade da molécula, em pH maior que 4. Por outro lado, **Edlund et al.**<sup>89</sup> verificaram a não dependência do pH na degradação do antibiótico nitrofurano por meio de fotólise.

Quando mediu-se o pH, após a fotólise da cefazolina e ceftazidima, verificou-se, em todos os pH trabalhados, diminuição do pH no decurso do processo, para ambas as cefalosporinas. **Crucq et al.**<sup>90</sup> estudando a radiólise da cefazolina também observaram esta característica do composto e atribuíram este comportamento à formação de ácidos carboxílicos.

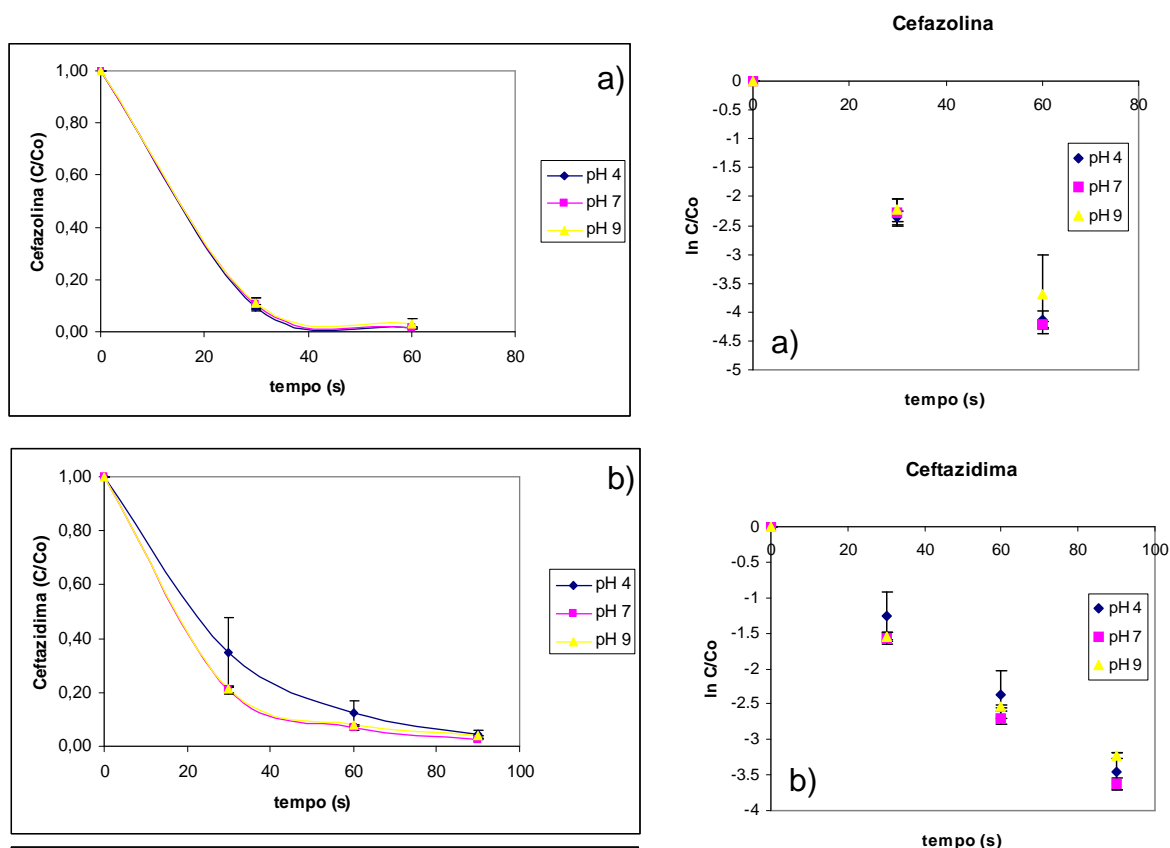


Figura 27 - Processo fotoinduzido de degradação da cefazolina e ceftazidima em solução sintética. a) decaimento da concentração da cefazolina e decaimento de 1º ordem; b) decaimento da concentração de ceftazidima e decaimento de 1º ordem. Condições: fotorreator, em batelada (800 mL); 20-22 °C; 10 mg L<sup>-1</sup>.

O decaimento das cefalosporinas, demonstrou ser de primeira ordem (Figura 27), sendo que a constante de velocidade de reação (*k*) foi determinada a partir da lei de cinética de primeira ordem, para o consumo de um reagente, no caso, as cefalosporinas, aqui denominadas como CFT, com o intuito de facilitar na demonstração do cálculo,

$$\frac{d[CFT]}{dt} = -k[CFT] \tag{1}$$

Onde [CFT] é a concentração de ceftazidima ou cefazolina,  $t$  é o tempo de reação de fotodegradação e  $k$  é a constante de velocidade de reação. A equação 1 pode ser independentemente integrada entre os limites  $t_0([CFT]_0)$  e  $t([CFT])$ , como segue:

$$\int_{[CFT]_0}^{[CFT]} \frac{d[CFT]}{[CFT]} = -k \int_0^t dt \quad (2)$$

A partir daí, obtém-se:

$$\ln\left(\frac{[CFT]}{[CFT]_0}\right) = -kt \quad [CFT] = [CFT]_0 e^{-kt} \quad (3)$$

O tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) foi calculado, considerando-se  $[CFT] = \frac{1}{2} [CFT]_0$ , na equação 2, como resultado obtém-se a equação 4.

$$t_{1/2} = \ln \frac{2}{k} \quad (4)$$

Os resultados da Tabela 12, indicam que a cinética da fotodegradação com radiação UV para ambos os compostos, em solução sintética, estão de acordo com reação de primeira ordem. Este modelo cinético também foi verificado por **Vione et al.**<sup>91</sup> em seu estudo sobre a fototransformação de dois antibióticos (roxitromicina e claritromicina) em águas superficiais. A fotólise da tetraciclina em solução aquosa, estudada por **Jiao et al.**<sup>88</sup>, em diferentes pH, também demonstrou cinética de primeira ordem.

Tabela 12 - Análise cinética da fotodegradação para cefazolina e ceftazidima em solução sintética

	cefazolina			ceftazidima		
	pH 4	pH 7	pH 9	pH 4	pH 7	pH 9
$k$ (s <sup>-1</sup> )	0,071	0,071	0,064	0,037	0,042	0,039
$t_{1/2}$ (s)	9,76	9,76	10,83	18,73	16,50	17,77
$r^2$	0,9914	0,9973	0,9825	0,9917	0,9797	0,9545

Nos cromatogramas das Figuras 28 e 29, pode-se visualizar melhor a rápida degradação dos dois compostos estudados.

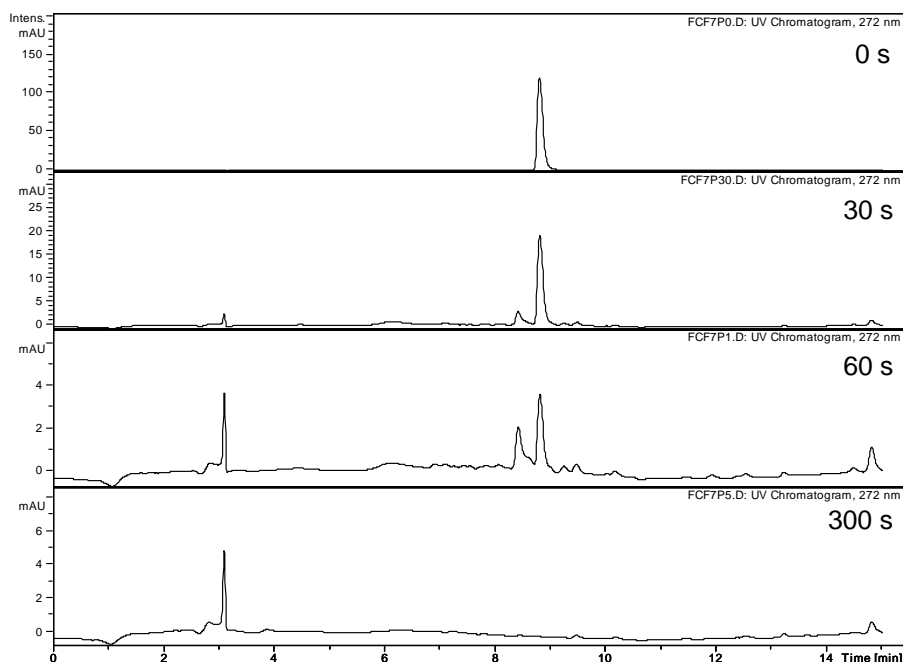


Figura 28 - Cromatograma da fotodegradação da cefazolina em solução sintética e pH 7, volume 800 mL, nos tempos 0, 30, 60 e 300 s. Condições: vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $\lambda = 272 \text{ nm}$ , fase móvel acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (90:10) v/v, volume da alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18, gradiente segundo procedimento 1 (seção 3.6.1.1).

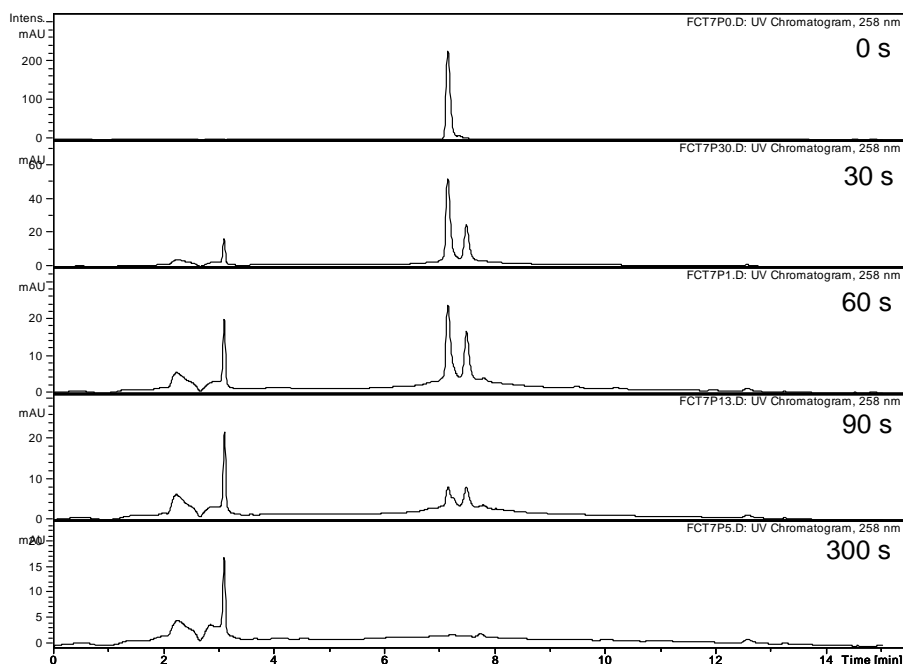


Figura 29 - Cromatograma da fotodegradação da ceftazidima em solução sintética, pH 7, volume de 800 mL, nos tempos 0, 30, 60, 90 e 300 s. Condições: vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $\lambda = 258 \text{ nm}$ , fase móvel acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (90:10) v/v, volume da alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18, gradiente segundo procedimento 1 (seção 3.6.1.1).



Os resultados obtidos para a degradação das duas substâncias não estão em acordo com o decaimento do carbono orgânico dissolvido (COD). Nota-se nos gráficos da Figura 30, que somente após 1 hora de fotólise tem-se um abatimento do COD de 76% para a ceftazidima e de 72% para a cefazolina, em pH 4. Esse comportamento pode ser atribuído à formação de subprodutos durante o fotoprocesso. **Doll et al.**<sup>40</sup>, promovendo a fotólise do metabólito ácido clofíbrico, também observaram a não mineralização do composto empregando-se somente este processo. Os autores verificaram a formação de intermediários de reação como a hidroquinona, a *p*-benzoquinona, fenol e 4-clorofenol.

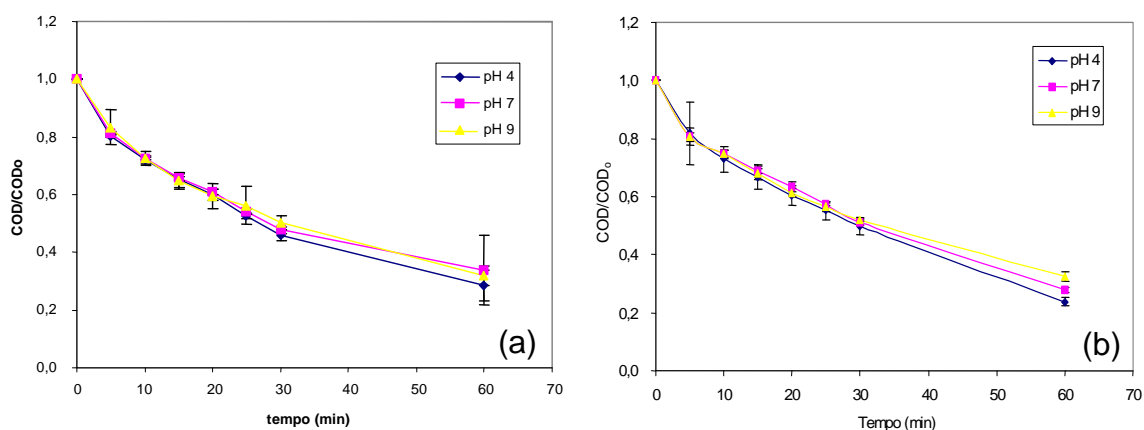


Figura 30 - Decaimento do COD para cefazolina (a) e ceftazidima (b), em solução sintética, contendo inicialmente  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , nos pH 4, 7 e 9, durante 60 min de fotodegradação, volume 800 mL.

A identificação de produtos de transformação e a elucidação de caminhos da reação de fotólise são de importância crucial para entender-se seu destino no ambiente aquático. Entretanto, isto é complicado e difícil, tendo em vista que fármacos são compostos normalmente polares, que contém grupos funcionais ácidos e/ou básicos (ácidos carboxílicos, fenóis e aminas), que podem ser submetidos a fótólise direta e indireta. O resultado pode ser uma complexa mistura de intermediários e produtos de transformação<sup>92</sup>.

Para comprovar a suspeita de origem de subprodutos desconhecidos, de degradação da cefazolina e ceftazidima, por meio de fotólise, o sistema LC-MS foi empregado. Na Figura 31-a e 31-b pode-se observar o decaimento total do pico  $m/z$  455 e 547, correspondente à cefazolina e ceftazidima, respectivamente.

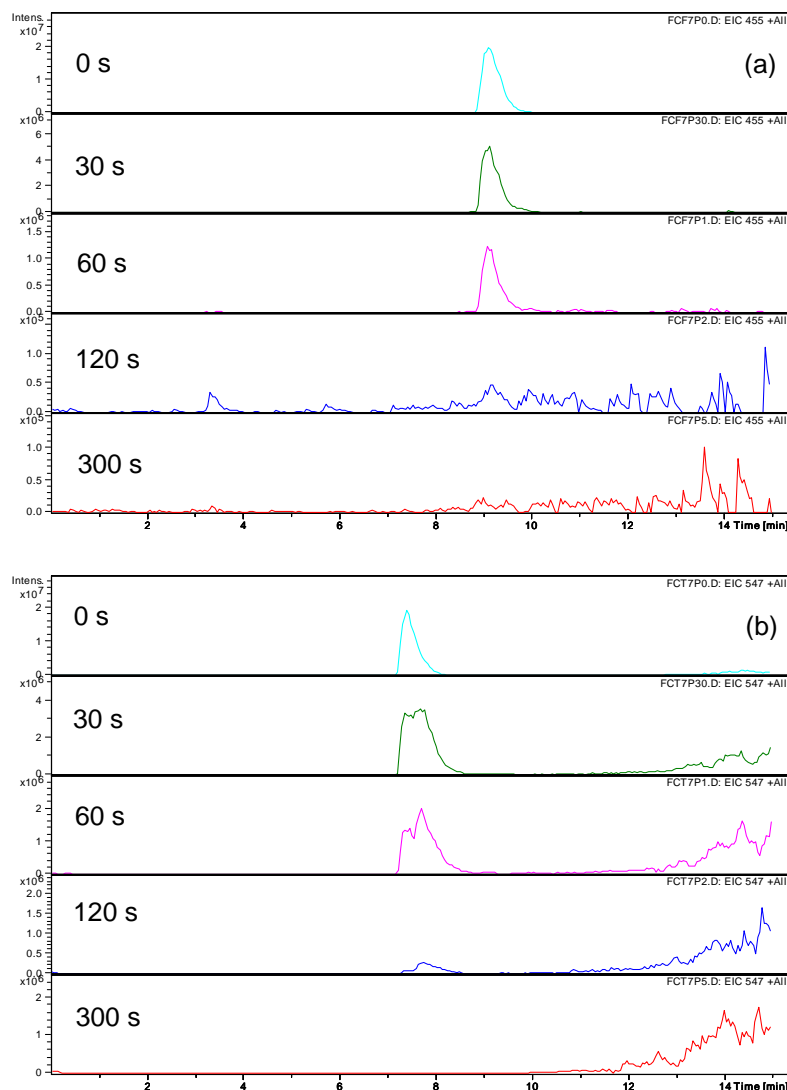


Figura 31 - Cromatograma da fotólise da (a) cefazolina ( $m/z$  455) e (b) ceftazidima ( $m/z$  547). Condições Fotólise: Concentração dos fármacos de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $V = 800 \text{ mL}$ ,  $\text{pH } 7$ . Condições cromatográficas: vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ , fase móvel acetonitrila e ácido fórmico  $0,1\%$  (90:10) v/v, volume da alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18, gradiente segundo procedimento 1 (seção 3.6.1.1).

**Crucq et al.**<sup>90</sup> submeteram a cefazolina à radiação ionizante, com o objetivo de esterilização da solução. Os autores observaram a formação de uma série de subprodutos, incluindo o ácido 7-aminocefalosporânico e o anel tiadiazol-sulfanil-metil. O ácido 7-aminocefalosporânico ( $m/z$  272), que é uma molécula comum a

todas as cefalosporinas, não foi identificado, tanto na fotólise da cefazolina quanto da ceftazidima. O pico de  $m/z$  130, correspondente ao anel tiadiazol-sulfanil-metil, que compõem a molécula da cefazolina, não foi observado após a sua fotólise.

No entanto, foi identificado o pico de  $m/z$  185 (Figura 32), mesmo após uma hora de fotoprocesso, que (como foi proposto anteriormente -  $m/z$  183, modo negativo), poderia ser originado da perda do anel tiadiazol-sulfanil-metil, podendo então se hidrolizar, ocorrendo a abertura do anel  $\beta$ -lactâmico, que, após perda de monóxido de carbono, formaria a  $m/z$  185. Diante desta observação pode-se reafirmar a possibilidade da presença de produtos de biotransformação destes compostos no efluente, já que um dos caminhos de reação no meio ambiente seria a fotólise por ação da radiação solar.

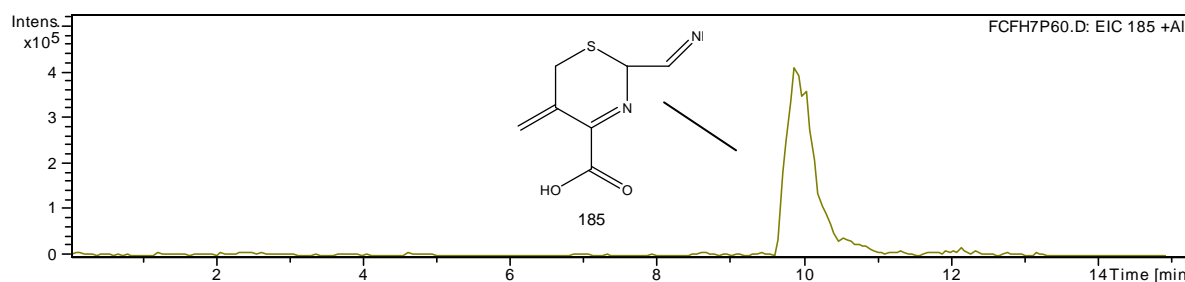


Figura 32 - Cromatograma do pico de  $m/z$  185 (modo positivo) da cefazolina após 60 min de fotólise. Condições fotólise: volume de 800 mL, concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>, pH 7. Condições cromatográficas: vazão 0,5 mL min<sup>-1</sup>, fase móvel acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (90:10) v/v, volume da alça de amostragem 100  $\mu$ L, coluna de fase reversa C18, gradiente segundo procedimento 1 (seção 3.6.1.1).

Para a substância ceftazidima foi observado um pico de  $m/z$  331 (no modo positivo), após 30 e 60 s de fotólise, o que também foi verificado no efluente hospitalar ( $m/z$  329, modo negativo). Este pico é observado na solução sintética numa concentração muito baixa de ceftazidima, antes do fotoprocesso. Como foi proposto anteriormente, a  $m/z$  331 (Figura 33) pode ter sido originada por meio de hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico da ceftazidima seguida da perda das frações de amino tiazol, metil-piridina e carboxila.

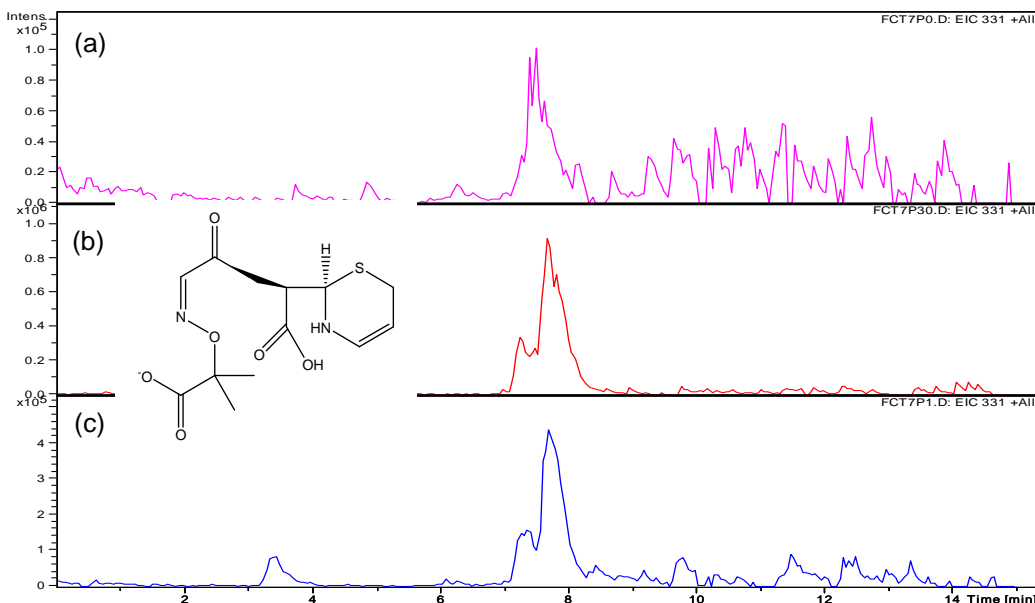


Figura 33 - Cromatograma do pico de  $m/z$  331 (modo positivo) da ceftazidima (a) 0 s de fotólise, (b) 30 s de fotólise e (c) 60 s de fotólise. Condições fotólise: volume de 800 mL, concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 7. Condições cromatográficas: vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ , fase móvel acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (90:10) v/v, volume da alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18, gradiente segundo procedimento 1 (seção 3.6.1.1).

#### 4.1.5 Fotodegradação dos fármacos em efluente hospitalar

Na Tabela 13 encontram-se os parâmetros físico-químicos de caracterização do efluente hospitalar coletado depois do sistema de tratamento, próximo ao PA-HUSM, onde foram feitas as determinações das cefalosporinas estudadas neste trabalho.

Tabela 13 - Caracterização química do efluente hospitalar coletado na fossa séptica do PA-HUSM<sup>7</sup>.

Parâmetros	Resultados*
DQO ( $\text{mg L}^{-1}$ )	540
pH	7,5
Potássio ( $\text{mg L}^{-1}$ )	21,9
Fosfato total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	8
Sódio ( $\text{mg L}^{-1}$ )	150,5
Sólidos totais a $105 \text{ }^\circ\text{C}$	484
Temperatura ( $^\circ\text{C}$ )	22
Cloretos ( $\text{mg L}^{-1}$ )	132

\* (n=3)

Apesar de não haver possibilidade de comparação em virtude do emprego de equipamentos diferentes, ambos os compostos não são tão rapidamente degradados em efluente hospitalar como em solução aquosa (Figura 34a). Houve uma redução de 96% de cefazolina e 99% de ceftazidima somente após 1 hora de fotoprocesso. Este comportamento pode ser explicado pela competição com outros compostos orgânicos existentes no efluente, que podem também absorver radiação UV. A Figura 34-b confirma esta afirmação. Verifica-se um abatimento de 3% da DQO com relação ao efluente contendo cefazolina e 10% de redução de DQO para o efluente contendo a ceftazidima, ou seja, quase não houve decaimento da DQO após 1 hora de tratamento. A existência de baixas concentrações de matéria orgânica natural pode influenciar tanto positivamente, aumentando a taxa de degradação fotoquímica - devido à formação de espécies ativas - quanto negativamente, quando em excesso, promovendo um decréscimo no rendimento da fotólise, devido ao efeito sequestrador de radicais<sup>40</sup>.

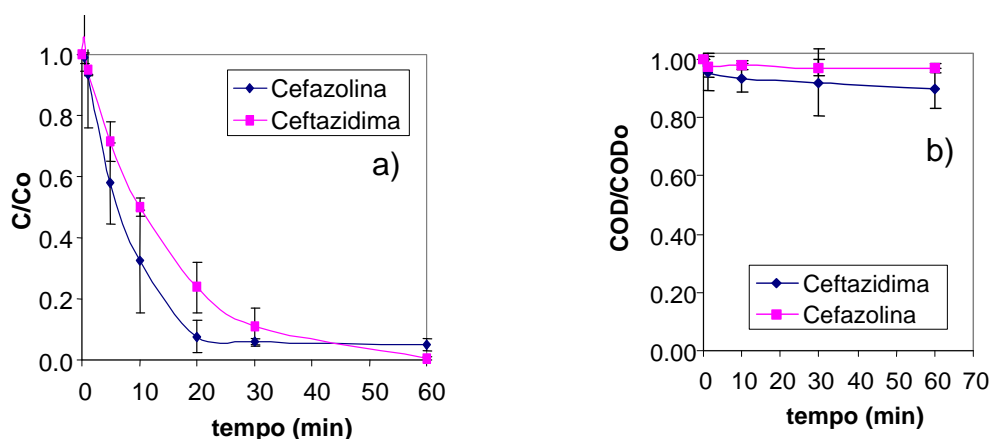


Figura 34 - Fotólise do efluente hospitalar. (a) decaimento da concentração de cefazolina e ceftazidima e (b) decaimento da DQO do efluente hospitalar fortificado com cefazolina e ceftazidima. Condições: Volume de 800 mL, concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , pH do efluente em torno de 7.

Nos cromatogramas da Figura 35-a e 35-b obtém-se melhor visualização da degradação fotolítica dos dois fármacos estudados, em efluente hospitalar.

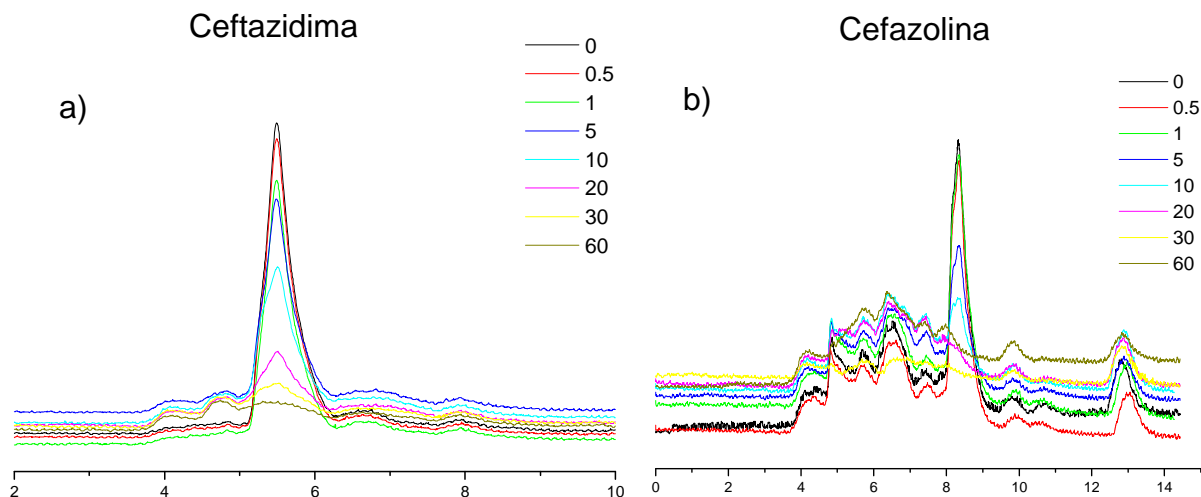


Figura 35 - Cromatogramas da fotólise de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de ceftazidima (a) e da cefazolina (b) em efluente hospitalar, durante 60 min. Condições da fotólise: volume de 800 mL, temperatura  $20\text{-}22 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , pH 7. Condições cromatográficas: vazão  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $\lambda = 258 \text{ nm}$ , fase móvel acetonitrila e ácido fórmico 0,1% (60:40) v/v, modo isocrático, volume da alça de amostragem  $20 \text{ }\mu\text{L}$ , coluna de fase reversa C18, procedimento 2 (seção 3.6.1.2).

#### 4.2.1 Toxicidade

Visto que fármacos são desenvolvidos para produzir um determinado efeito biológico, seus resíduos, metabólitos e produtos de degradação podem causar efeitos ecotoxicológicos no meio ambiente de difícil predção, especialmente em matrizes complexas<sup>93</sup>.

Os efeitos da toxicidade dos subprodutos de fotodegradação em diferentes pH, dos compostos cefazolina e ceftazidima, por meio de *Vibrio fischeri*, estão resumidos na Tabela 14.

Tabela 14 - Toxicidade das amostras de ceftazidima e cefazolina em solução aquosa expostas à fotólise

Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Tempo (min)	pH	Ceftazidima EC <sub>10</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	Cefazolina EC <sub>10</sub> (mg L <sup>-1</sup> )
10	0	7	2,45 x 10 <sup>12</sup>	9,04
10	60	7	363	9,85
50	0	4	3058,3	504,4
50	1	4	5,3	6,3
50	3	4	3,7	3,6
50	5	4	4,7	3
50	1	7	18,7	12,6
50	3	7	2,7	2,8
50	5	7	1,8	5,1
50	1	9	17,9	8,4
50	3	9	15	6,4
50	5	9	3,3	10,9
1000	0	7	2894,4	492
1000	1	4	124,3	194
1000	3	4	31,3	98
1000	5	4	106,5	48,5
1000	1	7	1131,1	53,9
1000	3	7	91,3	71,5
1000	5	7	136,3	36,8
1000	1	9	983000	194,6
1000	3	9	1690	86,9
1000	5	9	356	114,1

Valores entre 40 e 60% de inibição foram verificados para a solução padrão (7,5% NaCl), após 30 min de incubação, indicando a validade do teste.

Os resultados obtidos neste teste são gerados em termos de CE<sub>50</sub> ou CE<sub>10</sub> e correspondem à concentração de amostra que causa um efeito agudo (imobilidade por exemplo, proporcionando um acréscimo ou declínio na luminescência) a 50 ou 10% dos organismos, respectivamente, no tempo de exposição e nas condições do teste e são expressos em termos da concentração ambiental da substância química em mg de substância por litro de solução preparada em água natural ou sintética. Os valores de CE<sub>50</sub> ou CE<sub>10</sub> exprimem uma relação inversa a toxicidade, ou seja, menores valores numéricos indicam maiores toxicidades<sup>81</sup>.

O CE<sub>10</sub> para a substância ceftazidima (iniciando com uma concentração de 50 mg L<sup>-1</sup>), antes da fotólise, foi de 3058,3 mg L<sup>-1</sup>, enquanto que, após a aplicação do processo por 5 min, em pH 4, obteve-se um CE<sub>10</sub> em torno de 3 a 5 mg L<sup>-1</sup>. A cefazolina apresentou um CE<sub>10</sub> inicial de 504,4 mg L<sup>-1</sup> e, após 5 min de fotodegradação em pH 4, diminuiu o CE<sub>10</sub> para em torno de 3 a 6 mg L<sup>-1</sup>. Os valores obtidos para os antibióticos fotolisados em pH 7 e 9, quando submetidos ao teste

de toxicidade, foram bastante semelhantes aos obtidos para pH 4. Em geral, independente da concentração estudada (50 ou 1000 mg L<sup>-1</sup>), houve um acréscimo na toxicidade, com o aumento do tempo de fotólise. Os antibióticos estudados nesta tese não demonstraram efeito apreciável relacionado ao teste de luminescência, já que não foi possível o cálculo do CE<sub>50</sub>. No entanto, foi observado um aumento significativo na toxicidade através dos valores de CE<sub>10</sub>, quando comparados às soluções não irradiadas. Provavelmente, o cálculo do CE<sub>50</sub> não foi possível devido ao uso de teste de curta duração. Os antibióticos interferem no crescimento das células bacterianas e o teste deveria ter durado de 2-3 tempos de geração de bactérias, o que não foi o caso<sup>94</sup>. Mas, como o objetivo do teste foi o de satisfazer a necessidade de previsão de possíveis diferenças de toxicidade entre as substâncias não irradiadas e os fármacos submetidos ao processo de fotólise, os resultados podem ser considerados.

São necessários estudos mais avançados, tanto em solução aquosa como em efluente hospitalar, para melhor esclarecer o significado dos fotoprodutos gerados.

Normalmente, a toxicidade aguda encontrada em valores de CE<sub>50</sub> e CE<sub>10</sub> não parecem estar de acordo com as concentrações identificadas no meio ambiente, já que valores de 100 a 1000 vezes mais altos são verificados nestes testes. Contudo, estes compostos são encontrados em matrizes complexas, onde diferentes efeitos são adicionados e ainda efeitos sinérgicos ou antagonicos podem ser produzidos<sup>93</sup>.

#### 4.2.2 Biodegradabilidade

Foram submetidas ao CBT amostras contendo 10 mg L<sup>-1</sup> de cefazolina e ceftazidima (separadamente), antes e após irradiação, a fim de se obter informação sobre a biodegradabilidade de seus constituintes.

Em plantas de tratamento de esgotos, a biodegradação é um importante processo para a remoção de substâncias tóxicas de águas<sup>78</sup>. Segundo regras estabelecidas pela OECD, o teste se mostrou válido, devido a eliminação do acetato de sódio, em no mínimo 60%, em 14 dias. Nenhum dos fármacos, ou seus produtos de degradação, aqui estudados, podem ser classificados como prontamente biodegradáveis, de acordo com a Figura 36-a e 36-b, que não apresentam valores de biodegradação superior ou igual a 60%, em 10 dias de teste. Após 28 dias de



teste, observa-se que os valores de biodegradação encontrados para a cefazolina, antes e após o processo de fotólise, alcançaram no máximo 23%. Para a ceftazidima verificou-se um valor máximo de biodegradação de 50% no dia 28, para o composto fotolísado durante 1 min.

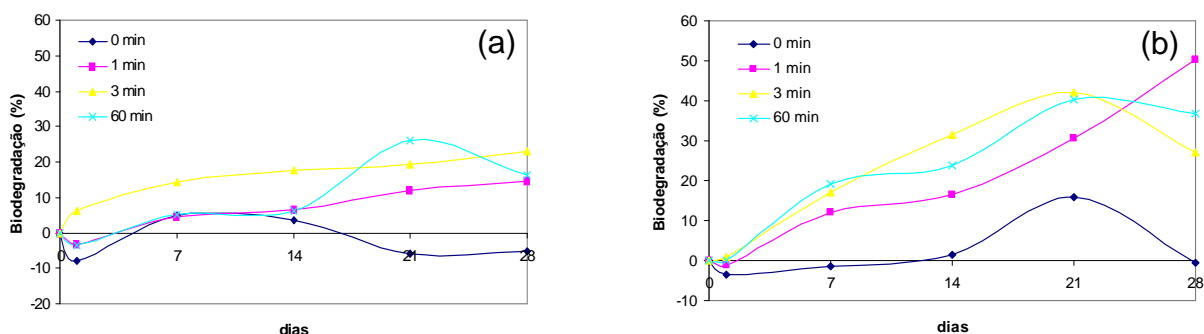


Figura 36 - *Closed Bottle Test* aplicado a amostras irradiadas e não irradiadas contendo (a) cefazolina e (b) ceftazidima ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ )

Estes resultados estão em concordância com as taxas de biodegradação por CBT para cefalosporinas (Alexy *et al.*<sup>95</sup>). De acordo com Gartiser *et al.*<sup>96</sup>, através da combinação do teste de evolução de  $\text{CO}_2$  com o Zhan-Wellens test, as cefalosporinas ceftriaxona e a cefuroxima, também não são prontamente biodegradáveis. A concentração de ambas as substâncias foi determinada por HPLC-UV. Houve uma eliminação de 30% da cefazolina (sem fotólise) após 7 dias, que persistiu até o dia 28. Para amostras com 1 min de fotoprocessamento foi verificada eliminação de 54,7% da cefazolina, em 28 dias de CBT. Já, a ceftazidima, sem fotólise, foi eliminada em 53,4% após 28 dias de CBT; enquanto que, submetida a 1 min de irradiação, foi eliminada em 60,4% após 28 dias de CBT. Então, pode-se supor que os microorganismos existentes no meio degradam ambos os fármacos, como também seus fotoprodutos, mas não rapidamente o bastante para classificar tais substâncias como prontamente biodegradáveis.

## 4.2 Surfactantes

É importante salientar que a escolha do surfactante NP9EO foi uma continuação do trabalho de mestrado<sup>15,16</sup>. Através deste, verificou-se o elevado uso de detergente durante o processo de lavagem dos tecidos na indústria têxtil, propondo-se o processo de eletrocoagulação como tratamento para a eliminação deste contaminante. Nesta tese também se observou a grande aplicação de NP9EO, durante o processo de lavagem das roupas hospitalares, obtendo-se um efluente hospitalar bastante contaminado com este composto. No presente estudo, a formação ou não do disruptor endócrino NP foi avaliada nos diferentes pontos de coletas do efluente hospitalar, bem como, a formação deste durante o processo de eletrocoagulação, proposto aqui como forma de tratamento para eliminá-lo dos efluentes.

Algumas características do surfactante NP9EO e do disruptor endócrino, NP, estão demonstradas nas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

Tabela 15 - Características do reagente nonilfenol etoxilado (com 9 moles de óxido de etileno), de acordo com a indústria fornecedora

Parâmetros	Resultados
Teor de água (%)	0,1
pH (1% em água)	5 – 7
Ponto de turbidez (°C)	53 – 56
Cor (APHA, max)	50
Viscosidade 25 °C (cps)	245
Densidade (kg L <sup>-1</sup> )	1,06

Tabela 16 - Propriedades do 4-nonilfenol

Propriedades	Resultados
Peso Molecular ( $\text{g mol}^{-1}$ )	220,0
Solubilidade em água ( $\text{mg L}^{-1}$ a 20 °C) <sup>a</sup>	5,43
Log $K_{ow}$ <sup>b</sup>	4,48
$K_{oc}$ (1/kg) <sup>c</sup>	245,470 <sup>e</sup>
tempo de meia-vida (dias) <sup>d</sup>	35-38 <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Ahel e Giger<sup>74</sup>.

<sup>b</sup> Coeficiente de partição octanol / água; **Ahel e Giger**<sup>97</sup>.

<sup>c</sup> Constante de sorção de carbono orgânico.

<sup>d</sup> Tempo de meia vida em águas de rio.

<sup>e</sup> **Ferguson et al.**<sup>98</sup>

<sup>f</sup> **Ekelund et al.**<sup>99</sup>

A solubilidade dos surfactantes não-iônicos em água depende do número de grupos polares da cadeia hidrofílica da molécula. Detergentes de cadeia etoxilada longa ( $CE > 5$ ) são mais solúveis em água do que os compostos de cadeia etoxilada curta ( $CE < 5$ ), descritos como insolúveis em água<sup>100</sup>. Além do tamanho da cadeia etoxilada, a temperatura também influi, significativamente, na solubilidade do NP, tornando-o menos solúvel, mais hidrofóbico, em temperaturas mais elevadas.

O valor do coeficiente de partição (4,48), que descreve a forma pela qual um composto se distribui entre duas fases imiscíveis, sugere que o NP pode estar adsorvido facilmente na matéria orgânica de sedimentos no ambiente aquático<sup>9</sup>.

Na Tabela 17, pode-se observar alguns parâmetros avaliados com relação aos efluentes utilizados, coletados em três pontos distintos, para os experimentos com NP9EO e NP.

Tabela 17 - Caracterização química dos efluentes hospitalares efetuadas no laboratório.

Parâmetros	Valores*		
	Efluente A	Efluente B	Efluente C
Condutividade ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	570	465	514
pH	7,8	7,3	7,9
Alcalinidade Total ( $\text{mg L}^{-1}$ de $\text{CaCO}_3$ )	212	137	173
Cloretos ( $\text{mg L}^{-1}$ )	42,0	29,3	31,8
DQO ( $\text{mg L}^{-1}$ )	346	81	201

n=3

Efluente A: Saída da lavanderia do hospital.

Efluente B: Fossa séptica localizada aos fundos da Biblioteca Central.

Efluente C: Curso d'água que passa próximo ao Restaurante Universitário.

#### 4.2.1 Determinação do NP9EO e NP

A Tabela 18 identifica os principais parâmetros empregados para a determinação dos compostos NP e NP9EO por HPLC-FLD. Para cada analito, as curvas de calibração foram construídas plotando-se a área do pico (Y, obtida por meio da injeção das soluções padrão contendo ambos os compostos) versus suas concentrações teóricas. As soluções-padrões foram preparadas na faixa de 0,2 a 5  $\text{mg L}^{-1}$  para o NP e de 2,0–50,0  $\text{mg L}^{-1}$  para o NP9EO. Os coeficientes de determinação foram aceitáveis, obtendo-se um  $r^2 > 0,999$ . Os valores limites encontrados para o NP foram 0,06  $\text{mg L}^{-1}$  (LD) e 0,21  $\text{mg L}^{-1}$  (LQ); enquanto que, para o NP9EO, foram de 0,54  $\text{mg L}^{-1}$  (LD) e de 1,80  $\text{mg L}^{-1}$  (LQ). Na Figura 37 observa-se o cromatograma com ambos os compostos, obtidos através de HPLC-FLD, em solução sintética.

Tabela 18 - Parâmetros de validação na determinação do NP e do NP9EO

	$r^2$	tR (min)	Equação da reta	LD ( $\text{mg L}^{-1}$ )	LQ ( $\text{mg L}^{-1}$ )
NP	0,9995	16,2	$Y = 2.5397X + 0.0362$	0,06	0,21
NP9EO	0,9998	11,3	$Y = 1.2407X + 0.1523$	0,54	1,80

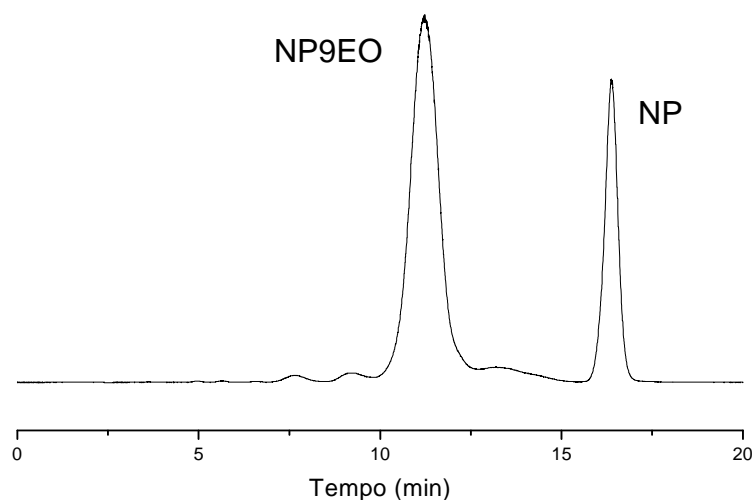


Figura 37 - Cromatograma do NP9EO (50 mg L<sup>-1</sup>) e NP (5 mg L<sup>-1</sup>) em solução sintética. Condições: Fase móvel ACN:H<sub>2</sub>O (70:30, v,v), modo isocrático, vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>, volume de alça de amostragem 20 µL e coluna fase reversa C18 (250 mm x 4.6 mm x 4 µm), determinados segundo procedimento 4 (seção 3.6.2.1).

A Tabela 19 apresenta os resultados obtidos com relação a recuperação, por SPE, de ambos os compostos NP9EO e NP em solução aquosa.

Tabela 19 - Resultados de recuperação dos compostos NP9EO e NP, após extração em fase sólida, em efluente hospitalar coletado no ponto A, n = 3.

	Recuperação (%)	Desvio padrão	RSD (%)
NP	85,8	3,3	3,8
NP9EO	83,1	1,7	2,0

Foram obtidas recuperações de 86 % para o NP e de 83 % para o NP9EO. Não foi preciso pré-concentração do NP9EO no efluente coletado no ponto A, em razão de sua alta concentração (Tabela 20). Os cromatogramas do efluente hospitalar coletado no ponto A, sem adição de NP9EO e com adição de NP podem ser observados na Figura 38.

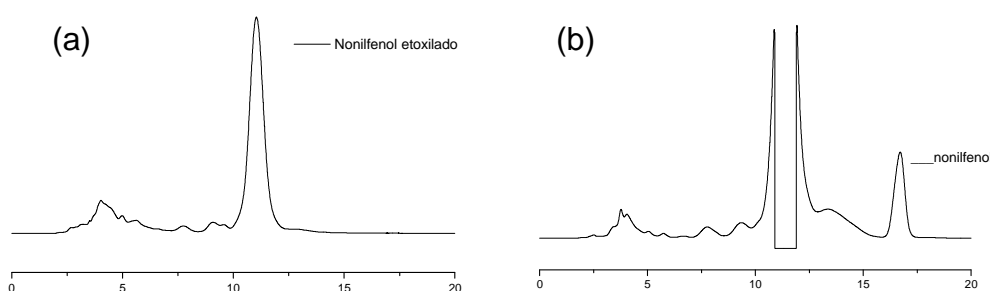


Figura 38 - Cromatogramas: do efluente hospitalar coletado no ponto A, (a) sem adição de NP e sem pré-concentração e (b) com adição de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de NP e com pré-concentração. Condições: Fase móvel ACN:H<sub>2</sub>O (70:30, v,v), modo isocrático, vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ , volume de alça de amostragem  $20 \text{ }\mu\text{L}$  e coluna fase reversa C18 ( $250 \times 4.6 \text{ mm}$ ;  $4 \text{ }\mu\text{m}$ ), determinados segundo procedimento 4 (seção 3.6.2.1).

Na Tabela 20, observa-se a determinação de NP9EO nos três efluentes estudados. Verificou-se que a concentração do NP9EO variou de  $0,07$  a  $4,12 \text{ mg L}^{-1}$  nos diferentes pontos de coleta.

Tabela 20 - Determinação do NP9EO em efluente Hospitalar

	NP9EO		
	Efluente A	Efluente B	Efluente C
Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ )	4,12	0,07	0,92
Desvio padrão	0,11	0,002	0,41
RSD (%)	2,6	2,8	4,3

Efluente A: Saída da lavanderia do HUSM.  $n = 6$

Efluente B: Fossa séptica localizada aos fundos da Biblioteca Central, pré-concentração 50 vezes.  $n = 3$

Efluente C: Riacho situado perto do RU, pré-concentração 50 vezes.  $n = 5$

Os resultados da Tabela 20 estão de acordo com **Ding et al.**<sup>101</sup> que determinaram uma concentração máxima de  $1,1 \text{ mg L}^{-1}$  de NPEO, juntamente com seus produtos de degradação, em rios localizados próximos a parques industriais de Taiwan.

As Tabelas 21 e 22 apresentam os resultados referente às recuperações do NP em efluente hospitalar, coletados nos pontos A e C, respectivamente. Recuperações entre 89 e 97% foram alcançadas para o efluente coletado no ponto A e, recuperações na faixa de 87 a 95%, para o efluente coletado no ponto C.

Tabela 21 - Testes de recuperação por SPE para o NP, no efluente A, pré-concentrado 50 vezes

Conc. NP adicionada (mg L <sup>-1</sup> )	Conc. NP determinada (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)	RSD (%)
0,4	0,37	92,5	0,78
0,8	0,71	88,7	1,79
1,6	1,43	89,4	1,92
3,2	3,10	96,9	0,66

Tabela 22 - Testes de recuperação por SPE para o NP, no efluente C, pré-concentrado 50 vezes

Conc NP Adicionada (mg L <sup>-1</sup> )	Conc. NP Determinada (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)	RSD (%)
0,2	0,18	90,0	4,9
0,4	0,38	95,4	7,1
0,8	0,72	90,2	7,3
1,6	1,40	87,5	2,3

Os cromatogramas dos efluentes coletados no ponto A e C podem ser observados na Figura 39.

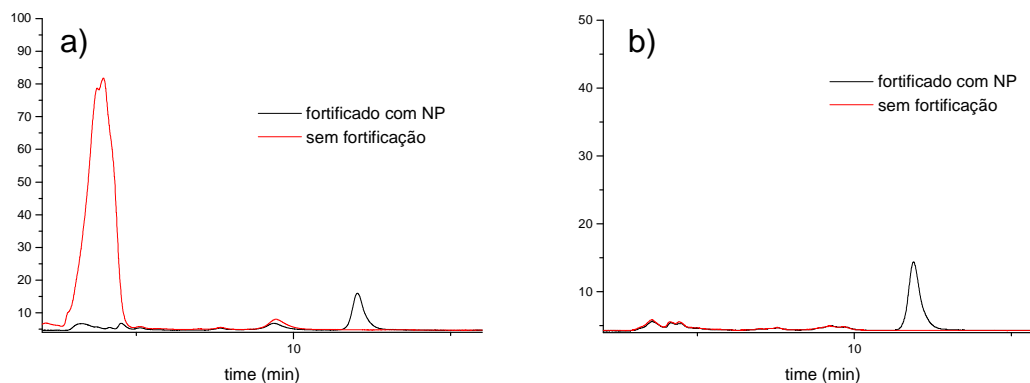


Figura 39 - Cromatogramas com adição de  $3,2 \text{ mg L}^{-1}$  de NP: (a) efluente coletado no ponto A e (b) efluente coletado no ponto de coleta C. Condições: Fase móvel ACN:H<sub>2</sub>O (70:30, v,v), modo isocrático, vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ , volume de alça de amostragem  $20 \text{ }\mu\text{L}$  e coluna C18 (250 x 4.6 mm;  $4 \text{ }\mu\text{m}$ ), determinados segundo procedimento 4 (seção 3.6.2.1).

Tanto no efluente coletado no ponto A, como no coletado no ponto C, não foi detectada a presença de NP. Uma hipótese, poderia ser a concentração do composto estar abaixo do LQ do método. **Jackson & Sutton**<sup>102</sup> também não observaram NP em nenhum dos efluentes urbanos coletados, entre eles efluentes de áreas residenciais e comerciais, incluindo lavanderias e hospitais, por meio de método com limites de detecção de  $0,024 - 6,25 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ . Outra explicação para o não aparecimento deste xenobiótico em efluente seria o caráter lipofílico deste composto ( $\log K_{ow} 4,1$ ), que pode levar a uma acumulação na matéria orgânica, não se encontrando esta espécie na fase líquida do curso d'água ou do efluente<sup>103</sup>. **Langford et al.**<sup>104</sup> estudaram a degradação do surfactante nonilfenólico em lodo ativado e verificou a formação de NP, NP2EO e NP3EO após 5 h de tratamento. As concentrações das espécies surgentes, de cadeia etoxiladas mais curtas, foram maiores na fase sólida do que na fase aquosa. NP4EO encontrou-se igualmente distribuído entre ambas as fases e oligômeros com grupos etoxilados acima de 5 foram encontrados em altas concentrações na fase aquosa. **Ghanem et al.**<sup>105</sup> também identificaram níveis altos de nonilfenol em lodo de tratamentos de esgoto urbano na França, ultrapassando o limite europeu de  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  em base de matéria seca.



**Manzano *et al.***<sup>106</sup> verificaram o efeito das altas temperaturas no período de aclimação para o início da biodegradação de NPEO. Os autores observaram que em temperaturas baixas, como 7 °C, a fase de aclimação dura de 15 a 20 dias, e que, em temperaturas mais altas, como 25 °C, esta fase dura menos que 1 dia. A 25 °C, os autores obtiveram a degradação de 96% de NPEO, encontrando-se seus produtos de degradação de cadeia mais curta como NP2EO, NP2EC e NP1EC, mas não o NP. Devido a alta concentração de NP9EO e temperaturas elevadas no verão da cidade de Santa Maria-RS, supõem-se que NP9EO poderia degradar-se mais rapidamente e formar o NP, com um período ainda menor de aclimação. Sendo assim, o tempo de permanência do surfactante nas fossas sépticas, pode não ter sido o suficiente para permitir a ocorrência de alguma biotransformação em NP.

#### 4.2.2 Eletrocoagulação de NP9EO em solução sintética

Foram conduzidos experimentos de eletrocoagulação em solução aquosa, em duplicata, com o intuito de identificar a presença de produtos de degradação, como a do desregulador endócrino NP.

Os resultados da eletrocoagulação de NP9EO em solução sintética são mostrados na Figura 40-a. Remoções superiores a 95% de NP9EO foram obtidas em 30 min de tratamento. Estes valores estão em concordância com os resultados de estudos prévios<sup>15,16</sup>, onde as melhores condições de remoção de NP9EO, por eletrocoagulação, foram com eletrodos de alumínio (devido à grande geração de hidrogênio no cátodo de alumínio<sup>107</sup>), empregando uma corrente de 1,5 A (alta corrente intensifica o processo de oxidação do eletrodo, disponibilizando maior quantidade de coagulante<sup>18</sup>) e baixa concentração de NP9EO (20 mg L<sup>-1</sup>; alta concentração de substrato demanda maior massa de coagulante). Além destas condições, o eletrólito também desempenha papel importante na eletrocoagulação, já que a presença de íons cloreto catalisa a corrosão do alumínio, que pode assim produzir mais flocos de hidróxido de alumínio<sup>108</sup>. Um modelo de cinética de primeira ordem, segundo a equação 5, foi investigado na remoção de NP9EO por

eletrocoagulação (Figura 40-b), onde  $C_0$  e  $C$  são as concentrações no tempo 0 e tempo  $t$  (min),  $k$  é a constante de remoção de primeira ordem ( $\text{min}^{-1}$ ).

$$\ln(C/C_0) = -kt \tag{5}$$

Os resultados demonstraram que a cinética de remoção do NP9EO em solução sintética por eletrocoagulação está de acordo com reação de primeira ordem, obtendo-se um  $t_{1/2}$  de 6,39 min,  $k$  de  $0,1034 \text{ min}^{-1}$  e  $r^2$  de 0,9961, como é demonstrado na Figura 40-b

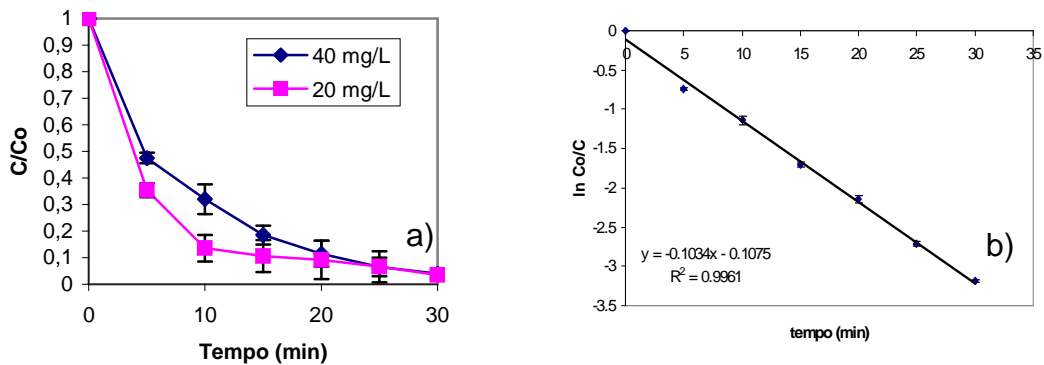


Figura 40 - Eletrocoagulação do NP9EO (20 e 40  $\text{mg L}^{-1}$ ) em solução sintética. (a) decaimento da concentração e (b) cinética de reação com solução de 40  $\text{mg L}^{-1}$ . Condições experimentais: eletrodos de alumínio,  $V = 500 \text{ mL}$ ,  $\text{NaCl} = 2800 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $i = 1,5 \text{ A}$ .

O espectro de massa do composto NP9EO pode ser verificado na Figura 41.

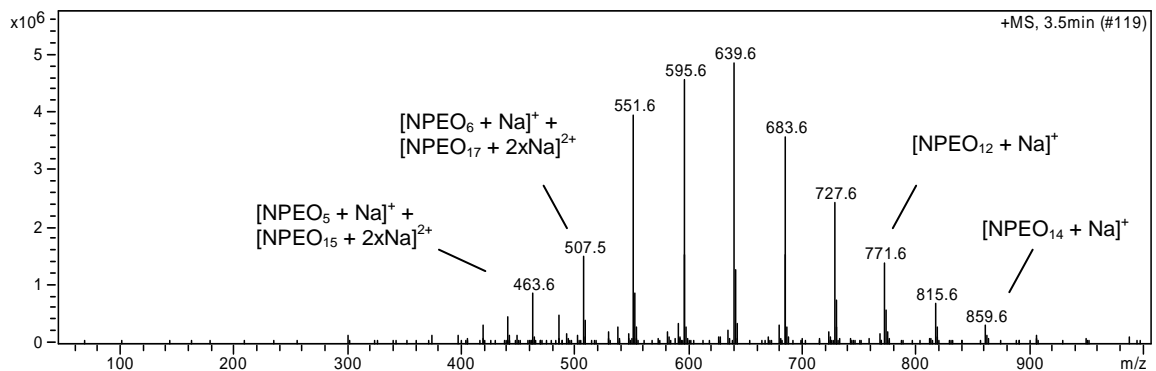


Figura 41 - Espectro de massa do NP9EO em solução sintética (20  $\text{mg L}^{-1}$ ) em modo positivo. Condições: fase móvel ACN:HCOOH (0,1%) (65:35, v,v), modo isocrático, vazão de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$ , volume de alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$  e coluna fase reversa C18 (125 x 4 mm;  $4 \mu\text{m}$ ), determinados segundo procedimento 5 (seção 3.6.2.2).

Normalmente, a mistura comercial deste detergente contém um número de isômeros do nonil, enquanto a cadeia etoxilada pode ter de 1 a 20 unidades, o que torna a análise mais complexa. Pode ser observada uma série de picos na faixa de  $m/z$  419 até 815, separados por 44 unidades de massa atômica (uma), com um pico máximo de  $m/z$  639 ( $n = 9$ ; número de unidades éter). Segundo **Lu et al.**<sup>109</sup> estes picos podem ser atribuídos a íons sódio com moléculas de NP9EO  $[M+Na]^+$  na forma de cátions. A formação de aduto, já é bem discutida na literatura, sendo uma característica do espectro de massa de surfactantes quando se utiliza ionização por electrospray, dependendo do tampão utilizado na fase móvel, envolvendo geralmente, sódio ou amônia<sup>109,110</sup>. Neste estudo, não foi feito uso de tampão, mas as soluções eram preparadas com a adição de NaCl, para, posteriormente serem utilizadas nos experimentos de eletrocoagulação. Sendo assim, o sódio estava presente na solução sintética. Como verificado por **Jonkers et al.**<sup>110</sup>, não se pode fazer distinção entre adutos dímeros de NP9EO e alguns adutos oligômeros e monômeros de NPEO, devido ao seu valor de  $m/z$  ser igual em ambos. Por exemplo,  $[2 \times NP2EO + Na]^+$  e  $[NP9EO + Na]^+$ ,  $m/z$  639. Os autores, também fazem uma observação similar para adutos de cadeias longas  $[NP_nEO + 2 \times Na]^{2+}$  que possuem uma  $m/z$  igual aos adutos de cadeias curtas  $[NP_nEO + Na]^+$  ou  $[NP_nEO + H]^+$ , por exemplo ambos  $[NP15EO + 2 \times Na]^{2+}$  e  $[NP5EO + Na]^+$  tem  $m/z = 463$ . Obviamente, a identificação por LC-MS/MS com coluna de fase reversa torna-se complicado quando todos os grupos etoxilas eluem simultaneamente<sup>110</sup>.

No espectro de massa da Figura 42 tem-se o pico de  $m/z$  220, que corresponde ao NP e seus fragmentos de  $m/z$  148 e 133.

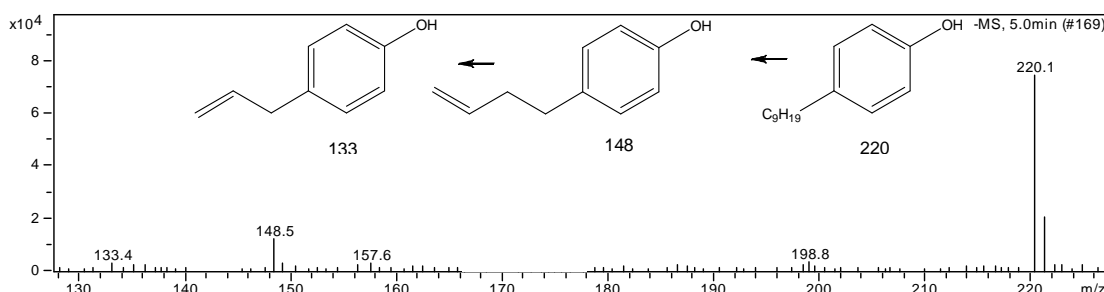


Figura 42 - Espectro de massa do NP em solução sintética ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) em modo negativo. Condições: fase móvel ACN:HCOOH (0,1%) (65:35, v,v), modo isocrático, vazão de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$ , volume de alça de amostragem  $100 \text{ } \mu\text{L}$  e coluna fase reversa C18 ( $125 \times 4 \text{ mm}$ ;  $4 \text{ } \mu\text{m}$ ), determinados segundo procedimento 5 (seção 3.6.2.2).

Os subprodutos de degradação por eletrocoagulação foram determinados por meio de LC-MS/MS. O espectro de massa da eletrocoagulação da solução sintética de NP9EO ( $20 \text{ mg L}^{-1}$ ), após 30 min de tratamento, é observado na Figura 43. Foi verificado uma redução na concentração dos adutos formados pelo surfactante, havendo um acréscimo do pico de  $m/z = 301$ . Acredita-se que este pico (que aparece após 5 min de eletrocoagulação) poderia estar vinculado ao aduto  $[\text{NP1EC} + \text{Na}]^+$  originado através da transformação do NP9EO em cadeias mais curtas, seguida da oxidação do NP1EO. Nos processos de biodegradação, geralmente, propõem-se a clivagem das moléculas de NPEO à cadeias mais curtas, contendo uma ou duas unidades etoxiladas (NP1EO e NP2EO), que sofrem oxidação, dando origem a ácido alquilfenóxiacético (NP1EC) e ácido alquilfenóxiacético (NP2EC)<sup>106</sup>.

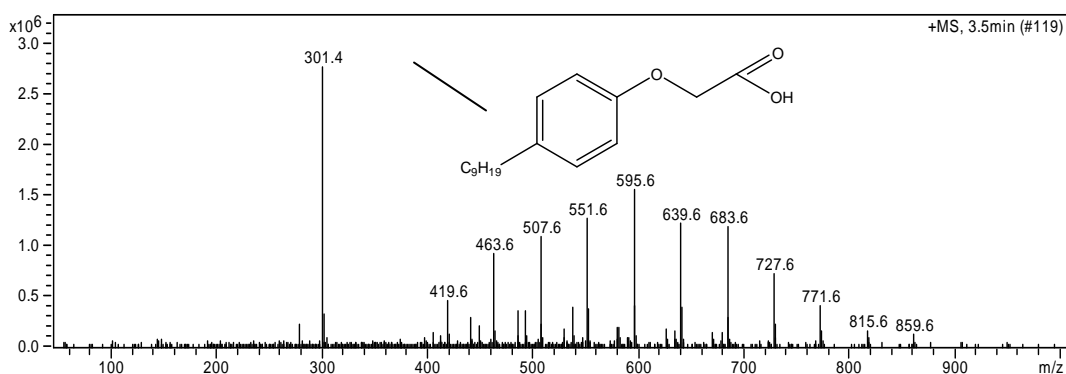


Figura 43 - Espectro de massa da eletrocoagulação do NP9EO após 30 min de tratamento. Condições: fase móvel ACN:HCOOH (0,1%) (65:35, v,v), modo isocrático, vazão de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$ , volume de alça de amostragem  $100 \mu\text{L}$  e coluna fase reversa C18 ( $125 \times 4 \text{ mm}$ ;  $4 \mu\text{m}$ ), determinados segundo procedimento 5 (seção 3.6.2.2).

#### 4.2.3 Eletrocoagulação do NP9EO em efluente hospitalar

A remoção do NP9EO do efluente hospitalar foi de 89%, após 30 min de eletrocoagulação (Figura 44).

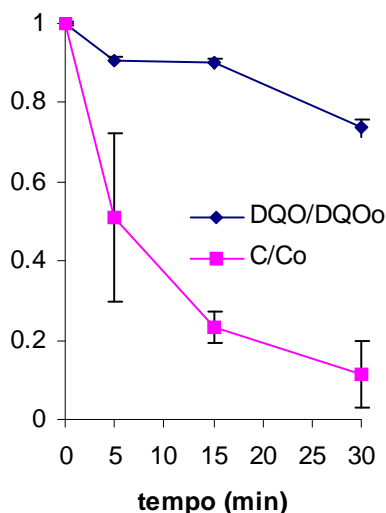


Figura 44 - Decaimento da concentração de NP9EO em efluente hospitalar coletado no ponto A e da DQO. Condições experimentais: eletrodos de alumínio, V = 500 mL, NaCl = 2800 mg L<sup>-1</sup>, i = 1,5 A.

O valor relativamente alto de remoção pode ser atribuído ao fato da faixa de pH do efluente ser ideal, entre 4 e 9. Em pH inferior a 2 não ocorre a precipitação de hidróxido de alumínio. Por outro lado, em pH superior a 10 há aumento da solubilidade do Al(OH)<sub>3</sub> pelo deslocamento do equilíbrio da reação no sentido da geração de AlO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Com isto, pode-se considerar faixas extremas de pH menos adequadas para os tratamentos de água ou efluentes<sup>18</sup>. **Ge et al.**<sup>111</sup> observaram um decréscimo da remoção de surfactantes quando se aplicou processos eletroquímicos em pH < 4 e pH > 10. Isso se deve a não formação de espécies como Al(OH)<sup>2+</sup>, Al<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub><sup>4+</sup>, Al(OH)<sub>3</sub> e hidroxocomplexos catiônicos, como o Al<sub>13</sub>(OH)<sub>32</sub><sup>7+</sup>, bastante eficientes na coagulação. A presença de NP foi investigada, mas de acordo com os cromatogramas, não houve a formação de NP na fase líquida.

O decaimento da DQO após o processo de eletrocoagulação foi de 26% (Figura 44). Devido à grande complexidade do efluente, encontrar uma explicação, torna-se difícil, mas de acordo com **Martins et al.**<sup>15</sup> este comportamento pode ser atribuído a vários fatores, como por exemplo a influência de outros contaminantes existentes no efluente e à relativa baixa condutividade (cerca de  $500 \mu\text{S cm}^{-1}$ ).

#### 4.2.4 Teste de Biodegradabilidade

Entre os testes de biodegradabilidade da OECD, o teste respirométrico manométrico tem sido altamente empregado por possuir boa reprodutibilidade, precisão e exatidão.<sup>112,113</sup>

Na Figura 45, estão representados os dados com relação ao teste de biodegradabilidade respirométrico manométrico feito com as amostras contendo NP9EO em solução sintética, antes do tratamento de eletrocoagulação e após 30 min de reação. Segundo as normas da OECD, o teste provou ser válido devido a eliminação de, no mínimo, 60% do acetato de sódio prontamente biodegradável em 14 dias.

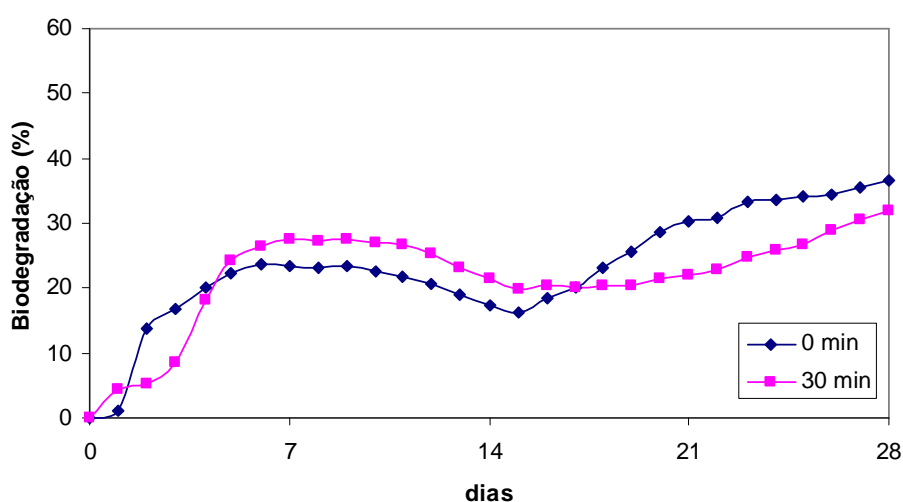


Figura 45 - Teste de biodegradabilidade da solução sintética de NP9EO ( $40 \text{ mg L}^{-1}$ ) antes e após 30 min de eletrocoagulação. Condições experimentais: eletrodos de alumínio,  $V = 500 \text{ mL}$ ,  $\text{NaCl} = 2800 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $i = 1,5 \text{ A}$ .

Como pode ser observado na Tabela 23, não existe uma diferença significativa entre os resultados de biodegradação das amostras antes da eletrocoagulação e após 30 min de tratamento. A biodegradação das amostras eletrocoaguladas alcançou 27% no dia 7 e 32%, no dia 28, enquanto as amostras de NP9EO em solução sintética, antes do processo de eletrocoagulação, mostraram uma biodegradação de 23% no dia 7 e 36% pelo dia 28.

Tabela 23 - Biodegradação do NP9EO em solução sintética antes da eletrocoagulação e após 30 min de tratamento

Eletrocoagulação tempo (min)	Biodegradação NP9EO (%) / dias				
	1	7	14	21	28
0	1,2	23,3	17,2	30,2	36,5
30	4,3	27,4	21,4	21,9	32,0

De acordo com a definição de biodegradabilidade da OECD<sup>70</sup>, as amostras avaliadas neste teste foram consideradas como não prontamente biodegradáveis, pois apresentam biodegradação (expressa como percentagem de oxigênio consumido) menor do que 60% do consumo máximo teórico num período de 10 dias de teste. **Stasinakis et al.**<sup>80</sup> aplicaram o mesmo teste com o intuito de avaliar a biodegradabilidade de disruptores endócrinos em potencial, como NP, NP1EO e NP2EO, prováveis produtos de degradação do NP9EO. Os resultados obtidos pelos autores identificaram o NP como prontamente biodegradável, enquanto NP1EO foi considerado parcialmente biodegradável e, no caso do NP2EO, não houve biodegradação.

Esta biodegradabilidade praticamente constante, quando se compara ao NP9EO em solução sintética, antes e após 30 min de eletrocoagulação, pode ser atribuída à presença de subprodutos de degradação. Como foi observado anteriormente, por meio do espectro de massa da solução sintética de NP9EO eletrocoagulada (Figura 43), compostos de cadeias mais curtas como o NP1EC podem ser formados durante o processo, o que poderia levar a mudanças no perfil da biodegradabilidade.

## 5. CONCLUSÕES

Por meio dos estudos efetuados nesta tese, a respeito da degradação de cefalosporinas em solução sintética e como constituintes de efluente hospitalar, através de fotólise; da remoção de NP9EO em solução sintética e em efluente hospitalar com auxílio de eletrocoagulação; e da adequação das metodologias para a extração e a determinação dos compostos investigados, foi possível concluir-se que:

- As metodologias adotadas e modificadas/adaptadas se mostraram bastante adequadas na determinação das duas cefalosporinas (cefazolina e ceftazidima) em solução sintética e após fortificação de ambas em efluente hospitalar, nos experimentos de fotólise. Devido à complexidade na determinação de  $\beta$ -lactamas em amostras reais, não foi possível quantificar os fármacos no efluente hospitalar. Uma investigação mais aprofundada do comportamento destes fármacos em efluente dever ser realizada. No entanto, de acordo com estudos iniciais com LC-MS/MS, ficou clara a possibilidade da evolução das cefalosporinas à outras espécies.

- Os fármacos cefazolina e ceftazidima, podem ser degradados rapidamente por fotólise direta, conseguindo-se um abatimento de 90 e 93%, respectivamente, em 30 s de tratamento, em solução sintética de pH 7. Verificou-se uma cinética de primeira ordem para a fotodegradação de ambos os compostos nos três pH estudados. Os resultados encontrados para COD demonstraram a não mineralização dos fármacos após 1 h de fotodegradação, havendo um decaimento de 76% da ceftazidima e de 72% da cefazolina, em pH 4. Através de LC-MS, foi possível chegar à proposição da formação de subprodutos de degradação, que, por sua vez, poderiam estar presentes também no efluente hospitalar estudado.

- No efluente hospitalar, as duas substâncias exigiram maiores tempos de tratamento para se degradar. Degradações acima de 95% foram alcançadas somente depois de 1 h de fotólise, atribuindo-se este comportamento à competição com outros compostos orgânicos existentes no efluente. Para a DQO, abatimentos abaixo de 10% foram obtidos após 1 h de fotoprocesso. No entanto, as diferenças de configuração dos sistemas utilizados para os experimentos em solução sintética e efluente hospitalar impossibilitaram qualquer tipo de comparação.



- Observando-se os resultados de  $CE_{10}$  pode-se afirmar que houve um aumento significativo da toxicidade das soluções sintéticas de cefazolina e ceftazidima após 5 min de fotólise. Constatou-se um  $CE_{10}$  de 3058,3 mg L<sup>-1</sup> para a ceftazidima antes do tratamento e a redução para 4,7 mg L<sup>-1</sup> após a irradiação (em pH 4). O mesmo ocorreu com a cefazolina, obtendo-se  $CE_{10}$  de 504,4 mg L<sup>-1</sup> antes do fotoprocessamento e,  $CE_{10}$  de 3 mg L<sup>-1</sup>, após 5 min de fotólise. Em geral, esta diminuição no  $CE_{10}$  ocorreu mesmo quando soluções em concentrações maiores das duas cefalosporinas foram fotolisadas. Estudos mais avançados precisam ser feitos, já que não foi possível a obtenção do  $CE_{50}$ , uma vez que, antibióticos interferem no crescimento das células bacterianas.

- Por meio do CBT, observou-se que as duas cefalosporinas estudadas nesta tese não podem ser classificadas como prontamente biodegradáveis. Ao fim do teste, foi feita a determinação dos fármacos e verificou-se uma eliminação de 30% da cefazolina e 53% da ceftazidima em solução sintética.

- Recuperações de 86 e 83% foram alcançadas para as substâncias NP e NP9EO, respectivamente, empregando-se SPE com fase estacionária C18. Sendo assim, a metodologia utilizada na extração e pré-concentração, de ambos os compostos, demonstrou ser adequada.

- Apesar das altas concentrações determinadas para o NP9EO, em todos os pontos de coleta (0,07 a 4,1 mg L<sup>-1</sup>), seu produto de degradação, o NP, não foi encontrado, ou ficou abaixo do limite de detecção do método. Uma explicação seria a possibilidade de adsorção deste composto hidrofóbico em lodo orgânico ou resíduos sólidos existentes nos efluentes estudados. O tempo de permanência nas fossas sépticas também pode ter influenciado na determinação e pode não ter sido longo o suficiente para promover a biodegradação do surfactante a NP. Contudo, é provável que tenha ocorrido a formação de subprodutos de degradação de cadeias mais curtas como o NP1EO e NP2EO.

- Como comprovado em estudos anteriores, a eletrocoagulação do detergente empregado em solução aquosa foi bastante eficiente, havendo remoção em torno de 95%, em 30 min de tratamento. A cinética de reação é de primeira ordem, obtendo-se os seguintes resultados:  $t_{1/2}$  de 6,39 min,  $k$  de 0,103 min<sup>-1</sup> e  $r^2$  de 0,99. Através de HPLC-FLD e LC-MS não se detectou a presença do xenobiótico NP, em solução sintética, após a eletrocoagulação. Porém foi identificada a formação de subprodutos, propondo-se ser um deles o NP1EC.

---

- A remoção do NP9EO do efluente hospitalar foi de 89% após 30 min de reação, sem ajuste de pH ou adição de eletrólito. O pequeno abatimento de DQO (26,4%) após 30 min de irradiação foi vinculado à baixa condutividade do efluente. Provavelmente, através da otimização das condições experimentais da eletrocoagulação, ou o uso deste tratamento conjugado a outros, como por exemplo, o biológico, podem ser obtidas taxas mais altas de decaimento de DQO.

- O teste de biodegradabilidade respirométrico manométrico demonstrou que o detergente NP9EO, bem como seus produtos de degradação (submetidos a 30 min de eletrocoagulação), não podem ser classificados como prontamente biodegradáveis.

## 6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Investigação dos produtos de transformação da cefazolina e ceftazidima em efluente hospitalar do PA-HUSM e em pontos mais avançados (água e sedimento), afim de avaliar os riscos ambientais destas  $\beta$ -lactamas;

- Avaliação de NP no lodo formado através do processo de eletrocoagulação por meio de metodologia adequada;

- Verificar a presença de outros produtos de degradação do NP9EO como NP1EO, NP2EO, NP1EC e NP2EC em efluente hospitalar, antes e após a eletrocoagulação.

- Verificar a presença de outros produtos de degradação do NP9EO como NP1EO, NP2EO, NP1EC e NP2EC em pontos mais avançados (água e sedimento), para também investigar os riscos ambientais destes compostos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PETROVIĆ, M. *et al.* Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples:review. **Journal of Chromatography A**, v.1067, p. 1-14, 2005.
2. TERNES, T. A. Occurrence of drugs in german sewage treatment plants and rivers. **Water Research**, v. 32, p. 3245-3260, 1998.
3. TIXIER, C. *et al.* Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen and naproxen in surface waters. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 6, p. 1061-1068, 2003.
4. LINDBERG, R. *et al.* Determination of antibiotics in hospital sewage water using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards. **Chemosphere**, v. 57, p. 1479-1488, 2004.
5. KÜMMERER, K. **Pharmaceuticals in the environment**. Alemanha: Springer, 2001. 265p.
6. VASCONCELOS, T. G. **Antimicrobial ciprofloxacina em efluente hospitalar: exposição ambiental, avaliação de risco e degradação através de processos avançados de oxidação**. 2006. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
7. FRANK, C. S. **Concepção, construção e avaliação de fotorreatores catalisados na degradação de carga poluente e amoxicilina em efluente hospitalar**. 2009. 70f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2009.
8. GONZÁLEZ, S.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Advanced liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) methods applied to wastewater removal and the fate of surfactants in the environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 116-124, 2007.
9. YING, G-G.; WILLIAMS, B.; KOOKANA, R. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates-a review. **Environment International**, v. 28, p. 215-226, 2002.

- 
10. EMMANUEL, E. *et al.* Fate of glutaraldehyde in hospital wastewater and combined effects of glutaraldehyde and surfactants on aquatic organisms. **Environment International**, v. 31, n. 3, p. 399-406, 2005.
11. LAM, M. W.; YOUNG, C. J.; MABURY, S. A. Aqueous Photochemical Reaction Kinetics and Transformations of Fluoxetine. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 513-522, 2005.
12. LAM, M. W.; MABURY, S. A. Photodegradation of the pharmaceutical atovarstatin, carmazepine, levofloxacin, and sulfamethoxazole in natural waters, **Aquatic Sciences**, v. 67, p. 177-188, 2005.
13. LIU, Q-T.; WILLIAMS, H. E. Kinetics and Degradation Products for Direct Photolysis of  $\beta$ -Blockers in Water. **Environment Science and Technology**, v. 41, p. 803-810, 2007.
14. BAYARRI, B. *et al.* Study of the wavelenght effect in the photolysis and heterogeneous photocatalysis. **Catalysis Today**, v. 129, p. 231-239, 2007.
15. MARTINS, A. F.; WILDE, M. L.; VASCONCELOS, T. G.; HENRIQUES, D. M. Nonylphenol polyethoxylate degradation by means of electrocoagulation and electrochemical Fenton. **Separation and Purification Technology**, v. 50, p. 249-255, 2006.
16. HENRIQUES, D. M. Degradação de nonilfenol polietoxilado e de efluente têxtil por meio de eletrocoagulação e processos Fenton. 2004. 115f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.
17. EMAMJOMEH, M. M.; SIVAKUMAR, M. Review of pollutants removed by electrocoagulation and electrocoagulation/lotation processes. **Journal of Environmental Management**, in press, p. 1-17, 2009.
18. ADHOUM, N.; MONSER, L. Decolourization and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by electrocoagulation. **Chemical Engineering and Processing**, v. 43, n. 10, p. 1281-1287, 2004.
19. JONES, O. A.; LESTER, J. N.; VOULVOULIS, N. Pharmaceuticals: a threat to drinking water?. **Trends in Biotechnology**, v. 23, n. 4, p.163-167, 2005.

- 
20. KHETAN, S. K.; COLLINS, T. J. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to green chemistry. **Chemical Reviews**, v. 107, p. 2319-2364, 2007.
21. FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. **Aquatic Toxicology**, v. 76, p. 129-159, 2006.
22. JANSEN, W.T.M. *et al.* Bacterial resistance: A sensitive issue Complexity of the challenge and contaminant strategy in Europe. **Drug Resistance Updates**, v. 9, n. 3, p. 123-133, 2006.
23. KÜMMERER, K. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. **Chemosphere**, in press, 2009.
24. BERGER-BÄCHI, B.; MCCALLUM, N. State of the knowledge of bacterial resistance. **Injury: International Journal of the Care of the Injured**, v. 37, p. S20-S25, 2006.
25. WASHINGTON DC U.S. CONGRESS. Impacts of Antibiotic-resistance Bacteria, **Government printing office**, Washington, p.183, set. 1995.
26. KENTH, Todar. Bacterial resistance to antibiotics. In: ONLINE Textbook of Bacteriology. Madison, 2008. Disponível em: <<http://www.textbookofbacteriology.net/resantimicrobial.html>>. Acesso em: 22 de abr. 2008.
27. SIMON, C.; STILLE, W. **Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis**, Stuttgart-NewYork: Schattauer, 1993.
28. KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1988, 783p.
29. SACHER, F. *et al.* Pharmaceuticals in groundwaters Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. **Journal of Chromatography A**, v. 938, p. 199-210, 2001.
30. HIRSCH, R. *et al.* Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **The Science of the Total Environment**, v. 225, p. 109-118, 1999.

- 
31. MARTINS, A. F. *et al.* Concentration of Ciprofloxacin in Brazilian Hospital Effluent and Preliminary Risk Assessment: A case Study. **Clean**, v. 36, n. 3, p. 264-269, 2008.
32. GULKOWSKA, A. *et al.* The occurrence of selected antibiotics in Hong Kong coastal waters. **Marine Pollutin Bulletin**, v. 54, p. 1287-1306, 2007.
33. LIN, A. Y. *et al.* Pharmaceutical contamination in residential, industrial, and agricultural waste streams: Risk to aqueous environments in Taiwan. **Chemosphere**, v. 74, p.131-141, 2008.
34. SINGH, J.; ARRIETA, A. C. New Cephalosporins. *Seminars in Pediatric Infections Diseases*, v. 10, n. 10, p. 14-22, 1999.
35. CORRÊA, J. C.; CORRÊA, V. L. F. **Antibióticos no dia-a-dia**, Rio de Janeiro:Rubio, 2001, 210p.
36. SUARÉZ, C.; GUDIOL, F.; Antibióticos betalactámicos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, in press, 2008.
37. OPPENLÄNDER, T., **Photochemical Purification of Water and Air**, Wiley-VCH, 2003, 368p.
38. HIJNEN, W. A. M.; BEERENDONK, E. F.; MEDEMA, G. J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. **Water Research**, v. 40, p. 3-22, 2006.
39. LATCH, D. E. *et al.* Photochemical Fate of Pharmaceuticals in the Environment: Cimetidine and Ranitidine. **Environmental Science and Technology**, v. 37, p. 3342-3350, 2003.
40. DOLL, T. E.; FRIMMEL, F. H.; Fate of pharmaceuticals-photodegradation by simulated solar UV-light. **Chemosphere**, v. 52, p. 1757-1769, 2003.
41. KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D.; Removal of residual pharmaceuticals from aqueous system by advanced oxidation processes. **Environment International**, v. 35, p. 402-417, 2009.

- 
42. GLAZE, W. H., Drinking-water treatment with ozone. **Environmental Science and Technology**, v. 21, n. 8, p. 224-230, 1987.
- 43 . YUAN, F. *et al.* Degradation of selected pharmaceuticals in aqueous solution with UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Water Research**, in press.
44. CLARA, M. *et al.* Occurrence of selected surfactants in untreated and treated sewage. **Water Research**, v. 41, n. 19, p. 4339-4348, 2007.
45. Nonylphenol and its Ethoxylates, **Canadian Environment Protection Act**, 2000.
46. NING, B.; GRAHAM, N. J.D.; ZHANG, Y. Degradation of octylphenol and nonylphenol by ozone – Part 1: Direct reaction. **Chemosphere**, v. 68, p. 1163-1172, 2007.
47. COLBORN, T.; DUMANOSKI, D.; MYERS, J. P.; **O futuro roubado**, L&PM, 2002. 270p, 27p.
48. JOBLING, S.; SUMPTER, J. P. Detergents components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: An in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. **Aquatic Toxicology**, v. 27, p. 361-372, 1993.
49. SOTO, A. M.; JUSTICIA, H.; WRAY, J. W. p-Nonyl-Phenol: An Estrogenic Xenobiotic Released from “Modified” Polystyrene. **Environmental Health Perspectives**, v 92, p. 167-173, 1991.
50. SERVOS, M. R. Review of the Aquatic Toxicity, Estrogenic Responses and Bioaccumulation of Alkylphenols and Alkylphenol Polyethoxylates. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 34, n. 1, p. 123-177, 1999.
51. ISIDORI, M. *et al.* Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols. **Chemosphere**, v. 64, p. 135-143, 2006.
52. ZHANG, L.; GIBBLE, R.; BAER, K. N. The effects of 4-nonylphenol and ethanol on acute toxicity, embryo development, and reproduction in *Daphnia magna*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 55, p. 330-337, 2003.



- 
53. FARRÉ, M. *et al.* Wastewater toxicity screening of non-ionic surfactants by Tox-Alert® and Microtox® bioluminescence inhibition assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 427, p. 181-189, 2001.
54. CORREA-REYES, G. *et al.* Nonylphenol algal bioaccumulation and its effect through the trophic chain. **Chemosphere**, v. 68, p. 662-670, 2007.
55. AHEL, M.; MCEVOY, J.; GIGER, W. Bioaccumulation of the lipophilic metabolites of nonionic surfactants in freshwater organisms. **Environmental Pollution**, v. 79, p. 243-248, 1993.
56. KOHTANI, S. *et al.* Photodegradation of 4-alkylphenols using BiVO<sub>4</sub> photocatalyst under irradiation with visible light from a solar simulator. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 46, p. 573-586, 2003.
57. NING, B.; GRAHAM, N. J. D.; ZHANG, Y. Deradation of octylphenol and nonylphenol by ozone – Part II: Indirect reaction. **Chemosphere**, v. 68, p. 1173-1179, 2007.
58. KURAMITZ, H. *et al.* Electrochemical removal of p-nonylphenol from dilute solutions using a carbon fiber anode. **Water Research**, v. 36, p. 3323-3329, 2002.
59. CHEN, G. Electrochemical technologies in wastewater treatment, Guohua, **Separation and Purification Tecnology**, article in press, 2003.
60. HOLT, P. K. *et al.* A quantitative comparison between chemical dosing and electrocoagulation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemistry Engineering Aspects**, v. 211, p. 233-248, 2002.
61. YOUSUF, M. *et al.* Electrocoagulation (EC) – science and applications. **Journal of Hazardous Materials**, v. B84, p. 29-41, 2001.
62. KOBYA, M.; CAN, O. T.; BAYRAMOGLU, M. Treatment of textile wastewater by electrocoagulation using iron and aluminum electrodes. **Journal of Hazards Materials**, v. B100, p. 163-178, 2003.

- 
63. ÖNDER, E.; KOPARAL, A. S.; ÖĞÜTVEREN, Ü. B. An alternative method for the removal of surfactants from water: Electrochemical coagulation. **Separation and Purification Technology**, v. 52, p. 527-532, 2007.
64. SEMINÁRIOS DISCUTE RISCOS DOS EFLUENTES HOSPITALARES. In: REVISTA Sim. São Paulo: UNIFESP, 2007. Disponível em: <<http://www.revistasim.com.br/asp/materia.asp?idtexto=1969>>. Acesso em: 17 de dez. 2007.
65. BRASIL. 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. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2004/rdc/306\\_04rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2004/rdc/306_04rdc.htm)>. Acesso em: 17 dez. 2007.
66. AUGUSTINHO, L.; FERREIRA, A.R.; Impactos ambientais dos efluentes líquidos no rio Paraguai, Cáceres, MT, SIMPAN 2004, VI Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal, Corumbá/MS, 23 a 26 Nov 2004.
67. APHA-AWWA, **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 19<sup>th</sup> ed., American Public Health Association, 1995.
68. OECD, **Guideline for testing of Chemicals (301 D)**. Closed Bottle Test. Organisation of Economic Cooperation and Development, Paris, 1992.
69. EN ISO 11348-2, Testvorschrift Dr. Bruno Lange, Dusseldorf, Germany, 1999.
70. OECD, **Guideline for testing of Chemicals (301 F)**. Manometric respirometry test. Organisation of Economic Cooperation and Development, Paris, 1992.
71. HUSM, In: Hospital Universitário de Santa Maria. Santa Maria: UFSM, 2006. Disponível em: <<http://www.husm.ufsm.br/index.php?secao=apresentacao>>. Acesso em: 20 out. 2007.
72. GATIDOU, G. *et al.* Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1138, p. 32-41, 2007.

- 
73. TUERK, J. *et al.* Analysis of antibiotics in urine and wipe samples from environmental and biological monitoring-Comparison of HPLC with UV-, singleMS- and tandem MS-detection. **Journal of Chromatography B**, v. 831, p. 72-80, 2006.
74. NÚÑEZ, L., TURIEL, E., TADEO, J. L. Determination of NP and NPEO in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and high performance liquid chromatography-fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1146, p. 157-163, 2007.
75. XIAO, Q. *et al.* HPLC analysis of Bisphenol A and 4-nonylphenol in serum, liver and testis tissues after oral administration to rats and its application to toxicokinetic study. **Journal of Chromatography B**, v. 830, p. 322-329, 2006.
76. NYHOLM, N.; The European system of standardized legal tests for assessing the biodegradability of chemicals. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 10, p. 1237-1246, 1991.
77. KÜMMERER, K., AL-AHMAD, A., STEGER-HARTMANN, T; Epirubicin hydrochloride in the aquatic environment ± biodegradation and bacterial toxicity. **Umweltmedizin Forschung Praxis**, v. 1, p. 133-137, 1996.
78. KÜMMERER, K.; AL-AHMAD, A.; MERSCH-SUNDERMANN, V. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. **Chemosphere**, v. 40, p. 701-710, 2000.
79. STAPLES, C. A. *et al.* Measuring the biodegradability of nonylphenol ether carboxylates, octylphenol ether carboxylates and nonylphenol. **Chemosphere**, v. 38, n. 9, p. 2029-2039, 1999.
80. STASINAKIS, A.S. *et al.* Application of the OECD 301F respirometric test for the biodegradability assessment of various potential endocrine disrupting chemical. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3458-3467, 2008.
81. COSTA, C. R. *et al.* A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.
82. ISLA, A. *et al.* Determination of ceftazidime and cefepime in plasma and dialysate-ultrafiltrate from patients undergoing continuous veno-venous hemodiafiltration by HPLC. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, n. 5, p. 996-1005, 2005.

- 
83. PÉHOUREC, F.; JARRY, C. Determination of third-generation cephalosporins by high-performance liquid chromatography in connection with pharmacokinetic studies. **Journal of Chromatography A**, v. 812, p. 159-178, 1998.
84. HANES, S. D.; HERRING, V. L.; WOOD, G. C. Alternative method for determination of ceftazidima in plasma by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 719, p. 245-250, 1998.
85. SØRENSEN, L. K.; SNOR, L. K. Determination of cefalosporins in raw bovine milk by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 882, p. 145-151, 2000.
86. NIESSEN, W. M. A. Analysis of antibiotics by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 812, p. 53-75, 1998.
87. FARINA, A. *et al.* Stability of reconstituted solutions of ceftazidime for injections: an HPLC and CE approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 20, p. 521-530, 1999.
88. JIAO, S. *et al.* Aqueous photolysis of tetracycline and toxicity of photolytic products to luminescent bacteria. **Chemosphere**, v. 73, p. 377-382, 2008.
89. EDHLUND, B. L.; ARNOLD, W. A.; McNEILL, K. Aquatic Photochemistry of Nitrofurantoin Antibiotics. **Environment Science and Technology**, v. 40, p. 5422-5427, 2006.
90. CRUCQ, A. -S. *et al.* Radiosensitivity study of cefazolin sodium. **Talanta**, v. 52, p. 873-877, 2000.
91. VIONE, D. *et al.* Phototransformation of selected human-used macrolides in surface water: Kinetics, model predictions and degradation pathways. **Water Research**, in press, 2009.
92. PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 486-493, 2007.

- 
93. FARRÉ, M. *et al.* Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 991-1007, 2008.
94. BACKHAUS, T. *et al.* Toxicity testing with *Vibrio Fischeri*: A comparison between the long term (24h) and the short term (30 min) bioassay. **Chemosphere**, v. 35, n. 12, p. 2925-2938, 1997.
95. ALEXY, R. KÜMPEL, T. KÜMMERER, K. Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test. **Chemosphere**, vol. 57, p. 505-512, 2004.
96. GARTISIER, S. *et al.* Ultimate biodegradation and elimination of antibiotics in inherent tests. **Chemosphere**, v. 67, p. 604-613, 2007.
97. AHEL, M; GIGER, W. Partitioning of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylate surfactants between water and organic solvents. **Chemosphere**. v. 26, p. 1471-1478, 1993b.
98. FERGUSON, P. L.; IDEN, C. R.; BROWNWELL, B. J. Distribution and fate of neutral alkylphenol ethoxylate metabolites in a sewage-impacted urban estuary. **Environmental Science and Technology**, v. 35, p. 2428-2435, 2001.
99. EKELUND, R. *et al.* Biodegradation of 4-nonylphenol in seawater and sediment. **Environmental Pollution**, v. 79, p. 59-61, 1993.
100. AHEL, M.; GIGER, W. Aqueous solubility of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates. **Chemosphere**, v. 26, p. 1461-1470, 1993a.
101. DING, W-H.; TZING, S-H.; LO, J-H. Occurrence and concentrations of aromatic surfactants and their degradation products in river waters of Taiwan. **Chemosphere**, v. 38, n. 11, p. 2597-2606, 1999.
102. JACKSON, J.; SUTTON, R. Source of endocrine-disrupting chemicals in urban wastewater, Oakland, CA. **Science of the Total Environment**, v. 405, p. 153-160, 2008.

- 
103. JACOBSEN, A. M.; MORTENSEN, G. K.; HANSEN, H. C. B. Degradation and mobility of linear alkylbenzene sulfonate and nonylphenol in sludge-amended soil. **Journa of Environmental Quality**, v. 33, p. 232-240, 2004.
104. LANGFORD, K. H. *et al.* Degradation of nonylphenolic surfactants in activated sludge batch tests. **Water Research**, v. 39, p. 870-876, 2005.
105. GHANEM, A. *et al.* Concentrations and specific loads of glyphosate, diuron, atrazina, nonylphenol and metabolites thereof in French urban sewage sludge. **Chemosphere**, v. 69, n. 9, p. 1368-1373, 2007.
106. MANZANO, M. A. *et al.* The effect of temperature on the biodegradation of a nonylphenol polyethoxylate in river water. **Water Research**, v. 33, n. 11, p. 2593-2600, 1999.
107. PICARD, T. *et al.* Cathodic dissolution in the electrocoagulation process using aluminum electrodes. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 2, p. 77-80, 2002.
108. SHEN, F. *et al.* Electrochemical removal of fluoride ions from industrial wastewater. **Chemical Engineering Science**, v. 58, p. 987-993, 2003.
109. LU, J. *et al.* Biodegradation of nonylphenol polyethoxylates under Fe(III)-reducing conditions. **Chemosphere**, v. 69, p. 1047-1054, 2007.
110. JONKERS, N.; GOVERS, H.; VOOGT, P. D. Adduct formation in LC-ESI-MS of nonylphenol ethoxylates: mass spectrometrical, theoretical and quantitative analytical aspects. **Analytica Chimica Acta**, v. 531, p. 217-228, 2005.
111. GE, J. *et al.* New bipolar electrocoagulation-electroflotation process for the treatment of laundry wastewater. **Separation and Purification Technology**, v. 36, p. 33-39, 2004.
112. GUHL, W.; STEBER, J. The value of biodegradation screening test results for predicting the elimination of chemicals' organic carbon in wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 63, p. 9-16, 2006.

- 
113. LAPERTOT, M. E.; PULGARIN, C. Biodegradability assessment of several priority hazardous substances: choice, application and relevance regarding toxicity and bacterial activity. **Chemosphere**, v. 65, p. 682-690, 2006.