

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

Ramiro Pereira Bisognin

**DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS EM EFLUENTE DE UMA ESTAÇÃO
DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO UTILIZANDO
PROCESSOS AVANÇADOS**

Santa Maria, RS
2018

Ramiro Pereira Bisognin

**DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS EM EFLUENTE DE UMA ESTAÇÃO DE
TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO UTILIZANDO PROCESSOS
AVANÇADOS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor em Engenharia Civil**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Delmira Beatriz Wolff
Coorientador: Prof. Dr. Elvis Carissimi

Santa Maria, RS
2018

Bisognin, Ramiro Pereira
Degradação de fármacos em efluente de uma estação de
tratamento de esgoto sanitário utilizando processos
avançados / Ramiro Pereira Bisognin.- 2018.
135 p.; 30 cm

Orientadora: Delmira Beatriz Wolff
Coorientador: Elvis Carissimi
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Civil, RS, 2018

1. Esgoto sanitário 2. Fármacos 3. Tratamento
biológico 4. Processos oxidativos avançados 5.
Biomarcadores de estresse oxidativo I. Beatriz Wolff,
Delmira II. Carissimi, Elvis III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2018

Todos os direitos autorais reservados a Ramiro Pereira Bisognin. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho somente poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: ramirobisognin@yahoo.com.br

Ramiro Pereira Bisognin

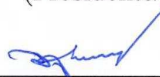
**DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS EM EFLUENTE DE UMA ESTAÇÃO DE
TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO UTILIZANDO PROCESSOS
AVANÇADOS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, Área de concentração em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutor em Engenharia Civil**.

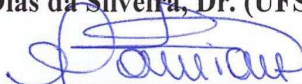
Aprovado em 18 de outubro de 2018:



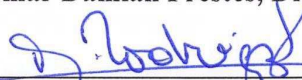
Delmira Beatriz Wolff, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



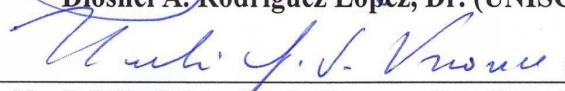
Djalma Dias da Silveira, Dr. (UFSM)



Osmar Damian Prestes, Dr. (UFSM)



Diosnel A. Rodriguez López, Dr. (UNISC)



Noeli Júlia Schüssler de Vasconcellos, Dra. (UFN)

Santa Maria, RS
2018

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Milton e Odete, por todo amor, carinho e atenção. Este trabalho é dedicado a vocês que tanto se dedicaram a mim.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho foi possível devido à saúde concedida por Deus, e ao auxílio e incentivo de várias pessoas, às quais agradeço muito, e de maneira especial:

Aos meus pais, Milton e Odete, pelos ensinamentos, educação, amizade e pela imensa felicidade proporcionada quando estou com vocês. Por sempre tornarem as dificuldades mais amenas, e por tudo que representam para mim. Sou eternamente grato a vocês!

A minha esposa Rosana pelo amor, carinho, compreensão e apoio durante as etapas de minha formação e realização deste estudo, a quem compartilhei tantas angústias. Muito obrigado por todo o encorajamento e cumplicidade!

Ao meu irmão Rossano pelo incentivo à busca do conhecimento e apoio familiar.

Aos meus orientadores, professora Delmira Beatriz Wolff e professor Elvis Carissimi, pelo entusiasmo, conhecimento, oportunidade de desenvolver este trabalho e confiança em mim depositada.

Aos professores Osmar Damian Prestes e Renato Zanella pelo acesso ao Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas e a Tiele Medianeira Rizetti por todo o suporte às análises cromatográficas, extensivo aos demais funcionários e bolsistas do LARP.

Ao Rafael Zaneti e Adriana Cechin do DMAE de Porto Alegre pela autorização e auxílio às coletas de efluente.

Aos técnicos de laboratório do TecnoUnisc (UNISC) e LABCEN (UFSM), pelo suporte à realização de análises de carbono e nitrogênio.

Aos professores da banca examinadora deste trabalho, Djalma Dias da Silveira, Osmar Damian Prestes, Diosnel A. Rodriguez López e Noeli Júlia Schüssler, pelas valiosas sugestões e considerações. Como não destacar o apoio, amizade e incentivo do professor Diosnel, orientador de graduação e mestrado, a quem devo as palavras: muito obrigado!

A todos os colegas de trabalho da UERGS, Unidade em Três Passos, pelo incentivo. Um agradecimento reforçado à Bárbara Estevão Clasen, pelo conhecimento e suporte aos ensaios enzimáticos, à Daiane Weiss e Ana Paula Ritter Colling, pela companhia e auxílio às análises de parâmetros bioquímicos. Agradeço também aos colegas e amigos Eduardo Lorensi de Souza e Márlon de Castro Vasconcelos pelos conhecimentos em estatística.

A CEUA por autorizar a realização dos ensaios (eco)toxicológicos com peixes.

A UFSM, professores, colegas e funcionários do PPGEC.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS EM EFLUENTE DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO UTILIZANDO PROCESSOS AVANÇADOS

AUTOR: Ramiro Pereira Bisognin
ORIENTADORA: Delmira Beatriz Wolff
COORIENTADOR: Elvis Carissimi

O elevado consumo mundial de medicamentos, associado à incompleta assimilação por animais e seres humanos e a remoção deficitária por sistemas convencionais de tratamento de efluentes, tornaram os fármacos um grupo de micropoluentes persistentes. Por este motivo, na presente tese objetivou-se estudar a degradação e/ou remoção simultânea de fármacos em efluente de uma estação de tratamento de esgoto sanitário (ETE) por processos biológicos e por oxidação avançada utilizando ozônio, radiação ultravioleta e combinações com peróxido de hidrogênio. O estudo foi desenvolvido em três etapas, a primeira consistiu na investigação da ocorrência, destino e remoção de 43 fármacos e hormônios no efluente e no lodo da maior ETE do Rio Grande do Sul, nos meses de novembro de 2017, março e abril de 2018. A determinação dos fármacos foi realizada por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (UHPLC-MS/MS). Assim, foram detectados 13 fármacos no efluente bruto e 11 no tratado. Apesar das maiores concentrações no efluente bruto terem sido de paracetamol ($137,980 \mu\text{g L}^{-1}$) e cafeína ($35,290 \mu\text{g L}^{-1}$), a maior diversidade foi de antibióticos, em concentrações que variaram de $0,023$ a $1,374 \mu\text{g L}^{-1}$ de metronidazol e sulfametoxazol, respectivamente. Os fármacos doxiciclina, fembendazol, norfloxacin e tetraciclina foram detectados somente no lodo, porém a maior concentração foi de ciprofloxacina ($5,034 \text{ mg kg}^{-1}$). Durante o tratamento, foram registrados incrementos na concentração de alguns fármacos, como também remoções superiores a 97%. Contudo, constatou-se elevada carga de medicamentos ($511,466 \text{ g d}^{-1}$) despejados no corpo hídrico receptor. A segunda etapa consistiu na degradação dos 11 fármacos detectados no efluente da ETE mencionada, utilizando O_3 em duas dosagens ($0,5$ e $0,9 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$), fotólise UV (254 nm), e as combinações O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ com $0,5 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$ e $25 \text{ mgH}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$. Para os ensaios de degradação, os princípios ativos ciprofloxacina, oxitetraciclina, paracetamol, sulfametoxazol e trimetoprima tiveram as concentrações aumentadas, acima da concentração prevista sem efeito (CPSE). Os estudos foram realizados a temperatura de $20,60 \pm 0,30 \text{ }^\circ\text{C}$ e $\text{pH } 6,94 \pm 0,02$, com recolhimento de alíquotas a $7,5$ e 15 min . O processo $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ foi o mais eficiente na degradação de todos os fármacos detectados, possibilitando a redução de 89,32% de oxitetraciclina, 96,79% de cafeína, 97,40% de trimetoprima, 97,75% de ciprofloxacina, 99,79% de sulfametoxazol, 99,96% de paracetamol e 100% de clindamicina, ofloxacina, sulfadiazina, sulfatiazol e tilosina. O mesmo processo foi responsável pelo maior percentual de mineralização (60,52%), comprovando o efeito sinérgico entre os agentes oxidantes combinados. Por fim, a terceira etapa consistiu na avaliação da (eco)toxicidade dos três grupos de efluentes: (a) tratado pelos processos biológicos, (b) com concentração aumentada de fármacos, e (c) pós-tratado por $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Foram avaliados os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a atividade das enzimas acetilcolinesterase (AChE), catalase (CAT) e glutatona S-transferase (GST), em diferentes órgãos de peixes da espécie *Astyanax bimaculatus* expostos aos efluentes durante 14 dias. Desta forma, evidenciou-se que os resíduos de fármacos podem causar estresse oxidativo, afetando parâmetros bioquímicos e enzimáticos em *Astyanax* sp., assim como o processo $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ pode reduzir os danos aos peixes mesmo com a possível formação de metabólitos, os quais se mostraram ser menos tóxicos que os compostos originais.

Palavras-chave: Esgoto sanitário. Micropoluentes. Tratamento biológico. Processos oxidativos avançados. Biomarcadores de estresse oxidativo.

ABSTRACT

DEGRADATION OF PHARMACEUTICALS IN EFFLUENT OF A SEWAGE TREATMENT PLANT USING ADVANCED PROCESSES

AUTHOR: Ramiro Pereira Bisognin
ADVISOR: Delmira Beatriz Wolff
CO-ADVISOR: Elvis Carissimi

The high worldwide consumption of remedies, coupled with the incomplete assimilation by animals and humans and the deficient removal by conventional effluent treatment systems, made the pharmaceuticals a persistent group of micropollutants. For this reason, the main goal of this thesis was to study the degradation and/or simultaneous removal of pharmaceuticals in a wastewater treatment plant (WWTP) by biological processes and by advanced oxidation using ozone, ultraviolet radiation and combinations with peroxide hydrogen. The study was carried out in three stages, the first one consisted in the investigation of the occurrence, fate and removal of 43 pharmaceuticals and hormones in effluent and sludge of the largest WWTP in Rio Grande do Sul (Southern Brazil), in the months of November 2017, March and April 2018. The determination of the pharmaceuticals was performed by a ultra high-performance liquid chromatography coupled to mass-mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). Thus, 13 pharmaceuticals were detected in the crude effluent and 11 in the treated one. Although the highest concentrations in the raw effluent were paracetamol ($137.98 \mu\text{g L}^{-1}$) and caffeine ($35.29 \mu\text{g L}^{-1}$), the highest diversity was of antibiotics at concentrations ranging from 0.023 to $1.374 \mu\text{g L}^{-1}$, for metronidazole and sulfamethoxazole, respectively. The pharmaceuticals doxycycline, fembendazole, norfloxacin and tetracycline were detected only in the sludge, but the highest concentration was ciprofloxacin (5.034 mg kg^{-1}). During the treatment, increases in the concentration of some pharmaceuticals were recorded, as well as removals above 97%. However, high pharmaceutical loads (511.466 g d^{-1}) were observed in the recipient water body. The second step consisted of the degradation of the 11 pharmaceuticals detected in the WWTP, using O_3 in two dosages (0.5 and $0.9 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$), UV photolysis (254 nm), and the O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ and $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ with $0.5 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$ and $25 \text{ mgH}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$. For degradation assays, the active ingredients ciprofloxacin, oxytetracycline, paracetamol, sulfamethoxazole and trimethoprim had increased concentrations above the predicted no effect concentration (PNEC). The study were performed at a ambient temperature of $20.60 \pm 0.30 \text{ }^\circ\text{C}$ and $\text{pH } 6.94 \pm 0.02$, with aliquots being sampled at 7.5 and 15 min. The $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ process was more efficient for the degradation of all detected pharmaceuticals, allowing a reduction of 89.32% of oxytetracycline, 96.79% of caffeine, 97.40% of trimethoprim, 97.75% of ciprofloxacin, 99.79% sulfamethoxazole, 99.96% paracetamol and 100% of clindamycin, ofloxacin, sulfadiazine, sulfathiazole and tylosin. The same process was responsible for the highest percentage of mineralization (60.52%), proving the synergetic effect between the combined oxidizing agents. Finally, the third step consisted in evaluating the (eco)toxicity of the three groups of effluents: (a) treated by biological processes, (b) with increased concentration of pharmaceuticals, and (c) post-treated by $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. The levels of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and the activity of the enzymes acetylcholinesterase (AChE), catalase (CAT) and glutathione-S-transferase (GST) were evaluated in different organs of fish of the species *Astyanax bimaculatus* exposed to effluents for 14 days. Thus, it was evidenced that residuals of pharmaceuticals can cause oxidative stress, affecting biochemical and enzymatic parameters in *Astyanax* sp., as well the $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ process can reduce damages to fish even with the possible formation of metabolites, which have been shown be less toxic than the original compounds.

Keywords: Sewage. Micropollutants. Biological treatment. Advanced oxidative processes. Biomarkers of oxidative stress.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

APRESENTAÇÃO

Figura 1 - Estação de tratamento de esgoto sanitário estudada	44
Figura 2 - Esquema da ETE estudada e de desenvolvimento do trabalho com a identificação das etapas da pesquisa.....	45
Figura 3 - Sistema de extração em fase sólida utilizado para pré-concentração das amostras.	48
Figura 4 - Sistema UHPLC-MS/MS utilizado para determinação de fármacos e hormônios nas amostras	49
Figura 5 - Quantificação da geração de ozônio: A) Injeção de O ₃ em solução de iodeto de potássio 2%; B) Titulação, da solução, com tiosulfato de sódio.....	51
Figura 6 - Esquema de montagem do processo O ₃ /UV e detalhe do fotorreator construído....	52
Figura 7 - Coleta de órgãos de <i>Astyanax bimaculatus</i> expostos a esgoto com diferentes concentrações de fármacos: A) Cérebro; B) Brânquias; C) Fígado; D) Músculo ...	54

ARTIGO 2

Figura 1- Fluxograma esquemático da ETE.....	59
Figura 2 - Redução da concentração média de matéria orgânica e nutrientes pela ETE: (A) DQO, DBO ₅ e COT; (B) N _{Total} e P _{Total}	64
Figura 3 - Concentrações e eficiência média (%) de remoção dos antibióticos detectados no efluente bruto, pós-UASB e tratado (UASB + Unitank) na ETE. As linhas nas barras mostram o erro padrão máximo e mínimo da concentração média dos antibióticos detectados em mais de uma campanha de amostragem	70
Figura 4 - Balanço de massa dos fármacos detectados no efluente tratado, degradados e sorvidos no lodo da ETE. As barras com valores negativos referem-se a incrementos nas concentrações dos compostos durante o tratamento	72

ARTIGO 3

Figura 1 - Degradação de fármacos em esgoto sanitário por processos oxidativos avançados: O ₃ (0,5 e 0,9 mgO ₃ mgCOD ⁻¹); UV (15 W); O ₃ /UV (0,5 mgO ₃ mgCOD ⁻¹ /UV 15 W); H ₂ O ₂ /UV (25 mgH ₂ O ₂ L ⁻¹ /UV 15 W); O ₃ /H ₂ O ₂ /UV (0,5 mgO ₃ mgCOD ⁻¹ / 25 mgH ₂ O ₂ L ⁻¹ /UV 15 W).....	87
Figura 2 - Cromatograma de íon total para o sulfametoxazol após tratamento do efluente por diferentes POAs	88
Figura 3 - Remoção dos fármacos investigados por processos oxidativos avançados: O ₃ ; UV (15 W); O ₃ /UV (0,5 mgO ₃ mgCOD ⁻¹ /UV 15 W); H ₂ O ₂ /UV (25 mgH ₂ O ₂ L ⁻¹ /UV 15 W); O ₃ /H ₂ O ₂ /UV (0,5 mgO ₃ mgCOD ⁻¹ / 25 mgH ₂ O ₂ L ⁻¹ /UV 15 W).....	90
Figura 4 - Eficiência de redução de COT e DQO por processos oxidativos avançados. Os dados representam a média e o erro padrão (±). Letras minúsculas nos dados de COT e maiúsculas nos dados de DQO indicam diferença significativa entre os tratamentos (p ≤ 0,05)	95

ARTIGO 4

- Figura 1 - Níveis de TBARS no cérebro, fígado, músculo e brânquias de *A. bimaculatus* expostos, por 14 dias, a efluente sanitário tratado (EST), EST acrescido de fármacos (EST+F) e EST+F pós-tratado com O₃/H₂O₂/UV (ESPT). Os dados representam a média e o erro padrão (±). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) 110
- Figura 2 - Atividade da enzima AChE em cérebro e músculo de *A. bimaculatus* expostos, por 14 dias, a efluente sanitário tratado (EST), EST acrescido de fármacos (EST+F) e EST+F pós-tratado com O₃/H₂O₂/UV (ESPT). Os dados representam a média e o erro padrão (±). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$)..... 112
- Figura 3 - Atividade da enzima CAT em fígado e brânquias de *A. bimaculatus* expostos, por 14 dias, a efluente sanitário tratado (EST), EST acrescido de fármacos (EST+F) e EST+F pós-tratado com O₃/H₂O₂/UV (ESPT). Os dados representam a média e o erro padrão (±). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$)..... 113
- Figura 4 - Atividade da enzima GST em cérebro, músculo e fígado de *A. bimaculatus* expostos, por 14 dias, a efluente sanitário tratado (EST), EST acrescido de fármacos (EST+F) e EST+F pós-tratado com O₃/H₂O₂/UV (ESPT). Os dados representam a média e o erro padrão (±). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$) 115

LISTA DE TABELAS E QUADROS

APRESENTAÇÃO

Quadro 1 - Parâmetros analisados no esgoto e os respectivos métodos e códigos de referência	47
---	----

ARTIGO 1

Tabela 1 - Principais classes terapêuticas e compostos consumidos mundialmente	28
Tabela 2 - Níveis de ocorrência de alguns fármacos em efluentes de ETEs e em águas de rios da Ásia, Europa e América	31
Tabela 3 - Estudos de efeitos ecotoxicológicos pela presença de fármacos no ambiente	34
Tabela 4 - Relação de fármacos e procedimentos analíticos para sua determinação	36
Tabela 5 - Estudos de remoção de fármacos por sistemas biológicos de tratamento	37
Tabela 6 - Estudos sobre remoção de fármacos com processos oxidativos avançados	39

ARTIGO 2

Tabela 1 - Concentrações médias (n=3) dos parâmetros convencionais de monitoramento do efluente na ETE estudada referente a novembro de 2017, março e abril de 2018...	63
Tabela 2 - Concentrações de fármacos detectados no efluente bruto, tratado e no lodo da ETE estudada.....	66

ARTIGO 3

Tabela 1 - Concentrações de fármacos detectados por UHPLC-MS/MS na amostra de efluente sanitário, antes e após incremento de princípios ativos para os ensaios de pós-tratamento	86
Tabela 2 - Parâmetros cinéticos das reações de degradação dos fármacos pelos diferentes POAs estudados: Ordem das reações; constante cinética (K); coeficiente de correlação (R ²) e tempo de meia vida (t _{1/2})	93

ARTIGO 4

Tabela 1 - Concentrações de fármacos detectados por UHPLC-MS/MS nas amostras de efluente sanitário para exposição de <i>A.bimaculatus</i>	109
---	-----

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AChE	Acetilcolinesterase
CAT	Catalase
CG	Cromatografia gasosa, do inglês <i>gas chromatography</i> (GC)
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês <i>high performance liquid chromatography</i> (HPLC)
CPSE	Concentração prevista sem efeito, do inglês <i>Predicted No Effect Concentration</i> (PNEC)
COD	Carbono orgânico dissolvido, do inglês <i>dissolved organic carbon</i> (DOC)
COT	Carbono orgânico total, do inglês <i>total organic carbon</i> (TOC)
DAD	Detector de arranjo de diodos
DBO ₅	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO	Demanda química de oxigênio
DTNB	Ácido 2,2'-dinitro-5,5'-ditiodibenzóico
EC ₅₀	Concentração que provoca efeito adverso em 50% dos indivíduos observados
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético, do inglês, <i>ethylenediamine tetraacetic acid</i>
EFS	Extração em fase sólida, do inglês <i>solid phase extraction</i> (SPE)
EM	Espectrometria de massa, do inglês <i>mass spectrometry</i> (MS)
EST	Efluente sanitário tratado
EST+F	Efluente sanitário tratado acrescido de fármacos
ESPT	Efluente sanitário pós-tratado
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ETE	Estação de tratamento de efluente
EUA	Estados Unidos da América
FBP	Filtro biológico percolador
GST	Glutathione S-Transferase
FL	Detector de fluorescência
IS	Índice de sinergia
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
K	Constante cinética
KI	Iodeto de potássio
K _a	Constante de dissociação
K _d	Coefficiente de sorção sólido-água
kH	Constante da Lei de Henry
K _{ow}	Coefficiente de partição octanol-água
LOD	Limite de detecção do método, do inglês <i>Limit of detection</i>
LOQ	LOQ - Limite de quantificação do método, do inglês <i>Limit of quantification</i>
LPO	Lipoperoxidação ou peroxidação lipídica
MeOH	Metanol
MeCN	Acetonitrila
MO	Matéria Orgânica
MOEf	Matéria orgânica de efluentes
NDIR	Infravermelho não dispersivo, do inglês <i>non-dispersive infrared</i>
NPOC	Fração não purgável de carbono orgânico, do inglês <i>non-purgeable organic carbon</i>

N _{Total}	Nitrogênio total
O ₃	Ozônio
OD	Oxigênio dissolvido
OH ⁻	Íon hidroxila
OH [•]	Radical hidroxila
pH	Potencial hidrogeniônico
POA	Processo oxidativo avançado
P _{Total}	Fósforo total
R ²	Coefficiente de correlação
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, do inglês <i>thiobarbituric acid reactive substances</i>
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TiO ₂	Dióxido de titânio
TOF	Tempo de voo, do inglês <i>time-of-flight</i>
t _{1/2}	Tempo de meia vida
UASB	Reator anaeróbico de manto de lodo de fluxo ascendente, do inglês <i>upflow anaerobic sludge blanket</i>
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência, do inglês <i>ultra-performance liquid chromatography</i>
USGS	Serviço de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos, do inglês <i>United States Geological Survey</i>
UV	Radiação ultravioleta
Vis	Radiação visível

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	23
1.1	INTRODUÇÃO.....	23
1.2	OBJETIVOS.....	25
1.2.1	Objetivo Geral	25
1.2.2	Objetivos Específicos	25
1.3	REFERENCIAL TEÓRICO - ARTIGO 1	26
1.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	44
1.4.1	Coleta das amostras de efluente e lodo biológico	46
1.4.2	Análises físico-químicas e microbiológica do efluente sanitário	46
1.4.3	Determinação de fármacos e hormônios nas amostras de efluente e lodo	48
1.4.4	Ensaio de degradação simultânea de fármacos no efluente sanitário por processos oxidativos avançados	50
1.4.5	Avaliação de alterações bioquímicas e de estresse oxidativo em peixes	53
1.4.6	Análise estatística	55
2	ARTIGO 2 - OCORRÊNCIA E DESTINO DE FÁRMACOS EM EFLUENTE E LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO COMPOSTA POR REATORES UASB E LODOS ATIVADOS NO SUL DO BRASIL	56
2.1	RESUMO	56
2.2	INTRODUÇÃO.....	56
2.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	59
2.3.1	Caracterização da ETE estudada	59
2.3.2	Amostragens de efluente e lodo biológico	60
2.3.3	Análise da eficiência operacional da estação de tratamento de esgoto	60
2.3.4	Determinação de fármacos e hormônios em efluente e lodo biológico	61
2.3.5	Análise da remoção de fármacos e balanço de massa	62
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
2.4.1	Eficiência operacional da ETE estudada	63
2.4.2	Ocorrência de fármacos no efluente e no lodo	66
2.4.3	Mecanismos de remoção de fármacos e análise do balanço de massa	70
2.5	CONCLUSÕES	73
2.6	REFERÊNCIAS	74
3	ARTIGO 3 - DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS EM PÓS-TRATAMENTO DE EFLUENTE SANITÁRIO POR COMBINAÇÃO DE PROCESSOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADA	78
3.1	RESUMO	78
3.2	INTRODUÇÃO.....	78
3.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	81
3.3.1	Origem do efluente sanitário estudado	81
3.3.2	Procedimentos analíticos	81
3.3.3	Procedimento experimental	83
<i>3.3.3.1</i>	<i>Ensaio de degradação com O₃</i>	83
<i>3.3.3.2</i>	<i>Ensaio de degradação com UV</i>	84
<i>3.3.3.3</i>	<i>Ensaio de degradação com O₃/UV</i>	84
<i>3.3.3.4</i>	<i>Ensaio de degradação com H₂O₂/UV</i>	85
<i>3.3.3.5</i>	<i>Ensaio de degradação por O₃/H₂O₂/UV</i>	85

3.4	ANÁLISE DE EFICIÊNCIA DOS POAs NA DEGRADAÇÃO DOS FÁRMACOS	85
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
3.5.1	Análise da cinética de degradação	92
3.5.2	Análise de mineralização e remoção de DQO	95
3.6	CONCLUSÕES	96
3.7	REFERÊNCIAS	97
4	ARTIGO 4 - ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E ESTRESSE OXIDATIVO EM <i>Astyanax bimaculatus</i> PROVOCADOS POR FÁRMACOS EM EFLUENTES SANITÁRIOS	101
4.1	RESUMO	101
4.2	INTRODUÇÃO	101
4.3	MATERIAL E MÉTODOS	104
4.3.1	Origem e coleta do efluente com fármacos	104
4.3.2	Determinação da concentração de fármacos e hormônios no efluente	105
4.4	PEIXES	105
4.5	PROJETO EXPERIMENTAL	106
4.6	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	106
4.6.1	Ensaio de dano oxidativo (TBARS)	107
4.6.2	Ensaio da atividade da Acetilcolinesterase (AChE)	107
4.6.3	Ensaio da atividade da Catalase (CAT)	107
4.6.4	Ensaio da atividade Glutationa S-Transferase (GST)	108
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	108
4.8	RESULTADOS E DISCUSSÃO	108
4.9	CONCLUSÕES	108
4.10	REFERÊNCIAS	108
5	DISCUSSÃO GERAL	122
6	CONCLUSÕES	127
7	SUGESTÕES E RECOMENDAÇÕES PARA FUTURAS PESQUISAS	129
	REFERÊNCIAS	130

1 APRESENTAÇÃO

1.1 INTRODUÇÃO

Os fármacos abrangem milhares de princípios ativos utilizados na formulação de medicamentos, distribuídos em dezenas de classes terapêuticas. Esses medicamentos são amplamente consumidos para prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças em animais e seres humanos (JIANG et al., 2014; SANGION; GRAMATICA, 2016; MARTINI et al., 2018). No entanto, os organismos assimilam cerca de 10 a 50% da dose administrada, sendo o restante excretado pela urina como substância ativa ou como metabólito (MARTINI et al., 2018; MONDAL, SAHA, SINHA, 2018).

Desta forma, fármacos e hormônios chegam às estações de tratamento de esgoto (ETE), onde são parcialmente removidos pelos processos biológicos destinados, prioritariamente, à remoção de matéria orgânica e, eventualmente, de nutrientes (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; EKPEGHERE et al., 2017; IVANOVÁ et al., 2017). Logo, os sistemas convencionais costumam apresentar limitações na remoção de micropoluentes, o que se mostra dependente das propriedades das substâncias e dos processos de tratamento (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; BITTENCOURT et al., 2016). Em função disto, as ETes são consideradas as principais fontes de ingresso de fármacos no ambiente, sobretudo em águas superficiais (LI, 2014; LUO et al., 2014; KNOPP et al., 2016; BALAKRISHNA et al. 2017; CORTES-DIAZ et al., 2017; MIRZAEI et al., 2017; SEHONOVA et al., 2017). Embora, a contaminação também possa ocorrer pelo lançamento de dejetos de animais em solo e água (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012), despejos clandestinos de efluentes, descarte inadequado de medicamentos e embalagens, lixiviado de aterros sanitários, entre outras fontes (PAL et al., 2010; LI 2014; GAVRILESCU et al., 2015; GIEBULTOWICZ; NAŁECZ-JAWECKI, 2016).

As características de produção dos fármacos de causar efeitos biológicos específicos (SIM; LEE; OH, 2010), elevada estabilidade (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012) e alta solubilidade e bioatividade, os tornam contaminantes persistentes no ambiente aquático (LIU et al., 2018), mesmo em baixas concentrações (ng L^{-1}), sendo classificados como micropoluentes (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; USGS, 2018).

Pesquisas indicam que os fármacos podem ocasionar efeitos (eco)toxicológicos a diversos organismos não alvo, especialmente os aquáticos, que contemplam desde distúrbios na reprodução e crescimento de peixes (CARLSSON et al., 2006; GALUS et al., 2013; LIU et

al., 2018), danos aos cloroplastos das algas (VANNINI et al., 2011; LIU et al., 2018), toxicidade aquática (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; GALUS et al., 2013; EBELE; ABDALLAH; HARRAD, 2016; LIU et al., 2017), seleção de microrganismos multirresistentes (LOUREIRO et al., 2016; KLATTE; SCHAEFER; HEMPEL, 2017), como também incidência de cânceres no aparelho reprodutivo de seres humanos, endometriose (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013), abortos espontâneos, entre outros (GIL; MATHIAS, 2005; FARRÉ et al., 2008; KLATTE; SCHAEFER; HEMPEL, 2017). Nesse sentido, as alterações bioquímicas costumam ser as primeiras respostas às mudanças ambientais passíveis de serem detectadas e quantificadas, principalmente alterações nos níveis das atividades enzimáticas, o que torna a avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo uma excelente ferramenta para conhecimento dos efeitos (eco)toxicológicos crônicos (CLASEN et al., 2014; GUILOSKI et al., 2017; PÉREZ et al., 2018; LIU et al., 2018).

Diante dos riscos associados à presença de fármacos no ambiente, não removidos por sistemas convencionais de tratamento, é premente a necessidade de tecnologias que promovam a máxima remoção das substâncias recalcitrantes. Assim, o emprego de sistemas avançados de tratamento, incluindo membranas de filtração, reatores com membranas, processos oxidativos avançados (POAs) e adsorção em carvão ativado, são citados na literatura (JIANG; ZHOU; SHARMA, 2013; LUO et al., 2014; KNOPP et al., 2016; GARZACAMPOS et al., 2016). Porém, processos com membranas de filtração e adsorção em carvão ativado podem ser onerosos e de difícil implantação em larga escala (HANSEN et al., 2016), o que tem contribuído para o aumento de pesquisas com emprego de POAs visando à remoção de fármacos (ZIMMERMANN et al., 2011; DE LA CRUZ et al., 2013; KNOPP et al., 2016; HANSEN et al., 2016; AFONSO-OLIVARES et al., 2016; ALHARBI et al., 2017; KANAKARAJU; GLASS; OELGEMÖLLER, 2018).

Apesar dos estudos realizados, não há registros de uma técnica abrangente que promova a remoção completa de todos os princípios ativos, em poucos minutos, e que elimine qualquer possibilidade de formação de metabólitos mais tóxicos que as substâncias originais. Ademais, há carência de dados sobre ocorrência e comportamento de fármacos durante o tratamento biológico, sobretudo em países em desenvolvimento como o Brasil. Portanto, com o intuito de reduzir a escassez dessas informações e contribuir para a minimização dos impactos causados por fármacos em ambientes aquáticos, esta tese está estruturada em um artigo de revisão da literatura e outros três artigos científicos, que contemplam cada um, umas das etapas de desenvolvimento da pesquisa. Na primeira etapa, foi estudada a ocorrência, destino e remoção de fármacos na maior ETE do Rio Grande do Sul, enquanto que na segunda

avaliou-se diferentes POAs à base de ozônio (O_3), radiação ultravioleta (UV) e combinações com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para degradação simultânea de fármacos em efluente da ETE estudada na etapa 1. Por fim, na terceira etapa realizou-se a avaliação (eco)toxicológica de três amostras de efluentes com diferentes concentrações de fármacos, sendo a primeira de efluente tratado pela ETE estudada, a segunda de efluente acrescido dos principais fármacos detectados e/ou recalcitrantes ao tratamento biológico, e a última de efluente pós-tratado pelo POA de maior eficiência.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral consistiu em estudar a degradação e/ou remoção simultânea de fármacos em efluentes de uma estação de tratamento de esgoto sanitário por processos biológicos e por oxidação avançada à base de ozônio, radiação ultravioleta e combinações com peróxido de hidrogênio.

1.2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram:

- Detectar a ocorrência de fármacos e suas concentrações no efluente e no lodo biológico de uma estação de tratamento de esgoto no Rio Grande do Sul.
- Avaliar a eficiência desse sistema de tratamento na remoção de fármacos e redução das concentrações de parâmetros físico-químicos e microbiológico.
- Estudar a eficiência de degradação simultânea de fármacos no efluente sanitário pelos processos de oxidação avançada com O_3 , radiação UV e as combinações O_3/UV , H_2O_2/UV e $O_3/H_2O_2/UV$.
- Avaliar a eficiência de mineralização dos fármacos nos processos de pós-tratamento oxidativo.
- Verificar possíveis alterações nas características físico-químicas do efluente pós-tratamento oxidativo para descarte final.
- Avaliar a (eco)toxicidade do efluente antes e após aplicação do processo de oxidação que apresente o melhor resultado de degradação e mineralização dos fármacos.

1.3 REFERENCIAL TEÓRICO – ARTIGO 1

Este tópico aborda o estado da arte com informações relevantes para o desenvolvimento da pesquisa, destacando a ocorrência mundial de fármacos em águas residuárias urbanas, seus efeitos (eco)toxicológicos e sistemas de degradação/remoção baseados em processos biológicos e de oxidação avançada. Estas informações estão compiladas em um artigo de revisão de literatura, publicado na Revista DAE, como segue.

revisão de literatura

Revisão sobre fármacos no ambiente

Review of pharmaceuticals in the environment

• **Data de entrada:**
13/06/2017

• **Data de aprovação:**
05/07/2017

Ramiro Pereira Bisognin^{*}/ Delmira Beatriz Wolff/ Elvis Carissimi

DOI:10.4322/dae.2018.009

Resumo

A presença de micropoluentes em águas residuárias e naturais, como fármacos, tem despertado preocupação na comunidade científica devido a sua ocorrência, persistência e potencial deletério à saúde humana e aos ecossistemas. Tal preocupação tem sido impulsionada pela capacidade de detecção de substâncias químicas por equipamentos avançados e métodos mais sensíveis. Dessa forma, estudos de investigação e técnicas de tratamento para degradação de compostos farmacêuticos em matrizes aquosas estão sendo intensificados. Diante da relevância do assunto, este artigo consiste em uma revisão da literatura sobre fármacos largamente encontrados no ambiente, principalmente em águas residuárias e superficiais. **Palavras-chave:** Micropoluentes. Determinação analítica. Tratamento.

Abstract

*The presence of micropollutants in wastewater and natural waters, such as pharmaceuticals, have aroused concern in the scientific community due to their occurrence, persistence and deleterious potential to human health and ecosystems. Such concern has been boosted by the ability to detect chemicals by advanced equipment and more sensitive methods. Thus, research studies and treatment techniques for the degradation of pharmaceutical compounds in aqueous matrices are being intensified. Given the relevance of the subject, this article consists of a review of the literature on pharmaceuticals widely found in the environment, mainly in wastewater and surface water. **Keywords:** Micropollutants. Analytical determination. Treatment.*

Ramiro Pereira Bisognin – Engenheiro Ambiental e de Segurança do Trabalho. Mestre em Tecnologia Ambiental. Doutorando em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Professor da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS).

Delmira Beatriz Wolff – Engenheira Sanitarista e Ambiental. Mestre e Doutora em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Professora da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Elvis Carissimi – Engenheiro Civil. Mestre e Doutor em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (FRGS). Professor da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

***Endereço para correspondência:** Rua Cipriano Barata, n.º 47 – Bairro Érico Veríssimo – Três Passos – RS – CEP 98600-000. Fone: (55) 3522-2895. E-mail: ramirobisognin@yahoo.com.br

1 INTRODUÇÃO

Os fármacos são imprescindíveis para o tratamento de determinadas enfermidades e de suma importância para o reestabelecimento da saúde e melhoria da qualidade de vida. Dentre as principais classes de maior consumo mundial destacam-se analgésicos, anti-inflamatórios, antibióticos, drogas psiquiátricas, reguladores lipídicos, anti-hipertensivos, contraceptivos hormonais, meios de contraste de raios-x, entre outros (BARCELÓ, 2003; SILVA; COLLINS, 2011; JIANG; ZHOU; SARMA, 2013).

Apesar de sua função vital, os fármacos, quando ministrados em dose e prescrição incorretas, podem ser prejudiciais aos seres humanos e animais que, geralmente, apresentam baixa capacidade de absorção dos compostos, cerca de 25% para o caso do corpo humano (KÜMMERER, 2010; VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012). Esses residuais, ao serem excretados pelos organismos no meio ambiente, podem ser rapidamente transformados, permanecer na forma inalterada ou ainda ser conjugados a outras moléculas polares que poderão ativar ou inativar o fármaco (FISCHER; MAJEWSKY, 2014). De acordo com Barceló (2003), os fármacos não precisam persistir no meio ambiente para causar efeitos negativos. Portanto, em função da possibilidade de contaminação do ambiente, os fármacos se enquadram em um grupo de substâncias conhecidas como micropoluentes emergentes, que são encontrados em matrizes ambientais e biológicas em concentrações muito baixas, na ordem de ng L⁻¹ (SILVA; COLLINS, 2011; AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013), mas potencialmente capazes de causar efeitos adversos ecológicos e/ou sobre a saúde humana (SIM; LEE; OH, 2010).

Tendo em vista que os produtos farmacêuticos são originalmente fabricados para causar efeitos biológicos específicos (SIM; LEE; OH, 2010) e que ainda não há regulamentação abrangente para concentrações no meio ambiente (GARZA-CAMPOS et al., 2016), esses compostos têm desper-

tado crescente preocupação entre pesquisadores devido à sua ocorrência, persistência e potencial ecotoxicológico ao meio ambiente e à saúde dos seres humanos (STUMPF et al., 1999; MONTAGNER; JARDIM, 2007; ZHANG et al., 2007; AL-ODANI et al., 2010; AMÉRICO et al., 2012; LÓPEZ-SERNA; PETROVI; BARCELÓ, 2012; RODIL et al., 2012; MARTÍN et al., 2012; GIBS et al., 2013; CAMPANHA et al., 2015; JANK et al., 2014; THOMAS et al., 2014; GAVRILESCU et al., 2015; KRAMER et al., 2015; EBELE; ABDALLAH; HARRAD, 2016; LONAPPAN et al., 2016; BALAKRISHNA et al., 2017; DINH et al., 2017; DODGEN et al., 2017; EKPEGHERE et al., 2017; GROS et al., 2017; MARSIK et al., 2017; MIRZAEI et al., 2017; SUBEDI et al., 2017; YAO et al., 2017).

A contaminação do meio ambiente com produtos farmacêuticos ocorre a partir de fontes antropogênicas pontuais, que contemplam uma única fonte identificável que se origina em locais isolados, como lixiviado de aterros sanitários e emissários de efluentes, bem como por fontes difusas que podem ocorrer de forma discreta por extensas áreas e que apresentam maior potencial de atenuação natural pelo ambiente receptor devido às menores concentrações, como exemplo vazamentos de esgotos (SANTOS et al., 2010; LAPWORTH et al., 2012; LI, 2014; GAVRILESCU et al., 2015).

Em geral, os efluentes são as principais fontes de contaminação dos recursos hídricos com fármacos (BALAKRISHNA et al., 2017; MIRZAEI et al., 2017), uma vez que as estações convencionais de tratamento não são equipadas para eliminar completamente os micropoluentes (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; COSTA JUNIOR et al., 2014; KNOPP et al., 2016; LINNEMANN et al., 2017). Para tanto são necessários sistemas complementares e avançados que normalmente oneram o tratamento (ROSAL et al., 2008; VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; JIANG; ZHOU; SHARMA, 2013; KNOPP et al., 2016; GARZA-CAMPOS et al., 2016).

revisão de literatura

Dentre as possíveis complementações dos sistemas de tratamento de efluentes para remoção de micropoluentes, os processos oxidativos avançados à base de ozônio (O₃) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), combinados com radiação ultravioleta (UV) ou visível (Vis) e/ou com semicondutores (SC) têm recebido grande atenção devido à capacidade de oxidação eficiente dos fármacos (ROSAL et al., 2008; BRITO; SILVA, 2012; FIOREZE; SANTOS; SCHMACHTENBERG, 2014; AFONSO-OLIVARES et al., 2016; KNOPP et al., 2016; HANSEN et al., 2016; ARAÚJO et al., 2016; MIRZAEI et al., 2017; GIANNAKIS et al., 2017). Ademais, é crescente o número de plantas de tratamento que já aplicam O₃, UV ou H₂O₂ em substituição ao cloro para desinfecção (COSTA; CANGERANA, 2016; HANSEN et al., 2016), o que pode indicar sua viabilidade em larga escala quando bem dimensionados.

Ante o exposto, o presente texto traz uma revisão do conteúdo publicado em artigos científicos que englobam os principais micropoluentes farmacêuticos, sua ocorrência em matrizes ambientais, evidências de efeitos ecotoxicológicos, meios modernos de detecção analítica e, por fim, tecnologias de tratamento para sua remoção e/ou degradação.

2 PRINCIPAIS FÁRMACOS CONSUMIDOS NO MUNDO E NO BRASIL

A diversidade de produtos farmacêuticos aumentou significativamente com os avanços tecnológicos e da medicina. Conseqüentemente, existe um extenso número de compostos distribuídos em diferentes classes. A Tabela 1 apresenta as principais classes terapêuticas de fármacos de maior consumo mundial, conforme abordado por Barceló (2003), Silva e Collins (2011), Gavrilescu et al. (2015), Birkholz, Stilson e Elliott (2014), Jiang, Zhou e Sharma (2013) e Pal et al. (2010). Esses autores ainda relatam uma série de outros compostos considerados micropoluentes, mas que não foram computados nesse trabalho por divergirem do escopo.

Tabela 1 - Principais classes terapêuticas e compostos consumidos mundialmente

Classe terapêutica dos fármacos	Exemplo de composto
Antibiótico	Amoxicilina; ampicilina; ciprofloxacina; cefalexina; cefazolina; cefotaxima; claritromicina; cloranfenicol; clortetraciclina; eritromicina; lincomicina; metronidazol; norfloxacina; ofloxacina; penicilina; roxitromicina; sulfametazina; sulfametoxazol; sulfapiridina; trimetoprima; tetraciclina.
Analgésico	Paracetamol; codeína; fenoprofeno; metamizol
Anti-inflamatório	Ácido acetilsalicílico; ácido mefenâmico; ácido tiaprofênico; carprofeno; cetoprofeno; diclofenaco; ibuprofeno; indometacina; loxoprofeno; naproxeno.
Drogas psiquiátricas	Antipirina; 4-aminoantipirina; carbamazepina; citalopram; clonazepam; diazepam; duloxetina; fluoxetina; mirtazapina; paroxetina; sertralina; venlafaxina.
Reguladores lipídicos	Acebutolol; ácido clofibrato; ácido fenofibrato; bezafibrato; gemfibrozila.
Betabloqueadores/ Anti-hipertensivos	Atenolol; ácido amido; bendroflumetiazida; betaxolol; clorotiasida; diltiazem; furosemida; hidroclorotiazida; metoprolol; perindopril; propranolol; sotalol; timolol; valsartana.
Contraste raio-X	Ácido amidotrizóico; diatrizoato; iohexol; iomeprol; iopamidol; iopromide.
Contraceptivos hormonais	Etinilestradiol; desogestrel, mestranol;
Antidiabéticos	Glibenclâmida; gliclazida; metformina.
Anticancerígenos	Ciclofosfamida; ifosfamida

Fonte: Adaptação de Barceló (2003); Silva e Collins (2011); Jiang, Zhou e Sharma (2013); Birkholz, Stilson e Elliott (2014); Gavrilescu et al. (2015).

Alguns dos compostos mencionados na Tabela 1 possuem múltipla ação, logo podem ser enquadrados em diferentes classes, dependendo da abordagem dos autores (BIRKHOLZ; STILSON; ELLIOTT, 2014; GAVRILESCU et al., 2015; JIANG; ZHOU; SHARMA, 2013).

De acordo com Casas-Vásquez, Ortiz-Saavedra e Penny-Montenegro (2016), os idosos são responsáveis pelo consumo de mais de 50% de todos os medicamentos, sendo que mais de 80% deles tomam pelo menos uma medicação diária e 75% sequer comunicam a seus médicos seus tratamentos não convencionais.

Entre as classes de medicamentos, a mais consumida corresponde aos analgésicos e anti-inflamatórios não esteroides (AINE) (ZHANG; GEISSEN; GAL, 2008; LONAPPAN et al., 2016). Isso se deve

ao fato de que na maioria dos países os anti-inflamatórios não esteroides não precisam de prescrições médicas para ser adquiridos em drogarias, além de que constituem a classe de medicamentos mais prescrita por médicos e dentistas.

Apesar do indicativo de crescimento do uso de medicamentos relatado na literatura, as informações disponíveis referem-se a uma estimativa de consumo médio anual, per capita, de 15 g, podendo ser de três a dez vezes maior em países industrializados (50-150 g) (ZHANG; GEISSEN; GAL, 2008; PAL et al., 2010).

Embora a estimativa de consumo para países em desenvolvimento seja menor, o Brasil foge à regra, pois é um dos países com maior consumo de produtos farmacêuticos no mundo, junto com países desenvolvidos como Estados Unidos, França e Alemanha (STUMPF et al., 1999; AMÉRICO et al., 2012; CAMPANHA et al., 2015).

Um estudo realizado por Corrêa, Rodrigues e Macedo (2016), ao avaliar o perfil farmacoterapêutico e a prevalência da polifarmácia (uso simultâneo de vários medicamentos), a partir do prontuário médico de 61 idosos em um lar de Campo Mourão/Paraná, identifica polifarmácia em 67,18% dos casos, sendo 28,14% leves, 34,14% moderados e 4,9% graves. O consumo médio foi de 2,7 medicamentos por idoso, sendo o ácido acetilsalicílico o mais utilizado entre os pacientes, representando 22% do total pesquisado, seguido pelo cloridrato de biperideno com 18%.

3 CONTAMINAÇÃO DO MEIO AMBIENTE COM FÁRMACOS

O elevado consumo e produção de diversos fármacos em todo o mundo, associado a sua incompleta assimilação pelo corpo humano e tendência de persistir no ambiente (KÜMMERER, 2010; VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012) tornaram esses compostos uma classe de micropoluentes

extremamente preocupante para a qualidade ambiental, principalmente dos recursos hídricos.

De acordo com Pereira (2007), a ação dos fármacos administrados a humanos e animais ocorre em três fases. A primeira, denominada de fase farmacêutica, refere-se à desintegração da forma de dosagem, seguida da dissolução da substância ativa. A segunda fase, conhecida como farmacocinética, abrange os processos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção, ou seja, refere-se à assimilação propriamente dita e está relacionada ao tempo em que as moléculas do fármaco ficam no seu local de ação. Por último, tem-se a fase farmacodinâmica, na qual ocorre a interação do fármaco com o seu receptor e, conseqüentemente, a produção do efeito terapêutico.

Como resultado da biotransformação dos fármacos, muitos de seus metabólitos são excretados pela urina e pelas fezes e, conseqüentemente, são liberados no meio ambiente ou, ainda, são descartados nas suas formas originais, o que é comum com meios de contraste de raios-X (SANTOS et al., 2010).

Contudo, a contaminação do meio ambiente com produtos farmacêuticos e seus metabólitos pode ocorrer por várias outras fontes antropogênicas pontuais e/ou difusas (LAPWORTH et al., 2012), como já mencionado. As fontes pontuais envolvem, por exemplo, lixiviado de aterros sanitários, emissários de efluentes domésticos, hospitalares e industriais, cujos principais receptores são o solo e as águas superficiais e subterrâneas (LI, 2014). Já as fontes difusas, por vezes de difícil identificação, contemplam dejetos de animais pela exploração pecuária e a aplicação desses dejetos em áreas agrícolas, descarte clandestino de efluentes domésticos, vazamentos nas redes de esgoto e, ainda, a eliminação inadequada de medicamentos não utilizados ou vencidos em diferentes locais (ZHANG; GEISSEN; GAL, 2008; SANTOS et al., 2010; LI, 2014; GAVRILESCU et al., 2015).

revisão de literatura

Independentemente da fonte, muitos fármacos e seus metabólitos têm como destino final, direta ou indiretamente, os corpos hídricos e os sedimentos, onde podem persistir e retornar aos seres humanos e animais pelo consumo das águas (SANTOS et al., 2010; GAVRILESCU et al., 2015).

Os fármacos, por serem fabricados com o propósito de causar efeito biológico e terapêutico, possuem características prejudiciais ao ambiente, como estabilidade e persistência por longos períodos (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012). Cerca de 30% dos fármacos desenvolvidos são lipofílicos, com hidrossolubilidade inferior a 10%, o que favorece sua sorção às partículas sólidas e sedimentos dos ambientes aquáticos ou então a sua transferência para biota local, por assimilação (GIL; MATHIAS, 2005; COSTA JUNIOR et al., 2014).

Após a deposição no ambiente, o comportamento dos fármacos é regulado por vários processos de transporte, transferência e transformação, que incluem sorção, fotólise, biodegradação, reações redox, fotodegradação, dissolução e hidrólise com menor ocorrência (KÜMMERER, 2009; HYLAND et al., 2012). O desencadeamento e a intensidade desses processos dependem das propriedades físico-químicas do fármaco, da sua concentração e das características do ambiente (KEMPER, 2008).

As principais propriedades dos fármacos potencialmente capazes de afetar seu comportamento no ambiente dizem respeito a sua estrutura molecular, polaridade, constante de dissociação (K_a), solubilidade em água, coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}), coeficiente de sorção sólido-água (K_d) e persistência (BITTENCOURT et al., 2016).

3.1 Ocorrência mundial de fármacos em águas residuárias e corpos hídricos

Não há estudos que comprovem o conhecimento exato sobre o caminho percorrido por um fármaco no meio ambiente, desde a sua produção até sua total degradação, haja vista a influência das características tanto da substância quanto do ambiente (KEMPER, 2008). Contudo, para Petrie, Barden e Kasprzyk-Hordén (2015) os sedimentos, a biota e a água representam os compartimentos ambientais com maior contaminação.

A Tabela 2 apresenta um levantamento da literatura mundial, a partir de 17 artigos publicados entre 1999 a 2017, sobre a ocorrência e concentração de fármacos detectados na Ásia, Europa e América, bem como reporta os valores mais baixos das concentrações previstas sem efeito (CPSE), ou seja, concentrações em que não se observam efeitos adversos em espécies mais sensíveis como peixes, microcrustáceos ou algas.

De acordo com as investigações compiladas na Tabela 2, percebe-se uma grande variedade nas classes terapêuticas dos compostos detectados. Também é nítida a amplitude entre concentrações mínimas e máximas dos medicamentos nas regiões avaliadas, sobretudo em amostras de efluentes que, além de apresentarem maior variedade de compostos, também apresentaram as maiores concentrações. Tal fato está relacionado à quantidade de medicamentos consumidos e à baixa eficiência dos sistemas de tratamento (PAL et al., 2010; GAVRILESCU et al., 2015). Em comparação aos efluentes, as águas superficiais apresentam uma atenuação das concentrações que pode ocorrer pelos processos já descritos, conforme Kümmerer (2009) e Hyland et al. (2012).

Tabela 2 - Níveis de ocorrência de alguns fármacos em efluentes de ETEs e em águas de rios da Ásia, Europa e América

Compostos	Faixa de concentração (ng L ⁻¹)								Menor valor CPSE (ng L ⁻¹) ^a
	Ásia ^{a, b, c, d}		Europa ^{e, f, g, h, i}				América ^{j, k, l, m, n, o, p, q}		
	Efluente Taiwan, Índia, Malásia	Rios de água doce Vietnã, Malásia	Efluente Espanha, França	Rios de água doce Espanha, Rep. Tcheca	Afluente/ETE Espanha	Efluente/ETE Espanha	Efluente EUA, Brasil	Rios de água doce EUA, Brasil	
Antibióticos									
Trimetoprima	1 - 4.010	1.808	100 - 3.800	59,9	ND	ND	2.550	145	1.000
Ciprofloxacina	8 - 12.900	NA	100 - 1.900	NA	NA	NA	NA	80	20
Sulfametoxazol	3 - 5.823	4.330	100 - 6.300	33	ND	ND	310	250	20.000
Cefalexina	31.433	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-
Lincomicina	111.667	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-
Eritromicina	1 - 5.177	NA	100-900	NA	NA	NA	NA	24	40
Analgésicos/anti-inflamatórios									
Naproxeno	11 - 8.463	NA	<10 - 2.500	0-1.423,8	2.540 - 4.090	990 - 2.580	70 - 1.550	<1 - 390	37.000
Ibuprofeno	145 - 14.500	30	<10 - 12.000	0-3.210	12.900-50.600	1.050 - 8.000	230 - 54.200	<1 - 22.300	5.000
Cetoprofeno	5,04 - 1.080	620	<10 - 650	0-929,8	1.690 - 2.110	880 - 940	NA	10	15,6.10 ⁶
Diclofenaco	17 - 29.767	62 - 217	<10 - 700	0-1.080	720	90 - 740	270 - 4.200	60 - 6.000	10.000
Ácido salicílico	34	36	500 - 9.500	NA	12.600-31.700	100 - 3.170	NA	NA	-
Acetaminofeno	70 - 100.433	10	NA	NA	NA	NA	18.100 - 59.000	25 - 8.300	9.200
Antiepilépticos									
Carbamazepina	22 - 10.933	120	<10 - 250	366	70 - 970	50 - 150	1.550	43 - 620	25.000
Betabloqueadores									
Propranolol	7,98 - 51	NA	<10 - 90	NA	200 - 390	210 - 370	NA	20 - 40	500
Reguladores lipídicos									
Ácido clofibríco	NA	NA	<10 - 500	NA	ND	ND	NA	3 - 300	12.000
Genfibrozila	NA	NA	NA	NA	1.230 - 2.690	1.520 - 3.070	NA	10	100.000
Psicoestimulante									
Cafeína	16 - 61.000	NA	NA	568	NA	NA	NA	<1 - 41.700	>10.10 ⁶

Legenda: ETE: Estação de tratamento de efluente; ND: Não detectado; NA: Não avaliado; CPSE: Concentração prevista sem efeito.

Fontes: ^aLin; Yu; Lin (2008); ^bHoa et al. (2011); ^cBalakrishna et al. (2017); ^dAl-Odaini et al. (2010); ^eMartín et al. (2012); ^fDinh et al. (2017); ^gMarsik et al. (2017); ^hRodil et al. (2012); ⁱLópez-Serna; Petrovi; Barceló (2012); ^jGibs et al. (2013); ^kZhang et al. (2007); ^lSodré, Montagner e Jardim (2007); ^mCampanha et al. (2015); ⁿAmérico et al. (2012); ^oStumpf et al. (1999); ^pThomas et al. (2014) e ^qBrown et al. (2006).

Ainda com base na Tabela 2, os antibióticos trimetoprima, ciprofloxacina e eritromicina, e os anti-inflamatórios ibuprofeno e diclofenaco, assim como o analgésico acetaminofeno, apresentaram, em algum momento, concentrações superiores a CPSE. Também excederam a CPSE o antibiótico trimetoprima e o anti-inflamatório ibuprofeno em efluentes na América, especificamente no Novo México (BROWN et al., 2006).

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINES) constituem a classe de medicamentos mais pres-

crita mundialmente; por conseguinte, a ocorrência desses compostos no meio aquático é bastante comum. Marsik et al. (2017) avaliaram a concentração de cinco desses compostos _ ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno, cetoprofeno e indometacina _ em 29 locais, incluindo áreas urbanas e rurais, de cursos d'água da bacia do Rio Elba na República Tcheca, em 2011. Os autores observaram, apesar da variação nos pontos de amostragem, estabilidade na quantidade total de compostos durante o período de monitoramento,

revisão de literatura

com apenas um leve aumento nos meses de primavera e de outono. O ibuprofeno foi o fármaco mais abundante, com concentração máxima de 3.210 ng L⁻¹, seguido por naproxeno, diclofenaco e cetoprofeno (1.423,8 ng L⁻¹, 1.080 ng L⁻¹ e 929 ng L⁻¹, respectivamente).

Um levantamento similar da literatura foi realizado por Pal et al. (2010), com 22 artigos publicados entre os anos de 2006 e 2009, sobre a ocorrência e concentração de produtos farmacêuticos em ETES e águas superficiais na América do Norte, Europa, Ásia e Austrália. Segundo os autores, a maioria das amostras em que foram detectadas a trimetoprima e a ciprofloxacina nos efluentes apresentaram concentrações mais elevadas do que a CPSE para os dois antibióticos, assim como neste levantamento (Tabela 2) com países da Ásia e Europa.

Outro estudo da literatura realizado por Li (2014) analisou a ocorrência e concentração de fármacos em efluentes, rios e canais de água doce e em águas subterrâneas da América, Europa e Ásia a partir de estudos realizados entre 2006 e 2013, e também observou elevada concentração de trimetoprima (2.000 ng L⁻¹) em efluentes nas estações de tratamento da Ásia.

Dodgen et al. (2017), ao avaliarem a contaminação de aquíferos de 13 locais no planalto de Salem, sudoeste de Illinois - EUA, detectaram a presença de hormônios em 23% das 58 amostras de água, com concentrações de 2,2 a 9,1 ng L⁻¹. A presença de produtos farmacêuticos foi detectada em 89% das amostras de água subterrânea, com destaque para o antimicrobiano triclocarban, verificado em 81% das amostras, com concentração máxima de 3,70 ng L⁻¹, seguido pelo medicamento cardiovascular genfibrozila, detectado em 57% das amostras, com concentração máxima de 119 ng L⁻¹.

Yao et al. (2017) investigaram a ocorrência de 14 antibióticos em águas subterrâneas e superficiais na planície de Jiangnan na China. A eritromicina foi o antibiótico predominante em amostras de água

superficiais, detectado em concentrações que variaram de 546 ng L⁻¹ no inverno a 1.600 ng L⁻¹ na primavera. Nas águas subterrâneas avaliadas em 10, 25 e 50 m de profundidade, os antibióticos fluoroquinolonas e tetraciclina foram predominantes. A maioria dos pontos investigados apresentou redução na concentração à medida que se aumentava a profundidade.

Países da Ásia, Europa e América possuem maior número de publicações e dados de investigação da presença de fármacos no ambiente. No entanto, apesar de terem sido publicados estudos no Brasil com significativas concentrações de paracetamol, ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, diclofenaco, cafeína e carbamazepina (STUMPF et al., 1999; SODRÉ; MONTAGNER; JARDIM, 2007; CAMPANHA et al., 2015; THOMAS et al., 2014), principalmente em águas superficiais, o país ainda carece de investigações quanto à presença de medicamentos em diferentes matrizes ambientais, especialmente em efluentes (AMÉRICO et al., 2012), haja vista o potencial de contaminação dos corpos hídricos. Contudo, outros estudos relevantes para o país estão apresentados a seguir.

Kramer et al. (2015) avaliaram a contaminação das águas superficiais e sedimentos na Bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu, em Curitiba-PR, durante um ano em quatro campanhas de análise de água e três de sedimentos, pelos anti-inflamatórios ibuprofeno e diclofenaco e pelo analgésico paracetamol. O estudo detectou ibuprofeno no rio Belém em concentrações elevadas, como 729 ng L⁻¹. O diclofenaco foi amplamente detectado na água, apresentando concentrações de 285 ng L⁻¹ na terceira coleta no rio Iguaçu. O paracetamol foi frequentemente quantificado na água, principalmente nos rios Iguaçu e Belém, além de ter sido determinado nos sedimentos, especialmente no rio Barigui, onde alcançou 6.896 ng.g⁻¹.

Jank et al. (2014), ao avaliarem oito antibióticos de diferentes classes, de janeiro a agosto de 2011,

em 16 amostras de águas residuárias, afluentes e efluentes de uma estação de tratamento que utiliza tratamento biológico convencional no município de Porto Alegre-RS, verificaram a presença de sulfametoxazol e trimetoprima em concentrações superiores a 10 ng L^{-1} e inferiores a 6.500 ng L^{-1} , entre outros compostos em menor quantidade, a exemplo da eritromicina. Também foi investigada a presença de antibióticos em oito amostras de água superficial do Arroio Dilúvio, em fevereiro de 2012, tendo sido detectados sulfametoxazol, trimetoprima, azitromicina, ciprofloxacina e norfloxacina nas seguintes faixas de concentração: $376\text{-}572 \text{ ng L}^{-1}$, $27\text{-}94 \text{ ng L}^{-1}$, $24\text{-}40 \text{ ng L}^{-1}$, $16\text{-}66 \text{ ng L}^{-1}$ e $30\text{-}54 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente.

Por fim, Machado et al. (2016) avaliaram a presença de diferentes classes de poluentes emergentes em 100 amostras de água potável coletadas diretamente da torneira, e de sete amostras de água superficial de 22 capitais brasileiras nos meses de junho a setembro de 2011, e no mesmo período de 2012. Os autores encontraram cafeína, triclosan, atrazina, fenoltaleína e bisfenol A, em pelo menos uma das amostras. A cafeína e a atrazina foram as substâncias mais detectadas na água potável, em 93% e 75% das amostras, respectivamente, assim como foram detectadas em 100% das amostras de água superficial. As concentrações de cafeína em água potável variaram de 1,8 a 2.769 ng L^{-1} , respectivamente nas cidades de Porto Velho/Rondônia e Porto Alegre/Rio Grande do Sul. Os elevados teores de cafeína em Porto Alegre foram atribuídos, pelos autores, aos hábitos culturais do gaúcho de tomar chimarrão com erva mate, rica em cafeína.

3.2 Efeitos ecotoxicológicos dos fármacos no ambiente e riscos à saúde humana

Os produtos farmacêuticos são desenvolvidos especialmente para intervir e provocar perturbações nos sistemas bioquímicos de organismos vivos,

logo já era de se esperar que os medicamentos pudessem apresentar potencial ecotoxicológico e efeitos adversos à vida e à qualidade ambiental dos ecossistemas (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; GALUS et al., 2013). No entanto, há uma grande dificuldade de identificar tais efeitos, seja pela complexidade dos métodos de detecção dos compostos, pelos custos elevados e também pela rara observação da toxicidade aguda nos organismos, mesmo em concentrações significativas, tornando os efeitos ecotoxicológicos pouco conhecidos em longo prazo (COSTA JUNIOR et al., 2014; MACHADO et al., 2016).

Apesar das limitações, a avaliação dos possíveis efeitos adversos de produtos farmacêuticos é realizada por meio de testes de toxicidade, em condições controladas de laboratório, utilizando organismos de diferentes níveis tróficos, como algas, invertebrados, bactérias e peixes (FARRÉ et al., 2008; GAVRILESCU et al., 2015; PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDEN, 2015). Os organismos-teste mais utilizados nesses casos, porém, são os peixes *Danio rerio* e *Pimephales promelas* e o microcrustáceo *Daphnia magna*, a partir de métodos padronizados que mensuram as concentrações que podem causar estresse oxidativo e/ou mortalidade dos organismos-teste, como a EC_{50} (*Effect Concentration 50%*), ou seja, a concentração em que a substância provoca efeito adverso em 50% dos indivíduos observados, (GALUS et al., 2013; PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDEN, 2015).

Estudos de toxicidade aguda de produtos farmacêuticos em organismos de diferentes níveis tróficos revelam que as classes de compostos mais impactantes são antidepressivos, antibióticos, antipsicóticos, medicamentos cardiovasculares, anti-neoplásicos, além de hormônios naturais e sintéticos, em função de suas propriedades recalcitrantes (FARRÉ et al., 2008). Entre os efeitos adversos relatados na literatura têm-se: toxicidade aquática, genotoxicidade, perturbação endócrina em animais selvagens, seleção de bactérias multirresistentes,

revisão de literatura

feminização de peixes masculinos, além daqueles especialmente relacionados a humanos, como aumento da incidência de câncer de mama, testicular e próstata, redução da contagem de espermatozoides, infertilidade, abortos espontâneos, distúrbios metabólicos, incidência de tumores malignos, endometriose e os riscos associados a resistência de bactérias a antibióticos (GIL; MATHIAS, 2005; SILVA; COLLINS, 2011; VERLICCHI; AUKIDY; ZAM-

BELLO, 2012; AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; GALUS et al., 2013; GAVRILESCU et al., 2014; MACHADO et al., 2016).

A Tabela 3 apresenta uma síntese de estudos de avaliação dos efeitos toxicológicos de produtos farmacêuticos, usando invertebrados de água doce, peixes, algas e até mesmo células embrionárias de humanos.

Tabela 3 - Estudos de efeitos ecotoxicológicos pela presença de fármacos no ambiente

Composto e dose de risco observada	Efeito ecotoxicológico	Referência
Diclofenaco: concentrações da ordem de mg L ⁻¹	Altas taxas de mortalidade de <i>Daphnia magna</i> para diferentes testes em 48 horas de exposição, sendo que os valores de EC50 foram observados em concentrações de 22,4 mg L ⁻¹ e 39,9 mg L ⁻¹	Haap; Triebeskorn; Kohler (2008)
Diclofenaco: 0; 0,5; 1; 5 e 25 µg L ⁻¹	Necrose tubular no rim, hiperplasia, fusão das vilosidades no intestino de trutas arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) a 1 µg L ⁻¹ e alterações nos genes de controle do metabolismo	Mehinto; Hill; Tyler (2010)
Diclofenaco: concentrações inferiores a 100 ng L ⁻¹	Efeitos adversos na estrutura e função de comunidades de biofilmes de rios	Lonappan et al. (2016)
Ibuprofeno: 92 e 920 ng L ⁻¹ ; Carbamazepina: 150 mg L ⁻¹	Alteração nos cloroplastos de algas, interferindo na fotossíntese	Vannini et al. (2011)
Diltiazem, acetaminofeno e sulfametoxazol: 8.200–271.300 ng L ⁻¹	Toxicidade para <i>Daphnia magna</i> , principalmente Diltiazem que apresentou concentração letal em 8,2 mg L ⁻¹	Kim et al. (2007)
Mistura de atenolol, bezafibrato, carbamazepina, ciclofosfamida, ciprofloxacina, furosemida, hidroclorotiazida, ibuprofeno, lincomicina, ofloxacina, ranitidina, salbutamol e sulfametoxazol: 10-1.000 ng L ⁻¹	Inibição do crescimento de células dos rins de embriões humanos (30% de diminuição na proliferação comparado aos controles)	Pomati et al. (2006)

Como observado na Tabela 3, a toxicidade de misturas complexas de fármacos também tem sido investigada por alguns autores, sendo constatado maior potencial de ecotoxicidade. Ebele, Abdallah e Harrad (2016) avaliaram a mistura de carbamazepina com ácido clofibrico e verificaram efeitos mais fortes para *Daphnia magna* do que os compostos isolados na mesma concentração. Outra investigação com a exposição crônica de *Danio rerio* a concentrações ambientalmente relevantes (0,5 a 10 µg L⁻¹) de acetaminofeno, carbamazepina, genfibrozila e venlafaxina provocou alterações na estrutura e composição ovariana de fêmeas expostas a carbamazepina e genfibrozila, com efeito direto

no desenvolvimento de células germinativas e, conseqüentemente, redução da fecundidade. Os compostos também promoveram alterações em túbulos próximos ao rim e na estrutura de tecidos do fígado, e quando foram todos misturados, mesmo em concentrações de 0,5 µg L⁻¹, elevaram a mortalidade de embriões (GALUS et al., 2013).

Outro problema acarretado pela presença de produtos farmacêuticos no ambiente, com grave repercussão na saúde pública, é a multirresistência de bactérias expostas a antibióticos por longos períodos a baixas concentrações (BIRKHOLZ; STILSON; ELLIOTT, 2014).

Portanto, a presença de produtos farmacêuticos no ambiente sugere riscos e impactos negativos na saúde e na reprodução das populações expostas.

4 DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE FÁRMACOS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

As primeiras detecções de contaminação ambiental com micropoluentes foram relatadas na década de 1970 nos EUA e 1980 na Inglaterra. No entanto, foi com o avanço das técnicas analíticas e o desenvolvimento de equipamentos mais sensíveis que, a partir de meados dos anos 90, os micropoluentes passaram a receber maior atenção, sendo os fármacos, atualmente, um dos principais analitos investigados (SANTOS et al., 2010; SILVA; COLLINS, 2011).

Para alcançar resultados satisfatórios na determinação de fármacos em matrizes aquosas, a etapa de extração, limpeza e concentração dos analitos é crucial, em virtude das baixas concentrações em que os compostos se apresentam no meio ambiente (PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDEN, 2015). Petrovic et al. (2005) informam que a extração em fase sólida (EFS) é a técnica mais utilizada para amostras líquidas, entre tantas outras existentes. A EFS baseia-se em cartuchos contendo adsorventes, pelos quais a amostra percola. Nesse instante os analitos são pré-concentrados para que na próxima etapa, conhecida como eluição, sejam eluídos para só então serem analisados.

A análise dos produtos farmacêuticos em matrizes ambientais é realizada por cromatografia, e a seleção da técnica de separação do poluente de interesse é feita com base nas propriedades físico-químicas do composto, como volatilidade e polaridade (GIGER, 2009; SILVA; COLLINS, 2011).

Poluentes voláteis, semivoláteis e lipofílicos são frequentemente separados por cromatografia gasosa (CG), enquanto compostos com polaridade mais alta e volatilidade mais baixa são mais facilmente separados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Como a maioria dos fármacos apresenta polaridade intermediária e se enquadra dentro de uma zona de interface, pode ser separada pelos dois métodos (GIGER, 2009; SILVA; COLLINS, 2011).

No entanto, métodos de separação por CLAE passaram a ser as técnicas mais empregadas para investigação de fármacos (NEBOT, GIBB e BOYD, 2007; THOMAS et al., 2014; CAMPANHA et al., 2015; JANK et al., 2014; MACHADO et al., 2016), haja vista a possibilidade de identificação de substâncias em matrizes como águas superficiais, efluentes, solos, sedimentos, lodos, amostras biológicas, bem como em alimentos, com limites de detecção da ordem de ng L⁻¹ (COSTA JUNIOR et al., 2014).

Em virtude do desenvolvimento de vários métodos e técnicas de detecção de fármacos em matrizes ambientais, especialmente aquosas, a Tabela 4 apresenta uma síntese de estudos com a relação de fármacos, matriz de avaliação e procedimento analítico empregado.

Tabela 4 - Relação de fármacos e procedimentos analíticos para sua determinação

Fármaco detectado	Matriz de avaliação	Procedimento analítico	Referência
Ácido acetilsalicílico, ácido clofibrato, ácido fenofibrato, bezafibrato, cetoprofeno, diclofenaco, genfibrozila e ibuprofeno	Águas doces superficiais e de abastecimento	EFS; CG-EM	Stumpf et al. (1999)
Ácido clofibrato, ácido mefenâmico, dextropropoxifeno, diclofenaco, eritromicina, ibuprofeno, lofepramina, paracetamol, propanolol, sulfametoxazol, tamoxifeno e trimetoprima	Águas doces superficiais, de abastecimento humano e de mar	EFS, cartucho Strata™ X; CLAE - EM/EM	Nebot; Gibb; Boyd (2007)
Ácido acetilsalicílico, cafeína e paracetamol	Águas doces superficiais	EFS; CLAE/UV/DAD e FL	Sodré, Montagner e Jardim (2007)
Diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, paracetamol e piroxicam	Águas residuárias	EFS; CLAE/UV/DAD	Américo et al. (2012)
Amitriptilina, diclofenaco, carbamazepina, citalopram, metoprolol, propanolol e sertralina.	Águas doces superficiais	EFS; CLAE - EM	Thomas et al. (2014)
Atenolol, cafeína, carbamazepina, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, paracetamol, propanolol e triclosan	Águas doces superficiais	EFS; CLAE - EM	Campanha et al. (2015)
Azitromicina, ciprofloxacina, eritromicina, norfloxacina, sulfametoxazol, trimetoprima entre outros.	Água doce superficial e águas residuárias	EFS; CLAE - EM/EM	Jank et al. (2014)
Acetaminofeno, ácido salicílico, diclofenaco, além de bisfenol-A	Águas doces superficiais	EFS; CLAE - EM - TOF	Lopes et al. (2016)
Cafeína entre outros compostos não fármacos	Águas doces superficiais e de abastecimento	EFS; CLAE - EM/EM	Machado et al. (2016)
Cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, indometacina e naproxeno	Águas doces superficiais	EFS; CGxCG - EM - TOF	Marsik et al. (2017)

Legenda: EFS: extração em fase sólida. CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência. EM: Espectrometria de massa. EM/EM: Espectrometria de massa em série. UV: Detector na faixa do ultravioleta. DAD: Detector de arranjo de diodos. FL: Detector de fluorescência. EM-TOF: Espectrometria de massa de tempo de voo, do inglês time-of-flight. CGxCG: Cromatografia gasosa bidimensional altamente sensível.

Os procedimentos analíticos empregados para determinação dos fármacos nas amostras líquidas de todos os trabalhos compilados na Tabela 4 envolveram EFS. Esses estudos utilizaram diferentes tipos de cartuchos com sorventes para uma ampla faixa de polaridade de analitos, mas todos utilizaram separação por cromatografia, com o predomínio da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector por espectrometria de massas em tandem (CLAE-EM/EM).

Lonappan et al. (2016) desenvolveram um método rápido e sensível para quantificação de diclofenaco em águas residuárias e no lodo baseado na dessorção térmica do diodo laser/e ionização química à pressão atmosférica acoplado em espectrômetro de massa em tandem (EM/EM). Ao comparar o método desenvolvido com o método convencional CLAE-EM/EM, os autores observaram uma drástica redução do tempo de análise, sendo de 12 segundos para o método desenvolvido e 12 minutos para o convencional. Os limites de detecção e quantificação para o método de-

envolvido foram de 270 ng L⁻¹ e 1.000 ng L⁻¹, respectivamente. Os autores ainda compararam dois métodos para extração do diclofenaco do lodo de esgoto, extração assistida por ultra-som e extração acelerada de solvente. A extração acelerada de solvente foi mais efetiva, com 95,6 ± 7% de recuperação, enquanto a extração assistida por ultra-som apresentou 86 ± 4% de recuperação.

Os trabalhos mencionados são exemplos de que as pesquisas têm permitido a otimização dos processos de detecção de fármacos no ambiente.

5 REMOÇÃO DE FÁRMACOS DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Os principais sistemas convencionais de tratamento de esgoto sanitário utilizam reatores biológicos como lodos ativados, UASB (do inglês upflow anaerobic sludge blanket), filtros biológicos percoladores (FBP) e sistemas naturais como lagoas de estabilização e wetlands (alagados

construídos). No entanto, estudos com lodos ativados predominam na literatura (STUMPF et al., 1999; SUÁREZ et al., 2008; HYLAND et al., 2012; FISCHER; MAJEWSKY, 2014; GRANDCLÉMENT et al., 2017; GROS et al., 2017; BALAKRISHNA et al., 2017), principalmente porque os demais sistemas não são muito utilizados nos países que mais desenvolvem pesquisas com fármacos, como EUA, Canadá, Coreia, China, Japão e países europeus (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013).

Contudo, as principais vias de degradação dos fármacos durante o tratamento por lodos ativados se resumem aos processos de biodegradação metabólica e co-metabólica, e sorção em flocos do lodo, podendo ocorrer ainda degradação química por processo abiótico (HYLAND et al., 2012; BITTENCOURT et al., 2016; GRANDCLÉMENT et al., 2017). Para produtos farmacêuticos, a volatilização é desprezível, pois além da elevada massa molar a constante da Lei de Henry (KH), que determina o equilíbrio entre moléculas em solução na fase líquida

com aquelas presentes na fase gasosa, costuma apresentar valores abaixo do mínimo (KH 10-5) para haver volatilização (SUÁREZ et al., 2008).

No processo de biodegradação, os microrganismos nitrificantes possuem papel extremamente importante na remoção de fármacos, pois ao oxidar a amônia em nitrato podem também oxidar metabolicamente os micropoluentes orgânicos devido à presença da enzima amônia mono-oxigenase (MARGOT et al., 2016). As biodegradações co-metabólicas também apresentam caráter significativo na remoção de fármacos, já que por causa da complexidade dos compostos e das suas concentrações muito baixas podem não servir como substrato facilmente acessível aos microrganismos em um primeiro momento (FISCHER; MAJEWSKY, 2014; GRANDCLÉMENT et al., 2017). Portanto, a biodegradação associada à sorção em lodo pode promover a redução das concentrações de alguns produtos farmacêuticos em sistemas biológicos, como apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Estudos de remoção de fármacos por sistemas biológicos de tratamento

Características do estudo	Principais resultados	Referência
Avaliaram 44 substâncias, entre elas acetaminofeno, ibuprofeno, diclofenaco, cafeína, losartan e furosemida, em três ETs de médio porte contendo lodos ativados convencional na Suécia	Dois ETs apresentaram eficiência praticamente nula e elevação na concentração após tratamento, enquanto a terceira apresentou eficiência inferior a 75% na remoção dos principais compostos analisados	Gros et al. (2017)
Avaliaram 29 fármacos e seis metabólitos em duas ETs na Índia. A primeira composta por lodos ativados e a segunda UASB + lodos ativados	Compostos como carbamazepina, diazepam e clopidogrel tiveram eficiência nula ou aumentaram para o primeiro sistema, enquanto o tratamento adicional com reator UASB possibilitou remoção significativa (até 95%) dos mesmos compostos	Subedi et al. (2017)
Estudaram a remoção de 16 micropoluentes em um reator UASB acoplado a um biorreator híbrido aeróbio de membrana na Espanha, com baixo tempo de detenção hidráulica	Sulfametoxazol, trimetoprima e naproxeno demonstraram ser biodegradáveis em condições anaeróbias (84 a 90%). Carbamazepina, diazepam, diclofenaco, fluoxetina e etinilestradiol apresentaram remoção inferior a 40% pelo sistema anaeróbio-aeróbio. Ibuprofeno, estrona e estradiol se mostraram altamente biotransformados em condições aeróbias (>70%)	Alvarino et al. (2016)
Avaliaram o efeito da aeração forçada em um wetland construído em escala piloto na remoção de produtos farmacêuticos	Remoção da metformina e valsartan foi aumentada pela aeração contínua: 99 ± 1% com aeração; 68 ± 32% sem aeração para metformina e 99 ± 1% e 17 ± 19%, respectivamente, para valsartan	Auvinen et al. (2017)

Balakrishna et al. (2017) realizaram um estudo de revisão da literatura, no qual 12 publicações descrevem a ocorrência de produtos farmacêuticos e

de higiene pessoal em águas residuárias tratadas por sistemas de lodos ativados convencional, na Índia. Entre os compostos detectados, aqueles que

revisão de literatura

apresentaram concentrações mais elevadas no esgoto doméstico foram carbamazepina, atenolol, triclocarban, triclosan, trimetoprima, sulfametoxazol, ibuprofeno, acetaminofeno e cafeína. Foi verificado um acréscimo na concentração de carbamazepina, após os tratamentos, em quatro dos sete estudos compilados, e eficiência máxima de 56,2% em um dos estudos, demonstrando seu potencial de persistência. Apesar de também terem sido reportados elevações nas concentrações de sulfametoxazol, trimetoprima, cafeína e atenolol nos estudos compilados, as eficiências predominaram, com máximas de 86,90%, 58,15%, 99,36% e 91,51%, respectivamente. Quanto ao triclocarban, triclosan, ibuprofeno e acetaminofeno, não foram relatadas elevações nas concentrações nos 12 estudos, e as eficiências máximas foram de 95,79%, 77,35%, 82,61% e 92,44%, respectivamente.

Outro estudo de revisão da literatura realizado por Aquino, Brandt e Chernicharo (2013) com 18 estudos publicados entre 1999 e 2012 resumiu a remoção dos fármacos diclofenaco, sulfametoxazol, trimetoprima e bezafibrato, entre outros desreguladores endócrinos, em FBP, lagoas de estabilização, wetlands construídos e reatores UASB. Os autores descreveram eficiências intermediárias ou elevadas para os sistemas naturais de tratamento, a exemplo das lagoas de estabilização, cuja remoção máxima dos compostos supracitados foi de 70, 78, 94 e 42%, respectivamente. As eficiências máximas obtidas em wetlands construídos foram de 96% para diclofenaco, 66% para sulfametoxazol e 56% para trimetoprima. De acordo com Auvinen et al. (2017), os sistemas naturais, em especial wetlands construídos, podem remover fármacos por diferentes mecanismos, tais como fotólise, absorção pelas plantas, biodegradação, maior tempo de detenção hidráulica, e sorção no lodo e/ou meio suporte. Além disso, podem ser estabelecidas condições aeróbias, anaeróbias e anóxicas que favorecem a redução de diferentes compostos.

Como uma possível consequência da adsorção dos fármacos no lodo em estações de tratamento, Ekpeghere et al. (2017) relataram elevadas concentrações de 24 compostos pertencentes às classes de analgésicos, estimulantes, anticonvulsivantes, anti-inflamatórios não esteroides e antibióticos em 12 ETEs municipais e quatro ETEs agrícolas na Coreia. Mais de 70% dos compostos alvos foram detectados em pelo menos uma amostra de lodo coletada nas ETEs municipais e agrícolas. O ácido acetilsalicílico foi o composto predominante no lodo dos sistemas municipais, em concentrações que variaram de 0,374 a 367 mg.kg⁻¹, enquanto a oxitetraciclina foi o composto dominante nos sistemas agrícolas, em concentrações de 34,54 a 86,39 mg.kg⁻¹.

Apesar dos relatos de redução da concentração de fármacos durante o tratamento biológico de efluentes, no geral, a ocorrência mundial de produtos farmacêuticos em matrizes aquosas indica claramente que a maioria das plantas convencionais de tratamento não é capaz de eliminar completamente tais compostos. Nesses casos são necessários, normalmente, sistemas terciários ou avançados de tratamento, tais como membranas de filtração, reatores com membranas, processos oxidativos e adsorção em carvão ativado (ROSAL et al., 2008; JIANG; ZHOU; SHARMA, 2013; KNOPP et al., 2016; HANSEN et al., 2016; AFONSO-OLIVARES et al., 2016; GIANNAKIS et al. 2017). Embora vários desses processos sejam considerados onerosos e de difícil implantação em ETEs, alguns estão ganhando espaço nas plantas de tratamento, sobretudo como sistemas de desinfecção, como é o caso do ozônio (O₃), do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e da radiação ultravioleta (UV), em substituição aos compostos clorados que podem formar trihalometanos (COSTA; CANGERANA, 2016).

A Tabela 6 apresenta alguns estudos com aplicação de processos oxidativos avançados (POAs) na degradação de fármacos.

Tabela 6 - Estudos sobre remoção de fármacos com processos oxidativos avançados

Processo	Compostos e matriz investigada	Características	Principais resultados	Referência
O ₃	Grupo de 30 compostos: Fármacos, produtos industriais e intermediários de transformação em efluente de ETE piloto	Dosagem de ozônio de 0,87 ± 0,29 gO ₃ gCOD ⁻¹ , com tempo de contato não superior a 20 min.	Redução significativa de 19 micropoluentes. Entre os fármacos, destaca-se a redução das concentrações de cafeína (70%), eritromicina (87%), carbamazepina (89%) e sulfametoxazol (98%). Nessa dosagem não foi constatada formação de produtos intermediários tóxicos	Knopp et al. (2016)
O ₃	Grupo de 33 compostos farmacêuticos em efluente hospitalar de ETE piloto	Foram investigadas as doses de ozônio necessárias para redução de 90% da concentração dos fármacos conforme as concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD)	A dosagem variou de 0,5 ± 0,04 mgO ₃ mgCOD ⁻¹ para o composto mais facilmente degradável (sulfadiazina) a 4,7 ± 0,6 mgO ₃ mgCOD ⁻¹ para o composto mais recalcitrante (ácido diatrizóico). Compostos como triclosan, ácido mefenâmico, diclofenaco, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfametizol, diclofenaco, trimetoprima e carbamazepina atingiram 90% de remoção com dosagens médias entre 0,52 a 0,58 mgO ₃ mgCOD ⁻¹ , com TDH inferior a 20 min.	Hansen et al. (2016)
UV; O ₃ ; UV/TiO ₂ ; O ₃ /UV e O ₃ /UV/TiO ₂	Grupo de 9 compostos farmacêuticos a 10 mg L ⁻¹ em solução aquosa	Remoção dos compostos e de carbono orgânico total (COT) com a vazão de O ₃ de 30 L h ⁻¹ e concentração de 15 mgO ₃ L ⁻¹ . Radiação UV-B (313nm), e concentrações de TiO ₂ de 0,10 a 1 g L ⁻¹	Os processos simples fotolíticos e de ozonização apresentaram baixa redução de COT (25 a 30%) após 120 min de exposição. A adição do TiO ₂ /UV aumentou significativamente o grau de mineralização para uma conversão de COT de 60%. O sistema mais complexo, O ₃ + UV + TiO ₂ , atingiu a maior redução de COT (95%). A concentração ótima de TiO ₂ foi de 0,25 g L ⁻¹ . A maior parte dos compostos foi eliminada em menos de 15 min.	Rivas; Beltrán; Encinas (2012)
O ₃ e O ₃ /H ₂ O ₂	Grupo de 33 compostos farmacêuticos e metabólitos em efluentes de ETEs municipais	Remoção de compostos a concentração de O ₃ de 46,1 g Nm ⁻³ e fluxo de 0,36 Nm ³ h ⁻¹ , com tempo de reação de 1 hora e faixa de pH entre 8,04 e 8,25	Tanto a ozonização em pH alcalino, como o processo O ₃ /H ₂ O ₂ , reduziram quase todos os compostos praticamente por completo (>99%) em 5 min, porém com baixa remoção de COT. Com a adição de 0,15 mL de H ₂ O ₂ ao O ₃ , a mineralização chegou em média a 90%, sendo inferior somente para fluoxetina	Rosal et al. (2008)
UV e UV/H ₂ O ₂	Grupo de 23 compostos farmacêuticos em efluente de ETE municipal	Em um reator cilíndrico de 25 litros, com sistema de aeração, e uma irradiância de 15,47 W m ⁻² foram avaliadas as dosagens UV e H ₂ O ₂ (5, 15, 20 e 25 mg L ⁻¹) necessárias para a remoção dos compostos estudados, em concentração mínima de 1 µg L ⁻¹ . O tempo de reação para irradiação UV (254 nm) foi de 45 min, enquanto que para UV/H ₂ O ₂ foi de 5 a 75 min	Com a fotólise obteve-se uma redução superior a 90% para os compostos omeprazol, sulfametoxazol, propranolol, ofloxacina, nicotina e superior a 99% para ciprofloxacina, cetoprofeno, diclofenaco, ácido clofibrico, metamilzol, propranolol, ranitidina e sulfametoxazol. Contudo, este mesmo processo foi insuficiente para degradar outros compostos (<20%), tais como cafeína, carbamazepina, genfibrozila, naproxeno, paraxantina e trimetoprima. No processo UV/H ₂ O ₂ (25 mg L ⁻¹), a ofloxacina, seguida pela cafeína, cetoprofeno e sulfametoxazol foram os compostos que apresentaram maior resistência à oxidação, ainda assim com taxas de degradação de 79 a 96%. Para os demais compostos as taxas foram superior a 99%	Afonso-Oliveira et al. (2016)

Legenda: COD: Carbono orgânico dissolvido; COT: Carbono orgânico total; ETE: Estação de tratamento de efluentes; H₂O₂: Peróxido de hidrogênio; TDH: Tempo de detenção hidráulica; O₃: Ozônio; TiO₂: Dióxido de titânio; UV: Ultravioleta.

A eficácia dos POAs na degradação de compostos orgânicos ocorre pela geração de radicais livres, em especial do radical hidroxila (HO•), que pode ser produzido por métodos químicos, fotoquímicos, eletroquímicos e fotoeletroquímicos. Esse radical possui o segundo maior potencial padrão de redução (E°= +2,80 V), sendo inferior somente ao do flúor (E°= +3,03 V) (COSTA; CANGERANA, 2016; GARZA-CAMPOS et al., 2016). Tal propriedade lhe confere potencial para promover a rápida mineralização ou transformação de vários compostos em espécies mais simples, passíveis de serem de-

gradadas por processos biológicos (BRITO; SILVA, 2012; FIOREZE; SANTOS; SCHMACHTENBERG, 2014; ARAÚJO et al., 2016).

Os principais processos empregados para destruir poluentes orgânicos persistentes incluem: O₃/H₂O₂, Fenton, O₃/UV, H₂O₂/UV, O₃/H₂O₂/UV, foto-Fenton, fotólise e fotocatalise (UV/TiO₂) (JIANG; ZHOU; SHARMA, 2013; ARAÚJO et al., 2016). Nesse sentido, os POAs podem ser conciliados com sistemas convencionais para favorecer os processos biológicos ou mesmo para o tratamento final

revisão de literatura

de produtos recalcitrantes das etapas anteriores (COSTA; CANGERANA, 2016).

Ainda assim, durante o processo de oxidação podem ser gerados produtos intermediários com os mesmos efeitos ou ainda mais tóxicos do que os compostos originais, logo a identificação de subprodutos é uma etapa extremamente importante em ensaios de degradação. Entretanto, nem sempre é possível identificar tais compostos pela diversidade de substâncias que podem ser formadas. Nesses casos, os ensaios ecotoxicológicos assumem papel extremamente relevante como indicativos de toxicidade e de possíveis efeitos adversos no ambiente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A crescente utilização de medicamentos pela população e a baixa eficiência de remoção desses compostos pelos sistemas convencionais de tratamento de águas residuárias tem ocasionado um aumento na ocorrência e concentração de fármacos nos recursos hídricos. Apesar do conhecimento sobre os efeitos ecotoxicológicos dos medicamentos no ambiente ser reduzido, principalmente no que se refere aos produtos de degradação e metabólitos, vários estudos já correlacionam os fármacos presentes nas águas com disfunções no sistema endócrino e reprodutivo de animais e seres humanos, abortos espontâneos, distúrbios metabólicos, incidência de tumores malignos e indução de bactérias mais resistentes.

Considerando que as águas residuárias representam uma importante rota de contaminação dos ambientes aquáticos, fica evidente a necessidade de buscar sistemas capazes de remover satisfatoriamente os fármacos de matrizes ambientais. Pode-se constatar que, entre os sistemas biológicos de tratamento, os naturais se destacam por apresentarem eficiência intermediária (20 a 80%) na remoção dos fármacos, o que é potencializado

quando operados com maior tempo de detenção hidráulica. Também foi evidenciado que os processos oxidativos à base de O_3 e H_2O_2 , combinados com radiação UV, podem apresentar eficiências satisfatórias (cerca de 90%) na remoção de determinados fármacos.

Ante o exposto, fica evidente que os estudos de ocorrência de fármacos no ambiente devem ser ampliados, bem como seus efeitos nocivos devem ser amplamente investigados e os sistemas de tratamento devem ser exaustivamente pesquisados e aperfeiçoados.

REFERÊNCIAS

- AFONSO-OLIVARES, C. et al. Estimation of kinetic parameters and UV doses necessary to remove twenty-three pharmaceuticals from pre-treated urban wastewater by UV/H₂O₂. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 329, p. 130-138, 2016.
- AL-ODAINI, N. A. et al. Multi-residue analytical method for human pharmaceuticals and synthetic hormones in river water and sewage effluents by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 6791-6806, 2010.
- ALVARINO, T. et al. A UASB reactor coupled to a hybrid aerobic MBR as innovative plant configuration to enhance the removal of organic micropollutants. **Chemosphere**, v. 144, p. 452-458, 2016.
- AMÉRICO, J. H. P. A. et al. Fármacos em uma Estação de tratamento de esgoto na Região Centro-Oeste do Brasil e os Riscos aos Recursos Hídricos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 17, n. 3, p. 61-67, 2012.
- AQUINO, S. F. de; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187-204, 2013.
- ARAÚJO, K. S. et al. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Revista Ambiente e Água**, v. 11, n. 2, p. 387-401, 2016.
- AUVINEN, H. et al. Removal of pharmaceuticals by a pilot aerated sub-surface flow constructed wetland treating municipal and hospital wastewater. **Ecological Engineering**, v. 100, p. 157-164, 2017.
- BALAKRISHNA, K. et al. A review of the occurrence of pharmaceuticals and personal care products in Indian water bodies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 137, p. 113-120, 2017.

- BARCELÓ, D. Emerging pollutants in water analysis. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 22(10), p. XIV-XVI, 2003.
- BIRKHOLZ, D. A.; STILSON, S. M.; ELLIOTT, H. S. **Analysis of emerging contaminants in drinking water – A Review**. Comprehensive Water Quality and Purification, v.2, Elsevier Inc. Editora: Satinder Ahuja, p. 212-229, 2014.
- BITTENCOURT, S. et al. Sorção de poluentes orgânicos emergentes em lodo de esgoto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.21, n.1, p. 43-53, 2016.
- BRITO, N. N. de; SILVA, V. B. M. Processo oxidativo avançado e sua aplicação ambiental. **Revista Eletrônica de Engenharia Civil**, v. 1, n. 3, p. 36-47, 2012.
- BROWN K. D. et al. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. **Science of the Total Environment**, v. 366, p. 772-783, 2006.
- CAMPANHA, M. C. et al. A 3- year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of São Paulo State of Southeast Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 10, p. 7936-47, 2015.
- CASAS-VÁSQUEZ, P.; ORTIZ-SAAVEDRA, P.; PENNY-MONTENEGRO, E. Estrategias para optimizar el manejo farmacológico en el adulto mayor. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, v.33(2), p. 335-41, 2016.
- CORRÊA, L. M.; RODRIGUES, C.; MACEDO, L. C. Avaliação farmacoterápica em pacientes de uma instituição geriátrica da região centro - ocidental do Paraná, Brasil. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.11, n.1, p.22-30, 2016.
- COSTA, G.; CANGERANA, F. Estudo do processo oxidativo avançado como uma alternativa tecnológica e eficaz no tratamento de efluentes. **Revista Eletrônica de Tecnologia e Cultura**, v. 19, p. 63-84, 2016.
- COSTA JUNIOR, I. L.; PLETSCH, A. L.; TORRES, Y. R. Ocorrência de fármacos antidepressivos no meio ambiente–revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1408-1431, 2014.
- DINH, Q. T. et al. Occurrence of antibiotics in rural catchments. **Chemosphere**, v. 168, p. 483-490, 2017.
- DODGEN, L. K. et al. Characterizing pharmaceutical, personal care product, and hormone contamination in a karst aquifer of southwestern Illinois, USA, using water quality and stream flow parameters. **Science of the Total Environment**, v. 578, p. 281-289, 2017.
- EBELE, A. J.; ABDALLAH, M. A.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, p. 1-16, 2016.
- EKPEGHERE, K. I. et al. Determination and characterization of pharmaceuticals in sludge from municipal and livestock wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 168, p. 1211-1221, 2017.
- 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.
- FISCHER, K.; MAJEWSKY, M. Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 98, p. 6583-6597, 2014.
- GALUS, M. et al. Chronic, low concentration exposure to pharmaceuticals impacts multiple organ systems in zebrafish. **Aquatic Toxicology**, v. 132-133, p. 200-211, 2013.
- GARZA-CAMPOS, B. et al. Salicylic acid degradation by advanced oxidation processes. Coupling of solar photoelectro-Fenton and solar heterogeneous photocatalysis. **Journal of Hazardous Materials**, v. 319, p. 34-42, 2016.
- GAVRILESCU, M. et al. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 147-156, 2015.
- GIANNAKIS, S. et al. Solar photo-Fenton and UV/H₂O₂ processes against the antidepressant Venlafaxine in urban wastewaters and human urine. Intermediates formation and biodegradability assessment. **Chemical Engineering Journal**, v. 308, p. 492-504, 2017.
- GIBBS, J. et al. Occurrence and partitioning of antibiotic compounds found in the water column and bottom sediments from a stream receiving two wastewater treatment plant effluents in Northern New Jersey, 2008. **Science of the Total Environment**, v. 458-480, p. 107-116, 2013.
- GIGER, W. Hydrophilic and amphiphilic water pollutants using advanced analytical methods for classic and emerging contaminants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, p.37-44, 2009.
- GIL, E. D. S.; MATHIAS, R. O. Classificação e riscos associados aos resíduos químicos- Farmacêuticos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, p. 87-93, 2005.
- GRANDCLÉMENT, C. et al. From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: A review. **Water Research**, doi: 10.1016/j.watres.2017.01.005, 66 p., 2017.
- GROS, M. et al. Screening and prioritization of micropollutants in wastewaters from on-site sewage treatment facilities. **Journal of Hazardous Materials**, v. 328, 25 p., 2017.
- HANSEN, k. M. S. et al. Ozonation for source treatment of pharmaceuticals in hospital wastewater - ozone lifetime and required ozone dose. **Chemical Engineering Journal**, 33 p., 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.01.027>. Acesso em: 14 fev. 2017.
- HOA, P. T. et al. Antibiotic contamination and occurrence of antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments of northern

 revisão de literatura

- Vietnam. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 2894-2901, 2011.
- HYLAND, K.C. et al. Sorption of ionized and neutral emerging trace organic compounds onto activated sludge from different wastewater treatment configurations. **Water Research**, v. 46, n. 6, p. 1958-1968, 2012.
- JANK, L. et al. Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes insurface and wastewater samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. Published online. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, p. 1013-1037, 2014.
- JIANG, J.; ZHOU, Z.; SHARMA, V. K. Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water - A review from global views. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 292-300, 2013.
- KEMPER, N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological Indicators**, v. 8, p. 1-13, 2008.
- KIM, Y. et al. Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. **Environment International**, v. 33, p. 370-375, 2007.
- KNOPP, G. et al. Elimination of micropollutants and transformation products from a wastewater treatment plant effluent through pilot scale ozonation followed by various activated carbon and biological filters. **Water Research**, doi: 10.1016/j.watres.2016.04.069, 43 p., 2016.
- KRAMER, R. D. et al. Determinação de anti-inflamatórios na água e sedimento e suas relações com a qualidade da água na bacia do Alto Iguaçu, Curitiba-PR. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 20, n. 3, p. 657-667, 2015.
- KÜMMERER, K. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use - present knowledge and future challenges. **Journal of Environmental Management**, v. 90, p. 2354-2366, 2009.
- KÜMMERER, K. Pharmaceuticals in the Environment. **Annual Review of Environment and Resources**, v.35, p. 57-75, 2010.
- LAPWORTH, D. J. et al. Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate and occurrence. **Environmental Pollution**, v. 163, p. 287-303, 2012.
- LI, W. C. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. **Environmental Pollution**, v. 187, p. 193-201, 2014.
- LIN, A. Y. C.; YU, T.; LIN, C. Pharmaceutical contamination in residential, industrial, and agricultural waste streams: Risk to aqueous environments in Taiwan. **Chemosphere**, v. 74, p. 131-141, 2008.
- LONAPPAN, L. et al. Diclofenac in municipal wastewater treatment plant: quantification using laser diode thermal desorption—atmospheric pressure chemical ionization—tandem mass spectrometry approach in comparison with an established liquid chromatography–electrospray ionization—tandem mass spectrometry method. **Journal of Chromatography A**, v. 1433, p. 106-113, 2016.
- LOPES, V. S. A. et al. Development of a solid-phase extraction system modified for preconcentration of emerging contaminants in large sample volumes from rivers of the lagoon system in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 110, p. 572-577, 2016.
- LÓPEZ-SERNA, R., PETROVI, C. M., BARCELÓ, D. Occurrence and distribution of multi-class pharmaceuticals and their active metabolites and transformation products in the Ebro River basin (NE Spain). **Science of the Total Environment**, v. 440, p. 280-289, 2012.
- MACHADO, K. C. et al. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 572, p. 138-146, 2016.
- MARGOT, J. et al. Role of ammonia-oxidizing bacteria in micropollutant removal from wastewater with aerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, v. 73, p. 564-575, 2016.
- MARSIK, P. et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the watercourses of Elbe basin in Czech Republic. **Chemosphere**, v. 171, p. 97-105, 2017.
- MARTÍN, J. et al. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. **Journal of Hazardous Materials**, p. 40-47, 2012.
- MEHINTO, A. C., HILL, E. M., TYLER, C. R. Uptake and biological effects of environmentally relevant concentrations of the nonsteroidal anti-inflammatory pharmaceutical diclofenac in rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Environmental Science & Technology**, v. 44, p. 2176-2182, 2010.
- MIRZAEI, A. et al. Removal of pharmaceuticals from water by homogeneous Fenton-type processes - A review. **Chemosphere**, v. 174, p. 665-688, 2017.
- NEBOT, C. GIBB, S. W.; BOYD, K. G. Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 598, p. 87-94, 2007.
- PAL, A. et al. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 24, p. 6062-6069, 2010.
- PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 171-177, 2007.
- PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDEN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**, v. 72, p. 3-27, 2015.

- PETROVIC, M. et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. **Journal of Chromatography A**, v. 1067, p. 1-14, 2005.
- POMATI F. et al. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells. **Environmental Science Technology**, v. 40, p. 2442-2447, 2006.
- RIVAS, F. J.; BELTRÁN, F. J.; ENCINAS, A. Removal of emergent contaminants: Integration of ozone and photocatalysis. **Journal of Environmental Management**, v. 100, p. 10-15, 2012.
- RODIL, R. et al. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, v. 86, p. 1040-1049, 2012.
- ROSAL, R. et al. Removal of pharmaceuticals and kinetics of mineralization by O₃/H₂O₂ in a biotreated municipal wastewater. **Water Research**, v. 42, p.3719-3728, 2008.
- SANTOS, L. H. et al. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1-3, p. 45-95, 2010.
- SILVA, C. G. A. da; COLLINS, C. H. Applications of High Performance Liquid Chromatography For The Study of Emerging Organic Pollutants. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.
- SIM, W. J.; LEE, J. W.; OH, J. E. Occurrence and fate of pharmaceuticals in wastewater treatment plants and rivers in Korea. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1938-1947, 2010.
- SODRÉ, F. F.; MONTAGNER, M. A. F.; JARDIM, W. F. Ocorrência de Interferentes Endócrinos e Produtos Farmacêuticos em Águas Superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil). **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v.2, n.2, p. 187-196, 2007.
- STUMPF, M. et al. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **The Science of the Total Environment**, v. 225, p. 135-141, 1999.
- SUÁREZ, S. et al. How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters? **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 7, p. 125-138, 2008.
- SUBEDI, B. et al. Mass loading and removal of pharmaceuticals and personal care products including psychoactives, antihypertensives, and antibiotics in two sewage treatment plants in southern India. **Chemosphere**, v. 167, p. 429-437, 2017.
- THOMAS, K. V. et al. Screening for selected human pharmaceuticals and cocaine in the urban streams of Manaus, Amazonas, Brazil. **Journal of the American Water Resources Association**, v. 50, n. 2, p. 302-308, 2014.
- VANNINI, C. et al. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs on unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Aquatic Toxicology**, v. 101, p. 459 - 465, 2011.
- VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. **Science of the Total Environment**, v.429, p. 123-155, 2012.
- YAO, L. et al. Occurrence and risk assessment of antibiotics in surface water and groundwater from different depths of aquifers: A case study at Jiangnan Plain, central China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 135, p. 236-242, 2017.
- ZHANG, S. et al. Simultaneous quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Mississippi river water, in New Orleans, Louisiana, USA. **Chemosphere**, v. 66, p. 1057-1069, 2007.
- ZHANG, Y.; GEISSEN, S. U.; GAL, C. Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. **Chemosphere**, v.73, p.1151-61, 2008.

1.4 MATERIAL E MÉTODOS

Este item contempla uma descrição geral dos materiais, métodos e técnicas utilizadas para o desenvolvimento da pesquisa, que foi realizada em três períodos de trabalho, identificados como etapas 1, 2 e 3. Cada etapa originou um artigo científico, exibido nos itens 2, 3 e 4 desta tese, que será submetido a periódico com estrato indicativo de qualidade “A”, segundo classificação Qualis/CAPES na área de Engenharias I.

A primeira etapa deste estudo avaliou a ocorrência, destino e comportamento de fármacos no efluente e lodo biológico da maior estação de tratamento de esgoto sanitário (ETE) do Rio Grande do Sul, localizada na região sul de Porto Alegre, atendendo, atualmente, cerca de 600.000 pessoas. A vazão máxima de projeto afluyente à ETE é de 4.115 L s^{-1} , no entanto opera com vazão licenciada de 2.500 L s^{-1} , com tempo de detenção hidráulica de cerca de 12 horas. A estação possui tratamento preliminar e oito módulos distribuídos em paralelo (Figura 1), compostos por reatores UASB e lodos ativados (Unitank) com aeração cíclica, seguido de sedimentação e desinfecção por H_2O_2 . O lodo ativado é pré-estabilizado nos reatores UASB, de onde é, posteriormente, centrifugado e destinado a aterro sanitário.

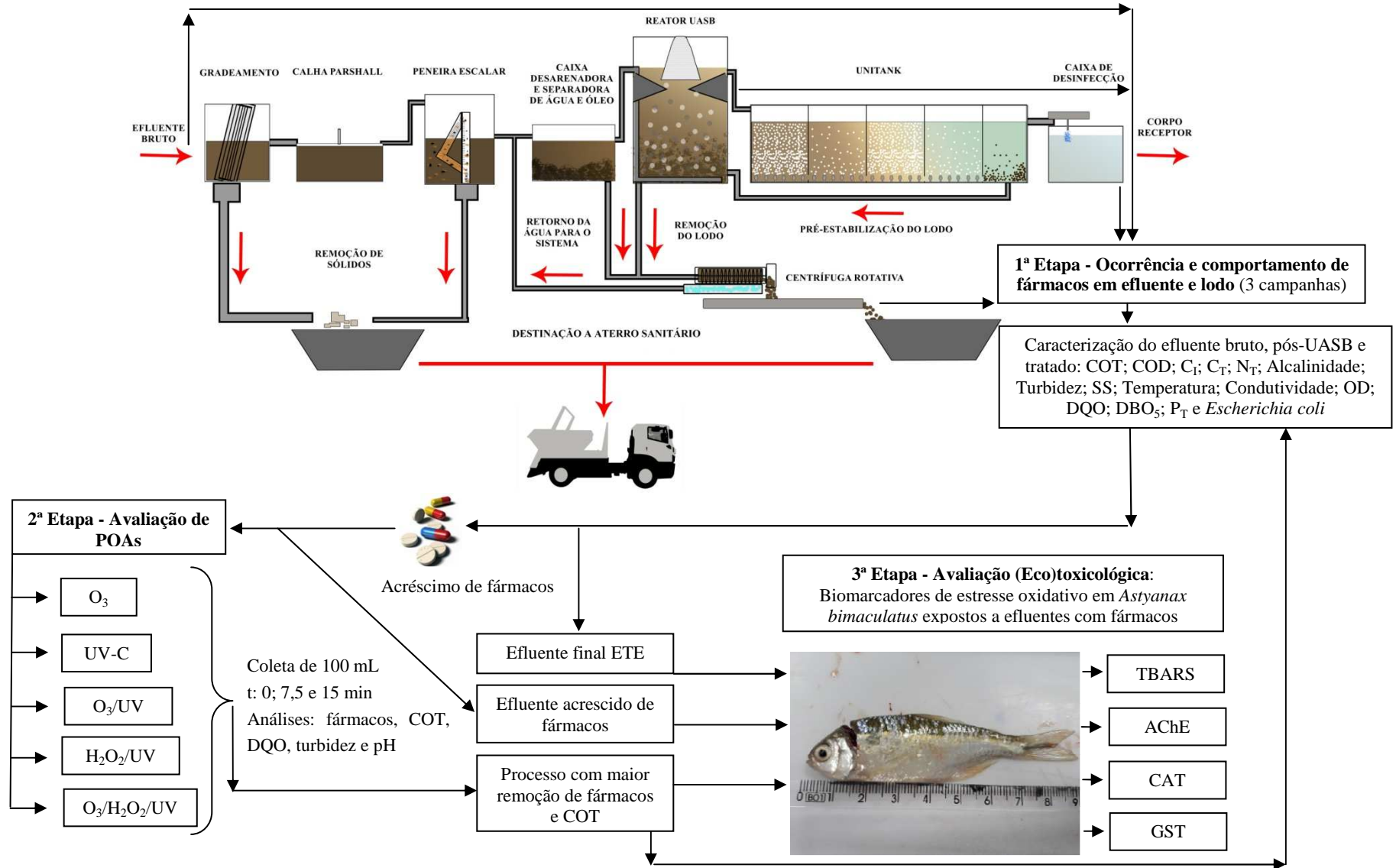
Figura 1 – Estação de tratamento de esgoto sanitário estudada



Fonte: www.pac.gov.br

Na segunda etapa, a amostra de efluente dessa mesma ETE foi acrescida com os princípios ativos detectados em maior concentração e de maior persistência ao tratamento biológico para avaliação da degradação por diferentes POAs (O_3 ; UV-C; O_3/UV ; $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$). A terceira etapa consistiu da avaliação de alterações bioquímicas e de estresse oxidativo em órgãos de *Astyanax bimaculatus* expostos aos efluentes estudados com diferentes concentrações de fármacos. O esquema da ETE estudada e de realização deste trabalho, com a identificação das etapas da pesquisa, é apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Esquema da ETE estudada e de desenvolvimento do trabalho com a identificação das etapas da pesquisa



1.4.1 Coleta das amostras de efluente e lodo biológico

Para análise de ocorrência, comportamento e destino de fármacos na fase líquida foram coletadas amostras de efluente bruto (entrada da ETE), pós-UASB e tratado (saída da ETE). As coletas foram efetuadas em três campanhas de amostragens, nos meses de novembro de 2017, março e abril de 2018, no período da manhã, quando se observa os maiores picos de vazão, como fundamentado por von Sperling (2007). Foram utilizados frascos de vidro âmbar e refrigeração para preservação das amostras a ± 4 °C até o envio ao laboratório.

Para os ensaios de pós-tratamento com POAs e de avaliação (eco)toxicológica, foram coletados 80 L de efluente tratado pela ETE, em bombonas de polietileno de alta densidade (PEAD), no mês de abril de 2018.

As coletas foram realizadas em períodos com antecedência mínima de sete dias sem ocorrência de chuvas para minimizar os efeitos de diluição.

As amostragens de lodo foram realizadas juntamente com as de efluente, porém as coletas ocorreram no sistema de centrifugação, que contempla o lodo misto dos reatores UASB e Unitank pré-estabilizado para descarte final. A amostragem foi realizada seguindo recomendações da NBR 10.007/2004 (ABNT, 2004).

1.4.2 Análises físico-químicas e microbiológica do efluente sanitário

As análises físico-químicas e microbiológica foram realizadas segundo o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WEF, 2012). Todas as amostras coletadas na primeira etapa deste estudo foram caracterizadas com os parâmetros descritos no Quadro 1, seguindo-se os respectivos métodos e códigos de referência (APHA; AWWA; WEF, 2012). Estes mesmos parâmetros foram avaliados na etapa 2, antes e após o ensaio de maior eficiência na degradação de fármacos. Ainda na segunda etapa, avaliou-se as concentrações de fármacos, carbono orgânico total (COT), demanda química de oxigênio (DQO), como também turbidez e pH nas alíquotas coletadas no tempo médio e ao final dos ensaios de pós-tratamento, respectivamente, 7,5 e 15 minutos (min).

Quadro 1 – Parâmetros analisados no esgoto e os respectivos métodos e códigos de referência

Parâmetro (Unidade)	Método	Código*
Carbono orgânico total (mg L ⁻¹)	Oxidação via combustão	-
Carbono inorgânico (mg L ⁻¹)	Oxidação via combustão	-
Carbono total (mg L ⁻¹)	Oxidação via combustão	-
Nitrogênio total (mg L ⁻¹)	Oxidação via combustão	-
Alcalinidade (mgCaCO ₃ L ⁻¹)	Titulométrico	2320
Turbidez (NTU)	Nefelométrico	2130 B
Sólidos suspensos (mg L ⁻¹)	Gravimétrico	2540 D
Temperatura (°C)	Termométrico	2550 B
pH	Eletrométrico	4500-H ⁺ B.
Condutividade elétrica (μS cm ⁻¹)	Eletrométrico	2510 B
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	Eletrométrico	4500-O G
Demanda química de oxigênio (mg L ⁻¹)	Refluxo aberto - titulométrico	5220 B
Demanda bioquímica de oxigênio (mg L ⁻¹)	Respirométrico - manométrico	5210 B
Fósforo total (mg L ⁻¹)	Espectrofotométrico	4500-P C
Coliformes termotolerantes (NMP 100 mL ⁻¹)	Tubos múltiplos	9221 E

*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA; AWWA; WEF, 2012).

Fonte: Autor.

Os parâmetros oxigênio dissolvido, temperatura e pH foram avaliados durante a coleta com medidores portáteis da Digimed e Tecnal. Os parâmetros carbono total (C_{Total}), carbono orgânico total (COT), carbono orgânico dissolvido (COD), carbono inorgânico (C_{Inorgânico}) e nitrogênio total (N_{Total}) foram analisados no Parque Científico e Tecnológico da Universidade de Santa Cruz do Sul (TecnoUNISC), em um analisador Shimadzu de alta sensibilidade, modelo TOC-L CPH, TNM-L, no método de detecção por infravermelho não dispersivo (NDIR). Especialmente para as análises de mineralização dos fármacos (COT), utilizou-se o equipamento no método de fração não purgável de carbono orgânico (NPOC) (LABCEN/UFSM), objetivando a determinação das concentrações mais baixas. Os demais parâmetros foram analisados em laboratórios da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Unidade Três Passos, e Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul (UNIJUÍ).

A eficiência da ETE na redução da concentração dos parâmetros monitorados foi determinada a partir da Equação 1, onde E corresponde a eficiência (%), C₀ e C representam a concentração inicial e final de interesse, respectivamente.

$$E (\%) = \left(\frac{C_0 - C}{C_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

1.4.3 Determinação de fármacos e hormônios nas amostras de efluente e lodo

A determinação de fármacos e hormônios nas amostras de efluente e lodo foi realizada no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), vinculado ao Departamento de Química da UFSM. Os analitos em estudo foram fármacos de prescrição humana, veterinária e hormônios: 17 β -estradiol; acetato de megestrol; androstenediona; cafeína; ciprofloxacina; clindamicina; cloranfenicol; clortetraciclina; danofloxacina; diclofenaco; doxiciclina; enrofloxacina; estriol; estrona; etisterona; fembedazol; fembendazol sulfona; florfenicol; flunixinina; ivermectina; lincomicina; marbofloxacina; metronidazol; norfloxacina; ofloxacina; oxitetraciclina; paracetamol; progesterona; sarafloxacina; sulfacloropiridazina; sulfadiazina; sulfadimetoxina; sulfadoxina; sulfamerazina; sulfametoxazol; sulfaquinoxalina; sulfatiazol; testosterona; tetraciclina; tilmicosina; tilosina e trimetoprima. Os padrões sólidos dos analitos foram adquiridos da empresa Dr. Ehrenstorfer (Alemanha) e Witega (Alemanha), com pureza entre 95,0 e 99,6%. A solução padrão individual de cada analito foi preparada em concentração de 1.000 mg L⁻¹ em acetonitrila. Após, foi preparada uma solução contendo a mistura de todos os princípios ativos na concentração de 10 mg L⁻¹ em acetonitrila. Estas soluções foram armazenadas em frascos âmbar a ± 5 °C.

O preparo das amostras de efluente foi realizado por meio de extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), adaptado de Jank et al. (2014). Para o procedimento SPE foram utilizados cartuchos Strata[®]-X, aos quais 100 mL de amostra foram percolados e eluídos com a mistura acidificada dos solventes MeOH:MeCN (1:1, v/v) (Figura 3).

Figura 3 – Sistema de extração em fase sólida utilizado para pré-concentração das amostras



Fonte: Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (2018).

Para as amostras de lodo adaptou-se o método de extração sólido-líquido, desenvolvido por Rizzetti et al. (2018), empregando-se a mistura dos solventes acetonitrila, metanol e solução aquosa $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de EDTA (do inglês, *ethylenediamine tetraacetic acid*), seguido da limpeza dos extratos com sorvente EMR-Lipid[®]. Então, os extratos foram agitados por 30 s, centrifugados a $13.300 \times g$ por 5 min a $0 \text{ }^\circ\text{C}$ e filtrados em membrana de nylon $0,2 \text{ }\mu\text{m}$ antes das análises.

As amostras, após diluição em água ultrapura, foram analisadas por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS, do inglês *ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*) da Waters (EUA). Utilizou-se cromatógrafo líquido; detector MS do tipo triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ; interface/fonte de ionização por eletronebulização; gerador de nitrogênio Peak (Escócia); sistema controlador de solventes (sistema binário de bombas) para operação de gradientes a alta pressão; coluna analítica Acquity UPLC[®] BEH C18 ($50 \times 2,1 \text{ mm}$, $1,7 \text{ }\mu\text{m}$) da Waters (EUA); e sistema de aquisição de dados *software MassLynx 4.1* (Waters, EUA) (Figura 4).

Figura 4 – Sistema UHPLC-MS/MS utilizado para determinação de fármacos e hormônios nas amostras



Fonte: Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (2018).

Na determinação de fármacos e hormônios foram empregados dois gradientes lineares

com tempo total de corrida de 4 e 3 minutos, respectivamente. A vazão de $0,250 \text{ mL min}^{-1}$ e volume de injeção de $10 \text{ }\mu\text{L}$ foram utilizados em ambos os gradientes. A fase móvel empregada para os fármacos, exceto cafeína e paracetamol, foi (A) água:metanol (98:2, v/v) e (B) metanol, ambas contendo 5 mmol L^{-1} de formiato de amônio e ácido fórmico 0,1% (v/v); e para os hormônios, cafeína e paracetamol utilizou-se (A) solução aquosa de hidróxido de amônio 0,05% (v/v) e (B) metanol. A quantificação e identificação dos analitos foram realizadas pelo monitoramento de reações selecionadas.

1.4.4 Ensaios de degradação simultânea de fármacos no efluente sanitário por processos oxidativos avançados

Após determinação da ocorrência de fármacos nas amostras de efluente e verificação dos princípios ativos de maior concentração e resistência à degradação no tratamento biológico, foram adicionados ao efluente, além das quantidades presentes na amostra, ciprofloxacina, oxitetraciclina, paracetamol, sulfametoxazol e trimetoprima em concentrações superiores àquelas previstas sem efeitos (CPSE) para espécies mais sensíveis, com a finalidade de permitir melhor comparação entre os processos de pós-tratamento. Nesta segunda etapa da pesquisa, avaliou-se a capacidade de degradação simultânea dos fármacos por O_3 , radiação UV e as combinações O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$.

Os ensaios foram realizados em escala de bancada em laboratório, sob temperatura ambiente de $20,60 \pm 0,30 \text{ }^\circ\text{C}$ e $\text{pH } 6,94 \pm 0,02$. O tempo de reação foi fixado em 15 min, considerando que a degradação de fármacos por POAs pode ocorrer nos minutos iniciais (ZIMMERMANN et al., 2011; RIVAS; BELTRÁN; ENCINAS, 2012; KNOPP et al., 2016), e que longos períodos de exposição dificilmente apresentariam viabilidade econômica em larga escala. Após 7,5 e 15 min de reação, foram recolhidas alíquotas de 100 mL para análises cromatográficas e de COT, DQO, turbidez e pH, de todos os processos avaliados.

Para os ensaios de ozonização foram avaliadas duas doses, uma de 0,5 e outra de 0,9 $\text{mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$, definidas com base nos estudos de Zimmermann et al. (2011), Knopp et al. (2016) e Hansen et al. (2016), tendo em vista que a matéria orgânica dissolvida (COD) determina o consumo de O_3 em águas residuárias (HANSEN et al., 2016). Para tanto foi utilizada uma central compacta de geração de ozônio, da marca Purizônio, que funciona por efeito Corona. A tubulação de saída do equipamento foi conectada a uma pedra porosa disposta no fundo de um frasco reacional de vidro, do tipo lavador de gases, de 1.000 mL. A saída deste frasco foi conectada a outro lavador de gases de 500 mL contendo solução de

iodeto de potássio (KI) 2% para transformação do ozônio residual em oxigênio (APHA; AWWA; WEF, 2012).

A capacidade de produção de ozônio pela central geradora foi avaliada segundo o método iodométrico por titulação indireta, recomendado pela *International Ozone Association* (APHA; AWWA; WEF, 2012). Para realização do método, injetou-se gás ozônio em 50 mL de solução de KI (2%), durante um minuto, para liberação de iodo. A produção de iodo ocorreu pela adição de 2,5 mL de ácido sulfúrico ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), que reduziu o pH. Na sequência, titulou-se com tiosulfato de sódio ($0,005 \text{ mol L}^{-1}$) até que a coloração amarela do iodo praticamente desaparecesse (Figura 5). Posteriormente, adicionou-se 1 mL de solução indicadora de amido 1% e titulou-se até o desaparecimento da coloração azul. A quantificação do ozônio foi realizada imediatamente após o borbulhamento na solução, tendo em vista a rápida decomposição do gás (APHA; AWWA; WEF, 2012).

Figura 5 – Quantificação da geração de ozônio: A) Injeção de O_3 em solução de iodeto de potássio 2%; B) Titulação, da solução, com tiosulfato de sódio



Fonte: Autor.

Desta forma, a quantidade de ozônio produzida pelo equipamento foi determinada pela Equação 2, onde PO_3 é a quantidade de ozônio produzida ($\text{mgO}_3 \text{ min}^{-1}$); A é o volume (mL) gasto de titulante; N é a concentração molar da solução padrão de tiosulfato de sódio (mL L^{-1}); e t é o tempo de borbulhamento do gás O_3 (min).

$$\text{PO}_3 = \frac{A \times N \times 24}{t} \quad (2)$$

Por sua vez, a dose de O_3 aplicada (em $mgO_3 L^{-1}$) foi determinada pela Equação 3, onde PO_3 é a quantidade de ozônio produzida; t é o tempo de contato do ozônio na solução e V é o volume da solução (L).

$$\text{Dose } O_3 = \frac{PO_3 \times t}{V} \quad (3)$$

O experimento de degradação por fotólise foi realizado em um fotorreator cilíndrico de 76 mm de diâmetro, 480 mm de comprimento, e volume útil de 2,0 L (Figura 6). O fotorreator foi construído em PVC equipado, ao centro, com uma lâmpada OSRAM de mercúrio de baixa pressão UV-C ($\lambda=253,7$ nm), de 15 W de potência em tubo de quartzo transparente, com a qual o efluente ficou em contato direto, sob agitação lenta, para uma exposição uniforme. Antes da alimentação do fotorreator, a lâmpada foi ligada com antecedência de 30 minutos para que atingisse máxima radiação.

No experimento O_3/UV , foi avaliada a dosagem de $0,5 mgO_3 mgCOD^{-1}$, combinada com o reator de fotólise, que também foi empregado para os demais experimentos com UV, sob as mesmas condições de pré-aquecimento da lâmpada. Para este ensaio, a pedra porosa da central geradora de O_3 foi inserida no interior do fotorreator UV. Após alimentação do sistema com efluente, iniciou-se a injeção de O_3 que homogeneizou a solução, promovendo a uniformidade de contato $O_3/efluente/UV$. Na saída do reator, foram adotados os mesmos cuidados de destruição do ozônio residual, em solução de KI 2% (Figura 6).

Figura 6 – Esquema de montagem do processo O_3/UV e detalhe do fotorreator construído



O ensaio H₂O₂/UV, consistiu da adição de 25 mgH₂O₂ L⁻¹ (35%, Merck) de efluente alimentado no fotorreator, com base no estudo realizado por Afonso-Olivares et al. (2016). O efluente ficou em contato direto com a lâmpada, sob agitação lenta, para uma exposição uniforme.

O processo O₃/H₂O₂/UV foi realizado sob as mesmas condições do anterior, porém avaliou-se a influência da combinação com O₃. Após a inserção da mangueira com a pedra porosa no interior do fotorreator UV (Figura 6), o efluente contendo 25 mgH₂O₂ L⁻¹ (35%, Merck) foi adicionado ao sistema. Adotou-se a dosagem de 0,5 mgO₃ mgCOD⁻¹, que possibilitou a homogeneização e uniformidade de contato da amostra com a lâmpada.

A eficiência de degradação dos fármacos foi avaliada utilizando-se a Equação 1 (item 1.4.2). Também foram considerados os princípios da cinética química de reações (ABARGUES et al., 2018), utilizando a regressão linear para determinação das constantes de velocidade (K), coeficientes de correlação (R²) e os tempos de meia vida dos fármacos (t_{1/2}), em cada processo.

1.4.5 Avaliação de alterações bioquímicas e de estresse oxidativo em peixes

Este item contempla a descrição resumida da metodologia referente à terceira etapa da pesquisa. Como envolveu a utilização de animais vertebrados, o projeto desta fase foi submetido à análise da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFSM, que aprovou a execução dos ensaios sob o certificado CEUA nº 3824230418.

A avaliação das alterações bioquímicas e de estresse oxidativo foi realizada em 80 exemplares juvenis de *Astyanax bimaculatus*, em média com 8,0 ± 1,5 g de peso e 8,2 ± 0,7 cm de comprimento, adquiridos de uma piscicultura comercial. A escolha da espécie se deve a sua importância na cadeia alimentar, servindo de alimento para espécies carnívoras, sensibilidade a modificações no habitat e ampla distribuição na região neotropical, sendo encontrada em praticamente todas as regiões da América do Sul. A espécie pertence a família Characidae, subfamília Tetragonopterinae, e é caracterizada por indivíduos de pequeno porte, com corpo repleto de escamas de tom prateado, nadadeiras amarelas, e presença de uma mancha ovalada de coloração negra na região umeral e outra mancha negra no pedúnculo e nadadeira caudal (SANTANA et al., 2017).

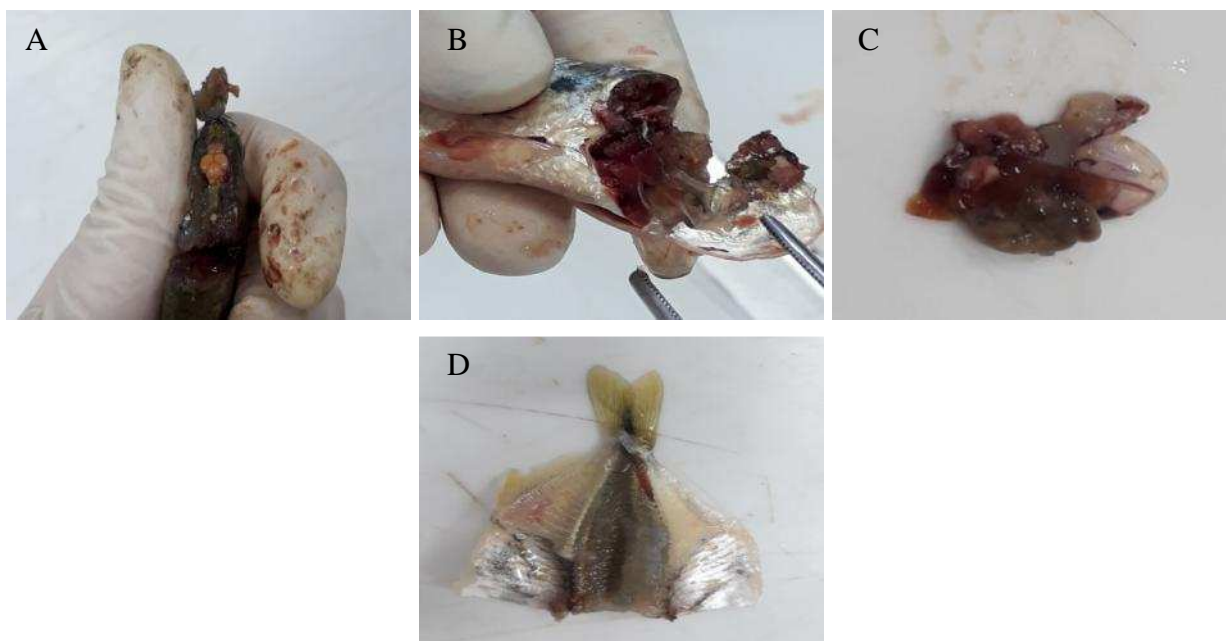
Para o experimento, os animais foram aclimatados por dez dias em tanque de polietileno atóxico de 250 L, contendo água da rede de abastecimento desclorada por aeração intensa, e condições de laboratório, sob fotoperíodo natural (12h escuro/12h iluminação).

Decorrido o período de aclimação, os peixes foram separados aleatoriamente em quatro grupos. Cada grupo foi composto por 20 peixes, distribuídos em dois tanques plásticos de 20 L cada. O primeiro grupo foi o controle, contendo água desclorada da rede de abastecimento, livre de fármacos. O segundo grupo foi exposto ao esgoto sanitário tratado, denominado de EST. O terceiro grupo, denominado de EST+F, foi exposto ao efluente do grupo dois (EST) adicionado dos princípios ativos de maior persistência e/ou ocorrência na amostra estudada. Por fim, o quarto grupo foi exposto ao efluente do grupo três (EST+F) pós-tratado com $O_3/H_2O_2/UV$ ($0,5 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1} / 25 \text{ mgH}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1} / 15 \text{ min UV}$), denominado de ESPT.

O experimento foi conduzido durante 14 dias. Nesse período, foram monitorados, diariamente, oxigênio dissolvido, temperatura, pH, condutividade elétrica e alcalinidade. Os tanques foram filtrados a cada dois dias para remoção de resíduos de ração e fezes, com auxílio de uma bomba de baixa vazão acoplada a um filtro de tecido não tecido (TNT).

Após o período experimental, os peixes foram eutanasiados por secção medular, sendo em seguida realizada a coleta de cérebro, brânquias, fígado e músculo (Figura 7) para a avaliação das atividades das enzimas acetilcolinesterase (AChE), catalase (CAT), glutathione S-transferase (GST), e de estresse oxidativo por substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Figura 7 – Coleta de órgãos de *Astyanax bimaculatus* expostos a esgoto com diferentes concentrações de fármacos: A) Cérebro; B) Brânquias; C) Fígado; D) Músculo



O ensaio de dano oxidativo foi avaliado pela peroxidação lipídica estimada pelos níveis de TBARS, em todos os órgãos coletados. O ensaio foi realizado pela reação do malondialdeído (MDA) com ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e leitura em espectrofotômetro a 532 nm, conforme Buege e Aust (1978). Os níveis de TBARS foram expressos como nmol MDA mg proteína⁻¹ comassie.

A atividade da AChE, relacionada as funções fisiológicas dos peixes com estímulos para contração muscular e relaxamento, foi determinada utilizando o método descrito por Ellman et al. (1961), em cérebro e músculo. As absorbâncias foram determinadas por espectrofotometria a 412 nm, durante 2 min. A atividade enzimática foi expressa em $\mu\text{mol ACh hidrolisada min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$ comassie.

A atividade da CAT, responsável por degradar o H₂O₂ em água e oxigênio, além de oxidar compostos hidrogenados, foi determinada nos tecidos de brânquias e fígado por espectrofotometria ultravioleta (240 nm) em cubetas de quartzo, segundo Nelson e Kiesov (1972). A atividade da CAT foi calculada e expressa em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$ comassie.

A atividade da GST, responsável pela detoxificação de xenobióticos, foi avaliada no cérebro, músculo e fígado, conforme procedimento descrito por Habig, Pabst e Jakoby (1974), utilizando 1-Cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) como substrato. A GST foi expressa como $\mu\text{mol GS-DNB min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$ comassie.

1.4.6 Análise estatística

A análise estatística dos dados gerados nos três artigos envolveu comparação de médias, por diferentes tratamentos ou grupos. Por conta disso, os resultados de cada artigo foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Em seguida, foi aplicada a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O valor de $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo para análise dos resultados, utilizando-se os procedimentos disponíveis no pacote estatístico R, versão 3.5.0 (R CORE TEAM, 2018). Para a caracterização dos parâmetros físico-químicos e microbiológico, também foi utilizada a estatística descritiva.

Ressalta-se que no último artigo a interação, entre grupos de peixes e órgãos analisados, foi desconsiderada a fim de evitar uma possível interpretação equivocada dos dados, uma vez que cada tecido pode apresentar diferentes respostas enzimáticas.

2 ARTIGO 2 - OCORRÊNCIA E DESTINO DE FÁRMACOS EM EFLUENTE E LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO COMPOSTA POR REATORES UASB E LODOS ATIVADOS NO SUL DO BRASIL

2.1 RESUMO

A ocorrência, destino e remoção de 43 fármacos e hormônios foram estudados na fase líquida e no lodo da maior estação de tratamento de esgoto sanitário do Rio Grande do Sul (RS), Sul do Brasil. As amostras de efluente e lodo foram coletadas no período da manhã, em três campanhas realizadas nos meses de novembro de 2017, março e abril de 2018. O preparo das amostras de efluente foi realizado por extração em fase sólida (EFS), enquanto que as amostras de lodo misto, UASB + lodo ativado, foram preparadas por extração sólido-líquido. A determinação dos fármacos foi realizada por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). Desta forma, foram detectados 13 fármacos dissolvidos no efluente bruto, sendo registradas as maiores concentrações de paracetamol e cafeína, respectivamente de 137,98 e 35,29 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que no efluente tratado foram detectados 11 compostos. Os antibióticos representaram a classe de maior diversidade, sendo a menor concentração registrada para o metronidazol (0,023 $\mu\text{g L}^{-1}$) e a maior para sulfametoxazol (1,374 $\mu\text{g L}^{-1}$), ambos no efluente bruto. Sete fármacos foram detectados sorvidos no lodo, dos quais, cafeína, ciprofloxacina e ofloxacina foram quantificados tanto na fase líquida quanto na sólida, ao passo que doxiciclina, fembendazol, norfloxacina e tetraciclina foram detectados somente no lodo, em concentrações que variaram de 0,026 a 5,034 mg kg^{-1} . Em geral, as concentrações dos fármacos verificadas neste estudo são compatíveis ou até superiores as relatadas em outros países. Durante o tratamento, observou-se o incremento nas concentrações de clindamicina, oxitetraciclina, sulfatiazol e trimetoprima, e a remoção completa de enrofloxacina e metronidazol, bem como elevadas taxas de remoção de cafeína e paracetamol (>97%), predominantemente via degradação, e remoção superior a 83% para ciprofloxacina e ofloxacina, principalmente por sorção no lodo. Por fim, a análise do balanço de massa indicou elevada carga de fármacos (511,466 g d^{-1}) despejados no corpo hídrico receptor, suscitando a necessidade de ampliação de estudos (eco)toxicológicos e de remoção de fármacos de esgotos sanitários.

Palavras-chave: Estação de tratamento de esgoto. Fármacos. Sorção em lodo. Balanço de massa. Remoção incompleta de antibióticos.

2.2 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de pesquisas, em diferentes países, tem evidenciado a ocorrência de fármacos, hormônios e produtos de higiene pessoal no ambiente, especialmente em águas residuárias, estações de tratamento de efluentes e corpos hídricos (MARTÍN et al., 2012; GAVRILESCU et al., 2015; GIEBULTOWICZ; NAŁECZ-JAWECKI, 2016; BALAKRISHNA et al., 2017; LIU et al., 2017; HU et al., 2018; ARLOS et al., 2018; BISOGNIN; WOLFF; CARISSIMI, 2018). Tal ocorrência se deve, principalmente, a limitação da maioria dos sistemas de tratamento na remoção dos fármacos (AQUINO;

BRANDT; CHERNICHARO, 2013; EKPEGHERE et al., 2017; IVANOVÁ et al., 2017) e o consequente lançamento das águas residuárias em corpos hídricos.

A presença de fármacos no ambiente representa um risco a vida aquática e a saúde humana (GAVRILESCU et al., 2015; IVANOVÁ et al., 2017; LIU et al., 2017; HUANG et al., 2018), mesmo em baixas concentrações (ng L^{-1}), devido a persistência de muitos compostos, tais como antibióticos que podem atuar como desreguladores endócrinos (LIU et al., 2017) ou acarretarem o desenvolvimento de resistência bacteriana (BIRKHOLZ; STILSON; ELLIOTT, 2014; KLATTE; SCHAEFER; HEMPEL, 2017). Por esse motivo, o conhecimento da ocorrência e capacidade de remoção e/ou degradação de fármacos em plantas convencionais de tratamento de esgoto sanitário é tão importante.

De forma geral, os sistemas de tratamento de esgoto mais empregados, mundialmente, contemplam tecnologias híbridas que compreendem unidades anaeróbias, aeróbias e anóxicas, visando menor consumo energético, remoção de matéria carbonácea e nutrientes, produção de biogás rico em metano e menor geração de lodo (ALVARINO et al., 2014). Nesse sentido, os sistemas de tratamento podem combinar a utilização de dois ou mais processos biológicos envolvendo lodos ativados, UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), filtros biológicos percoladores e sistemas naturais como lagoas de estabilização e *wetlands* (alagados construídos). Todavia, estudos com sistemas aeróbios, como lodos ativados e biorreatores de membranas, são bem documentados, com larga aplicação mundial (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; GRANDCLÉMENT et al., 2017; GROS et al., 2017; BALAKRISHNA et al., 2017), ao passo que poucas publicações relatam o destino dos fármacos em condições estritamente anaeróbias, mas sim combinadas com sistemas aeróbios (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; ALVARINO et al., 2014; SUBEDI et al., 2017).

Contudo, a eficiência de remoção de fármacos em sistemas biológicos de tratamento não depende somente da técnica empregada, mas também das condições operacionais, como densidade microbiana, condições de homogeneização, temperatura, tempo de detenção hidráulica (TDH), idade do lodo (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; ALVARINO et al., 2014; SUBEDI et al., 2017) e pH (GRANDCLÉMENT et al., 2017). Dentre essas condições, a temperatura é considerada um parâmetro chave, pois afeta diretamente a atividade microbiana e, conseqüentemente, o potencial de biodegradação dos compostos. Outros dois fatores que merecem destaque são o maior TDH, que potencializa a capacidade de retenção de sólidos suspensos nos reatores, e a idade do lodo superior a 10 dias,

que promove maior tempo de contato para sorção e subsequente biodegradação dos compostos (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; ALVARINO et al., 2014).

Nos sistemas biológicos de tratamento, as vias de degradação dos fármacos se resumem aos processos de biodegradação metabólica e cometabólica, e sorção em flocos de lodo (biofilme) (GRANDCLÉMENT et al., 2017). Durante a biodegradação, especialmente em sistemas aeróbios, os microrganismos nitrificantes ao oxidarem a amônia em nitrato podem oxidar metabolicamente os micropoluentes orgânicos devido à presença da enzima amônia mono-oxigenase (MARGOT et al., 2016), estabelecendo uma influência positiva da nitrificação na remoção de tais compostos (ALVARINO et al., 2014). Por sua vez, a biodegradação cometabólica também apresenta caráter relevante na remoção dos micropoluentes, já que a complexidade dos compostos e suas concentrações muito baixas podem não servir como substrato facilmente acessível aos microrganismos em um primeiro momento (FISCHER; MAJEWSKY, 2014; GRANDCLÉMENT et al., 2017). No entanto, a sorção é outro mecanismo importante de remoção de fármacos em sistemas convencionais de tratamento (IVANOVÁ et al., 2018), afetado, principalmente, pelas interações eletrostáticas entre a molécula (de carga positiva) e a superfície do lodo (de carga negativa), e o caráter hidrofóbico/hidrofílico da molécula (IVANOVÁ et al., 2017; GRANDCLÉMENT et al., 2017).

Portanto, a avaliação da sorção de compostos em lodo biológico de esgoto assume papel relevante para o entendimento da eficiência de remoção e do comportamento dos micropoluentes no ambiente (BITTENCOURT et al., 2016; GRANDCLÉMENT et al., 2017). Ademais, os estudos de detecção de fármacos são focados, predominantemente, em matrizes aquosas e na remoção dos compostos do esgoto bruto em plantas de tratamento (MARGOT et al., 2016; SUBEDI et al., 2017; LIU et al., 2017; HU et al., 2018), enquanto que a ocorrência desses compostos, e outros micropoluentes, em lodos de esgotos também deve ser investigada (MARTÍN et al., 2012; EKPEGHERE et al., 2017). Nesse sentido, o lodo biológico constitui o resíduo mais abundante, em volume e peso, produzido em uma estação de tratamento de esgoto, tornando-se, portanto, um problema complexo para o tratamento, reutilização e descarte adequado no meio ambiente, haja vista sua capacidade de sorção de compostos contaminantes presentes na água (IVANOVÁ et al., 2018).

Considerando o baixo índice de dados de ocorrência de fármacos em estações de tratamento de esgoto no Brasil, em relação a países da América do Norte, Europa e Ásia, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos que contemplem os fármacos consumidos, as características e os métodos de tratamento predominantemente empregados no país. Por esse

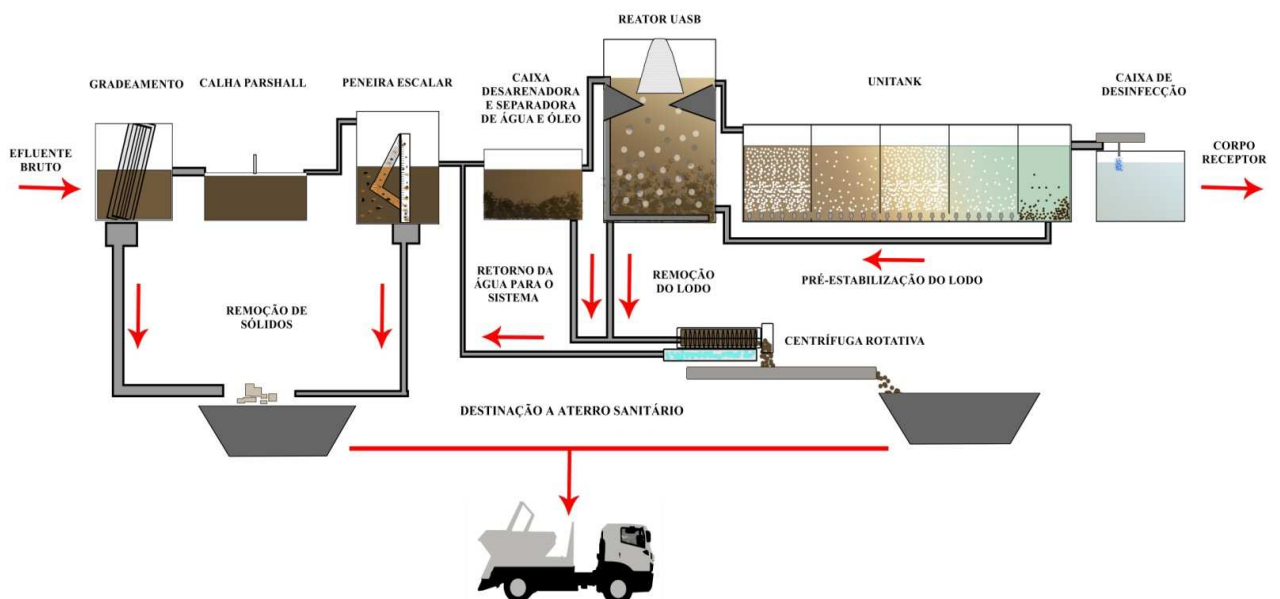
motivo, neste estudo objetivou-se determinar a presença de 43 compostos, entre fármacos e hormônios, no efluente da maior estação de tratamento de esgoto do Sul do Brasil, composta por reatores UASB seguidos de lodos ativados, e investigar a remoção e/ou sorção de fármacos no lodo biológico.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Caracterização da ETE estudada

O sistema de tratamento está situado na região metropolitana de Porto Alegre, capital do Rio Grande do Sul, Brasil. A ETE foi dimensionada para atender aproximadamente 1.080.000 pessoas, com vazão máxima de 4.115 L s^{-1} , porém opera com vazão média de $2.250 \pm 250 \text{ L s}^{-1}$, atendendo cerca de 600.000 pessoas. A estação é constituída de oito módulos em paralelo, cada um com capacidade de tratar pouco mais de 500 L s^{-1} , com tempo de detenção hidráulica de aproximadamente 12 horas (h), sendo 5 h em condição anaeróbia e 7 h em condições aeróbia/anóxica. O processo consiste em unidades mecânicas de tratamento preliminar, por gradeamento e desarenação, e biológico em reatores UASB e lodos ativados, na modalidade Unitank que permite o tratamento cíclico da etapa de aeração (aeróbio-anóxico-aeróbio-anóxico), seguido de sedimentação e desinfecção por peróxido de hidrogênio (H_2O_2), como ilustrado na Figura 1.

Figura 1– Fluxograma esquemático da ETE



O lodo proveniente dos Unitanks é pré-estabilizado anaerobiamente nos reatores UASB, cujo biogás gerado é destinado a um *flare*. A produção média mensal de lodo, pós-centrifugação, é de 900 toneladas que são destinadas a aterro sanitário.

2.3.2 Amostragens de efluente e lodo biológico

Para verificação da presença de fármacos na ETE foram realizadas três campanhas de coletas, durante os meses de novembro de 2017, março e abril de 2018. Em cada campanha foram coletadas amostras do efluente bruto, pós-reatores UASB e pós-lodos ativados, constituindo-se amostras homogêneas dos oito módulos do sistema. As coletas foram realizadas das 07 às 12 h em frascos de vidro âmbar novos, pré-enxaguados com as amostras, com o recolhimento de alíquotas a cada hora, as quais foram mantidas sob refrigeração a ± 4 °C até o envio ao laboratório. As coletas foram realizadas em períodos com antecedência mínima de sete dias sem ocorrência de chuvas para minimizar os efeitos de diluição.

As amostras de lodo foram coletadas no sistema de centrifugação da ETE, que contempla o lodo proveniente dos reatores UASB e Unitank pré-estabilizado para o descarte final. A amostragem foi realizada seguindo recomendações da NBR 10.007/2004 (ABNT, 2004), com acondicionamento das amostras em caixa térmicas a ± 4 °C para o transporte ao laboratório, onde foram congeladas a -20 °C até a realização das análises cromatográficas.

2.3.3 Análise da eficiência operacional da estação de tratamento de esgoto

A eficiência da ETE foi determinada com base na caracterização físico-química e microbiológica dos efluentes bruto, pós-UASB e tratado, tendo sido analisados os parâmetros: carbono orgânico total (COT), carbono inorgânico ($C_{\text{Inorgânico}}$) e total (C_{Total}), nitrogênio total (N_{Total}), alcalinidade, turbidez, sólidos suspensos (SS), temperatura, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido (OD), demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5), fósforo total (P_{Total}) e coliformes termotolerantes, com base no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WEF, 2012). As concentrações de COT, $C_{\text{Inorgânico}}$, C_{Total} e N_{total} foram determinadas em um analisador Shimadzu de alta sensibilidade, modelo TOC-L CPH, TNM-L.

Os dados dos parâmetros de monitoramento da ETE foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de probabilidade para a comparação de médias, utilizando-se os procedimentos disponíveis no programa estatístico R, versão 3.5.0 (R CORE TEAM, 2018).

2.3.4 Determinação de fármacos e hormônios em efluente e lodo biológico

A determinação de fármacos e hormônios nas amostras de efluente e lodo foi realizada no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS. Os analitos em estudo foram fármacos de prescrição humana, veterinária e hormônios: 17 β -estradiol; acetato de megestrol; androstenediona; cafeína; ciprofloxacina; clindamicina; cloranfenicol; clortetraciclina; danofloxacina; diclofenaco; doxiciclina; enrofloxacina; estriol; estrona; etisterona; fembedazol; fembendazol sulfona; florfenicol; flunixinina; ivermectina; lincomicina; marbofloxacina; metronidazol; norfloxacina; ofloxacina; oxitetraciclina; paracetamol; progesterona; sarafloxacina; sulfaclopiridazina; sulfadiazina; sulfadimetoxina; sulfadoxina; sulfamerazina; sulfametoxazol; sulfaquinoxalina; sulfatiazol; testosterona; tetraciclina; tilmicosina; tilosina e trimetoprima. Os padrões sólidos dos analitos foram adquiridos da empresa Dr. Ehrenstorfer (Alemanha) e Witega (Alemanha), com pureza entre 95,0 e 99,6%. A solução padrão individual de cada analito foi preparada em concentração de 1.000 mg L⁻¹ em acetonitrila. Após, foi preparada uma solução contendo a mistura de todos os compostos na concentração de 10 mg L⁻¹ em acetonitrila. Estas soluções foram armazenadas em frascos âmbar a ± 5 °C.

O preparo das amostras de efluente foi realizado por meio de extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), adaptado de Jank et al. (2014). Para o procedimento SPE foram utilizados cartuchos Strata[®]-X, aos quais 100 mL de amostra foram percolados e eluídos com a mistura acidificada dos solventes MeOH:MeCN (1:1, v/v). Antes da injeção cromatográfica as amostras foram diluídas duas vezes em água ultrapura.

Para as amostras de lodo adaptou-se o método de extração sólido-líquido, desenvolvido por Rizzetti et al. (2018), empregando-se a mistura dos solventes acetonitrila, metanol e solução aquosa 0,1 mol L⁻¹ de EDTA (do inglês, *ethylenediamine tetraacetic acid*), seguido da limpeza dos extratos com sorvente EMR-Lipid[®]. Então, os extratos foram agitados por 30 s, centrifugados a 13.300 x g por 5 min a 0 °C e filtrados em membrana de nylon 0,2 μ m antes das análises.

Após o preparo, as foram analisadas por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS, do inglês *ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*) da Waters (EUA). Utilizou-se cromatógrafo líquido; detector MS do tipo triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ; interface/fonte de ionização por eletronebulização; gerador de nitrogênio Peak (Escócia);

sistema controlador de solventes (sistema binário de bombas) para operação de gradientes a alta pressão; coluna analítica Acquity UPLC[®] BEH C18 (50 × 2,1 mm, 1,7 μm) da Waters (EUA); e sistema de aquisição de dados *software MassLynx* 4.1 (Waters, EUA). Para a determinação de fármacos e hormônios empregou-se dois gradientes lineares com tempo total de corrida de 4 e 3 minutos, respectivamente. A vazão de 0,250 mL min⁻¹ e volume de injeção de 10 μL foram utilizados em ambos os gradientes. A fase móvel empregada para os fármacos, exceto cafeína e paracetamol, foi (A) água:metanol (98:2, v/v) e (B) metanol, ambas contendo 5 mmol L⁻¹ de formiato de amônio e ácido fórmico 0,1% (v/v); e para os hormônios, cafeína e paracetamol utilizou-se (A) solução aquosa de hidróxido de amônio 0,05% (v/v) e (B) metanol. A quantificação e identificação dos analitos foram realizadas pelo monitoramento de reações selecionadas.

2.3.5 Análise da remoção de fármacos e balanço de massa

As eficiências de remoção dos fármacos durante o tratamento do esgoto sanitário foram avaliadas quantitativamente por meio de balanço de massa, assumindo que a ETE se comporta como uma caixa preta dotada de uma entrada (efluente bruto com sólidos) e duas saídas (efluente tratado e lodo), conforme análise de Yan et al. (2014). A partir das concentrações de fármacos determinadas analiticamente no esgoto bruto, pós-UASB e tratado, bem como das vazões afluentes a ETE, foram calculadas as eficiências de remoção dos compostos da fase líquida, utilizando a Equação 1.

$$R_{\text{efluente}} (\%) = \frac{C_{\text{efluente bruto}} \times Q - C_{\text{efluente tratado}} \times Q}{C_{\text{efluente bruto}} \times Q} \times 100 \quad (1)$$

A análise da remoção total dos compostos foi realizada com base nas concentrações dos efluentes bruto e tratado, vazão do efluente e produção de lodo, conforme Equação 2.

$$R_{\text{total}} (\%) = \frac{C_{\text{efluente bruto}} \times Q - (C_{\text{efluente tratado}} \times Q + C_{\text{lodo}} \times P_{\text{lodo}})}{C_{\text{efluente bruto}} \times Q} \times 100 \quad (2)$$

Onde $C_{\text{efluente bruto}}$, $C_{\text{efluente tratado}}$ (μg L⁻¹) e C_{lodo} (mg kg⁻¹) são as concentrações medidas no efluente, entrada e saída do sistema, e no lodo, respectivamente, enquanto que Q (L d⁻¹) e P_{lodo} (kg d⁻¹) referem-se a vazão de efluente e produção de lodo, respectivamente.

Por fim, o fluxo de massa dos fármacos detectados foi calculado usando as Equações 3 e 4, empregadas por Hu et al. (2018), porém com adaptação das unidades.

$$M_{\text{efluente}} = Q \times C_{\text{efluente}} \times 10^{-6} \quad (3)$$

$$M_{\text{lodo}} = P_{\text{lodo}} \times C_{\text{lodo}} \times 10^{-3} \quad (4)$$

Onde M_{efluente} (g d^{-1}) e M_{lodo} (g d^{-1}) correspondem ao fluxo de massa de fármacos no esgoto e no lodo, respectivamente; Q (L d^{-1}) é a vazão de efluente; P_{lodo} (kg d^{-1}) é a produção de lodo; C_{efluente} ($\mu\text{g d}^{-1}$) e C_{lodo} (mg d^{-1}) referem-se as concentrações de fármacos no efluente e no lodo, respectivamente.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Eficiência operacional da ETE estudada

A eficiência da ETE na redução das concentrações de parâmetros convencionais de monitoramento foi avaliada (Tabela 1).

Tabela 1 - Concentrações médias ($n=3$) dos parâmetros convencionais de monitoramento do efluente na ETE estudada, referente a novembro de 2017, março e abril de 2018

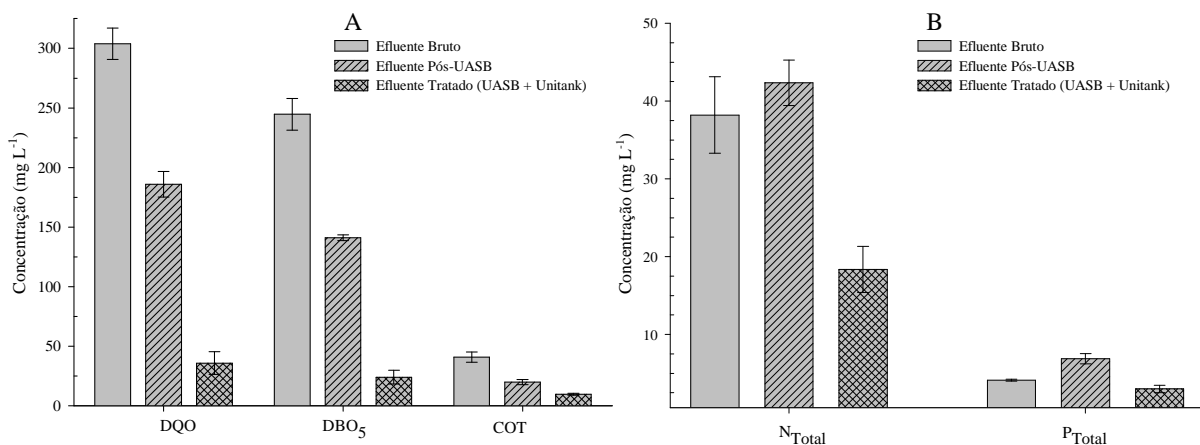
Parâmetro	Efluente bruto	Efluente Pós-UASB	Efluente tratado
COT (mg L^{-1})	41,00 ± 7,48 b	19,94 ± 3,59 a	9,69 ± 1,52 a
$C_{\text{Inorgânico}}$ (mg L^{-1})	39,18 ± 0,93 b	41,53 ± 2,13 b	10,33 ± 3,57 a
C_{Total} (mg L^{-1})	80,18 ± 8,02 c	61,47 ± 5,33 b	20,02 ± 2,89 a
N_{Total} (mg L^{-1})	38,22 ± 8,52 b	42,37 ± 5,06 b	18,35 ± 5,13 a
Alcalinidade ($\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	196,00 ± 18,36 c	173,00 ± 20,52 b	91,33 ± 8,33 a
Turbidez (NTU)	97,33 ± 14,01 b	75,93 ± 21,72 b	10,84 ± 1,87 a
SS (mg L^{-1})	112,00 ± 8,72 b	94,00 ± 13,75 b	26,33 ± 2,08 a
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	23,20 ± 1,01 b	23,63 ± 0,99 ab	24,13 ± 1,07 a
pH	6,97 ± 0,23 a	6,82 ± 0,16 a	6,72 ± 0,32 a
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	553,33 ± 59,50 a	656,67 ± 104,16 b	482,00 ± 74,67 a
OD (mg L^{-1})	0,22 ± 0,07 b	0,48 ± 0,10 b	4,00 ± 0,36 a
DQO (mg L^{-1})	303,79 ± 22,85 c	185,84 ± 18,71 b	35,86 ± 16,45 a
DBO_5 (mg L^{-1})	244,65 ± 22,95 c	140,98 ± 4,14 b	23,95 ± 9,96 a
P_{Total} (mg L^{-1})	4,13 ± 0,24 a	6,89 ± 1,12 b	3,00 ± 0,83 a
Coliformes termotolerantes (NMP/100 mL)	157.667 ± 8.737 c	125.333 ± 5.686 b	14.333 ± 2.082 a

Nota: Médias seguidas das mesmas letras nas linhas não diferem estatisticamente entre si no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O esgoto bruto, afluente a ETE, é parcialmente diluído devido as águas cinzas da fonte geradora e o recebimento misto de esgoto e águas pluviais, em trecho da rede coletora, no qual obras já preveem a modificação para o sistema separador absoluto. Contudo, se comparado aos valores típicos de esgoto doméstico bruto, descritos por von Sperling (2007),

estes se enquadram como sendo de média carga, com valores de N_{total} , DQO, DBO_5 e P_{total} inferiores a 45, 600, 300 e 7 mg L^{-1} , respectivamente. As reduções das concentrações médias dos principais parâmetros representativos de matéria orgânica e nutrientes estão apresentadas na Figura 2.

Figura 2 – Redução da concentração média de matéria orgânica e nutrientes pela ETE: (A) DQO, DBO_5 e COT; (B) N_{Total} e P_{Total}



Evidencia-se a partir da Figura 2A que os reatores UASB reduziram, em média, 38,83% a concentração de DQO do efluente bruto, sendo complementada a redução pelo sistema de lodos ativados (Unitank), até a eficiência de 88,20%, entre o efluente bruto e o tratado. Comportamento similar foi observado com a DBO_5 que apresentou uma redução média de 42,38% pelos reatores UASB. Porém, quando contabilizado reatores UASB mais Unitank, a eficiência média total da ETE na redução de DBO_5 foi de 90,21%. Estes valores estão de acordo com os recomendados para sistemas que operam com lodos ativados (VON SPERLING, 2007) e biorreatores anaeróbio, anóxico/aeróbio (YE et al., 2018). Quanto à redução média de COT, os reatores UASB possibilitaram um abatimento de 51,35%, e de 76,36% pelos mesmos reatores mais Unitank. O comportamento do COT denota que a matéria carbonácea mais facilmente biodegradável, composta predominantemente por sólidos orgânicos dissolvidos, é digerida logo nas primeiras etapas do tratamento, ou seja, por anaerobiose, resultando às etapas subsequentes os substratos mais complexos e/ou recalcitrantes (VON SPERLING, 2007; CHERNICHARO, 2016).

Destaca-se ainda, segundo Metcalf & Eddy et al. (2016), que a eficiência de qualquer variante do processo de lodos ativados está intimamente associada ao desempenho da

separação sólido/líquido. Portanto, a perda de sólidos no efluente final, como evidenciado em amostras do presente estudo, pode ter reduzido à qualidade final do efluente.

Por outro lado, N_{Total} e P_{Total} não foram reduzidos nos reatores UASB, houve um acréscimo para ambos os nutrientes (Figura 2B). Isto pode estar associado pelo menos a dois fatores, o primeiro é que em condições anaeróbias ocorre uma intensa mineralização do nitrogênio orgânico, que somado à hidrólise de proteínas e da ureia durante a decomposição da matéria orgânica eleva as concentrações de nitrogênio amoniacal. O segundo fator pode estar relacionado à degradação de estruturas complexas contendo nitrogênio, que passa ser liberado junto ao efluente (CHERNICHARO, 2016). Nestas condições não há oxidação da amônia devido à ausência de oxigênio, tampouco volatilização devido ao pH do efluente favorecer a presença de amônia na forma ionizada. Por sua vez, a elevação de P, pós-reatores UASB, pode ser explicada pela liberação de fosfatos à fase líquida por bactérias acumuladoras de fósforo, que utilizam essa energia para sequestrar substratos orgânicos de fácil degradação e mais tarde, em condições aeróbias, a energia proveniente do metabolismo dos substratos é usada para acumulação de polifosfato no interior da célula. Também contribuem para a elevação de P, o arraste de biomassa junto ao efluente, e o pH inferior a 7 que não possibilita a precipitação dos fosfatos e do fósforo solúvel (VON SPERLING, 2007).

Contudo, após tratamento nos Unitanks observou-se uma redução média de N_{Total} de 51,98% e P_{Total} de 27,36% em relação aos valores afluentes a ETE. No entanto, ao analisar as concentrações de entrada e saída dos tanques de lodos ativados, a eficiência média de remoção de N_{Total} e P_{Total} é aumentada para 56,58 e 56,44%, respectivamente, devido as etapas de nitrificação e desnitrificação obtidas pela operação cíclica (aeróbio-anóxico-aeróbio-anóxico) e assimilação das frações orgânicas durante a degradação da matéria carbonácea (METCALF & EDDY et al., 2016). Ainda assim, o sistema opera com eficiência muito inferior as remoções de N_{Total} e P_{Total} descritas por Ye et al. (2018) em sistema similar anaeróbio, anóxico/aeróbio, que foi de 80,64 e 90,03%, respectivamente.

Estudando uma ETE municipal operada com configuração anaeróbia, anóxica/aeróbia, Guo et al. (2017) relataram remoção de 90% de DQO, 55% de N_{Total} e 88% de P_{Total} . Com exceção do fósforo, os percentuais de redução relatados são semelhantes aos encontrados no presente estudo, com uma configuração de tratamento similar. Segundo Guo et al. (2017), o desempenho na redução de fósforo abaixo do ideal em ETEs tem sido associado à competição entre bactérias benéficas e prejudiciais, como os organismos que acumulam polifosfatos (OAP) e organismos que acumulam glicogênio (OAG). Também interferem na eficiência o arraste de sólidos junto ao efluente final.

2.4.2 Ocorrência de fármacos no efluente e no lodo

Dos 43 compostos investigados, 13 fármacos foram detectados no efluente bruto, incluindo um psicoestimulante (caféina), 11 antibióticos, distribuídos entre os grupos fluoroquinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina e ofloxacina), lincosamida (clindamicina), nitroimidazólico (metronidazol), tetraciclina (oxitetraciclina), sulfonamidas (sulfadiazina, sulfametoxazol e sulfatiazol), diaminopirimidina (trimetoprima) e macrolídeo (tilosina), e um analgésico e antipirético (paracetamol). No lodo, além da caféina, ciprofloxacina e ofloxacina, verificados no efluente, outros quatro fármacos foram detectados exclusivamente na fase sólida: doxiciclina (grupo tetraciclina), fembendazol (anti-helmíntico), norfloxacina (fluoroquinolonas) e tetraciclina, como apresentado na Tabela 2, juntamente com a distribuição dos fármacos no efluente bruto e tratado.

Tabela 2 – Concentrações de fármacos detectados no efluente bruto, tratado e no lodo da ETE estudada

Fármaco	LOD - LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Efluente bruto ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Efluente tratado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Lodo (mg kg^{-1})	
				LOD-LOQ	Média \pm DP
caféina	0,006 - 0,020	32,189 \pm 5,458	0,341 \pm 0,542	0,006 - 0,020	0,635 \pm 0,858
ciprofloxacina	0,006 - 0,020	0,385 \pm 0,534	0,064 \pm 0,029	0,006 - 0,020	2,217 \pm 2,451
clindamicina	0,006 - 0,020	0,039 \pm 0,023	0,099 \pm 0,039	0,006 - 0,020	n.d.
doxiciclina	0,012 - 0,040	n.d.	n.d.	0,012 - 0,040	<LOQ
enrofloxacina	0,006 - 0,020	0,037*	n.d.	0,006 - 0,020	n.d.
fembendazol	0,006 - 0,020	n.d.	n.d.	0,006 - 0,020	0,026*
metronidazol	0,006 - 0,020	0,023*	n.d.	0,006 - 0,020	n.d.
norfloxacina	0,012 - 0,040	n.d.	n.d.	0,012 - 0,040	0,271 \pm 0,173
ofloxacina	0,006 - 0,020	0,281 \pm 0,320	0,034 \pm 0,008	0,006 - 0,020	1,142 \pm 0,365
oxitetraciclina	0,600 - 0,200	0,641*	1,154*	0,060 - 0,200	n.d.
paracetamol	0,012 - 0,040	13,640 \pm 2,136	0,417 \pm 0,652	0,012 - 0,040	n.d.
sulfadiazina	0,006 - 0,020	0,057 \pm 0,027	0,051 \pm 0,029	0,006 - 0,020	n.d.
sulfametoxazol	0,006 - 0,020	0,980 \pm 0,466	0,301 \pm 0,181	0,006 - 0,020	n.d.
sulfatiazol	0,006 - 0,020	0,049*	0,070*	0,006 - 0,020	n.d.
tetraciclina	0,060 - 0,200	n.d.	n.d.	0,012 - 0,040	0,062 \pm 0,029
trimetoprima	0,006 - 0,020	0,042 \pm 0,025	0,050 \pm 0,001	0,006 - 0,020	n.d.
tilosina	0,006 - 0,020	<LOQ*	0,051*	0,006 - 0,020	n.d.

LOD: Limite de detecção do método (do inglês, *Limit of detection*). LOQ: Limite de quantificação do método (do inglês, *Limit of quantification*). *Detectado em apenas uma campanha de amostragem. n.d.: Não detectado. DP.: Desvio padrão.

Com exceção de enrofloxacina, metronidazol, oxitetraciclina, sulfatiazol e tilosina, que foram detectados em apenas uma campanha de amostragem, os demais compostos foram detectados nas três amostragens de efluente. Os antibióticos foram os compostos de maior diversidade, devido sua ampla utilização no tratamento de infecções causadas por diferentes bactérias, o que explica a variação de concentrações entre as campanhas. A menor concentração detectada foi de 0,023 $\mu\text{g L}^{-1}$ de metronidazol no efluente bruto, enquanto que a

concentração máxima, entre os antibióticos, foi de sulfametoxazol, $1,374 \mu\text{g L}^{-1}$, também no efluente bruto.

Na Ásia, vários estudos de determinação de fármacos em ETEs relatam a presença de princípios ativos da Tabela 2 em águas residuárias, como o realizado por Yan et al. (2014) na China, que descrevem o sulfametoxazol como o segundo composto de maior concentração detectada no efluente bruto, $3,18 \mu\text{g L}^{-1}$, atrás somente do analgésico paracetamol, cuja concentração é mencionada entre $1,2$ e $7,7 \mu\text{g L}^{-1}$. Resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo também são descritos por Hu et al. (2018) ao avaliarem a presença de antibióticos em ETE constituída de lodos ativados convencional, no Sudoeste da China. Os autores detectaram no efluente bruto, entre outros compostos, concentrações superiores para ciprofloxacina ($0,489 \pm 0,067 \mu\text{g L}^{-1}$), enrofloxacin ($0,544 \pm 0,078 \mu\text{g L}^{-1}$) e ofloxacina ($0,328 \pm 0,053 \mu\text{g L}^{-1}$), e inferior para oxitetraciclina ($0,196 \pm 0,031 \mu\text{g L}^{-1}$). Em relação ao efluente tratado, as concentrações relatadas por Hu et al. (2018) foram superiores para enrofloxacin ($0,073 \pm 0,014 \mu\text{g L}^{-1}$) e ofloxacina ($0,058 \pm 0,017 \mu\text{g L}^{-1}$), e inferiores para ciprofloxacina ($0,054 \pm 0,010 \mu\text{g L}^{-1}$) e oxitetraciclina ($0,024 \pm 0,004 \mu\text{g L}^{-1}$). Destaca-se que a ciprofloxacina é um dos antibióticos detectados em concentrações mais elevadas na Índia, chegando a $12,9 \mu\text{g L}^{-1}$ no esgoto bruto e $11,67 \mu\text{g L}^{-1}$ no tratado (BALAKRISHNA et al., 2017), o que representa, aproximadamente, 13 vezes a maior concentração detectada no presente estudo para o efluente bruto, indicando, ainda, elevado consumo mundial desses antibióticos.

Outro estudo realizado no Sul da China, desta vez por Lin et al. (2018), detectou 24 fármacos no esgoto bruto da maior ETE municipal de Changsha, constituída de processo anaeróbio, anóxico/aeróbio, similar ao deste estudo, e 23 compostos após o tratamento. Os antibióticos detectados no efluente, comuns a ambos os estudos, foram enrofloxacin, ofloxacina, oxitetraciclina, sulfadiazina, sulfametoxazol e trimetoprima. Com exceção da ofloxacina, que apresentou concentração média dentro da faixa detectada por Lin et al. (2018) ($0,062$ - $0,410 \mu\text{g L}^{-1}$), os demais antibióticos foram detectados em concentrações superiores no presente estudo. Os autores atribuem as baixas concentrações desses antibióticos às substituições dos medicamentos do grupo tetraciclina por macrolídeos, o que não foi observado neste estudo e tampouco por Hu et al. (2018).

As concentrações de clindamicina detectadas nesta pesquisa, tanto no esgoto bruto quanto no tratado, encontram-se em consonância com a faixa relatada por Balakrishna et al. (2017) na Índia, que foi de $0,005$ a $1,870 \mu\text{g L}^{-1}$ no esgoto bruto e $0,006$ a $0,952 \mu\text{g L}^{-1}$ no tratado. Por sua vez, o metronidazol foi detectado em baixa concentração se comparado a alta

carga ($12,315 \mu\text{g L}^{-1}$) determinada em efluente hospitalar de Portugal, como contribuinte de fármacos em efluentes urbanos, segundo Santos et al. (2013).

Apesar do predomínio de antibióticos, foram evidenciadas elevadas concentrações de cafeína e paracetamol no efluente bruto, com médias de $32,189$ e $13,640 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Destaca-se que a maior concentração detectada no efluente foi de paracetamol, $137,98 \mu\text{g L}^{-1}$, em abril de 2018, a qual não foi incluída na média por destoar dos demais valores.

Elevadas concentrações de cafeína e paracetamol em efluentes domésticos e águas superficiais são comumente relatadas na literatura. O estudo realizado por Balakrishna et al. (2017) compilou os resultados de 12 publicações na Índia que constataram a presença de cafeína em concentrações de $0,016$ a $102,840 \mu\text{g L}^{-1}$ no esgoto bruto e $0,019$ a $51,700 \mu\text{g L}^{-1}$ após tratamento por lodos ativados. No Brasil, Campanha et al. (2015) monitoraram o rio Monjolinho em São Carlos, no estado de São Paulo, durante 3 anos e verificaram que a cafeína foi um dos compostos mais frequentemente detectados e em concentrações mais elevadas, até $129,585 \mu\text{g L}^{-1}$. Em outro estudo desenvolvido no Brasil, Machado et al. (2016) detectaram cafeína nas águas superficiais das 22 capitais avaliadas, e em 93% das amostras de água portátil, cuja maior concentração foi evidenciada no município de Porto Alegre, em $2,769 \mu\text{g L}^{-1}$, na mesma região onde foi realizado o presente estudo. Os elevados teores de cafeína estão associados à presença da substância que é combinada a analgésicos e a bebidas energéticas, devido sua capacidade revigorante, bem como pelo próprio consumo de café e, especialmente no Rio Grande do Sul, aos hábitos culturais de tomar chimarrão com erva mate, rica em cafeína (MACHADO et al., 2016).

Após a cafeína, o paracetamol foi o segundo composto mais detectado no estudo de Campanha et al. (2015), atingindo a concentração máxima de $30,421 \mu\text{g L}^{-1}$ em águas superficiais. Na Índia, a compilação de Balakrishna et al. (2017) descreve concentrações de paracetamol de $4,500$ a $86,400 \mu\text{g L}^{-1}$ no esgoto bruto e $0,340$ a $0,690 \mu\text{g L}^{-1}$ após tratamento por lodos ativados. Em ambas as publicações verificaram-se concentrações superiores à média detectada no presente estudo, porém abaixo do valor máximo de $137,98 \mu\text{g L}^{-1}$ verificado em uma das três campanhas. As altas concentrações de paracetamol em águas residuárias estão diretamente relacionadas ao elevado consumo de analgésicos, o que segundo Martín et al. (2012) e Lin et al. (2018) está associado a facilidade de aquisição dos medicamentos, uma vez que não necessitam de prescrição médica para sua venda. Por esses motivos, essa classe é proposta como indicadores confiáveis de eficiência de tratamento de águas residuárias (TRAN et al., 2014).

Contudo, os resultados de determinação de fármacos nas amostras de efluente, aliados aos dados de literatura sobre compostos em águas superficiais (JANK et al., 2014; BALAKRISHNA et al. 2017; LIU et al., 2017), reforçam que os resíduos de fármacos não removidos durante o tratamento persistem no ambiente podendo retornar aos consumidores.

No lodo, foram detectadas elevadas concentrações de ciprofloxacina e ofloxacina, com médias de 2,217 e 1,142 mg kg⁻¹, respectivamente, seguidas de cafeína, norfloxacina e tetraciclina com valores inferiores a 1 mg kg⁻¹. A doxiciclina apesar de ter sido detectada, ficou abaixo do limite de quantificação (LOQ=0,040 mg kg⁻¹). Novamente identificou-se a predominância de antibióticos, porém de forma mais concentrada, tendo sido detectada a concentração máxima de ciprofloxacina (5,034 mg kg⁻¹) em novembro de 2017. Os resultados indicam que boa parte da redução desse antibiótico do efluente se deva a sorção no lodo.

As altas concentrações de ciprofloxacina e ofloxacina no lodo, bem como a detecção de norfloxacina, doxiciclina e tetraciclina podem ser explicadas pela facilidade que as substâncias dos grupos fluoroquinolonas e tetraciclinas possuem em se ligar a cátions divalentes presentes na fase sólida, tais como Ca²⁺, Mg²⁺ e Cu²⁺, promovendo a adsorção às partículas e a formação de complexos ternários mais estáveis (PULICHARLA et al., 2017). Outra explicação para a sorção desses compostos no lodo é descrita por Hu et al. (2018) e Yan et al. (2014), os quais destacam que as partículas coloidais são carregadas negativamente, desta forma os compostos nitrogenados, carregados positivamente, tendem a se aderir na fase sólida, inclusive em organismos aquáticos no momento em que são lançados em corpos hídricos.

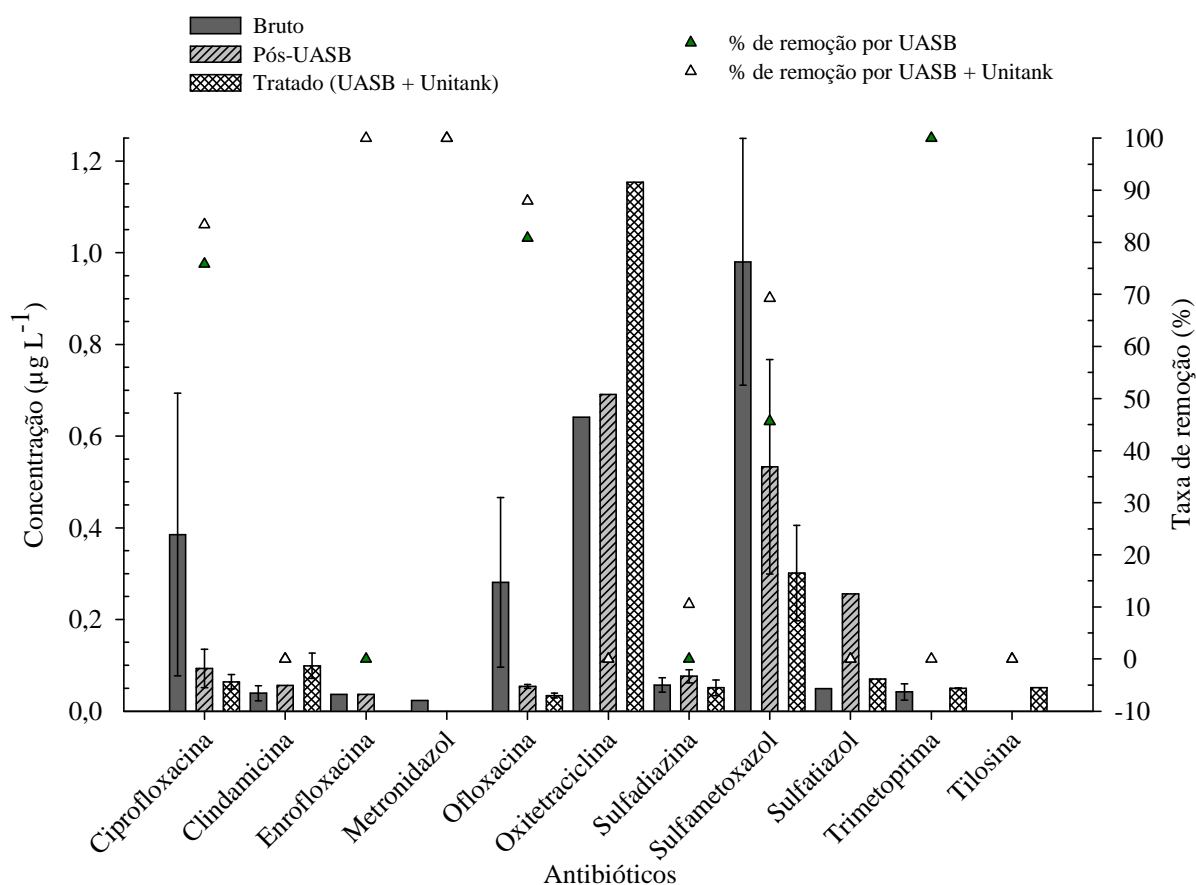
No estudo realizado por Lin et al. (2018), a ofloxacina (1,000 a 5,300 mg kg⁻¹) e a norfloxacina (0,430 a 2,000 mg kg⁻¹) apresentaram as maiores concentrações no lodo, similar aos resultados obtidos no presente estudo, e por Yan et al. (2014), ainda que a concentração máxima detectada de ofloxacina tenha sido de 1,559 mg kg⁻¹ e de norfloxacina de 0,408 mg kg⁻¹. Outros antibióticos, como ciprofloxacina e tetraciclina, foram detectados por Lin et al. (2018) em concentrações máximas de 0,180 e 0,480 mg kg⁻¹, respectivamente. Considerando o estudo de Hu et al. (2018), a concentração de norfloxacina (0,112 mg kg⁻¹) foi inferior à obtida no presente estudo, ao mesmo tempo em que as concentrações de doxiciclina e tetraciclina foram superiores. Os resultados de Verlicchi e Zambello (2015) corroboram as elevadas concentrações de ciprofloxacina (6,30 mg kg⁻¹) e norfloxacina (8,30 mg kg⁻¹) no lodo, assim como Ivanová et al. (2018) salienta a potencialidade dos lodos de esgoto em sorverem diferentes substâncias químicas, incluindo fármacos.

Os resultados desta pesquisa indicam que as sulfonamidas não são prontamente adsorvidas no lodo, como já retalado por Tang et al. (2016) e Hu et al. (2018), tendo em vista que foram detectadas somente no efluente. Desta forma, acredita-se que a degradação biológica seja o principal mecanismo de remoção de sulfonamidas, o que é corroborado por Hu et al. (2018). Em contrapartida, destaca-se que doxiciclina, fembendazol, norfloxacina e tetraciclina foram detectadas somente no lodo da ETE, o que pode indicar maior afinidade e interação eletrostática desses compostos com a fase sólida (LIN et al., 2018).

2.4.3 Mecanismos de remoção de fármacos e análise do balanço de massa

As concentrações e a taxa de remoção média de antibióticos nos reatores UASB e no tratamento completo (UASB + Unitank) estão apresentadas na Figura 3, sendo a taxa de remoção calculada a partir das Equações 1 e 2.

Figura 3 – Concentrações e eficiência média (%) de remoção dos antibióticos detectados no efluente bruto, pós-UASB (\blacktriangle) e tratado (UASB + Unitank (\triangle)) na ETE. As linhas nas barras mostram o erro padrão máximo e mínimo da concentração média dos antibióticos detectados em mais de uma campanha de amostragem

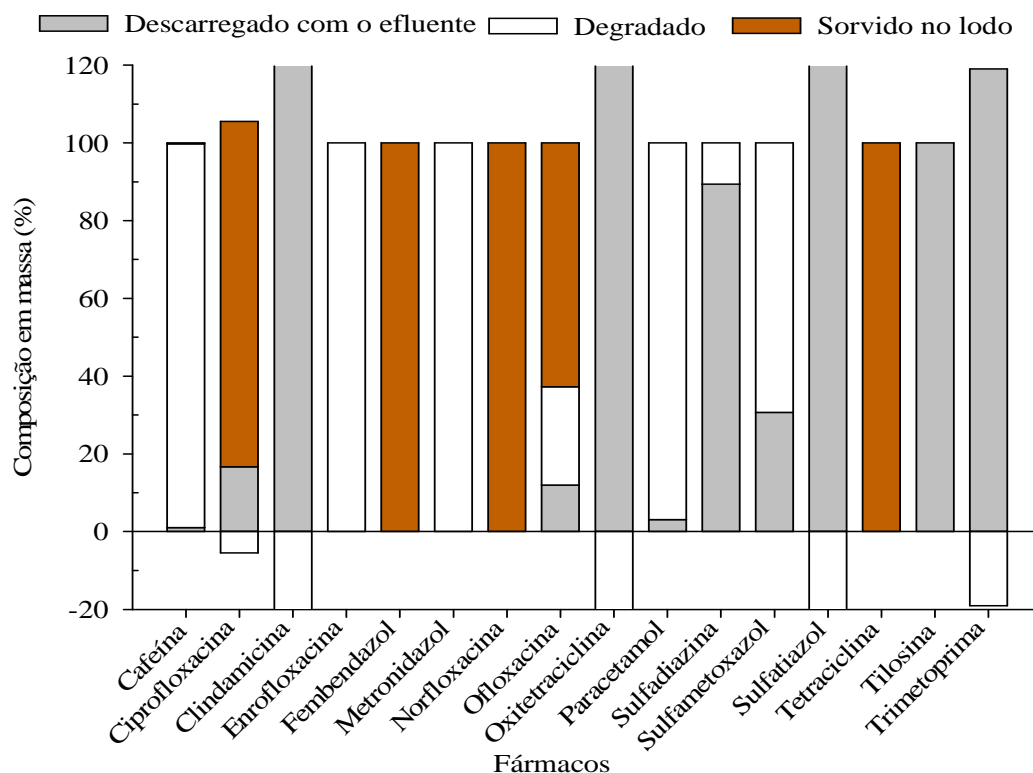


A enrofloxacin e o metronidazol foram os únicos fármacos não detectados, após o tratamento. No entanto, a remoção da enrofloxacin foi verificada somente em condições aeróbias, o que pode estar associado à biodegradação cometabólica devido à baixa concentração e complexidade do composto (GRANDCLÉMENT et al., 2017). Por sua vez, a remoção do metronidazol, menos complexo que a enrofloxacin, foi observada logo nos reatores anaeróbios. Comportamento similar foi observado com a trimetoprima que não foi mais detectada após os reatores anaeróbios, porém, voltou a ser quantificada no efluente final depois do tratamento por lodos ativados. O aumento das concentrações ao final do tratamento, também observado para clindamicina, oxitetraciclina, sulfatiazol e tilosina, pode estar relacionado à elevada vazão do sistema estudado e a temporalidade dos tratamentos com antibióticos. Desta forma, as concentrações dos diferentes fármacos na entrada do sistema são flutuantes, como comprovado pelas médias e desvio padrão (Tabela 1). Também contribuem para essa observação, a complexidade de degradação dos compostos e o comportamento hidrofóbico/hidrofílico das moléculas (GRANDCLÉMENT et al., 2017). Balakrishna et al. (2017), ao compilarem os resultados de 12 estudos na Índia também descrevem incrementos de alguns compostos após o tratamento do esgoto sanitário por lodos ativados convencional, entre eles trimetoprima e sulfonamidas. A mesma constatação é descrita por Yan et al. (2014), Lin et al. (2018) e Hu et al. (2018) com diferentes antibióticos e anti-inflamatórios.

Nesse sentido, a análise do balanço de massa é considerada uma abordagem efetiva para o conhecimento dos mecanismos de remoção de fármacos, restritos a degradação ou sorção em fase sólida, sendo empregada em vários estudos (YAN et al., 2014; LIN et al., 2018; HU et al., 2018; IVANOVÁ et al., 2018), como apresentado na Figura 4.

A ciprofloxacina e a ofloxacina foram reduzidas em 83,3 e 88%, respectivamente. Salienta-se que estes dois antibióticos apresentaram as maiores concentrações no lodo, com a peculiaridade de acúmulo de massa de ciprofloxacina no lodo superior à massa afluente a ETE (Figura 4). Logo, a principal forma de remoção dos dois antibióticos ocorre por sorção em fase sólida, o que é reforçado por Verlicchi e Zambello (2015) ao indicarem que esses compostos, assim como a norfloxacina, apresentam elevado coeficiente de distribuição sólido-líquido (k_d). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Lin et al. (2018), que verificaram adsorção de 65% de ciprofloxacina e 67% de ofloxacina no lodo. Ivanová et al. (2018) também detectou elevadas concentrações de ciprofloxacina (61,20%) em sólidos e no lodo de ETE da Eslováquia.

Figura 4 – Balanço de massa dos fármacos detectados no efluente tratado, degradados e sorvidos no lodo da ETE. As barras com valores negativos referem-se a incrementos nas concentrações dos compostos durante o tratamento



A tetraciclina, assim como os outros antibióticos doxiciclina (<LOQ) e norfloxacina, e o anti-helmíntico fembendazol, foi detectada somente no lodo. Estes resultados estão em conformidade com Lin et al. (2018), que verificaram taxas superiores a 80% de remoção de tetraciclina, com predomínio da adsorção do fármaco no lodo e degradação em menor nível.

Os resultados obtidos por Hai et al. (2011) confirmam o potencial e, ao mesmo tempo, a limitação de remoção de sulfametoxazol sob condições anaeróbias, anóxicas e aeróbias, tendo em vista a similitude das taxas de remoção identificadas pelos autores (65%) e pelo presente estudo (69%), que também foram similares aos resultados obtidos por Lin et al. (2018) para sulfonamidas. Contudo, a combinação da anaerobiose, responsável pela maior taxa de redução do sulfametoxazol (45,61%), e aerobiose durante o tratamento pode ampliar as taxas de remoção dos fármacos, seja por biodegradação ou sorção dos compostos na biomassa granular e floculenta (ALVARINO et al., 2014; ALVARINO et al., 2016).

A cafeína e o paracetamol apresentaram elevados percentuais de remoção nos reatores anaeróbios, respectivamente de 98,94 e 96,95%, os quais se mantiveram na etapa complementar de tratamento aeróbio, com pequena variação. Remoção de 99% de paracetamol é relatada por Lin et al. (2018) sem a detecção em lodo, confirmando que a

biodegradação é o mecanismo mais provável para a sua remoção. Martín et al. (2012) observaram variações significativas nas taxas de eliminação de cafeína (24,5 a 90,85%), o que foi associado ao consumo temporal da substância. No entanto, a concentração média de cafeína relatada pelos autores no efluente bruto foi 25 vezes inferior à verificada neste estudo, reforçando o elevado consumo da substância no Sul do Brasil.

O fluxo de massa de todos os fármacos detectados na fase líquida e sólida da ETE estudada foi calculado a partir das Equações 3 e 4, respectivamente. Desta forma, constatou-se que a carga média diária de fármacos afluente ao sistema, durante o monitoramento, foi de $9.401,767 \pm 1.044,641 \text{ g d}^{-1}$, enquanto que a descarga média estimada no efluente tratado foi de $511,466 \pm 56,829 \text{ g d}^{-1}$, e no lodo de $130,56 \text{ g d}^{-1}$. Destaca-se que o fluxo de massa calculado depende da vazão afluente, produção de lodo e concentração de fármacos em cada sistema, portanto, é definido caso a caso.

Os resultados obtidos nesta pesquisa reforçam a necessidade de se estudar sistemas complementares e/ou avançados de tratamento que possam reduzir ou remover as substâncias mais recalcitrantes e nocivas do efluente antes do lançamento no ambiente, bem como a importância de se analisar o lodo em estudos de desempenho de estações de tratamento de efluentes na remoção de fármacos, uma vez que vários compostos são preferencialmente sorvidos na fase sólida, que é comumente empregada como fertilizante agrícola em vários países e constituem-se, portanto, uma ameaça quando disponíveis aos organismos do solo (YAN et al., 2014; IVANOVÁ et al., 2018).

2.5 CONCLUSÕES

Constatou-se ampla distribuição de 13 fármacos na ETE estudada, com concentrações que variaram de 0,023 a $137,98 \mu\text{g L}^{-1}$ no efluente bruto, 0,025 a $1,170 \mu\text{g L}^{-1}$ no efluente tratado e 0,026 a $5,034 \text{ mg kg}^{-1}$ adsorvidos no lodo. Os antibióticos foram a classe com maior diversidade de compostos, tanto no efluente quanto no lodo, enquanto que o paracetamol e a cafeína apresentaram as concentrações mais elevadas. A clindamicina, oxitetraciclina, sulfadiazina, sulfatiazol e trimetoprima foram os compostos mais recalcitrantes, com incremento na concentração durante o tratamento. Em contrapartida, a enrofloxacina e o metronidazol não foram mais detectados após o tratamento, seguidos de elevadas taxas de remoção para cafeína e paracetamol (>97%), ofloxacina (88%) e ciprofloxacina (83%). A degradação microbiana foi responsável pela redução da maioria dos compostos detectados, no entanto ciprofloxacina e ofloxacina foram removidas, predominantemente, por sorção no

lodo, assim como doxiciclina, fembendazol, norfloxacina e tetraciclina. As cargas de fármacos em massa junto ao efluente tratado ($511,466 \text{ g d}^{-1}$) indicam que os sistemas com processos integrados de tratamento anaeróbio e aeróbio não removem completamente os fármacos. Desta forma, são necessários estudos (eco)toxicológicos para determinar o risco à comunidade aquática, e o desenvolvimento de técnicas que possam ampliar a eficiência de remoção de fármacos em esgotos sanitários.

2.6 REFERÊNCIAS

ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. NBR -10007: Amostragem de Resíduos Sólidos. Rio de Janeiro, 21 p., 2004.

ALVARINO, T.; SUAREZ, S.; LEMA, J. M.; OMIL, F. Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. **Journal of Hazardous Materials**, v.278, p. 506-513, 2014.

ALVARINO, T.; SUÁREZ, S.; GARRIDO, M.; LEMA, J. M.; OMIL, F. A UASB reactor coupled to a hybrid aerobic MBR as innovative plant configuration to enhance the removal of organic micropollutants. **Chemosphere**, v. 144, p. 452-458, 2016.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22th Edition. Washington, DC, 1360 p., 2012.

AQUINO, S. F. de; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.18, n.3, p. 187-204, 2013.

ARLOS, M.; PARKER, W. J.; BICUDO, J. R.; LAW, P.; MARJAN, P.; ANDREWS, S. A.; SERVOS, M. R. Multi-year prediction of estrogenicity in municipal wastewater effluents. **Science of the Total Environment**, v.610-611, p. 1103-1112, 2018.

BALAKRISHNA, K.; RATH, A.; PRAVEENKUMARREDDY, Y.; GURUGE, K. S.; SUBEDI, B. A review of the occurrence of pharmaceuticals and personal care products in Indian water bodies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.137, p. 113-120, 2017.

BERTHOD, L.; ROBERTS, G.; SHARPE, A.; WHITLEY, D.C.; GREENWOOD, R.; MILLS, G.A. Effect of sewage sludge type on the partitioning behaviour of pharmaceuticals: a meta-analysis. **Environmental Science Water Research & Technology**, v.1, n.2, 10 p., 2015.

BIRKHOLZ, D. A.; STILSON, S. M.; ELLIOTT, H. S. **Analysis of emerging contaminants in drinking water - A Review**. Comprehensive Water Quality and Purification, v.2, Elsevier Inc. Editors: Satinder Ahuja, p. 212-229, 2014.

BITTENCOURT, S.; AISSÉ, M. M.; SERRAT, B. M.; AZEVEDO, J. C. R. de. Sorção de poluentes orgânicos emergentes em lodo de esgoto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.21, n.1, p. 43-53, 2016.

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

CHERNICHARO, C. A. L. **Reatores anaeróbios**. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias, v.5. 2ª Ed. DESA, UFMG, 379 p., 2016.

EKPEGHERE, K. I.; LEE, J-W.; KIM, H-Y.; SHIN, S-k.; OH, J-E. Determination and characterization of pharmaceuticals in sludge from municipal and livestock wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v.168, p. 1211-1221, 2017.

FISCHER, K.; MAJEWSKY, M. Cometabolic degradation of organic wastewater micropollutants by activated sludge and sludge-inherent microorganisms. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.98, p. 6583-6597, 2014.

GAVRILESCU, M.; DEMNEROVÁ, K.; AAMAND, J.; AGATHOS, S.; FAVA, F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v.32, n.1, p. 147-156, 2015.

GIEBULTOWICZ, J.; NAŁECZ-JAWECKI, G. Occurrence of immunosuppressive drugs and their metabolites in the sewage-impacted Vistula and Utrata Rivers and in tap water from the Warsaw region (Poland). **Chemosphere**, v.148, p. 137-147, 2016.

GRANDCLÉMENT, C.; SEYSSIECQ, I.; PIRAM, A.; WONG-WAH-CHUNG, P.; VANOT, G.; TILIACOS, N.; ROCHE, N.; DOUMENQ, P. From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: A review. **Water Research**, v.111, p. 297-317, 2017.

GROS, M.; JERNSTEDT, H.; RENMAN, G.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; HAGLUND, P.; ANDERSSON, P. L.; WIBERG, K.; AHRENS, L. Screening and prioritization of micropollutants in wastewaters from on-site sewage treatment facilities. **Journal of Hazardous Materials**, v.328, p. 37-45, 2017.

GUO, J.; NI, B.; XAN, X.; CHEN, X.; BOND, P.; PENG, Y.; YUAN, Z. Unraveling microbial structure and diversity of activated sludge in a full-scale simultaneous nitrogen and phosphorus removal plant using metagenomic sequencing. **Enzyme and Microbial Technology**, v.102, p. 16-25, 2017.

HAI, F. I.; LI, X.; PRICE, W. E.; NGHIEM, L. D. Removal of carbamazepine and sulfamethoxazole by MBR under anoxic and aerobic conditions. **Bioresource Technology**, v.102, n.22, p. 10386-10390, 2011.

HU, J.; ZHOU, J.; ZHOU, S.; WU, P.; TSANG, Y. F. Occurrence and fate of antibiotics in a wastewater treatment plant and their biological effects on receiving waters in Guizhou. **Process Safety and Environmental Protection**, v.113, p. 483-490, 2018.

HUANG, H.; WU, J.; YE, J.; YE, T.; DENG, J.; LIANG, Y.; LIU, W. Occurrence, removal, and environmental risks of pharmaceuticals in wastewater treatment plants in south China. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v.12, n.6, p. 1-11, 2018.

IVANOVÁ, L.; FÁBEROVÁ, M.; MACKUL'AK, T.; GRABIC, R.; BODÍK, I. Estimation of amount of selected pharmaceuticals sorbed onto digested sludge from wastewater treatment plant Bratislava-Petržalka. **Environmental Research**, v.155, p. 31-35, 2017.

IVANOVÁ, L.; MACKUL'AK, T.; GRABIC, R.; GOLOVKO, O.; STAŇOVÁ, A. V.; SZABOVÁ, P.; GREŇČÍKOVÁ, A.; BODÍK, I. Pharmaceuticals and illicit drugs – A new threat to the application of sewage sludge in agriculture. **Science of the Total Environment**, v.634, p. 606-615, 2018.

JANK, L.; HOFF, R. B.; COSTA, F. J. da; PIZZOLATO, T. M. Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes in surface and wastewater samples by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.94, n.10, p. 1013-1037, 2014.

KLATTE, S.; SCHAEFER, H.; HEMPEL, M. Pharmaceuticals in the environment – A short review on options to minimize the exposure of humans, animals and ecosystems. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v.5, p. 61-66, 2017.

LIN, H.; LI, H.; CHEN, L. LI, L.; YIN, L.; LEE, H.; YANG, Z. Mass loading and emission of thirty-seven pharmaceuticals in a typical municipal wastewater treatment plant in Hunan Province, Southern China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.147, p. 530-536, 2018.

LIU, Y. H.; ZHANG, S. H.; JI, G. X.; WU, S. M.; GUO, R. X.; CHENG, J.; YAN, Z. Y.; CHEN, J. Q. Occurrence, distribution and risk assessment of suspected endocrine-disrupting chemicals in surface water and suspended particulate matter of Yangtze River (Nanjing section). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.135, p. 90-97, 2017.

MARGOT, J.; LOCHMATTER, S.; BARRY, D. A.; HOLLIGER, C. Role of ammonia-oxidizing bacteria in micropollutant removal from wastewater with aerobic granular sludge. **Water Science and Technology**, v.73, p. 564-575, 2016.

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

METCALF & EDDY, BURTON, F.; STENSEL, H. D.; TCHOBANOGLIOUS, G.; TSUCHIHASHI, R. **Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery**. 5^a Ed., Editora McGraw-Hill Education, 1856 p., 2016.

PULICHARLA, R.; HEGDE, K.; BRAR, S. K.; SURAMPALLI, R.Y. Tetracyclines metal complexation: significance and fate of mutual existence in the environment. **Environmental Pollution**, v.221, p. 1-14, 2017.

R CORE TEAM. R: **A language environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <<http://r-project.org/>> Acesso em: 03 mai. 2018.

RIZZETTI, T. M.; SOUZA, M. P. de; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Optimization of sample preparation by central composite design for multi-class determination of veterinary drugs in bovine muscle, kidney and liver by ultra-high-performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v.246, p. 404-413, 2018.

SANTOS, L.; GROS, M.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; DELERUE-MATOS, C.; PENA, A.; BARCELO, D.; MONTENEGRO, M. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: identification of ecologically relevant pharmaceuticals. **Science of the Total Environment**, v.461-462, p. 302-316, 2013.

SUBEDI, B.; BALAKRISHNA, K.; JOSHUA, D. I.; KANNAN, K. Mass loading and removal of pharmaceuticals and personal care products including psychoactives, antihypertensives, and antibiotics in two sewage treatment plants in southern India. **Chemosphere**, v.167, p. 429-437, 2017.

TANG, J.; BU, Y.; ZHANG, X. X.; HUANG, K.; HE, X.; YE, L.; SHAN, Z.; REN, H. Metagenomic analysis of bacterial community composition and antibiotic resistance genes in a wastewater treatment plant and its receiving surface water. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.132, p. 260-269, 2016.

TRAN, N. H.; LI, J. H.; HU, J. Y.; ONG, S. L. Occurrence and suitability of pharmaceuticals and personal care products as molecular markers for raw wastewater contamination in surface water and groundwater. **Environmental Science and Pollution Research**, v.21, p. 4727-4740, 2014.

VERLICCHI, P.; ZAMBELLO, E. Pharmaceuticals and personal care products in untreated and treated sewage sludge: Occurrence and environmental risk in the case of application on soil — A critical review. **Science of the Total Environment**, v.538, p. 750-767, 2015.

VON SPERLING, M. **Wastewater characteristics, treatment and disposal**. *Biological Wastewater Treatment Series*. v.1. IWA Publishing, DESA, UFMG, 306 p., 2007.

YAN, Q.; GAO, X.; CHEN, Y. P.; PENG, X. Y.; ZHANG, Y. X.; GAN, X. M.; ZI, C. F.; GUO, J. S. Occurrence, fate and ecotoxicological assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants in Chongqing, the Three Gorges Reservoir Area. **Science of the Total Environment**, v.470-471, p. 618-630, 2014.

YE, C.; ZHOU, Z.; LI, M.; LIU, Q.; XU, T.; LI, J. Evaluation of simultaneous organic matters and nutrients removal from municipal wastewater using a novel bioreactor (D-A²O) system. **Journal of Environmental Management**, v.218, p. 509-515, 2018.

3 ARTIGO 3 - DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS EM PÓS-TRATAMENTO DE EFLUENTE SANITÁRIO POR COMBINAÇÃO DE PROCESSOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADA

3.1 RESUMO

A maioria dos sistemas convencionais de tratamento de esgoto é projetada para remoção de matéria orgânica e, eventualmente, de nutrientes, não sendo capaz de remover por completo micropoluentes presentes no esgoto. Diante desta problemática, a degradação simultânea de 11 fármacos detectados no efluente de uma estação de tratamento de esgoto sanitário no Sul do Brasil foi investigada por processos de oxidação avançada, utilizando O_3 , radiação UV e as combinações O_3/UV , H_2O_2/UV e $O_3/H_2O_2/UV$. As amostras foram preparadas por extração em fase sólida, e a detecção dos fármacos foi realizada por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). Os princípios ativos ciprofloxacina, oxitetraciclina, paracetamol, sulfametoxazol e trimetoprima tiveram as concentrações aumentadas para análise de degradação. Os ensaios foram realizados em bancada a temperatura de $20,60 \pm 0,30$ °C e pH $6,94 \pm 0,02$, com recolhimento de alíquotas a 7,5 e 15 min. Foram avaliadas duas dosagens de O_3 , 0,5 e 0,9 mgO_3 $mgCOD^{-1}$, fotólise (254 nm) em reator construído de 2 L com lâmpada UV de 15 W, e as combinações da menor dosagem de O_3 com UV e com 25 mgH_2O_2 L^{-1} . A eficiência de mineralização dos fármacos foi avaliada por um analisador de COT. O processo $O_3/H_2O_2/UV$ foi mais eficiente na degradação de todos os fármacos detectados, possibilitando a redução de 89,32% de oxitetraciclina, 96,79% de cafeína, 97,40% de trimetoprima, 97,75% de ciprofloxacina, 99,79% de sulfametoxazol, 99,96% de paracetamol e 100% de clindamicina, ofloxacina, sulfadiazina, sulfatiazol e tilosina. O segundo processo com os melhores resultados de degradação foi H_2O_2/UV , enquanto que a fotólise e o O_3 , na menor dosagem, foram os processos menos efetivos. As degradações seguiram, predominantemente, cinéticas de segunda ordem para os processos O_3 , UV e O_3/UV , ao passo que a degradação dos fármacos nos processos combinados com H_2O_2 , dividiu-se entre cinéticas de primeira e segunda ordem. Foi verificado que as eficiências de degradação tendem a aumentar com a elevação da dosagem de O_3 e que as maiores taxas de degradação ocorrem nos minutos iniciais, podendo ser afetadas pelas concentrações de matéria orgânica residual. O maior percentual de mineralização (60,52%) foi obtido no processo $O_3/H_2O_2/UV$, sendo comprovada a existência da sinergia entre os agentes oxidantes combinados e seu potencial para redução de fármacos persistentes em sistemas convencionais de tratamento de esgoto.

Palavras-chave: Tratamento de esgoto sanitário. Micropoluentes. Ozonização. Fotólise. Peróxido de hidrogênio. $O_3/H_2O_2/UV$.

3.2 INTRODUÇÃO

Milhares de toneladas de fármacos são consumidos anualmente para prevenir e tratar enfermidades em humanos e animais, preponderantemente em países da Ásia, América e Europa (JIANG et al., 2014; MARTINI et al., 2018; HU et al., 2018). No entanto, a maioria desses medicamentos apresenta elevada estabilidade (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012) e baixa assimilação pelos organismos, sendo de 50 a 90% da dose administrada

excretada como substância ativa na urina (MARTINI et al., 2018; MONDAL, SAHA, SINHA, 2018). Deste modo os fármacos, tipicamente solúveis em água, chegam às estações de tratamento de esgoto sanitário (ETE), onde a maioria dos compostos não são completamente removidos pelos processos biológicos convencionais (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; LUO et al., 2014; KNOPP et al., 2016; BALAKRISHNA et al., 2017). Como consequência, as substâncias recalcitrantes, predominantemente antibióticos, são lançadas no ambiente junto com o efluente final, acarretando efeitos (eco)toxicológicos a diversos organismos não alvo, especialmente os aquáticos (LIU et al., 2018), podendo ser biotransformadas, bioacumuladas e biomagnificadas em diferentes níveis tróficos (MONDAL, SAHA, SINHA, 2018).

Diante dessa problemática, surge a necessidade de se buscar alternativas para a remoção ou redução máxima da diversidade de fármacos recalcitrantes em águas residuárias municipais e industriais. Nesse sentido, dentre outras técnicas, Luo et al. (2014) relatam o emprego de sistemas terciários com processos oxidativos avançados (POAs), que têm recebido destaque pelas facilidades de implantação em escalas reais e leve vantagem econômica, quando comparado ao emprego de membranas de filtração e adsorção em carvão ativado (HANSEN et al., 2016). Além disso, é crescente a aplicação de agentes oxidantes, como ozônio (O_3), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radiação ultravioleta (UV), de forma individualizada em estações de tratamento, sobretudo como sistemas de desinfecção para substituição de agentes clorados (ARAÚJO et al., 2016). Assim, tem se verificado o aumento do número de pesquisas com POAs para remoção simultânea de fármacos (ZIMMERMANN et al., 2011; DE LA CRUZ et al., 2013; KNOPP et al., 2016; HANSEN et al., 2016; AFONSO-OLIVARES et al., 2016), entre outros que abordam a degradação de compostos individualmente (MARTINI et al., 2018; MONDAL, SAHA, SINHA, 2018) ou então com reduzido número de princípios ativos selecionados (KATSOYIANNIS, CANONICA, GUNTEN, 2011; ALHARBI et al., 2017).

Complementarmente aos processos convencionais, os POAs podem ser empregados como tecnologia promissora na remoção de ampla gama de micropoluentes orgânicos em águas residuárias (BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015; ALHARBI et al., 2017), devido à formação de espécies altamente reativas com elevado poder oxidante, como o radical hidroxila (OH^\bullet) ($E^\circ = 2,80 \text{ V}$), que podem promover a mineralização ou transformação de diversos compostos orgânicos em substâncias mais simples (ARAÚJO et al., 2016).

O O_3 é um oxidante extremamente forte ($E^\circ = 2,07 \text{ V}$), com larga aplicação na desinfecção e remoção de sabor, odor e cor de águas (KATSOYIANNIS, CANONICA,

GUNTEN, 2011). A transformação de compostos orgânicos com O_3 ocorre de forma direta ou indireta. Pelo primeiro mecanismo, o ozônio molecular reage com compostos orgânicos via oxidação direta, enquanto que no último, há formação de radicais OH^\bullet que reagem com compostos orgânicos de forma mais rápida que o O_3 (MAHMOUD; FREIRE, 2007; HANSEN et al., 2016; MARTINI et al., 2018). Estudos descrevem reduções superiores a 70%, e até remoção completa de alguns fármacos solúveis que reagem instantaneamente com o ozônio logo nos primeiros 20 minutos de reação, com dosagens de 0,5 a 0,9 $mgO_3\ mgCOD^{-1}$ (carbono orgânico dissolvido) (ZIMMERMANN et al., 2011; KNOPP et al., 2016; HANSEN et al., 2016). No entanto, a remoção de fármacos por O_3 pode ser limitada pelo curto tempo de vida do agente oxidante e pela adesão de compostos às partículas de matéria orgânica (KANAKARAJU et al., 2018). Em contrapartida, a combinação do O_3 com radiação UV-C (200 a 360 nm) promove a fotólise do O_3 e gera radicais OH^\bullet que potencializam a degradação e mineralização de compostos orgânicos. Por sua vez, os radicais OH^\bullet que não reagem recombinam-se uns aos outros, gerando H_2O_2 (ARAÚJO et al., 2016; MARTINI et al., 2018).

O H_2O_2 apesar de ser considerado um oxidante forte ($E^\circ = 1,78\ V$) possui potencial de oxidação inferior ao do O_3 e do OH^\bullet . Assim, as reações com H_2O_2 não são eficientes para a degradação de compostos orgânicos, devido a sua decomposição muito lenta em radicais oxidantes, e forte influência de parâmetros como temperatura e pH (MARTINI et al., 2018). Por esse motivo, o H_2O_2 é comumente combinado com radiação UV-C (inferior a 280 nm), que quebra a ligação O-O da molécula de peróxido, produzindo OH^\bullet (ARAÚJO et al., 2016; ALHARBI et al., 2017). Outras combinações, como H_2O_2 e O_3 , também são possíveis, nas quais o H_2O_2 age como catalisador homogêneo acelerando a degradação do ozônio para a formação de radicais OH^\bullet não seletivos (HANSEN et al., 2016).

A fotólise, baseada na radiação UV-C (254 nm), é bastante utilizada na desinfecção de água potável, com crescente aplicação em águas residuárias pouco turvas (ALHARBI et al., 2017). Apesar de alguns fármacos serem suscetíveis a degradação mesmo em doses típicas para desinfecção (AFONSO-OLIVARES et al., 2016), a degradação é alcançada quando a radiação é suficiente para romper as ligações químicas dos compostos, ou seja, quando a energia do fóton excede a energia da ligação (MARTINI et al., 2018). A degradação dos fármacos pela radiação UV pode ocorrer tanto de forma direta, quanto indireta. Na primeira, a molécula absorve fótons de radiação e se rompe, enquanto que na última há geração de espécies reativas fortes, como OH^\bullet , a partir de compostos presentes naturalmente em solução (FATTA-KASSINOS; VASQUEZ; KÜMMERER, 2011; ALHARBI et al., 2017).

Ante o exposto, a combinação de dois ou mais POAs é recomendada para a formação de oxidantes fortes (OH^\bullet) (MARTINI et al., 2018), que podem reduzir a possível geração de subprodutos tóxicos durante a degradação (ARAÚJO et al., 2016; AFONSO-OLIVARES et al., 2016; ALHARBI et al., 2017). Nesse sentido, no presente estudo objetivou-se estudar a eficiência de degradação simultânea e a mineralização de fármacos no pós-tratamento de esgoto sanitário por processos de oxidação avançada com O_3 , radiação UV e as combinações O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Origem do efluente sanitário estudado

Os ensaios de pós-tratamento foram realizados com esgoto sanitário proveniente de uma ETE situada na região metropolitana de Porto Alegre, capital do Rio Grande do Sul (RS), Brasil. O sistema, que opera com vazão média de $2.250 \pm 250 \text{ L s}^{-1}$, atendendo cerca de 600.000 pessoas, é constituído de unidades mecânicas de gradeamento e desarenação e tratamento biológico em reatores UASB e lodos ativados, no processo denominado Unitank, com operações cíclicas da etapa de aeração, seguido de sedimentação e desinfecção com H_2O_2 .

As amostras de efluente tratado foram coletadas no emissário da ETE, no mês de abril de 2018, das 07 às 12 h, com o recolhimento de alíquotas a cada hora, até completar o volume de 40 L. Foram utilizadas bombonas de polietileno de alta densidade (PEAD) atóxico de 20 L, previamente higienizadas e enxaguadas com as amostras no momento da coleta. Uma alíquota de 1 L de amostra foi coletada em frasco âmbar para determinação de fármacos e hormônios, a qual foi mantida sobre refrigeração a $\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$ até a análise.

3.3.2 Procedimentos analíticos

As amostras de efluente foram submetidas à detecção de 43 compostos, entre fármacos de prescrição humana, veterinária e hormônios, no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), RS, Brasil. Os analitos em estudo foram: 17β -estradiol; acetato de megestrol; androstenediona; cafeína; ciprofloxacina; clindamicina; cloranfenicol; clortetraciclina; danofloxacina; diclofenaco; doxiciclina; enrofloxacina; estriol; estrona; etisterona; fembedazol; fembendazol sulfona;

florfenicol; flunixinina; ivermectina; lincomicina; marbofloxacina; metronidazol; norfloxacina; ofloxacina; oxitetraciclina; paracetamol; progesterona; sarafloxacina; sulfaclopiridazina; sulfadiazina; sulfadimetoxina; sulfadoxina; sulfamerazina; sulfametoxazol; sulfaquinoxalina; sulfatiazol; testosterona; tetraciclina; tilmicosina; tilosina e trimetoprima. Os padrões sólidos dos analitos foram adquiridos da empresa Dr. Ehrenstorfer (Alemanha) e Witega (Alemanha), com pureza entre 95,0 e 99,6%. A solução padrão individual de cada analito foi preparada em uma concentração de 1.000 mg L⁻¹ em acetonitrila. Após, foi preparada uma solução contendo a mistura de todos os fármacos na concentração de 10 mg L⁻¹ em acetonitrila. Estas soluções foram armazenadas em frascos âmbar a 5 °C.

O preparo das amostras foi realizado por meio de extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), adaptada de Jank et al. (2014), com a utilização de cartuchos Strata[®]-X. Nesse procedimento, 100 mL de amostra foram percolados e eluídos com a mistura acidificada dos solventes MeOH:MeCN (1:1, v/v). Em seguida, as amostras foram diluídas duas vezes em água ultrapura e analisadas por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS, do inglês *ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*) da Waters (EUA). Nesse processo, utilizou-se cromatógrafo líquido; detector MS do tipo triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ; fonte de ionização por eletronebulização; coluna analítica Acquity UPLC[®] BEH C18 (50 × 2,1 mm, 1,7 µm) da Waters (EUA); e sistema de aquisição de dados *software MassLynx* 4.1 (Waters, EUA). Foram empregados dois gradientes lineares para determinação de fármacos e hormônios, com tempo de corrida de 4 e 3 minutos, respectivamente, com vazão de 0,250 mL min⁻¹ e volume de injeção 10 µL para ambos. A fase móvel empregada para os fármacos, exceto cafeína e paracetamol, foi (A) água:metanol (98:2, v/v) e (B) metanol, ambas contendo 5 mmol L⁻¹ de formiato de amônio e ácido fórmico 0,1% (v/v); e para os hormônios, cafeína e paracetamol utilizou-se (A) solução aquosa de hidróxido de amônio 0,05% (v/v) e (B) metanol. A quantificação e identificação dos analitos foram realizadas pelo monitoramento de reações selecionadas.

As amostras de efluente também foram submetidas à caracterização físico-química e microbiológica antes e após a realização dos ensaios de pós-tratamento para o processo mais eficiente, tendo sido avaliados os parâmetros: carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (N_{Total}), alcalinidade, turbidez, sólidos suspensos (SS), temperatura, pH, demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO₅), fósforo total (P_{Total}) e coliformes termotolerantes, segundo os métodos analíticos do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA; AWWA; WEF, 2012).

O grau de mineralização dos fármacos foi determinado em função da remoção de COT em um analisador Shimadzu de alta sensibilidade, modelo TOC-L CPH, TNM-L, usando o método da fração não purgável de carbono orgânico (NPOC). O mesmo equipamento foi utilizado para determinação do carbono orgânico dissolvido (COD), que corresponde à fração da matéria orgânica permeada em filtro de 0,45 μm , obtido pela diferença entre carbono total e carbono inorgânico (ZIMMERMANN et al., 2011) e N_T .

3.3.3 Procedimento experimental

Para realização dos ensaios com POAs, após análise do efluente, foi adicionado à amostra os princípios ativos ciprofloxacina, oxitetraciclina, paracetamol, sulfametoxazol e trimetoprima, em concentrações superiores àquelas previstas sem efeitos (CPSE) para espécies mais sensíveis, por tratarem-se dos compostos com maior persistência e/ou ocorrência na amostra investigada, bem como em outros estudos (MARTÍN et al., 2012; DINH et al., 2017; HU et al., 2018), buscando-se ainda uma concentração que permitisse melhor comparação entre os diferentes processos.

Os ensaios de degradação de fármacos foram realizados com O_3 , radiação UV e as combinações O_3/UV , H_2O_2/UV e $O_3/H_2O_2/UV$, em escala de bancada em laboratório, sob temperatura ambiente de $20,60 \pm 0,30$ °C e pH $6,94 \pm 0,02$. O tempo de reação foi fixado em 15 minutos (min), uma vez que a degradação de fármacos por POAs pode ocorrer nos minutos iniciais (ZIMMERMANN et al., 2011; RIVAS; BELTRÁN; ENCINAS, 2012; KNOPP et al., 2016), enquanto que longos períodos de exposição dificilmente apresentariam viabilidade econômica em larga escala. As amostras não foram filtradas para simular condições reais.

3.3.3.1 Ensaio de degradação com O_3

A matéria orgânica dissolvida, mensurada em COD, é a principal matriz que determina o consumo de O_3 em águas residuárias, independente da concentração de fármacos (HANSEN et al., 2016). Por esse motivo, a determinação da dosagem de O_3 foi realizada com base na concentração de COD do efluente, como elucidado por Zimmermann et al. (2011), Knopp et al. (2016) e Hansen et al., (2016), e pela capacidade de produção da central geradora, que foi avaliada segundo o método iodométrico por titulação indireta, recomendado pela *International Ozone Association* (APHA; AWWA; WEF, 2012).

Os ensaios foram realizados com duas doses de O_3 , sendo a primeira mais baixa de 0,5 e a segunda de 0,9 $mgO_3\ mgCOD^{-1}$. O O_3 foi gerado em uma central compacta, com capacidade de produção de até 600 $mgO_3\ h^{-1}$, da marca Purizônio, a partir da sucção do ar atmosférico, filtragem em sílica gel, e descarga elétrica (efeito Corona). A tubulação de saída do equipamento foi conectada a uma pedra porosa disposta no fundo de um frasco reacional de vidro, do tipo lavador de gases, de 1.000 mL. A saída deste frasco foi conectada a outro lavador de gases de 500 mL contendo solução de iodeto de potássio 2% para transformação do ozônio residual em oxigênio (APHA; AWWA; WEF, 2012). O ensaio de degradação foi realizado em batelada, durante 15 min, com recolhimento de alíquotas de 100 mL após 7,5 min e ao final da reação para análises cromatográficas, de COT, DQO, turbidez e pH.

3.3.3.2 *Ensaio de degradação com UV*

O experimento de degradação por fotólise foi realizado em um fotorreator cilíndrico de 76 mm de diâmetro, 480 mm de comprimento, e volume útil de 2,0 L. O fotorreator foi construído em PVC equipado, ao centro, com uma lâmpada OSRAM de mercúrio de baixa pressão UV-C ($\lambda=253,7\ nm$), de 15 W de potência em tubo de quartzo transparente, com a qual o efluente ficou em contato direto, sob agitação lenta, para uma exposição uniforme. Antes da alimentação do fotorreator, a lâmpada foi ligada com antecedência de 30 minutos para que atingisse radiação máxima. Em seguida, o efluente foi exposto à radiação UV durante 15 min, com recolhimento de alíquotas após 7,5 min e ao final da reação, sob as mesmas condições do experimento anterior.

3.3.3.3 *Ensaio de degradação com O_3/UV*

Para o experimento de ozonização combinado com radiação UV foi avaliada a dosagem de 0,5 $mgO_3\ mgCOD^{-1}$, associada ao reator do ensaio de fotólise, que também foi empregado para os demais experimentos com UV, sob as mesmas condições de pré-aquecimento da lâmpada. Para este ensaio, a pedra porosa da central geradora de O_3 foi inserida no interior do fotorreator. Após alimentação do sistema com efluente, iniciou-se a injeção de O_3 que homogeneizou a solução, promovendo a uniformidade de contato O_3 /efluente/UV. Na saída do reator, foram adotados os mesmos cuidados de destruição do ozônio residual, em solução de iodeto de potássio 2%. Da mesma forma, seguiu-se o padrão de coleta de amostras e o tempo adotado para os demais experimentos.

3.3.3.4 Ensaio de degradação com H_2O_2/UV

Este experimento consistiu da adição de $25 \text{ mgH}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$ (35%, Merck) de efluente alimentado no fotorreator, com base no estudo realizado por Afonso-Olivares et al. (2016). O efluente ficou em contato direto com a lâmpada, sob agitação lenta, para uma exposição uniforme. Novamente, a lâmpada foi ligada com antecedência de 30 min e alíquotas foram coletadas após 7,5 e 15 min de reação para análises de degradação de fármacos, COT, DQO, turbidez e pH.

3.3.3.5 Ensaio de degradação por $O_3/H_2O_2/UV$

Este experimento foi realizado sob as mesmas condições do anterior, porém avaliou-se a influência da combinação com O_3 . Após a inserção da mangueira com a pedra porosa no interior do fotorreator, o efluente contendo $25 \text{ mgH}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}$ (35%, Merck) foi adicionado ao sistema. Adotou-se a dosagem de $0,5 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$, que possibilitou a homogeneização e uniformidade de contato da amostra com a lâmpada. Assim como os outros, este sistema foi operado em batelada com a coleta de alíquotas na metade do tempo reacional e ao final para realização das análises anteriormente mencionadas.

Ressalta-se que, entre os ensaios, o fotorreator foi lavado com água deionizada corrente, seguido de homogeneização com a amostra a ser pós-tratada.

3.4 ANÁLISE DE EFICIÊNCIA DOS POAs NA DEGRADAÇÃO DOS FÁRMACOS

Para avaliação da eficiência dos processos na remoção/redução de fármacos, COT e demais parâmetros do efluente utilizou-se a Equação 1, onde E corresponde a eficiência (%), C_0 e C representam a concentração inicial e final de interesse, respectivamente.

$$E (\%) = \left(\frac{C_0 - C}{C_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

Também foram considerados, na remoção dos fármacos, os princípios da cinética química de reações (ABARGUES et al., 2018), utilizando a regressão linear para determinação das constantes de velocidade (K), coeficientes de correlação (R^2) e os tempos de meia vida dos fármacos ($t_{1/2}$), em cada processo.

Os experimentos de degradação foram replicados outras duas vezes para validação estatística dos processos. Esta validação foi realizada por meio do teste ANOVA com base na

concentração de COT do efluente no início e ao final da reação. Para análise dos resultados foi aplicada a comparação entre médias pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando-se os procedimentos disponíveis no pacote estatístico R (R CORE TEAM, 2018).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 43 compostos avaliados, 13 fármacos foram detectados no efluente bruto da ETE estudada, e 11 destes permaneceram no efluente após o tratamento (Tabela 1), indicando a necessidade de técnicas complementares para sua remoção ou redução. A Tabela 1 também apresenta a concentração dos princípios ativos que foram adicionados ao efluente, devido sua persistência e ocorrência, para melhor comparação dos processos de pós-tratamento. Apenas enrofloxacina e metronidazol, detectados no efluente bruto em concentrações de 0,037 e 0,023 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, foram removidos por completo pelo sistema convencional.

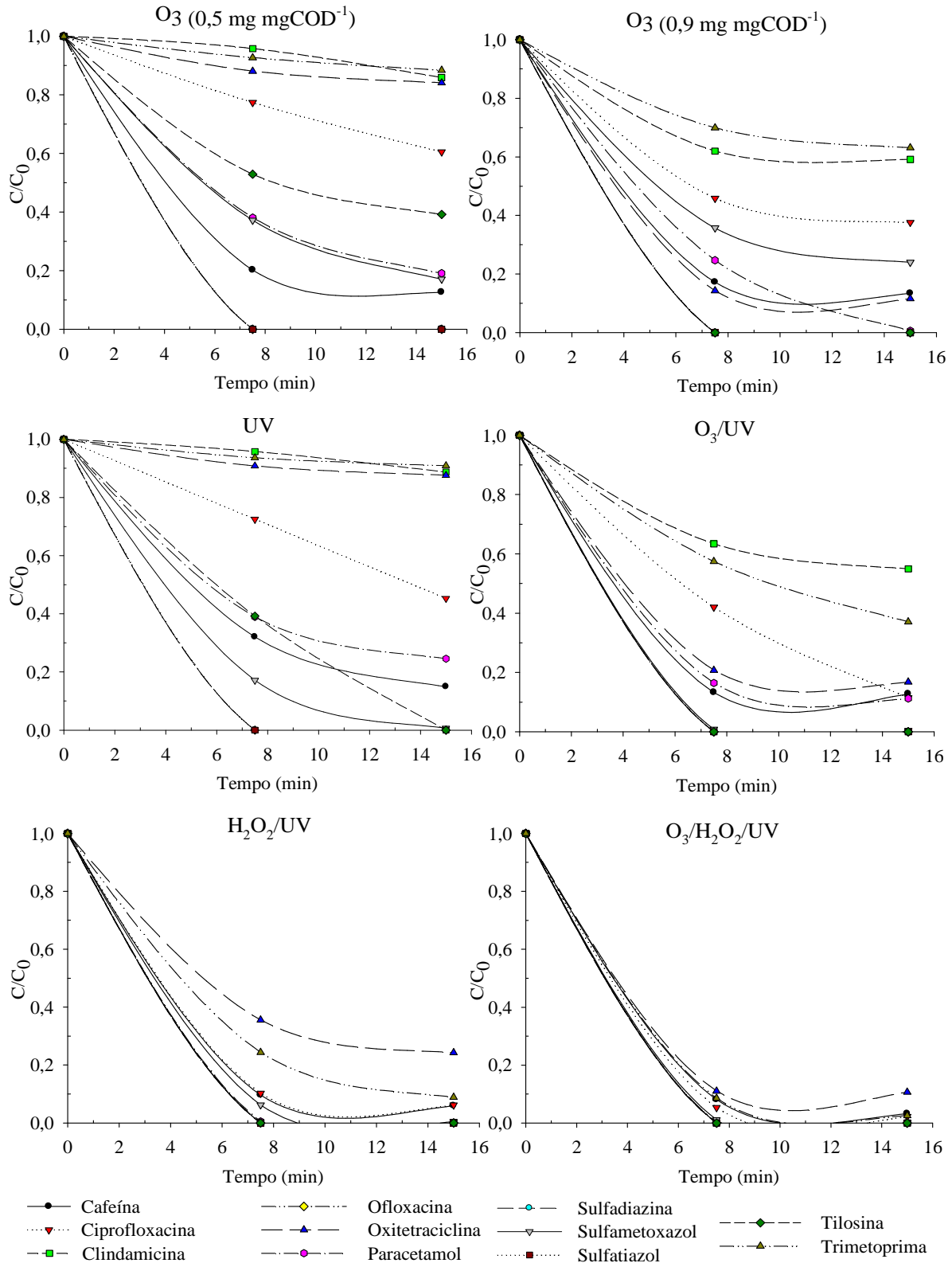
Tabela 1 - Concentrações de fármacos detectados por UHPLC-MS/MS na amostra de efluente sanitário, antes e após incremento de princípios ativos para os ensaios de pós-tratamento

Fármacos	LOD	LOQ	Efluente sanitário tratado (EST)	EST acrescido de fármacos
	$(\mu\text{g L}^{-1})$			$(\mu\text{g L}^{-1})$
cafeína	0,006	0,020	0,966	0,966
ciprofloxacina	0,006	0,020	0,092	11,443*
clindamicina	0,006	0,020	0,071	0,071
ofloxacina	0,006	0,020	0,025	0,025
oxitetraciclina	0,060	0,200	1,154	7,929*
paracetamol	0,012	0,040	1,170	151,170*
sulfadiazina	0,006	0,020	0,078	0,078
sulfametoxazol	0,006	0,020	0,255	188,692*
sulfatiazol	0,006	0,020	0,070	0,070
tilosina	0,006	0,020	0,051	0,051
trimetoprima	0,006	0,020	n.d.	30,647*

LOD: Limite de detecção do método (do inglês, *Limit of detection*). LOQ: Limite de quantificação do método (do inglês, *Limit of quantification*). n.d.: Não detectado. *Princípios ativos que tiveram sua concentração aumentada para os ensaios de pós-tratamento.

A partir do conhecimento da concentração de fármacos, COD ($6,31 \text{ mg L}^{-1}$) e COT ($10,69 \text{ mg L}^{-1}$) no efluente, foram realizados os ensaios de degradação por diferentes POAs, cujos resultados estão apresentados na Figura 1.

Figura 1 – Degradação de fármacos em esgoto sanitário por processos oxidativos avançados: O_3 (0,5 e 0,9 $mgO_3 \text{ mgCOD}^{-1}$); UV (15 W); O_3/UV (0,5 $mgO_3 \text{ mgCOD}^{-1}/UV$ 15 W); H_2O_2/UV (25 $mgH_2O_2 \text{ L}^{-1}/UV$ 15 W); $O_3/H_2O_2/UV$ (0,5 $mgO_3 \text{ mgCOD}^{-1}/25 \text{ mgH}_2O_2 \text{ L}^{-1}/UV$ 15 W)

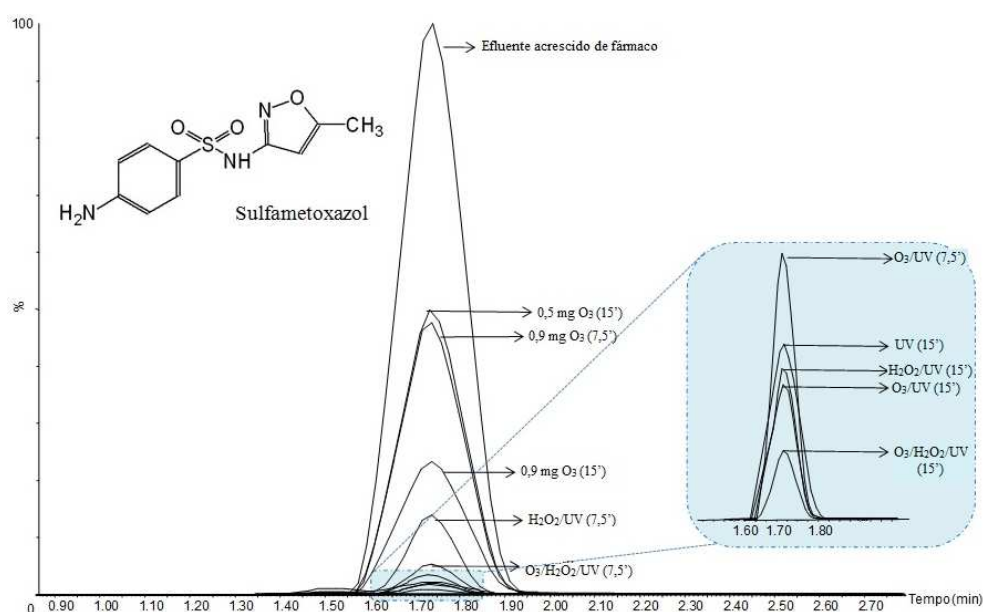


Nota: Relação entre a concentração final (C) e a concentração inicial (C_0).

Os POAs avaliados apresentaram diferentes desempenhos na remoção dos fármacos, exceto para os antibióticos ofloxacina, sulfadiazina e sulfatiazol, que não foram mais detectados nos primeiros minutos de reação, independentemente do processo. A degradação desses antibióticos pode ter sido favorecida pelas baixas concentrações, que variaram de 0,025 a 0,078 $\mu\text{g L}^{-1}$, para ofloxacina e sulfadiazina, respectivamente. No entanto, a clindamicina, apesar de ter sido detectada em baixa concentração (0,071 $\mu\text{g L}^{-1}$), foi removida somente pelos processos $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, mostrando-se mais sensível ao H_2O_2 combinado com a radiação UV, uma vez que o O_3 e a radiação UV, isolados ou combinados, não possibilitaram a eliminação do princípio ativo, devido sua estrutura molecular mais complexa. Outros três antibióticos, trimetoprima, ciprofloxacina e sulfametoxazol, também apresentaram degradações inferiores aos demais fármacos nos processos que avaliaram o O_3 isoladamente. Este resultado pode ter sido influenciado pela dose do agente oxidante, uma vez que Martini et al. (2018) relataram que o sulfametoxazol foi mais facilmente removido por ozonização única, após 15 min de reação, porém com a aplicação de 50 $\text{mgO}_3 \text{L}^{-1}$, ou seja, 8,8 vezes a aplicação máxima reportada neste estudo. A dosagem de 0,5 $\text{mgO}_3 \text{mgCOD}^{-1}$ não possibilitou a completa remoção de tilosina, que possui maior cadeia estrutural de carbono, hidrogênio e oxigênio que os demais compostos detectados.

O sulfametoxazol apresentou sensibilidade à radiação UV, com elevadas taxas de degradação nos primeiros minutos, porém as maiores reduções nas concentrações foram observadas nos processos O_3/UV e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, respectivamente, 99,57 e 99,79% (Figura 2).

Figura 2 – Cromatograma de íon total para o sulfametoxazol após tratamento do efluente por diferentes POAs



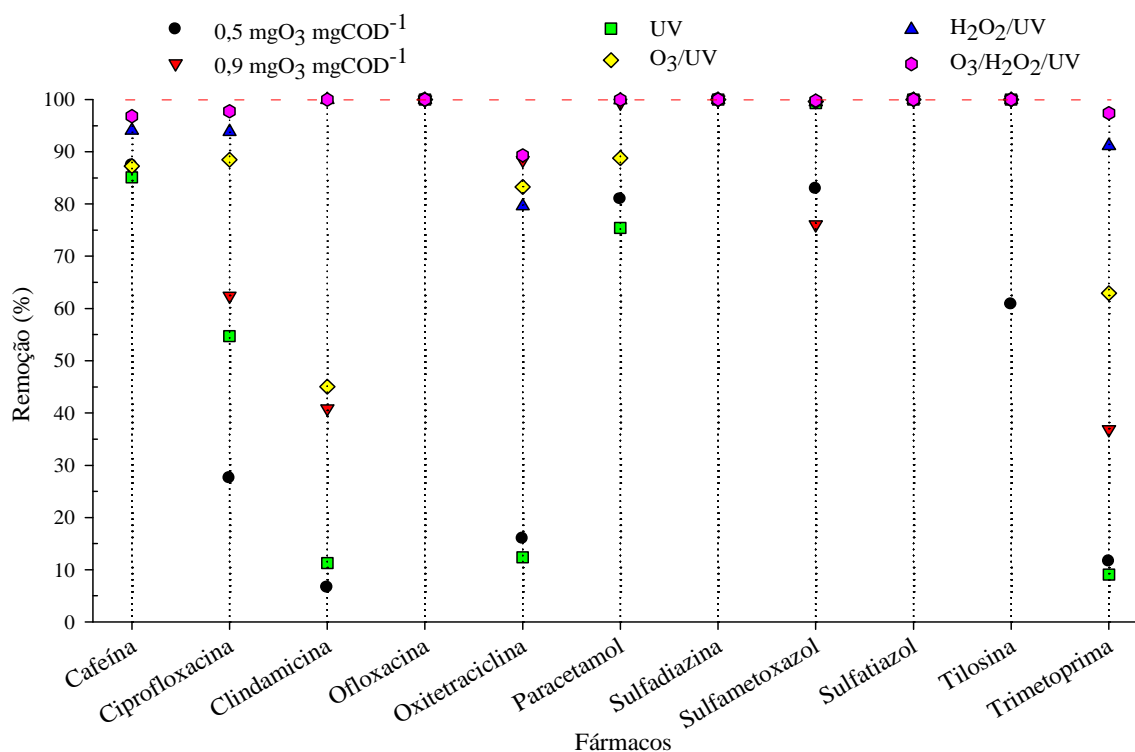
Por outro lado, a clindamicina, oxitetraciclina e a trimetoprima foram os antibióticos menos afetados pela fotólise. Esta constatação denota a restrição do emprego exclusivo da radiação UV na degradação de fármacos, uma vez que o sulfametoxazol é coadministrado com trimetoprima na relação de 5:1 (LIN et al., 2018). Por sua vez, a radiação UV possibilitou a redução de mais da metade da concentração da ciprofloxacina, após o período de avaliação. Cabe destacar que a combinação O₃/UV potencializou a degradação dos demais fármacos se comparada à ação isolada do O₃ e da radiação UV, o que se deve a maior reatividade de alguns princípios ativos com o ozônio molecular (KNOPP et al., 2016), e outros com a oxidação promovida por radicais OH[•] formados pela fotólise do O₃, como observado por Rivas, Beltrán e Encinas (2012).

De forma geral, a degradação dos fármacos foi intensificada no processo H₂O₂/UV, com maior redução das concentrações e celeridade. Apenas oxitetraciclina e trimetoprima se mostraram menos sensíveis à combinação, principalmente devido à baixa influência da radiação UV a esses antibióticos. Contudo, o aumento das taxas de degradação no processo H₂O₂/UV pode ser explicado pela formação de radicais OH[•] no método fotoquímico, desencadeado através da oxidação direta do H₂O₂ pela luz UV, que quebra a ligação O-O da molécula, conhecida como fissão homolítica do peróxido (ARAÚJO et al., 2016).

A ação de radicais OH[•] formados no processo H₂O₂/UV, associados à reação direta do O₃ com moléculas orgânicas, via adição eletrofílica, e indireta na formação de espécies radicalares (MAHMOUD; FREIRE, 2007; HANSEN et al., 2016), permitiu que o tratamento por O₃/H₂O₂/UV apresentasse as mais altas taxas de remoção dos fármacos, logo nos primeiros minutos de reação. Kanakaraju, Glass e Oelgemöller (2018) confirmam que a maioria das técnicas híbridas e integradas apresenta desempenho superior aos tratamentos únicos. No entanto, apesar da redução significativa de todos os fármacos, a oxitetraxiclina e a trimetoprima apresentaram maior resistência à degradação no final da reação.

A eficiência de remoção dos fármacos, apresentada na Figura 3, indica claramente as diferentes respostas dos princípios ativos aos agentes oxidantes avaliados, comprovando a importância de estudos com amostras reais para definição do processo que apresente o melhor resultado.

Figura 3 – Remoção dos fármacos investigados por processos oxidativos avançados: O₃; UV (15 W); O₃/UV (0,5 mgO₃ mgCOD⁻¹/UV 15 W); H₂O₂/UV (25 mgH₂O₂ L⁻¹/UV 15 W); O₃/H₂O₂/UV (0,5 mgO₃ mgCOD⁻¹/ 25 mgH₂O₂ L⁻¹/UV 15 W)



O elevado desempenho do processo O₃/H₂O₂/UV é atribuído à formação extensiva de radicais OH[•], devido à fotozonização, ampliados com a adição do H₂O₂ (MARTINI et al., 2018). Esse processo é mencionado por Jiang, Zhou e Sharma (2013) como um dos principais métodos para geração de radicais OH[•]. Desta forma, os antibióticos clindamicina, ofloxacina, sulfadiazina, sulfatiazol e tilosina foram 100% removidos, seguidos da degradação quase completa de paracetamol (99,96%), sulfametoxazol (99,79%), ciprofloxacina (97,75%), trimetoprima (97,40%) e cafeína (96,79%), enquanto que a oxitetraciclina mostrou-se mais persistente, mas com elevado percentual de redução (89,32%). Ressalta-se que as remoções superiores a 90% foram obtidas logo nos primeiros minutos de reação, indicando o potencial do processo na degradação dos micropoluentes alvo, embora sejam raras as publicações de estudos com a combinação O₃/H₂O₂/UV na remoção de fármacos em águas residuárias (MARTINI et al., 2018).

A cafeína e a ciprofloxacina se mostraram mais sensíveis aos processos que utilizaram H₂O₂ combinado com radiação UV, indicando a oxidação, predominantemente, por radicais OH[•], apesar da cafeína já ter se mostrado sensível a radiação UV. Assim como no processo mais eficiente, as remoções superiores a 90% de cafeína e ciprofloxacina ocorreram nos

minutos iniciais da reação, quando há maior disponibilidade de radicais OH^\bullet . Os resultados reportados aqui são semelhantes aos descritos por Afonso-Olivares et al. (2016), com a mesma concentração de H_2O_2 (25 mg L^{-1}) combinado com UV. Os autores descrevem elevadas remoções de cafeína (87%), ofloxacina (79%), ciprofloxacina e sulfametoxazol (>99%), enquanto que este estudo obteve, para os mesmos fármacos, reduções de 94,10; 100; 93,86 e 99,57%, respectivamente. Mondal, Saha e Sinha (2018) relataram remoção completa de ciprofloxacina ($C_0 = 10 \text{ mg L}^{-1}$), após 40 min de reação UV/ H_2O_2 (100 mmol L^{-1}).

Por sua vez, a redução de oxitetraciclina no processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ foi inferior aos processos com O_3 e O_3/UV , o que indica maior degradação do princípio ativo pela ação do ozônio molecular, tendo em vista o aumento da eficiência no processo $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$.

Os resultados comprovam que a eficiência de degradação dos fármacos aumenta à medida que a dose de O_3 é elevada, o que também foi observado para as concentrações de H_2O_2 por Afonso-Olivares et al. (2016), de 5 a 25 mg L^{-1} , e Mondal, Saha e Sinha (2018), de 1 a 100 mmol L^{-1} . A remoção de ciprofloxacina aumentou de 27,50 para 62,40% com elevação da dose de 0,5 para $0,9 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$, enquanto que a remoção de clindamicina passou de 6,58 para 40,85%, oxitetraciclina passou de 15,94 para 88,40%, paracetamol aumentou de 80,91 para 99,34%, tilosina de 60,78 para 100% e trimetoprima de 11,60 para 36,86%. O aumento da eficiência de degradação de fármacos com a elevação da dose de O_3 também é relatada em outros estudos (KATSOYIANNIS et al., 2011; ZIMMERMANN et al., 2011; LEE et al., 2013; HANSEN et al., 2016; KNOPP et al., 2016).

A menor eficiência de remoção foi obtida para clindamicina a $0,5 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$ (6,58%), influenciada pela estrutura molecular complexa do composto. No entanto, a radiação UV também se mostrou pouco efetiva para remoção do mesmo antibiótico, reduzindo apenas 11,27% da concentração inicial. Comportamento similar foi observado na redução de oxitetraciclina (12,40%) e trimetoprima (9,11%) sob luz UV. Alharbi et al. (2017) descrevem redução de 58,2% de trimetoprima após 1 hora de exposição à radiação UV, denotando a baixa reatividade do antibiótico ao processo.

Entretanto, a radiação UV em 15 min no presente estudo possibilitou a remoção de 54,73% da concentração de ciprofloxacina, muito próximo aos 60% relatados por Mondal, Saha e Sinha (2018), que também aplicaram fotólise direta, porém durante 120 min para o mesmo antibiótico. Aos demais fármacos detectados neste estudo, a fotólise possibilitou reduções superiores a 75%, acima dos percentuais relatados por Afonso-Olivares et al. (2016) para cafeína (10,99%) e ofloxacina (71%) após 45 min de reação, iguais para sulfametoxazol (>99%) e inferiores para ciprofloxacina (>99%) e trimetoprima (18,80%). Cabe destacar que

os autores tinham uma relação de 6,25 L de amostra por lâmpada (14 W), enquanto que este estudo tinha relação de 2 L por lâmpada (15W), porém concentrações superiores.

A degradação completa de fármacos em águas residuárias costuma ser comprometida pela presença de matéria orgânica e nitrogênio, que interferem na ação dos radicais OH^\bullet sobre os micropoluentes alvo (KATSOYIANNIS, CANONICA, GUNTEN, 2011). Nesse sentido, a reatividade da composição da matéria orgânica de efluentes (MOEf) com o radical hidroxila foi estudada por Dong, Mezyk e Rosario-Ortiz (2010), sendo observado a redução dos radicais OH^\bullet à medida que o peso molecular da fração orgânica aumentava. Assim, quanto maior a concentração residual de MOEf, maiores serão os efeitos de eliminação de radicais OH^\bullet . Isto pode explicar a degradação incompleta de alguns fármacos ao final do processo, já que o esgoto sanitário avaliado possuía $42,94 \text{ mg L}^{-1}$ de DQO, $10,69 \text{ mg L}^{-1}$ de COT e $27,43 \text{ mg L}^{-1}$ de N_{Total} . Desta forma, concentrações mais elevadas de O_3 e H_2O_2 , bem como ampliação do tempo de reação e análises sob concentrações reduzidas de matéria orgânica e nitrogênio são sugeridas em novos estudos.

3.5.1 Análise da cinética de degradação

De forma geral, a degradação de antibióticos, e outros medicamentos, costuma seguir uma cinética de primeira ordem (KANAKARAJU, GLASS, OELGEMÖLLER, 2018), porém as condições de degradação promovidas por POAs podem induzir a cinética de segunda ordem (KATSOYIANNIS, CANONICA, VON GUNTEN, 2011; JIANG, ZHOU, SHARMA, 2013; MONDAL, SAHA, SINHA, 2018), como observado neste estudo para a maioria dos fármacos expostos ao O_3 (0,9 mg), radiação UV e a combinação O_3/UV . Quando esses processos foram analisados individualmente, somente a degradação do paracetamol seguiu cinética de primeira ordem, enquanto que os dois processos que combinaram o uso de H_2O_2 apresentaram comportamento análogo entre si quanto à cinética de degradação, cujos parâmetros são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros cinéticos das reações de degradação dos fármacos pelos diferentes POAs estudados: Ordem das reações; constante cinética (K); coeficiente de correlação (R²) e tempo de meia vida (t_{1/2})

Processo	Fármaco	Ordem de reação	Constante K (min ⁻¹)	Coefficiente de correlação (R ²)	t _{1/2} (min)
O ₃ (0,9 mg)	cafeína	2	0,4478	0,9272	2,31
	ciprofloxacina	2	0,0970	0,9436	0,90
	clindamicina	2	0,6483	0,8323	21,73
	oxitetraciclina	2	0,0641	0,8993	1,97
	paracetamol	1	0,3346	0,9387	2,07
	sulfametoxazol	2	0,0011	0,9938	4,82
	trimetoprima	2	0,0013	0,9289	25,10
UV	cafeína	2	0,3939	0,8718	2,63
	ciprofloxacina	2	0,0070	0,9988	12,48
	clindamicina	2	0,1192	0,9877	118,16
	oxitetraciclina	2	0,0012	0,9873	105,10
	paracetamol	1	0,0936	0,9991	7,41
	sulfametoxazol	2	0,0529	0,9821	0,10
	trimetoprima	2	0,0002	0,9070	163,15
O ₃ /UV	cafeína	2	0,4730	0,7835	2,19
	ciprofloxacina	1	0,1441	0,9872	4,81
	clindamicina	2	0,7704	0,9473	18,28
	oxitetraciclina	2	0,0418	0,9138	3,02
	paracetamol	2	0,0035	0,9742	1,89
	sulfametoxazol	2	0,0952	0,9967	0,06
	trimetoprima	1	0,0662	0,9955	10,47
H ₂ O ₂ /UV	cafeína	2	1,1006	0,9896	0,94
	ciprofloxacina	2	0,0890	0,9923	0,98
	oxitetraciclina	2	0,0328	0,9983	3,85
	paracetamol	1	0,4836	0,9388	1,43
	sulfametoxazol	1	0,3626	0,9999	1,91
	trimetoprima	1	0,1617	0,9911	4,29
O ₃ /H ₂ O ₂ /UV	cafeína	2	2,0815	0,9804	0,50
	ciprofloxacina	2	0,2526	0,9889	0,35
	oxitetraciclina	2	0,0703	0,7778	1,79
	paracetamol	1	0,5267	0,9119	1,32
	sulfametoxazol	1	0,4119	0,9367	1,68
	trimetoprima	1	0,2432	0,9614	2,85

Nota: Os parâmetros dos antibióticos ofloxacina, sulfadiazina, sulfatiazol e tilosina não são apresentados, pois foram completamente removidos nos primeiros instantes, em todos os processos, assim como ocorreu com a clindamicina por H₂O₂/UV e O₃/H₂O₂/UV.

A partir da cinética de degradação dos fármacos, verificou-se que os valores mais elevados da constante de velocidade (k) foram obtidos pela combinação O₃/H₂O₂/UV que, conseqüentemente, possibilitou o menor tempo de meia vida aos princípios ativos. Este comportamento reforça as afirmações de que a remoção dos fármacos ocorre nos primeiros minutos de reação, e a eficiência do processo é dependente das condições de operação e

concentrações dos agentes oxidantes. A pH neutro, outros estudos comprovaram a degradação acentuada dos fármacos no início das reações (MAHMOUD; FREIRE, 2007; ZIMMERMANN et al., 2011; RIVAS; BELTRÁN; ENCINAS, 2012; KNOPP et al., 2016; HANSEN et al., 2016), seja pelo ozônio molecular ou pelos radicais OH^\bullet formados na combinação O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Jiang et al. (2010) e Rivas, Beltrán e Encinas (2012) salientam que o O_3 e a radiação UV são capazes de reagir instantaneamente com vários fármacos e outros micropoluentes, a partir de uma cinética de segunda ordem, como observado neste estudo. Ressalta-se que os processos combinados com H_2O_2 apresentaram cinéticas de degradação de primeira e de segunda ordem, para os mesmos fármacos.

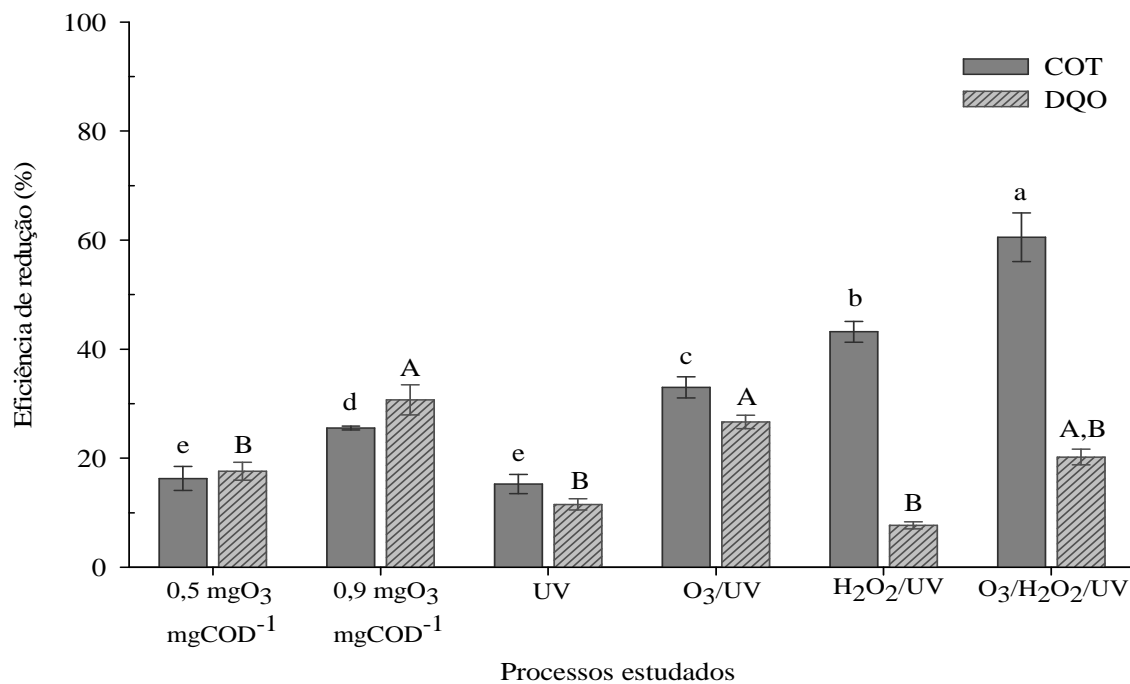
De modo geral, os antibióticos oxitetraciclina e trimetoprima se mostraram mais resistentes à degradação, enquanto que a radiação UV possibilitou as menores constantes de velocidade, exceto para o sulfametoxazol que se revelou altamente sensível à luz UV. Este resultado confirma as informações de degradação do sulfametoxazol por fotólise, descritas por Alharbi et al. (2017). No entanto, os autores relataram aumento da toxicidade da solução, indicando a formação de produtos fotolíticos mais tóxicos que os originais, o que não foi relatado na combinação $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Para esse mesmo antibiótico, Luo et al. (2018) descrevem a observação de cinética de pseudo-primeira ordem sob fotólise direta (254 nm), tanto a pH 3 como a 7,55, diferindo dos resultados observados neste estudo, embora as degradações dependam de vários fatores, desde as características do fotorreator quanto do efluente. Esta informação é corroborada por Kanakaraju, Glass e Oelgemöller (2018), os quais destacam que as ordens das reações de degradação variam de um estudo para outro, e não há acordo claro sobre este aspecto.

Nesse sentido, Mondal, Saha e Sinha (2018) também constataram cinética de segunda ordem para a degradação da ciprofloxacina nos processos UV e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, em conformidade com os resultados ora obtidos. Os autores ainda informaram que o processo foto-Fenton modificado foi o mais eficiente, com a degradação completa do antibiótico (10 mg L^{-1}) após 30 min. Por sua vez, Zimmermann et al. (2011) descrevem que a oxidação de um micropolvente costuma seguir taxas de segunda ordem, principalmente, quando há ação do O_3 e condições combinadas que favoreçam a formação de radicais OH^\bullet . Essa cinética se mantém desde que a concentração dos micropoluentes não afete significativamente a estabilidade do oxidante. Portanto, os resultados de cinética obtidos neste estudo sugerem a ação conjunta de degradação, de forma direta pela ação do O_3 e da radiação UV, e indireta pela formação de radicais OH^\bullet .

3.5.2 Análise de mineralização e remoção de DQO

A mineralização dos fármacos por POAs foi avaliada com base na redução de COT. Também se avaliou a redução da DQO, como apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Eficiência de redução de COT e DQO por processos oxidativos avançados. Os dados representam a média e o erro padrão (\pm). Letras minúsculas nos dados de COT e maiúsculas nos dados de DQO indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$)



A maior redução de COT do efluente foi observada no processo O₃/H₂O₂/UV, com o abatimento médio na concentração de 60,52%, enquanto que a menor redução foi verificada no processo UV, 15,28%, todavia superior aos 9,6% relatados por De la Cruz et al. (2013) em fotólise de esgoto sanitário com 22 micropoluentes. O tratamento a base de O₃, na menor dosagem avaliada (0,5 mgO₃ mgCOD⁻¹), não diferiu estatisticamente do tratamento UV na redução de COT. Os demais apresentaram diferença estatística entre si, sendo os melhores resultados observados nas combinações de processos. A limitação na redução do COT pode ter sido ocasionada pelo residual de matéria orgânica presente no esgoto, que minimiza a ação dos radicais OH[•] sobre os fármacos, como já elucidado por Dong, Mezyk e Rosario-Ortiz (2010) e Katsoyiannis, Canonica, Gunten (2011). Os resultados de redução de COT reportados neste estudo foram superiores aos descritos por Mondal, Saha e Sinha (2018) na degradação de ciprofloxacina por UV (4,04%) e semelhante ao obtido pelos autores no

processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ (35,41%) após 40 min, e para a máxima registrada (59,99%) no tratamento por foto-Fenton modificado.

O estudo realizado por Márquez et al. (2014) também constatou redução de COT de 60% para uma mistura de quatro fármacos (atenolol, hidroclorotiazida, ofloxacina e trimetoprima) em efluente secundário, porém tratado com fotocatalise solar e TiO_2 .

Quanto a redução de DQO, os processos O_3 ($0,9 \text{ mg mgCOD}^{-1}$), O_3/UV e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ não apresentaram diferença estatística entre si, assim como os processos com a menor concentração de O_3 ($0,5 \text{ mg mgCOD}^{-1}$), UV e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ apresentaram resultados similares estatisticamente. Contudo, a combinação $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ foi semelhante, estatisticamente, a ambos os grupos (“A” e “B”), o que pode ser atribuído a elevação da DQO ocasionada pela adição do H_2O_2 , uma vez que o processo $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ apresentou a menor redução de DQO (8,17%), enquanto que a máxima redução (30,69%) foi constatada na maior dosagem de O_3 .

Segundo Quinões et al. (2015), o índice de sinergia (IS) pode determinar se os processos combinados são mais ou menos eficientes na mineralização do que os processos isolados. Esta quantificação é realizada através do cálculo da eficiência de mineralização do processo combinado, dividido pelo somatório da eficiência de mineralização dos processos aplicados isoladamente. Quando o IS é superior a 1 significa que o processo combinado tem efeito positivo sobre a eficiência, enquanto que um índice menor que 1 indica que o processo combinado é menos eficiente na mineralização. Esta avaliação foi realizada com os processos O_3/UV , composto por O_3 mais UV, e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, resultante da combinação O_3 e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Os IS foram superiores a 1 em ambos os processos combinados, sendo respectivamente 1,05 e 1,02, indicando serem mais eficientes na mineralização do que os métodos individuais, como já constatado na remoção dos fármacos. Contudo, as concentrações de O_3 e H_2O_2 assim como o tempo de reação podem não ter sido suficientes para formação de radicais OH^\bullet necessários à mineralização dos fármacos, como também constatado por Martini et al. (2018).

Por fim, o processo $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ainda possibilitou a desinfecção do esgoto sanitário (eliminação de *Escherichia coli*), reduções médias da turbidez em 13,45%, DBO_5 em 15,32%, N_{Total} em 28,94% e ligeira elevação do pH de 6,94 para 7,05. Não foram registradas alterações significativas de SS e P_{Total} .

3.6 CONCLUSÕES

Com a investigação da degradação de fármacos em esgoto sanitário pelos processos O_3 , UV, O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, verificou-se que os antibióticos ofloxacina,

sulfadiazina e sulfatiazol foram facilmente degradados por todos os processos avaliados, possivelmente pela baixa concentração detectada. A tilosina apenas não foi removida completamente pela concentração de $0,5 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}$. A clindamicina foi 100% removida nos processos combinados que utilizaram H_2O_2 . O processo $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ foi mais eficiente na redução da concentração de todos os fármacos durante os 15 minutos avaliados, desde a oxitetraciclina (89,32%), que foi o antibiótico mais persistente, assim como cafeína (96,79%), trimetoprima (97,40%), ciprofloxacina (97,75%), sulfametoxazol (99,79%), paracetamol (99,96%) e os demais mencionados, com 100% de remoção. Observou-se que as degradações ocorreram nos minutos iniciais, seguindo, predominantemente, cinéticas de segunda ordem. A radiação UV, de forma isolada, resultou nas menores reduções de fármacos, exceto pra sulfametoxazol que se mostrou mais sensível à luz UV (254 nm).

Apesar das elevadas eficiências observadas, as dosagens de O_3 e H_2O_2 estudadas, com tempo de reação de 15 minutos, não foram suficientes para promover a mineralização dos fármacos, ainda que a maior redução de COT (60,52%) tenha sido verificada no processo $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e a menor por radiação UV (15,28%). Desta forma, a combinação $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ foi mais eficiente, dentre as condições estudadas, possibilitando a redução substancial da concentração de fármacos em águas residuárias, muito abaixo da CPSE.

3.7 REFERÊNCIAS

ABARGUES, M. R.; GIMÉNEZ, J. B.; FERRER, J.; BOUZAS, A.; SECO, A. Endocrine disrupter compounds removal in wastewater using microalgae: Degradation kinetics assessment. **Chemical Engineering Journal**, v.334, p. 313-321, 2018.

AFONSO-OLIVARES, C.; FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C.; OJEDA-GONZÁLEZ, R. J.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J.; DOÑA RODRÍGUEZ, J. M. Estimation of kinetic parameters and UV doses necessary to remove twenty-three pharmaceuticals from pre-treated urban wastewater by UV/ H_2O_2 . **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v.329, p. 130-138, 2016.

ALHARBI, S. K.; KANG, J.; NGHIEM, L. D.; MERWE, J. P. van de; LEUSCH, F. D. L.; PRICE, W. E. Photolysis and UV/ H_2O_2 of diclofenac, sulfamethoxazole, carbamazepine, and trimethoprim: Identification of their major degradation products by ESI-LC-MS and assessment of the toxicity of reaction mixtures. **Process Safety and Environmental Protection**, v.112, p. 222-234, 2017.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22th Edition. Washington, DC, 1360 p., 2012.

ARAÚJO, K. S.; ANTONELLI, R.; GAYDECZKZA, B.; GRANATO, A. C.; MALPASS, G. R. P. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Revista Ambiente e Água**, v.11, n.2, p. 387-401, 2016.

BALAKRISHNA, K.; RATH, A.; PRAVEENKUMARREDDY, Y.; GURUGE, K. S.; SUBEDI, B. A review of the occurrence of pharmaceuticals and personal care products in Indian water bodies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.137, p. 113-120, 2017.

BRILLAS, E.; MARTÍNEZ-HUITLE, C. A. Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: An updated review. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.166-167, p. 603-643, 2015.

DE LA CRUZ, N.; ESQUIUS, L.; GRANDJEAN, D.; MAGNET, A.; TUNGLER, A.; ALENCASTRO, L. F.; PULGARÍN, C. Degradation of emergent contaminants by UV, UV/H₂O₂ and neutral photo-Fenton at pilot scale in a domestic wastewater treatment plant. **Water Research**, v.47, p. 5836-5845, 2013.

DINH, Q. T.; MOREAU-GUIGON, E.; LABADIE, P.; ALLIOT, F.; TEIL, M. J.; BLANCHARD, M. CHEVREUIL, M. Occurrence of antibiotics in rural catchments. **Chemosphere**, v.168, p. 483-490, 2017.

DONG, M. M.; MEZYK, S.P.; ROSARIO-ORTIZ, F. L. Reactivity of effluent organic matter (EfOM) with hydroxyl radical as a function of molecular weight. **Environmental Science & Technology**, v.44, p. 5714-5720, 2010.

FATTA-KASSINOS, D.; VASQUEZ, M. I.; KÜMMERER, K. Transformation products of pharmaceuticals in surface waters and wastewater formed during photolysis and advanced oxidation processes –Degradation, elucidation of byproducts and assessment of their biological potency, **Chemosphere**, v.85, p. 693-709, 2011.

HANSEN, K. M. S.; SPILIOTOPOULOU, A.; CHHETRI, R. K.; CASAS, M. E.; BESTER, K.; ANDERSEN, H. R. Ozonation for source treatment of pharmaceuticals in hospital wastewater - ozone lifetime and required ozone dose. **Chemical Engineering Journal**, v.290, p. 507-514, 2016.

HU, J.; ZHOU, J.; ZHOU, S.; WU, P.; TSANG, Y. F. Occurrence and fate of antibiotics in a wastewater treatment plant and their biological effects on receiving waters in Guizhou. **Process Safety and Environmental Protection**, v.113, p. 483-490, 2018.

JANK, L.; HOFF, R. B.; COSTA, F. J. da; PIZZOLATO, T. M. Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes in surface and wastewater samples by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.94, n.10, p. 1013-1037, 2014.

JIANG, J. L.; YUE, X. A.; CHEN, Q. F.; GAO, Z. Determination of ozonization reaction rate constants of aromatic pollutants and QSAR study. **Environmental Contamination Toxicology**, v.85, p. 568-572, 2010.

JIANG, J. Q.; ZHOU, Z.; SHARMA, V. K. Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water - A review from global views. **Microchemical Journal**, v.110, p. 292-300, 2013.

JIANG, Y.; LI, M.; GUO, C.; AN, D.; XU, J.; ZHANG, Y.; XI, B. Distribution and ecological risk of antibiotics in a typical effluent-receiving river (Wangyang River) in north China. **Chemosphere**, v.112, p. 267-274, 2014.

KANAKARAJU, D.; GLASS, B. D.; OELGEMÖLLER, M. Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review. **Journal of Environmental Management**, v.219, p. 189-207, 2018.

KATSOYIANNIS, I. A.; CANONICA, S.; GUNTEN, U. Von. Efficiency and energy requirements for the transformation of organic micropollutants by ozone, O₃/H₂O₂ and UV/H₂O₂. **Water research**, v.45, p. 3811-3822, 2011.

KNOPP, G.; PRASSE, C.; TERNES, T. A.; CORNEL, P. Elimination of micropollutants and transformation products from a wastewater treatment plant effluent through pilot scale ozonation followed by various activated carbon and biological filters. **Water Research**, v.100, p. 580-592, 2016.

LEE, Y.; GERRITY, D.; LEE, M.; BOGEAT, A.E.; SALHI, E.; GAMAGE, S.; TRENHOLM, R.A.; WERT, E.; SNYDER, S.; VON GUNTEN, U. Prediction of Micropollutant Elimination during Ozonation of Municipal Wastewater Effluents: Use of Kinetic and Water Specific Information. **Environmental Science & Technology**, v.47, p. 5872-5881, 2013.

LIN, H.; LI, H.; CHEN, L. LI, L.; YIN, L.; LEE, H.; YANG, Z. Mass loading and emission of thirty-seven pharmaceuticals in a typical municipal wastewater treatment plant in Hunan Province, Southern China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.147, p. 530-536, 2018.

LIU, L.; WU, W.; ZHANG, J.; LV, P.; XU, L.; YAN, Y. Progress of research on the toxicology of antibiotic pollution in aquatic organisms. **Acta Ecologica Sinica**, v.38, p. 36-41, 2018.

LUO, S.; WEI, Z.; SPINNEY, R.; ZHANG, Z.; DIONYSIOU, D. D.; GAO, L.; CHAI, L.; WANG, D.; XIAO, R. UV direct photolysis of sulfamethoxazole and ibuprofen: an experimental and modelling study. **Journal of Hazardous Materials**, v.343, p. 132-139, 2018.

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

MAHMOUD, A.; FREIRE, R. Métodos emergentes para aumentar a eficiência do ozônio no tratamento de águas contaminadas. **Química Nova**, v.30, n.1, p. 198-205, 2007.

MÁRQUEZ, G.; RODRÍGUEZ, E. M.; MALDONADO, M. I.; ÁLVAREZ, P. M. Integration of ozone and solar TiO₂-photocatalytic oxidation for the degradation of selected pharmaceutical compounds in water and wastewater. **Separation and Purification Technology**, v.136, p. 18-26, 2014.

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

MARTINI, J.; ORGE, C. A.; FARIA, J. L.; PEREIRA, M. F. R.; SOARES, O. S. G. P. Sulfamethoxazole degradation by combination of advanced oxidation processes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.6, p. 4054-4060, 2018.

MONDAL, S. K.; SAHA, A. K.; SINHA, A. Removal of ciprofloxacin using modified advanced oxidation processes: Kinetics, pathways and process optimization. **Journal of Cleaner Production**, v.171, p. 1203-1214, 2018.

QUIÑONES, D. H.; ÁLVAREZ, P. M.; REY, A.; CONTRERAS, S.; BELTRÁN, F.J. Application of solar photocatalytic ozonation for the degradation of emerging contaminants in water in a pilot plant. **Chemical Engineering Journal**, v.260, p. 399-410, 2015.

R CORE TEAM. R: **A language environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <<http://r-project.org/>> Acesso em: 03 mai. 2018.

RIVAS, F. J.; BELTRÁN, F. J.; ENCINAS, A. Removal of emergent contaminants: Integration of ozone and photocatalysis. **Journal of Environmental Management**, v.100, p. 10-15, 2012.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. **Science of the Total Environment**, v.429, p. 123-155, 2012.

ZIMMERMANN, S. G.; WITTENWILER, M.; HOLLENDER, J.; KRAUSS, M.; ORT, C.; SIEGRIST, H.; GUNTEN, U. Kinetic assessment and modeling of an ozonation step for full scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection. **Water Research**, v.45, n.2, p. 605-617, 2011.

4 ARTIGO 4 - ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E ESTRESSE OXIDATIVO EM *Astyanax bimaculatus* PROVOCADOS POR FÁRMACOS EM EFLUENTES SANITÁRIOS

4.1 RESUMO

Os fármacos têm sido frequentemente detectados no ambiente, especialmente em águas superficiais, devido ao lançamento de efluentes sanitários e industriais. Essas moléculas, geralmente solúveis, bioativas e persistentes, apresentam toxicidade ambiental e potencial de alterar os sistemas bioquímicos de organismos vivos. Por esse motivo, o presente estudo investigou os efeitos subletais de fármacos presentes em esgotos sanitários sobre parâmetros bioquímicos e de estresse oxidativo em órgãos de peixes da espécie *Astyanax bimaculatus*. O esgoto tratado foi coletado de uma estação de tratamento da capital do Rio Grande do Sul, no qual foi investigada a presença de 43 compostos, entre fármacos e hormônios, por UHPLC/MS-MS. Foram detectados resíduos ($\mu\text{g L}^{-1}$) de cafeína (0,966), ciprofloxacina (0,092), clindamicina (0,071), ofloxacina (0,025), oxitetraciclina (1,154), paracetamol (1,170), sulfadiazina (0,078), sulfametoxazol (0,255), sulfatiazol (0,070) e tilosina (0,051). Os peixes, após aclimação em laboratório, foram dispostos em quatro grupos, contendo 20 indivíduos cada, denominados: controle (água sem fármacos), EST (efluente sanitário tratado), EST+F (EST com concentração aumentada de cinco fármacos) e ESPT (EST+F pós-tratado com $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$). Após 14 dias de exposição, foram avaliados níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e as atividades das enzimas acetilcolinesterase (AChE), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST), em diferentes órgãos. Os níveis de TBARS foram aumentados progressivamente no cérebro dos grupos EST e EST+F, enquanto que no grupo ESTP os níveis foram os mesmos do controle. No fígado, músculo e brânquias observou-se uma redução nos níveis TBARS no grupo ESPT em relação aos demais grupos. A atividade AChE foi reduzida no músculo dos grupos com maior concentração de fármacos, com discreta recuperação da atividade no grupo ESPT. A atividade da CAT foi inibida no fígado dos grupos expostos aos efluentes com fármacos. A atividade da GST aumentou no cérebro do grupo EST+F e ESPT, enquanto diminuiu no fígado do grupo EST e aumentou no mesmo órgão dos grupos EST+F e ESPT. Portanto, os resultados sugerem que os resíduos de fármacos podem causar estresse oxidativo, afetando parâmetros bioquímicos e enzimáticos em *A. bimaculatus*, assim como o pós-tratamento com $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ pode reduzir os danos aos peixes mesmo com a possível formação de metabólitos, ao que se constatou, menos tóxicos que os compostos originais.

Palavras-chave: (Eco)toxicidade. Peixes. Atividade enzimática. Antibióticos. Esgoto sanitário.

4.2 INTRODUÇÃO

A presença de fármacos em ambientes aquáticos tem se tornado uma preocupação mundial devido os efeitos adversos aos ecossistemas e à saúde humana (LIU et al., 2018). As principais perturbações ocorrem nos sistemas bioquímicos de organismos vivos, ocasionadas por substâncias de elevada estabilidade e persistência no ambiente (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; CORTES-DIAZ et al., 2017). O lançamento de misturas complexas de

efluentes sanitários e industriais, a partir de estações de tratamento que apresentam baixa eficiência na remoção de fármacos, é a principal fonte de incorporação desses compostos no ambiente, sobretudo em águas superficiais (LI, 2014; KNOPP et al., 2016; BALAKRISHNA et al. 2017; CORTES-DIAZ et al., 2017; SEHONOVA et al., 2017). No entanto, também contribuem como fontes de contaminação o lançamento de dejetos de animais em solo e água (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012), despejos clandestinos de efluentes domésticos, descarte inadequado de medicamentos e embalagens, aterros sanitários, vazamentos em redes de esgoto, efluentes hospitalares e de indústrias farmacêuticas (LI 2014; GAVRILESCU et al., 2015; GIEBULTOWICZ; NAŁECZ-JAWECKI, 2016).

Estudos descrevem uma série de efeitos (eco)toxicológicos dos fármacos no ambiente que atingem animais e humanos, desde distúrbios na reprodução e crescimento de peixes (CARLSSON et al., 2006; GALUS et al., 2013; LIU et al., 2018), danos aos cloroplastos das algas (LIU et al., 2018), toxicidade aquática (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; GALUS et al., 2013; EBELE; ABDALLAH; HARRAD, 2016; LIU et al., 2017), seleção de microrganismos multirresistentes (KLATTE; SCHAEFER; HEMPEL, 2017) e, especialmente em humanos, aumento da incidência de cânceres no aparelho reprodutivo e endometriose (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013). Segundo Farré et al. (2008), Velicchi, Aukidy e Zambello (2012) e Li (2014), as classes terapêuticas de fármacos com maior potencial (eco)toxicológico contemplam antidepressivos, antibióticos, antipsicóticos, medicamentos cardiovasculares, antineoplásicos, além de hormônios naturais e sintéticos.

Contudo, há uma grande dificuldade de se identificar os efeitos (eco)toxicológicos, devido a rara observação da toxicidade aguda nos organismos, mesmo em concentrações significativas (MORLEY, 2009). Associado a essa dificuldade, para reduzir ou eliminar os fármacos do efluente são necessários sistemas avançados de tratamento que promovam a retenção ou oxidação dos fármacos. Porém, na oxidação podem ser gerados metabólitos de efeito desconhecido, cuja toxicidade poderá ser menor, maior ou equivalente a dos compostos originais (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; GAVRILESCU et al., 2015; AZUMA et al., 2016; GIANNAKIS et al., 2017). Logo, as alterações bioquímicas em organismos costumam ser as primeiras respostas às mudanças ambientais passíveis de serem detectadas e quantificadas, principalmente alterações nos níveis das atividades enzimáticas (CLASEN et al., 2014; PÉREZ et al., 2018).

Nesse sentido, a avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo em peixes se apresenta como alternativa para o conhecimento dos efeitos (eco)toxicológicos crônicos relacionados a exposição da fauna a diferentes substâncias químicas e micropoluentes que

possam estar presentes em matrizes aquosas (CLASEN et al., 2014; BRAZ-MOTA et al., 2015; CORTES-DIAZ et al., 2017; GUILOSKI et al., 2017; PÉREZ et al., 2018), tendo sido incluído em programas de monitoramento ambiental (LIU et al., 2018).

O processo de estresse oxidativo é resultante do desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes (BRAZ-MOTA et al., 2015) que pode ser desencadeado pela predominância da geração de radicais livres, devido a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), ou então pela incapacidade de defesa e/ou alterações no perfil antioxidante dos organismos vivos (CLASEN et al., 2014; SAMANTA et al., 2018). As principais EROs causadoras de estresse contemplam ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radical hidroxila (OH^\bullet) e oxigênio livre, pois oxidam biomoléculas como proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (DNA), comprometendo as funções biológicas de células e tecidos, e o equilíbrio homeostático (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004; CORTES-DIAZ et al., 2017).

No entanto, dentre as defesas antioxidantes enzimáticas que controlam a formação excessiva de EROs em peixes, destacam-se a peroxidação lipídica (LPO), determinada pelo ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), e as enzimas acetilcolinesterase (AChE), catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST), entre outras, frequentemente utilizadas para investigar danos induzidos por fármacos (CORTES-DIAZ et al., 2017; GUILOSKI et al., 2017; PÉREZ et al., 2018).

As enzimas são essenciais como mecanismos de defesa antioxidante para neutralizar os efeitos das EROs. O ensaio TBARS é muito empregado em tecidos de peixes na determinação de estresse oxidativo, pois quantifica a formação de malondialdeído (MDA) que é um dos produtos finais da LPO (CLASEN et al., 2014). O estresse oxidativo e a LPO estão associados a doenças neurodegenerativas, por isso sua avaliação no cérebro de animais é muito importante (CHIURCHIÙ et al., 2016; PÉREZ et al., 2018).

A AChE é uma enzima chave do sistema nervoso, relacionada as funções fisiológicas dos peixes como estímulos específicos para contração muscular e relaxamento, o que os auxilia na captura de alimentos e fuga de predadores (DUTTA; ARENDS, 2003). A principal função dessa enzima é interromper os impulsos nervosos catalisando a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) em acetato e colina (CLASEN et al., 2014), o que é essencial para o bom funcionamento do sistema sensorial e neuromuscular, tornando-se assim, um biomarcador específico em peixes expostos a contaminantes.

A enzima CAT é responsável por degradar o H_2O_2 em água e oxigênio, além de oxidar compostos hidrogenados, por isso costuma apresentar elevada atividade quando o organismo se encontra em estresse oxidativo (CLASEN et al., 2014; GUILOSKI et al., 2017). A CAT

está presente em todos os tecidos de vertebrados, com alta atividade, especialmente nos eritrócitos e no fígado, enquanto que no cérebro sua atividade costuma ser baixa (HALLIWELL; WHITEMAN, 2004). Por fim, a GST é outra enzima muito importante que catalisa a conjugação de vários metabólitos e produtos de lipoperoxidação, assumindo papel fundamental no processo de detoxificação de xenobióticos. Tal propriedade torna o fígado a principal fonte de GST em peixes (SINGHAL et al., 2015).

Considerando a constante exposição de peixes a resíduos de fármacos no ambiente, oriundos do lançamento de efluentes em corpos hídricos superficiais, objetivou-se investigar os efeitos subletais de fármacos presentes em esgotos sanitários sobre parâmetros bioquímicos e de estresse oxidativo em órgãos de *Astyanax bimaculatus*, haja vista sua importância na cadeia alimentar e ampla distribuição geográfica na região neotropical.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

A proposta do presente estudo foi submetida à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), tendo recebido o certificado de aprovação CEUA nº 3824230418.

4.3.1 Origem e coleta do efluente com fármacos

Os ensaios foram realizados com esgoto sanitário proveniente de uma estação de tratamento de efluentes (ETE) situada na região metropolitana de Porto Alegre, capital do Rio Grande do Sul, Brasil. O sistema opera com vazão média de $2.250 \pm 250 \text{ L s}^{-1}$, atendendo cerca de 600.000 pessoas, e é constituído por unidades mecânicas de gradeamento e desarenação, e tratamento biológico em reatores UASB e lodos ativados, no processo denominado Unitank que permite o tratamento cíclico da etapa de aeração, seguido de sedimentação e desinfecção por H_2O_2 .

As amostras de efluente tratado foram coletadas das 07 às 12 h, com o recolhimento de alíquotas a cada hora, até completar o volume de 80 L necessário para realização dos testes. Foram utilizadas bombonas de polietileno de alta densidade (PEAD) atóxico de 20 L, previamente higienizadas e enxaguadas com as amostras no momento da coleta. Uma alíquota de 1 L de amostra foi coletada em frasco âmbar para determinação de fármacos e hormônios, a qual foi mantida sobre refrigeração a $\pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$ até a análise.

Parte do efluente coletado foi utilizado para preparação de outros dois tratamentos, descritos no item 4.5, que também foram submetidos à análise de parâmetros de estresse oxidativo.

4.3.2 Determinação da concentração de fármacos e hormônios no efluente

A amostra de efluente tratado foi submetida à análise de 43 compostos, entre fármacos de prescrição humana, veterinária e hormônios, no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), da UFSM. Uma alíquota de 100 mL da amostra foi pré-concentrada por meio de extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*), com cartucho Strata[®]-X, adaptado de Jank et al. (2014). Após o preparo da amostra, a determinação de fármacos e hormônios foi realizada por cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS, do inglês *ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry*) da Waters (EUA). Resumidamente, utilizou-se cromatógrafo líquido; detector MS do tipo triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ; fonte de ionização por eletronebulização; coluna analítica Acquity UPLC[®] BEH C18 (50 × 2,1 mm, 1,7 µm) da Waters (EUA); e sistema de aquisição de dados *software MassLynx 4.1* (Waters, EUA). As demais amostras de efluente com fármacos (item 4.5) foram submetidas ao mesmo processo de determinação.

4.4 PEIXES

Os 80 exemplares juvenis de *Astyanax bimaculatus* utilizados como organismo-teste foram adquiridos de uma piscicultura comercial no município de Ijuí, Rio Grande do Sul, em média com $8,0 \pm 1,5$ g de peso e $8,2 \pm 0,7$ cm de comprimento. A escolha da espécie se deve a sua ampla distribuição na região neotropical, sensibilidade a mudanças no habitat e importância na cadeia alimentar. Os animais foram aclimatados por um período de dez dias em tanque de polietileno atóxico de 250 L, contendo água da rede de abastecimento desclorada por aeração intensa, em sistema estático e condições de laboratório, sob fotoperíodo natural (12h escuro/12h iluminação). Durante a aclimação e realização do experimento, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia com ração comercial Supra[®] (42% de proteína bruta), em quantidade equivalente a 5% de sua massa corporal.

4.5 PROJETO EXPERIMENTAL

Após o período de aclimatação, os peixes foram separados aleatoriamente em quatro grupos. Cada grupo foi composto por 20 peixes, distribuídos em dois tanques plásticos de 20 L cada, dotados de aeração constante e densidade de 10 indivíduos. O primeiro grupo foi o controle, contendo água desclorada da rede de abastecimento, livre de fármacos. O segundo grupo foi exposto ao efluente sanitário tratado, denominado de EST. O terceiro grupo, denominado de EST+F, foi exposto ao efluente do grupo dois (EST) adicionado de ciprofloxacina, oxitetraciclina, paracetamol, sulfametoxazol e trimetoprima, em concentrações superiores àquelas previstas sem efeitos (CPSE) para espécies mais sensíveis, por tratarem-se dos compostos com maior persistência e/ou ocorrência na amostra investigada, bem como em outros estudos (MARTÍN et al., 2012; DINH et al., 2017; HU et al., 2018; BISOGNIN; WOLFF; CARISSIMI, 2018). Por fim, o quarto grupo foi exposto ao efluente do grupo três (EST+F) pós-tratado com $O_3/H_2O_2/UV$ ($0,5 \text{ mgO}_3 \text{ mgCOD}^{-1}/ 25 \text{ mgH}_2\text{O}_2 \text{ L}^{-1}/ 15 \text{ min UV}$), denominado de ESPT. Esse processo de tratamento foi originado da combinação das técnicas descritas por Zimmermann et al. (2011) e Afonso-Olivares et al. (2016).

O experimento foi conduzido durante 14 dias. Nesse período, os parâmetros médios de monitoramento diário foram os seguintes: oxigênio dissolvido $5,6 \pm 0,8 \text{ mg L}^{-1}$, temperatura $23,2 \pm 2,6 \text{ }^\circ\text{C}$, pH $6,8 \pm 0,2$, condutividade elétrica $462,0 \pm 13,6 \text{ } (\mu\text{S cm}^{-1})$ e alcalinidade $92,4 \pm 3,2$. Os tanques foram filtrados a cada dois dias para remoção de resíduos de ração e fezes, com auxílio de uma bomba de baixa vazão acoplada a um filtro de tecido não tecido (TNT).

Decorrido o período experimental, os peixes foram eutanasiados por secção medular, e procedeu-se a medição de sua massa corporal e comprimento. Em seguida foram coletados cérebro, brânquias, fígado e músculo para a realização dos ensaios bioquímicos. Ressalta-se que o período experimental inicialmente previsto era de 28 dias, mas foi reduzido para 14 devido à morte de 30% dos exemplares de *A. bimaculatus* expostos ao grupo EST+F no decorrer do experimento.

4.6 PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Os reagentes utilizados nos ensaios foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA), com elevado grau de pureza (95-99%).

4.6.1 Ensaio de dano oxidativo (TBARS)

A peroxidação lipídica foi estimada pelo ensaio TBARS, realizado pela reação do malondialdeído (MDA) com ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e leitura em espectrofotômetro, conforme Buege e Aust (1978). Em síntese, o ensaio foi realizado com brânquias (50 mg), cérebro (50 mg), fígado (50 mg) e músculo (250 mg). Os órgãos foram homogeneizados em fosfato de potássio (20 mmol L^{-1}) e centrifugados a $5.000 \times g$, durante 10 minutos (min). Após, aos homogeneizados foi adicionado ácido tricloroacético (TCA) a 10% e ácido tiobarbitúrico 0,67% para ajustar a um volume final de 1 mL. As misturas das reações foram incubadas a $95 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 min. Depois de arrefecidas, as misturas foram centrifugadas a $5.000 \times g$, por 15 min, e a densidade óptica foi medida por espectrofotometria a 532 nm. Os níveis de TBARS foram expressos como $\text{nmol MDA mg proteína}^{-1}$ comassie.

4.6.2 Ensaio da atividade da Acetilcolinesterase (AChE)

A atividade da AChE foi determinada utilizando o método descrito por Ellman et al. (1961). Extratos de cérebro (30 mg) e músculo (50 mg) foram preparados e homogeneizados com tampão de fosfato de sódio 50 mmol L^{-1} , pH 7,2, e Triton X-100 a 1%. O homogeneizado de cada tecido foi centrifugado durante 10 min a $3.000 \times g$ a $5 \text{ }^\circ\text{C}$ e o sobrenadante foi utilizado como fonte de enzima. Uma alíquota sobrenadante de $50 \text{ }\mu\text{L}$ de extrato de cérebro e $100 \text{ }\mu\text{L}$ de extrato de músculo foram incubadas a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 min com uma solução tampão contendo fosfato de sódio 100 mmol L^{-1} , pH 7,5 e DTNB 10 mmol L^{-1} como cromogênio. Após a incubação, a reação foi iniciada pela adição de acetilcolina ($\text{ACh } 0,5 \text{ mmol L}^{-1}$) como substrato para a mistura reacional. O volume final foi de 2,0 mL. As absorbâncias foram determinadas por espectrofotometria a 412 nm, durante 2 min. A atividade enzimática foi expressa em $\mu\text{mol ACh hidrolisada min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$ comassie.

4.6.3 Ensaio da atividade da Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada nos tecidos de brânquias (50 mg) e fígado (50 mg) por espectrofotometria ultravioleta, segundo Nelson e Kiesov (1972). Os tecidos foram homogeneizados, com auxílio de um homogeneizador de tecidos tipo Potter, em 10 volumes (p/v) de tampão de fosfato de potássio 20 mmol L^{-1} , pH 7,5 e centrifugados a $10.000 \times g$, por 10 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. A mistura de ensaio foi composta por 2,0 mL de tampão de fosfato de potássio

(50 mmol L⁻¹, pH 7,0), 50 µL de H₂O₂ (0,3 mol L⁻¹) e 10 µL de homogeneizado de brânquias. O mesmo procedimento foi repetido para fígado. A alteração de absorção de H₂O₂ em 60 segundos (s) foi medida a 240 nm, em cubetas de quartzo. A atividade da catalase foi calculada e expressa em µmol min⁻¹ mg proteína⁻¹ comassie.

4.6.4 Ensaio da atividade Glutathione S-Transferase (GST)

A atividade da GST foi avaliada no cérebro (50 mg), músculo (250 mg) e fígado (50 mg), conforme procedimento descrito por Habig, Pabst e Jakoby (1974), utilizando 1-Cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) como substrato. Em uma cubeta de vidro foi adicionado 2,5 mL de solução tampão de fosfato de potássio 20 mmol L⁻¹ pH 6,5, e 50 µL do homogeneizado de cada tecido. Em seguida adicionou-se 300 µL de GSH 0,1 mol L⁻¹ e 150 µL de CDNB 0,1 mol L⁻¹ em etanol. A atividade enzimática foi determinada a partir das alterações na absorbância a 340 nm, adotando um coeficiente de extinção molar de 9,6 mmol L⁻¹ cm⁻¹. A GST define a quantidade de enzima que catalisa a formação de 1 µmol de GS-DNB por minuto a 25 °C em pH 6,5, portanto, foi expressa como µmol GS-DNB min⁻¹ mg proteína⁻¹ comassie.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) entre os grupos, seguida de teste de Tukey. O valor de $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo para análise dos resultados (n=20), utilizando-se os procedimentos disponíveis no pacote estatístico R, versão 3.5.0 (R CORE TEAM, 2018).

4.8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação dos resíduos de fármacos no efluente sanitário tratado (EST) foi realizada antes do início do período experimental. As concentrações dos princípios ativos detectados nos três grupos de efluente estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Concentrações de fármacos detectados por UHPLC-MS/MS nas amostras de efluente sanitário para exposição de *A.bimaculatus*

Fármacos	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EST ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EST+F ($\mu\text{g L}^{-1}$)	ESPT ($\mu\text{g L}^{-1}$)
cafeína	0,006	0,020	0,966	0,966	0,031
ciprofloxacina	0,006	0,020	0,092	11,443*	0,258
clindamicina	0,006	0,020	0,071	0,071	n.d.
ofloxacina	0,006	0,020	0,025	0,025	n.d.
oxitetraciclina	0,060	0,200	1,154	7,929*	0,847
paracetamol	0,012	0,040	1,170	151,170*	0,056
sulfadiazina	0,006	0,020	0,078	0,078	n.d.
sulfametoxazol	0,006	0,020	0,255	188,692*	0,391
sulfatiazol	0,006	0,020	0,070	0,070	n.d.
tilosina	0,006	0,020	0,051	0,051	n.d.
trimetoprima	0,006	0,020	n.d.	30,647*	0,798

LOD: Limite de detecção do método (do inglês, *Limit of detection*). LOQ: Limite de quantificação do método (do inglês, *Limit of quantification*). n.d.: Não detectado. EST: Efluente sanitário tratado. EST+F: EST acrescido de fármacos. ESPT: EST+F pós-tratado com $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. *Princípios ativos que tiveram sua concentração aumentada para o ensaio de exposição EST+F.

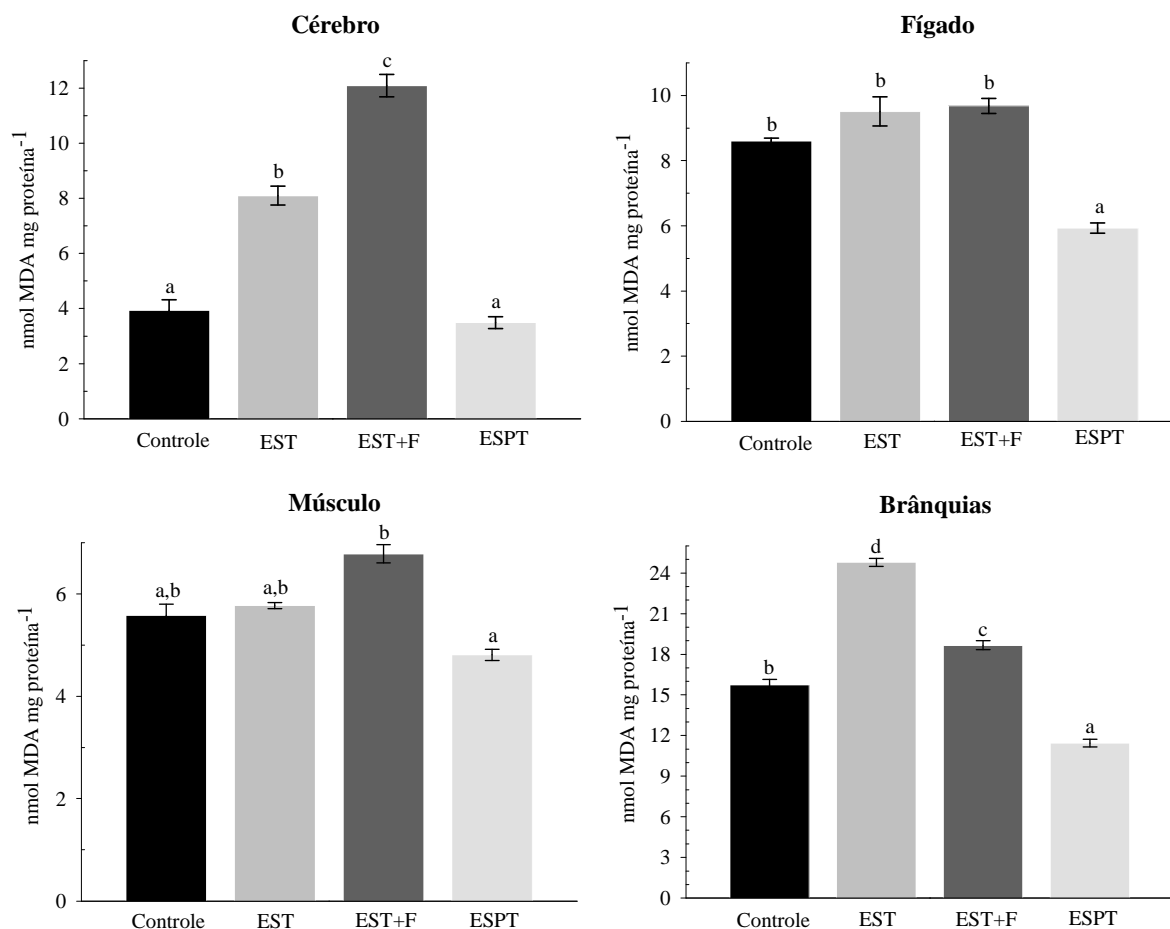
Com exceção da cafeína que é um psicoestimulante e o paracetamol que é analgésico e antitérmico, os demais compostos detectados no efluente sanitário são antibióticos, considerada uma das classes com maior potencial (eco)toxicológico (FARRÉ et al., 2008; VELICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; LI, 2014, LIU et al., 2018).

Vários estudos de (eco)toxicidade com resíduos de antibióticos em diferentes organismos-teste foram compilados por Liu et al. (2018). Especialmente em peixes, os autores descrevem uma série de perturbações ocasionadas por alguns dos fármacos detectados nas amostras de efluente deste estudo. O sulfametoxazol, por exemplo, pode alterar os níveis da enzima etoxiresorufina-O-desetilase (EROD) em hepatócitos, sugerindo alterações na capacidade de síntese de proteínas no fígado, enquanto que antibióticos do grupo quinolonas, como ciprofloxacina, clindamicina e ofloxacina, tendem a persistir no corpo dos organismos por longos períodos após a exposição, elevando os riscos de bioacumulação. A ciprofloxacina, em especial, pode inibir a atividade das enzimas do citocromo P450 que atuam na síntese de hormônios na maioria dos tecidos dos organismos. Os demais antibióticos detectados, pertencentes aos grupos tetraciclina e sulfonamida, também podem causar efeitos pró-oxidativos, alterações na atividade enzimática, toxicidade, teratogênese e genotoxicidade.

Por esses motivos, a peroxidação lipídica, determinada pelo ensaio TBARS, é muito utilizada como biomarcador de danos oxidativos em estudos de exposição de peixes a xenobióticos (CLASEN et al., 2014; SEHONOVA et al., 2017; GUILOSKI et al., 2017;

GONÇALVES et al., 2018; SAMANTA et al., 2018). Os níveis de TBARS obtidos neste estudo em diferentes órgãos de *A. bimaculatus* estão apresentados na Figura 1.

Figura 1 - Níveis de TBARS no cérebro, fígado, músculo e brânquias de *A. bimaculatus* expostos, por 14 dias, a efluente sanitário tratado (EST), EST acrescido de fármacos (EST+F) e EST+F pós-tratado com $O_3/H_2O_2/UV$ (ESPT). Os dados representam a média e o erro padrão (\pm). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$)



No cérebro, os níveis de TBARS aumentaram significativamente nos grupos expostos as concentrações mais elevadas de fármacos, em relação ao grupo controle. No entanto, no grupo exposto ao efluente pós-tratado, os níveis de TBARS não diferiram estatisticamente em comparação ao controle. No fígado, observou-se uma discreta elevação nos níveis de TBARS nos grupos EST e EST+F em relação ao controle, mas que, porém, não diferiram estatisticamente. Por sua vez, o grupo ESPT apresentou redução significativa nos níveis de peroxidação lipídica, quando comparado aos demais grupos. Em músculo, foi observado um discreto aumento nos níveis de TBARS no grupo EST+F, mas que não diferiram estatisticamente dos grupos controle e EST, enquanto que no ESPT verificou-se uma redução

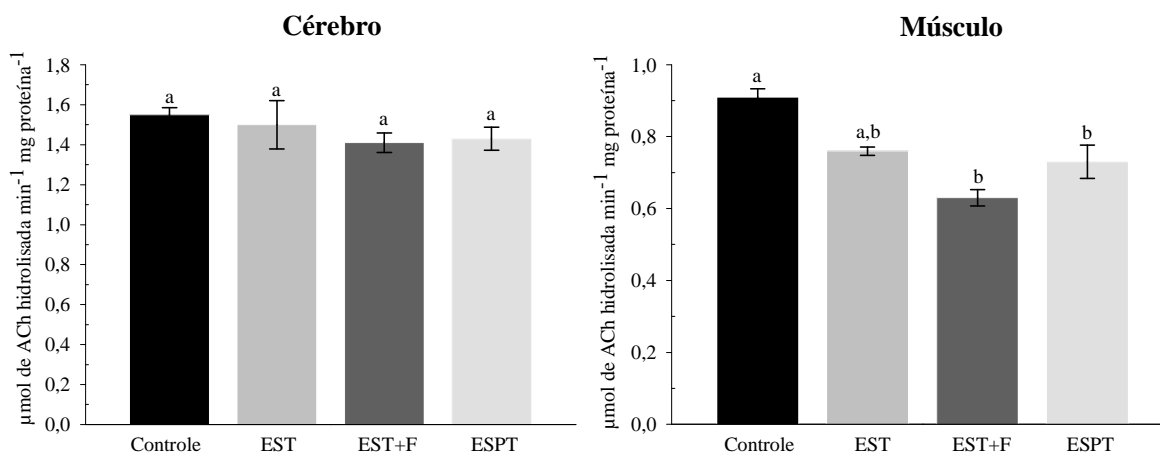
na peroxidação lipídica, considerada estatisticamente igual aos grupos controle e EST. Nas brânquias, os níveis de TBARS aumentaram no grupo exposto ao EST e reduziram nos grupos EST+F e ESPT, apresentando diferença estatística em todos os grupos e menores níveis de peroxidação lipídica no grupo ESPT, até mesmo em relação ao grupo controle. Em síntese, em todos os órgãos estudados, os níveis de TBARS no grupo ESPT foram inferiores aos demais ou, ao menos, iguais aos níveis verificados no grupo controle, o que denota possível redução no estresse oxidativo aos peixes com o pós-tratamento do efluente.

A elevação nos níveis de TBARS tem sido relatada na literatura como uma resposta comum de peixes expostos a concentrações crescentes de xenobióticos, como obtido por Gonçalves et al. (2018) em estudo de respostas bioquímicas com *Astyanax jacuhiensis*, às concentrações de 5, 15 e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ do inseticida propoxur. Os autores observaram aumento nos níveis de TBARS no cérebro e fígado dos peixes expostos às concentrações de 5 e 15 $\mu\text{g L}^{-1}$ em relação ao controle. Outro estudo com *Astyanax* sp., realizado por Nunes et al. (2015), avaliou os riscos (eco)toxicológicos de peixes expostos a água do rio Santa Maria, em Rosário do Sul/RS, que recebe despejos de esgoto sanitário e situa-se próximo a áreas agrícolas. Os autores, apesar de não terem caracterizado a água do rio, observaram elevação significativa nos níveis de TBARS no músculo desses peixes em relação ao grupo controle.

Considerando a limitação de estudos (eco)toxicológicos publicados com o gênero *Astyanax* sp., especialmente expostos a fármacos, os resultados obtidos neste estudo também foram comparados com outras espécies de peixes e princípios ativos encontrados no Brasil. Ao estudar a exposição de *Rhamdia quelen* a 0,25 e 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de paracetamol, Guiloski et al. (2017) não verificaram elevação significativa nos níveis de peroxidação lipídica em fígado. No entanto, Sehanova et al. (2017) avaliaram a toxicidade do naproxeno sódico em embrião-larva de *Cyprinus carpio* por 32 dias e verificaram elevação nos níveis de TBARS em concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e quando avaliaram a mistura de naproxeno sódico e cloridrato de tramadol a elevação já foi observada em 10 $\mu\text{g L}^{-1}$. Nesse sentido, Ebele, Abdallah e Harrad (2016) informam que a mistura complexa de fármacos apresenta maior (eco)toxicidade e potencial de provocar distúrbios e/ou alterações em organismos devido o efeito sinérgico dos princípios ativos, como identificado no presente estudo desenvolvido em condições reais.

Outro importante parâmetro utilizado na avaliação toxicológica é a atividade da enzima AChE, que está relacionada as funções fisiológicas dos peixes (DUTTA; ARENDS, 2003) e costuma ser reduzida na presença de xenobióticos (CLASEN et al., 2014). Os resultados da atividade da AChE estão apresentados na Figura 2.

Figura 2 – Atividade da enzima AChE em cérebro e músculo de *A. bimaculatus* expostos, por 14 dias, a efluente sanitário tratado (EST), EST acrescido de fármacos (EST+F) e EST+F pós-tratado com $O_3/H_2O_2/UV$ (ESPT). Os dados representam a média e o erro padrão (\pm). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$)



No cérebro, não foi constatada alteração significativa na atividade da enzima AChE entre o grupo controle e os demais contendo resíduos de fármacos. No entanto, quando avaliada no músculo, observou-se redução da atividade no grupo EST em relação ao controle, mas que não foi considerada estatisticamente significativa. Contudo, maior inibição da atividade da AChE foi observada no grupo EST+F em relação ao controle, e que se manteve no grupo ESPT, apesar da discreta elevação da atividade no último grupo.

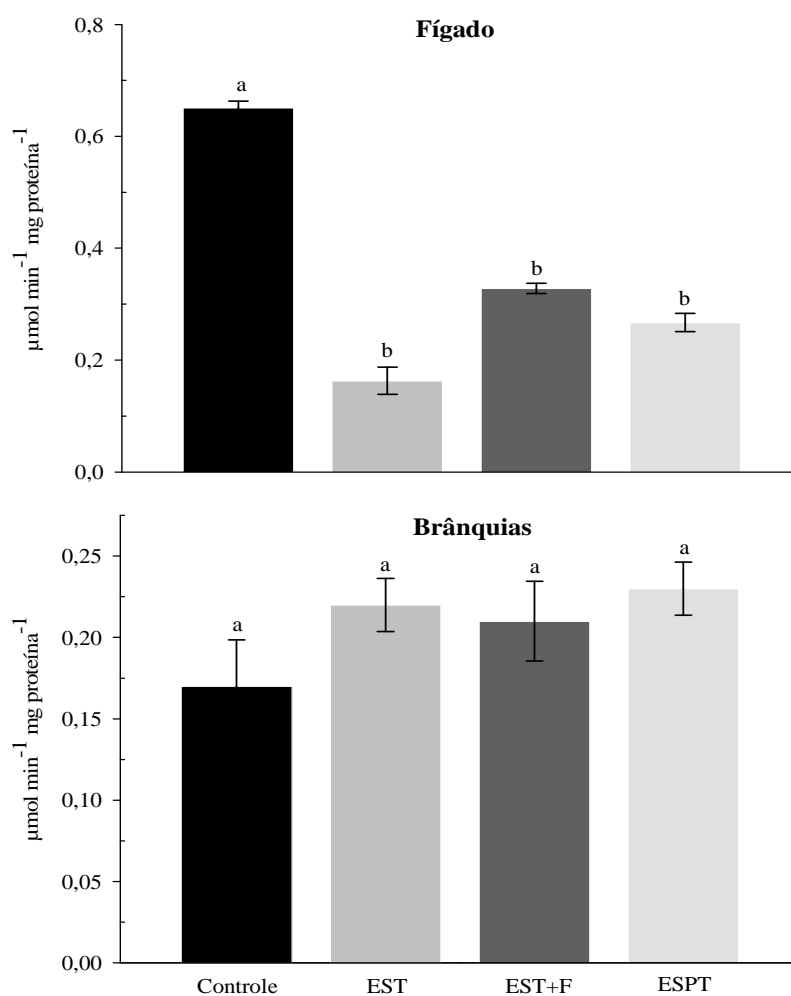
Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os descritos por Nunes et al. (2015), que também observaram redução significativa da atividade AChE no músculo de *Astyanax* sp. expostos a água de diluição de esgoto sanitário em relação ao grupo controle. Assim como o presente estudo, os autores não verificaram redução significativa da atividade enzimática da AChE no cérebro desses peixes, quando comparado ao grupo controle. O estudo de Gonçalves et al. (2018), com propoxur, também relata inibição da atividade da AChE em músculo de *Astyanax jacuhiensis*, e ainda em cérebro nas maiores concentrações investigadas do inseticida. Segundo Liu et al. (2018), a norfloxacin isolada ou combinada com sulfametoxazol pode reduzir a AChE, portanto, este último pode ter interferido negativamente na recuperação da atividade da AChE no músculo dos peixes do grupo ESPT.

A redução da atividade da AChE no músculo dos organismos expostos a substâncias químicas pode ser explicada por Dutta e Arends (2003), que informam ser a enzima responsável diretamente pelos estímulos para contração e relaxamento muscular. Clasen et al. (2014) citam estudos que correlacionam o aumento dos níveis de TBARS com a inibição da

AChE, por ter observado o mesmo comportamento. Esta hipótese é válida para o presente estudo que constatou elevação nos níveis de TBARS no músculo e cérebro, concomitante à inibição da AChE em músculo, sob as mesmas condições. Portanto, os resultados de TBARS e AChE indicam dano oxidativo aos grupos expostos às maiores concentrações de fármacos, por meio de alterações provocadas nos órgãos e no metabolismo dos peixes.

A CAT, juntamente com a SOD (não avaliada neste estudo), consistem nas principais enzimas antioxidantes para neutralização de EROs, e conversão a metabólitos menos nocivos aos organismos (CLASEN et al., 2014). Os resultados da atividade da enzima CAT, em fígado e brânquias, estão expressos na Figura 3.

Figura 3 - Atividade da enzima CAT em fígado e brânquias de *A. bimaculatus* expostos, por 14 dias, a efluente sanitário tratado (EST), EST acrescido de fármacos (EST+F) e EST+F pós-tratado com $O_3/H_2O_2/UV$ (ESPT). Os dados representam a média e o erro padrão (\pm). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$)



No fígado, a atividade da CAT diminuiu significativamente nos grupos que continham resíduos de fármacos em comparação ao controle. No entanto, a atividade da CAT nos grupos EST, EST+F e ESPT não foi considerada estatisticamente diferente. Em relação às brânquias, observou-se discreta elevação na atividade da CAT nos grupos expostos aos grupos com fármacos, possivelmente por ser o órgão primário diretamente exposto, porém esta diferença não foi considerada estatisticamente significativa.

A elevação nos níveis de peroxidação lipídica no cérebro e músculo, associada às reduções das enzimas AChE no músculo e CAT no fígado dos peixes, principalmente do grupo EST+F, pode ser explicada pela combinação dos antibióticos do grupo fluoroquinolonas (quilononas de 2ª geração) com tetraciclina que potencializam o desenvolvimento de toxicidade, cardiotoxicidade, imunotoxicidade e comportamento desordenado de locomoção em ação antagônica (LIU et al., 2018). Os autores descrevem que esses efeitos podem ser alterados com a temperatura do meio, podendo aumentar ou diminuir.

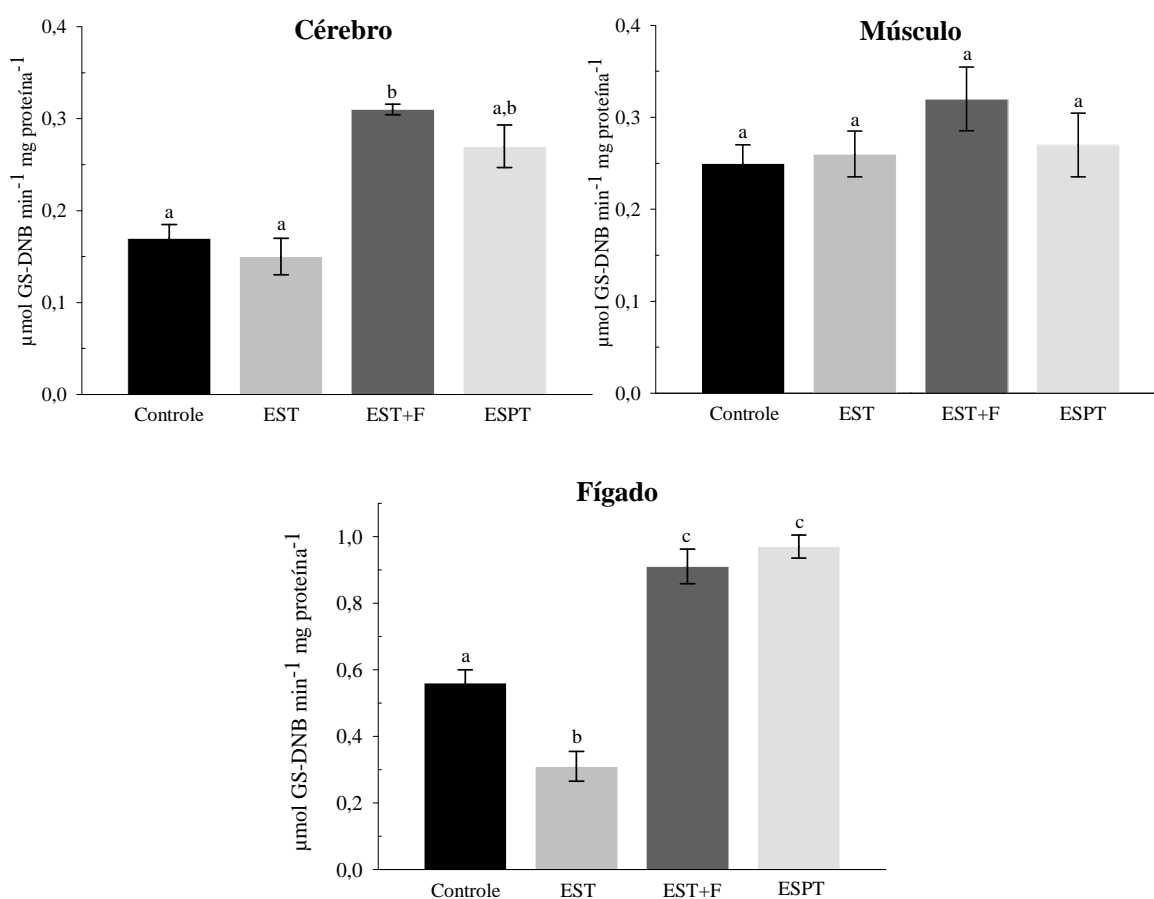
Os resultados de alguns estudos que também avaliaram o comportamento da CAT em peixes expostos a xenobióticos são apresentados a seguir. Nunes et al. (2015) avaliaram a atividade da CAT em músculo e cérebro, tendo observado elevação da atividade apenas em músculo do grupo exposto a água contaminada. Comportamento similar é descrito por Guiloski et al. (2015) que observaram elevação na atividade da CAT no fígado de *Hoplias malabaricus* expostas a concentração de 3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ do anti-inflamatório dexametasona. No entanto, o mesmo estudo não observou alterações da CAT no fígado de *Hoplias malabaricus*, em relação ao controle, quando expostos a concentração mais elevadas de diclofenaco, a 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Pesquisas com *Cyprinus Carpio* predominam na literatura. Cortes-Diaz et al. (2017), ao avaliarem a atividade da CAT com indivíduos dessa espécie expostos a diferentes concentrações de captopril (1 $\mu\text{g L}^{-1}$, 1 mg L^{-1} e 100 mg L^{-1}), verificaram maior elevação da atividade enzimática no fígado do grupo exposto a menor concentração do fármaco (1 $\mu\text{g L}^{-1}$), após 24, 48 e 72 horas. Quando avaliado em brânquias, o aumento da atividade também foi constatado, predominantemente, nas menores concentrações, como observado na presente pesquisa, o que pode ter sido influenciado pela maior absorção do fármaco. Comportamento similar ao presente estudo também é descrito por Clasen et al. (2014), com a avaliação do inseticida carbofuran no fígado de *Cyprinus carpio*. Os autores relatam redução da atividade da CAT após 30 dias de exposição à concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, em arrozal, e informam que a atividade da CAT costuma ser aumentada quando o organismo se encontra em estresse oxidativo. No entanto, Van der Oost et al. (2003) informam que a utilização exclusiva dessa

enzima não é recomendada como biomarcador de toxicidade, devendo ser considerado os resultados de diferentes enzimas para se compreender as respostas antioxidantes dos peixes.

Deste modo, outra enzima importante na avaliação de parâmetros de estresse oxidativo é a GST, pois é responsável por catalisar vários metabólitos e produtos de lipoperoxidação, o que a torna essencial na detoxificação de xenobióticos. Os resultados da atividade GST em cérebro, músculo e fígado estão apresentados na Figura 4.

Figura 4 - Atividade da enzima GST em cérebro, músculo e fígado de *A. bimaculatus* expostos, por 14 dias, a efluente sanitário tratado (EST), EST acrescido de fármacos (EST+F) e EST+F pós-tratado com $O_3/H_2O_2/UV$ (ESPT). Os dados representam a média e o erro padrão (\pm). Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ($p \leq 0,05$)



Os resultados obtidos neste estudo sugerem que houve uma elevação significativa na atividade da GST no cérebro e fígado dos peixes expostos ao grupo EST+F em comparação ao controle. No cérebro, apesar da elevação da atividade no grupo ESPT, esta não diferiu estatisticamente do controle e EST. Todavia, no fígado, o aumento da atividade GST nos grupos EST+F e ESPT foi significativa em relação aos grupos controle e EST, possivelmente

devido à elevação na concentração dos fármacos e/ou formação de metabólitos no grupo exposto ao efluente pós-tratado.

O comportamento da GST em cérebro de *Astyanax* sp., relatado por Nunes et al. (2015), foi o mesmo obtido neste estudo. Os autores observaram elevação da atividade enzimática no grupo exposto à água contaminada. Porém, Gonçalves et al. (2018) observaram redução na atividade da GST no fígado dos grupos expostos às diferentes concentrações do inseticida propoxur, ao mesmo tempo que a atividade em músculo não diferiu do controle nas concentrações de 5 e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$, assim como este estudo que não verificou diferença significativa da atividade da GST em músculo, entre os grupos avaliados. O estudo realizado por Guiloski et al. (2017) reforça a hipótese de aumento da atividade da enzima GST no fígado sob condições de detoxificação, uma vez que a exposição de *Rhamdia quelen* a concentração de 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ de paracetamol elevou a atividade da enzima no órgão citado. Guiloski et al. (2015) também relatam aumento da atividade da GST no fígado de *Hoplias malabaricus* expostas a 0,3 e 3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de dexametasona, assim como o estudo de Clasen et al. (2014) com o inseticida carbofuran na cultura de arroz em 30 dias de exposição e Sehanova et al. (2017) na exposição de embrião-larva de *Cyprinus carpio* a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ da mistura de naproxeno sódico e cloridrato de tramadol.

Os resultados obtidos na atividade da GST estão de acordo com o disposto por Clasen et al. (2014) e nos demais estudos mencionados, tendo em vista que a resposta mais comum da enzima contra uma situação tóxica é a indução da atividade, o que é considerado uma resposta benéfica do organismo sob condição de estresse. Logo, o aumento na atividade da enzima no fígado e cérebro dos peixes expostos às maiores concentrações dos fármacos pode ser entendido como uma elevação da biotransformação dos compostos ou seus metabólitos, principalmente no grupo ESPT.

A formação de subprodutos durante a degradação de fármacos por processos oxidativos avançados é relatada na literatura (GAVRILESCU et al., 2015; AZUMA et al., 2016; GIANNAKIS et al., 2017), cujos metabólitos resultantes podem ser menos, equivalentes, ou mais tóxicos que os princípios ativos originais. Neste estudo, considerando-se a redução nos níveis de TBARS e CAT no fígado do grupo exposto ao ESPT, assim como elevação da atividade GST no mesmo grupo em cérebro e fígado e redução da atividade AChE no grupo com maior concentração de fármacos (ESP+F), tais resultados indicam que os metabólitos gerados durante o pós-tratamento do efluente possuem toxicidade inferior aos princípios ativos originais. Esta constatação é reforçada pela sobrevivência de todos os peixes

expostos ao ESPT, enquanto se observou a mortalidade de 30% dos exemplares expostos ao EST+F durante o período experimental.

Por fim, ressalta-se que apesar da interação significativa entre os grupos e órgãos avaliados nos ensaios TBARS, CAT e GST, estas foram desconsideradas devido às diferentes respostas enzimáticas de cada tecido.

4.9 CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que a mistura dos fármacos detectados no efluente sanitário tratado foi capaz de causar alterações nos parâmetros bioquímicos de *A. bimaculatus* nos diferentes órgãos avaliados. Logo, conclui-se que os efluentes sanitários, após tratamento convencional, apresentam compostos em concentrações que podem causar efeitos tóxicos a *A. bimaculatus*, mesmo sob concentrações não letais.

As alterações dos biomarcadores de estresse oxidativo foram agravadas quando a concentração de fármacos foi aumentada no efluente. Os níveis de TBARS em cérebro e brânquias, AChE em músculo, CAT em fígado e GST em cérebro e músculo apresentaram alterações significativas em relação ao grupo controle, evidenciando claramente o risco e a toxicidade que a mistura de fármacos possui para os peixes.

O efluente pós-tratado com $O_3/H_2O_2/UV$ apresentou redução nos níveis de peroxidação lipídica, em condições iguais ou inferiores ao controle. Logo presumi-se que os possíveis metabólitos formados durante o processo possuem toxicidade inferior aos princípios ativos originais.

4.10 REFERÊNCIAS

AFONSO-OLIVARES, C.; FERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, C.; OJEDA-GONZÁLEZ, R. J.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J. J.; DOÑA RODRÍGUEZ, J. M. Estimation of kinetic parameters and UV doses necessary to remove twenty-three pharmaceuticals from pre-treated urban wastewater by UV/ H_2O_2 . **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v.329, p. 130-138, 2016.

AQUINO, S. F. de; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.18, n.3, p. 187-204, 2013.

AZUMA, T.; ARIMA, N.; TSUKADA, A.; HIRAMI, S.; MATSUOKA, R.; MORIWAKE, R.; ISHIUCHI, H.; INOYAMA, T.; TERANISHI, Y.; YAMAOKA, M.; MINO, Y.; HAYASHI, T.; FUJITA, Y.; MASADA, M. Detection of pharmaceuticals and phytochemicals together with their metabolites in hospital effluents in Japan, and their

contribution to sewage treatment plant influents. **Science of the Total Environment**, v.548-549, p. 189-197, 2016.

BALAKRISHNA, K.; RATH, A.; PRAVEENKUMARREDDY, Y.; GURUGE, K. S.; SUBEDI, B. A review of the occurrence of pharmaceuticals and personal care products in Indian water bodies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.137, p. 113-120, 2017.

BISOGNIN, R. P.; WOLFF, D. B.; CARISSIMI, E. Revisão sobre fármacos no ambiente. **Revista DAE**, v.67, n.10, p.78-95, 2018.

BRAZ-MOTA, S.; SADAUSKAS-HENRIQUE, H.; DUARTE, R. M.; VAL, A. L.; ALMEIDA-VAL, V. M. Roundup® exposure promotes gills and liver impairments, DNA damage and inhibition of brain cholinergic activity in the Amazon teleost fish *Colossoma macropomum*. **Chemosphere**, v.135, p. 53-60, 2015.

BUEGE, J.A.; AUST, S. D. **Microsomal lipid peroxidation**. *Methods Enzymol*, v. 52, p. 302-309, 1978.

CARLSSON, C.; JOHANSSON, A.; ALVAN, G.; BERGMAN, K.; KÜHLER, T. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. **Science of the Total Environment**, v.364, p. 67-87, 2006.

CHIURCHIÙ, V.; ORLACCHIO, A.; MACCARRONE, M. Is modulation of oxidative stress an answer? The state of the art of redox therapeutic actions in neurodegenerative diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-11, 2016.

CLASEN, B.; LEITEMPERGER, J.; MURUSSI, C.; PRETTO, A.; MENEZES, C.; DALABONA, F.; MARCHEZAN, E.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R.; LORO, V. L. Carbofuran promotes biochemical changes in carp exposed to rice field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.101, p. 77-82, 2014.

CORTES-DIAZ, M. J. A.; RODRÍGUEZ-FLORES, J.; CASTAÑEDA-PEÑALVO, G.; GALAR-MARTÍNEZ, M.; ISLAS-FLORES, H.; DUBLÁN-GARCÍA, O.; GÓMEZ-OLIVÁN, L. M. Sublethal effects induced by captopril on *Cyprinus carpio* as determined by oxidative stress biomarkers. **Science of the Total Environment**, v.605-606, p. 811-823, 2017.

DINH, Q. T.; MOREAU-GUIGON, E.; LABADIE, P.; ALLIOT, F.; TEIL, M. J.; BLANCHARD, M.; CHEVREUIL, M. Occurrence of antibiotics in rural catchments. **Chemosphere**, v.168, p. 483-490, 2017.

DUTTA, H. M; ARENDS, D. A. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. **Environmental Research**, v.91, n.3, p.157-162. 2003.

EBELE, A. J.; ABDALLAH, M. A.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, v.3, n.1, p. 1-16, 2016.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, Jr. V. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v.7, p.88-95, 1961.

FARRÉ, M.; PÉREZ, S.; KANTIANI, L.; BARCELÓ, D. 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.

GALUS, M.; KIRISCHIAN, N.; HIGGINS, S.; PURDY, J.; CHOW, J.; RANGARANJAN, S.; LI, H.; METCALFE, C.; WILSON, J. Y. Chronic, low concentration exposure to pharmaceuticals impacts multiple organ systems in zebrafish. **Aquatic Toxicology**, v.132-133, p. 200-211, 2013.

GAVRILESCU, M.; DEMNEROVÁ, K.; AAMAND, J.; AGATHOS, S.; FAVA, F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v.32, n.1, p. 147-156, 2015.

GIANNAKIS, S.; HENDAOU, I.; JOVIC, M.; GRANDJEAN, D.; ALENCASTRO, L. F. de; GIRAULT, H.; PULGARIN, C. Solar photo-Fenton and UV/H₂O₂ processes against the antidepressant Venlafaxine in urban wastewaters and human urine. Intermediates formation and biodegradability assessment. **Chemical Engineering Journal**, v.308, p. 492-504, 2017.

GIEBULTOWICZ, J.; NAŁECZ-JAWECKI, G. Occurrence of immunosuppressive drugs and their metabolites in the sewage-impacted Vistula and Utrata Rivers and in tap water from the Warsaw region (Poland). **Chemosphere**, v.148, p. 137-147, 2016.

GONÇALVES, C. R.; MARTINS, A. T.; AMARAL, A. M. B. do; LEITEMPERGER, J.; SEVERO, E. S.; MORAES, B. S.; ZANELLA, R.; LORO, V. L. Biochemical responses in freshwater fish exposed to insecticide propoxur. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.100, n.4, p. 524-528, 2018.

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

GUILOSKI, I. C.; RIBAS, J. L. C.; PIANCINI, L. D. S.; DAGOSTIM, A. C.; CIRIO, S. M.; FÁVARO, L. F.; BOSCHEN, S. L.; CESTARI, M. M.; CUNHA, C. DA; ASSIS, H. C. S. de. Effects of environmentally relevant concentrations of the anti-inflammatory drug diclofenac in freshwater fish *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.139, p. 291-300, 2017.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v.249, p. 7130-7139, 1974.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, v.142, n.2, p. 231-55. 2004.

HU, J.; ZHOU, J.; ZHOU, S.; WU, P.; TSANG, Y. F. Occurrence and fate of antibiotics in a wastewater treatment plant and their biological effects on receiving waters in Guizhou. **Process Safety and Environmental Protection**, v.113, p. 483-490, 2018.

JANK, L.; HOFF, R. B.; COSTA, F. J. da; PIZZOLATO, T. M. Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes insurface and wastewater samples by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.94, n.10, p. 1013-1037, 2014.

KLATTE, S.; SCHAEFER, H.; HEMPEL, M. Pharmaceuticals in the environment – A short review on options to minimize the exposure of humans, animals and ecosystems. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v.5, p. 61-66, 2017.

KNOPP, G.; PRASSE, C.; TERNES, T. A.; CORNEL, P. Elimination of micropollutants and transformation products from a wastewater treatment plant effluent through pilot scale ozonation followed by various activated carbon and biological filters. **Water Research**, v.100, p. 580-592, 2016.

LI, W. C. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. **Environmental Pollution**, v.187, p. 193-201, 2014.

LIU, L.; WU, W.; ZHANG, J.; LV, P.; XU, L.; YAN, Y. Progress of research on the toxicology of antibiotic pollution in aquatic organisms. **Acta Ecologica Sinica**, v.38, p. 36-41, 2018.

LIU, Y. H.; ZHANG, S. H.; JI, G. X.; WU, S. M.; GUO, R. X.; CHENG, J.; YAN, Z. Y.; CHEN, J. Q. Occurrence, distribution and risk assessment of suspected endocrine-disrupting chemicals in surface water and suspended particulate matter of Yangtze River (Nanjing section). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.135, p. 90-97, 2017.

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

MORLEY, N. J. Environmental risk and toxicology of human and veterinary waste pharmaceutical exposure to wild aquatic host-parasite relationships. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.27, p. 161-175, 2009.

NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 °C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical Biochemistry**, v.49, n. 2, p. 474-478, 1972.

NUNES, M.; SILVA, F. W. DA; SILVA, D. C.; WALLAU, G. L.; POSSER, T. FRANCO, J. L. Assessment of Water Pollution Signs in the Brazilian Pampa Biome Using Stress Biomarkers in Fish (*Astyanax* sp.). **Journal of Ecosystems**, v.2015, 7 p., 2015.

PÉREZ, M. R.; ROSSI, A. S.; BACCHETTA, C.; ELORRIAGA, Y.; CARRIQUIRIBORDE, P.; CAZENAVE, J. In situ evaluation of the toxicological impact of a wastewater effluent on

the fish *Prochilodus lineatus*: biochemical and histological assessment. **Ecological Indicators**, v.84, p. 345-353, 2018.

R CORE TEAM. R: **A language environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <<http://r-project.org/>> Acesso em: 03 mai. 2018.

SAMANTA, P.; IM, H.; YOO, J.; LEE, H.; KIM, N. Y.; KIM, W.; HWANG, S. J.; KIM, W.K.; JUNQ, J. Comparative assessment of the adverse outcome of wastewater effluents by integrating oxidative stress and histopathological alterations in endemic fish. **Journal of Hazardous Materials**, v.344, p. 81-89, 2018.

SEHONOVA, P.; PLHALOVA, L.; BLAHOVA, J.; DOUBKOVA, V.; PROKES, M.; TICHY, F.; FIORINO, E.; FAGGIO, C.; SVOBODOVA, Z. Toxicity of naproxen sodium and its mixture with tramadol hydrochloride on fish early life stages. **Chemosphere**, v.188, p. 414-423, 2017.

SINGHAL, S. S.; SINGH, S. P.; SINGHAL, P. HORNE, D.; SINGHAL, J.; AWASTHI, S. Antioxidant role of glutathione S-transferases: 4- Hydroxynonenal, a key molecule in stress-mediated signaling. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.289, n.3, p. 361-370, 2015.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.13, n.2, p. 57-149, 2003.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. **Science of the Total Environment**, v.429, p. 123-155, 2012.

ZIMMERMANN, S. G.; WITTENWILER, M.; HOLLENDER, J.; KRAUSS, M.; ORT, C.; SIEGRIST, H.; GUNTEN, U. Kinetic assessment and modeling of an ozonation step for full scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection. **Water Research**, v.45, n.2, p. 605-617, 2011.

5 DISCUSSÃO GERAL

A ocorrência de fármacos no ambiente, entre outros micropoluentes, têm sido frequentemente relatada à medida que são realizados estudos de determinação em diferentes matrizes ambientais (PAL et al., 2010; SILVA; COLLINS, 2011; AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; LI 2014; GAVRILESCU et al., 2015; GIEBULTOWICZ; NAŁĘCZ-JAWECKI, 2016; AZUMA et al., 2016; IVANOVÁ et al., 2017). Porém, os estudos realizados podem não representar as especificidades e a realidade de cada país ou região, formando lacunas de informações valiosas à melhoria da qualidade ambiental e à saúde pública. Todavia, a geração de dados é dificultada pelos elevados custos e complexidade das análises necessárias a detecção dos diversos micropoluentes que apresentam comportamentos variados de acordo com suas características e as do meio ambiente (COSTA JUNIOR; PLETSCHE; TORRES, 2014; BITTENCOURT et al., 2016).

A partir dos resultados de determinação da ocorrência de fármacos no esgoto sanitário afluente à ETE estudada, verificou-se elevada carga e diversidade de princípios ativos, especialmente antibióticos, em concentrações ora inferior ou superior a outros estudos (BALAKRISHNA et al., 2017; HU et al., 2018; LIN et al., 2018). A detecção e concentração das substâncias ativas apresentaram variações conforme as campanhas de amostragem, o que está diretamente relacionado às elevadas vazões, temporalidade dos tratamentos (MARTÍN et al., 2012) e efeitos de diluição do esgoto sanitário, que apresentou média carga (VON SPERLING, 2014) devido a diluição parcial por águas cinzas na fonte geradora e pluviais. Apesar dos fatores mencionados, foram detectadas elevadas concentrações de paracetamol e cafeína no efluente bruto, assim como antibióticos de consumo mundial, tais como: ciprofloxacina, clindamicina, enrofloxacina, metronidazol, ofloxacina, oxitetraciclina, sulfadiazina, sulfametoxazol, sulfatiazol, trimetoprima e tilosina, esta última <LOQ.

Os resultados de detecção de fármacos no lodo biológico misto, composto pela biomassa dos reatores UASB e Unitank, mostraram claramente a afinidade de alguns princípios ativos com a fase sólida, como doxiciclina, fembendazol, norfloxacina e tetraciclina que foram detectadas somente no lodo, além das elevadas concentrações de ciprofloxacina, ofloxacina e cafeína que também foram detectadas na fase sólida. Estes resultados estão associados à complexidade de degradação dos princípios ativos (GRANDCLÉMENT et al., 2017) e a facilidade que as substâncias dos grupos fluoroquinolonas e tetraciclinas possuem em se ligar a cátions divalentes presentes na fase sólida, promovendo a adsorção às partículas e a formação de complexos ternários mais

estáveis (PULICHARLA et al., 2017), assim como a adesão de partículas carregadas positivamente à partículas coloidais de carga negativa presentes na fase sólida (HU et al., 2018).

Desta forma fica evidente a importância da análise de fármacos no lodo para a compreensão do destino e comportamento dos princípios ativos afluentes à ETE, podendo servir de base para adoção de medidas de controle e gerenciamento da disposição final de lodos secundários de sistemas de tratamento. Estes dados corroboram e suportam o potencial de impacto e efeitos nocivos da aplicação de lodos na agricultura, como mencionado por Ivanová et al. (2018).

Considerando os resultados de remoção dos fármacos pela ETE estudada, a enrofloxacin e o metronidazol foram os únicos princípios ativos não detectados após o tratamento. Contudo, para a enrofloxacin isto ocorreu após o tratamento biológico aeróbio, indicando biodegradação cometabólica devido à sua baixa concentração e elevada complexidade (GRANDCLÉMENT et al., 2017), enquanto que o metronidazol, menos complexo, foi removido nos reatores anaeróbios. Alguns antibióticos como trimetoprima, clindamicina, oxitetraciclina, sulfatiazol e tilosina tiveram suas concentrações aumentadas no efluente tratado em relação ao bruto, o que pode ser explicado pela elevada vazão do sistema estudado, temporalidade dos tratamentos com antibióticos, complexidade de degradação e comportamento hidrofóbico/hidrofílico das moléculas, como também observado em outros estudos (BALAKRISHNA et al., 2017; GRANDCLÉMENT et al., 2017; HU et al., 2018; LIN et al., 2018). Com exceção da sulfadiazina, que apresentou baixo índice de remoção (10,59%), os demais fármacos apresentam reduções na concentração de 65 a 98,94%, seja por biodegradação metabólica e cometabólica ou por sorção no lodo.

Contudo, os resultados do estudo de ocorrência e destino dos fármacos indicaram elevada carga de fármacos descarregada junto com o efluente final no corpo hídrico receptor, o que enfatiza a necessidade de estudos com sistemas complementares e avançados de pós-tratamento para redução e/ou remoção dos princípios ativos mais recalcitrantes. Nesse mesmo sentido, também se faz necessária a compreensão dos efeitos (eco)toxicológicos dos resíduos de fármacos sobre organismos presentes em ambientes aquáticos, o que é abordado mais adiante neste item.

Considerando-se a larga ocorrência e/ou persistência de ciprofloxacina, oxitetraciclina, paracetamol, sulfametoxazol e trimetoprima, entre outros fármacos, em águas residuárias de diferentes países (MARTÍN et al., 2012; DINH et al., 2017; BALAKRISHNA et al., 2017; HU et al., 2018), e no artigo 2 desta tese, para os ensaios de degradação de fármacos, esses

princípios ativos tiveram suas concentrações elevadas acima dos valores previstos sem efeito (CPSE) para espécies mais sensíveis.

Assim, todos os POAs avaliados, O_3 (0,5 e 0,9 $mgO_3 mgCOD^{-1}$); UV (lâmpada 15 W); O_3/UV (0,5 $mgO_3 mgCOD^{-1}$ + UV 15 W); H_2O_2/UV (25 $mgH_2O_2 L^{-1}$ [35%] + UV 15 W); $O_3/H_2O_2/UV$ (0,5 $mgO_3 mgCOD^{-1}$ + 25 $mgH_2O_2 L^{-1}$ [35%] + UV 15 W), possibilitaram a remoção dos antibióticos ofloxacina, sulfadiazina e sulfatiazol, que não foram mais detectados nos primeiros minutos de reação. Tal remoção pode ter ocorrido pelas baixas concentrações observadas no efluente, sendo a mínima de 0,025 e a máxima de 0,078 $\mu g L^{-1}$, respectivamente, de ofloxacina e sulfadiazina. A clindamicina foi removida somente pelos processos que combinaram o uso de H_2O_2 , enquanto que o comprometimento da eficiência de remoção de trimetoprima, ciprofloxacina e sulfametoxazol no processo que avaliou o O_3 isoladamente, pode ser explicado pela dose insuficiente do agente oxidante, haja vista que Martini et al. (2018) constaram a remoção de sulfametoxazol somente por ozonização após 15 min de reação. No entanto, a dose empregada pelos autores foi 8,8 vezes superior à máxima aplicada neste estudo. Nesse contexto, os resultados de degradação de fármacos, exclusivamente por O_3 , comprovaram que a eficiência de remoção dos princípios ativos aumenta com a elevação da dose, o que também foi observado por Afonso-Olivares et al. (2016) e Mondal, Saha e Sinha (2018) para as concentrações de H_2O_2 .

Apesar da elevada sensibilidade do sulfametoxazol à radiação UV, igualmente constatada por Alharbi et al. (2017), o emprego exclusivo dessa técnica pode não ser ideal, tendo em vista que o antibiótico é coadministrado com trimetoprima na relação de 5:1 (LIN et al., 2018), que é pouco afetada pela ação UV. Por outro lado, a combinação O_3/UV possibilitou maior degradação dos demais fármacos se comparado à ação isolada do O_3 e da radiação UV, devido a maior reatividade de alguns princípios ativos com o ozônio molecular (KNOPP et al., 2016), bem como pela oxidação promovida pela fotólise do O_3 , capaz de gerar radicais OH^\bullet , que possuem maior potencial de degradação de moléculas orgânicas (ARAÚJO et al., 2016; MARTINI et al., 2018). Desta forma, o processo $O_3/H_2O_2/UV$, que integrou a ação conjunta de radicais OH^\bullet formados por H_2O_2/UV associados à reação direta do O_3 com moléculas orgânicas (HANSEN et al., 2016), possibilitou a obtenção dos melhores resultados de degradação de todos os fármacos detectados no efluente, com remoções entre 89,32 a 100%.

Ainda que sejam raros os estudos que empregam a combinação $O_3/H_2O_2/UV$ na remoção de fármacos em águas residuárias (MARTINI et al., 2018), Kanakaraju, Glass e

Oelgemöller (2018) descrevem que a maioria dos processos híbridos e integrados apresentam desempenho superior aos processos que empregam agentes oxidantes separadamente.

Os ensaios de degradação com amostras reais de efluentes foram essenciais para representar a realidade de eficiência dos processos, uma vez que os radicais OH^\bullet formados podem ter sido influenciados pela matéria orgânica do efluente, perdendo efeito sobre os poluentes alvos, como elucidado por Dong, Mezyk e Rosario-Ortiz (2010) e Katsoyiannis, Canonica, Gunten (2011). Esta mesma inferência pode explicar as baixas eficiências de mineralização dos fármacos pelos POAs estudados. Embora o processo $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ tenha promovido o maior percentual de redução de COT (60,52%), assim como de degradação dos fármacos, eliminação de *Escherichia coli* e redução de N_{Total} . Logo, essa combinação foi mais eficiente, dentre as condições estudadas, evidenciando seu potencial de aplicação no pós-tratamento de esgotos sanitários para remoção e/ou redução substancial da concentração de fármacos.

Uma vez constatada a degradação de fármacos em processos de tratamento de águas residuárias, é imprescindível a avaliação da (eco)toxicidade das amostras, principalmente, após exposição a agentes oxidantes fortes, tendo em vista que podem ser gerados metabólitos de toxicidade equivalente, inferior ou superior aos compostos originais (VERLICCHI; AUKIDY; ZAMBELLO, 2012; GAVRILESCU et al., 2015; AZUMA et al., 2016). Nesse sentido, a investigação dos efeitos crônicos de fármacos sobre parâmetros de estresse oxidativo em brânquias, cérebro, fígado e músculo de *Astyanax bimaculatus* expostos a diferentes concentrações de fármacos demonstrou que os níveis de TBARS, em cérebro, aumentaram significativamente nos grupos expostos as concentrações mais elevadas de fármacos, enquanto que no grupo de peixes exposto ao efluente pós-tratado com $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, esses níveis reduziram, igualando-se ao grupo controle. No fígado, músculo e brânquias os níveis de TBARS também foram reduzidos no grupo exposto ao efluente pós-tratado, até mesmo em relação ao controle. Estes resultados indicam que o estresse oxidativo no grupo exposto ao efluente pós-tratado, que possuía, em geral, as menores concentrações e diversidade de fármacos, foi reduzido, demonstrando que nessas condições os mecanismos de defesa antioxidantes dos peixes foram capazes de minimizar os efeitos das EROs e de possíveis doenças neurodegenerativas (CHIURCHIÙ; ORLACCHIO; MACCARRONE, 2016; PÉREZ et al., 2018).

Apesar de não terem sido encontrados outros estudos com *Astyanax bimaculatus* expostos a fármacos em esgotos sanitários tratados, Nunes et al. (2015) e Gonçalves et al. (2018) estudaram as respostas bioquímicas do gênero *Astyanax* sp. a diferentes xenobióticos e

também observaram aumento dos níveis de TBARS nos órgãos dos peixes expostos aos grupos com maior contaminação, o que corrobora a redução da toxicidade do efluente pós-tratado por $O_3/H_2O_2/UV$ no presente estudo.

Os dados de avaliação da atividade da enzima AChE no cérebro não apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados. Contudo, maior inibição da atividade da enzima AChE foi observada no músculo do grupo exposto às maiores concentrações de fármacos, uma vez que a enzima AChE é responsável diretamente pelos estímulos para contração e relaxamento muscular (DUTTA; ARENDS, 2003). O mesmo comportamento no músculo é descrito nos estudos de Nunes et al. (2015) e Gonçalves et al. (2018). Ressalta-se que o grupo exposto ao efluente pós-tratado apresentou ligeira recuperação da atividade da enzima AChE, melhorando as respostas dos peixes depois da redução da concentração dos fármacos.

Com relação à atividade da CAT, esta diminuiu significativamente nos grupos expostos ao efluente com fármacos em relação ao grupo controle. De acordo com Clasen et al. (2014), a atividade da CAT costuma aumentar quando o organismo se encontra em estresse oxidativo, no entanto, estudos realizados por Nunes et al. (2015), Cortes-Diaz et al. (2017) e Guiloski et al. (2015), com diferentes espécies e xenobiontes, apresentaram comportamentos distintos, por esse motivo, Van der Oost, Beyer e Vermeulen (2003) informam que a utilização isolada da enzima CAT não é recomendada como biomarcador de toxicidade, devendo ser analisada juntamente com outras enzimas.

No que se refere à atividade da GST, observou-se uma elevação significativa na atividade dessa enzima no cérebro e fígado dos peixes expostos ao grupo com a maior concentração de fármacos em comparação ao controle, e que se manteve no grupo exposto ao efluente pós-tratado. Estes resultados sugerem que a situação tóxica induz a atividade da enzima, como uma resposta benéfica a condição de estresse e a capacidade de detoxificação dos peixes na biotransformação dos princípios ativos e seus metabólitos, como evidenciado em outros estudos (CLASEN et al., 2014; NUNES et al., 2015; GUILOSKI et al., 2017)

De forma geral, constatou-se elevação da (eco)toxicidade com o aumento das concentrações de fármacos, influenciada pela mistura dos princípios ativos na mesma amostra, que eleva o potencial de provocar distúrbios e/ou alterações em organismos (EBELE; ABDALLAH; HARRAD, 2016). Contudo, pode-se inferir que o processo $O_3/H_2O_2/UV$ reduziu a (eco)toxicidade do efluente comparado as respostas obtidas nos demais grupos com fármacos, o que sugere a formação de possíveis produtos intermediários menos tóxicos que os originais, comprovando, mais uma vez, a eficácia do processo.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que:

- O esgoto sanitário afluente a ETE estudada possui elevada carga e diversidade de fármacos, apesar das características de diluição parcial. O paracetamol e a cafeína apresentaram as concentrações mais elevadas, indicando alto consumo pela população, embora tenham sido reduzidos significativamente (>97%) no tratamento biológico.
- Os antibióticos foram a classe de maior ocorrência, tanto no efluente quanto no lodo. Clindamicina, oxitetraciclina, sulfadiazina, sulfatiazol e trimetoprima foram os antibióticos mais recalcitrantes ao tratamento biológico, enquanto que a enrofloxacina e o metronidazol foram os únicos princípios ativos não detectados após o tratamento.
- Os processos de biodegradação metabólica e cometabólica foram responsáveis pela redução da maioria dos compostos detectados no efluente, no entanto a ciprofloxacina e a ofloxacina foram removidas, predominantemente, por sorção no lodo, assim como doxiciclina, fembendazol, norfloxacina e tetraciclina, que foram detectadas somente no lodo.
- Durante o período de investigação, o tratamento biológico não foi capaz de remover por completo a maioria dos fármacos no efluente final, os quais foram descarregados em alta carga ($511,466 \text{ g d}^{-1}$) no corpo hídrico receptor.
- Todos os POAs estudados (O_3 , UV, O_3/UV , $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ e $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) foram capazes de remover os antibióticos ofloxacina, sulfadiazina e sulfatiazol, em baixas concentrações ($<0,078 \mu\text{g L}^{-1}$). A tilosina não foi removida completamente apenas pela menor concentração de O_3 ($0,5 \text{ mg mgCOD}^{-1}$). A clindamicina se mostrou sensível aos processos que combinaram o uso de H_2O_2 .
- O processo $\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ foi mais eficiente na redução da concentração de todos os fármacos durante os 15 minutos avaliados. A oxitetraciclina foi o antibiótico mais refratário (89,32%), enquanto os demais foram reduzidos entre 96,79 a 100%.
- As degradações pelos POAs ocorreram nos minutos iniciais, seguindo, predominantemente, cinéticas de segunda ordem. A radiação UV, de forma isolada, resultou nas menores reduções de fármacos, exceto pra sulfametoxazol que se revelou altamente sensível à luz UV (254 nm).
- As dosagens de O_3 e H_2O_2 estudadas, com tempo de radiação UV de 15 min, não foram suficientes para promover à mineralização dos fármacos. No entanto, a maior redução de COT (60,52%) foi observada no mesmo processo que garantiu a maior

redução dos fármacos ($O_3/H_2O_2/UV$) e de nitrogênio total, evidenciando a existência de sinergia entre os agentes oxidantes combinados.

- A mistura dos fármacos detectados no efluente sanitário provocou alterações nas atividades enzimáticas em diferentes órgãos (cérebro, fígado, músculo e brânquias) de *Astyanax bimaculatus*. Após o tratamento convencional, as concentrações, apesar de não letais, foram capazes de causar efeitos nocivos aos exemplares de *A. bimaculatus*.
- As alterações bioquímicas e de estresse oxidativo foram significativamente agravadas quando se aumentou as concentrações de ciprofloxacina, oxitetraciclina, paracetamol, sulfametoxazol e trimetoprima no efluente, ocasionado, inclusive, a morte de exemplares de *A. bimaculatus*.
- O processo $O_3/H_2O_2/UV$ possibilitou redução da toxicidade do efluente a condições semelhantes e, por vezes superiores, às observadas nos peixes do grupo controle, indicando que os possíveis metabólitos formados possuíam toxicidade inferior aos princípios ativos originais.

Ante o exposto, verificou-se que o tratamento biológico, ainda que dimensionado para remoção de nutrientes, com etapa anaeróbia e operações cíclicas na fase aeróbia, não foi capaz de remover completamente os fármacos afluentes a ETE, necessitando de etapas complementares. Nesse sentido, o processo de pós-tratamento, combinando $O_3/H_2O_2/UV$, se mostrou uma técnica promissora para redução e remoção de fármacos, sem comprometer os parâmetros convencionais de monitoramento e, ainda, reduzindo significativamente a toxicidade do efluente final para descarte em corpos hídricos. Contudo, atenção especial também deve ser dada ao tratamento do lodo biológico para remoção de fármacos, principalmente quando a destinação final for à disposição em solo, a fim de evitar esta rota de contaminação do ambiente.

7 SUGESTÕES E RECOMENDAÇÕES PARA FUTURAS PESQUISAS

Com base nos resultados da presente pesquisa, sugere-se como possibilidades de estudos futuros:

- Expandir as investigações de ocorrência, destino e carregamento de fármacos e hormônios em diferentes matrizes ambientais e regiões do país.
- Estudar processos de tratamento do lodo biológico de ETEs para degradação de fármacos sorvidos na fase sólida.
- Investigar a rota de degradação de antibióticos e os principais metabólitos formados, tanto por processos biológicos quanto por processos de oxidação avançada.
- Aumentar as dosagens de O_3 e H_2O_2 , bem como o tempo de exposição à radiação UV, e verificar a eficiência de remoção dos fármacos em efluentes.
- Investigar a influência da matéria orgânica residual do esgoto na inibição de radicais OH^\bullet sobre poluentes alvos.
- Analisar o tempo de meia vida, no ambiente, dos fármacos mais recalcitrantes às técnicas de degradação.
- Ampliar o número de análises enzimáticas para expandir a compreensão das interações e danos ao organismo de peixes expostos a fármacos.
- Analisar a concentração de fármacos em tecidos de peixes.
- Avaliar as alterações enzimáticas e os níveis de peroxidação lipídica de peixes expostos a fármacos, individualmente, para o entendimento dos efeitos adversos causados por cada princípio ativo. Neste caso, recomendam-se estudos com paracetamol, oxitetraciclina, sulfametoxazol e trimetoprima, uma vez que são comumente relatados no ambiente e no caso específico dos antibióticos, sulfametoxazol e trimetoprima são coadministrados, enquanto que a oxitetraciclina apresentou maior persistência no pós-tratamento.
- Avaliar a (eco)toxicidade dos fármacos em organismos-testes de diferentes níveis tróficos, em amostras de efluente e lodo.
- Ressalta-se que já está em andamento um estudo de avaliação de biomarcadores de estresse oxidativo em minhocas expostas ao lodo da ETE estudada. Estão sendo avaliadas concentrações de 3; 6; 12 e 25% de lodo agregado em solo.

REFERÊNCIAS

ABARGUES, M. R. et al. Endocrine disrupter compounds removal in wastewater using microalgae: Degradation kinetics assessment. **Chemical Engineering Journal**, v.334, p. 313-321, 2018.

ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. NBR -10007: Amostragem de Resíduos Sólidos. Rio de Janeiro, 21 p., 2004.

AFONSO-OLIVARES, C. et al. Estimation of kinetic parameters and UV doses necessary to remove twenty-three pharmaceuticals from pre-treated urban wastewater by UV/H₂O₂. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 329, p. 130-138, 2016.

ALHARBI, S. K. et al. Photolysis and UV/H₂O₂ of diclofenac, sulfamethoxazole, carbamazepine, and trimethoprim: Identification of their major degradation products by ESI-LC-MS and assessment of the toxicity of reaction mixtures. **Process Safety and Environmental Protection**, v.112, p. 222-234, 2017.

AQUINO, S. F. de; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.18, n.3, p. 187-204, 2013.

ARAÚJO, K. S. et al. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Revista Ambiente e Água**, v.11, n.2, p. 387-401, 2016.

AZUMA, T. et al. Detection of pharmaceuticals and phytochemicals together with their metabolites in hospital effluents in Japan, and their contribution to sewage treatment plant influents. **Science of the Total Environment**, v.548-549, p. 189-197, 2016.

BALAKRISHNA, K. et al. A review of the occurrence of pharmaceuticals and personal care products in Indian water bodies. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.137, p. 113-120, 2017.

BITTENCOURT, S. et al. Sorção de poluentes orgânicos emergentes em lodo de esgoto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.21, n.1, p. 43-53, 2016.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. **Microsomal lipid peroxidation**. *Methods Enzymol*, v. 52, p. 302-309, 1978.

CARLSSON C. et al. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. **Science of the Total Environment**, v. 364, p. 67-87, 2006.

CHIURCHIÙ, V.; ORLACCHIO, A.; MACCARRONE, M. Is modulation of oxidative stress an answer? The state of the art of redox therapeutic actions in neurodegenerative diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-11, 2016.

CLASEN, B. et al. Carbofuran promotes biochemical changes in carp exposed to rice field and laboratory conditions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.101, p. 77-82, 2014.

CORTES-DIAZ, M. J. et al. Sublethal effects induced by captopril on *Cyprinus carpio* as determined by oxidative stress biomarkers. **Science of the Total Environment**, v.605-606, p. 811-823, 2017.

COSTA JUNIOR, I. L.; PLETSCH, A. L.; TORRES, Y. R. Ocorrência de fármacos antidepressivos no meio ambiente-revisão. **Revista Virtual de Química**, v.6, n.5, p.1408-1431, 2014.

DE LA CRUZ, N. et al. Degradation of emergent contaminants by UV, UV/H₂O₂ and neutral photo-Fenton at pilot scale in a domestic wastewater treatment plant. **Water Research**, v.47, p. 5836-5845, 2013.

DINH, Q. T. et al. Occurrence of antibiotics in rural catchments. **Chemosphere**, v.168, p. 483-490, 2017.

DONG, M. M.; MEZYK, S.P.; ROSARIO-ORTIZ, F. L. Reactivity of effluent organic matter (EfOM) with hydroxyl radical as a function of molecular weight. **Environmental Science & Technology**, v.44, p. 5714-5720, 2010.

DUTTA, H. M; ARENDS, D. A. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. **Environmental Research**, v.91, n.3, p.157-162. 2003.

EBELE, A. J.; ABDALLAH, M. A.; HARRAD, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. **Emerging Contaminants**, p. 1-16, 2016.

EKPEGHERE, K. I. et al. Determination and characterization of pharmaceuticals in sludge from municipal and livestock wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 168, p. 1211-1221, 2017.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, Jr. V. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v.7, p. 88-95. 1961.

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.

FATTA-KASSINOS, D.; MERIC, S.; NIKOLAOU, A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v.399, n.1, p. 251-275, 2011.

GALUS, M. et al. Chronic, low concentration exposure to pharmaceuticals impacts multiple organ systems in zebrafish. **Aquatic Toxicology**, v. 132-133, p. 200-211, 2013.

GARZA-CAMPOS, B. et al. Salicylic acid degradation by advanced oxidation processes. Coupling of solar photoelectro-Fenton and solar heterogeneous photocatalysis. **Journal of Hazardous Materials**, v.319, p. 34-42, 2016.

GAVRILESCU, M. et al. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New Biotechnology**, v.32, n.1, p. 147-156, 2015.

GIEBULTOWICZ, J.; NAŁECZ-JAWECKI, G. Occurrence of immunosuppressive drugs and their metabolites in the sewage-impacted Vistula and Utrata Rivers and in tap water from the Warsaw region (Poland). **Chemosphere**, v.148, p. 137-147, 2016.

GIL, E. D. S.; MATHIAS, R. O. Classificação e riscos associados aos resíduos químicos-Farmacêuticos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, p. 87-93, 2005.

GONÇALVES, C. R. et al. Biochemical responses in freshwater fish exposed to insecticide propoxur. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v.100, n.4, p. 524-528, 2018.

GRANDCLÉMENT, C. et al. From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: A review. **Water Research**, v.111, p. 297-317, 2017.

GUILOSKI, I. C. et al. Effects of trophic exposure to dexamethasone and diclofenac in freshwater fish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.114, p. 204-211, 2015.

GUILOSKI, I. C. et al. Effects of environmentally relevant concentrations of the anti-inflammatory drug diclofenac in freshwater fish *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.139, p. 291-300, 2017.

HABIG, W.H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v.249, p. 7130-7139, 1974.

HANSEN, k. M. S. et al. Ozonation for source treatment of pharmaceuticals in hospital wastewater - ozone lifetime and required ozone dose. **Chemical Engineering Journal**, v.290, p. 507-514, 2016.

HU, J. et al. Occurrence and fate of antibiotics in a wastewater treatment plant and their biological effects on receiving waters in Guizhou. **Process Safety and Environmental Protection**, v.113, p. 483-490, 2018.

IVANOVÁ, L.; FÁBEROVÁ, M.; MACKUL'AK, T.; GRABIC, R.; BODÍK, I. Estimation of amount of selected pharmaceuticals sorbed onto digested sludge from wastewater treatment plant Bratislava-Petržalka. **Environmental Research**, v.155, p. 31-35, 2017.

IVANOVÁ, L et al. Pharmaceuticals and illicit drugs – A new threat to the application of sewage sludge in agriculture. **Science of the Total Environment**, v.634, p. 606-615, 2018.

JANK, L. et al. Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes in surface and wastewater samples by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.94, n.10, p. 1013-1037, 2014.

JIANG, J.; ZHOU, Z.; SHARMA, V. K. Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water - A review from global views. **Microchemical Journal**, v.110, p. 292-300, 2013.

JIANG, Y. et al. Distribution and ecological risk of antibiotics in a typical effluent-receiving river (Wangyang River) in north China. **Chemosphere**, v.112, p. 267-274, 2014.

KANAKARAJU, D.; GLASS, B. D.; OELGEMÖLLER, M. Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review. **Journal of Environmental Management**, v.219, p. 189-207, 2018.

KATSOYIANNIS, I. A.; CANONICA, S.; GUNTEN, U. Von. Efficiency and energy requirements for the transformation of organic micropollutants by ozone, O₃/H₂O₂ and UV/H₂O₂. **Water research**, v.45, p. 3811-3822, 2011.

KLATTE, S.; SCHAEFER, H.; HEMPEL, M. Pharmaceuticals in the environment – A short review on options to minimize the exposure of humans, animals and ecosystems. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v.5, p. 61-66, 2017.

KNOPP, G. et al. Elimination of micropollutants and transformation products from a wastewater treatment plant effluent through pilot scale ozonation followed by various activated carbon and biological filters. **Water Research**, v.100, p. 580-592, 2016.

LI, W. C. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. **Environmental Pollution**, v.187, p. 193–201, 2014.

LIN, H. et al. Mass loading and emission of thirty-seven pharmaceuticals in a typical municipal wastewater treatment plant in Hunan Province, Southern China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.147, p. 530-536, 2018.

LIU, L. et al. Progress of research on the toxicology of antibiotic pollution in aquatic organisms. **Acta Ecologica Sinica**, v.38, p. 36-41, 2018.

LIU, Y. H. et al. Occurrence, distribution and risk assessment of suspected endocrine-disrupting chemicals in surface water and suspended particulate matter of Yangtze River (Nanjing section). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.135, p. 90-97, 2017.

LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v.34, n.1, p. 77-84, 2016.

LUO, Y. L. et al. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the Total Environment**, v.473, p.619-641, 2014.

MARTÍN, J. et al. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. **Journal of Hazardous Materials**, v.239-240, p. 40-47, 2012.

MARTINI, J. et al. Sulfamethoxazole degradation by combination of advanced oxidation processes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v.6, p. 4054-4060, 2018.

MIRZAEI, A. et al. Removal of pharmaceuticals from water by homo/heterogeneous Fenton-type processes - A review. **Chemosphere**, v.174, p. 665-688, 2017.

MONDAL, S. K.; SAHA, A. K.; SINHA, A. Removal of ciprofloxacin using modified advanced oxidation processes: Kinetics, pathways and process optimization. **Journal of Cleaner Production**, v.171, p. 1203-1214, 2018.

NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 °C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical Biochemistry**, v.49, n.2, p. 474-478, 1972.

NUNES, M. et al. Assessment of Water Pollution Signs in the Brazilian Pampa Biome Using Stress Biomarkers in Fish (*Astyanax* sp.). **Journal of Ecosystems**, v.2015, 7 p., 2015.

PAL, A. et al. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. **Science of the Total Environment**, v.408, n.24, p. 6062–6069, 2010.

PÉREZ, M. R. et al. In situ evaluation of the toxicological impact of a wastewater effluent on the fish *Prochilodus lineatus*: biochemical and histological assessment. **Ecological Indicators**, v.84, p. 345-353, 2018.

PULICHARLA, R. et al. Tetracyclines metal complexation: significance and fate of mutual existence in the environment. **Environmental Pollution**, v.221, p. 1-14, 2017.

RIVAS, F. J.; BELTRÁN, F. J.; ENCINAS, A. Removal of emergent contaminants: Integration of ozone and photocatalysis. **Journal of Environmental Management**, v.100, p. 10-15, 2012.

RIZZETTI, T. M. et al. Optimization of sample preparation by central composite design for multi-class determination of veterinary drugs in bovine muscle, kidney and liver by ultra-high-performance liquid chromatographic-tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v.246, p. 404-413, 2018.

SANGION, A.; GRAMATICA, P. PBT assessment and prioritization of contaminants of emerging concern : Pharmaceuticals. **Environmental Research**, v.147, p. 297-306, 2016.

SANTANA, T. C. et al. Ocorrência de duas bocas em *Astyanax bimaculatus* (Characiformes, Characidae), do açude Pereira de Miranda, Pentecoste, estado do Ceará, Brasil. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 5, n.1, p. i-v, 2017.

SEHONOVA, P. et al. Toxicity of naproxen sodium and its mixture with tramadol hydrochloride on fish early life stages. **Chemosphere**, v.188, p. 414-423, 2017.

SILVA, C. G. A. da; COLLINS, C. H. Applications of High Performance Liquid Chromatography For The Study of Emerging Organic Pollutants. **Química Nova**, v.34, n.4, p. 665-676, 2011.

SIM, W. J.; LEE, J. W.; OH, J. E. Occurrence and fate of pharmaceuticals in wastewater treatment plants and rivers in Korea. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1938-1947, 2010.

UNITED STATES GEOLOGICAL SURVEY (USGS). **Contaminants of Emerging Concern in the Environment**. Disponível em: <<http://toxics.usgs.gov/regional/emc/index.html>>. Acesso em: 28 ago. 2018.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. **Environmental Toxicology Pharmacology**, v.13, n.2, p. 57-149, 2003.

VANNINI, C. et al. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs on unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Aquatic Toxicology**, v.101, p. 459-465, 2011.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias, v.1. 4ª Ed. DESA, UFMG, 452 p., 2014.

ZIMMERMANN, S. G. et al. Kinetic assessment and modeling of an ozonation step for full scale municipal wastewater treatment: Micropollutant oxidation, by-product formation and disinfection. **Water Research**, v.45, n.2, p. 605-617, 2011.