



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

**BETA-BLOQUEADORES EM EFLUENTE
HOSPITALAR: OCORRÊNCIA, DEGRADAÇÃO POR
PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E
IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS**

TESE DE DOUTORADO

Marcelo Luís Wilde

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

**BETA-BLOQUEADORES EM EFLUENTE HOSPITALAR:
OCORRÊNCIA, DEGRADAÇÃO POR PROCESSOS
AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE
SUBPRODUTOS**

Marcelo Luís Wilde

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

Orientador: Prof.Tit.Dr. Ayrton Figueiredo Martins

Santa Maria, RS, Brasil

2011

W671b Wilde, Marcelo Luís

Beta-bloqueadores em efluente hospitalar: ocorrência, degradação por processos avançados de oxidação e identificação de subprodutos/ por Marcelo Luís Wilde. – 2011.
282 p.: il. ; 31 cm

Orientador: Ayrton Figueiredo Martins.

Tese (doutorado). Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, RS, 2011

1. Química analítica 2. Cromatografia 3. Processos avançados de oxidação 4. β -bloqueadores 5. Efluente hospitalar 6. Ferrato de Potássio 7. Foto-Fenton 8. Ozonização 9. Produtos de degradação
I Martins, Ayrton Figueiredo II. Título.

CDU 543
544

Ficha catalográfica elaborada por Simone G. Maisonave. CRB 10/1733
Biblioteca Central da UFSM

© 2011

Todos os direitos autorais reservados a Marcelo Luís Wilde. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Doze, n. 2010, Bairro da Luz, Santa Maria, RS. CEP: 97110-680
Fone (0xx)55 32225678; Fax (0xx) 32251144; E-mail: ufesme@ct.ufsm.br

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

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

**BETA-BLOQUEADORES EM EFLUENTE HOSPITALAR:
OCORRÊNCIA, DEGRADAÇÃO POR PROCESSOS
AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE
SUBPRODUTOS**

elaborada por
Marcelo Luís Wilde

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Tit. Dr. Ayrton Figueiredo Martins
(Presidente/Orientador)

Carla Sirtori, Dr. (UNILA)

Ênio Leandro Machado, Dr. (UNISC)

Marcio Schwaab, Dr. (UFSM)

Rogério Marcos Dallago, Dr. (URI)

Santa Maria, 15 de Dezembro de 2011.

“Quanto mais um homem se aproxima de suas metas,
tanto mais crescem as dificuldades”.

Johann Wolfgang von Goethe

AGRADECIMENTOS

A Deus que, de uma forma ou de outra, abre caminhos para novas descobertas e escreve o nosso futuro.

A Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, e ao Deutsche Akademischer Austauschdienst – DAAD, financiadores desta Tese e, também, por permitir a experiência ímpar de um Doutorado Sanduíche na Alemanha.

Ao Prof. Tit. Dr. Ayrton F. Martins pela capacidade de nos estimular a enfrentar novos desafios dia após dia, proporcionando nosso crescimento profissional e intelectual; obrigado pela oportunidade e pelos incentivos.

Ao Prof. Klaus Kümmerer por me receber em seu grupo, pela orientação e estímulo, muito obrigado.

Aos professores Carla Sirtori, Ênio L. Machado, Marcio Schwaab e Rogério Dallago pela participação na banca examinadora e pelas valiosas sugestões.

Aos professores Daniel Arsand, Ênio L. Machado, Osmar D. Prestes e Vera Morsh pelas consideráveis sugestões prestadas no exame de qualificação.

Aos demais professores que direta ou diretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais, minhas irmãs, meu cunhado e ao meu sobrinho Pedro Augusto pelo estímulo e apoio incondicional e por fazerem da nossa família um verdadeiro lar, proporcionando refúgio nas horas difíceis, apoio e amor.

Aos amigos brasileiros que conheci durante o curso de Língua Alemã em Mannheim.

Aos colegas da Uni-klinikum Freiburg e aos demais companheiros de IUKUFO.

Aos colegas e ex-colegas do LATER pelo convívio, paciência e apoio durante a realização desta Tese.

Aos funcionários do PPGQ.

Aos demais familiares pelo apoio e apreço.

**Dedico esta Tese aos meus queridos pais Edson e Valéria,
as minhas irmãs Eliane e Elisandra,
ao meu cunhado José e
ao meu querido sobrinho Pedro Augusto.**

RESUMO

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

BETA-BLOQUEADORES EM EFLUENTE HOSPITALAR: OCORRÊNCIA, DEGRADAÇÃO POR PROCESSOS AVANÇADOS DE OXIDAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS

AUTOR: MARCELO LUÍS WILDE

ORIENTADOR: PROF. TIT. DR. AYRTON FIGUEIREDO MARTINS

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 15 de dezembro de 2011.

Os β -bloqueadores são uma importante classe de fármacos prescritos na terapia de doenças cardiovasculares e como consequência de seu grande e contínuo uso são comumente encontrados no meio ambiente.

O presente estudo avaliou preliminarmente o risco inerente dos β -bloqueadores mais usados no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), Atenolol, Metoprolol e Propranolol, evidenciando que Propranolol apresentou maior risco inerente com Quociente de Risco teórico de 0,56 (risco médio).

Métodos HPLC-FLD e de *clean-up*/pré-concentração por SPE foram desenvolvidos e otimizados com auxílio de Metodologia de Superfície de Resposta (RSM) para avaliar a ocorrência de β -bloqueadores no sistema de esgotos do HUSM. A concentração ambiental mensurada para Atenolol, Metoprolol e Propranolol durante um ciclo semanal no ponto de lançamento 'Efluente PA' foi 2,45; 4,67 e 0,70 $\mu\text{g L}^{-1}$, no ponto 'HUSM principal' 0,95; 0,70 e 0,32 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para o 'Córrego' onde os efluentes são lançados de 1,26; 1,27 e 0,56 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Como metodologia de remediação da contaminação de β -bloqueadores em Efluente Hospitalar (EH) foram investigados os Processos Avançados de Oxidação (PAOs) Foto-Fenton, K_2FeO_4 , Ozonização e $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$. Os parâmetros operacionais foram otimizados por RSM. Usando as condições otimizadas para o processo Foto-Fenton, Atenolol, Metoprolol e Propranolol foram totalmente degradados em 120 min de tratamento, contudo somente 26,5 e 38,6% da carga orgânica e aromaticidade, respectivamente, foram removidos em EH. A pronta biodegradabilidade e toxicidade para amostras aquosas do processo Foto-Fenton foram analisadas por métodos oficiais e indicaram aumento na biodegradabilidade e toxicidade. Este comportamento está relacionado à formação de Produtos de Degradação (PD) relativamente mais tóxicos. Os PDs foram identificados por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MSⁿ).

Outro processo proposto foi oxidação-coagulação com Fe(VI) que alcançou degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol acima de 90% em EH, enquanto apenas 17 e 60% da matéria orgânica e aromaticidade foram removidos, respectivamente. Em solução aquosa este processo conduziu a degradação de 71,7; 24,7 e 96,5% de Atenolol, Metoprolol e Propranolol, respectivamente. Nenhuma mineralização foi encontrada indicando a formação de PDs, identificados por LC-MSⁿ. A pronta biodegradabilidade para as amostras aquosas pós-processo foram avaliadas e os resultados encontrados mostraram que houve aumento na biodegradabilidade.

A aplicabilidade de ozonização foi avaliada variando o pH de 3-11 em EH e solução aquosa. Mais de 95% dos β -bloqueadores foram degradados independente do pH inicial, enquanto mais de 50% da aromaticidade e 30% da matéria orgânica foram. Em solução aquosa todos os β -bloqueadores foram degradados em menos de 10 min e para os processos em pH 5, 7 e 9 foram identificados os PDs. O processo de O_3/Fe^{2+} alcançou 49% de remoção de matéria orgânica, 77,9% de redução da aromaticidade e completa degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em EH.

Portanto, o presente estudo contribui com informação analítica qualificada sobre a ocorrência de β -bloqueadores em EH. Os processos de degradação estudados mostraram-se adequados para a degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol. Ademais, a maior remoção de matéria orgânica e aromaticidade foram observadas para o processo de O_3/Fe^{2+} .

Em muitos aspectos, este trabalho pode ser considerado original, em especial sobre a aplicação de ferrato(VI) e ozonização catalítica para a degradação de β -bloqueadores em EH.

Palavras-Chave: Processos Avançados de Oxidação, β -bloqueadores, Efluente Hospitalar, Ferrato de Potássio, Foto-Fenton, Ozonização, Produtos de Degradação.

ABSTRACT

Ph.D. Thesis
Chemistry Post-Graduation Program
Federal University of Santa Maria

BETA-BLOCKERS IN HOSPITAL WASTEWATER; OCCURENCE, DEGRADATION BY ADVANCED OXIDATION PROCESS AND BYPRODUCTS IDENTIFICATION

AUTHOR: MARCELO LUÍS WILDE
ADVISER: PROF.TIT.DR. AYRTON FIGUEIREDO MARTINS

β -Blockers are an important group of prescription drugs; as a consequence of the large and continuous use, they are commonly found in the environment.

This study assessed, preliminary, the inherent risk of the β -blockers Atenolol, Metoprolol and Propranolol, mostly used in the University Hospital of Santa Maria (HUSM), and showed that Propranolol has high Risk Quotient (RQ) of 0.56.

HPLC-FLD and SPE methodologies were developed and optimized with the aid of experimental design in order to analyze the occurrence of β -blockers in the HUSM sewage system. The average concentration for Atenolol, Metoprolol and Propranolol found for a week sampling were 2.45, 4.67 and 0.70 $\mu\text{g L}^{-1}$ in the sewage of the Emergence; 0.95, 0.70 and 0.315 $\mu\text{g L}^{-1}$ in the HUSM main sewage, and 1.26, 1.27 and 0.56 $\mu\text{g L}^{-1}$ in the water course receptor, respectively,

As possible remediation methodologies for the Hospital Wastewater (HWW) were investigated Advanced Oxidation Process (AOPs) such as photo-Fenton, K_2FeO_4 , Ozonation and $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$. The operational parameters were optimized by Response Surface Methodology (RSM). Using optimized conditions for photo-Fenton, Atenolol, Metoprolol and Propranolol were totally degraded in 5 min in aqueous solution, and the mineralization achieved 80% after 120 min of treatment. In HWW, the β -blockers were also totally degraded, however, only 26.5% of the organic matter and 38.6% of the aromaticity were removed. The ready biodegradability and toxicity of the photo-Fenton's samples were estimated by official methods, which indicated an increase in the biodegradability and toxicity. This behavior may be correlated to the formation of degradation products (DPs), relatively, more toxic. The DPs were identified with aid of Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry (LC-MSⁿ).

Other proposed degradation process was oxidation-coagulation using Fe(VI), which achieved above 90% degradation for Atenolol, Metoprolol and Propranolol in HWW, while only 17% COD and 60% aromaticity removal. In aqueous solution this process led to 71.7%, 24.7% and 96.5% degradation of Atenolol, Metoprolol and Propranolol, respectively. No mineralization was found, indicating the formation of DPs, identified by LC-MSⁿ. The ready biodegradability of the post-process samples was tested and the results showed that the oxidation-coagulation with Fe(VI) increased the biodegradability.

The applicability of ozonation was evaluated varying the pH (3-11) for HWW and aqueous solution. More than 95% of the β -blockers were degraded independently of the initial pH, while above 50% of the aromaticity was removed. In aqueous solution the β -blockers were degraded in 10 min treatment and the identification of the DPs were carried out for process pH 5, 7 and 9. Catalytic ozonation ($\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$) was applied to HWW and a mineralization of 49% was achieved, with 77.9% aromaticity removal. The β -blockers were totally degraded.

Therefore, the present study represents a high qualified analytical information contribution concerning the occurrence of β -blockers in HWW. The studied AOPs/Fe(VI) processes demonstrated to be suitable to degrade Atenolol, Metoprolol and Propranolol. Moreover, high removal of organic matter and aromaticity were achieved by applying O_3/Fe^{2+} process.

In many aspects, this work can be considered original, in especial, by regarding the application of Ferrate(VI) and Catalytic Ozonation to the degradation of β -blockers in HWW.

Keywords: Advanced Oxidation Processes, β -blockers, Hospital Wastewater, Potassium Ferrate, photo-Fenton, Ozonation, Degradation Products.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	XVI
LISTA DE FIGURAS	XVIII
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	XXVI
<i>Estruturação da tese</i>	XXX
1 Introdução	1
2 Objetivos	3
3 Fármacos no meio ambiente	4
3.1 Possível destino de fármacos no meio ambiente	4
3.2 Efeitos no meio ambiente	5
3.3 β -bloqueadores	6
3.3.1 Propriedades físico-químicas de β -bloqueadores	9
3.4 Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) no contexto de Efluentes Hospitalares	11
4 Avaliação de risco preliminar da exposição de β -bloqueadores no meio ambiente – caso HUSM	14
5 Cromatografia aplicada a análise ambiental de Fármacos e Produtos de Degradação	18
6. Otimização multivariada de método de separação e quantificação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por HPLC-FLD	20
6.1 Materiais e Métodos	21
6.1.1 Reagentes e instrumentação	21
6.1.2 Preparo de soluções estoque e de trabalho	21
6.1.3 Planejamento experimental	21
6.2 Resultados e Discussão	23
6.2.1 Otimização da separação por Box-Behnken Design	24
6.2.2 Otimização	27
6.2.3 Validação	29
7 Otimização de extração em fase sólida (SPE) de β -bloqueadores em efluente hospitalar por Metodologia de Superfície de Resposta	30
7.1 Materiais e Métodos	31
7.1.1 Materiais e reagentes	31
7.1.2 Preparo das soluções padrão e procedimento para SPE	31
7.1.3 Condições cromatográficas	32
7.1.4 Metodologia de Superfície de Resposta (RSM)	32
7.1.5 Estimativa do Volume de Saturação (<i>breakthrough</i>)	34
7.2 Resultados e Discussão	34
7.2.1 Extração em fase sólida (SPE)	34

7.2.2 Superfície de Resposta para a Extração em Fase Sólida (SPE) de Atenolol, Metoprolol e Propranolol	37
7.2.3 Efeito do pH sobre a Amostra	42
7.2.4 Efeito do pH sobre o condicionamento e lavagem	43
7.2.5 Efeito da percentagem de CH ₃ OH.....	43
7.2.6 Efeito de matriz	44
7.2.7 Estimativa do Volume de Saturação (<i>breakthrough</i>)	46
8 Exposição ambiental e avaliação de risco de β-bloqueadores lançados pelo HUSM	48
9 Processos Avançados de Oxidação (PAOs) aplicados à degradação de fármacos.....	52
10 Reagente Fenton	53
10.1 Foto-Fenton	54
10.2 Degradação de β-bloqueadores Atenolol, Metoprolol e Propranolol por processo Foto-Fenton	54
10.2.1 Materiais e Métodos	55
10.2.1.1 Materiais e reagentes	55
10.2.1.2 Processo Foto-Fenton em solução aquosa	55
10.2.1.3 Processo Foto-Fenton em efluente hospitalar.....	56
10.2.1.4 Determinação de H ₂ O ₂ residual e Fe ²⁺	56
10.2.1.5 Determinação de Carbono Orgânico Total (COT)	57
10.2.1.6 Análises Cromatográficas por HPLC e LC-MS-MS	57
10.2.1.7 Avaliação da biodegradabilidade do PDs de Propranolol por Closed Bottle Test (OECD 301 D).....	58
10.2.1.8 Teste de Toxicidade com <i>Vibrio fischeri</i>	60
10.3.1 Resultados e Discussão.....	62
10.3.1.1 Análise das variáveis de processo sobre a degradação dos β-bloqueadores... 62	
10.3.1.2 Otimização das variáveis de processo	66
10.3.1.3 Efeito do pH	67
10.3.1.4 Efeito da [Fe ²⁺]	68
10.3.1.5 Efeito da [H ₂ O ₂]	70
10.3.1.6 Efeito da Temperatura	71
10.3.1.7 Cinética de degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol nas condições otimizadas.....	72
10.3.2 Elucidação Estrutural dos Produtos de Degradação (PDs) de Propranolol por LC-MS ⁿ	76
10.3.3 Avaliação da biodegradabilidade do PDs de Propranolol	84
10.3.4 Teste de Toxicidade com <i>Vibrio fischeri</i>	89
10.3.5 Elucidação Estrutural dos PDs de PRO para o processo de UV/H ₂ O ₂ por LC-MS ⁿ	97

10.3.6 Elucidação Estrutural dos PDs de PRO parao processo de UV/Fe ²⁺ por LC-MS ⁿ	101
10.3.7 Elucidação Estrutural dos PDs de Atenolol nas condições otimizadas para Foto-Fenton por LC-MS ⁿ	104
10.3.9 Aplicação das condições otimizadas para a degradação em Efluente Hospitalar	117
11 Degradação de β -bloqueadores Atenolol, Metoprolol e Propranolol por oxidação-coagulação com K ₂ FeO ₄	121
11.1 Materiais e Métodos	123
11.1.1 Materiais e reagentes	123
11.1.2 Oxidação-coagulação de β -bloqueadores com Fe(VI) em Efluente Hospitalar	123
11.1.3 Planejamento de experimentos	123
11.1.4 Oxidação-coagulação de β -bloqueadores com Fe ^(VI) em solução aquosa	124
11.1.5 Análises de DQO, UV ₂₄₅ , COD, HPLC e LC-MS ⁿ	125
11.1.6 Avaliação da biodegradabilidade dos PDs por CBT	125
11.2 Resultados e Discussão	125
11.2.1 Caracterização de K ₂ FeO ₄	125
11.2.2 Degradação de β -bloqueadores e DQO	126
11.2.3 Ajuste do modelo e análise estatística	127
11.2.4 Efeito das variáveis de Processo	129
11.2.5 Oxidação-coagulação de β -bloqueadores com Fe(VI) em solução aquosa	134
11.2.6 Elucidação estrutural dos PDs de Atenolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)	137
11.2.6.1 Caminho de degradação de Atenolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)	148
11.2.7 Elucidação estrutural dos PDs de Metoprolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)	150
11.2.7.1 Caminho de degradação de Metoprolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)	155
11.2.8 Elucidação estrutural dos PDs de Propranolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)	157
11.2.8 Caminho de degradação de Propranolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)	164
11.2.9 Avaliação da biodegradabilidade do PDs de Atenolol, Metoprolol Propranolol	166
12 Ozonização e Ozonização catalítica aplicada à degradação de β -bloqueadores	170
12.1 Ozonização	170
12.2 Ozonização catalítica homogênea	172
12.3 Ozonização catalítica heterogênea	173
12.4 Materiais e Métodos	174
12.4.1 Materiais e reagentes	174

12.4.2	Otimização da geração de ozônio	174
12.4.3	Planejamento de experimentos	174
12.4.4	Ozonização e ozonização catalítica (O_3/Fe^{2+}) em Efluente Hospitalar	175
12.4.4.	Ozonização de β -bloqueadores em solução aquosa.....	175
12.4.5	Análises de DQO, Fe^{2+} e concentração por HPLC-FLD	176
12.4.6	Identificação dos Produtos de degradação por LC-MS ⁿ	176
12.5	Resultados e Discussão.....	177
12.5.1	Degradação de β -bloqueadores em Efluente Hospitalar por ozonização catalítica (O_3/Fe^{2+})	177
12.5.1.1	Ajuste do modelo e análise estatística	178
12.5.1.2	Análises das Superfícies de Resposta	180
12.5.2	Ozonização de β -bloqueadores	185
12.5.2.1	Constantes cinéticas de reação entre Atenolol, Metoprolol, Propranolol e O_3	189
12.5.2.2.	Elucidação Estrutural dos PDs de Atenolol por ozonização em pH 5, 7 e 9	191
12.5.2.2.1	Caminho de degradação de Atenolol por ozonização em pH 5, 7 e 9 ...	197
12.5.2.3	Elucidação Estrutural dos PDs de Metoprolol por ozonização em pH 5, 7 e 9	199
12.5.2.3.1	Caminho de degradação de Metoprolol por ozonização em pH 5, 7 e 9	201
12.5.2.4	Elucidação Estrutural dos PDs de Propranolol por ozonização em pH 5, 7 e 9	203
12.5.2.4.1	Caminho de degradação de Propranolol por ozonização em pH 5, 7 e 9	206
13	Comparação entre os diferentes processos estudados	209
14	Conclusões.....	211
15	Sugestões para futuros trabalhos	214
16	Referências	215
17	Apêndices	230

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores médios de β -bloqueadores encontrados em efluentes hospitalares (EH), efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETE) e águas superficiais (AS).	8
Tabela 2. Propriedades físico-químicas dos β -bloqueadores Atenolol, Metoprolol e Propranolol.....	9
Tabela 3. Parametros físico-químicos médios do Efluente lançado no PA do HUSM (n= 3 ou 4).	13
Tabela 4. Concentração ambiental predita (PEC) e o quociente de risco (QR) dos principais β -bloqueadores usados no HUSM.	16
Tabela 5. Variáveis Investigadas, níveis estudados e a resolução entre os picos da otimização por <i>Box-Behnken Design</i> da separação cromatográfica de ATE, MET e PRO por HPLC-FLD.	23
Tabela 6. Figuras de mérito para o método de HPLC-FLD otimizado.....	29
Tabela 7. Planejamento experimental para a otimização das variáveis de extração em fase sólida por metodologia de superfícies de resposta (RSM) para os β -bloqueadores estudados e as respectivas respostas.	35
Tabela 8. Potenciais de redução padrão em solução aquosa dos oxidantes mais comumente citados como agentes oxidantes para a degradação de contaminantes orgânicos.....	52
Tabela 9. Gradiente utilizado para a separação e identificação de PDs por LC-ESI-IT-MS ⁿ . 58	
Tabela 10. Planejamento por RSM para o processo Foto-Fenton e a remoção de Carbono Orgânico Dissolvido.	63
Tabela 11. Constante cinética de pseudo-primeira ordem (k_{obs}), $t_{1/2}$, t_{90} e ajuste do modelo da degradação de β -bloqueadores por Foto-Fenton.....	74
Tabela 12. Constante cinética de pseudo-primeira ordem ($k_{obs[H_2O_2]}$), $t_{1/2}$, t_{90} e ajuste do modelo para consumo da $[H_2O_2]$ no processo Foto-Fenton.....	75
Tabela 13. Produtos de degradação identificados por LC-MS ⁿ para o processo de degradação de PRO por UV/ H_2O_2	98
Tabela 14. Produtos de degradação identificados por LC-MS-MS para o processo de degradação de PRO por UV/ Fe^{2+}	102
Tabela 15. Constante cinética de pseudo-primeira ordem (k_{obs}), $t_{1/2}$, t_{90} e ajuste do modelo da degradação de β -bloqueadores por Foto-Fenton em EH.....	118
Tabela 16. Planejamento por RSM para o processo oxidação-coagulação com Fe(VI) para a degradação de ATE, MET e PRO e remoção de DQO e Aromaticidade (UV 254 nm) em EH	126
Tabela 17. Produtos de degradação de ATE identificados por LC-MS-MS para o processo de oxidação-coagulação com Fe(VI).	138
Tabela 18. Produtos de degradação de MET identificados por LC-MS ⁿ para o processo de oxidação-coagulação com Fe(VI).	151
Tabela 19. Produtos de degradação de PRO identificados por LC-MS ⁿ para o processo de oxidação-coagulação com Fe(VI).	158
Tabela 20. Planejamento por RSM para o processo oxidação catalítica com Fe^{2+} para a degradação de ATE, MET e PRO e remoção de DQO e Aromaticidade (UV ₂₅₄) em EH.....	177
Tabela 21. Sítios de ataque esperados para a reação entre Atenolol, Metoprolol e Propranolol e ozônio.....	187
Tabela 22. Produtos de degradação de ATE identificados por LC-MS ⁿ para o processo de oxidação em pH 5, 7, 9.....	191
Tabela 23. Produtos de degradação de MET identificados por LC-MS ⁿ para o processo de oxidação em pH 5, 7, 9.....	199

Tabela 24. Produtos de degradação de MET identificados por LC-MS ⁿ para o processo de ozonização em pH 5, 7 e 9.....	203
Tabela 25. Comparação entre os diferentes processos estudados para a degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em solução aquosa e Efluente Hospitalar.	209
Tabela 26. ANOVA dos efeitos principais para o modelo quadrático de <i>Box-Behnken Design</i> da $RS_{Ate-Met}$	232
Tabela 27. ANOVA dos efeitos principais para o modelo quadrático de <i>Box-Behnken Design</i> da $RS_{Met-Pro}$	232
Tabela 28. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da recuperação da extração de Atenolol por SPE.....	233
Tabela 29. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da recuperação da extração de Metoprolol por SPE.....	233
Tabela 30. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da recuperação da extração de Propranolol por SPE.....	233
Tabela 31. Características de operação do espectrômetro de massas (LC-ESI-IT-MS ⁿ).	234
Tabela 32. ANOVA para o modelo quadrático de Superfície de resposta para a mineralização de Propranolol.	235
Tabela 33. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Red_{DQO} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH.....	238
Tabela 34. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{ATE} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH.....	238
Tabela 35. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{MET} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH.....	238
Tabela 36. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{PRO} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH.....	238
Tabela 37. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Red_{UV254} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH.....	239
Tabela 38. Planejamento por RSM para a otimização da geração de ozônio.....	242
Tabela 39. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da otimização da geração de ozônio.....	244
Tabela 40. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Red_{DQO} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH.....	247
Tabela 41. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Red_{UV254} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH.....	247
Tabela 42. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{ATE} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH.....	247
Tabela 43. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{MET} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH.....	247
Tabela 44. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{PRO} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH.....	248

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Possíveis rotas dos fármacos no meio ambiente.....	5
Figura 2. Distribuição das espécies de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol em função do pH.....	10
Figura 3. Representação esquemática de um sistema de fossa séptica (A) conjugada de filtro anaeróbio (B), adotado no tratamento de efluentes do HUSM.....	12
Figura 4. Esquema ilustrativo do sistema de esgotos do HUSM e os pontos de coleta de efluente.....	12
Figura 5. Distribuição geométrica cúbica dos pontos experimentais do modelo de planejamento experimental por <i>Box-Behnken Design</i> para 3 variáveis.....	22
Figura 6. Diagrama de Pareto para os efeitos estimados $RS_{Ate-Met}$ (A) e $RS_{Met-Pro}$ (B).	24
Figura 7. Superfície de Resposta para $RS_{Ate-Met}$. (A) pH vs Temperatura (°C), (B) pH vs Tampão (mmol L ⁻¹) e (C) Temperatura (°C) vs Tampão (mmol L ⁻¹).....	25
Figura 8. Superfície de Resposta para $RS_{Met-Pro}$. (A) pH vs Temperatura (°C), (B) pH vs Tampão (mmol L ⁻¹) e (C) Temperatura (°C) vs Tampão (mmol L ⁻¹).....	26
Figura 9. Perfis para os valores preditos e a função de desejabilidade para a (A) $RS_{Ate-Met}$ e (B) $RS_{Met-Pro}$ após otimização.	28
Figura 10. Procedimento geral de SPE adotado para clean-up e pré-concentração de ATE, MET e PRO.....	32
Figura 11. Distribuição geométrica cúbica dos pontos experimentais do modelo de planejamento experimental por Metodologia de Superfície de Resposta para 3 variáveis.....	33
Figura 12. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) para a extração em fase sólida (SPE) de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol.	36
Figura 13. Diagramas de Contorno relacionados a recuperação de Atenolol por SPE.....	37
Figura 14. Perfil das variáveis independentes pH da amostra, pH da água na etapa de condicionamento e lavagem e a percentagem de metanol na eluição relacionadas à desejabilidade da recuperação de Atenolol por SPE.....	38
Figura 15. Diagramas de Contorno relacionados recuperação de Metoprolol por SPE.	39
Figura 16. Perfil das variáveis independentes pH da amostra, pH da água no condicionamento e lavagem e a percentagem de metanol na eluição relacionadas à desejabilidade da recuperação de Metoprolol por SPE.	40
Figura 17. Diagramas de Contorno relacionados recuperação de Propranolol por SPE.....	41
Figura 18. Perfil das variáveis independentes pH da amostra, pH da água no condicionamento e lavagem e a percentagem de metanol na eluição relacionadas à desejabilidade da recuperação de Propranolol por SPE.	42
Figura 19. Cromatogramas do estudo de efeito de matriz sobre Atenolol, Metoprolol e Propranolol por SPE-HPLC-FLD.	45
Figura 20. Avaliação do volume de <i>breakthrough</i> em SPE de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em diferentes volumes.....	46
Figura 21. Concentrações ambientais medidas (MEC) dos β-bloqueadores lançados pelo HUSM.	49
Figura 22. Quociente de Risco (QR) para os β-bloqueadores lançado pelo HUSM.....	50
Figura 23. Esquema simplificado das reações Fenton e Foto-Fenton.	54
Figura 24. Foto-reator empregado no estudo de Foto-Fenton em solução aquosa.	55
Figura 25. Teste de pronta biodegradabilidade por <i>Closed Bottle Test</i> OECD 301 D.	59
Figura 26. Representação esquemática das microplacas utilizadas para teste de toxicidade com <i>V. fischeri</i>	62
Figura 27. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) da degradação de Propranolol por Foto-Fenton.....	64

Figura 28. Superfície de resposta para o modelo quadrático da redução de COD de Propranolol por Foto-Fenton	65
Figura 29. Perfil das variáveis independentes pH, $[Fe^{2+}]$, $[H_2O_2]$ e Temperatura relacionadas à função de desejabilidade na mineralização de Propranolol por Foto-Fenton	67
Figura 30. Especificação de Fe(III) em solução aquosa em função do pH a 25°C na ausência de H_2O_2	68
Figura 31. Acompanhamento da degradação de Propranolol para os Exp. 19 e 21	69
Figura 32. Acompanhamento do decaimento da concentração de Fe^{2+} durante o processo UV/ Fe^{2+} na degradação de Propranolol em solução aquosa.....	70
Figura 33. Acompanhamento do decaimento da concentração de H_2O_2 e Fe^{2+} durante o processo Foto-Fenton para Atenolol (A), Metoprolol (B) e Propranolol (C).....	71
Figura 34. Acompanhamento da degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por Foto-Fenton em solução aquosa.....	73
Figura 35. Acompanhamento do decaimento da $[H_2O_2]$ na degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por Foto-Fenton..	75
Figura 36. (A) Acompanhamento do decaimento de Carbono Orgânico Dissolvido (DOC) e (B) ajuste do modelo cinético para o decaimento de COD na degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por Foto-Fenton.	76
Figura 37. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação proposto para o Propranolol (m/z 260,0 MS^2).....	77
Figura 38. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Propranolol pelo processo Foto-Fenton em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS.	78
Figura 39. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 276.	79
Figura 40. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 292.	79
Figura 41. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 308.....	80
Figura 42. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 227.	81
Figura 43. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 134.	81
Figura 44. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 130.	82
Figura 45. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 116.	82
Figura 46. Acompanhamento da área(EIC) dos Produtos de Degradação por Full Scan (FS) obtidos durante o processo Foto-Fenton de Propranolol em solução aquosa.....	83
Figura 47. Caminho de degradação proposto para Propranolol em solução aquosa por processo Foto-Fenton.	84
Figura 48. DQO, DOC e AOS das amostras submetidas à CBT. Um experimento para cada tempo amostrado.	85
Figura 49. Biodegradação aeróbica por <i>Closed Bottle Test</i> (CBT) de (A) Propranolol, (B) Foto-Fenton após 1 min, (C) Foto-Fenton após 30 min.	86
Figura 50. DQO, DOC e AOS das amostras submetidas à CBT. Um experimento para cada tempo amostral.	87
Figura 51. Biodegradação aeróbica por <i>Closed Bottle Test</i> (CBT) de (A) Foto-Fenton após 15 min, (B) Foto-Fenton após 60 min, (C) Foto-Fenton após 120 min.....	88
Figura 52. (A) Evolução da luminescência para o teste de toxicidade de Propranolol durante o Processo Foto-Fenton (B) Inibição (%) da luminescência correspondente a toxicidade sobre <i>V.</i>	

<i>fischeri</i> durante 24 h de teste em solução aquosa de Propranolol durante processo Foto-Fenton.....	90
Figura 53. (A) Evolução da Absorbância (crescimento bacteriano) em função do tempo de teste de toxicidade de Propranolol durante o Processo Foto-Fenton (B) Inibição (%) da absorbância correspondente à toxicidade sobre <i>V. fischeri</i> durante 24 h de teste em solução aquosa de Propranolol durante processo Foto-Fenton.....	91
Figura 54. Inibição da luminescência e absorbância (%) correspondente à toxicidade aguda e crônica medida após 30 e 120 min de exposição à solução aquosa de Propranolol durante processo Foto-Fenton.....	92
Figura 55. (A) Inibição da absorbância e (B) Inibição da luminescência (%) correspondente à toxicidade sobre <i>V. fischeri</i> durante 24 h de teste em solução aquosa de Propranolol para o Exp. 19.....	93
Figura 56. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por <i>Full Scan</i> obtidos em solução aquosa para Propranolol no Exp. 19.....	94
Figura 57. (A) Inibição (%) da absorbância e (B) Inibição da luminescência correspondente à toxicidade sobre <i>V. fischeri</i> durante 24 h de teste em solução aquosa de Propranolol para o Exp.21.....	95
Figura 58. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por <i>Full Scan</i> obtidos em solução aquosa para Propranolol no Exp. 21.....	95
Figura 59. Inibição (%) da luminescência e absorbância correspondente à toxicidade aguda e crônica medida após 30 e 120 min de exposição à solução aquosa de Propranolol durante o (A) Exp. 19 e (B) Exp. 21.....	96
Figura 60. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Propranolol pelo Exp. 19 em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS.....	97
Figura 61. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 294.....	99
Figura 62. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 282.....	99
Figura 63. Mecanismo proposto para a formação do PD 282 via radical hidroxila.....	100
Figura 64. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 266.....	100
Figura 65. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 254.....	101
Figura 66. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Propranolol pelo Exp. 21 em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS.....	101
Figura 67. Caminho de degradação proposto para Propranolol em solução aquosa por processo UV/H ₂ O ₂ e UV/Fe ²⁺	103
Figura 68. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ⁿ e caminho de fragmentação proposto para o Atenolol. (A) Atenolol m/z 267 MS ² , (B) m/z 267 → 225 MS ³ e (C) m/z 267 → 190 MS ³	105
Figura 69. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Atenolol pelo processo Foto-Fenton em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS.....	106
Figura 70. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 283.....	106
Figura 71. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 236.....	107
Figura 72. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 232.....	107
Figura 73. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o (A) PD 220 e (B) PD 208.....	108

Figura 74. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 172.....	109
Figura 75. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o (A) PD 150 e (B) PD 148.....	109
Figura 76. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por <i>Full Scan</i> obtidos em solução aquosa para Atenolol no Exp. 21.....	110
Figura 77. Caminho de degradação proposto para Atenolol em solução aquosa por processo Foto-Fenton.....	111
Figura 78. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ⁿ e caminho de fragmentação proposto para o Metoprolol. (A) Metoprolol m/z 268,0 MS ² , (B) m/z 268 → 191,0 MS ³ e (C) m/z 268 → 159,0 MS ³	112
Figura 79. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Metoprolol pelo processo Foto-Fenton em solução aquosa (água ultra pura) por LC-MS.....	113
Figura 80. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 284.....	114
Figura 81. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 282.....	114
Figura 82. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 254.....	115
Figura 83. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 238.....	115
Figura 84. Caminho de degradação proposto para Metoprolol em solução aquosa por processo Foto-Fenton.....	116
Figura 85. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por <i>Full Scan</i> obtidos em solução aquosa para Metoprolol no Exp. 21.....	117
Figura 86. Acompanhamentos dos parâmetros avaliados na degradação de ATE, MET e PRO em EH por Foto-Fenton.....	118
Figura 87. Acompanhamento do decaimento da concentração de H ₂ O ₂ e Fe ²⁺ durante o processo Foto-Fenton aplicado em EH.....	119
Figura 88. Especificação de Fe(VI) em função do pH baseado no equilíbrio das espécies dissolvidas.....	122
Figura 89. Distribuição geométrica dos pontos experimentais do modelo de planejamento experimental por Metodologia de Superfícies de Resposta (CCD) para 2 variáveis.....	124
Figura 90. Difração de raios-X (XRD) de K ₂ FeO ₄ sintetizado por via úmida.....	126
Figura 91. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) para a oxidação-coagulação com Fe(VI).....	128
Figura 92. Diagramas de Contorno para a oxidação-coagulação de EH com Fe(VI).....	130
Figura 93. Remoção da DQO em EH por oxidação-coagulação com Fe(VI).....	132
Figura 94. Degradação de β-bloqueadores (■) Atenolol, (●) Metoprolol e (▲) Propranolol em EH por oxidação-coagulação com Fe(VI).....	133
Figura 95. Evolução do pH durante o processo de oxidação-coagulação de EH com Fe(VI).....	134
Figura 96. Degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por oxidação-coagulação de com Fe(VI) em solução aquosa. (A) [BB]:[Fe(VI)] 1:1 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ e (B) [BB]:[Fe(VI)] 1:10 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹	135
Figura 97. Evolução do pH durante o processo de oxidação-coagulação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em solução aquosa com Fe(VI). (A) [BB]:[Fe(VI)] 1:1 mol L ⁻¹ , (B) [BB]:[Fe(VI)] 1:10 mol L ⁻¹	136

Figura 98. Acompanhamento de NPOC de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em solução aquosa por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) [BB]:[Fe(VI)] 1:1 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ e (B) [BB]:[Fe(VI)] 1:10 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹	137
Figura 99. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Atenolol pelo processo oxidação-coagulação com Fe(VI) em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS.....	138
Figura 100. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 327. (A) MS ² de m/z 297,2 e (B) m/z 327,2 → 236,9 MS ³	140
Figura 101. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 225.....	141
Figura 102. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 210.....	142
Figura 103. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 419. (A) MS ² de m/z 419,0 e (B) m/z 419,0 → 209,9 MS ³	143
Figura 104. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 208.....	144
Figura 105. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 194. (A) MS ² de m/z 194,0 e (B) m/z 194,0 → 175,9 MS ³	145
Figura 106. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 387. (A) MS ² de m/z 387,0, (B) m/z 387,0 → 193,9 MS ³	146
Figura 107. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 182.....	147
Figura 108. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por <i>Full Scan</i> obtidos em solução aquosa para a degradação de Atenolol por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A)[ATE]:[Fe(VI)] 1:1 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ , (B) [ATE]:[Fe(VI)] 1:10 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹	148
Figura 109. Caminho de degradação proposto para Atenolol em solução aquosa por oxidação-coagulação com Fe(VI) para as duas razões estudadas 1:1 e 1:10 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ [ATE]:[Fe(VI)], respectivamente.	149
Figura 110. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Metoprolol pelo processo oxidação-coagulação com Fe(VI) em solução aquosa (água ultra pura) por LC-MS.....	150
Figura 111. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por <i>Full Scan</i> obtidos em solução aquosa para a degradação de Metoprolol por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) [MET]:[Fe(VI)] 1:1 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ , (B) [MET]:[Fe(VI)] 1:10 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹	151
Figura 112. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 284 encontrado para o processo conduzido na razão 1:10 [MET]:[Fe(VI)].	152
Figura 113. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 239.....	153
Figura 114. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 226.....	154
Figura 115. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 195.....	154
Figura 116. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 175.....	155
Figura 117. Caminho de degradação proposto para Metoprolol em solução aquosa por oxidação-coagulação com Fe(VI) para as duas razões estudadas 1:1 e 1:10 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ [MET]:[Fe(VI)], respectivamente.	156
Figura 118. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Propranolol pelo processo oxidação-coagulação com Fe(VI) em solução aquosa (água ultra pura) por LC-MS.....	158

Figura 119. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por <i>Full Scan</i> obtidos em solução aquosa para a degradação de Propranolol por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) [PRO]:[Fe(VI)] 1:1 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ , (B) [PRO]:[Fe(VI)] 1:10 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ .	159
Figura 120. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 296.	160
Figura 121. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 308.	161
Figura 122. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 310.	161
Figura 123. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 326.	162
Figura 124. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 340.	163
Figura 125. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminho de fragmentação para o PD 268.	163
Figura 126. Caminho de degradação proposto para Propranolol em solução aquosa por oxidação-coagulação com Fe(VI) para as duas razões estudadas 1:1 e 1:10 mol L ⁻¹ :mol L ⁻¹ [PRO]:[Fe(VI)], respectivamente.	165
Figura 127. Biodegradação aeróbica por <i>Closed Bottle Test</i> (CBT) de (A) Atenolol, (B) Pós-Tratamento (120 min) por oxidação-coagulação com Fe(VI).	167
Figura 128. Biodegradação aeróbica por <i>Closed Bottle Test</i> (CBT) de (A) Metoprolol, (B) Pós-Tratamento (120 min) por oxidação-coagulação com Fe(VI).	168
Figura 129. Biodegradação aeróbica por <i>Closed Bottle Test</i> (CBT) de (A) Propranolol, (B) Pós-Tratamento (120 min) por oxidação-coagulação com Fe(VI).	169
Figura 130. Mecanismo combinado da ozonização direta e indireta.	172
Figura 131. Sistema de tratamento utilizado nos processos de ozonização e ozonização catalítica.	176
Figura 132. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) para a ozonização catalítica com Fe ²⁺ .	179
Figura 133. Diagrama de Contorno para a ozonização catalítica de EH com Fe ²⁺ .	181
Figura 134. Evolução do pH durante o processo de ozonização catalítica de EH com Fe ²⁺ .	182
Figura 135. Acompanhamento do decaimento da concentração de Fe ²⁺ durante o processo O ₃ /Fe ²⁺ na degradação de EH.	183
Figura 136. Degradação de β-bloqueadores (■) Atenolol, (●) Metoprolol e (▲) Propranolol em EH por O ₃ /Fe ²⁺ .	184
Figura 137. Acompanhamento da degradação de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol por ozonização para diferentes pH iniciais em solução aquosa.	186
Figura 138. Acompanhamento da degradação de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol por ozonização para diferentes pH iniciais em EH.	187
Figura 139. Acompanhamento da (A) redução da DQO, da (B) redução da aromaticidade e (C) correlação entre redução de DQO e redução da aromaticidade na degradação de EH por ozonização em diferentes pH iniciais.	188
Figura 140. Evolução do pH durante o processo de ozonização de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em EH.	189
Figura 141. Constantes cinética de pseudo-primeira ordem (k _{obs}) para a degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em (A) solução aquosa e (B) efluente hospitalar em função do pH.	191
Figura 142. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 301.	192

Figura 143. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 281.....	192
Figura 144. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 279.....	193
Figura 145. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 239.....	194
Figura 146. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 218.....	194
Figura 147. Mecanismo proposto para a formação dos PD 301, 218 e 191 por ozonólise em solução aquosa.....	195
Figura 148. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 208.....	195
Figura 149. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 195.....	196
Figura 150. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 191.....	196
Figura 151. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 114.....	197
Figura 152. Caminho de degradação proposto para Atenolol em solução aquosa por processo ozonização em pH 5, 7 e 9.....	197
Figura 153. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 300.....	200
Figura 154. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 236.....	200
Figura 155. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 216.....	201
Figura 156. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 102.....	201
Figura 157. Caminho de degradação proposto para Metoprolol em solução aquosa por processo ozonização em pH 5, 7 e 9.....	202
Figura 158. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 312.....	204
Figura 159. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 286.....	204
Figura 160. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 284.....	205
Figura 161. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 272.....	205
Figura 162. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ² e caminhos de fragmentação para o PD 268.....	206
Figura 163. Caminho de degradação proposto para Propranolol em solução aquosa por processo ozonização em pH 5, 7 e 9.....	207
Figura 164. Diagramas de Contorno da comparação sobre o efeito do solvente sobre a fluorescência dos β-bloqueadores.....	231
Figura 165. Cromatograma Total de Íons (TIC) de solução padrão de 10 mg L ⁻¹ de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol. (D) Branco (Água ultra pura).....	234
Figura 166. Perfil dos valores experimentais observados vs os valores preditos pelo modelo proposto para a degradação de Propranolol por Foto-Fenton.....	235
Figura 167. Espectro obtido por ESI(+)-MS ² , estruturas propostas e caminhos de fragmentação para o PD 218.....	236

Figura 168. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO em Efluente Hospitalar por processo Foto-Fenton.	237
Figura 169. Perfil dos valores experimentais observados vs os valores preditos pelo modelo proposto para a oxidação-coagulação com Fe(VI).	239
Figura 170. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO em Efluente Hospitalar por processo de oxidação-coagulação com Fe(VI).	240
Figura 171. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS ⁿ para o Produto de Degradação PD 297 de Metoprolol por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) MS ² da m/z 297,2, (B) m/z 297,2 → 144,0 MS ³	241
Figura 172. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) para a geração de ozônio.	243
Figura 173. Superfície de Resposta para a geração de ozônio.	245
Figura 174. Perfil das variáveis independentes Tensão (%) e Fluxo de ar (L min ⁻¹) para a função de desejabilidade da geração de O ₃	246
Figura 175. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO em Efluente Hospitalar por processo de O ₃ /Fe ²⁺	249
Figura 176. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO em Efluente Hospitalar por processo de O ₃	250

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

λ_{Em} : Comprimento de onda de Emissão

λ_{Ex} : Comprimento de onda de Excitação

[ATE]: Concentração de Atenolol

[MET]: Concentração de Metoprolol

[PRO]: Concentração de Propranolol

®: Marca Registrada

A: Área

ANOVA: Análise de Variância, do inglês *Analysis of Variance*

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APCI: Ionização Química à Pressão Atmosférica, do inglês *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*

AS: Água Superficial

ATE: Atenolol

BBD: Planejamento Box-Behnken, do inglês *Box-Behnken Design*

cap⁻¹: *per capita*

CBT: Teste em Frascos Fechados, do inglês *Closed Bottle Test*

CCD: Planejamento Composto com Delineamento Central, do inglês *Central Composite Design*

CFU: Unidades Formadoras de Colônia, do inglês *Colony Formation Unity's*

CID: Dissociação Induzida por Colisão, do inglês *Collision Induced Dissociation*

COD: Carbono Orgânico Dissolvido

COT: Carbono Orgânico Total

Da: Dalton

DAD: Detector de Arranjo de Diodos, do inglês *Diode Array Detector*

DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio

DCCR: Planejamento Composto Central Rotacional, do inglês *Delineated Central Composite Design*

df: Graus de Liberdade, do inglês *Degrees of Freedom*

DQO: Demanda Química de Oxigênio

EDOGs: Geradores de Ozônio por Descarga Elétrica, do inglês *Electrical Discharge Ozone Generators*

EH: Efluente Hospitalar

EIC: Cromatograma de íon extraído, do inglês *Extracted Ion Chromatogram*

EMEA: Agência Europeia de Avaliação de Medicamentos (EMEA, do inglês *European Medicines Evaluation Agency*)

ERM: Grupamento Rico em Elétrons, do inglês *Electron Rich Moiety*

ESI: Ionização por eletrospray, do inglês *Electrospray Ionization*

ETA: Estação de Tratamento de Águas

ETE: Estação de Tratamento de Efluentes

ETEI: Estação de Tratamento de Efluentes Industriais

Ev: Elétron volt

F: Teste de Fischer

FS: *Full Scan*

HPLC-FLD: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fluorescência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detector*

HUSM: Hospital Universitário de Santa Maria

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IP: Íon Precursor

IT: Armadilha de Íons, do inglês *Ion Trap*

IT-MS: Detectores de Massas com Armadilha de Íons, do inglês *Ion Trap Mass Detector*

K_d : Coeficiente de Adsorção

k_{obs} : Constante Cinética Observada

L: Linear

L+ Q: Linear e Quadrática

LC₅₀: Concentração Letal, 50%, do inglês *Lethal Concentration, 50%*

LC-MS: Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas, do inglês *Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry*

LMWOA: Ácidos Orgânicos de Baixo Peso Molecular, do inglês *Low Molecular Weight Organic Acids*

LOD: Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*

LOEC: Menor Concentração Observada com Efeito, do inglês *Lowest-Observed-Effects Concentration*

Log D_{lipw} : Coeficiente de Partição Lipossoma-Água

log K_{ow} : Coeficiente de Partição Octanol-Água
LOQ: Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*
m/z: Relação massa/carga
ME: Efeito de Matriz, do inglês *Matrix Effect*
MEC: Concentração Ambiental Mensurada, do inglês *Measured Environment Concentration*
MET: Metoprolol
MRM: Monitoramento de Reações Múltiplas, do inglês *Multiple Reaction Monitoring*
MS: Média Quadrática, do inglês *Medium Square*
NF: Não Fragmentado
NI: Não Identificado
NLS: Espectro de Perda Neutra Constante, do inglês *Neutral Loss Scan*
NOEC: Concentração de Efeito Não Observado, do inglês *No-Observed-Effects Concentration*
NPOC: Carbono Orgânico Não-Purgeável, do inglês *Non-Purgeable Organic Carbon*
 \varnothing : diâmetro
OD: Oxigênio Dissolvido
OECD: Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento, do inglês *Organisation for Economic Co-operation and Development*
p: Probabilidade
PA-HUSM: Pronto Atendimento do Hospital Universitário de Santa Maria
PAOs: Processos Avançados de Oxidação
PD: Produtos de Degradação
PEC: Predição da Concentração Ambiental, do inglês *Predicted Environmental Concentration*
PIS: Espectro de Íon Precursor, do inglês *Precursor Ion Scan*
pKa: Constante de Acidez
PNEC: Concentração Predita que Não Causa Efeito, do inglês *Predict No-Effect Environment Concentration*
PRO: Propranolol
Q: Quadrática
Q-MS: Detector de Massas Quadrupolo
QqQ-MS: Detector de Massas Triplo Quadrupolo
QR: Quociente de Risco
 R^2 : Coeficiente de Regressão
Rec: Recuperação

R_g: Resposta Global

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

R_s: Resolução Cromatográfica

RSD: Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

RSM: Metodologia de Superfície de Resposta, do inglês *Response Surface Methodology*

SPE: Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Extraction*

SS: Soma Quadrática, do inglês *Some of Squares*

T: Temperatura

t_{1/2}: Tempo de Meia Vida

ThOD: Demanda Teórica de Oxigênio, do inglês *Theoretical Oxygen Demand*

TIC: Cromatograma Total de Íons, do inglês *Total Ion Chromatogram*

t_R: tempo de retenção

uma: unidades de massa atômica

UV: Ultravioleta

w: Largura da Base do Pico

w_{1/2}: Largura do Pico a Meia Altura.

XRD: Difração de Raios-X, do inglês *X-ray Diffraction*

Estruturação da tese

A tese está estruturada em capítulos temáticos com diferentes seções, onde cada seção terá uma breve introdução/revisão bibliográfica específica para cada assunto estudado, seguida da descrição de materiais e metodologia analítica utilizada, posteriormente serão apresentados e discutidos os resultados. Foi feita também a comparação e avaliação de custos entre os processos aplicados seguida, por fim, de conclusão conjunta dos resultados alcançados.

A primeira parte foi destinada a avaliação de risco preliminar da exposição ambiental dos β -bloqueadores mais usados no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM).

Uma vez avaliado o risco foi desenvolvido e otimizado, multivariadamente, metodologia de determinação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fluorescência e de extração em fase sólida e (SPE-HPLC-FLD) com vias a avaliar a exposição ambiental dos β -bloqueadores em diferentes pontos de amostragem do sistema de esgotos lançados pelo HUSM.

Após verificar a ocorrência de β -bloqueadores lançados pelo HUSM foram então propostos e estudados Processos Avançados de Oxidação (PAOs) foto-Fenton, K_2FeO_4 , ozonização e O_3/Fe^{2+} aplicados à degradação de β -bloqueadores em efluente hospitalar, utilizando métodos multivariados para avaliar os efeitos das variáveis operacionais estudadas. Adicionalmente, foram identificados e elucidados produtos de degradação por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS) resultantes destes processos em solução aquosa e, deste modo, caminhos de degradação foram propostos.

1 Introdução

Fármacos e seus metabólitos constituem classe emergente de contaminantes ambientais, pois os grupos de fármacos mais comumente prescritos (antibióticos, hormônios, meios de contraste, anti-inflamatórios, analgésicos, drogas psiquiátricas, antilipêmicos, anticonvulsivantes, β -bloqueadores entre outros) são utilizados em larga escala e atingem cursos d'água na sua forma metabolizada ou *in natura* (Khetan & Collins, 2007; Gibs et al., 2007; Kümmerer, 2009c).

Por sua persistência em águas de superfície, os fármacos podem ser considerados como de grande potencial poluidor. Apesar da diluição, muitas vezes levada a níveis não detectáveis, sem adequada pré-concentração, nada garante que determinadas espécies não sejam bioacumuladas (Kümmerer, 2001).

Embora ainda não tenha sido conclusivamente determinado se os níveis de concentração dos fármacos encontrados em águas superficiais oferecem risco à saúde humana. O seu poder de ação e o seu potencial de difusão ao meio ambiente geram preocupação e interesse em sua determinação residual no meio aquático e no ambiente, além disso, a possibilidade de causar resistência bacteriana, em especial para antibióticos, mesmo em baixas concentrações tornam os fármacos importantes objetos de pesquisa (Kümmerer, 2009b; Kümmerer, 2009c).

De modo geral, fármacos são excretados através da urina e das fezes como mistura complexa do próprio composto inalterado e seus metabólitos, tendo como destino principal à rede de esgotos (Khetan & Collins, 2007; Kümmerer, 2009a). O fato de seu lançamento no ambiente sobrepôr a sua taxa de remoção torna esses compostos pseudo-persistentes (Hernando et al., 2006).

Ademais, devido a suas propriedades químicas, com diferentes funcionalidades e propriedades biológicas, fármacos podem manter-se inalterados pelo tempo necessário a sua finalidade terapêutica. Sob contínua administração, eles permanecem no ambiente por período considerável de tempo, com características de ubiquidade, isto é, podem causar efeitos tanto para organismos aquáticos quanto a humanos (Bendz et al., 2005), resultando em exposição crônica para os organismos aquáticos (Escher et al., 2010).

Resíduos de fármacos que não forem completamente removidos em Estação de Tratamento de Efluentes (ETE), ou equivalente, entram no ambiente aquático provocando efeitos até o presente momento pouco conhecidos. Estudos demonstram que várias substâncias parecem ser persistentes no meio ambiente e não são completamente removidas,

mesmo em ETEs (Ternes, 1998; Stumpf et al., 1999; Ternes & Hirsch, 2000; Kümmerer, 2009b). Sendo assim, muitos fármacos residuais resistem a vários processos convencionais de tratamento de esgotos e têm sido detectados não só em ETEs, mas também em águas de superfície, subterrâneas e em água potável (Hernando et al., 2006; Gibs et al., 2007).

Os β -bloqueadores são um dos principais grupos de drogas prescritas para doenças cardiovasculares e de largo uso não somente em hospitais, mas também domesticamente. Deste modo, essa classe de fármaco tem sido mensurada em efluentes hospitalares, efluentes municipais e em águas superficiais e subterrâneas (Gros et al., 2008; Hernando et al., 2007; Lee et al., 2007; Maurer et al., 2007). Estudos de degradação em ETEs mostram que essa classe é apenas parcialmente degradada, devido à biopersistência deste tipo de composto químico (Maurer et al., 2007). Deste modo torna-se evidente a necessidade de estudo dessa classe de fármacos e a proposição de metodologias de remediação desse potencial contaminante.

O Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) é a mais importante instituição de saúde da região centro do estado do Rio Grande do Sul, abrangendo aproximadamente 112 cidades com população de cerca de 3 milhões de pessoas. O tratamento das águas servidas, geradas pelo hospital, é feito através de um sistema doméstico dotado de fossa séptica e filtro anaeróbio, sendo o resíduo descartado em córrego que corta o campus da UFSM (Martins et al., 2008). Nos últimos anos, o atendimento do HUSM foi intensificado; porém, nenhuma medida foi tomada no sentido de adequar-se a rede de esgotos à nova demanda e problemática da contaminação pelo lançamento fármacos.

Metodologias convencionais, baseadas em biodegradação (lodo ativado, lagoas de maturação, lagoas aeradas, lagoas anaeróbicas, reatores anaeróbios, filtros anaeróbicos, etc.) e tratamento físico-químico (coagulação-sedimentação, flotação, adsorção, etc.) falham na total remoção deste tipo de contaminante (Joss et al., 2006). Deste modo, surgem como alternativa os Processos Avançados de Oxidação (PAOs), que baseiam-se na geração da espécie radicalar $\text{HO}\cdot$ de alto poder de oxidação. Esses processos têm sido amplamente investigados para degradação de fármacos (Sharma, 2008; Khetan & Collins, 2007; Melo et al., 2009; Esplugas et al., 2007), porém poucos estudos têm sido feitos sobre efluentes hospitalares e atenção deve ainda ser dada a não completa mineralização de fármacos e formação de produtos de degradação (Fatta-Kassinos et al., 2011).

2 Objetivos

Os principais objetivos do presente estudo foram avaliar e quantificar a presença de β -bloqueadores (Atenolol, Metoprolol e Propranolol) no efluente lançado pelo HUSM, propor sua degradação por tecnologias avançadas de oxidação e, também, avaliar o risco inerente da presença destes xenobióticos no efluente hospitalar.

Os objetivos específicos desta investigação foram:

- Desenvolver e otimizar metodologia analítica para determinação de β -bloqueadores por HPLC-FLD e LC-MSⁿ em solução aquosa e efluente hospitalar;
- Desenvolver, aprimorar e otimizar metodologia de *clean-up*/pré-concentração com o uso de Extração em Fase Sólida (SPE) para a determinação de β -bloqueadores em efluente hospitalar;
- Estudar a degradação de β -bloqueadores e o potencial de abatimento de carga contaminante por Processos Avançados de Oxidação em amostras sintéticas e em efluente hospitalar;
- Identificar os produtos primários de degradação formados durante os processos de degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por LC-MSⁿ;
- Utilizar ferramenta multivariada para planejamento, otimização e interpretação dos resultados obtidos;
- Avaliar a pronta biodegradabilidade dos produtos de degradação e dos processos estudados por metodologia de *Closed Bottle Test* (CBT) OECD 301D;
- Investigar e contribuir para atenuar o atual problema do lançamento de fármacos no meio ambiente pelo efluente do HUSM;

3 Fármacos no meio ambiente

3.1 Possível destino de fármacos no meio ambiente

Geralmente, os fármacos são absorvidos pelo organismo após a ingestão e estão sujeitos a reações metabólicas, como hidroxilação, clivagem ou gliconização. Além disso, uma significativa quantidade da substância original sairá do organismo não metabolizado via urina e fezes, tendo como destino as estações de tratamento de efluentes (ETEs) (Khetan & Collins, 2007), porém em países sem saneamento básico adequado o destino final são águas superficiais.

Estudos têm demonstrado claramente que a remediação em ETEs é muitas vezes incompleta. Deste modo, há três destinos possíveis para qualquer fármaco individual em ETEs: (1) pode ser biodegradado; (2) pode passar por algum processo metabólico ou ser parcialmente degradado, e (3) ser persistente (Bila & Dezotti, 2003). Os fármacos são normalmente desenvolvidos para resistir à biodegradação, pois sua estabilidade metabólica melhora sua ação farmacológica (Khetan & Collins, 2007).

Efluentes hospitalares e ETEs municipais são considerados uma das mais importantes fontes de introdução de fármacos no meio ambiente, porque, além do uso terapêutico em hospitais, muitos tratamentos contra enfermidades são feitos domesticamente. Assim fármacos residuais tem como destino a rede de esgotos e por conseguinte ETEs, que não estão preparadas para a remediação deste tipo de contaminante (Kümmerer, 2001).

A transformação dos compostos ativos também ocorre nas plantas de ETEs e depende da composição do esgoto, das condições do tempo, da concepção e da operação do sistema de tratamento (Roberts & Thomas, 2006). Os fármacos que são facilmente adsorvidos em lodos podem alcançar o ambiente terrestre, quando os estes são usados como fertilizantes e assim, subsequentemente, podem ser percolados para águas superficiais e subterrâneas (Carlsson et al., 2006).

A Figura 1 apresenta um clássico esquema que sugere os possíveis destinos dos fármacos no meio ambiente, apesar de haver ainda um desconhecimento das rotas destes no meio ambiente (Heberer, 2002; Halling-Sørensen et al., 1998).

Pode-se dizer que no Brasil o provável principal destino deste tipo de microcontaminante são as águas superficiais, pois dados do senso de 2008 mostram que 44,8% dos municípios não coletam e nem tratam os esgotos. Dos 55,2% que possuem serviço de coleta de esgoto, apenas 28,5% tratam, enquanto 26,7% apenas coletam (IBGE 2008a). O que agrava ainda mais esta situação é a falta de políticas públicas de saneamento no Brasil.

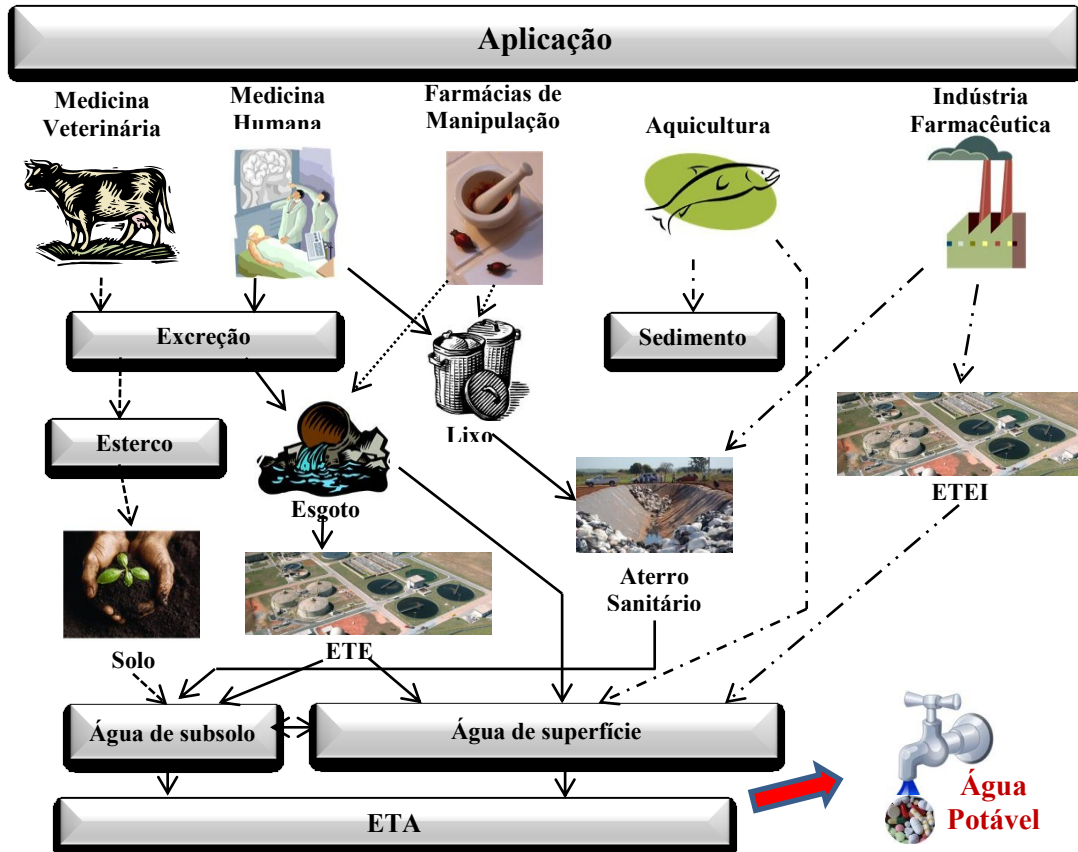


Figura 1. Possíveis rotas dos fármacos no meio ambiente. Modificado de Heberer, 2002; Halling-Sørensen et al., 1998; Ternes, 1998. Onde: ETE: Estação de Tratamento de Efluentes; ETA: Estação de Tratamento de Águas; ETEI: Estação de Tratamento de Efluentes Industriais. Fonte das Figuras: Clip-Art, www.microsoft.com.br e Google.

3.2 Efeitos no meio ambiente

Os fármacos são designados para estimular ou inibir respostas fisiológicas em humanos, animais e plantas, ou ser tóxico a organismos infecciosos, incluindo bactérias, fungos e parasitas. Como muitos animais têm sistemas receptores similares a humanos e, além disso, muitos grupos de microorganismos que afetam negativamente a saúde humana são alvos desses medicamentos. Muitos dos quais possuem papel crucial no funcionamento de ecossistemas e são diretamente afetados por esse tipo de contaminação (Dorne et al., 2007).

O modo de ação dos fármacos no meio ambiente não é conhecido e muitas vezes não somente um, mas diferentes modos de ação podem ocorrer sobre esses organismos. A toxicidade, sobre os organismos, está relacionada ao modo de exposição, aguda ou crônica (Fent et al., 2006). Deste modo, a presença de fármacos no meio ambiente pode gerar efeitos sutis sobre as espécies aquáticas e ainda resultar em risco à saúde humana pelo consumo de águas contaminadas (Dorne et al., 2007).

Os possíveis efeitos dos fármacos no meio ambiente podem ser classificados em três grupos: (1) efeitos tóxicos normais observados para todos os xenobióticos, de modo que o impacto da presença dos fármacos residuais no meio ambiente pode ser em qualquer nível da hierarquia biológica: célula – organismo – população – ecossistema; (2) antibióticos e desinfetantes presentes no meio ambiente podem produzir patógenos resistentes, os quais, por sua vez podem se difundir na ausência de antibióticos (Kümmerer, 2009b); (3) efeitos dos chamados disruptores ou desreguladores endócrinos, que podem causar distúrbios sobre o sistema hormonal de organismos (Gültekin & Ince, 2007).

3.3 β -bloqueadores

Uma importante classe de drogas prescritas na terapia de doenças cardiovasculares são os β -bloqueadores. Os β -bloqueadores atuam competitivamente inibindo receptores β -adrenérgicos e são usados no tratamento de hipertensão e para tratar os pacientes após ataque cardíaco prevenindo ataques adicionais. O sistema adrenérgico é envolvido de muitas funções fisiológicas tais como, regulação do oxigênio no coração e batimentos, além de atuar nos mecanismos de vasodilatação dos vasos sanguíneos e bronco-dilatação. Além do mais, o sistema adrenérgico é também conhecido por interagir com carboidratos e no metabolismo de lipídios, principalmente em resposta a tensões, como fome (Khetan & Collins, 2007).

O uso de β -bloqueadores varia consideravelmente entre os países europeus alcançando aproximadamente 1,1; 3,2 e 0,1 g per capita (cap^{-1}) ano^{-1} para Suíça, Reino Unido e Finlândia, respectivamente. Atenolol e Metoprolol perfazem conjuntamente mais de 80% do total de β -bloqueadores consumidos na Europa, mas isso pode mudar de país para país devido a mudanças nas prescrições médicas (Alder et al., 2010). Para o Brasil não foi encontrado nenhum dado sobre o consumo, ou mesmo vendas ao consumidor, de β -bloqueadores.

Propranolol é extensivamente metabolizado e menos do que 10% é excretado *in natura*, principalmente pelas fezes. A eliminação do Propranolol é, em grande parte, devido à oxidação da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi (41%) e oxidação do grupamento naftaleno (42%). Cerca de 90% de Propranolol é convertido em 12 metabólitos, sendo os principais metabólitos 4-hidroxiopropanol e ácido naftoxilático.

Atenolol é excretado em frações de aproximadamente 90% de uma dose oral, *in natura*, via fezes e urina, enquanto que, os metabólitos conjugados perfazem menos do que 10%. No caso do Metoprolol, de 3 a 10% de uma dose oral é excretado *in natura*, o restante é excretado como metabólitos (Khetan & Collins, 2007).

Os β -bloqueadores não são altamente persistentes, mas como consequência de seu grande uso, estão comumente presentes no ambiente aquático, podendo assim ser considerados compostos pseudo-persistentes (Maurer et al., 2007).

A ecotoxicidade de alguns β -bloqueadores foi avaliada usando-se diferentes bioindicadores, demonstrando-se que o Propranolol é o mais tóxico, seguido de Metoprolol e Atenolol. A toxicidade aguda dos β -bloqueadores não foi ainda extensivamente estudada, com exceção do Propranolol que mostrou alta toxicidade aguda quando comparado a outros β -bloqueadores. O Propranolol também exibe toxicidade crônica, não somente sobre o sistema cardiovascular, mas também sobre o sistema reprodutivo de peixes (Huggett et al., 2002).

Estudos com os β -bloqueadores Metoprolol, Nadolol, e Propranolol por meio de bioindicadores como os organismos *Hyaella azteca*, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia dubia* e *Oryzias latipes* foram usados para avaliar o risco inerente ao meio ambiente (Huggett et al., 2002). Os testes de toxicidade do Propranolol por 48-h LC₅₀, Concentração de Efeito não Observado (NOEC, do inglês *No-Observed-Effects Concentration*) e a Menor Concentração Observada com Efeito (LOEC, do inglês *Lowest-Observed-Effects Concentration*), indicaram que os níveis de concentração que afetam a reprodução do organismo *H. azteca* foram de 29,8; 0,001 e 0,1 mg L⁻¹, respectivamente (Huggett et al., 2002).

Para a *D. magna* os compostos Propranolol e o Metoprolol mostraram uma 48-h LC₅₀ de 1,6 e 63,9 mg L⁻¹, respectivamente, enquanto que, para *C. dubia*, foi de 0,85 e 8,8 mg L⁻¹. O NOEC e o LOEC do Propranolol sobre *C. dubia* foi de 0,125 e 0,25 mg L⁻¹, respectivamente. Para o *O. latipes*, a toxicidade do Propranolol 48-h LC₅₀ foi de 24,3 mg L⁻¹ (Huggett et al., 2002).

Efeitos observados sobre *D. magna* sugerem que Metoprolol e Propranolol exibem toxicidade mesmo em baixas concentrações, com LOEC de 0,44 e 12 mg L⁻¹, para Propranolol e Metoprolol, respectivamente. O LOEC desses β -bloqueadores sobre a fecundidade de *D. magna* para tempo de exposição de 9 dias foi de 0,11 e 6 mg L⁻¹ para Propranolol e Metoprolol, respectivamente (Dzialowski et al., 2006). Mais dados a respeito da toxicidade de β -bloqueadores e fármacos em geral podem ser pesquisados em MisraPharma (www.wikipharma.org/api_data.asp, acessado em 11/10/2011).

Os β -bloqueadores como microcontaminantes estão sendo amplamente estudados e têm sido encontrados em efluentes hospitalares, ETEs e águas superficiais ao redor do mundo (Tabela 1).

A preocupação com a presença de β -bloqueadores no meio ambiente pode ainda aumentar nas próximas décadas no Brasil, por exemplo, devido a questões demográficas como aumento do grau de envelhecimento da população, pois dados do IBGE indicam essa tendência para população brasileira para as próximas décadas (IBGE 2008b).

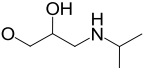
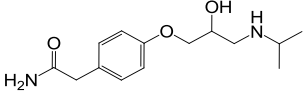
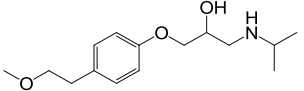
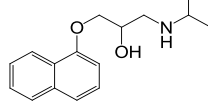
Tabela 1. Valores médios de β -bloqueadores encontrados em efluentes hospitalares (EH), efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETE) e águas superficiais (AS).

	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Efluente	País	Referência
Atenolol	0,1-122	EH	Espanha	(Gómez et al., 2006)
	0,404 (Kloten-Opfikon)	ETE efluente final	Suíça	(Maurer et al., 2007)
	0,678 (Dübendorf)	ETE efluente final	Espanha	(Gros et al., 2008)
	0,618-1,37	ETE efluente final	Canadá	(Lee et al., 2007)
	0,642-2,21	ETE efluente final	França	(Piram et al., 2008)
	0,0018	ETE efluente final	Suécia	(Bendz et al., 2005)
	0,16	ETE efluente final	Croácia	(Terzić et al., 2008)
	1,88	ETE afluente	França	(Gabet-Giraud et al., 2010)
	0,725	ETE efluente final	Alemanha	(Wick et al., 2009)
	0,30	ETE efluente final	Finlândia	(Vieno et al., 2006)
	ETE A – 0,08			
	ETE B – 0,44	ETE efluente final		
	ETE C – 0,04			
	ETE – 0,466	ETE efluente final	Itália	(Zuccato et al., 2005)
	AS – 0,241	Água superficial		
0,027-1,168	Diferentes ETEs efluente final	Itália	(Castiglioni et al., 2005)	
Metoprolol	0,161 (Kloten-Opfikon)	ETE efluente final	Suíça	(Maurer et al., 2007)
	0,103 (Dübendorf)	ETE efluente final	Espanha	(Gros et al., 2008)
	0,079-0,547	ETE efluente final	Canadá	(Lee et al., 2007)
	0,177-0,664	ETE efluente final	França	(Piram et al., 2008)
	0,001	ETE efluente final	Suécia	(Bendz et al., 2005)
	0,19	ETE efluente final	Croácia	(Terzić et al., 2008)
	0,953	ETE afluente	França	(Gabet-Giraud et al., 2010)
	0,156	ETE efluente final	Alemanha	(Wick et al., 2009)
	0,64	ETE efluente final	Finlândia	(Vieno et al., 2006)
	ETE A – 0,99			
	ETE B – 1,07	ETE efluente final		
	ETE C – 0,91			
	ETE – 0,73	ETE efluente	Alemanha	(Ternes 1998)
	AS – 0,045	Água superficial		
	Propranolol	0,2–6,5	EH	Espanha
0,123 (Kloten-Opfikon)		ETE efluente final	Suíça	(Maurer et al., 2007)
0,032 (Dübendorf)		ETE efluente final	Espanha	(Gros et al., 2008)
0,087-0,136		ETE efluente final	Canadá	(Lee et al., 2007)
0,015-0,079		ETE efluente final	França	(Piram et al., 2008)
0,002		ETE efluente final	Suécia	(Bendz et al., 2005)
0,05		ETE efluente final	Croácia	(Terzić et al., 2008)
0,132		ETE afluente	França	(Gabet-Giraud et al., 2010)
0,203		ETE efluente final	Alemanha	(Wick et al., 2009)
0,04		ETE efluente final	Alemanha	(Ternes 1998)
ETE – 0,17		ETE efluente		
AS – 0,012		Água superficial		

3.3.1 Propriedades físico-químicas de β -bloqueadores

Os β -bloqueadores Atenolol, Metoprolol e Propranolol foram escolhidos para o presente estudo, pois são os β -bloqueadores mais usados no HUSM (dados da farmácia do HUSM) e suas estruturas e algumas propriedades físico-químicas podem ser observadas na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades físico-químicas dos β -bloqueadores Atenolol, Metoprolol e Propranolol.

Propriedade	Atenolol	Metoprolol	Propranolol
			
R: grupamento comum			
CAS N°	29122-68-7	56392-17-7	318-98-9
Contra íon	-	Tartarato	HCl
Peso Molecular (g mol ⁻¹)	266,34	267,36	259,34
Solubilidade em água (mg L ⁻¹) ^a	13300	4780	61,7
pKa ^b	9,6	9,7	9,5
log K _{ow} (neut) ^b	0,16	1,69	3,48
log K _{ow} (prot) ^c	-	-1,10	0,78
K _d (L kg ⁻¹) ^d	38 ± 33	1 ± 0,23	317 ± 58
Log D _{ii_{pw}} ^e	0,51	1,43	3,06
Taxa de degradação em ETE (L d ⁻¹ g ⁻¹) ^d	0,69 ± 0,05	0,58 ± 0,05	0,39 ± 0,07
t _{1/2} em ETE (h)	6,0	7,2	10,7

^a <http://www.syrres.com/esc/physprop.html>; ^b Vieno et al. (2006) ; ^c Kibbey et al. (2007); ^d Maurer et al. (2007); ^e Escher et al. (2006);

Os três compostos selecionados são bases fracas com constante de acidez (pKa) em torno de 9,6, protonadas em pH ambientais (pH ~ 7) e moderadamente hidrofílicos. A distribuição das espécies protonadas e neutras em função do pH, assim como o pKa podem ser vistos na Figura 2.

O Atenolol apresenta cadeia lateral acetoamida ligada a anel aromático em posição *p* com relação à estrutura básica dos β -bloqueadores, enquanto Metoprolol apresenta grupamento etoxi e Propranolol apresenta grupamento naftaleno ligado a estrutura básica 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

Dentre os três, Propranolol é o mais hidrofóbico com coeficiente de partição octanol-água (log K_{ow}) de 3,48 para a espécie neutra, isto é, para pH acima do pKa, enquanto que em pH natural apresenta log K_{ow} 0,78, o que lhe confere características mais ambientalmente relevantes como toxicidade, lipofilicidade, etc.. Metoprolol apresenta log K_{ow} de 1,69 e -1,10 para espécies neutras e carregadas, respectivamente. Atenolol apresenta o menor log K_{ow} dentre os três, apenas 0,16, demonstrando a sua maior hidrofilicidade (Kibbey et al., 2007; Maurer et al., 2007).

Muitas vezes o $\log K_{ow}$ não é a melhor forma de descrever características físico-químicas para fármacos e, em termos de biota e meio ambiente, pode-se assumir o coeficiente de partição lipossoma-água ($\log D_{lipw}$) como o melhor descritor de possíveis efeitos. Deste modo, Propranolol apresenta-se como o composto mais lipofílico e com maior potencial de bioacumulação, seguido de Metoprolol e por último Atenolol. Posto isso, é esperado que Propranolol apresente efeitos mais tóxicos sobre a biota (Escher et al., 2006).

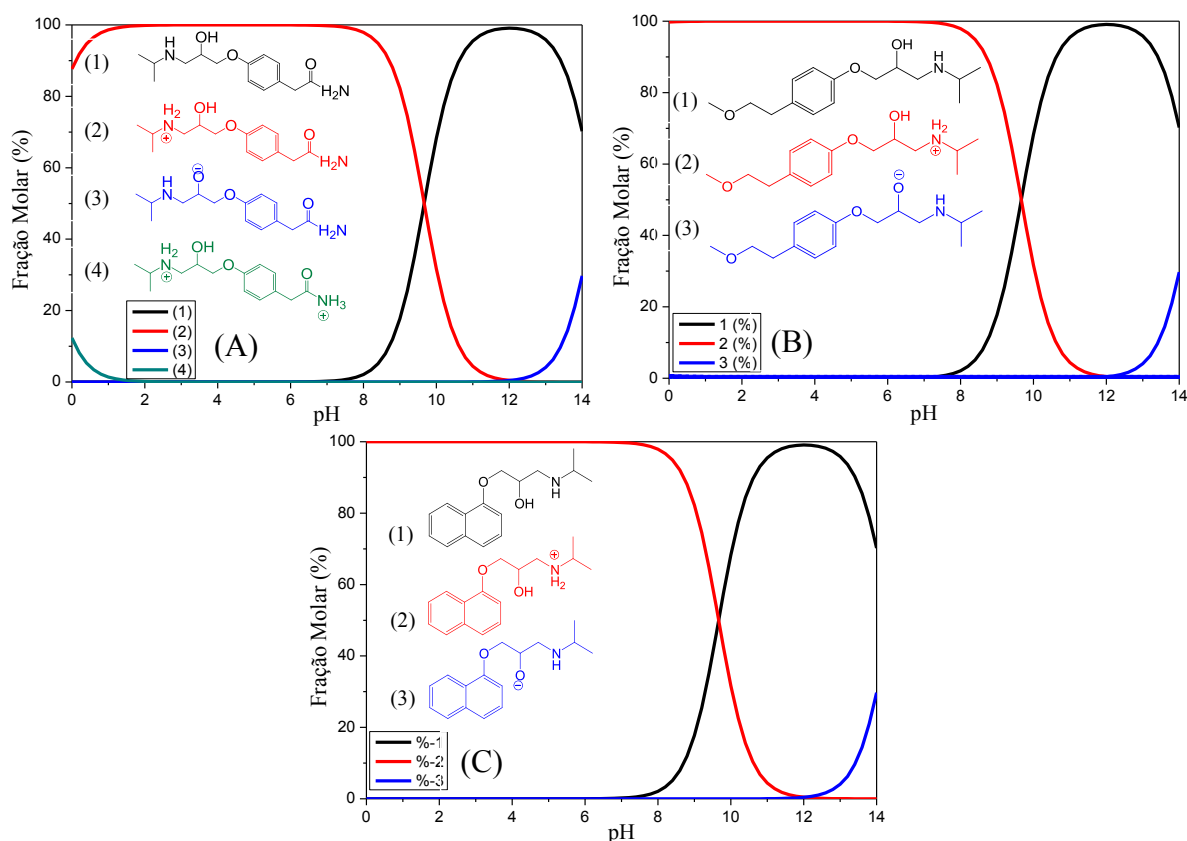


Figura 2. Distribuição das espécies de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol em função do pH. (Calculator Plugins foram usados para a predição e cálculo das propriedades químicas, Marvin 5.4, 2010, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>)).

Do mesmo modo que exposto para os coeficientes de partição octanol-água e lipossoma-água, o coeficiente de adsorção (K_d) de cada β -bloqueador segue o mesmo comportamento, com o Propranolol apresentando-se como o mais suscetível a adsorção em lodos, coloides, etc. (Escher et al., 2006).

Outro interessante aspecto destes β -bloqueadores, que diz respeito principalmente para tratamento de efluentes, é que essas substâncias podem se comportar como surfactantes em pH neutro (Mosquera et al., 1999). Deste modo, é especulado que interações com surfactantes presentes no meio ambiente podem afetar significativamente o comportamento dessa classe de fármacos, pois é conhecido que surfactantes aniônicos possuem profunda influência sobre as propriedades das soluções (Upadhyaya et al., 2006).

3.4 Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) no contexto de Efluentes Hospitalares

Hospitais representam uma fonte incontestável de lançamento de fármacos no meio ambiente e o atual conhecimento sobre esta problemática ambiental e, conseqüentemente, seus efeitos na saúde humana, é ainda incipiente (Kumar et al., 2007).

Efluentes hospitalares podem ser separados em duas principais categorias, (1) efluentes do tipo doméstico, que compreendem descargas de cozinhas, lavanderias e de higiene pessoal e (2) efluentes específicos de unidades hospitalares, que compreendem unidades de internação, de análises e de atividades de pesquisa. A descarga deste último tipo contém desinfetantes, detergentes, excreções contagiosas (contendo drogas e patógenos), líquidos biológicos, resíduos de drogas, metais (agentes de radiografia e fixadores), radio elementos, ácidos, bases, benzeno, hidrocarbonetos, etc. (Boillot et al., 2008).

No sistema de saneamento do HUSM não é feita separação entre estas categorias. Além disso, estudos mostrando o potencial genotóxico deste tipo de efluente têm sido relatados (Bagatini et al., 2009; Gupta et al., 2009; Jolibois & Guerbet, 2006).

A portaria 306/2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) permite que o descarte dos efluentes sanitários hospitalares seja feito através da rede de esgotos, ou em corpo receptor, desde que atendam respectivamente as diretrizes estabelecidas pelos órgãos ambientais, gestores de recursos hídricos e de saneamento competentes. Ainda de acordo com a ANVISA, resíduos de produtos hormonais e antimicrobianos, citostáticos, antineoplásicos, imunossupressores, digitálicos, imuno moduladores e antirretrovirais, quando descartados por serviços assistenciais de saúde, farmácias, drogarias e distribuidores de medicamentos ou apreendidos, devem ser submetidos a tratamento ou disposição final específica (ANVISA 2004).

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

O tratamento das águas servidas, geradas pelo hospital, é feito através de um sistema doméstico dotado de filtros aeróbicos (fossa séptica) conjugada com filtro anaeróbio (Figura 3), sendo o resíduo tratado descartado em córrego que corta o campus da UFSM.

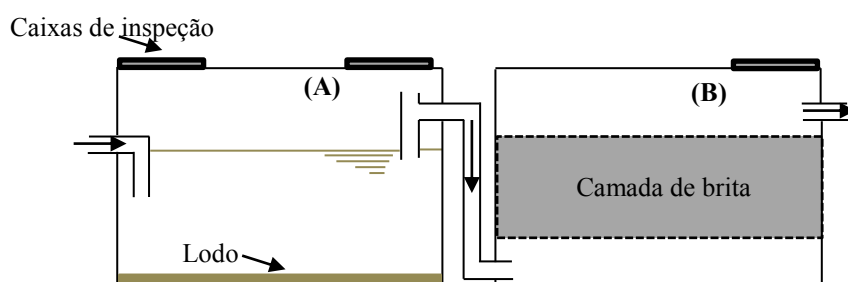


Figura 3. Representação esquemática de um sistema de fossa séptica (A) conjugada de filtro anaeróbio (B), adotado no tratamento de efluentes do HUSM.

O sistema de saneamento do HUSM contém dois locais para o lançamento do esgoto tratado e um corpo receptor (córrego), onde as amostragens do presente estudo foram feitas (Figura 4). O ponto designado ‘Efluente PA’ (Figura 4 (a)) compreende os esgotos lançados por essa unidade de emergência acrescidos dos efluentes da ala sul do hospital, enquanto que, o ponto nomeado ‘HUSM principal’ (Figura 4 (b)) contém a maior parte do esgoto lançado pelo HUSM; contudo, esse ponto recebe ainda, adicionalmente, o esgoto gerado pela biblioteca central da UFSM. Esses dois pontos nomeados lançam todo o esgoto reunido num único corpo receptor - o terceiro ponto de amostragem, designado ‘Córrego’ (Figura 4 (c)).

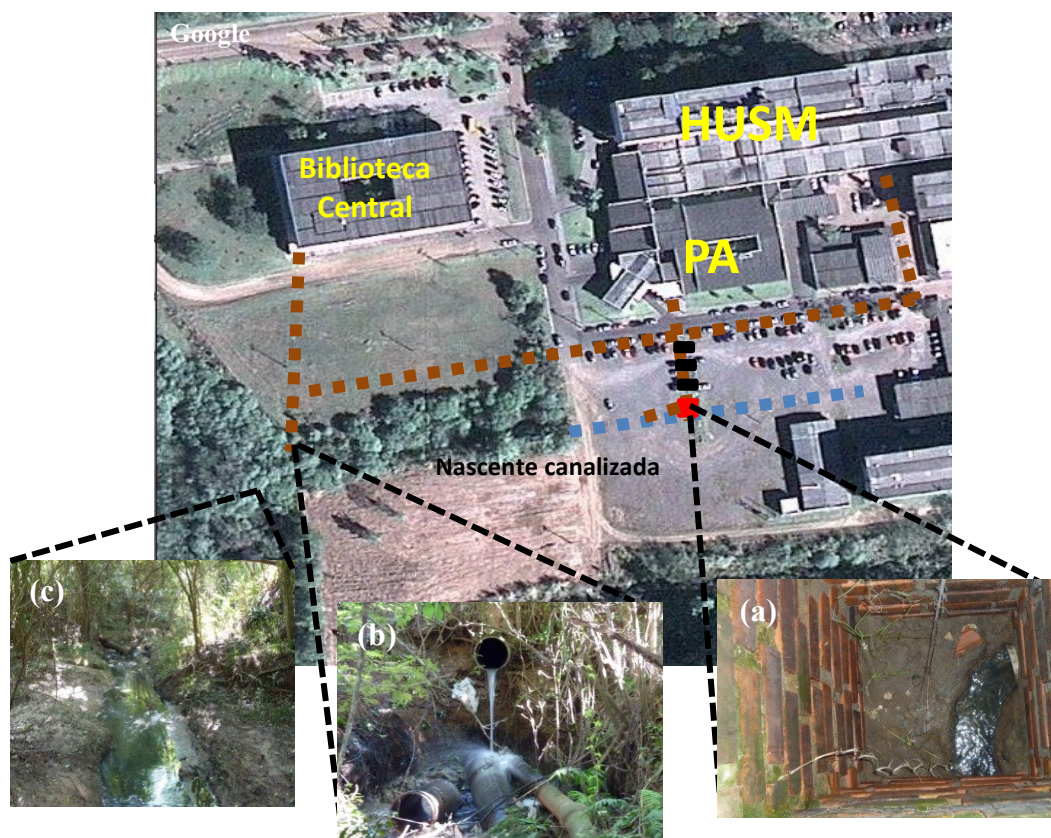


Figura 4. Esquema ilustrativo do sistema de esgotos do HUSM e os pontos de coleta de efluente.
Fonte da foto aérea: Google.

O ponto mais problemático e mais estudado, até o presente momento, têm sido o ‘Efluente PA’. As características físico-químicas médias desta corrente, pós-fossa séptica/filtro anaeróbico, podem ser vistas na Tabela 3. Como observado, mesmo após passar por esse sistema de tratamento, a corrente efluente apresenta ainda alta carga orgânica variável e outros parâmetros acima dos limites estabelecidos pela agência reguladora (CONAMA, 2011).

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos médios do Efluente lançado no PA do HUSM (n= 3 ou 4).

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

^aMartins et al. (2008), ^bMartins et al. (2009); Minetto, (2009); ^cCONAMA, 2011.

Estudos enfocando a problemática do lançamento de efluentes do HUSM e potenciais soluções têm sido reportadas pelo grupo de pesquisas do LATER (Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Efluentes e Resíduos) da UFSM (Martins et al., 2011; Brenner et al., 2011; Vasconcelos et al., 2009; Martins et al., 2009; Martins et al., 2008). Todavia, ainda não foi dada a merecida atenção ao problema até agora pelos órgãos competentes.

Posto isto, fica evidenciada a necessidade de mais estudos, de entendimentos e de proposição de soluções para esse problema ambiental. Deste modo, o presente estudo visa contribuir com informação analítica qualificada e com dados úteis para possível mitigação.

4 Avaliação de risco preliminar da exposição de β -bloqueadores no meio ambiente – caso HUSM

Estudos que avaliam o risco ambiental de determinada substância têm a finalidade de prever a possível contaminação por determinada substância no meio ambiente e apoiar tomadas de decisão sobre o contaminante com a finalidade de mitigar seus impactos (EMEA, 2006).

Para avaliar o potencial de risco ambiental existem ferramentas que podem ser empregadas baseando-se em dados como consumo, características físico-químicas, etc.. A Agência Européia de Avaliação de Medicamentos (EMEA, do inglês *European Medicines Evaluation Agency*) propôs metodologias para a avaliação do risco ambiental de determinada substância em estudo (EMEA, 2006).

A EMEA propõe três fases de estudo para a avaliação preliminar de risco. A primeira fase compreende a Predição da Concentração Ambiental (PEC, do inglês *Predicted Environmental Concentration*), ou seja, uma forma de avaliar teoricamente a quantidade de fármaco lançada no meio ambiente de acordo com seu uso e exposição. O PEC pode ser estimado desde uma forma ampla, como para cidades, estado, país e até para fatores locais, hospital, clínica, etc. O PEC pode ainda ser estimado para águas superficiais, assim como para sedimentos e águas subterrâneas (EMEA, 2006).

O limite de ação desta fase é a concentração de $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$, isto é, se o fármaco em questão possui uma concentração abaixo deste limite assume-se que este fármaco comumente não apresenta risco ao meio ambiente. No entanto, esse limite não se aplica a todos as substâncias como, por exemplo, para disruptores endócrinos.

Se o PEC for maior ou igual a $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$, então o fármaco passa para a segunda fase, que envolve estudos de toxicidade, destino e efeitos no meio ambiente (EMEA, 2006). A fase II consiste em cálculos mais realísticos de dosagem diária do fármaco, taxas de excreção humana e taxas de remoção em sistemas de tratamento e a fase III consiste em maior refinamento, avaliando comportamento específico e risco (EMEA, 2006).

O PEC pode, também, guiar o estudo de fármacos como contaminantes emergentes, pois por meio deste cálculo podem-se tomar decisões sobre quais fármacos prioritários devem ser estudados e qual decisão deve ser tomada para diminuir o seu potencial risco como contaminante. O PEC pode, então, ser calculado segundo a Equação 1.

$$PEC_{conv.} (g L^{-1}) = \frac{A - (1 - \frac{R}{100})}{365 \times P \times V \times D} \quad (1)$$

Onde A é quantidade predita usada por ano em uma área geográfica (kg), R é taxa de remoção (biodegradação, adsorção, hidrólise, etc.), P é o número de habitantes da área considerada, V é o volume de efluente per capita diário ($\text{m}^3 \text{cap}^{-1}$) e D é o fator de diluição do efluente pela água superficial (em geral 10).

Outro índice que ainda pode ser aceito para a avaliação de risco de uma substância é o Quociente de Risco (QR). Para o cálculo deste quociente é considerado a Concentração Predita que Não Causa Efeito (PNEC, do inglês *Predict No Effect Concentration*) no meio ambiente. O PNEC é derivado do menor valor da toxicidade aguda (LC_{50} , EC_{50} ou IC_{50}) dividido por fator de 1000 (Hernando et al., 2006).

O QR tem o valor limite de 1, quando o fator excede 1 representa risco ecotoxicológico. Enquanto que quando se usa dados de toxicidade crônica, ou seja, Concentração de Efeito Não Observado (NOEC, do inglês *Non-Observed-Effects Concentration*) o valor de QR limite é de 10 (Carlsson et al., 2006).

Hernando et al. (2006) propuseram ainda o uso da Concentração Ambiental Mensurada (MEC, do inglês *Measured Environmental Concentration*) para o cálculo de QR. Além disso, foi proposto um critério mais apurado para a avaliação de risco usando $\text{QR} < 0,1$ como mínimo risco para organismos aquáticos, $0,1 \leq \text{QR} < 1$ risco médio e $\text{QR} \geq 1$ risco alto (Hernando et al., 2006).

Nesse estudo uma maior atenção foi dada aos cálculos para a estimativa de β -bloqueadores lançados pelo HUSM para o sistema de esgotos e em águas superficiais. O consumo de água do HUSM é em torno de $1,3 \text{ m}^3$ por paciente por dia e, segundo Vasconcelos et al. (2009), o lançamento de esgoto do HUSM possui um fluxo médio de aproximadamente $190 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$. Os fármacos escolhidos para esse estudo, Atenolol, Metoprolol e Propranolol são os β -adrenérgicos mais usados pelo HUSM.

Para a predição foram considerados alguns critérios, tal como o “pior caso” (Carlsson et al., 2006). Para os cálculos de PEC as seguintes situações foram admitidas: (1) todo o fármaco receitado foi usado para o tratamento no hospital; (2) a fração de fármacos excretada foi lançada no sistema de esgotos; (3) sem transformações dos fármacos após a excreção no sistema de esgotos e (4) o padrão de uso foi distribuído uniformemente temporal e espacialmente.

Segundo Escher et al. (2010) para o estudo de um caso específico como de um Hospital a Equação 1 pode ser reduzida para a Equação 2.

$$PEC_{Efl.} = \frac{A \cdot E}{V_{Efl.} \cdot 365} \quad (2)$$

Onde $PEC_{Efl.}$ é a concentração predita no efluente ($g L^{-1}$), A é o quantidade do fármaco consumido no hospital (g), E é a fração excretada na urina e nas fezes (-) e $V_{Efl.}$ é a quantidade de efluente lançado por dia ($L dia^{-1}$).

A excreção de 90% foi assumida para Atenolol, com respeito à absorção e excreção sem transformação na urina, enquanto que para o Metoprolol 5% e Propranolol 10% de excreção. Para uma discussão mais extensiva sobre diferentes metabólitos e mecanismos de excreção de β -bloqueadores, ver Escher et al. (2006).

Para a predição em águas superficiais, riacho ou córrego, onde os esgotos do HUSM são lançados após passar pela fossa séptica-filtro anaeróbico, o fator de diluição (10) foi inserido na Equação 2, resultando então na Equação 3.

$$PEC_{Córr.} = \frac{A \cdot E}{V_{Efl.} \cdot 365 \cdot D} \quad (3)$$

O quociente de risco de cada fármaco foi calculado dividindo PEC por PNEC. Os valores de PEC foram estimados da Equação 3. A Tabela 4 apresenta os dados para a avaliação de risco dos β -bloqueadores mais usados no HUSM.

Tabela 4. Concentração ambiental predita (PEC) e o quociente de risco (QR) dos principais β -bloqueadores usados no HUSM.

β -Bloqueador	Excreção como composto ativo (%)	Consumo Anual ($g ano^{-1}$) ^c	$PEC_{Efl.}$ ($\mu g L^{-1}$) [*]	$PEC_{Córr.}$ ($\mu g L^{-1}$) [*]	PNEC ($\mu g L^{-1}$) ^d	QR ($PEC/PNEC$) ^{e, *}
Atenolol	90 ^a	117	1,52	0,152	310	$4,9 \cdot 10^{-3}$
Metoprolol	5 ^b	185	0,13	0,013	7,9	$16,4 \cdot 10^{-3}$
Propranolol	10 ^b	284	0,41	0,041	0,73	0,56

^a Bourne (1981); ^b Reeves et al. (1978); ^c Dados da farmácia do HUSM (2007); ^d Cleuvers (2005); ^e Quociente de risco calculado teoricamente; * Presente estudo;

Como pode ser observado na Tabela 4 todos os β -bloqueadores apresentaram valor de $PEC_{Efl.}$ maior do que $0,01 \mu g L^{-1}$, mesmo para o córrego ($PEC_{Córr.}$) onde o esgoto do HUSM é lançado. Isso mostra a problemática e a relevância do estudo de tais compostos.

Apesar de ter uma maior taxa de excreção e maior PEC, dentre os três β -bloqueadores, o Atenolol apresentou o menor QR, enquanto que o Propranolol apresenta o maior QR de 0,56, mesmo abaixo de 1, é o β -bloqueador que merece mais atenção pois apresenta risco médio. O mesmo comportamento para o QR foi encontrado por Cleuvers (2005).

Devido à alta complexidade da ação de fármacos no meio ambiente, o QR muitas vezes pode não ser tão relevante para demonstrar a realidade. Os valores de PNEC encontrados na literatura se referem ao crustáceo *Daphnia magna* e alga *Desmodemus*

Subspicatus indicando que para esses organismos a quantidade lançada pelo HUSM não apresentaria risco (Cleuvers, 2005).

Outro fator que deve ser levantado ainda é que, na maioria das vezes, essas substâncias não se encontram isoladas no meio ambiente e sim combinadas. Escher et al. (2010) demonstraram que o QR para misturas, de acordo com o conceito de adição de concentração, apresenta um efeito igual à soma das concentrações preditas de cada espécie como uma fração de sua própria toxicidade individual. Desta forma o QR combinado de Atenolol, Metoprolol e Propranolol é de 0,58, ainda médio risco (abaixo de 1), mas o impacto ambiental destes fármacos precisa ainda de atenção, pois ainda não se conhece sua ação crônica em longo prazo.

5 Cromatografia aplicada a análise ambiental de Fármacos e Produtos de Degradação

A técnica analítica mais usada para a determinação de Fármacos no meio ambiente é a cromatografia. A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), acoplada a detectores como ultravioleta (UV), arranjo de diodos (DAD) e fluorescência (FD), é utilizada a muito tempo para separações e análises ambientais de várias classes de contaminantes e não será discutida na presente revisão.

Dentre as técnicas cromatográficas para análise de microcontaminantes ambientais destaca-se a Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS) que é bem conhecida e revolucionou a química analítica ambiental permitindo a análise de complexas misturas de compostos orgânicos para análise de traços.

Desde a introdução de atomização por pressão atmosférica tais como Ionização por Electrospray (ESI, do inglês *Electrospray Ionization*) e Ionização Química à Pressão Atmosférica (APCI, do inglês *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*), LC-MS passou a ter um importante papel na análise, identificação e quantificação de contaminantes orgânicos ambientais, pois estas técnicas proporcionam alta sensibilidade, o que é essencial para análise de fármacos, uma vez que estes são encontrados em níveis de traços em matrizes complexas (Kosjek et al., 2007). Geralmente, ESI é usado para a análise de compostos mais polares, enquanto compostos menos polares e termicamente inertes são passíveis a análise por APCI (Kosjek & Heath, 2008).

A cromatografia acoplada a MS gera não somente perfis de fragmentação, que dão a um composto orgânico uma “assinatura” de característica única, e que pode ser resolvida por princípios de físico-química orgânica, mas também dá uma massa exata que permite a confirmação da presença do composto em questão (Kosjek & Heath, 2008; Radjenović et al., 2007; Petrovic & Barceló, 2007).

O mais simples instrumento de LC-MS é o que possui apenas um Detector Quadrupolo (Q-MS), onde ambos analito e íons da matriz são ionizados, o que resulta em dados espectrais complexos e ambíguos. O Detector Triplo Quadrupolo (QqQ-MS) compreende em dois analisadores quadrupolos com uma câmara de colisão entre eles, onde podem ser usadas técnicas tais como Dissociação Induzida por Colisão (CID, do inglês *Collision-induced Dissociation*), Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM, do inglês *Multiple Reaction Monitoring*), Espectro de Íon Precursor (PISs, do inglês *Precursor Ion Scan*) e Espectro de Perda Neutra Constante (NLS, do inglês *Neutral Loss Scan*), permitindo maior flexibilidade e precisão experimental (Kosjek & Heath, 2008).

Por outro lado, detectores de massas com Armadilha de Íons (IT-MS, do inglês *Ion Trap Mass Detector*) possuem alta sensibilidade e a característica única de isolar e acumular íons (por interação de armadilha de íons e varredura) permitindo espectros de massas do composto de partida e seus fragmentos, resultando em hipoteticamente um infinito número de padrões de fragmentação (Kosjek & Heath, 2008). Além disso, a técnica de MS que utiliza IT pode ser operado em modo de Monitoramento de Íon Seleccionado (SIM, do inglês *Single Ion Monitoring*), *Full Scan* (FS), CID e MRM, permitindo MSⁿ o que faz com que o instrumento com essas características seja adequado para propósitos de identificação e análise quantitativa (Kosjek et al., 2007).

A literatura reporta uma série de métodos desenvolvidos para a determinação de β -bloqueadores em diferentes matrizes ambientais (águas e efluentes) e há uma grande quantidade de métodos desenvolvidos utilizando LC-MS (Hernando et al., 2007), que possui uma série de vantagens comparadas a detectores convencionais de HPLC (UV, DAD, FD, etc.). Porém, muitos laboratórios de pesquisa não dispõem desta técnica, principalmente em países em desenvolvimento, onde a problemática deste tipo de contaminação é ampliada pela falta de saneamento básico (Minh & Hung, 2011).

Deste modo, no presente estudo HPLC-DAD-FLD foi a técnica disponível para os trabalhos conduzidos em amostras de Efluentes Hospitalares efetuados no Brasil, enquanto que para a identificação estrutural de Produtos de Degradação (PD) resultantes de processos de degradação a técnica disponível e que foi usada no presente estudo foi instrumento de LC-ESI-IT-MSⁿ durante o doutoramento sanduíche na Alemanha.

6. Otimização multivariada de método de separação e quantificação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por HPLC-FLD

A técnica de HPLC utiliza uma série de fatores cromatográficos, tais como concentração da fase orgânica, pH, força iônica do tampão (concentração), temperatura, vazão, etc. e a otimização de todos estes parâmetros é um processo oneroso e demanda tempo.

A metodologia de otimização sequencial, largamente usada, envolve um grande número de experimentos e não é capaz de estabelecer as múltiplas interações entre os parâmetros estudados. Portanto, um planejamento sistemático para a otimização destas condições torna-se fundamental.

A quimiometria surge nessa interface como uma ferramenta para auxiliar o desenvolvimento de métodos, reduzindo o número de experimentos, tempo e consumo de materiais com aumento na qualidade de informação.

Dentre as principais vantagens desta metodologia estão incluídas simultaneamente A triagem de um grande número de variáveis, ou fatores, e a estimativa de suas interações separando seus efeitos, além disso a confiabilidade dos resultados pode ser determinada com testes estatísticos para níveis de confiança de 95% e representação do modelo resultante em expressões matemáticas (Bezerra et al., 2008; Ferreira et al., 2007a; Ferreira et al., 2007b).

Antes de começar um procedimento de otimização é importante identificar os fatores cruciais que afetam a qualidade da resposta analítica. A otimização da separação cromatográfica se baseia, principalmente, no critério de “*uma aceitável resolução no mais curto tempo possível de análise*”. Para tanto, no presente estudo optou-se pela resolução cromatográfica (R_s), de acordo com a Equação 4, entre dois picos como critério quantitativo, e a resposta global (R_g), de acordo com a Equação 5, pois este engloba o tempo de retenção, a área do pico e a largura do pico a meia altura.

$$R_s = 2 \cdot \frac{|t_{R,i} - t_{R,j}|}{w_i + w_j} \geq 1,5 \text{ e } \max(t_R) \leq 15 \text{ min} \quad (4)$$

$$R_g = \frac{A}{(t_R \cdot w_{1/2})} \quad (5)$$

Onde A é a área, t_R é o tempo de retenção ($t_{R,i}$ para o pico i e $t_{R,j}$ para o pico j), w é a largura da base do pico (w_i para o pico i e w_j para o pico j) e $w_{1/2}$ é a largura do pico a meia altura.

O objetivo do presente estudo foi otimizar a separação e a quantificação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por metodologia multivariada *Box-Behnken Design* (BBD) com vistas a aplicação em determinação em amostras reais de efluente hospitalar.

6.1 Materiais e Métodos

6.1.1 Reagentes e instrumentação

Atenolol, Metoprolol e Propranolol (> 99% de pureza) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com). Acetonitrila grau HPLC foi adquirida da JT Baker (www.jtbaker.nl), ácido fórmico, formiato de sódio e os demais reagentes usados foram de grau analítico e usados como recebidos. Todas as soluções aquosas foram preparadas em água ultrapura (Direct-Q 3 UV ultra pure – $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

O sistema de HPLC usado foi Shimadzu modelo Prominence constituído de bomba quaternária LC-20AT, degaseificador DGU-20A5, amostrador automático SIL 20A, detector de arranjo de diodos (DAD) SPD-M20A, detector de fluorescência (FD) RF-10AXL e módulo comunicador de interface CBM-20A. Os cromatogramas foram adquiridos e analisados pelo Software LC-Solution (Shimadzu, www.shimadzu.com).

A coluna cromatográfica de fase reversa usada para as separações foi Nucleodur 100-5 C18 ec (CC 125 mm x 4 mm d.i., 5 μm) com pré-coluna C18ec Nucleodur 100-5 (CC 8 x 4 mm d.i., 5 μm) da Machrey-Nagel (Macherey-Nagel, www.mn-net.com). Como fármacos são encontrados em níveis de $\mu\text{g L}^{-1}$, o volume de injeção escolhido foi de 50 μL . A percentagem de Acetonitrila e a vazão foram otimizados em trabalho prévio (pré-planejamento). Os comprimentos de onda de Excitação (λ_{EX}) e Emissão (λ_{EM}) de 230 e 312 nm, respectivamente, foram determinados após a análise dos espectros de fluorescência (Figura 164, Apêndice A). O detector de DAD foi usado de forma qualitativa para confirmar o espectro UV-Vis dos picos.

6.1.2 Preparo de soluções estoque e de trabalho

Para o preparo de soluções padrão, os reagentes ATE, MET, PRO foram cuidadosamente pesados e aferidos em frasco volumétrico de 100 mL, dissolvidos com água ultrapura, para a concentração final de 100 mg L^{-1} e destes padrões, prepararam-se as soluções utilizadas nos experimentos. A concentração escolhida dos padrões foi de 1 mg L^{-1} para a otimização multivariada. Todas as soluções foram estocadas em frasco âmbar e em refrigerador, à temperatura de 4-8 °C. A estabilidade das soluções estoque para longos períodos não foram investigadas.

6.1.3 Planejamento experimental

O planejamento dos experimentos foi baseado na metodologia de BBD (*para uma leitura mais ampla sugere-se Ferreira et al., 2007 e Bezerra et al, 2008*) usada para otimizar

os parâmetros e avaliar os efeitos principais, assim como interações, da separação de ATE, MET e PRO por HPLC-FLD. Em trabalho prévio (pré-planejamento, resultados não apresentados) foi otimizado o fluxo (mL min^{-1}), a concentração da fase orgânica (Acetonitrila) e pH da solução tampão por BBD.

O planejamento experimental baseado em BBD tem uma característica geométrica cúbica onde os pontos experimentais estão localizados no centro de cada linha do cubo (Figura 5), além de replicatas do ponto central, apresentando a característica de não oferecer experimentos em pontos extremos do cubo. Deste modo, escolheu-se BBD, pois uma comparação entre BBD e outras metodologias de superfície de resposta, tais como Planejamento Composto Central (CCD), *Doehlert Matrix* e planejamentos fatoriais completos de 3 níveis, mostram que BBD é levemente superior a CCD e *Doehlert Matrix* e mais eficiente que planejamentos completos para a otimização de processos (Ferreira et al., 2007).

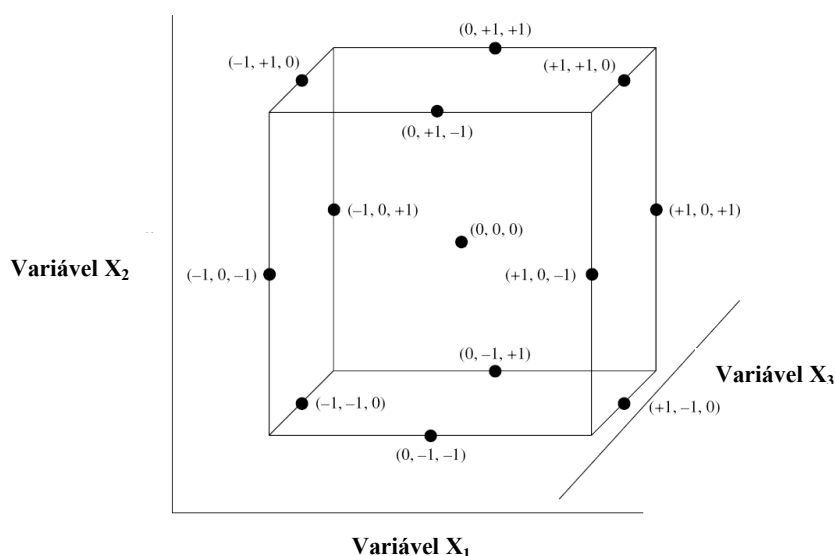


Figura 5. Distribuição geométrica cúbica dos pontos experimentais do modelo de planejamento experimental por *Box-Behnken Design* para 3 variáveis. Adaptado de Armstrong (2006).

O modelo não linear da otimização por BBD é dado pela Equação polinomial 6.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=0}^3 \beta_i X_i + \sum_{j=0}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=0}^3 \sum_{j=0}^3 \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (6)$$

Onde y é a resposta medida associada a cada combinação de níveis das variáveis. β_0 é o intercepto, β_i é o coeficiente de regressão computado dos valores experimentais de y , X_i é o código das variáveis independentes referentes, linear ou quadrático. Os termos $X_i \cdot X_j$ e X_i^2 representam a interação e os termos quadráticos, respectivamente e ε é o erro randômico associado. O número de experimentos foi calculado de acordo com a Equação 7.

$$N^{\circ} \text{ de Exp.} = 2 \cdot K(K - 1) + C_p \quad (7)$$

Onde K é o número de variáveis (fatores) e C_p é o número de replicatas do ponto central (Ferreira et al., 2007a; Bezerra et al., 2008).

Como variáveis independentes para a otimização foram escolhidos o pH em valores mais próximos ao ótimo determinado por pré-planejamento, a força iônica do tampão (mmol L^{-1}) e a temperatura da coluna ($^{\circ}\text{C}$), consistindo de planejamento com 3 variáveis, 1 bloco e 15 experimentos. As variáveis e os níveis estudados são mostrados na Tabela 5.

6.2 Resultados e Discussão

Em um primeiro momento fez-se uma triagem avaliando a resposta cromatográfica variando fluxo (mL min^{-1}), pH (5-9) e a porcentagem da fase orgânica (Acetonitrila) frente ao tampão Formiato (dados não apresentados). Desta triagem obtiveram-se as melhores respostas, isto é, boa resolução em um menor tempo de análise, para pH 5, fluxo de 1 mL min^{-1} e 40% de Acetonitrila.

Assim as variáveis escolhidas foram pH (3-7), temperatura da coluna (25-35 $^{\circ}\text{C}$) e a força iônica do tampão (10-30 mmol L^{-1}). O tampão escolhido para a faixa de estudo foi ácido fórmico-formiato de sódio, que, para pH 7, foi ajustado com solução 1 mol L^{-1} de NaOH. A resposta para a resolução entre os picos de ATE e MET e entre MET e PRO podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5. Variáveis Investigadas, níveis estudados e a resolução entre os picos da otimização por *Box-Behnken Design* da separação cromatográfica de ATE, MET e PRO por HPLC-FLD.

Cód.	Variáveis ↓	Níveis →			
		- 1	0	+1	
X ₁	pH	3	5	7	
X ₂	Temp. da Coluna ($^{\circ}\text{C}$)	25	30	35	
X ₃	Força iônica do Tampão (mmol L^{-1})	10	20	30	
Exp.	pH	Temp. da Coluna ($^{\circ}\text{C}$)	Tampão (mmol L^{-1})	Resolução Ate-Met	Resolução Met-Pro
1	3(-1)	25 (-1)	20 (0)	1,135	0,907
2	7 (1)	25 (-1)	20 (0)	2,082	1,586
3	3 (-1)	35 (1)	20 (0)	1,108	1,602
4	7 (1)	35 (1)	20 (0)	1,735	1,100
5	3 (-1)	30 (0)	10 (-1)	1,885	1,703
6	7 (1)	30 (0)	10 (-1)	2,368	1,543
7	3 (-1)	30 (0)	30 (1)	0,904	0,945
8	7 (1)	30 (0)	30 (1)	2,057	1,576
9	5 (0)	25 (-1)	10 (-1)	2,197	1,624
10	5 (0)	35 (1)	10 (-1)	1,896	1,313
11	5 (0)	25 (-1)	30 (1)	1,083	1,018
12	5 (0)	35 (0)	30 (1)	1,64	1,573
13	5 (0)	30 (0)	20 (0)	1,342	1,151
14	5 (0)	30 (0)	20 (0)	1,414	1,171
15	5 (0)	30 (0)	20 (0)	1,383	1,162

Antes da injeção das amostras ($n = 6$), a coluna analítica foi equilibrada isocriticamente por pelo menos 20 min com a composição da fase móvel em estudo.

6.2.1 Otimização da separação por Box-Behnken Design

Para avaliar os mais importantes efeitos e interações, a verificação do modelo que melhor se ajusta aos resultados foi feita pela determinação do r^2 e por análise de variância (ANOVA) usando o software STATISTICA 8 (StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (*data analysis software system*), version 8.0, www.statsoft.com). O modelo escolhido envolveu todas as interações, linear e quadrática usando SS residual para calcular o erro do modelo. As tabelas de ANOVA para os dois modelos podem ser observadas no Apêndice B (Tabela 26 e Tabela 27). O efeito das variáveis pode ser visto na Figura 6, na forma de diagrama de Pareto.

O r^2 para ambos os modelos foi de 0,9817 e 0,9733 para $R_{S_{Ate-Met}}$ e $R_{S_{Met-Pro}}$, respectivamente, evidenciando o ajuste do modelo estudado e as equações de regressão podem ser observadas nas Equações 8 e 9.

$$R_{S_{Ate-Met}} = 5,945 - 0,02X_1 - 0,326X_3 + 0,003X_3^2 - 0,008X_1X_3 + 0,004X_2X_3 \quad (8)$$

$$R_{S_{Met-Pro}} = 2,79 + 0,481X_1 - 0,265X_3 + 0,0018X_3^2 - 0,03X_1X_2 + 0,01X_1X_3 + 0,004X_2X_3 \quad (9)$$

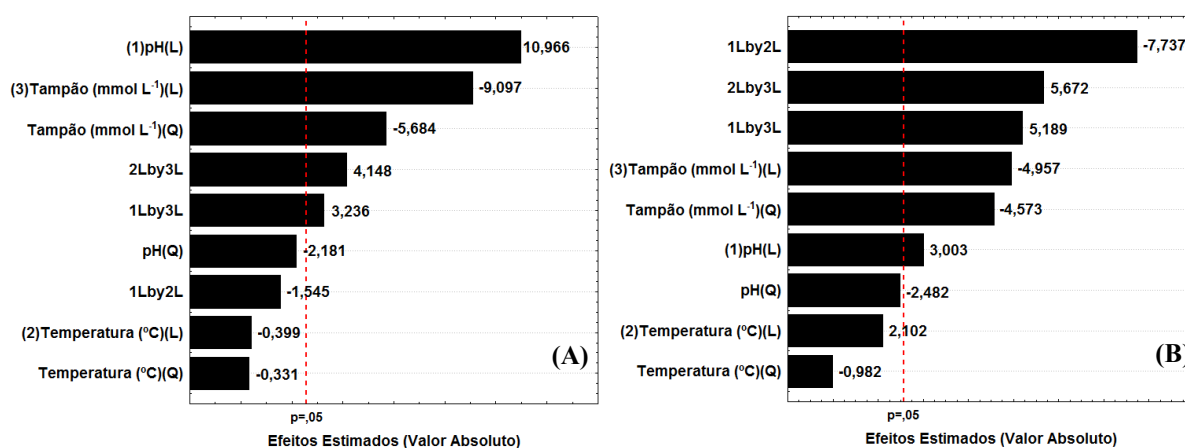


Figura 6. Diagrama de Pareto para os efeitos estimados $R_{S_{Ate-Met}}$ (A) e $R_{S_{Met-Pro}}$ (B). Linha vertical no diagrama define o nível de 95% de confiança, (L) significa variável linear e (Q) significa variável Quadrática.

Como pode ser observado na Figura 6 a maioria das variáveis apresentou influência sobre a resolução entre os picos dos β -bloqueadores. Para a $R_{S_{Ate-Met}}$ a variável independente de maior efeito foi o pH, seguido pela força iônica do tampão, enquanto que a temperatura não apresentou nenhum efeito sobre a separação cromatográfica dentro do intervalo estudado.

Para $RS_{Met-Pro}$, a interação entre pH e temperatura foi o efeito mais significativo, já a variável independente que mais afeta a separação é a força iônica do tampão, seguido pelo pH. Assim como para a $RS_{Ate-Met}$ a temperatura não apresentou efeito sobre a separação.

A interação entre as variáveis para separação entre Atenolol e Metoprolol pode ser observada na Figura 7. A separação ideal desejada, ou seja, Rs de 1,5 a 1,8 no menor tempo de corrida para a melhor resposta global (dados não apresentados), foi encontrada, de acordo com a Figura 7, para pH entre 4,5-5,5, tampão entre 15 e 25 $mmol L^{-1}$ e temperatura em torno de 30 °C. Para a resposta global do Atenolol (dados não apresentados) a maior resposta global foi encontrada em pH do tampão formiato entre 4 e 6, temperatura de próxima a 30 °C e em pH do tampão formiato entre 4 e 6.

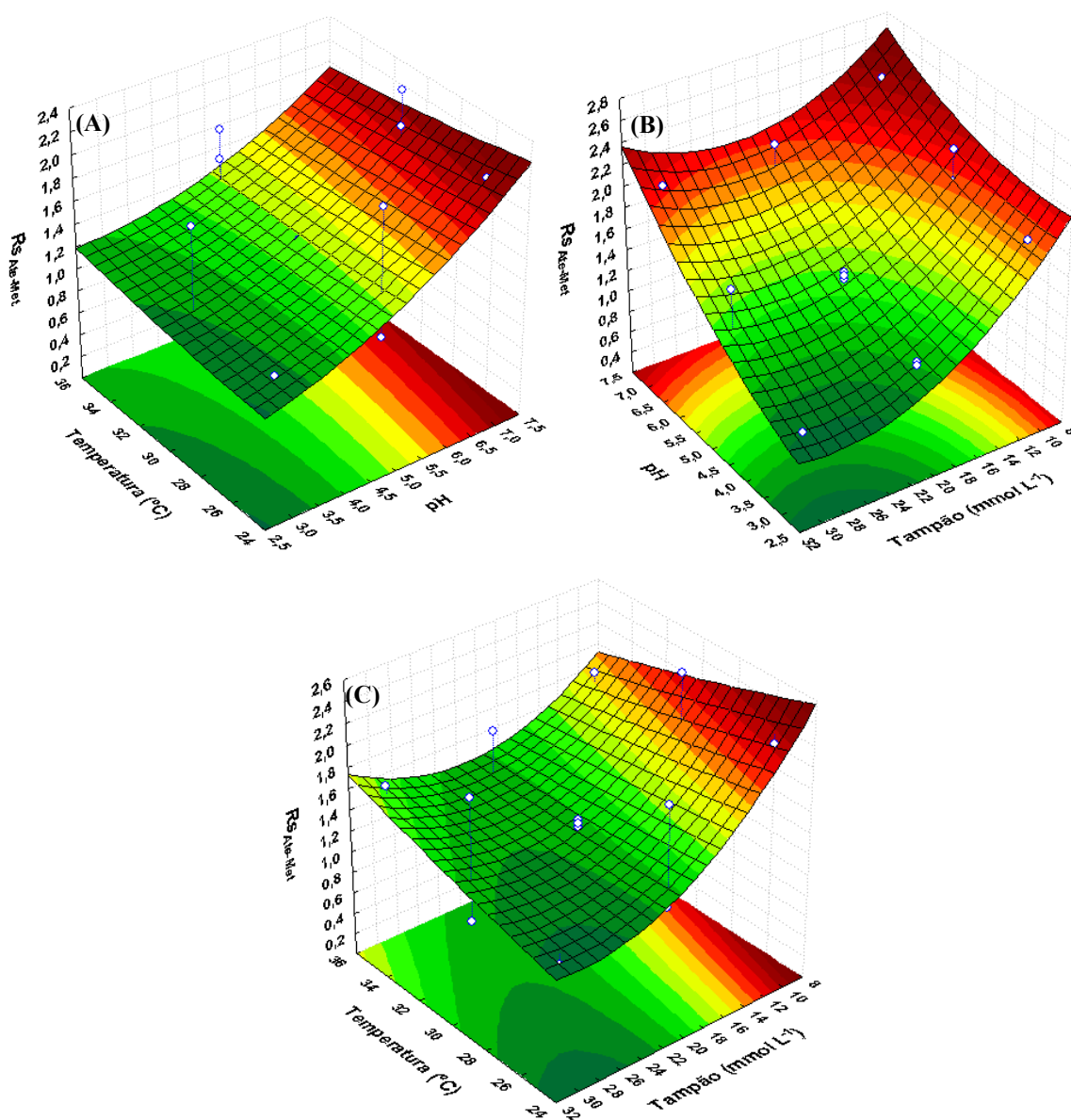


Figura 7. Superfície de Resposta para $RS_{Ate-Met}$. (A) pH vs Temperatura (°C), (B) pH vs Tampão ($mmol L^{-1}$) e (C) Temperatura (°C) vs Tampão ($mmol L^{-1}$).

Para o Metoprolol a melhor R_g (dados não apresentados) foi alcançada entre pH 3 e 4 para concentrações de tampão entre 20 e 30 mmol L^{-1} , porém a temperatura não mostrou influência significativa ($> 95\%$ de confiança). As condições da R_g para o Propranolol foram em pH 3, Temperatura da coluna de 30 $^{\circ}\text{C}$ e concentração do tampão de 30 mmol L^{-1} .

As interações entre as variáveis para $R_{S_{\text{Met-Pro}}}$ estão plotadas na Figura 8. Como pode ser visto as resoluções desejadas, isto é, entre 1,5 e 1,8 foram encontrada em pH entre 5,5 e 7 para temperatura abaixo de 30 $^{\circ}\text{C}$ e pH entre 3 e 5 para temperaturas acima de 30 $^{\circ}\text{C}$. A força iônica do tampão mostrou uma relação em função do pH onde as melhores resoluções foram averiguadas em concentrações abaixo de 20 mmol L^{-1} .

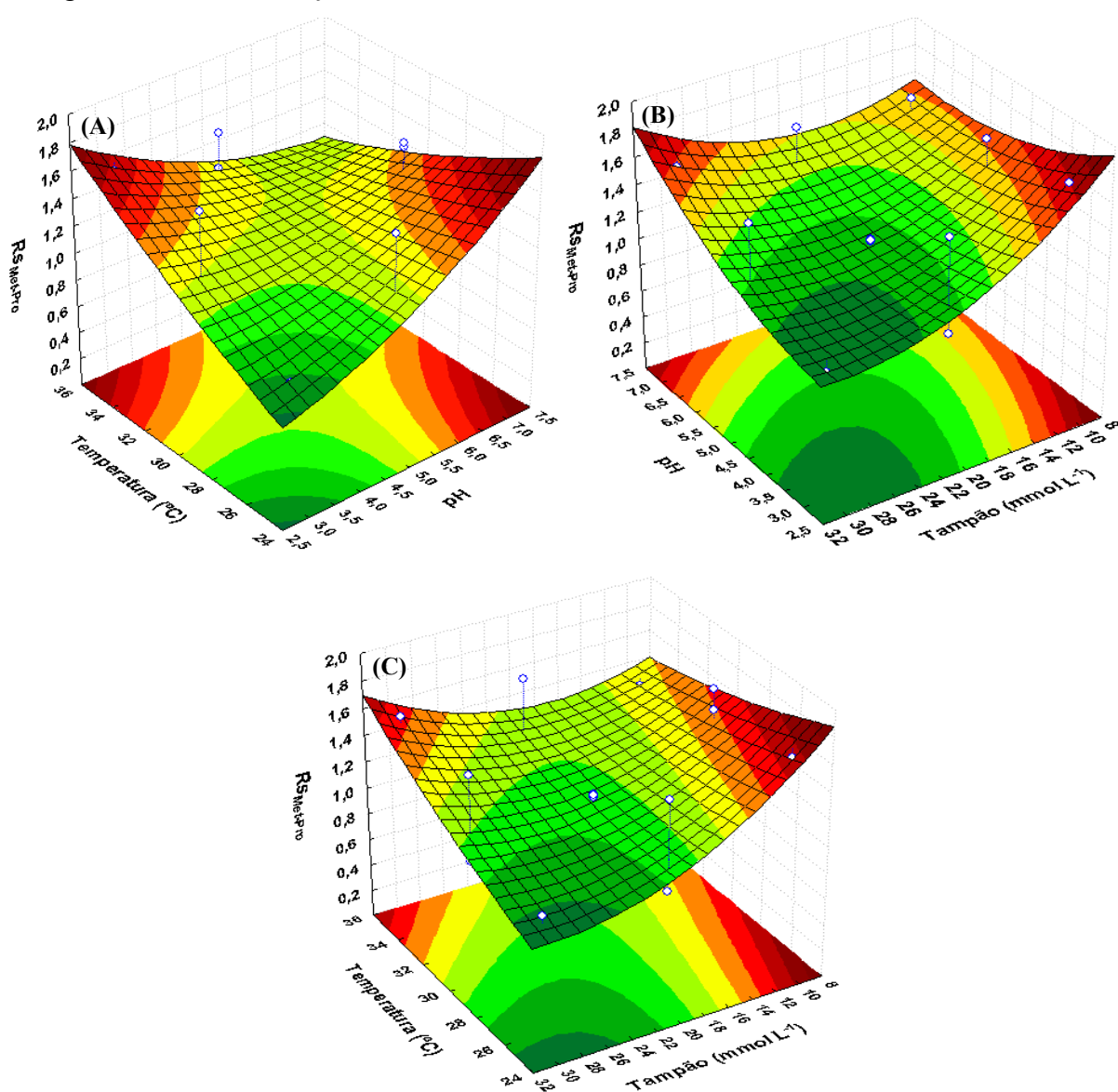


Figura 8. Superfície de Resposta para $R_{S_{\text{Met-Pro}}}$. (A) pH vs Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), (B) pH vs Tampão (mmol L^{-1}) e (C) Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) vs Tampão (mmol L^{-1}).

Avaliando-se a interação entre a temperatura e a força iônica do tampão, as melhores resoluções encontradas foram independentes da temperatura da coluna quando a concentração de tampão foi abaixo de 15 mmol L^{-1} . Para temperaturas mais elevadas ($30\text{-}35 \text{ }^\circ\text{C}$) a resolução desejada foi encontrada para concentrações de tampão de 30 mmol L^{-1} .

ATE, MET e PRO possuem a característica de apresentar pK_a de 9,6, 9,7 e 9,5, respectivamente (Figura 2). Com essa característica físico-química, em pH abaixo de 7 essas substâncias possuem o grupamento amina secundária positivamente carregado, o que confere menor interação entre os analitos e a fase estacionária apolar. Também nessas condições o Atenolol, que ainda apresenta o menor coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{ow}$ 0,16) tende a eluir primeiro com menor interferência na forma do pico em função do pH e da força iônica, isto é, alargamento e “*tailing*”. Metoprolol que possui $\log K_{ow}$ de 1,69 sofre influência maior da força eluotrópica, comparado ao Atenolol.

O PRO possui o maior coeficiente de partição dentre os três β -bloqueadores estudados quando protonado ($\log K_{ow}$ -2,15), essa característica confere, então, ao Propranolol uma maior interação com a fase estacionária apolar. Ademais, PRO foi o que mais sofreu interferência do pH do tampão e da força iônica. Em pH 7, PRO apresentou alargamento do pico e em pH mais ácidos o pico mostrou-se mais estreito, evidenciando a melhor R_g nesse pH. Assim, apesar da resolução apresentada ser maior em pH 7, esse pH foi descartado.

6.2.2 Otimização

O perfil dos valores preditos e a opção de desejabilidade são usados para processos de otimização (Ferreira et al., 2007a; Ferreira et al., 2007b; Khodadoust & Hadjmohammadi, 2011; Sivakumar et al., 2007). Plotando a desejabilidade das respostas, especificando os graus de liberdade para cada variável e assumindo a escala de desejabilidade de 0 (indesejável) a 1 (muito desejável), para a menor resolução $RS_{Ate-Met}$ de 0,90 (mínimo), 1,63 (média) e 2,37 (máximo), respectivamente, pode-se chegar aos valores otimizados.

Como o valor desejado para a separação em um tempo de análise menor que 15 min e com a melhor R_g , a resposta de desejabilidade foi ajustada para o entorno de valores médios da $RS_{Ate-Met}$. Observando a (A), as variáveis que se ajustam em torno deste ponto são pH 5, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 20 mmol L^{-1} de tampão formiato.

Para a $RS_{Met-Pro}$ os valores de desejabilidade foram 0,9 (mínimo), 1,30 (médio) e 1,70 (máximo), deste modo os valores de desejabilidade foram ajustados para o máximo, ou seja, 1. Como pode ser visto Figura 9 (B), os valores ótimos foram pH 7, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e 15 mmol L^{-1} de

tampão formiato. Embora a maior $RS_{Met-Pro}$ tenha sido encontrada em pH 7, nesse pH PRO apresentou alargamento de pico.

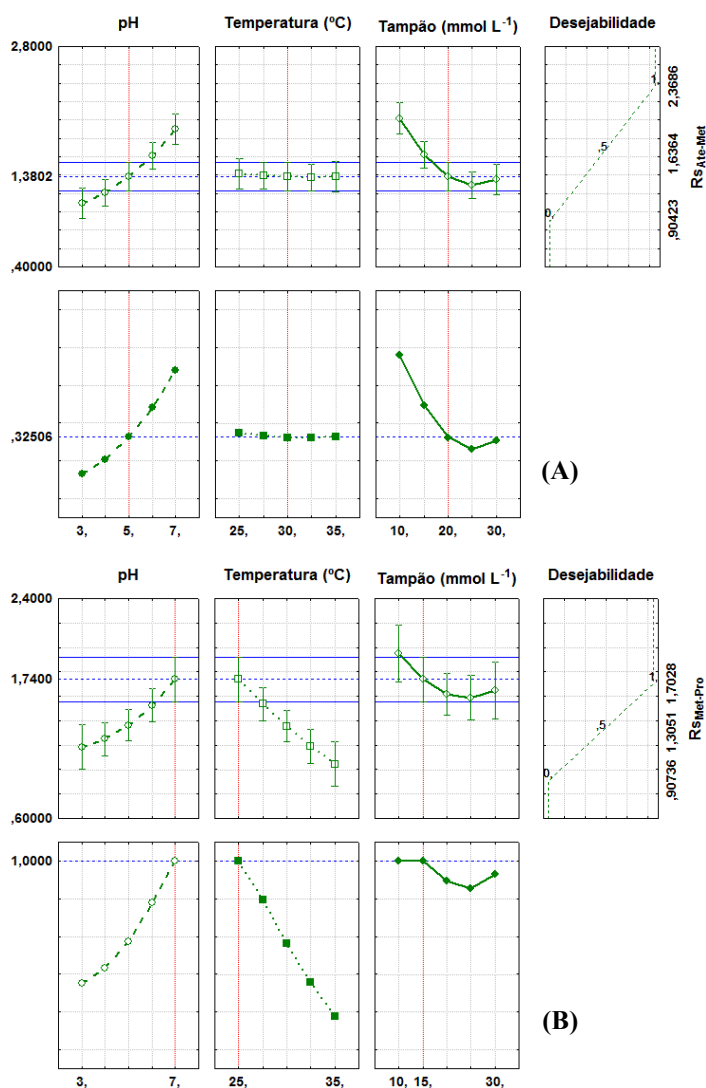


Figura 9. Perfis para os valores preditos e a função de desejabilidade para a (A) $RS_{Ate-Met}$ e (B) $RS_{Met-Pro}$ após otimização.

Os valores de desejabilidade para a R_g de Atenolol foram pH 5, 35 °C e 15 mmol L⁻¹, para a R_g de Metoprolol foram pH 4, 30 °C e 30 mmol L⁻¹ e para R_g do Propranolol foram pH 3, 30 °C e 30 mmol L⁻¹ (dados não apresentados).

Com base nesses dados, os valores das variáveis escolhidas foram pH 4, 30 °C de temperatura da coluna e 20 mmol L⁻¹ de tampão ácido fórmico-formiato de sódio, assim resolução $RS_{Ate-Met}$ e $RS_{Met-Pro}$ de 1,6 e 1,7, respectivamente.

Requerimentos cromatográficos fizeram com que o método fosse alterado para gradiente usando os mesmos parâmetros otimizados acima. A fase móvel usada foi (A) tampão formiato 20 mmol L⁻¹ pH 4 e (B) Acetonitrila como segue: 0-1 min fluxo isocrático com 5% de B, 1-4 min gradiente linear de 5-40% B; 4-10 min fluxo isocrático de 40% B; 10-

11 min gradiente linear de 40-10% B e por fim 11-15 min de fluxo isocrático com 5% de B para equilibrar a coluna. O fluxo, como já otimizado anteriormente foi de 1 mL min⁻¹ com volume de injeção de 50 µL.

6.2.3 Validação

O método de separação otimizado foi, então, validado para a quantificação de ATE, MET e PRO de acordo com *International Conference on Harmonization* (ICH 2005). A capacidade do método em medir a resposta de ATE, MET e PRO foi analisado e como já descrito, a separação entre os analitos obteve uma resolução acima de 1,5. A pureza dos picos foi averiguada pelo detector DAD e as respostas encontradas foram 0,999, 0,9997 e 0,998 para Atenolol, Metoprolol e Propranolol, respectivamente.

A linearidade das curvas de calibração (área vs concentração) foram estabelecidas para o intervalo de 10-300 µg L⁻¹ compreendendo 8 níveis. Esse intervalo foi escolhido, pois abrange as concentrações previstas na Tabela 4 para um fator de pré-concentração de 50 vezes.

A linearidade, além de ser avaliada pelo ajuste das curvas (r^2), foi também validada por ANOVA. Para os três analitos investigados as curvas de calibração submetidas à teste F de Fischer, apresentaram-se lineares tanto para a regressão, quanto para o teste de falta de ajuste (*Lack of fit test*) (Feinberg e Raguènès, 1999). Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram estimados pela razão sinal ruído de acordo com as Equações 10 e 11 (Kazakevich & LoBrutto, 2007).

$$LOD = C_s \cdot \frac{3}{S/N} \quad (10)$$

$$LOQ = C_s \cdot \frac{10}{S/N} \quad (11)$$

Onde C_s é a concentração do analito injetada e S/N é a razão sinal ruído. LOD e LOQ do método otimizado podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6. Figuras de mérito para o método de HPLC-FLD otimizado.

Analitos	Linearidade (µg L ⁻¹)	Slope ± sd	Intercepto ± sd	r^2 ± sd	LOD (µg L ⁻¹)	LOQ (µg L ⁻¹)
Atenolol	10-300	8,01e-5 ± 2,2e-6	-2,655 ± 1,390	0,9994 ± 0,0005	1,79	5,96
Metoprolol	10-300	6,38e-5 ± 1,63e-6	-1,668 ± 0,337	0,9993 ± 0,0004	2,20	7,35
Propranolol	10-300	5,84e-5 ± 2,17e-6	0,717 ± 0,117	0,9994 ± 0,0004	2,38	7,94

7 Otimização de extração em fase sólida (SPE) de β -bloqueadores em efluente hospitalar por Metodologia de Superfície de Resposta

Alguns estudos sobre a determinação de β -bloqueadores utilizaram de extração em fase sólida (SPE) para determinação de β -bloqueadores, porem nenhuma otimização das variáveis de extração por SPE foi feita (Gómez et al., 2006; Lee et al., 2007; Vieno et al., 2006).

A SPE tem um grande número de variáveis tais como: fluxo, composição e quantidade dos solventes para a eluição e condicionamento. Essas variáveis constituem várias etapas experimentais, que devem ser otimizadas (Camel, 2003; Pavlović et al., 2007)

Quando estas variáveis são estudadas separadamente, ou seja, univariadamente, é necessário uma grande quantidade de experimentos para o processo de otimização. Portanto, a avaliação da influência destes diferentes parâmetros é de grande interesse para o desenvolvimento de métodos e também para a otimização de processos.

Uma primeira abordagem para a otimização de um método por SPE requer prévio conhecimento sobre a retenção das moléculas-alvo com o sorvente a ser usado, a neutralidade, $\log K_{ow}$, etc. Esta informação pode ser obtida de um estudo preliminar sobre a interação entre as moléculas e o sorvente escolhido (Pavlović et al., 2007).

Como Efluente Hospitalar (EH) se caracteriza por sua complexa matriz, que interfere nas análises de microcontaminantes como fármacos, a eliminação destes interferentes foi considerada e a técnica mais usada para *clean-up* (limpeza) e pré-concentração é SPE. A otimização da extração de ATE, MET e PRO de amostras de EH foi feita primeiramente apenas em amostras de soluções padrões em água, considerando a interação entre os compostos estudados e o sorvente escolhido. O sorvente escolhido para o presente estudo foi o sorvente apolar C18 ec (*endcapped*), de uso comum e barato comparado a sorventes mistos, como Oasis HLB[®].

Os sorventes apolares possuem a características de reter compostos apolares e, conseqüentemente, os compostos a serem extraídos devem possuir a mesma característica. Como β -bloqueadores possuem características distintas em função do pH, este parâmetro foi otimizado. A retenção dos compostos sobre o sorvente depende, também, de um bom condicionamento, isto é, o sorvente deve possuir características parecidas com a dos compostos a serem retidos, assim na etapa de condicionamento o pH também foi considerado como um parâmetro. Outra etapa importante de procedimentos de SPE é a lavagem, que de uma maneira deve eliminar possíveis interferentes, enquanto que os analitos ficam retidos.

A eluição também é uma etapa importante em SPE e nesta etapa o fator eluotrópico combinado com a desestabilização das interações formadas na etapa de adição da amostra é o fator que determina a extração dos compostos de interesse.

Considerando, então, essas etapas juntamente com as características dos β -bloqueadores, as variáveis a serem otimizadas foram o pH da amostra (7-11), pH da H₂O nas etapas de condicionamento e lavagem (7-11) e a percentagem de metanol (60-100%) em mistura com acetonitrila e ácido fórmico.

O objetivo deste estudo foi otimizar um procedimento de SPE, visando *clean-up* e pré-concentração, para a determinação de β -bloqueadores em amostras de efluente de alta complexidade, como efluente hospitalar.

7.1 Materiais e Métodos

7.1.1 Materiais e reagentes

O cromatógrafo, a coluna cromatográfica e os reagentes usados foram os mesmos descritos na seção 6.1.1. Para o estudo de otimização do método usou-se sistema a vácuo Chromabond[®] Manifold e cartuchos Chromabond[®] C18 ec (45 μ m, 60 A°), 200 mg/3 mL da Macherey-Nagel (www.mn-net.com). As amostras de efluente foram filtradas em filtro de nitrato de celulose de porosidade 0,45 μ m (Sartorius, www.sartorius.com), o que consistiu na maior demanda de tempo de análise devido ao longo tempo necessário para a filtração de amostra tão complexa.

7.1.2 Preparo das soluções padrão e procedimento para SPE

Atenolol, Metoprolol e Propranolol foram cuidadosamente pesados (10 mg), transferidos e dissolvidos em frasco volumétrico de 100 mL com (100 mg L⁻¹) com Água ultra pura (18,2 M Ω cm⁻¹). Desta solução foram preparadas as soluções para os testes com SPE e para curvas de calibração. Todas as soluções foram estocadas em refrigerador a 4 °C.

O procedimento geral (Figura 10) para a extração em fase sólida consistiu de condicionamento com 2 x de 3 mL de Hexano, 2 x de 3 mL de Metanol e 2 x de 3 mL de H₂O (nos pH estudados). Em seguida passou-se 4 mL de amostra (ATE, MET e PRO em diferentes pH estudados). Após lavou-se com 2 x de 3 mL de H₂O (nos pH estudados) e então deixou-se secar o cartucho com ar por 5 min. A eluição foi feita com 2 x de 2 mL nas diferentes percentagens de metanol na mistura com acetonitrila (CH₃OH:CH₃CN:Ác. Fórmico).

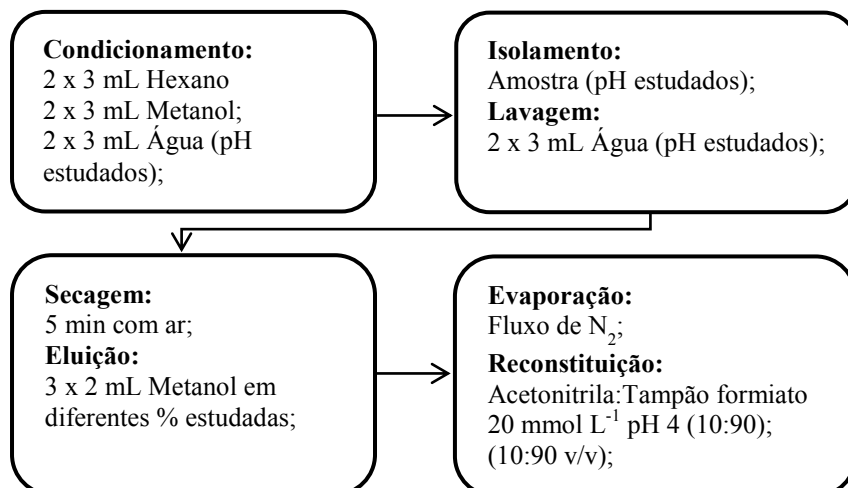


Figura 10. Procedimento geral de SPE adotado para clean-up e pré-concentração de ATE, MET e PRO..

Após a eluição o solvente foi evaporado a secura com fluxo de N_2 e reconstituído com 4 mL de fase móvel, fator de pré-concentração igual a 1. A concentração final foi de $200 \mu g L^{-1}$, concentração essa escolhida para verificar possíveis perdas por não retenção na etapa de passagem da amostra, ou na etapa de lavagem. Os experimentos foram conduzidos ordem randômica e em triplicata.

7.1.3 Condições cromatográficas

Conforme otimizado anteriormente na seção 6.2.2.

7.1.4 Metodologia de Superfície de Resposta (RSM)

Após definir os parâmetros mais importantes a serem otimizados, deve-se definir qual planejamento experimental é mais adequado para englobar um intervalo mais apropriado de variáveis para a otimização. Assim, surge como boa alternativa o uso da Metodologia de Superfície de Resposta (RSM), que engloba cinco níveis das variáveis ($-\alpha$, -1 , 0 , 1 , $+\alpha$) e o número total de experimentos pode ser calculado de acordo com a Equação 12 (Montgomery, 2001).

$$N^{\circ} \text{ de Exp.} = 2^k + 2 \cdot K + C_p \quad (12)$$

Onde K é o número de variáveis e C_p é o número de replicatas do ponto central. A porção 2^k consiste a parte fatorial do planejamento, enquanto que $2K$ se refere à parte axial (Figura 11). O valor de α é o valor da parte axial da RSM e pode ser calculado de acordo com a Equação 13 (Montgomery, 2001).

$$\alpha = 2^{(k-p)/4} \quad (13)$$

Para o planejamento com 3 variáveis o valor de α é 1,683, mas com o objetivo de trabalhar com pontos axiais mais adequados experimentalmente ao planejamento optou-se por deslocar o ponto axial para $\alpha = 2$.

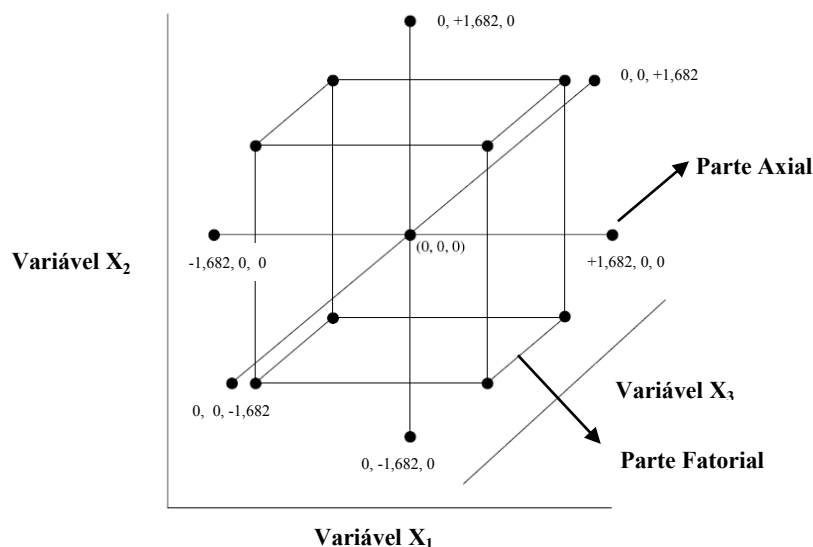


Figura 11. Distribuição geométrica cúbica dos pontos experimentais do modelo de planejamento experimental por Metodologia de Superfície de Resposta para 3 variáveis. Adaptado de Armstrong (2006).

O modelo não linear da otimização por RSM é dado pela Equação 14.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{1 \leq i < j}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (14)$$

Onde y é a resposta medida associada a cada combinação de níveis das variáveis. β_0 é o intercepto, β_i é o coeficiente de regressão computado dos valores experimentais de y , X_i é o código das variáveis independentes referentes, linear ou quadrático. Os termos $X_i X_j$ e X_i^2 representam a interação e os termos quadráticos, respectivamente e ε é o erro randômico associado.

Como os β -bloqueadores apresentam pKa próximo a 9 e, conseqüentemente, neste valor de pH estas moléculas se apresentam neutras (Figura 2), o que facilita a interação com sorvente C18 ec, também apolar (Hernando et al., 2007) o intervalo de variáveis escolhido foi de pH 7-11. Píram et al. (2008) estudaram a separação por SPE de corticosteroides, substâncias apolares, e β -bloqueadores usando sorvente Oasis MCX. Os autores encontraram os melhores resultados usando 95% de metanol alcalino.

As variáveis escolhidas para a otimização da extração em fase sólida foram o pH da água nas etapas de condicionamento e lavagem do SPE, o que interfere na adsorção dos analitos sobre o sorvente, por interações de van der Waals, interações dipolo-dipolo; pH da amostra, que confere ao analito características polares ou apolares, e a percentagem de

metanol na mistura com acetonitrila e ácido fórmico na etapa de eluição. A recuperação foi calculada de acordo com a Equação 15.

$$Rec. (\%) = \left(\frac{B_A}{B_B} \right) \cdot 100 \quad (15)$$

Onde B_A é a área do pico medida após a extração por SPE e B_B é a área do pico do analito usado para o procedimento de SPE.

7.1.5 Estimativa do Volume de Saturação (*breakthrough*)

A estimativa do volume de saturação (*breakthrough*) testa a capacidade volumétrica máxima em que sorvente retém o analito sem grandes perdas de recuperação (Hennion, 1999; Gros et al., 2008). Essa avaliação, no presente estudo foi feita com diferentes concentrações dos analitos diluídos em diferentes volumes de 0 a 1000 mL para soluções aquosas e de 0 a 200 mL para o efluente, para avaliar o volume de efluente a ser usado sem apresentar grandes perdas na recuperação.

Para soluções aquosas a concentração final foi ajustada para $100 \mu\text{g L}^{-1}$, ou seja, as concentrações foram para 50 mL ($4 \mu\text{g L}^{-1}$), 100 mL ($2 \mu\text{g L}^{-1}$), 200 mL ($1 \mu\text{g L}^{-1}$), 500 mL ($0,2 \mu\text{g L}^{-1}$) e 1000 mL ($0,1 \mu\text{g L}^{-1}$).

As amostras compostas dos diferentes efluentes foram coletadas no dia anterior ao teste. As coletas foram feitas de hora em hora das 8:00 as 20:00, perfazendo 13 h de coleta. As amostras foram pré-filtradas em papel filtro $45 \mu\text{m}$ e, posteriormente, filtradas em filtro de nitrato de celulose de $0,45 \mu\text{m}$ acondicionadas em frasco âmbar a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ no escuro. O pH foi ajustado para 9 com NaOH 6 mol L^{-1} apenas antes do teste. Os testes foram feitos em triplicata e, no caso das amostras de efluente, uma quarta amostra foi preparada sem adição dos analitos para verificar a presença destes no efluente.

7.2 Resultados e Discussão

7.2.1 Extração em fase sólida (SPE)

As variáveis, assim como os respectivos níveis estudados e a recuperação dos analitos pode ser observado na Tabela 7. As replicatas para os três β -bloqueadores estudados apresentaram Desvio Padrão Relativo (RSD) abaixo de 10%.

As variáveis que exerceram influência sobre a extração dos β -bloqueadores podem ser vistas na Figura 12. Estatisticamente, para o Atenolol as variáveis estudadas não afetaram a recuperação, enquanto que para o Metoprolol o pH da amostra (Q) e a percentagem de Metanol (L) desempenharam um importante papel sobre a recuperação. As variáveis que

influenciaram sobre a extração de Propranolol foram o pH da amostra (Q), a percentagem de Metanol (L + Q), e o pH da água (L + Q) durante a etapa de condicionamento e lavagem.

Tabela 7. Planejamento experimental para a otimização das variáveis de extração em fase sólida por metodologia de superfícies de resposta (RSM) para os β -bloqueadores estudados e as respectivas respostas.

Item	Variáveis ↓	Níveis →				
		- α	-1	0	+1	+ α
X ₁	pH da amostra	7	8	9	10	11
X ₂	pH da H ₂ O	7	8	9	10	11
X ₃	CH ₃ OH (%)*	60	70	80	90	100
Exp.	pH da amostra	pH da H ₂ O	CH ₃ OH(%)	Rec. _{Atc} (%)	Rec. _{Met} (%)	Rec. _{Pro} (%)
1	8	8	70	98,7	88,9	83,9
2	8	8	90	91,4	95,6	91,6
3	8	10	70	98,2	85,3	73,5
4	8	10	90	101,8	95,7	89,4
5	10	8	70	97,7	91,9	82,5
6	10	8	90	99,9	96,3	89,4
7	10	10	70	94,9	82,9	66,9
8	10	10	90	95,5	90,2	83,9
9	7	9	80	84,6	78,3	69,5
10	11	9	80	94,8	88,1	78,8
11	9	7	80	96,1	90,9	84,7
12	9	11	80	93,9	90,9	80,7
13	9	9	60	96,6	81,9	64,4
14	9	9	100	97,7	94,5	86,5
15	9	9	80	99,2	95,1	95,7
16	9	9	80	94,7	91,2	95,4
17	9	9	80	98,9	97,4	95,0
18	9	9	80	95,5	96,9	95,7

* (%) de CH₃OH ácido na mistura de CH₃OH:CH₃CN:Ác. Fórmico.

A análise de variância (ANOVA) foi executada para determinar quais os fatores relevantes que afetam cada variável dependente de interesse. ANOVA é baseada em um modelo que dá a ideia das mudanças a serem esperadas nas diferentes respostas quando os efeitos das variáveis se tornam mais importantes.

Por meio de ANOVA estimou-se o efeito dos parâmetros de recuperação distinguindo se são ou não significantes. A ANOVA do modelo resultante da otimização multivariada para o Atenolol (Tabela 28, Apêndice C) reafirmou que nenhuma variável pode ser considerada estatisticamente influente sobre o processo de extração, isto é, independente das mudanças nas características físico-químicas estudadas à recuperação de Atenolol foi alta e, desta forma, o modelo de RSM não conseguiu distinguir as variáveis mais relevantes para a extração e recuperação de Atenolol. O r^2 para o modelo de RSM do Atenolol foi de apenas 0,6015, ou seja, 39,85% da variância total não foram explicados pelo modelo resultante, devido a variância do ponto central que foi de 5,3%.

A ANOVA para o Metoprolol (Tabela 29, Apêndice C) mostra que r^2 resultante foi de 0,8277, onde apenas 17,23% da variância total não foi explicada pelo modelo. O r^2 para o

modelo do Propranolol foi de 0,9297, indicando que somente 7,03% da variância total não foi explicada pelo modelo proposto (Tabela 30, Apêndice C). As equações quadráticas de regressão para os modelos de extração em fase sólida de Atenolol, Metoprolol e Propranolol podem ser vistas abaixo (Equação 16-18).

$$Rec_{Ate}(\%) = -93,718 + 43,983X_1 - 1,67X_1^2 + 15,97X_2 - 0,34X_2^2 - 2,08X_3 + 0,002X_3^2 - 2,135X_1X_2 + 0,0805X_1X_3 + 0,116X_2X_3 \quad (16)$$

$$Rec_{Met}(\%) = 455,786 + 71,79X_1 - 2,89X_1^2 + 22,73X_2 - 0,964X_2^2 + 2,835X_3 - 0,016X_3^2 - 1,456X_1X_2 - 0,071X_1X_3 + 0,082X_2X_3 \quad (17)$$

$$Rec_{Pro}(\%) = -843,68 + 104,27X_1 - 5,28X_1^2 + 44,94X_2 - 3,141X_2^2 + 6,40X_3 - 0,05X_3^2 - 1,05X_1X_2 + 0,004X_1X_3 + 0,23X_2X_3 \quad (18)$$

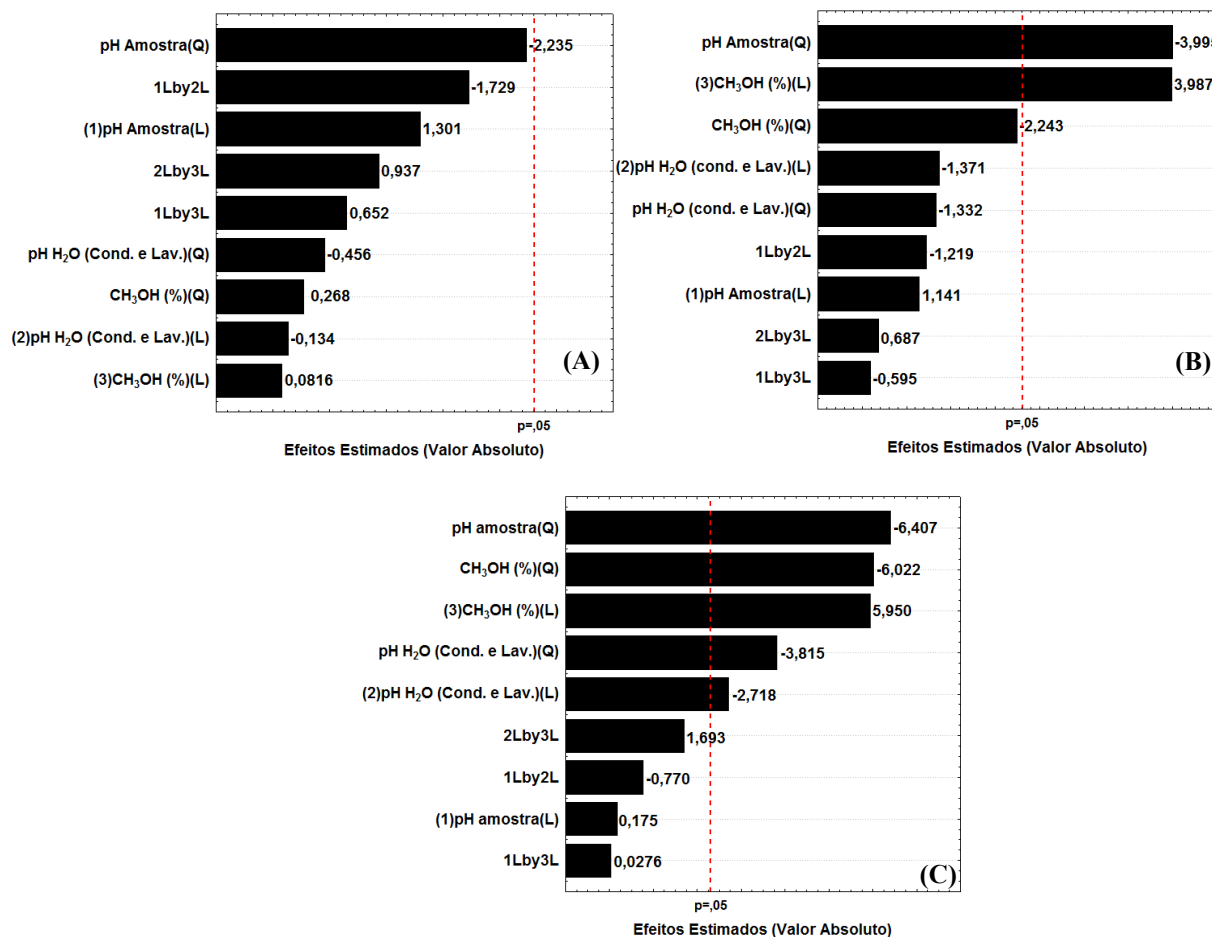


Figura 12. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) para a extração em fase sólida (SPE) de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol. Linha vertical no diagrama define o nível de 95% de confiança, (L) significa variável linear e (Q) significa variável Quadrática.

7.2.2 Superfície de Resposta para a Extração em Fase Sólida (SPE) de Atenolol, Metoprolol e Propranolol

Por meio da análise de superfícies de resposta (representados na forma de diagrama de contornos) para o Atenolol (Figura 13) pode-se afirmar que as maiores recuperações foram alcançadas quando o pH da amostra foi ajustado entre 9 e 11, enquanto que o pH da água durante a etapa de condicionamento foi ajustado entre 7 e 8,5, para pH da amostra entre 9 e 11, e pH entre 10 e 11, para pH da amostra entre 7,5 e 8,5.

A Figura 13 (B) mostra o perfil da interação entre a quantidade de metanol (%) e o pH da amostra. Pode-se observar que há também dois diferentes máximos, um para menores percentuais de metanol (55-65%) quando o pH da amostra foi ajustado entre 8 e 9,5 e outro para maiores percentuais de metanol (85-100%) para pH entre 9 e 10,5.

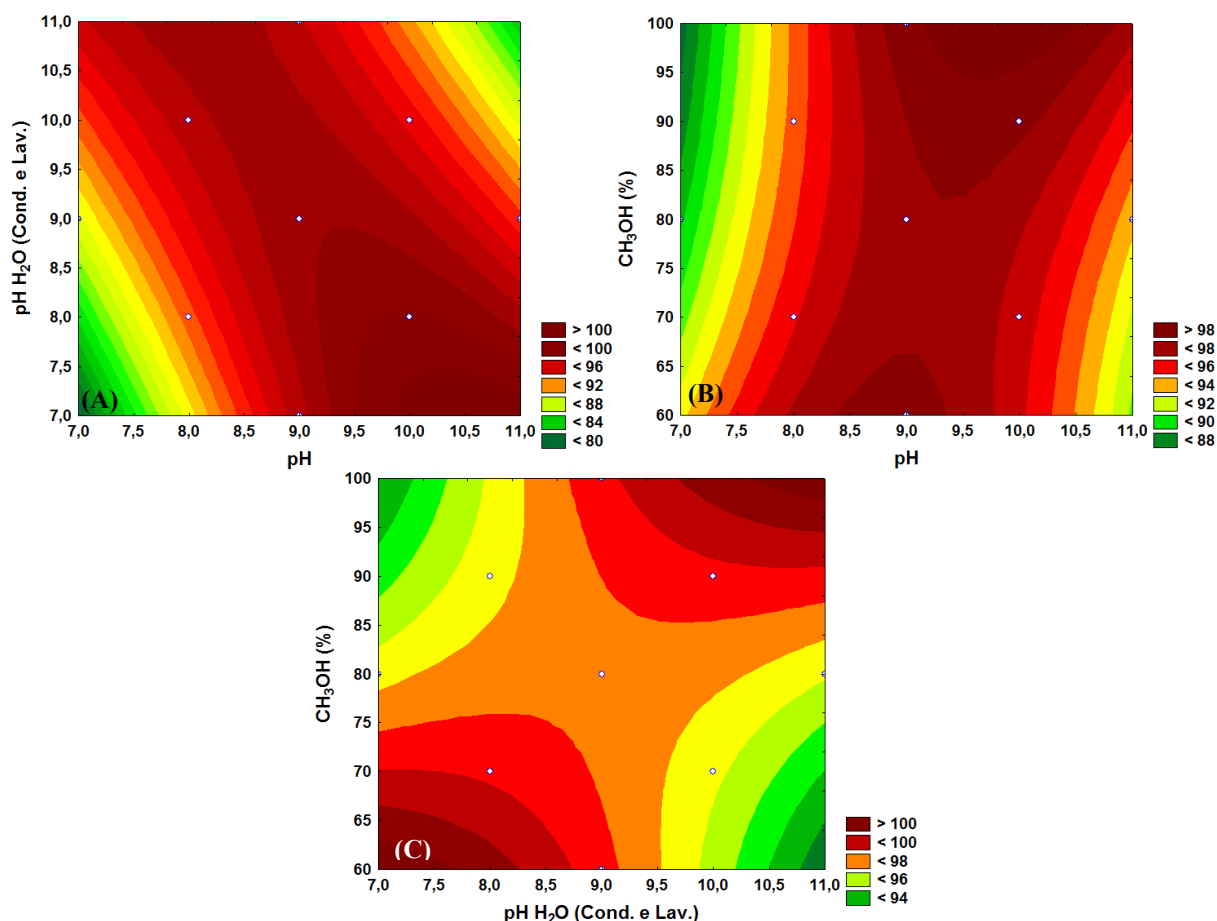


Figura 13. Diagramas de Contorno relacionados a recuperação de Atenolol por SPE. (A) pH da água no condicionamento vs pH da amostra, (B) metanol (%) vs pH da amostra e (C) metanol (%) vs pH da água no condicionamento.

A interação entre o percentual de metanol e o pH da água durante a etapa de condicionamento pode ser observado na Figura 13 (C). Pode-se, também, claramente observar dois máximos para extração do Atenolol. Um máximo de extração foi alcançado quando o

solvente foi condicionado com pH entre 6,5 e 7,5 para percentuais de metanol a etapa de eluição de 55 e 65%. Outro máximo de extração foi quando se condicionou o sorvente com pH entre 10 e 11,5 usando-se 95 a 100% de metanol para a eluição. A diferença entre esses dois máximos foi de apenas 2%. Os pontos de mínima extração revelam que tanto o condicionamento quanto a eluição dependem de características físico-químicas do composto e do sorvente.

Assim como na seção 6.2.2, os perfis das variáveis independentes em função da desejabilidade (Figura 14), para valores mínimos (0) e máximo (1) de recuperação do Atenolol, apontam que as melhores condições para extração em fase sólida de Atenolol foram: pH da amostra 9, pH da água na etapa de condicionamento entre 8 e 10; e percentuais de 60 ou 100% de metanol.

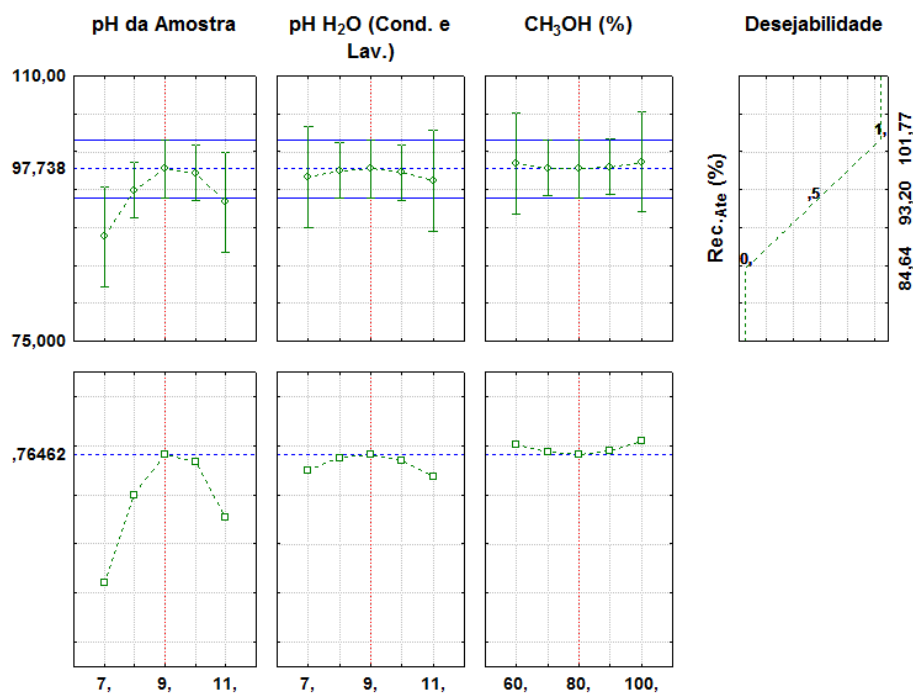


Figura 14. Perfil das variáveis independentes pH da amostra, pH da água na etapa de condicionamento e lavagem a percentagem de metanol na eluição relacionadas à desejabilidade da recuperação de Atenolol por SPE.

Para o Metoprolol, o comportamento das variáveis sobre a extração em fase sólida foi diferente ao encontrado para o Atenolol. A Figura 15 (A) mostra a interação entre o pH da amostra e o pH da água na etapa de condicionamento. Um máximo de recuperação pode ser visto quando se ajustou o pH da Amostra entre 8,5 e 10 enquanto que o pH da água na etapa de condicionamento do sorvente foi ajustado entre 8 e 9,5. Isso claramente mostra que o pKa do analito ($pK_a = 9,7$) determina a sua interação com o sorvente.

A Figura 15 (B) demonstra que as maiores extrações foram alcançadas quando o pH da amostra foi ajustado entre 8,5 e 10 para percentuais de metanol de 80 a 100%. Conclui-se

que, observando a Figura 15 (B), a força eluotrópica de $\text{CH}_3\text{OH}:\text{CH}_3\text{CN}$, combinado com o meio ácido, tende a desestabilizar as interações entre o Metoprolol e o sorvente apolar, resultando em maiores recuperações de Metoprolol.

O comportamento da interação entre a percentagem de metanol e o pH da água na etapa de condicionamento pode ser vista na Figura 15 (C) e assim como as outras interações, esta também apresenta um perfil quadrático com máximo de extração com percentuais de 80 a 95% de metanol e pH no condicionamento entre 8 e 9,5.

Apesar de o diagrama de Pareto não mostrar que o pH no condicionamento e lavagem exerce influência sobre a extração de Metoprolol com 95% de confiança, observando a Figura 15, e procedimentos gerais de SPE, nota-se que esse passo do processo determina como o sorvente estará físico-quimicamente preparado para interagir com o composto de interesse e, posteriormente, na lavagem não desestabilizará as interações formadas, o que ocasiona perdas de analito durante a lavagem do sorvente. Portanto, o comportamento observado para esse parâmetro foi muito similar ao comportamento do pH da amostra.

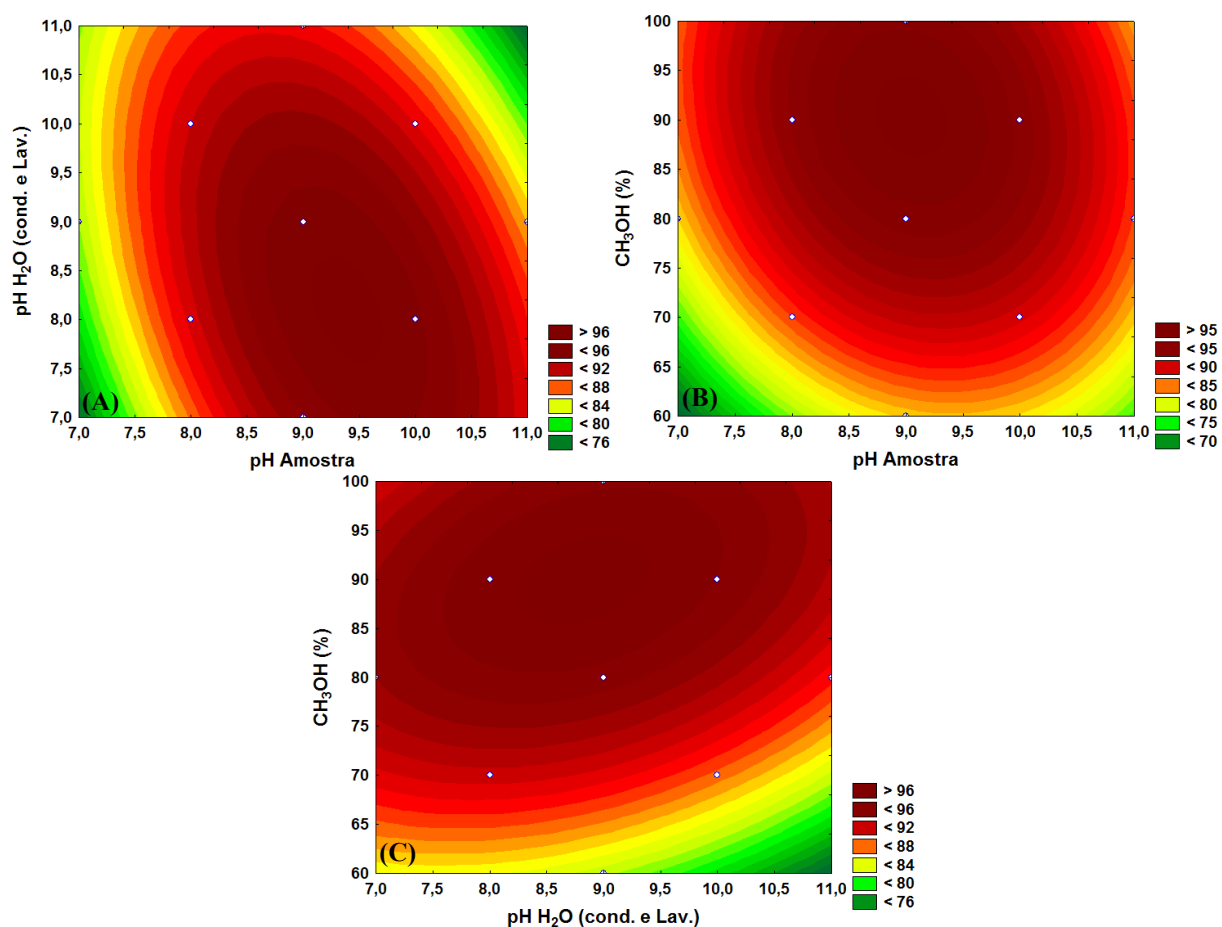


Figura 15. Diagramas de Contorno relacionados recuperação de Metoprolol por SPE. (A) pH da água no condicionamento vs pH da amostra, (B) metanol (%) vs pH da amostra e (C) metanol (%) vs pH da água no condicionamento.

Aplicando função de desejabilidade 1, para a máxima recuperação de Metoprolol, os valores otimizados a otimização podem ser observados na Figura 16. Analisando o perfil de cada variável associado a sua desejabilidade pode-se concluir que as condições ótimas para a extração-recuperação de Metoprolol foram quando se ajustou o pH da amostra para 9, o condicionamento e a lavagem do cartucho foram feitos com o pH da água também ajustado para 9 e percentual de 90% de metanol na mistura com acetonitrila (90:9,9:0,1 de CH₃OH:CH₃CN:Ác. Fórmico).

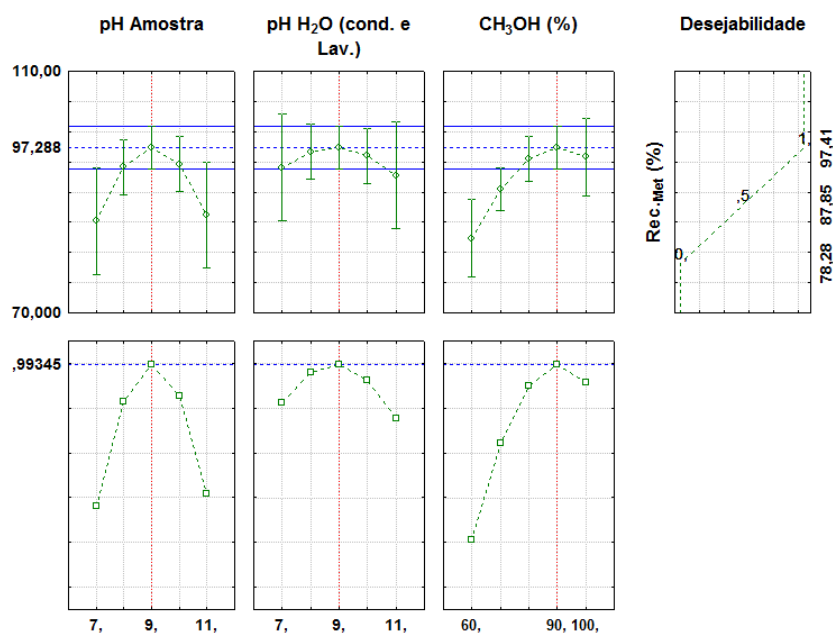


Figura 16. Perfil das variáveis independentes pH da amostra, pH da água no condicionamento e lavagem e a percentagem de metanol na eluição relacionadas à desejabilidade da recuperação de Metoprolol por SPE.

O Propranolol apresentou comportamento semelhante ao Metoprolol frente às variáveis para a extração em fase sólida. Observando a Figura 17 (A), o pH da amostra e o pH de condicionamento e lavagem possuem uma interação onde o máximo de recuperação foi alcançado quando o pH da amostra foi ajustado entre 8,5 e 9,5 e quando o sorvente foi condicionado e posteriormente lavado nas mesmas condições. Esse comportamento está, assim como para os outros β -bloqueadores, diretamente relacionado ao pK_a do composto, que para o Propranolol é de 9,53.

A Figura 17 (B) mostra a interação entre o pH da amostra e a percentagem de metanol na eluição. As melhores recuperações foram alcançadas quando se usou 80-95% de CH₃OH. Como também pode ser observado, a extração do Propranolol foi menor do que para o Atenolol e Metoprolol, o que, provavelmente, está relacionado ao fato de que o Propranolol possui um log K_{ow} de 3,48, o que indica uma maior interação com meios apolares, fase estacionária, do que com o eluente.

O pH da água para o condicionamento, diferentemente dos outros dois analitos, exerceu papel significativo no caso do Propranolol. O condicionamento do sorvente nas mesmas condições da amostra implicou nas maiores recuperações. Observando a Figura 17 (C), a interação entre o condicionamento e a eluição conduziu para as maiores recuperações quando o sorvente foi condicionado em pH entre 8 e 10 e lavado nas mesma condições sem desestabilizar as interações entre o sorvente e o analito, enquanto que a eluição foi feita com percentagens de metanol entre 75 e 95%.

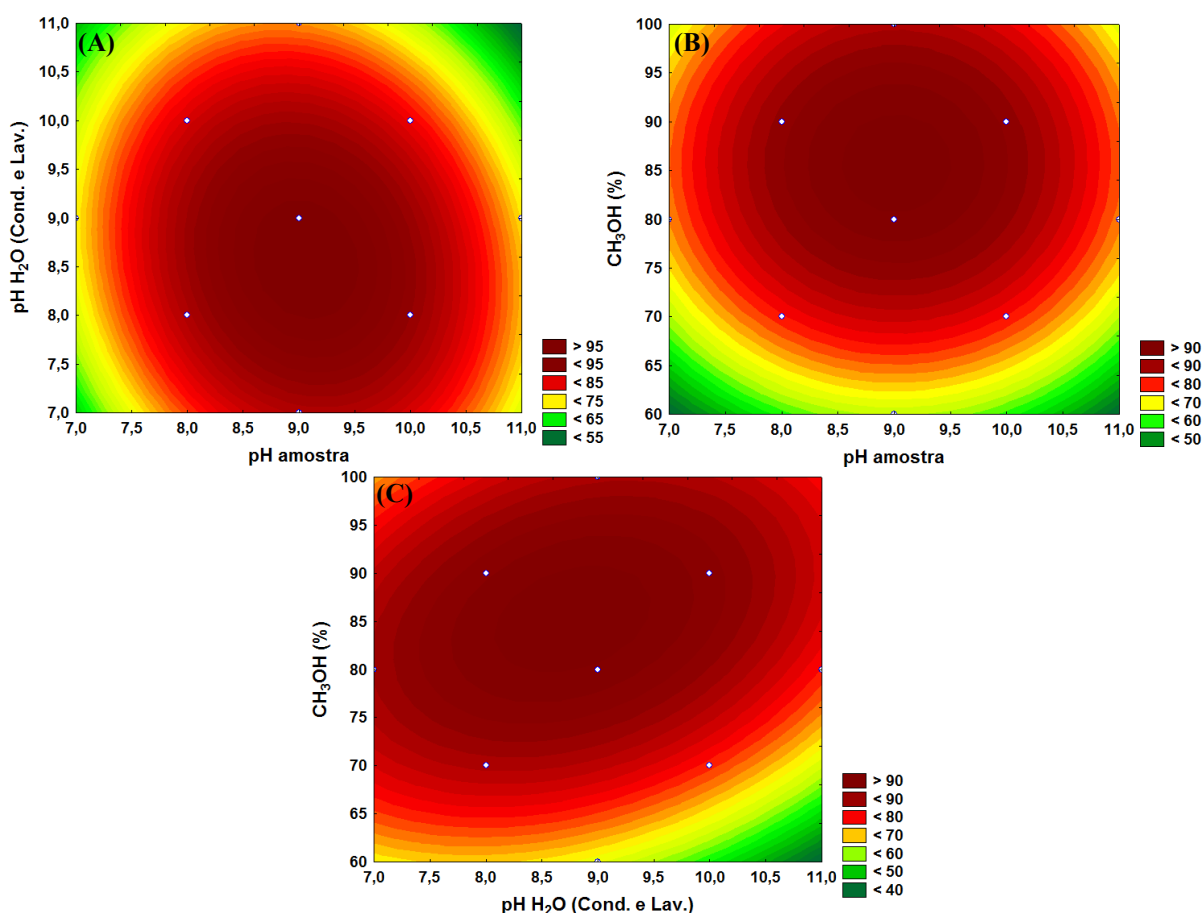


Figura 17. Diagramas de Contorno relacionados recuperação de Propranolol por SPE. (A) pH da água no condicionamento vs pH da Amostra, (B) metanol (%) vs pH da Amostra e (C) metanol (%) vs pH da água no condicionamento.

Da mesma forma que para os outros dois analitos, a função de deseabilidade foi aplicada para a otimização da extração-recuperação de Propranolol. A Figura 18 mostra claramente o que foi discutido acima.

Quando o sorvente foi condicionado, lavado e o pH da amostra foi ajustado para próximo ao valor de pKa dos β -bloqueadores estudados, obtiveram-se as melhores recuperações. A percentagem ótima da mistura CH₃OH:CH₃CN:Ác. Fórmico foi de

90:9,9:0,1. Desta forma, escolheu-se para o prosseguimento do trabalho as condições otimizadas onde o pH da Amostra foi ajustado para 9, o pH 9 da água no condicionamento do sorvente e posterior lavagem e a percentagem de CH₃OH:CH₃CN:Ác. Fórmico de 90:9,9:0,1.

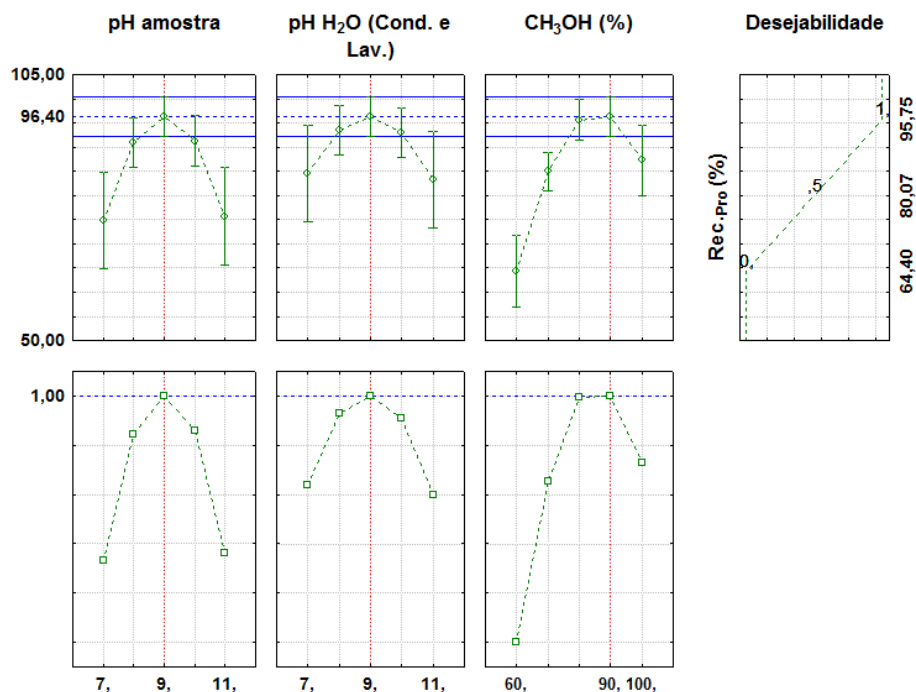


Figura 18. Perfil das variáveis independentes pH da amostra, pH da água no condicionamento e lavagem e a percentagem de metanol na eluição relacionadas à desejeabilidade da recuperação de Propranolol por SPE.

Usando as condições otimizadas acima a recuperação obtida foi de $97,4\% \pm 3,2\%$, $95,4\% \pm 2,1\%$ e $82,6\% \pm 2,4\%$ para Atenolol, Metoprolol e Propranolol, respectivamente ($n=3$).

Observando os perfis de desejeabilidade do Atenolol (Figura 14), Metoprolol (Figura 16) e Propranolol (Figura 18) esperava-se, segundo o modelo proposto, uma recuperação em torno de 97,7%; 97,2% e 96%, para Atenolol, Metoprolol e Propranolol, respectivamente. Porém, a variação observada para o Propranolol pode estar relacionada a diferentes condições laboratoriais, tais como, mudança de solvente, do lote do sorvente, entre outros. Portanto, embora o ajuste do modelo para Atenolol e Metoprolol tenha ficado abaixo de 0,9, ele é capaz de prever as condições otimizadas de SPE.

7.2.3 Efeito do pH sobre a Amostra

O principal mecanismo em sorvente apolares, como C18 ec, é por força de van der Waals, porém interações secundárias como ligações dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio também podem ocorrer. Desta forma, os analitos devem estar principalmente não ionizados (Hennion, 1999).

Os β -bloqueadores são bases fracas com pK_a entre 9,2 e 9,7 (Tabela 2) e consequentemente em pH elevados estão neutros, sem carga, possibilitando e facilitando a interação sobre sorventes apolares, tal como C18 endcapped (ec), que não possui grupos silanóis (Si-OH) (Piram et al., 2008). A escolha do sorvente foi baseada nessa característica, aliada ao menor custo de sorventes C18 ec, comparado a sorventes mistos.

Como pode ser observado na Figura 2 (distribuição dos β -bloqueadores em função do pH), em pH menor do que 9 os compostos se caracterizam pelo grupamento amina secundária positivamente carregada e, nessas condições, menores recuperações foram encontradas, devido à menor interação e adsorção de compostos carregados com sorventes apolares, ressaltando a necessidade do controle do pH no procedimento de SPE, e a necessidade de ajuste do pH natural do efluente para pH 9. Ternes et al. (1998) encontraram comportamento distinto para o mesmo tipo de sorvente C18 ec, com melhores recuperações em pH neutro.

Hilton & Thomas (2003) testaram vários sorventes para extração de fármacos em águas superficiais e encontraram baixa recuperação (< 50%) para o Propranolol para sorvente C18 em amostra com pH ajustado para 3. Hernando et al. (2004) usaram C18 ec para extração de fármacos de diferentes classes e ajustaram o pH para 10,5, no caso de compostos básicos como Metoprolol e Atenolol, encontrando recuperações altas (> 70%) em solução aquosa, enquanto que para águas superficiais e efluentes a recuperação encontrada foi menor.

7.2.4 Efeito do pH sobre o condicionamento e lavagem

O condicionamento do sorvente em SPE é um fator determinante para preparar a retenção dos analitos de interesse. Assim, para uma melhor ativação do sorvente, a primeira etapa do condicionamento foi conduzido com solvente apolar hexano, seguido de solventes polares metanol e, por conseguinte, água, em ordem crescente de polaridade. O pH da água nessa etapa torna-se importante devido às características do analito envolvido, preparando o sorvente para reter o analito. Estudo análogo sobre o efeito do pH sobre o condicionamento de SPE foi feito por Gonzalez et al. (2009).

A etapa de lavagem do cartucho de SPE, feito nas mesmas características do condicionamento não resultou em perdas dos analitos com a mudança do pH da água.

7.2.5 Efeito da percentagem de CH₃OH

Metanol foi escolhido como eluente devido à sua alta força eluotrópica. Na etapa de eluição torna-se importante a desestabilização das interações entre a amostra e o sorvente; desta forma escolheu-se acidificar o eluente para que, quando da eluição do analito, as

moléculas de β -bloqueadores se tornassem positivamente carregadas, e não mais neutras, resultando em maiores recuperações ao final desta etapa. Testes preliminares indicaram que, quando misturados metanol e acetonitrila, sem o meio ácido, as recuperações ficaram em torno de 40-60% e, usando apenas metanol como eluente, as recuperações ficaram 74 e 85%.

Além disso, a força eluotrópica mais adequada para maior extração dos β -bloqueadores foi obtida, misturando-se metanol com acetonitrila e o meio ácido. Os resultados mostraram que a melhor combinação da mistura foi de 90:9,9:0,1 de $\text{CH}_3\text{OH}:\text{CH}_3\text{CN}:\text{Ác. fórmico}$. Píram et al. (2008) também estudaram diferentes frações de metanol para extração de β -bloqueadores e corticosteroides em sorvente misto Oasis MCX (catiônico e fase reversa), porém, para a extração de β -bloqueadores, a extração foi feita em pH alcalinos.

7.2.6 Efeito de matriz

Certamente a complexidade da composição dos efluentes hospitalares, quando comparados a soluções padrão em solventes puros, podem causar erros conduzindo a resultados inexatos (Vieno et al., 2006). Em análises cromatográficas, o teste de efeito de matriz sobre a intensidade do sinal do analito em HPLC-FLD foi avaliado. Para tanto, amostras de efluente foram coletadas, filtradas em filtros de membrana de nitrato de celulose de porosidade 0,45 μm . Posteriormente aplicaram-se as condições ótimas da técnica de SPE.

O cálculo do efeito de matriz sobre a determinação de ATE, MET e PRO foi feito de acordo com a Equação 19 abaixo (Vieno et al., 2006).

$$ME(\%) = \frac{A_{std} - (A_a - A_b)}{A_{std}} \cdot 100 \quad (19)$$

Onde $ME(\%)$ é o efeito de matriz em percentagem, A_{std} é a área do pico do analito em solvente puro, A_a é a área do pico da matriz enriquecida com o analito e A_b é a área do pico da matriz sem enriquecimento.

O efeito de matriz encontrado para o Atenolol foi abaixo de 10% para os três efluentes estudados, enquanto que o efeito de matriz sobre o Metoprolol foi aproximadamente 15% para a amostra 'Efluente PA' e abaixo de 5% para as amostras de efluente 'HUSM principal' e 'Córrego'. O efeito de matriz sobre o Propranolol ficou em 15% para os efluentes estudados. Esses efeitos foram considerados no momento da quantificação dos analitos nas amostras de efluente. Os cromatogramas do estudo de efeito de matriz podem ser observado na Figura 19. Os efeitos de matriz encontrados estão principalmente relacionados ao uso de detector de

fluorescência para a determinação, o que permitiu maior seletividade frente a interferentes da amostra.

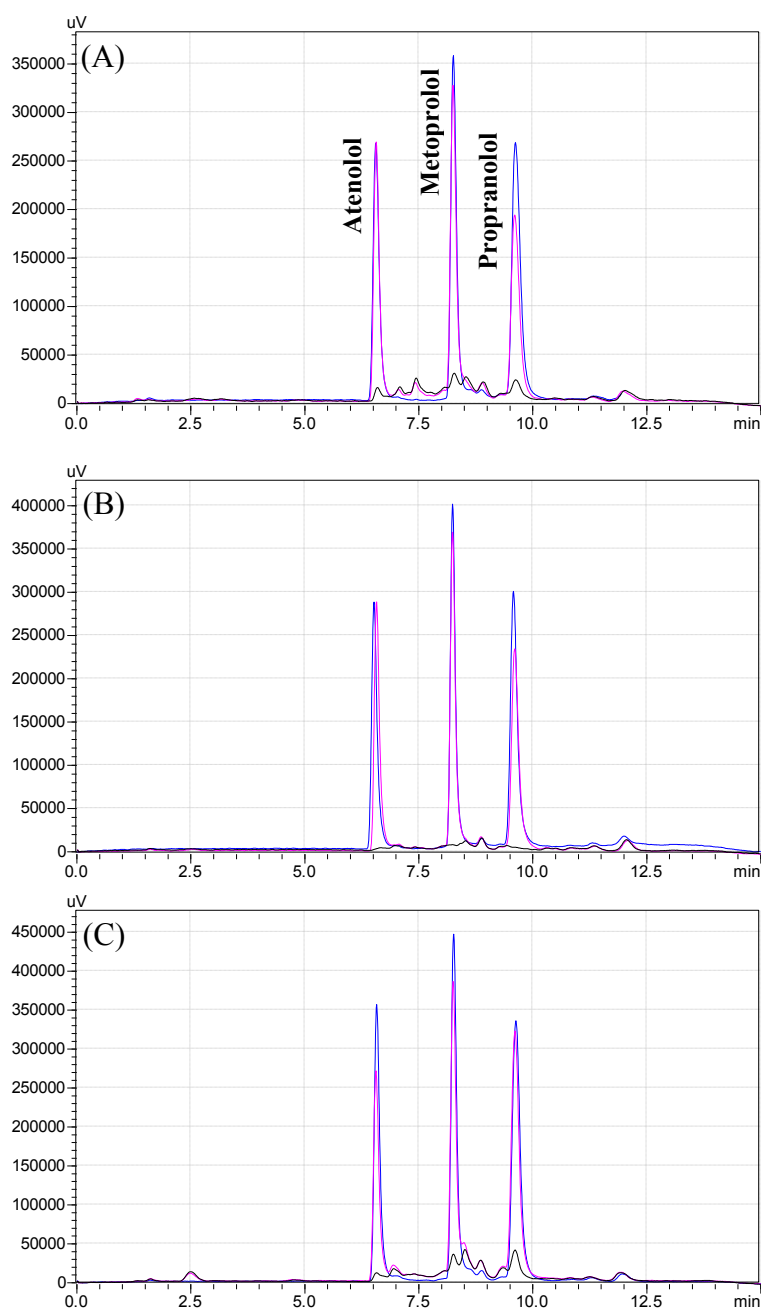


Figura 19. Cromatogramas do estudo de efeito de matriz sobre Atenolol, Metoprolol e Propranolol por SPE-HPLC-FLD. (A) ‘Efluente PA’, (B) ‘HUSM principal’ e (C) ‘Córrego’. Onde: — Efluente sem *Spike*, — Efluente com *Spike* e — Padrão ATE, MET e PRO 200 µg L⁻¹.

A maioria dos estudos de quantificação de fármacos no meio ambiente utilizam LC-MS. Píram et al. (2008) reportaram efeito de matriz sobre a ionização dos analitos de 10% para o procedimento de SPE proposto. Vieno et al. (2006) encontraram, para o procedimento de SPE proposto, efeito de 8% sobre a ionização dos analitos extraídos nos 10 primeiros minutos de cromatograma, para águas superficiais e até 40% para os analitos que possuíam

tempos de retenção acima de 10 min. Os autores consideraram que, usando eluição por gradiente, em percentuais maiores de acetonitrila, mais compostos hidrofóbicos são eluídos aumentando a interferência destes sobre a ionização. Gómez et al. (2006) também reportaram grande efeito de matriz sobre a ionização dos analitos em LC-MS, que, para alguns compostos alcançaram acima de 80% de supressão do sinal.

7.2.7 Estimativa do Volume de Saturação (*breakthrough*)

A capacidade máxima do sorvente escolhido (C18 ec, 200 mg/3 mL) em reter os analitos frente a diferentes volumes de amostras foi testada. A Figura 20 mostra a eficiência da pré-concentração de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em diferentes volumes e concentrações. Pode-se observar em soluções aquosas (Figura 20 (A)) que mesmo em grandes volumes, como 500 ml ou 1000 mL, houve altas recuperações.

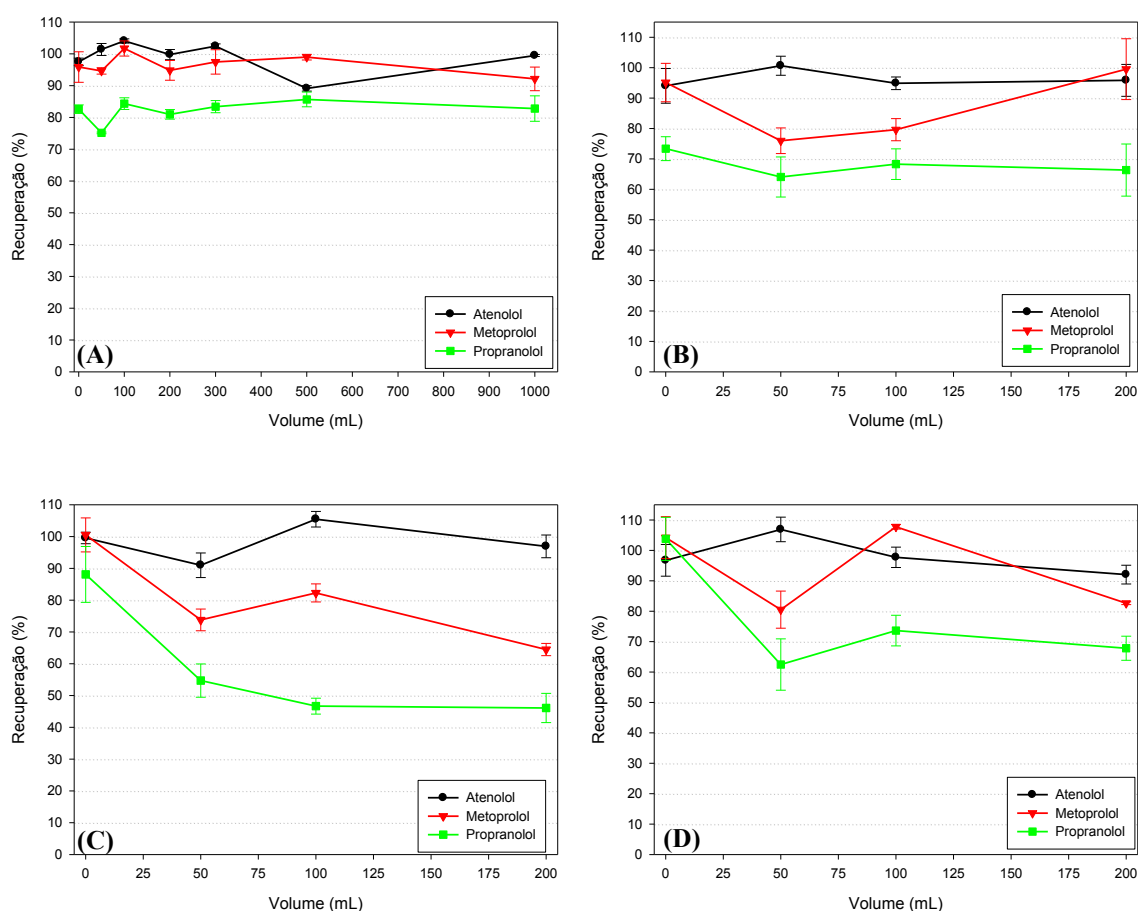


Figura 20. Avaliação do volume de *breakthrough* em SPE de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em diferentes volumes. (A) H₂O ultra pura, (B) 'Efluente PA', (C) 'HUSM principal' e (D) Córrego. Condições de SPE: pH da Amostra 9, pH da água 9 e CH₃OH:CH₃CN:Ác. Fórmico 90:9:0,1.

Deste modo, podem-se usar grandes volumes de amostras sem perda considerável de eficiência, pois para concentrações abaixo de 100 ng L⁻¹ recuperações entre 80 – 110% são

aceitáveis. Para o Atenolol o Desvio Padrão Relativo (RSD) ficou entre 0,3 e 2%, enquanto que para o Metoprolol ficou entre 0,8 e 4%; já para o Propranolol o RSD ficou entre 0,3 e 5%. Porém, em efluentes que apresentam uma alta carga orgânica, a avaliação do volume de *breakthrough* torna-se mais crítico.

A Figura 20 (B) mostra que o Atenolol não sofreu grandes perdas na recuperação com o aumento do volume de efluente, enquanto que a eficiência de recuperação do Metoprolol diminui com o aumento do volume até 100 mL de amostra. O Propranolol apresenta perda na recuperação com o aumento do volume.

O Atenolol também não sofreu grandes perdas com o aumento do volume dos efluentes principal do HUSM e da água superficial (Figura 20 (C) e (D)). O Metoprolol sofreu perdas principalmente no efluente ‘HUSM principal’ e uma variação para a amostra do ‘Córrego’. O Propranolol apresentou baixas recuperações com o aumento do volume de efluente e esse comportamento pode estar relacionado ao fato de que dentre os três β -bloqueadores estudados, Propranolol apresenta maior $\log K_{ow}$, ou seja, maior hidrofobicidade, resultando em perdas na extração deste analito por SPE.

De acordo com os resultados encontrados, para a determinação dos fármacos em efluente hospitalar foi escolhido o volume de 100 mL de amostra.

Comportamento análogo foi evidenciado por Gros et al. (2008) que usaram a técnica de polímeros molecularmente impressos (MIP, do inglês *molecularly imprinted polymers*) para uma maior especificidade na determinação de β -bloqueadores em amostras de efluente.

8 Exposição ambiental e avaliação de risco de β -bloqueadores lançados pelo HUSM

Uma vez otimizado o método de separação/quantificação e de *clean-up*/pré-concentração, focou-se na análise de exposição ambiental de β -bloqueadores no Efluente Hospitalar do HUSM.

A concentração de β -bloqueadores lançados no meio-ambiente pelo HUSM foi avaliada durante 7 dias, perfazendo o período de uma semana (ciclo semanal de exposição). As amostras foram coletadas de hora em hora das 8:00 – 20:00, filtradas qualitativamente em filtro de porosidade 45 μm , depois foram compostas e acondicionadas em frasco âmbar a 4 °C, no escuro. A preservação das amostras foi feita de acordo com Vanderford et al. (2011). Antes das análises por HPLC-FLD as amostras foram filtradas em filtro de nitrato de celulose de porosidade 0,45 μm , o pH foi ajustado para pH 9 às amostras foram medidas em quadruplicata, com e sem *Spike* (enriquecimento).

A Figura 21 mostra as quantidades encontradas nos três pontos de coleta do sistema de esgotos do HUSM. O primeiro sistema compreendido abrange o pronto atendimento do HUSM ('Efluente PA'). As amostras foram coletadas após a passagem pelo sistema de tratamento por filtro aeróbico seguida por filtro anaeróbio. Nenhum estudo foi feito para avaliar a eficiência do tratamento sobre os fármacos, desta forma, o que foi detectado representa as concentrações emitidas pelo PA diretamente para o meio ambiente.

A Figura 21 (A) mostra que o Metoprolol é o β -bloqueador de maior ocorrência ambiental, seguido por Atenolol e Propranolol. As concentrações de Atenolol encontradas ficaram entre 1,37 e 4,48 $\mu\text{g L}^{-1}$ (média = 2,45 $\mu\text{g L}^{-1}$), enquanto que para o Metoprolol as concentrações foram de 1,37 a 9,93 $\mu\text{g L}^{-1}$ (média = 4,67 $\mu\text{g L}^{-1}$) e para o Propranolol de >LOD a 1,63 $\mu\text{g L}^{-1}$ (média = 0,70 $\mu\text{g L}^{-1}$). Cabe ressaltar que na Figura 21 (A) a escala para o 'Efluente PA' é 4 vezes maior que para os demais locais analisados.

A Figura 21 (B) mostra a exposição dos β -bloqueadores lançados no ambiente pelo principal sistema de esgotos do HUSM ('HUSM principal'). Atenolol foi o β -bloqueador de maior exposição nesse ponto de coleta (0,19 – 1,49 $\mu\text{g L}^{-1}$, média = 0,95 $\mu\text{g L}^{-1}$), seguido pelo Metoprolol (>LOD – 2,37 $\mu\text{g L}^{-1}$, média = 0,70 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Propranolol (>LOD – 1,37 $\mu\text{g L}^{-1}$, média = 0,50 $\mu\text{g L}^{-1}$). As concentrações encontradas nesse ponto de coleta sofrem diluição, pois a saída do sistema de esgotos é canalizada juntamente com o esgoto proveniente da biblioteca.

O outro ponto analisado é onde os efluentes 'Efluente PA' e 'HUSM principal' se encontram. Esse ponto surge de um córrego inicialmente canalizado (Figura 4 (C)) onde os

efluentes são lançados. As concentrações encontradas no ‘Córrego’ (Figura 21 (C)) de Atenolol variaram de 0,75 – 1,88 $\mu\text{g L}^{-1}$ (média = 1,26 $\mu\text{g L}^{-1}$), para o Metoprolol a variação encontrada foi de 0,73 – 2,81 $\mu\text{g L}^{-1}$ (média = 1,27 $\mu\text{g L}^{-1}$) e para o Propranolol de 0,14 – 1,44 $\mu\text{g L}^{-1}$ (média = 0,56 $\mu\text{g L}^{-1}$).

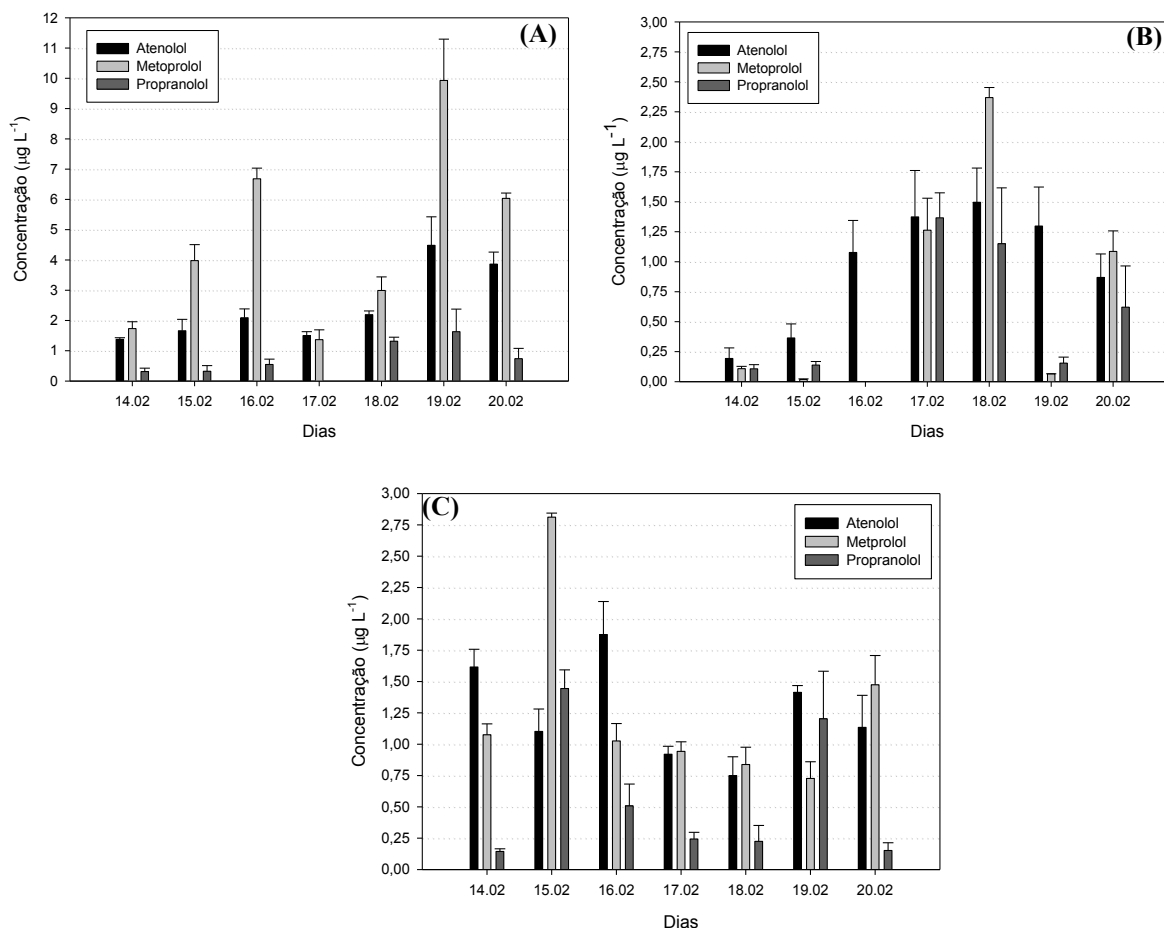


Figura 21. Concentrações ambientais medidas (MEC) dos β -bloqueadores lançados pelo HUSM. (A) ‘Efluente PA’, (B) ‘HUSM principal’ e (C) ‘Córrego’.

Gómez et al. (2006) reportaram que Atenolol e Propranolol foram encontrados em efluente hospitalar no intervalo de 0,1–1,2 e 0,2–6,5 ng L^{-1} para Atenolol e Propranolol respectivamente. Recente revisão de Verlicchi et al. (2010) reporta que β -bloqueadores são encontrados em média de 5,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ em efluentes hospitalares e, ainda de acordo com Verlicchi et al. (2010), as concentrações médias de fármacos encontrados em Efluentes Hospitalares são de 2-150 vezes maiores do que as encontradas em ETEs.

Portanto, as concentrações encontradas no sistema de esgotos do HUSM estão correlacionadas com outros estudos de exposição ambiental em países desenvolvidos, porém em países desenvolvidos os efluentes lançados pelos hospitais se conectam a rede de esgotos e, conseqüentemente, são tratados em ETEs, enquanto o esgoto do HUSM passa apenas por

sistema de tratamento por fossa séptica-filtro anaeróbico e posteriormente é lançado em córrego.

Após a quantificação dos β -bloqueadores no efluente do HUSM, uma avaliação de risco foi feita usando como parâmetro o QR real, ou seja, com a Concentração Ambiental Mensurada (MEC), a razão entre MEC/PNEC. Os valores de PNEC usados foram os mesmos da avaliação de risco preliminar, sugeridos por Cleuvers (2005). O QR de cada β -bloqueador para cada ponto de efluente amostrado pode ser observado na Figura 22 (A-C) e a escala de QR foi configurada para escala logarítmica.

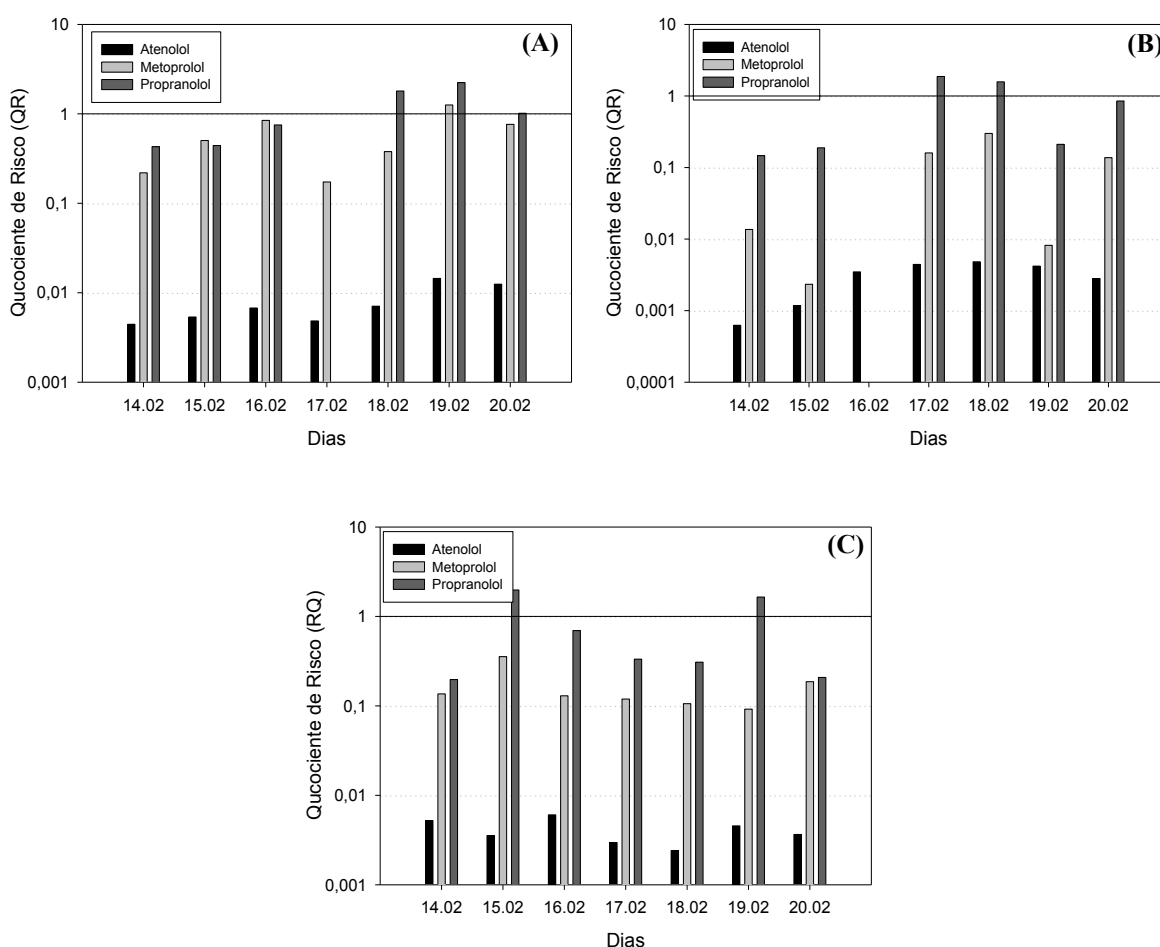


Figura 22. Quociente de Risco (QR) para os β -bloqueadores lançado pelo HUSM. (A) 'Efluente PA', (B) 'HUSM principal' e (C) 'Córrego'.

O Propranolol, apesar de ser detectado em menor concentração no efluente, possui maior ecotoxicidade (Cleuvers, 2005). Para o 'efluente PA', durante um ciclo semanal o Metoprolol e Propranolol apresentam $QR > 1$; para o 'HUSM principal' apenas Propranolol apresenta $QR > 1$ e para o córrego Propranolol apresentou $QR > 1$ em dois dias. Cabe aqui ressaltar que as amostras foram coletadas de forma composta, ou seja, esse quociente se aplica a variação de 12 h de lançamento de β -bloqueadores no meio ambiente. Pode-se inferir que

durante o dia, o risco apresentado por esses compostos pode variar apresentando maiores riscos do que os encontrados nesse estudo. Atenolol foi o que apresentou os menores QR.

Apesar do QR encontrado, estudos mais completos sobre a ecotoxicidade dos β -bloqueadores no efluente do HUSM precisam ainda ser abordados, mas o risco evidenciado nesse estudo é mais um contraponto a falta de um tratamento mais específico para o efluente lançado pelo HUSM.

Bagatini et al. (2009) evidenciaram em seu estudo o grau de genotoxicidade do 'Efluente PA', reportando mais uma evidência clara que a falta de tratamento específico para um efluente desta complexidade torna-se necessário e urgente. Verlicchi et al. (2010) recomendam o tratamento deste tipo de efluente separadamente de tratamentos convencionais para evitar possíveis diluições, enquanto Kümmerer (2009a) questiona a validade da separação de tratamento para efluentes hospitalares quando estes estão conectados a ETEs do ponto de vista ambiental e econômico.

Tratamentos biológicos convencionais (lodo ativado, lagoas de maturação, lagoas aeradas, lagoas anaeróbicas, etc.) são eficientes para remoção de matéria orgânica, DQO, DBO, mas falham na degradação de fármacos não biodegradáveis (Gabet-Giraud et al., 2010; Maurer et al., 2007; Castiglioni et al., 2006). Deste modo, tratamentos mais sofisticados e eficientes são necessários. O que o presente estudo tratará a seguir.

9 Processos Avançados de Oxidação (PAOs) aplicados à degradação de fármacos

Sempre que técnicas convencionais de tratamento de efluentes não são eficientes o suficiente para a degradação de contaminantes, PAOs surgem como alternativa. Os PAOs, também chamados de Tecnologias Avançadas de Oxidação (TAOs), baseiam-se em processos físico-químicos capazes de produzir profundas mudanças na estrutura química dos contaminantes, por meio de reações químicas envolvendo a formação *in situ* do radical hidroxila ($\text{HO}\cdot$), de alto poder de oxidação (2,8 V; Glaze, 1987), conforme Tabela 8. Radicais $\text{HO}\cdot$ podem mineralizar compostos orgânicos, mesmo encontrados em pequenas concentrações, a CO_2 , H_2O e íons inorgânicos (Brillas et al., 2009).

Em geral há três modos de ataque de $\text{HO}\cdot$ a moléculas orgânicas: (1) dehidrogenação ou abstração de hidrogênio para formar H_2O ; (2) hidroxilação ou adição eletrofílica à ligação insaturada; e (3) transferência de elétrons ou reações de redução-oxidação (Legrini et al., 1993).

Tabela 8. Potenciais de redução padrão em solução aquosa dos oxidantes mais comumente citados como agentes oxidantes para a degradação de contaminantes orgânicos. (Modificado de Sharma, 2008; Brillas et al., 2009).

Oxidante	Reação	E° (V) vs SHE
Flúor	$\text{F}_{2(\text{g})} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{HF}$	3,05
	$\text{F}_{2(\text{g})} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{F}^-$	2,87
Radical Hidroxila	$\text{HO}\cdot + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	2,80
Ânion radicalar Sulfato	$\text{SO}_4^{\cdot-} + \text{e}^- \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$	2,60
Ferrato(VI)	$\text{FeO}_4^{2-} + 8\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^{3+} + 4\text{H}_2\text{O}$	2,20
	$\text{FeO}_4^{2-} + 4\text{H}_2\text{O} + 3\text{e}^- \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3 + 5\text{HO}^-$	0,70
Ozônio	$\text{O}_{3(\text{g})} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{O}_{2(\text{g})} + \text{H}_2\text{O}$	2,07
	$\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{HO}^-$	1,24
Peróxido de Hidrogênio	$\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1,76
Íon Permanganato	$\text{MnO}_4^- + 4\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow \text{MnO}_{2(\text{s})} + 2\text{H}_2\text{O}$	1,67
	$\text{MnO}_4^- + 8\text{H}^+ + 5\text{e}^- \rightarrow \text{Mn}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	1,51
Radical Hidroperoxila	$\text{HO}_2\cdot + 3\text{H}^+ + 3\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1,65
	$\text{HO}_2\cdot + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	1,44
Hipoclorito	$\text{HClO}^- + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cl}^- + \text{H}_2\text{O}$	1,48
	$\text{ClO}^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Cl}^- + 2\text{HO}^-$	0,84
Íon Dicromato	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + 14\text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cr}_3^+ + 7\text{H}_2\text{O}$	1,36
Cloro	$\text{Cl}_{2(\text{g})} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{Cl}^-$	1,36
Oxigênio	$\text{O}_{2(\text{g})} + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$	1,23
Brometo	$\text{Br}_{2(\text{l})} + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{Br}^-$	1,07
Dióxido de Cloro	$\text{ClO}_{2(\text{aq})} + \text{e}^- \rightarrow \text{ClO}_2^-$	0,95

Os PAOs incluem uma larga gama de processos que podem conduzir à geração de $\text{HO}\cdot$, dentre eles fotocatalise homogênea ou heterogênea com radiação UV ou solar, eletrocatalise, ozonização, reagente de Fenton, ultrassom e oxidação com ar umidificado e processos menos convencionais, mas que podem gerar radicais livres, como radiação ionizante, micro-ondas, entre outros (Gogate & Pandit, 2004a; Gogate & Pandit, 2004b).

PAOs podem ainda ser empregados em combinação com processos biológicos de tratamento, transformando compostos recalcitrantes em compostos mais prontamente biodegradáveis e/ou como pós-tratamento dando o “polimento” final ao efluente antes de ser lançado a tratamento terciário ou ao meio ambiente. A combinação de processo, usualmente, é benéfica e melhora a eficiência do tratamento (Klavarioti et al., 2009).

Com base nessas características, PAOs tornaram-se alvo de estudos na aplicação para a degradação de contaminantes emergentes não biodegradáveis, como os fármacos. A aplicação de PAOs para a degradação de fármacos pode ser consultada em artigos de revisão (Sharma, 2008; Klavarioti et al., 2009; Esplugas et al., 2007).

10 Reagente Fenton

Os metais de transição possuem a propriedade de transferir elétrons, catalisando e ativando peróxido de hidrogênio. O mais comum destes metais é o ferro, que usado de maneira apropriada, resulta em geração de HO·, altamente reativo. O reagente Fenton foi observado pela primeira vez, em 1894, por Henry John Horstman Fenton, mas somente nos anos 60 foi utilizado para a degradação de compostos orgânicos (Neyens & Baeyens, 2003).

A combinação entre o íon ferroso e o peróxido de hidrogênio culmina na geração de HO·, numa complexa sequência de reações em solução aquosa (Walling, 1975; Rigg et al., 1954):



$$k_1 \approx 70 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$



$$k_2 = 3,2 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

O íon férrico pode catalisar a decomposição do peróxido de hidrogênio, formando o complexo $[\text{Fe-O}_2\text{H}]^{2+}$ (Reação 3), que, posteriormente, decompõe-se em radical hidroperoxila e Fe^{2+} (Reação 4), reiniciando a cadeia de reações de geração de radicais hidroxila.



$$k_3 = 0,001 - 0,01 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$



Quando o processo Fenton é iniciado, com adição de íons férricos, o processo é comumente chamado de oxidações Fenton-like, ou tipo Fenton. De acordo com as Reações 3 e 4, o íon férrico pode catalisar a decomposição do peróxido de hidrogênio envolvendo a geração de radicais hidroperoxila ($\text{HO}_2\cdot$). Este é também atuante, mas com menor poder de

oxidação (1,7 V). A produção de Fe(II) reinicia a cadeia de reações para a formação do HO·, conforme Reações 1 e 2. O esquema combinado das reações radicalares envolvidas no processo Fenton pode ser observado na Figura 23.

10.1 Foto-Fenton

A produção de radicais hidroxila no sistema Fenton pode ser aumentada quando combinada com radiação ultravioleta (UV), pois, além da geração de radicais pelas Reações 1 e 2, há também a geração de HO· pela fotólise do complexo $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})^{2+}$, em pH ácido, conforme as Reações 5 e 6 (Andreozzi et al., 1999).



$$k_6 = \Phi_{\text{Fe(II)},\lambda}$$

Estas reações são dependentes do comprimento de onda (λ) da irradiação e do rendimento quântico primário (Φ mol Einstein⁻¹), pois Fe(III) absorve radiação em comprimentos de onda abaixo de 400 nm (Feng & Nansheng, 2000).

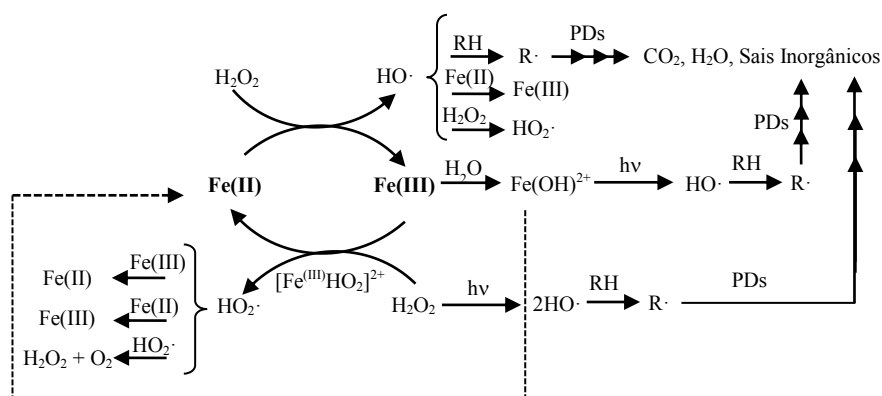


Figura 23. Esquema simplificado das reações Fenton e Foto-Fenton. Em pH ácido, onde RH = composto orgânico, R·: Compostos intermediários (espécies radicalares), PDs: Produtos de Degradação. (Baseado em De Laat et. al, 2004).

10.2 Degradação de β -bloqueadores Atenolol, Metoprolol e Propranolol por processo Foto-Fenton

O objetivo do presente estudo foi avaliar a degradação dos β -bloqueadores Atenolol, Metoprolol e Propranolol frente ao processo Foto-Fenton em solução aquosa de forma a avaliar e elucidar os produtos de degradação. Ademais, a biodegradabilidade e toxicidade dos produtos de degradação do Propranolol (mais tóxico dentre os três estudados) foram avaliadas em separado. Posteriormente as melhores condições encontradas foram aplicadas para avaliar a degradação em amostras reais de Efluente Hospitalar.

10.2.1 Materiais e Métodos

10.2.1.1 Materiais e reagentes

Para experimentos em solução aquosa Atenolol, Metoprolol tartarato e Propranolol hidrocloreto (> 99,0% de pureza) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com) e usados como recebidos. Para os experimentos em efluente hospitalar, Atenolol e Propranolol (> 99,0% de pureza) foram doados pela farmacopéia brasileira e Metoprolol tartarato, padrão farmacêutico (> 99%), foi adquirido de farmácia de manipulação local. Todos os solventes orgânicos utilizados em cromatografia e SPE foram de grau HPLC (www.carl-roth.de). Soluções aquosas foram preparadas com água ultra pura ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) (www.millipore.com). $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e H_2O_2 (30% m/v) foram adquiridos da Merck (www.merck.com). Todos os demais reagentes foram de grau analítico e usados como recebidos.

10.2.1.2 Processo Foto-Fenton em solução aquosa

O sistema de irradiação empregado consistiu de foto-reator com capacidade para 1000 mL, termômetro, lâmpada de mercúrio de média pressão 150 W Heraus (Hanau, Alemanha) revestida com camisa de quartzo e sistema de resfriamento (Figura 24). A lâmpada foi ligada 2 minutos antes de cada experimento, a fim de alcançar a sua estabilização, e posteriormente acondicionada no reator.

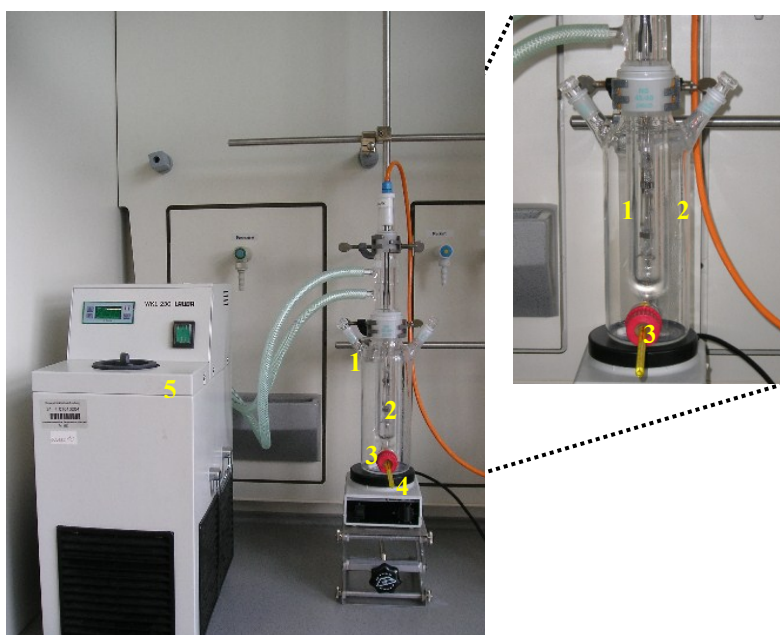


Figura 24. Foto-reator empregado no estudo de Foto-Fenton em solução aquosa. (1) Lâmpada de mercúrio, (2) Reator, (3) Termômetro, (4) Agitador magnético, (5) Sistema de arrefecimento. Obs.: Fonte da lâmpada não mostrada.

Soluções padrão de 10 mg L⁻¹ de β -bloqueadores foram preparadas em diferentes pH. O tempo de tratamento foi fixado em 120 min. Considerando que a concentração máxima de ferro permitida em efluentes pela legislação brasileira é 15 mg L⁻¹ e para evitar precipitação de ferro, os experimentos foram conduzidos abaixo desta concentração.

As amostras foram coletadas em tempos pré-determinados e o pH foi ajustado entre 6-8 com NaOH (1 mol L⁻¹) ou H₂SO₄ (1:5 v/v). Adicionou-se então 50 μ L de solução de catalase de fígado bovino (19.900 unidades/mg, www.sigma-aldrich.com) 0,1 g L⁻¹ a 15 mL de amostra para eliminar o peróxido residual. Um branco nas mesmas condições foi feito para todas as análises recorrentes. Após isso, as amostras foram centrifugadas a 2863 x g (4000 rpm) por 20 min (Universal 32R, Hettich, Alemanha) e filtradas com filtro seringa de acetato de celulose Millipore Millex-GP, 0,22 μ m (www.milipore.com) para a análise por LC-MS.

10.2.1.3 Processo Foto-Fenton em efluente hospitalar

Para os testes em efluente hospitalar as amostras foram coletadas no dia anterior de hora em hora, das 8 as 20 h. As amostras foram compostas foram filtradas qualitativamente (filtro qualitativo 45 μ m) e acondicionadas em frasco de polietileno, no escuro e a 4 °C em geladeira. Os experimentos foram feitos no dia seguinte as amostragens.

O efluente foi enriquecido com os β -bloqueadores para a concentração final de 200 μ g L⁻¹. As amostras foram retiradas em tempos pré-determinados e ajustadas para pH 7 com NaOH 6 mol L⁻¹, posteriormente foram adicionados 10 μ L de catalase de fígado bovino (CAS N° 9001-05-2) (Merck, www.merck.com) para eliminar peróxido residual. Após isso, as amostras foram ajustadas para pH 9 com NaOH 6 mol L⁻¹, centrifugadas 89 x g (1000 rpm por 20 min, Fanem, São Paulo, SP) e filtradas em filtro seringa de membrana de acetato de celulose 0,45 μ m (Chromafil® Xtra, www.macherey-nagel.com).

Para as análises em HPLC as amostras foram submetidas a *clean-up*/pré-concentração por SPE (seção 7). Para as análises de Demanda Química de Oxigênio (DQO) (Standard Methods 5220D) foi pego o sobrenadante. Amostras contendo apenas catalase foram usadas como branco.

10.2.1.4 Determinação de H₂O₂ residual e Fe²⁺

O peróxido residual foi determinado durante os experimentos usando método espectrofotométrico empregando metavanadato de amônia (Nogueira et al., 2005). O método é baseado na reação entre H₂O₂ e metavanadato em meio ácido resultando na formação de um complexo vermelho-alaranjado do cátion peroxivanádio, que absorve em λ de 450 nm.

A determinação de Fe^{2+} foi baseada no método com agente complexante 1,10-fenantrolina em 510 nm (Standard Methods 3500-Fe), este método é o mais usado para analisar íons ferrosos em PAOs que usam processo Fenton para geração de radicais hidroxila (Djebbar et al., 2008; Trovó et al., 2009), pois independe da variação do pH entre 3-9. O pH entre 2,9 e 3,5 assegura a rápida formação do complexo colorido na presença de um excesso de 1,10-fenantrolina.

10.2.1.5 Determinação de Carbono Orgânico Total (COT)

O Carbono Orgânico Total (COT) foi analisado com Shimadzu TOC-5000 analyser com amostrador automático ASI-5000 na forma de Carbono Orgânico Não-Purgeável (NPOC do inglês, *Non-Purgeable Organic Carbon*). A determinação é baseada na oxidação por combustão catalítica (680 °C) a CO_2 com Pt como catalisador e detecção por Infravermelho Não Dispersivo (do inglês, NDIR, *non-Dispersive Infrared*). Para evitar interferências e variações na determinação de COT, as amostras foram acidificadas com HCl e purgadas, evitando a interferência de carbono inorgânico e de carbono orgânico volátil (VOC).

As curvas de calibração foram preparadas com biftalato de potássio ($\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$) e os resultados foram expressos em termos de mg C L^{-1} .

10.2.1.6 Análises Cromatográficas por HPLC e LC-MS-MS

As análises quantitativas por HPLC-DAD-FLD foram feitas de acordo com o método otimizado (seção 6). Os produtos de degradação (PDs) foram monitorados por LC-MSⁿ Agilent Series 1100 LC (Agilent Technologies, www.chem.agilent.com) equipado de duas bombas binárias (G1312A), degaseificador (G1322A), forno para coluna (Colcom G1316A), amostrador automático (G1329A+ALS Therm G1330B), detector de Fluorescência, detector UV-DAD, acoplado a espectrômetro de massas Esquire 6000plus Ion Trap com fonte de Ionização por Eletrospray (ESI) ortogonal (Brüker Daltonics, www.bdal.com). A separação dos PDs foi feita por coluna de fase reversa C18 ec (RP18 CC 125-4 mm Nucleodur 100-5) e pré-coluna (RP18 CC 8-4 mm Nucleodur 100-5) da Macherey-Nagel (www.macherey-nagel.com).

De modo para determinar os PDs do Atenolol, Metoprolol e Propranolol por Foto-Fenton foram injetados 20 μL de amostra e usou-se diferentes gradientes onde o Solvente A foi Água ultra pura com Ác. Fórmico 0,1% v/v e o Solvente B foi Acetonitrila com fluxo de 0,5 mL min^{-1} (Tabela 9).

Tabela 9. Gradiente utilizado para a separação e identificação de PDs por LC-ESI-IT-MSⁿ.

Atenolol			Metoprolol			Propranolol		
Tempo (min)	A* (%)	B** (%)	Tempo (min)	A (%)	B (%)	Tempo (min)	A (%)	B (%)
0-2	99	1	0-3	99	1	0-3	99	1
2-3	99-95	1-5	3-10	99-80	1-20	3-5	99-95	1-5
3-10	95-80	5-20	10-11	80	20	5-10	95-80	5-20
10-11	80	20	11-15	80-50	20-50	10-13	80	20
11-15	80-50	20-50	15-18	50	50	13-23	80-50	20-50
15-18	50	50	18-20	50-99	50-1	23-28	50	50
18-20	50-99	50-1	20-25	99	1	28-29	50-99	50-1
20-25	99	1				29-35	99	1

* Água Ultra pura com Ác. Fórmico 0,1% v/v; ** Acetonitrila;

Um espectrômetro com o dispositivo Íon Trap (IT, do inglês *Ion Trap*) permite o “aprisionamento” dos íons, ou o isolamento dos íons do composto alvo, seguido por subsequente formação de um espectro único destes íons individuais. Os cromatogramas foram analisados pelo software ESI Compass 1.3 for HCT/Esquire (Bruker Dantonic GmbH, www.bdal.com).

As condições de operação da fonte de ionização e do espectrômetro de massas estão apresentadas no Apêndice D (Tabela 31). Os produtos de degradação foram identificados operando o MS em modo *Full Scan* (FS) de 40-800 m/z e as fragmentações do PDs foram feitas em modo de Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM). As energias de colisão (*Fragmentation Amplitude*) foram testadas de 0,2 V a 1 V.

O padrão de fragmentação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol foram estudados otimizando a fonte de ionização, voltagens e as condições de trapeamento com infusões de padrões aquosos de 100 mg L⁻¹ no detector de massas com bomba seringa (Coler-Palmer 74900 series). Os padrões de fragmentação foram posteriormente usados como referência na identificação dos PDs.

Um cromatograma total de íons de um branco e de soluções padrão de 10 mg L⁻¹ de Atenolol, Metoprolol e Propranolol podem ser visto no Apêndice D (Figura 165).

10.2.1.7 Avaliação da biodegradabilidade do PDs de Propranolol por Closed Bottle Test (OECD 301 D)

O *Closed Bottle Test* (CBT) é recomendado como um simples teste para avaliar a pronta biodegradabilidade de compostos orgânicos no meio ambiente. Substâncias que passam no teste são classificadas como prontamente biodegradáveis (*readily biodegradable*). Também é assumido que compostos que passam no teste são degradados em ETEs (Nyholm 1991).

CBT foi feito de acordo com o teste padrão da OECD – *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD 1992) – com baixa quantidade de nutrientes, baixa

densidade bacteriana (101-104 unidades formadoras de colônia (CFU, do inglês *Colony Formation Unity*, mL⁻¹) e a temperatura ambiente (20 ±1 °C) no escuro durante o período de 28 dias, como descrito em detalhes na literatura (Alexy et al., 2004; Haiss & Kümmerer, 2006; Kümmerer et al., 2000).

O sistema consistiu de 4 diferentes séries: (1) “branco” contendo apenas meio mineral e inoculo; (2) “controle de qualidade” contendo acetato de sódio, prontamente biodegradável em concentração correspondente a 5 mg L⁻¹ de Demanda Teórica de Oxigênio (ThOD_{NH3}, do inglês *Theoretical Oxygen Demand*), calculado sem considerar possível nitrificação como a única fonte de carbono além do inoculo; (3) “substância teste” com apenas Propranolol e o (4) “controle de toxicidade” contendo, além de Propranolol, acetato de sódio. A concentração inicial de Propranolol no teste foi de 2,1 mg L⁻¹ (correspondente a 5 mg O₂ L⁻¹ de Propranolol ThOD_{NH3}). A Figura 25 mostra o esquema do teste de pronta biodegradabilidade.

A toxicidade foi avaliada comparando o consumo de oxigênio medido na série de controle de toxicidade com os valores preditos (calculados) computados do consumo de oxigênio na série de controle de qualidade e na série que continha apenas à substância teste Propranolol, respectivamente. A substância pode ser considerada tóxica se a diferença é maior do que 25% entre o consumo de oxigênio predito e o medido para as séries 3 e 4 (OECD 1992).

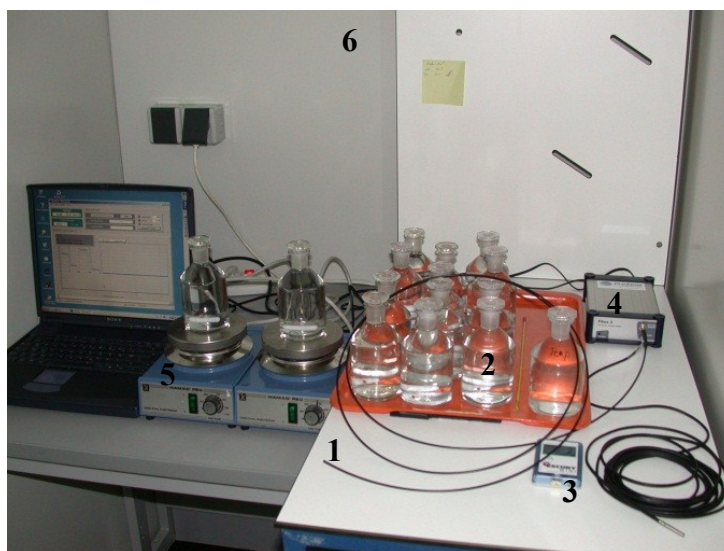


Figura 25. Teste de pronta biodegradabilidade por *Closed Bottle Test* OECD 301 D. (1) Sensor de oxigênio, (2) frascos de CBT, (3) Scort para monitorar a temperatura, (4) Interface Fibox 3, (5) agitador magnético e (6) câmara com temperatura controlada (20 °C). © Foto by Judith Friedrich.

A fim de alcançar condições adequadas de ThOD para avaliar a biodegradabilidade dos PDs do processo de Foto-Fenton por CBT, experimentos avaliando a DQO foram feitos utilizando-se soluções iniciais de β-bloqueadores de 10 mg L⁻¹. Foi feito um experimento para cada amostragem (tempos de tratamento 0, 1 e 30 min), onde por meio da análise da DQO,

foram pegos 800 mL de cada tempo de tratamento e completados a 1000 mL com meio mineral e inóculo. Para tempos maiores (60-120 min) de tratamento a DQO foi muito baixa, i.e. alta mineralização, e, portanto, seriam necessários muitos experimentos para alcançar a DQO de $5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ para o teste.

O meio mineral (KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NH_4Cl , $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) foi o mesmo em todas as séries e preparados de acordo com o guia de testes da OECD 301D (OECD 1992). Todos os frascos foram inoculados com uma alíquota de efluente da ETE de Wyhl (Abwasserzweckverband (AZV) Kaiserstuhl Nord, Alemanha; população equivalente a 14.300 habitantes). Esta ETE pertence a uma área rural sem grandes hospitais ou casas de retiro em sua área de abrangência e, portanto, assume-se que as bactérias não estão preparadas, ou mesmo adequadas, para metabolizar fármacos. Foram adicionados 2 gotas de inóculo para cada 1000 mL, o que resultou em cerca de 500 CFU mL^{-1} .

O conteúdo de oxigênio, biodegradação aeróbica, foi acompanhado por sensor Fibox 3 (Presens, www.presens.de) a cada dia (Figura 25). A temperatura e o pH foram também monitorados. Uma substância é considerada “prontamente biodegradável” se o consumo de O_2 , expresso em termos de oxigênio consumido, excede 60% em um período de 28 dias.

10.2.1.8 Teste de Toxicidade com *Vibrio fischeri*

A inibição da bioluminescência emitida por essa bactéria em diferentes tempos de exposição é usada para avaliar a toxicidade dos compostos estudados (Fernandez-Alba et al., 2002).

A toxicidade é uma propriedade que reflete o potencial de uma substância em causar efeito danoso a um organismo vivo. Com o intuito de verificar se o processo Foto-Fenton origina produtos de degradação mais tóxicos que os compostos originais, teste de luminescência com a cepa bacteriana *V. fischeri* foi conduzido.

O presente teste avalia a toxicidade aguda e crônica com o objetivo de estimar se um composto apresenta um potencial tóxico que seria capaz de produzir uma resposta específica mensurável sobre o organismo teste *V. fischeri* em um período de tempo curto (30 min, toxicidade aguda) ou longo (24 h, toxicidade crônica). Os resultados foram expressos em termos de Inibição do Crescimento (%), que significa o quanto as substâncias testadas inibem o desenvolvimento das bactérias e a formação de luminescência comparada a um branco sem qualquer substância.

A bactéria usada foi *V. fischeri* (congeladas e secas) RRLB-11177 Hach Lange GmbH (Düsseldorf, Germany). As Microplacas de poliestireno utilizadas para o teste de toxicidade

foram 96-Well plates Greiner Labortechnik (Frickenhausen, Germany) e o instrumento usado para a medida da luminescência e absorvância foi Tecan infinite[®] 200 (Tecan Deutschland GmbH, www.tecan.de).

As amostras do processo Foto-Fenton foram coletadas em tempos pré-determinados para comparação entre os produtos de transformação determinados por LC-MS e a toxicidade. O pH foi ajustado para 7 e o ferro foi precipitado e filtrado em filtro seringa, 0,22 µm, polietersulfonato, 33 mm, radio-esterilizado (Millipore Millex-GP, www.millipore.com). O H₂O₂ residual foi eliminado com adição de 50 µL de catalase 0,1 g L⁻¹. Após a filtração adicionou-se NaCl até a concentração final de 2%, para ajustar o meio as condições ótimas de salinidade para o crescimento das bactérias.

Como as bactérias estão liofilizadas, foi necessária a sua reativação com solução contendo, cloreto de magnésio hexahidratado, D(+)-glicose monohidratada, cloreto de potássio, ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanossulfônico, cloreto de sódio e água, (0,5 mL). A solução reativadora e as bactérias foram acondicionadas em termobloco por 15 min para o alcance da temperatura ideal (15 °C). Após isso, introduziu-se mais 12 mL de solução reativadora.

As amostras contendo as soluções aquosas de Propranolol antes e em determinados tempos de tratamento por Foto-Fenton, foram acondicionadas em microplacas, juntamente com soluções salinas de *V. fischeri* (100 µL de cada) e acondicionadas em câmara à temperatura controlada de 15°C.

Um teste controle (branco, 0% de inibição) utilizando *V. fischeri* conforme descrito na norma EN ISO 11348-1:1998 e controle positivo (100% de inibição com suspensão de 18% de NaCl), foram feitos (EN ISO 11348-1:1998 L34). As Microplacas de poliestireno (*Greiner 96 Flat Bottom Transparent Polystyrol*) para a determinação da toxicidade foram septicamente esterilizadas antes de cada experimento.

Os experimentos foram feitos em quadruplicata, configurando as microplacas de A-D (Linha 1) para um experimento e de E-H (Linha 2) para outro experimento. As colunas foram ainda configuradas de 1-11 para os diferentes tempos amostrados enquanto que a coluna 12 foi usada para o branco (12 A-D) e para o controle positivo (12 E-H). Em cada microplaca foi usado 100 µL de meio mineral com *V. fischeri* e 100 µL de amostra (Figura 26).

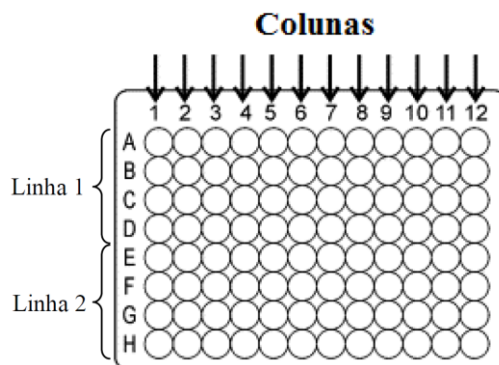


Figura 26. Representação esquemática das microplacas utilizadas para teste de toxicidade com *V. fischeri*.

A inibição resultante foi calculada de acordo com a Equação 20, enquanto que para calcular a toxicidade aguda a Equação 20 foi usada levando em consideração fator de correção calculado pelas Equações 21 e 22.

$$\text{Inibição (\%)} = 100 - \left(\frac{IC_t - IT_t}{IC_t} \right) \times 100 \quad (20)$$

$$CF = \frac{IC_t}{IC_0} \quad (21)$$

$$IC_t = I_0 \times CF \quad (22)$$

Onde IC_0 e I_0 são os valores respectivamente da luminescência do controle e da amostra no tempo $t=0$. IC_t é o valor de I_0 corrigido antes da adição da amostra (apenas bactéria e o meio mineral), IT_t é o valor da luminescência da amostra medida após “t” horas de exposição e CF é o fator de correção baseado na razão controle/branco.

A primeira leitura foi feita 30 min após a adição das amostras para calcular a toxicidade aguda e depois foram feitas leituras de hora em hora até um total de 24 h. Para evitar a diminuição da luminescência causada pela falta de oxigênio configurou-se o aparelho para agitar as microplacas por 900 s com 1 mm de amplitude antes da leitura. A absorbância foi medida no λ de 488 nm e a luminescência em 588 nm.

10.3.1 Resultados e Discussão

10.3.1.1 Análise das variáveis de processo sobre a degradação dos β -bloqueadores

O Propranolol foi completamente degradado em até 5 min de reação nas condições estudadas. Assim, os experimentos de degradação focaram-se em avaliar o efeito das variáveis de processo sobre a mineralização de Propranolol. Para tanto, um planejamento baseado em RSM foi feito.

Neste estudo, os principais parâmetros de processo pH, $[Fe^{2+}]_0$, $[H_2O_2]_0$ e temperatura foram avaliados. Embora muitos estudos sobre processos Fenton mostram que as maiores

eficiências são alcançadas em pH 2,5-3, para processos de remoção de fármacos no meio ambiente eficiências de remoção em valores de pH próximo ao natural de efluentes e águas superficiais devem ser estudados. Deste modo, o intervalo de pH escolhido foi de 3-7 (Tabela 10).

Tabela 10. Planejamento por RSM para o processo Foto-Fenton e a remoção de Carbono Orgânico Dissolvido (750 mL, [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, 120 min de tratamento).

Item	Níveis→					
	Variáveis↓	-2	-1	0	+1	+2
X ₁	pH	3	4	5	6	7
X ₂	[Fe ²⁺] ₀ (mg/L)	0	3,75	7,50	11,25	15
X ₃	[H ₂ O ₂] ₀ (mg/L)	0	37,5	75	112,5	150
X ₄	Temperatura (°C)	10	20	30	40	50

Exp.	pH	[Fe ²⁺] ₀ (mg L ⁻¹)	[H ₂ O ₂] ₀ (mg L ⁻¹)	Temperatura (°C)	Remoção de COD (%)	[Fe ²⁺] ₀ /[H ₂ O ₂] ₀
1	4 (-1)	3,75 (-1)	37,5 (-1)	20 (-1)	74,8	1:10
2	4 (-1)	3,75 (-1)	37,5 (-1)	40 (1)	74,2	1:10
3	4 (-1)	3,75 (-1)	112,5 (1)	20 (-1)	79,3	1:30
4	4 (-1)	3,75 (-1)	112,5 (1)	40 (1)	79,4	1:30
5	4 (-1)	11,25 (1)	37,5 (-1)	20 (-1)	72,3	1:3,3
6	4 (-1)	11,25 (1)	37,5 (-1)	40 (1)	78,6	1:3,3
7	4 (-1)	11,25 (1)	112,5 (1)	20 (-1)	76,2	1:10
8	4 (-1)	11,25 (1)	112,5 (1)	40 (1)	85,1	1:10
9	6 (1)	3,75 (-1)	37,5 (-1)	20 (-1)	71,3	1:10
10	6 (1)	3,75 (-1)	37,5 (-1)	40 (1)	59,8	1:10
11	6 (1)	3,75 (-1)	112,5 (1)	20 (-1)	84,2	1:30
12	6 (1)	3,75 (-1)	112,5 (1)	40 (1)	75,2	1:30
13	6 (1)	11,25 (1)	37,5 (-1)	20 (-1)	75,5	1:3,3
14	6 (1)	11,25 (1)	37,5 (-1)	40 (1)	64,4	1:3,3
15	6 (1)	11,25 (1)	112,5 (1)	20 (-1)	87,6	1:10
16	6 (1)	11,25 (1)	112,5 (1)	40 (1)	72,1	1:10
17	3 (-2)	7,50 (0)	75,0 (0)	30 (0)	76,3	1:10
18	7 (2)	7,50 (0)	75,0 (0)	30 (0)	76,0	1:10
19	5 (0)	0,00 (-2)	75,0 (0)	30 (0)	63,2	0:75
20	5 (0)	15,00 (2)	75,0 (0)	30 (0)	70,7	1:5
21	5 (0)	7,50 (0)	0,0 (-2)	30 (0)	74,5	7,5:0
22	5 (0)	7,50 (0)	150,0 (2)	30 (0)	82,5	1:20
23	5 (0)	7,50 (0)	75,0 (0)	10 (-2)	59,1	1:10
24	5 (0)	7,50 (0)	75,0 (0)	50 (2)	62,8	1:10
25	5 (0)	7,50 (0)	75,0 (0)	30 (0)	84,0	1:10
26	5 (0)	7,50 (0)	75,0 (0)	30 (0)	80,7	1:10
27	5 (0)	7,50 (0)	75,0 (0)	30 (0)	82,5	1:10

O desempenho do processo foi avaliado através do acompanhamento da redução de Carbono Orgânico Dissolvido (COD), que é um dos principais parâmetros para estimar-se a mineralização em termos de formação de CO₂ e H₂O. Os resultados foram avaliados usando o Software STATISTICA 8 (StatSoft, Inc. (2007), STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com).

A adequabilidade do modelo gerado foi checada usando ANOVA (Apêndice E) e pode ser observado que o modelo é válido para explicar a influência das variáveis sobre a degradação de Propranolol. ANOVA permite a identificação do modelo que melhor se ajusta

aos resultados pela comparação entre as variâncias de cada resposta e o modelo resultante. Essa fonte de variação é comparado com as distribuições de Fischer (teste *F*-Fischer).

A significância das soma dos quadrados (SS) das regressões é feita entre a média quadrática da regressão e a média quadrática dos resíduos para um dado valor de *p* (*p*-probabilidade). Se o valor de *p* para o teste *F* for menor do que 0,05 a variável pode ser considerada como significativa no modelo (Bezerra et al., 2008).

A Figura 27 mostra a influência de cada variável experimental sobre a mineralização de Propranolol por Foto-Fenton após 120 min de tratamento. O valor de r^2 para o modelo foi de 0,8223 indicando que somente 17,77% da variação total não são explicadas pelo modelo proposto. Observando a Tabela 10 pode ser visto que as replicatas do ponto central (Exp. 25-27) diferenciam em apenas 1,65% (sd), confirmando que o erro puro dos experimentos é baixo.

A equação de regressão resultante pode ser vista na Equação 23.

$$COD_{Rem.(\%)} = -25,074 - 0,216X_2^2 - 0,103X_3 - 0,045X_4^2 - 0,387X_1X_4 \quad (23)$$

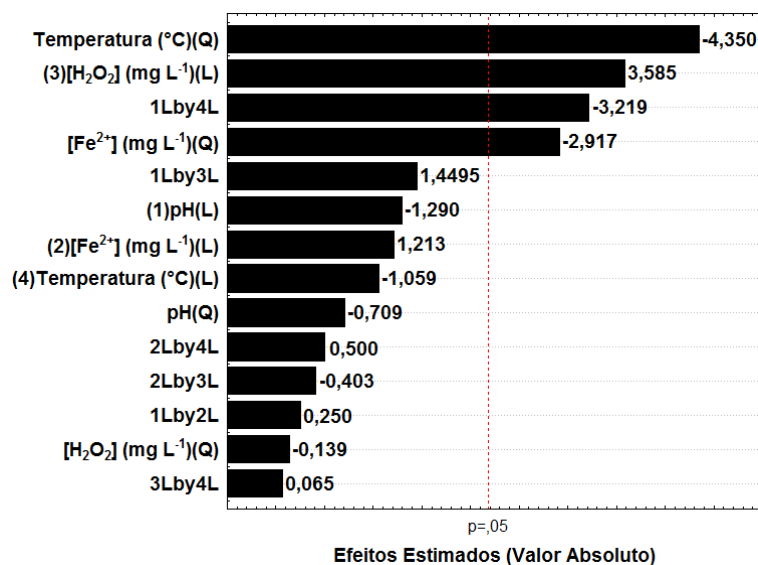


Figura 27. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) da degradação de Propranolol por Foto-Fenton. Linha vertical no diagrama define o nível de 95% de confiança, (L) significa variável linear e (Q) significa variável Quadrática.

O ajuste do modelo permite, então, a discussão da mineralização de Propranolol a partir das superfícies de resposta (Figura 28) geradas pelo modelo de regressão onde as variáveis não mostradas foram fixadas no ponto central.

A Figura 28 (A) mostra a interação entre as variáveis pH e $[Fe^{2+}]_0$, onde pode ser observado que os melhores resultados foram encontrados quando se utilizou pH abaixo de 4 com $[Fe^{2+}]_0$ em torno de 7,5 mg L⁻¹.

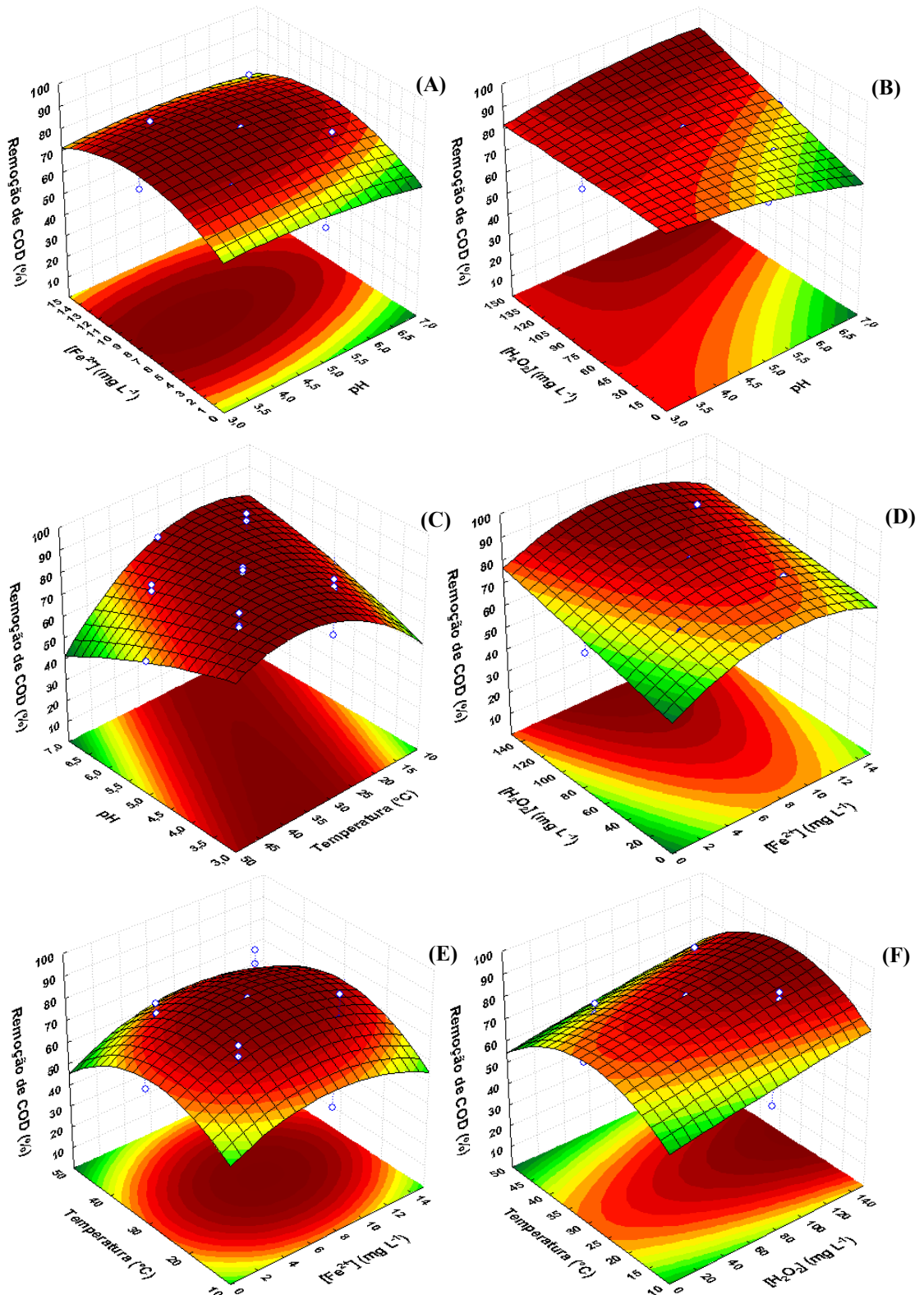


Figura 28. Superfície de resposta para o modelo quadrático da redução de COD de Propranolol por Foto-Fenton (750 mL, $[PRO]_0$ 10 mg L⁻¹, 120 min de tratamento). (A) pH vs $[Fe^{2+}]_0$, (B) pH vs $[H_2O_2]_0$, (C) pH vs Temperatura, (D) $[Fe^{2+}]_0$ vs $[H_2O_2]_0$, (E) $[Fe^{2+}]_0$ vs Temperatura, (F) $[H_2O_2]_0$ vs Temperatura.

A interação entre pH e a $[H_2O_2]_0$ pode ser vista na Figura 28 (B), onde se pode perceber que, mas maiores taxas de mineralização foram alcançadas para as maiores

concentrações de peróxido em todo o intervalo de pH estudado, enquanto que para menores concentrações de peróxido as maiores taxas foram encontradas em $\text{pH} < 4$.

Como pode ser visto na Figura 28 (C), a degradação do Propranolol aumenta gradualmente com o aumento da temperatura, alcançando um máximo em temperaturas próximas a $30\text{ }^\circ\text{C}$, para pH mais ácidos a degradação foi maior.

A Figura 28 (D) mostra a interação entre a $[\text{Fe}^{2+}]_0$ e a $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$. Pode ser observado que as maiores degradações foram encontradas quando a $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ foi aumentada. Esse fenômeno está relacionado ao excesso de peróxido, que é o reagente limitante do processo e que pode favorecer a regeneração de íons ferrosos e assim regenerar o ciclo de formação de radicais $\text{HO}\cdot$ (Figura 23). O comportamento da $[\text{Fe}^{2+}]_0$ mostra um perfil quadrático (semiesférico) onde as melhores degradações foram encontradas em torno da concentração inicial de $7,5\text{ mg L}^{-1}$ de íons ferrosos.

Esse fenômeno pode estar relacionado à relação entre íons ferrosos e peróxido de hidrogênio, que possui melhores eficiências para a geração de radical hidroxila quando esta está entre 1:5-1:10 de $[\text{Fe}^{2+}]_0:[\text{H}_2\text{O}_2]_0$. O processo de degradação de Propranolol foi configurado para que as razões entre $[\text{Fe}^{2+}]_0:[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ variassem de 1:3,3-1:30.

Como pode ser observado na Figura 28 (E), a interação entre a temperatura e os íons ferrosos apresenta também um perfil semiesférico onde os melhores resultados foram encontrados em temperaturas próximas a $30\text{ }^\circ\text{C}$ e $[\text{Fe}^{2+}]_0$ de $7,5\text{ mg L}^{-1}$.

A Figura 28 (F) mostra a interação entre a temperatura e a $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$, sendo que as maiores degradações foram encontradas aumentando-se a $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ enquanto que para a temperatura os melhores resultados foram encontrados próximos a $30\text{ }^\circ\text{C}$. Os resultados sugerem que o processo fotoquímico mediado por radiação artificial, possui alta atividade fotônica. Em virtude da natureza dos processos fotoquímicos, o estágio de iniciação das reações é muito rápido.

10.3.1.2 Otimização das variáveis de processo

A otimização por RSM das variáveis de processo pode ser avaliada pela função de desejabilidade (Figura 29). Como pode ser observado para a variável pH individualmente (os demais pontos foram fixados no ponto central) as maiores eficiências de mineralização foram encontradas quando o pH inicial do processo foi ajustado para 4.

Assim como foi observado nas superfícies de resposta, a $[\text{Fe}^{2+}]_0$ ótima para o presente processo foi em $7,5\text{ mg L}^{-1}$. A Figura 29 mostra, ainda, que a variável $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ tem um perfil individual linear positivo, ou seja, aumentado à quantidade de H_2O_2 as eficiências na

mineralização de Propranolol aumentaram e, dessa forma, a $[H_2O_2]_0$ otimizada foi de 150 mg L⁻¹.

Igualmente a $[Fe^{2+}]_0$ a temperatura apresentou um perfil quadrático onde a temperatura otimizada foi de 30 °C. Portanto, as condições otimizadas foram pH₀ 4, $[Fe^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹, $[H_2O_2]_0$ 150 mg L⁻¹ e temperatura de 30 °C foram usadas para avaliar os produtos de degradação, biodegradabilidade e toxicidade, ainda, as mesmas condições foram aplicadas a degradação de Atenolol e Metoprolol por Foto-Fenton.

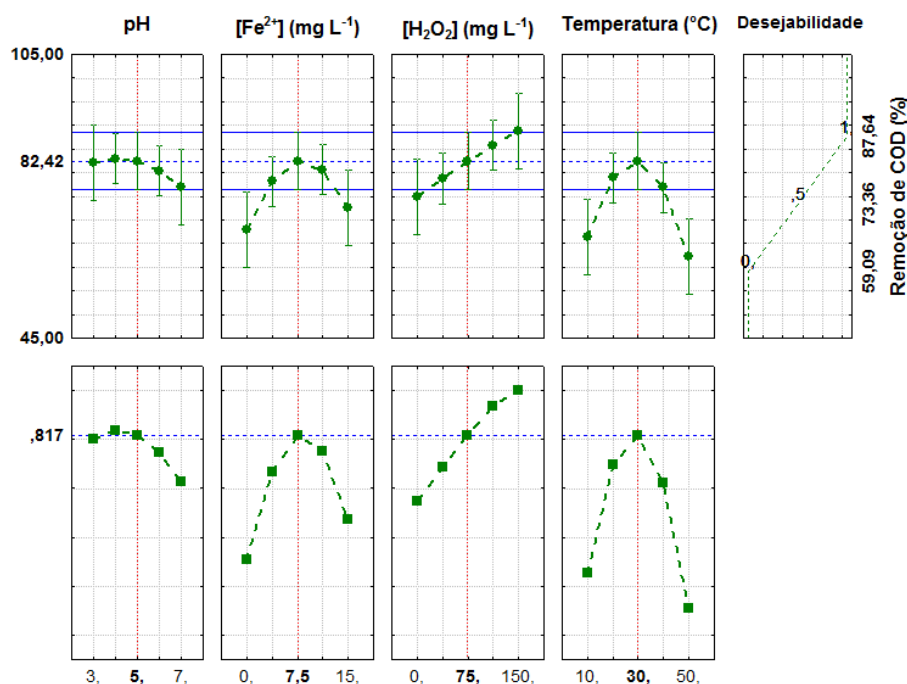


Figura 29. Perfil das variáveis independentes pH, $[Fe^{2+}]$, $[H_2O_2]$ e Temperatura relacionadas à função de desejabilidade na mineralização de Propranolol por Foto-Fenton.

10.3.1.3 Efeito do pH

A cinética da reação entre Fe^{2+} e H_2O_2 (Reação 1) sugere que há uma grande formação de radicais $HO\cdot$, seguida pela formação de íons férricos e estes em excesso de peróxido podem ser novamente regenerados a íon ferrosos, reiniciando novamente a cadeia de reações radiculares (Figura 23).

Em pH ácidos (2-4) a reação Fenton tem sua máxima efetividade transcorrendo posteriormente um equilíbrio de espécies férricas dependente do pH do meio aquoso. A especiação das espécies férricas em função do pH pode ser observada na Figura 30.

A formação de hidroxí-complexos de Fe(III), tais como $[Fe^{III}(OH)]^{2+}$, $[Fe^{III}(OH)_2]^+$ também podem catalisar a geração de radicais $HO\cdot$ em processos Foto-Fenton (Reações 7-10), aumentando a mineralização de compostos orgânicos (Feng & Nansheng, 2000).

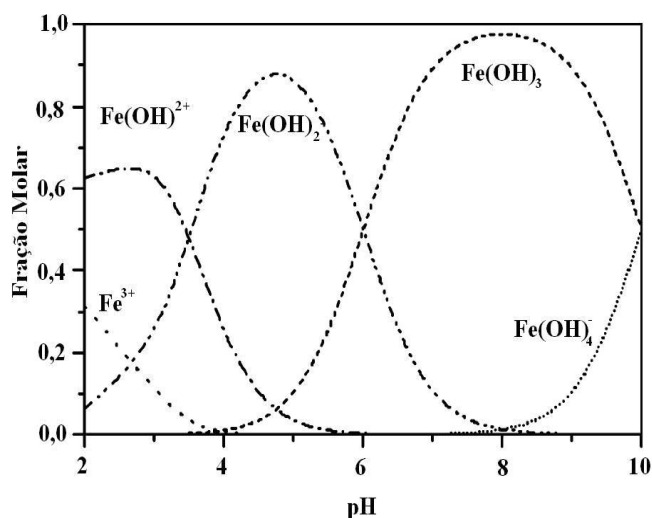
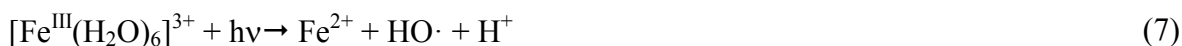


Figura 30. Especiação de Fe(III) em solução aquosa em função do pH a 25°C na ausência de H₂O₂. Adaptado de Duan & Gregory (2003).

10.3.1.4 Efeito da [Fe²⁺]

Correlacionado com o pH, o efeito da concentração de Fe(II) sobre o processo Fenton depende, em um primeiro momento, da reação com H₂O₂ para formação de radicais hidroxila pela reação Fenton (Reações 1-4), e em um segundo momento na presença de radiação UV também há geração de radicais hidroxila (Reações 5 e 6) e, como exposto na Figura 23, o Fe está em um constante ciclo de oxidação-redução Fe(II) \rightleftharpoons Fe(III), potencializado pela irradiação UV.

A radiação UV possui ainda um importante papel em processos Foto-Fenton (Reações 7-10), pois cada espécie de ferro possui um λ específico de máxima absorvância. [Fe^{III}(H₂O)₆]³⁺ tem $\lambda_{\text{máx}}$ em 240 nm, [Fe^{III}(OH)]²⁺ e [Fe^{III}(OH)₂]⁺ possuem $\lambda_{\text{máx}}$ em 297 nm e Fe₂(OH)₂⁴⁺ possui $\lambda_{\text{máx}}$ em 335 nm. Cabe ressaltar que o rendimento quântico para a geração do radical hidroxila está diretamente relacionado ao $\lambda_{\text{máx}}$ de cada espécie (Feng & Nansheng, 2000).



Desta forma podem ser explicados os melhores resultados de mineralização em pH próximos a 4. Observando a Figura 30 pode-se ver que nesse pH há a predominância das espécies [Fe^{III}(OH)]²⁺ e [Fe^{III}(OH)₂]⁺ favorecendo a maior geração de radicais hidroxila.

Esse fenômeno pode ser acompanhado principalmente no experimento 21 conduzido na ausência de H_2O_2 , o Propranolol alcançou 74,48% de mineralização (Figura 31). O principal mecanismo de degradação e mineralização envolvido é a formação de radicais hidroxila pela fotólise de oxi-hidroxi complexos.

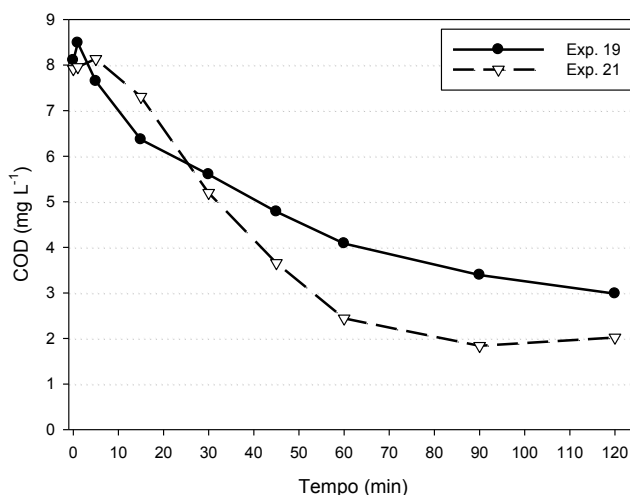


Figura 31. Acompanhamento da degradação de Propranolol para os Exp. 19 e 21. Condições iniciais: [PRO] 10 mg L^{-1} . Exp. 19: pH 5, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 0 mg L^{-1} , $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 75 mg L^{-1} , Temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$; Exp. 21: pH 5, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 0 mg L^{-1} , Temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

A particularidade do processo UV/ Fe^{2+} (Exp. 21) para a formação de radicais hidroxila pode estar na substituição inicial de H_2O_2 por O_2 . A geração de radicais hidroxila pode se dar pela reação entre íons ferrosos e oxigênio dissolvido produzindo o íon radicalar superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) que conduz a produção de peróxido de hidrogênio (Hug & Leupin, 2003), conforme Reações 11 e 12, dando início, novamente, à reação Fenton (Reação 1).



O acompanhamento do decaimento da concentração de íons ferrosos para o Exp. 21 esta representada na Figura 32. Comparando a mineralização de PRO (Figura 31) e o decaimento de íons ferrosos (Figura 32), observa-se o mesmo comportamento para ambos os parâmetros. Em termos de COD há uma leve diminuição no início do processo, assim como de íons ferrosos, sendo posteriormente mineralizado pela geração de peróxido de hidrogênio e íon férricos que podem ser catalisados por irradiação UV (Reações 7-10) aumentando o caráter oxidante do sistema.

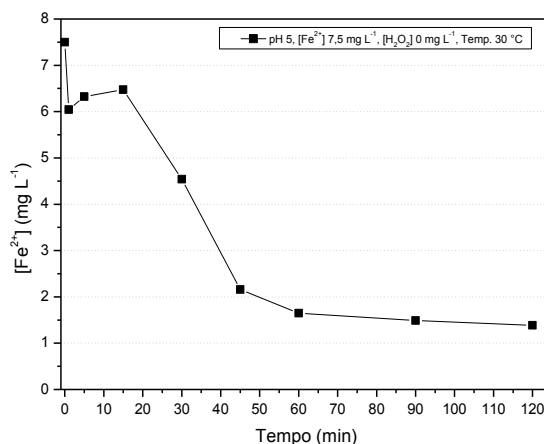


Figura 32. Acompanhamento do decaimento da concentração de Fe^{2+} durante o processo UV/ Fe^{2+} na degradação de Propranolol em solução aquosa. Condições de tratamento: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L^{-1} , $[\text{Fe}^{2+}]_0$ $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 0 mg L^{-1} , Temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

Para os experimentos nas condições otimizadas de Foto-Fenton por RSM ($[\text{PRO}]_0$ 10 mg L^{-1} , $[\text{Fe}^{2+}]_0$ $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L^{-1} , Temp. $30 \text{ }^\circ\text{C}$), o consumo de íons ferrosos foi acompanhado. Como pode ser observado na Figura 33 (A-C) o íon ferroso é consumido rapidamente logo no início da reação, e posteriormente, devido à falta de peróxido (consumido após 45 min de tratamento), com posterior aumento de íons ferrosos, após 60 min o que está relacionado principalmente as Reações 7-10.

10.3.1.5 Efeito da $[\text{H}_2\text{O}_2]$

O peróxido de hidrogênio pode ser considerado o limitante do processo foto-Fenton. As razões entre $\text{Fe}^{2+}:\text{H}_2\text{O}_2$ escolhidas variaram de 1:3,3-1:30, com a maioria dos experimentos seguindo a razão de 1:10. A razão entre $\text{Fe}^{2+}:\text{H}_2\text{O}_2$ tem papel importante em processo Fenton e Fenton-like (Gulkaya et al., 2006).

Além do mecanismo de reação radicalar (Reações 1-4), peróxido de hidrogênio pode sofrer homólise por radiação UV em λ menores que $253,7 \text{ nm}$ sob lâmpadas de arco de Xe/Hg ou em lâmpadas de baixa pressão de Hg na região UVC (Reações 13 e 14) (Oppenländer, 2003).



$$\Phi_{\text{HO}\cdot} = 1,0 \text{ (Li et al. 2007)}$$



Esse mecanismo radicalar de geração de radicais hidroxila foi acompanhado no experimento 19 conduzido sem a presença de íons ferrosos. A Figura 31 mostra a mineralização de Propranolol no decorrer do experimento.

O acompanhamento do decaimento da concentração de H_2O_2 nos experimentos em condições otimizadas (Figura 33), percebe-se claramente que o peróxido é o limitante do processo, uma vez que o peróxido é totalmente consumido em 60 min de tratamento, diminuindo a taxa de mineralização.

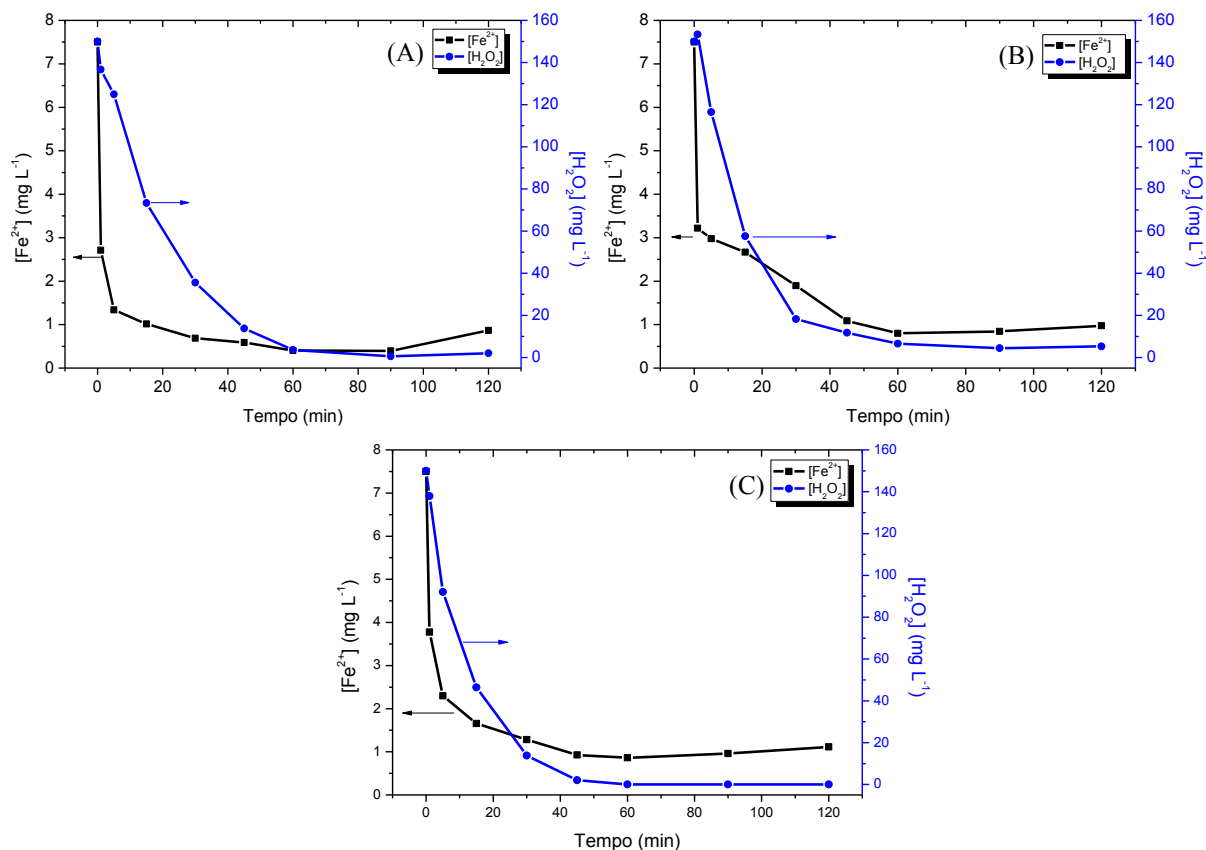


Figura 33. Acompanhamento do decaimento da concentração de H_2O_2 e Fe^{2+} durante o processo Foto-Fenton para Atenolol (A), Metoprolol (B) e Propranolol (C). Condições iniciais: $[\beta\text{-bloqueador}]_0$ 10 mg L^{-1} ; pH 4; $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 7,5 mg L^{-1} ; $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L^{-1} ; Temp. 30 °C.

10.3.1.6 Efeito da Temperatura

A temperatura atua sobre a cinética das reações. A energia de ativação das espécies radicalares envolvidas nos processos Fenton, tais como $\text{HO}\cdot$, $\text{HO}_2\cdot$, é baixa e fica no intervalo de 10-40 kJ mol^{-1} . Deste modo as reações de geração dessas espécies apresentam certa dependência da temperatura na faixa de 10-50 °C. As Reações 3 e 4, que possuem energia de ativação de 126 kJ mol^{-1} são aceleradas em elevadas temperaturas. Logo um aumento da temperatura diminui apreciavelmente sua energia de ativação (Lee et al., 2003). Portanto a temperatura tem papel importante no ciclo de regeneração dos íons ferrosos nos processos Fenton.

10.3.1.7 Cinética de degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol nas condições otimizadas

Estudos envolvendo a cinética de degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol também foram avaliados. Como nas condições experimentais propostas a degradação ocorre rapidamente em 5 min de processo e, deste modo, a cinética não pôde ser calculada precisamente. Posto isso, reduziu-se as quantidades de $[Fe^{2+}]$ e $[H_2O_2]$ permitindo acompanhar o perfil de degradação dos β -bloqueadores. As condições experimentais foram as mesmas otimizadas por RSM.

As reações de degradação entre compostos orgânicos e $HO\cdot$ segue equação de segunda ordem (Equação 24), onde k é a constante de velocidade de reação, $[BB]$ é a concentração dos β -bloqueadores, $[HO\cdot]$ é concentração de radicais hidroxila e t é o tempo de reação. A irradiação foi constante durante todo o tempo de tratamento (Kavitha & Palanivelu, 2004; Rodriguez et al., 2003). O consumo de radicais hidroxila segue a Equação 25, onde $\sum k_j[S_j][HO\cdot]$ é o consumo de radicais hidroxila por sequestrantes.

$$\frac{d[BB]}{dt} = -k_{BB} \cdot [BB][HO\cdot] \quad (24)$$

$$\frac{d[HO\cdot]}{dt} = k_1[Fe^{2+}][H_2O_2] - k_{BB}[BB][HO\cdot] - \sum_j k_j[S_j][HO\cdot] \quad (25)$$

Assumindo que a geração de radicais hidroxila é constante e em excesso comparada a concentração de β -bloqueadores e assumindo também que a geração de radicais hidroxila segue um pseudo estado estacionário, deste modo a Equação 25 não varia com o tempo, ou seja, pode ser considerada como uma constante, Equação 26.

$$\frac{d[HO\cdot]}{dt} = 0 \quad (26)$$

Deste modo a Equação 27 deriva das Equações 25 e 26.

$$[HO\cdot] = \frac{k_1[Fe^{2+}][H_2O_2]}{k_{BB}[BB] + \sum_j k_j[S_j][HO\cdot]} \quad (27)$$

Substituindo a Equação 27 na Equação 24 resulta na Equação 28.

$$\frac{d[BB]}{dt} = -\frac{k_{BB}k_1[Fe^{2+}][H_2O_2]}{k_{BB}[BB] + \sum_j k_j[S_j][HO\cdot]} [BB] \quad (28)$$

Como em processos Foto-Fenton a dosagem de $[H_2O_2]$ é alta o suficiente para gerar radicais hidroxila em quantidades suficientes para degradar o composto alvo, essa concentração é superior ao próprio composto alvo, gerando também espécies radicalares sequestrantes de radicais hidroxila. No presente estudo a concentração de H_2O_2 comparada a

de β -bloqueadores foi de $[H_2O_2]:[BB] \approx 28,57-114,26$, ou seja, a concentração de $[BB]$ é menor que $\sum k_j[S_j][HO\cdot]$ e a Equação 28 pode ser simplificada a Equação 29.

$$\frac{d[BB]}{dt} = -\frac{k_{BB}k_1[Fe^{2+}][H_2O_2]}{\sum_j k_j[S_j][HO\cdot]} [BB] \quad (29)$$

A Equação 29 pode ainda ser reduzida a Equação 30 de pseudo-primeira ordem, para o decaimento de um composto em função do tempo, onde k_{obs} representa a constante $k_{BB}k_1[Fe^{2+}][H_2O_2]/\sum k_j[S_j][HO\cdot]$ (Sun et al., 2007).

$$\frac{d[BB]}{dt} = -k_{obs} \cdot [BB] \quad (30)$$

Onde k_{obs} é a constante cinética de velocidade observada. Derivando a Equação 30, obtêm-se um decaimento exponencial da concentração em função do tempo (Equação 31).

$$[BB] = [BB]_0 \cdot e^{-k_{obs} \cdot t} \quad (31)$$

Quando se trabalha com reações de pseudo-primeira ordem, é conveniente ainda o uso do tempo de meia vida ($t_{1/2}$). O $t_{1/2}$ de um composto é o tempo necessário para que 50% de sua concentração inicial seja degradada.

A constante cinética (k_{obs}) e $t_{1/2}$ foram determinados simulando a aplicação da Equação 21 para os dados experimentais da degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol usando software Mathematica 7.0 (Wolfram Research, Champaigne, IL). A confirmação de k_{obs} foi feita aplicando ajuste dos dados por regressão não-linear (SigmaPlot 2008, SPSS Software).

Como pode ser visto na Figura 34 o modelo proposto de pseudo-primeira ordem se ajusta bem aos pontos experimentais com r^2 acima de 0,98.

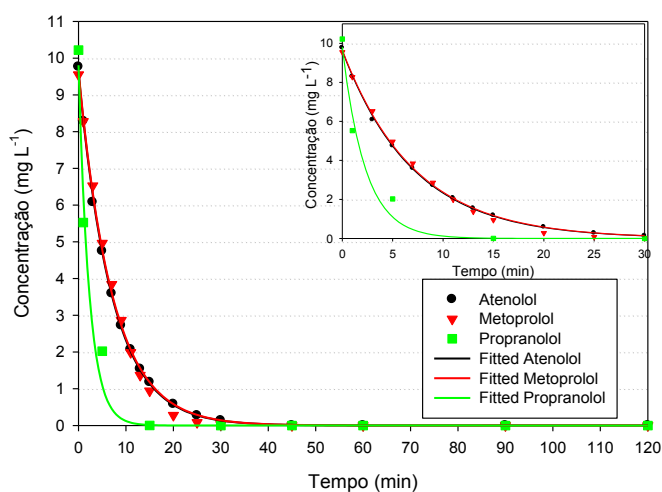


Figura 34. Acompanhamento da degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por Foto-Fenton em solução aquosa. Condições iniciais: $[BB]_0$ 10 mg L⁻¹, pH 4 $[Fe^{2+}]_0$ 0,15 mgL⁻¹, $[H_2O_2]_0$ 3 mg L⁻¹; Temp. 30 °C.

Isso sugere que a $[HO\cdot]$ foi constante durante o experimento e, deste modo, pode-se inferir que a concentração de radicais hidroxila foi constante ocorre pelo menos até 60 min de reação, pois como observado na Figura 33 (A-C), após 60 min o peróxido foi totalmente consumido.

A Tabela 11 mostra também o tempo de meia vida e o tempo necessário para alcançar a degradação de 90% de Atenolol, Metoprolol e Propranolol. O $t_{1/2}$ segue o mesmo comportamento da k_{obs} e para os compostos estudados foi de 286,851 s (4,78 min), 301,278 s (5,02 min) e 81,18 s (1,35 min) para o Atenolol, Metoprolol e Propranolol.

Tabela 11. Constante cinética de pseudo-primeira ordem (k_{obs}), $t_{1/2}$, t_{90} e ajuste do modelo da degradação de β -bloqueadores por Foto-Fenton.

β -bloqueador	k_{obs} (s^{-1})	$t_{1/2}$ (s)	t_{90} (s)	r^2
Atenolol	$2,366 \times 10^{-3}$	286,851	967,134	0,999
Metoprolol	$2,338 \times 10^{-3}$	301,278	989,358	0,997
Propranolol	$7,30 \times 10^{-3}$	81,1802	281,478	0,984

Propranolol apresentou a maior k_{obs} o que pode estar relacionado ao maior número de sítios reativos devido à presença do grupamento naftaleno, que possui maior densidade de elétrons para a oxidação por radicais hidroxila, comparado ao grupamento fenol do Atenolol e do Metoprolol.

A diferença nas estruturas dos compostos reflete em sua reatividade e uma pequena diferença pode ser observada entre k_{obs} de Atenolol e Metoprolol. Metoprolol apresenta k_{obs} maior que o Atenolol que possui um grupamento fracamente doador de elétron $CH_3OCH_2CH_2-$ na cadeia lateral, comparado ao grupamento NH_2COCH_2- do Atenolol. Semelhante comportamento cinético também foi observado por (Sirés et al., 2010; Song et al., 2008).

A taxa inicial do decaimento de peróxido de hidrogênio também segue a lei pseudo-primeira ordem. O ajuste do modelo pode ser verificado na Figura 35 e na Tabela 12.

De uma maneira análoga pode-se correlacionar o decaimento da concentração de peróxido de hidrogênio a formação de radicais $HO\cdot$. Observando a cinética de pseudo-primeira ordem para o consumo de peróxido observa-se que a cinética segue $k_{obs[H_2O_2]Pro} > k_{obs[H_2O_2]Ate} > k_{obs[H_2O_2]Met}$.

Esse comportamento também foi observado para a cinética de degradação dos mesmos compostos ($k_{obsPro} > k_{obsAte} > k_{obsMet}$). Deste modo, a análise do consumo de peróxido durante

o processo Foto-Fenton indica a reatividade e a capacidade oxidativa do reagente Fenton frente a compostos orgânicos.

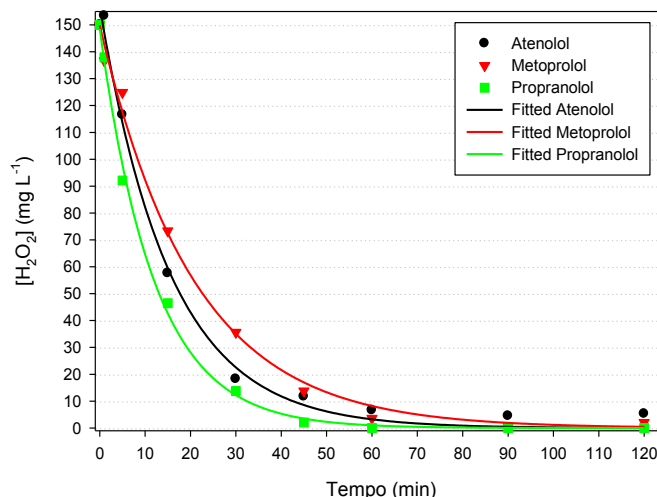


Figura 35. Acompanhamento do decaimento da $[H_2O_2]$ na degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por Foto-Fenton. Condições iniciais: $[BB]_0$ 10 mg L⁻¹, pH 4 $[Fe^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹, $[H_2O_2]_0$ 150 mg L⁻¹; Temp. 30 °C.

Correlacionado ainda a degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol com o consumo de peróxido de hidrogênio, percebe-se claramente que a degradação ocorre pela formação de radicais hidroxila, principalmente pela Reação 1, em 30 min de reação. Deste modo, a cinética de pseudo-primeira ordem é adequada para explicar a degradação.

Tabela 12. Constante cinética de pseudo-primeira ordem ($k_{obs[H_2O_2]}$), $t_{1/2}$, t_{90} e ajuste do modelo para consumo da $[H_2O_2]$ no processo Foto-Fenton.

β -bloqueador	$k_{obs[H_2O_2]}$ (s ⁻¹)	$t_{1/2}$ (s)	t_{90} (s)	r^2
Atenolol	$1,077 \times 10^{-3}$	685,191	2179,06	0,994
Metoprolol	$0,807 \times 10^{-3}$	857,701	2853,04	0,996
Propranolol	$1,386 \times 10^{-3}$	492,66	1653,75	0,998

O acompanhamento da mineralização pode ser visto na Figura 36. Como pode ser observado ocorre uma rápida mineralização até os 45 min de processo, que está diretamente ligado à geração de radicais hidroxila pela reação entre Fe(II) e H₂O₂. Após 45 min ocorre uma diminuição na mineralização devido ao consumo total de peróxido.

O prosseguimento da mineralização pode ser explicado pela sequência de Reações 7-10. Essas reações são dependentes da eficiência fotônica para a produção de radicais hidroxila ($\Phi_{HO\cdot}$) (Feng & Nansheng, 2000).

O modelo proposto para tentar explicar esse fenômeno foi baseado na soma de duas cinéticas de pseudo-primeira ordem mais um parâmetro de ajuste A , conforme Equação 32.

$$[COD] = A + [COD]_1 \cdot e^{-k_1 \cdot t} + [COD]_2 \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (32)$$

Onde A é igual a $1 - \beta$ e representa a fração recalcitrante da matéria orgânica e $[COD]$ é a fração oxidável da matéria orgânica (Martins et al., 2010) e a concentração inicial é calculada pela soma de $[COD]_1 + [COD]_2 + A$. A tentativa de ajuste do modelo foi feita por regressão não-linear (SigmaPlot 2008, SPSS Software).

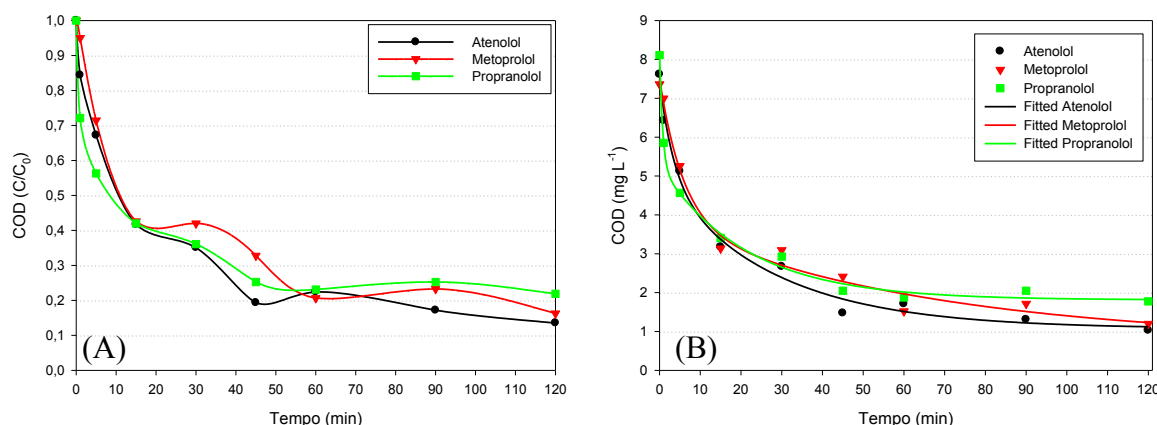


Figura 36. (A) Acompanhamento do decaimento de Carbono Orgânico Dissolvido (DOC) e (B) ajuste do modelo cinético para o decaimento de COD na degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por Foto-Fenton. Condições iniciais: $[BB]_0$ 10 mg L⁻¹, pH 4 $[Fe^{2+}]$ 7,5 mg L⁻¹, $[H_2O_2]$ 150 mg L⁻¹; Temp. 30 °C.

O ajuste do modelo, de acordo com a Figura 36 (B), foi adequado para explicar o comportamento da mineralização por Foto-Fenton.

As constantes cinéticas encontradas para o Atenolol foram $4,8 \times 10^{-3}$ e $0,6 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ e o $t_{1/2}$ de 10,90 min, com r^2 de 0,991. Simulando os dados com a cinética de pseudo-primeira ordem apenas e segunda ordem apenas os r^2 encontrados foram 0,908 e 0,966, respectivamente, indicando que o modelo proposto explica melhor o ajuste dos dados.

Para o Metoprolol as constantes para a mineralização foram $2,87 \times 10^{-3}$ e $0,25 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para um $t_{1/2}$ de 12,85 min, com r^2 0,987. Ajustando os dados para a cinética de pseudo-primeira ordem o r^2 encontrado foi de 0,903 e para segunda ordem foi de 0,966. O Propranolol apresentou $22,37 \times 10^{-3}$ e $7,83 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ para $t_{1/2}$ 9,27 min com r^2 de 0,995.

10.3.2 Elucidação Estrutural dos Produtos de Degradação (PDs) de Propranolol por LC-MSⁿ

A identificação dos PDs foi feita sob as condições de tratamento otimizadas por RSM. As análises de elucidação dos Produtos de Degradação (DP) de propranolol por Foto-Fenton foram feitas por LC-MSⁿ como descrito na seção 10.2.1.6 comparando os dados de espectrometria de massas da solução inicial de propranolol e os dados das alíquotas amostradas em diferentes tempos do processo.

As análises foram feitas avaliando o íon molecular $[M+H]^+$ em modo positivo e negativo, mas o modo positivo mostrou-se mais adequado para a identificação dos PDs. A primeira etapa na elucidação das estruturas dos PDs consiste em determinar o padrão de fragmentação (*fragmentation pattern*) do composto de partida (*parent compound*). A molécula de propranolol elui em 15,9 min e exibe m/z $[M+H]^+$ de 260,0 Da. Essa m/z foi usada como Íon Precursor (IP) para fragmentação (MS^2) de propranolol, que pode ser observada na Figura 37.

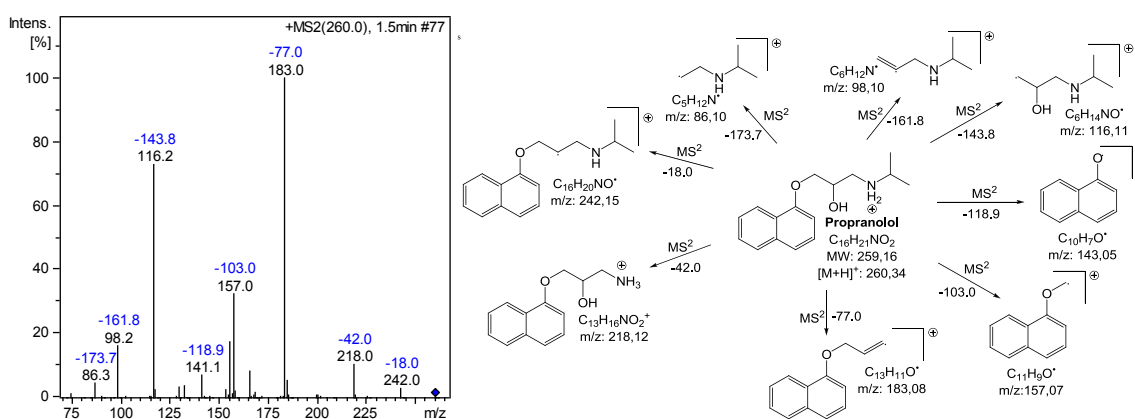


Figura 37. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação proposto para o Propranolol (m/z 260,0 MS^2).

A perda de 18 Da indica a clivagem do grupamento hidroxila na cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi e a perda de 42 Da indica a clivagem do grupamento isopropila. O fragmento de maior intensidade foi m/z 183 se deve pela perda do grupamento hidroxila e do grupamento propano-2-amina.

Os fragmentos m/z 157 e 141 apresentam o grupamento naftaleno intacto, ocorrendo à fragmentação na ligação do naftalen-2-ol. Os fragmentos de m/z 116,2; 98,2 e 86,3 são importantes na identificação de PDs pois indicam os fragmentos referentes à cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi. Semelhante padrão de fragmentação foi proposto por (Benner & Ternes, 2009b).

O Cromatograma Total de Íons (TIC, do inglês *Total Ion Chromatogram*) da degradação de Propranolol em determinados tempos de processo pode ser visto na Figura 38.

Os picos mais intensos, dado o grau de mineralização, foram extraídos (dados não apresentados), analisados e revelaram 12 PDs para o processo Foto-Fenton. A maioria dos PDs foram identificados nos primeiros minutos de processo, sendo posteriormente degradados e mineralizados.

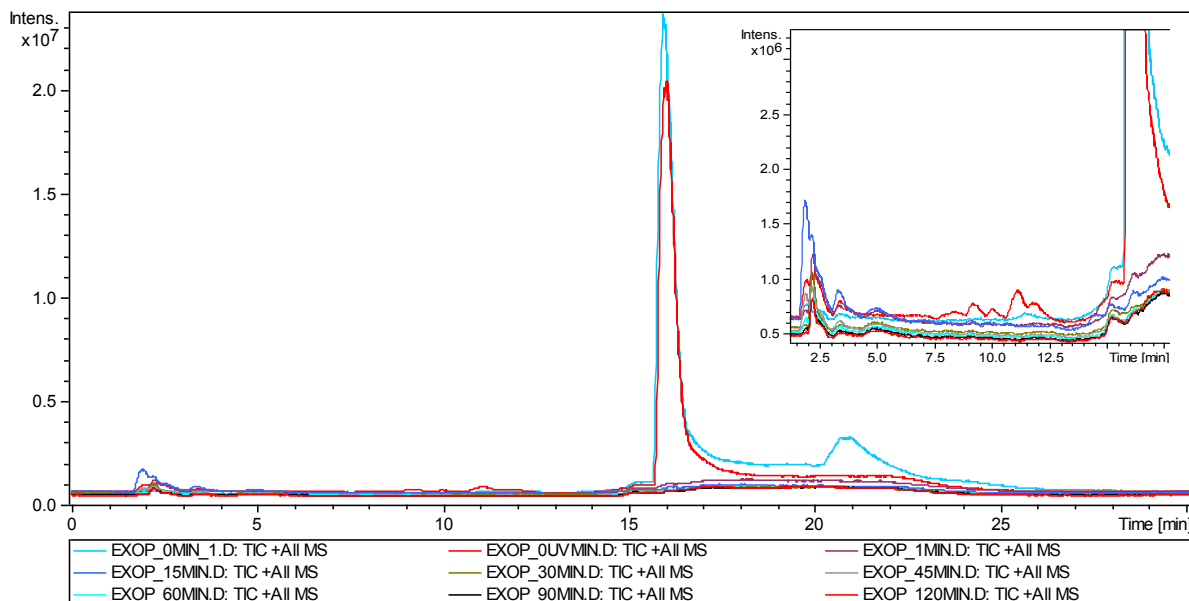


Figura 38. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Propranolol pelo processo Foto-Fenton em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS. Condições iniciais: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L⁻¹; pH 4; $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹; $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L⁻¹, Temp.: 30 °C.

Quatro PDs com m/z maior que propranolol foram encontrados. Esses PDs apresentam íon molecular de $[\text{M}+\text{H}]^+$ de m/z 274, 276, 292 e 308 Da. O PD de íon molecular $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 276 Da, nomeado PD 276, apresenta 16 Da a mais que PRO, indicando que em um primeiro momento ocorre um ataque do radical hidroxila por abstração de hidrogênio.

Analisando o PD 276 por Cromatograma de íon extraído (EIC, do inglês *Extracted Ion Chromatogram*) percebeu-se que o mesmo apresentou dois picos, relacionados, provavelmente, à posição do grupamento hidroxila no anel aromático.

O primeiro pico elui com 11,3 min e o segundo pico com 15,1 min e apresentam pouca diferença em termos de fragmentação, indicando que são isômeros apenas de posição. O perfil de fragmentação pode ser observado na Figura 39.

O caminho de fragmentação indica que o ataque do radical hidroxila ocorreu no grupamento naftaleno, o que é principalmente confirmado pelos fragmentos de m/z 116 e 98, característicos da cadeia lateral. Ainda de acordo com o perfil de fragmentação, é difícil prever em qual posição do naftaleno ocorreu o ataque. Alguns autores também encontraram esse PD em processos utilizando diferentes PAOs (Song et al., 2008; Radjenovic et al., 2009; Yang et al., 2010).

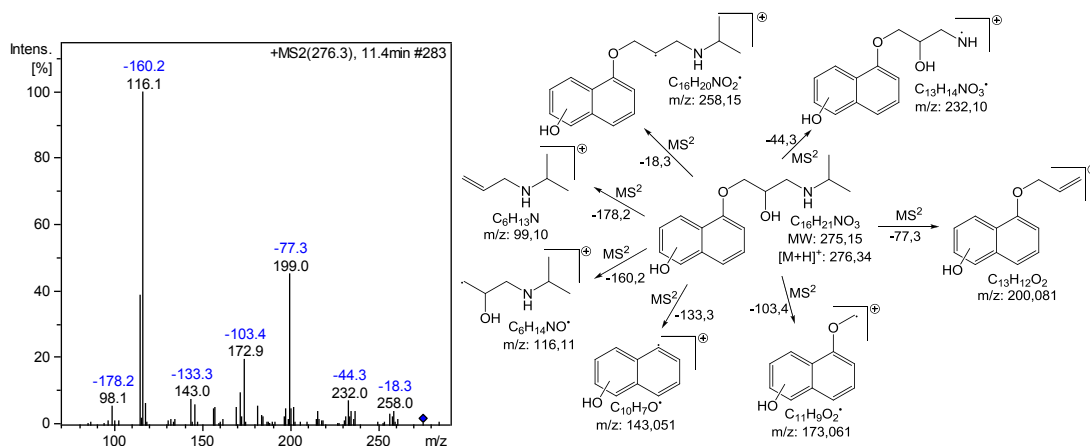


Figura 39. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 276.

O PD 292 apresentou 32 Da a mais que o PRO e 16 a mais que o PD 276, indicando que houve um segundo ataque ao anel naftaleno por radicais hidroxila. Da mesma forma que para o PD 276, o DP 292 apresentou dois picos em tempos diferentes de eluição 10,9 e 11,8 min, respectivamente. O perfil de fragmentação por MS² pode ser visto na Figura 40. O perfil de fragmentação apresenta os fragmentos de m/z 98 e 116 indicando que a cadeia lateral não foi atacada por radicais hidroxila.

Outros estudos de degradação de propranolol por PAOs e fotólise também encontraram um intermediário com m/z 292 Da. Os autores propõem que o ataque seja sobre o PD 276 ocorrendo então à abertura de um dos anéis aromáticos no naftaleno. O presente estudo propõe, segundo o caminho de fragmentação, que também ocorra a abertura do anel aromático do naftaleno, principalmente pela presença do fragmento de m/z 131, caracterizando a perda de 132 Da da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi e de 29 Da de C=O (Liu & Williams, 2007; Romero et al., 2011).

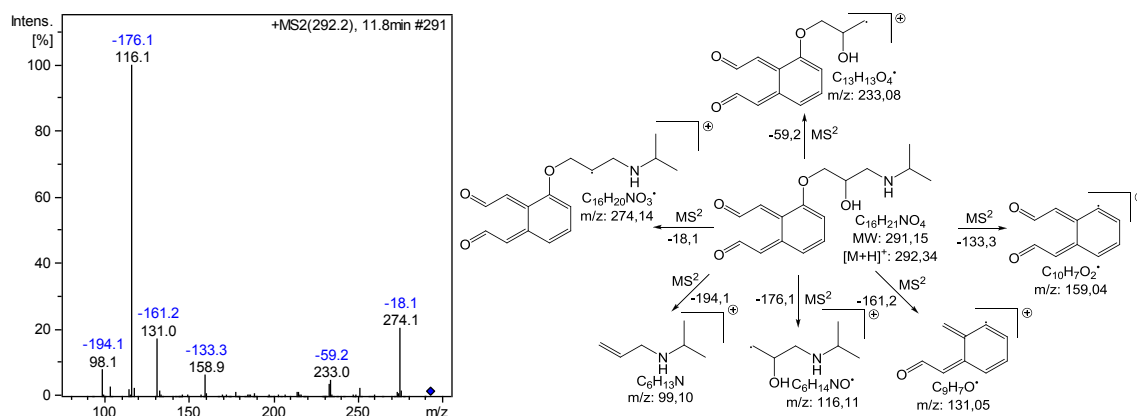


Figura 40. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 292.

O PD 308 apresenta 48 Da a mais que PRO, 32 mais que o PD 276 e 16 a mais que o PD 292. Benner & Ternes (2009a) em estudo sobre ozonização em meio alcalino, e Romero et al. (2011) em estudo sobre fotólise, sugerem que a adição seja sobre o grupamento amino, mas como os experimentos foram conduzidos em pH 4 e nessa condição grupamento amino está positivamente carregado (Figura 2) apresentando-se menos reativo e, ainda, pelo impedimento estérico do grupamento isopropila, pode-se afirmar que houve adição de outra hidroxila em uma dupla ligação do anel aromático.

O perfil de fragmentação (Figura 41) demonstra que ambas as moléculas podem ocorrer. Como não houve diferença em termos de fragmentação e o EIC mostra a ocorrência de dois picos para essa m/z, ambos sem grandes diferenças em termos de perfil de fragmentação pode-se inferir que ambas as estruturas poderiam ser formadas como PD. Portanto no presente estudo serão considerados ambos os isômeros como PD 308. A Figura 41 mostra apenas o caminho de fragmentação para o PD 308 com adição ao anel aromático.

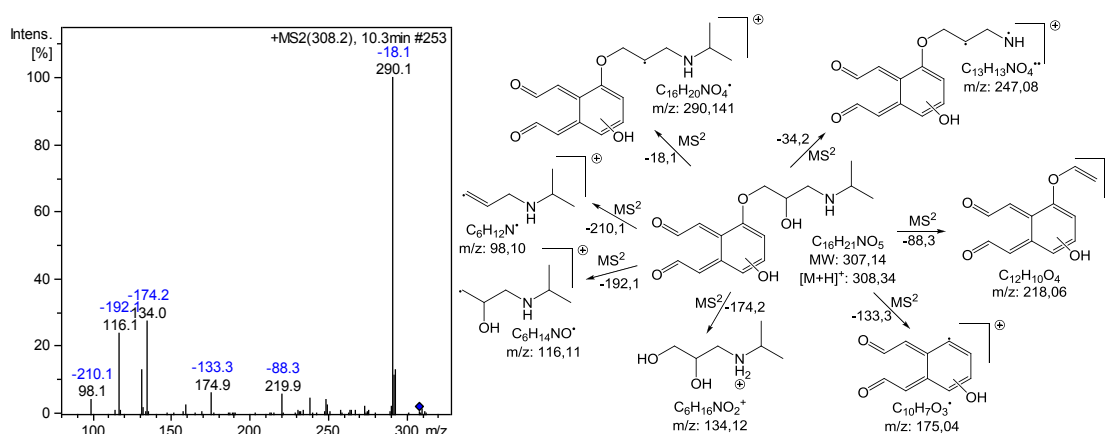


Figura 41. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 308.

O PD 274 não foi identificado e os PDs com m/z carga menor que PRO encontrados foram PD 227, 218, 216, 134, 130 e 116. Destes, MS² do PD 216 não foi encontrado no presente trabalho.

Embora apresente perfis de fragmentação por MS², as estruturas propostas para o PDs 218 mostram alguns fragmentos que não puderam ser elucidados claramente. Portanto, mais investigações devem ser feitas para confirmar as estruturas propostas para o PD 218, tais como MS³ em alta resolução de alguns fragmentos e coleta de frações para análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Os perfis de fragmentação e as estruturas propostas para esses dois PDs podem ser vistas no Apêndice F.

A estrutura proposta para o PD 227 segue o perfil de fragmentação da Figura 42. Esse intermediário provavelmente surge em um estado mais avançado de ataque de radicais

hidroxila, a partir de outros intermediários como PD 292, com a eliminação de C_2O_2 , do naftaleno oxidado e a eliminação de isopropila (C_3H_9) na cadeia lateral. Observando a Figura 46 percebe-se que esse PD surge a partir de 1 min de reação e permanece até o final do processo.

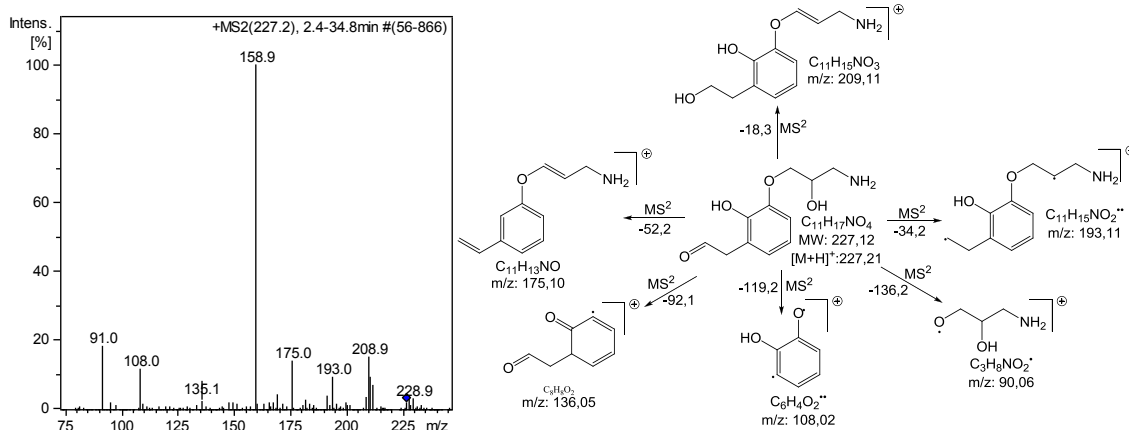


Figura 42. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 227.

O radical hidroxila promove também a degradação na cadeia lateral característica dos β -bloqueadores dando origem ao PD 134, um aminodiol presente na maioria dos processos de degradação de β -bloqueadores (Romero et al., 2011; Yang et al., 2010).

O perfil de fragmentação deste PD é característico (Figura 43), apresentando m/z 116, 92,1, 72,2 e 56,4 que representam a perda de H_2O , $CH_3CH_2CH_3$, $HOCH_2CH_2OH$ e $CH_3CH(OH)CH_2OH$, respectivamente.

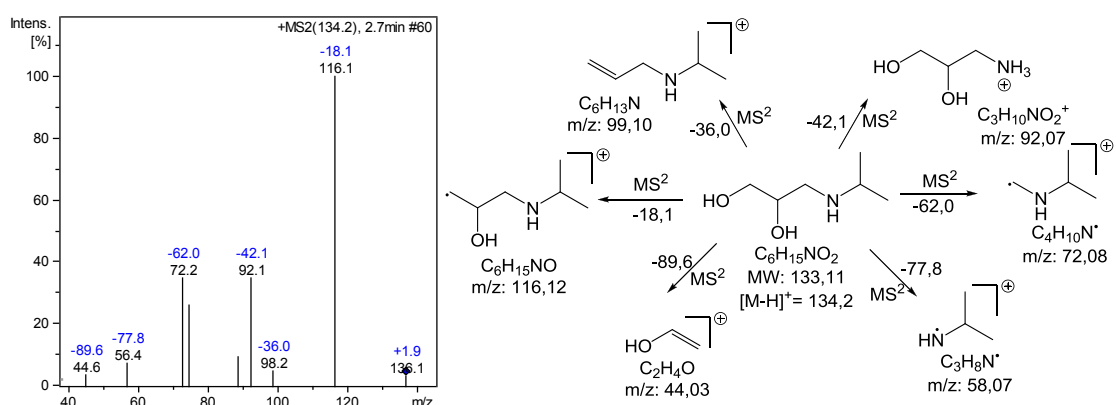


Figura 43. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 134.

O PD 134 sofre ainda ataque radicalar dando origem a dois outros PD: 130 e 116. O PD 130 surge pela abstração de hidrogênio do PD 134 (Figura 44), enquanto que o PD 116 pela perda de H_2O . O perfil de fragmentação do PD 116 pode ser observado na Figura 45.

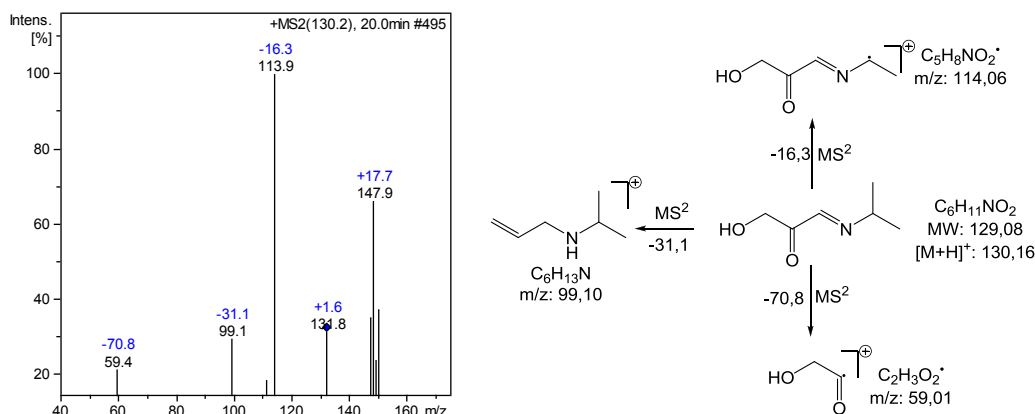


Figura 44. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 130.

A Figura 46 apresenta o acompanhamento dos PDs em função do tempo de tratamento para o processo Foto-Fenton. Pode ser observado que os produtos são gerados nos primeiros minutos de processo (0 equivale ao ligamento da lâmpada) sendo, em seguida, degradados a moléculas menores, tais como ácidos orgânicos (Isarain-Chávez et al., 2011; Chen et al., 2011). PDs como PD 276, 292 e 308 são gerados e ligeiramente degradados. O PD 134 é o produto de degradação que apresenta a maior área comparada aos outros PD.

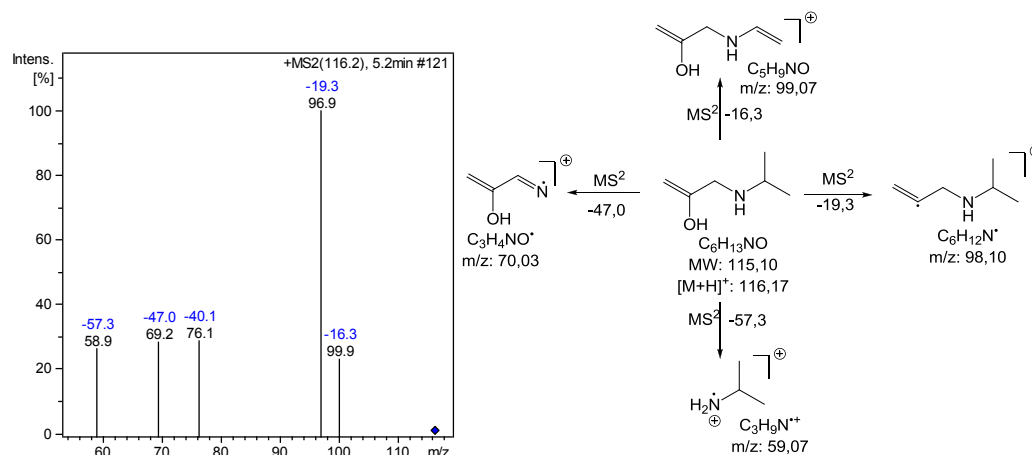


Figura 45. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 116.

O PD identificado que permanece até o final, após ser gerado é o PD 227. Os perfis dos PD foram apenas analisados qualitativamente, pois não há padrões analíticos disponíveis para proceder a uma análise quantitativa. O PDs 102,1, 92,2 e 72,4 foram identificados apenas por *Full Scan*, mas pela eluição ser próximo aos PDs 116 e 134 e pelo perfil de fragmentação destes PDs, propôs-se que os PD encontrados são resultantes da degradação da cadeia lateral do PRO.

De acordo com os intermediários formados pode ser proposto um caminho de degradação para o propranolol por Foto-Fenton (Figura 47). Pode-se dizer que no início do processo ocorre a hidroxilação por ataque eletrofílico ao grupamento naftaleno por abstração

de hidrogênio. O alto poder de oxidação do radical hidroxila faz com que ocorra a abertura do anel aromático, gerando dois intermediários PD 292 e 308.

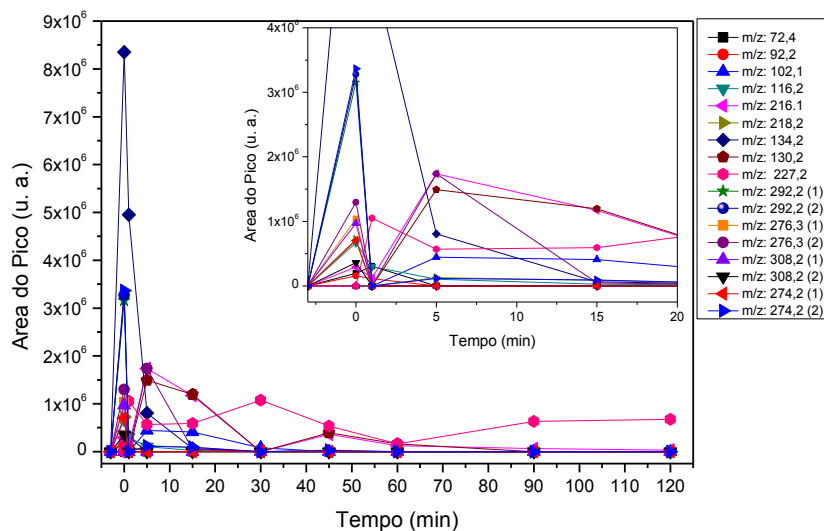


Figura 46. Acompanhamento da área(EIC) dos Produtos de Degradação por Full Scan (FS) obtidos durante o processo Foto-Fenton de Propranolol em solução aquosa. Condições Iniciais: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, [Fe²⁺]₀ 7,5 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 150 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

Em seguida, ou concomitantemente, ocorre a formação do intermediário PD 134 resultante do ataque a cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)proxi, provavelmente produzindo também naphthalen-1-ol e dihidroxi-naftaleno, produtos não identificados no presente estudo, porém citado em outros estudos (Isarain-Chávez et al., 2011; Chen et al., 2011) e outros produtos de m/z menor resultantes dos intermediários PD 292 e 308.

Ainda, derivados da oxidação do naftaleno são degradados consecutivamente formando naftodióis, naftoquinonas, além de sofrer abertura do anel aromático produzindo ácidos carboxílicos e outros ácidos de cadeia menor (Isarain-Chávez et al., 2011; Chen et al., 2011). A formação de tais intermediários não foi focada no presente estudo que investigou os produtos primários de degradação.

O PD 134 é, ainda, oxidado gerando dois intermediários PD 130 e 116. O PD 227, não citado ainda na literatura, é provavelmente formado a partir do PD 292 com a perda de O=CH₂-CH₂=O e do grupamento isopropila ligado a amina secundária.

Por fim, os PDs podem ainda ser degradados a ácidos orgânicos de baixo peso molecular (LMWOA, do inglês *Low Molecular Weight Organic Acid*), CO₂, H₂O e sais inorgânicos, de acordo com o grau de mineralização encontrado.

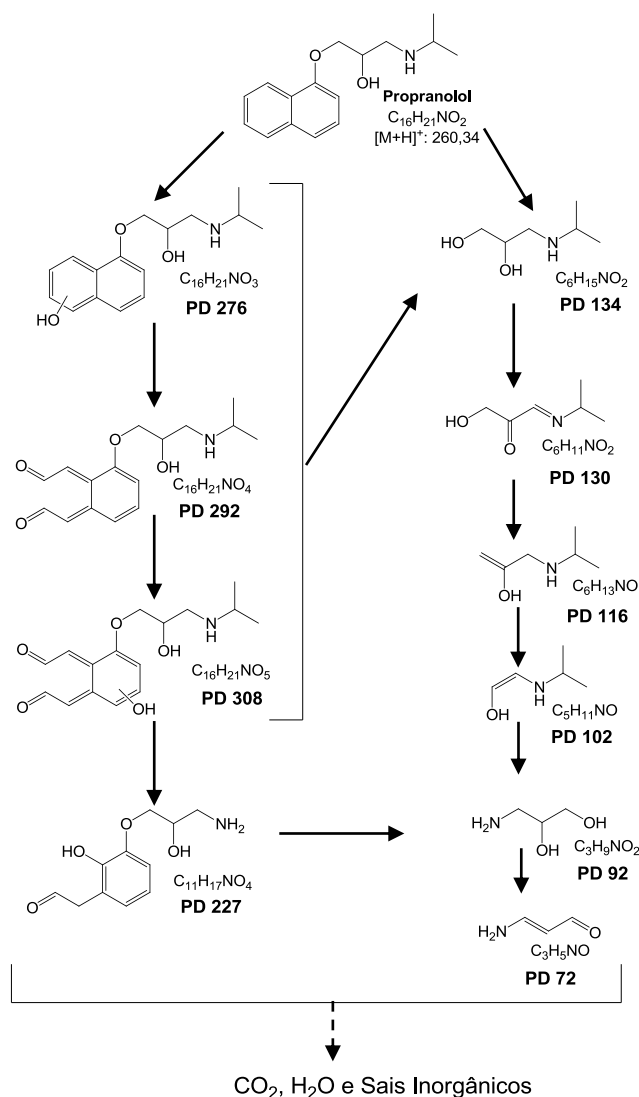


Figura 47. Caminho de degradação proposto para Propranolol em solução aquosa por processo Foto-Fenton. Condições Iniciais: $[PRO]_0$ 10 mg L⁻¹, $[Fe^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹, $[H_2O_2]_0$ 150 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

10.3.3 Avaliação da biodegradabilidade do PDs de Propranolol

É de conhecimento geral que PAOs promovem a degradação de compostos rapidamente, mas quando esses processos não conduzem a total mineralização, caso do presente estudo, uma série de PDs são gerados e pouco se conhece a respeito de suas propriedades físico-químicas e ecotoxicológicas. Desta forma, estudos de biodegradabilidade tornam-se necessários para avaliar a mistura de intermediários formados.

Os valores da DQO de cada tempo amostral estão apresentados na Figura 48, juntamente com COD e o estado de oxidação médio (do inglês *Average Oxidation State*, AOS ou também conhecido como *Mean Oxidation State of Carbon*, MOC) que é calculado conforme Equação 33.

$$AOS = \frac{4(COT - DQO)}{COT} \quad (33)$$

Valores de AOS encontram-se entre 4 para CO₂, estado mais oxidado do carbono, e -4 para o CH₄, estado mais reduzido do carbono. AOS é um parâmetro usual para estimar o grau de oxidação de misturas e indiretamente pode ser usado como informação adicional sobre a biodegradação (Kajitvichyanukul & Suntronvipart, 2006).

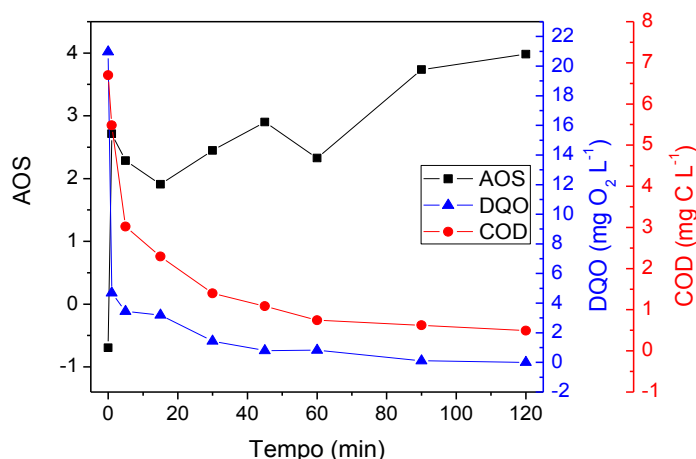


Figura 48. DQO, DOC e AOS das amostras submetidas à CBT. Um experimento para cada tempo amostrado. Condições de tratamento: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, pH 4, [Fe²⁺]₀ 7,5 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 150 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

As amostras para avaliação da biodegradabilidade após o processo Foto-Fenton foram escolhidas com base nos PD e na DQO necessária para o teste (5 mg O₂ L⁻¹). Desta forma, os tempos amostrais de tratamento escolhidos foram 1 e 30 min de Foto-Fenton. Amostras com tempos maiores de tratamento apresentaram pouca DQO, ou seja, seria necessário um volume enorme de amostra para preencher os requisitos do teste. O pH das amostras foram ajustados para 7 antes do teste.

Os testes que avaliaram a biodegradabilidade preencheram os critérios de validação da OECD, ou seja, (1) no 14º dia o controle de qualidade (acetato de sódio) sofreu biodegradação acima de 60%, (2) a concentração de oxigênio dissolvido (OD) não ficou abaixo de 0,5 mg L⁻¹ durante o teste, (3) a concentração de OD na série de controle não ficou abaixo de 1,5 mg L⁻¹, (4) o controle de qualidade sofreu biodegradação acima de 25 % no 14º dia e (5) a diferença entre a duplicata da substância não ultrapassou 20%.

O controle de toxicidade contém compostos químicos prontamente biodegradáveis como acetato de sódio e a substância a ser testada, para excluir resultados de falso negativo devido à ação inibitória do composto testado sobre os micro-organismos do teste.

Na Figura 49 podem ser observados os resultados dos testes de biodegradação por CBT para a substância pura de PRO e para amostras de 1 min e 30 min após o processo Foto-

Fenton. O controle de qualidade alcançou 74,64% de biodegradação após 28 dias, para o controle de toxicidades a biodegradação alcançou 36,12; 59,53 e 58,59% para as amostras de PRO, Foto-Fenton após 1 min e Foto-Fenton após 30 min de tratamento, respectivamente.

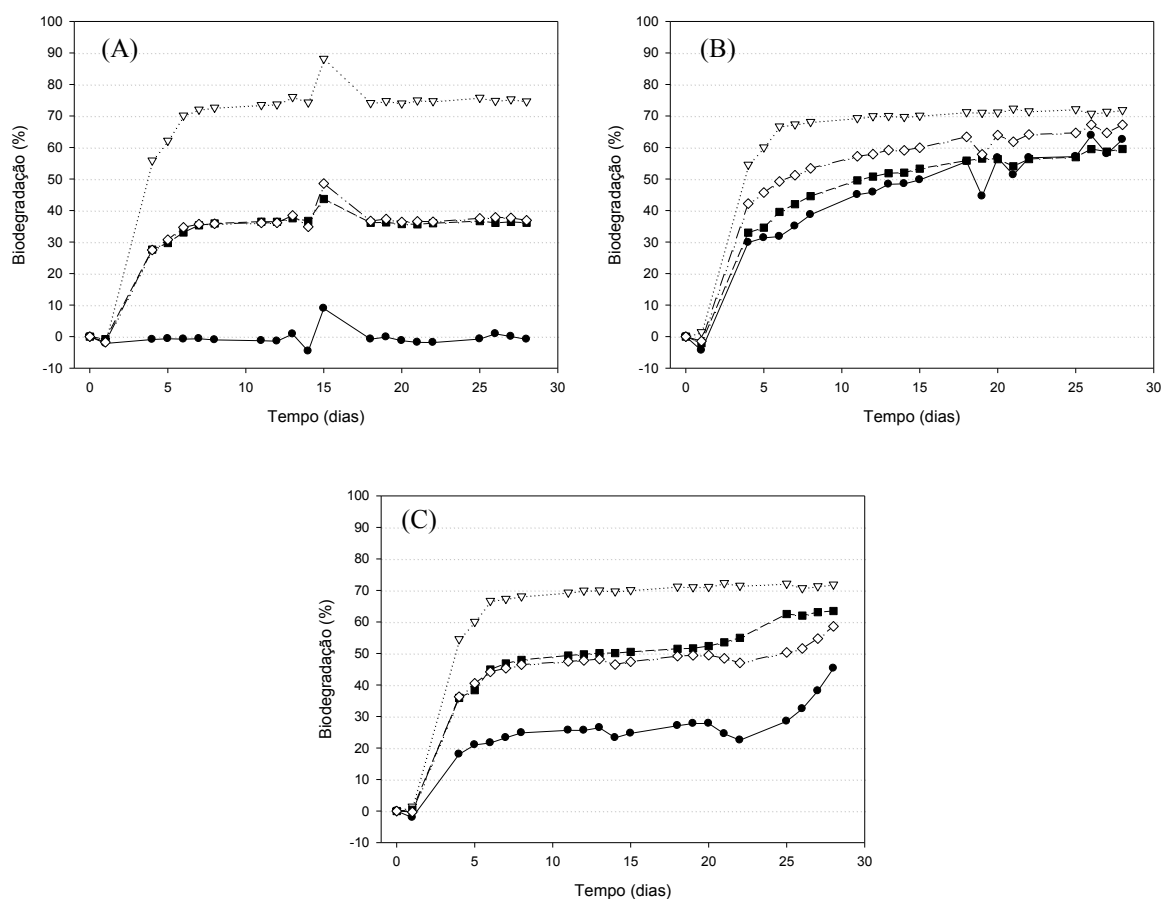


Figura 49. Biodegradação aeróbica por *Closed Bottle Test* (CBT) de (A) Propranolol, (B) Foto-Fenton após 1 min, (C) Foto-Fenton após 30 min. (∇) Controle de qualidade (n=2), (\blacksquare) Controle de Toxicidade (medido) (n=2), (\diamond) Controle de Toxicidade (calculado) e (\bullet) Substância Testada (n=2). Condições de tratamento: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L⁻¹, pH 4, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

A Figura 49 (A) confirma que o PRO não é prontamente biodegradável, ou seja, nenhuma alteração de OD foi observada frente às bactérias presentes no teste na amostra contendo PRO apenas, ressaltando a importância de técnicas de degradação que visam transformar esse β -bloqueador em compostos suscetíveis à biodegradação. O cálculo de biodegradação é baseado no consumo de OD e completa biodegradação significaria a completa oxidação do carbono da mistura presente na amostra tratada por Foto-Fenton e, portanto, decaimento do OD.

Observando a Figura 49 (B), a amostra após 1 min de tratamento apresentou 62,51% de biodegradação, estando no limiar para ser considerada como prontamente biodegradável (AOS 2,715). Como o RSD entre a duplicata variou entre 0,55 e 2,21 durante os 28 dias de

teste, não há como afirmar categoricamente que a mistura de PDs presentes após 1 min de tratamento por Foto-Fenton são biodegradáveis. A Figura 49 (C) mostra a evolução da biodegradação para a amostra de 30 min de tratamento por Foto-Fenton. A biodegradação alcançada foi de 45,29% após 28 dias, indicando que para mesmo após 30 min de tratamento os PDs resultantes não mostram-se prontamente biodegradáveis.

Correlacionando os resultados de CBT com os PDs encontrados por LC-MS, não pode ser afirmado que os PDs encontrados são prontamente biodegradáveis. Uma possível analogia é que a presença de compostos de menor cadeia carbônica, tais como ácidos orgânicos de cadeia menor presentes (Chen et al., 2011; Isarain-Chávez et al., 2011) são biodegradáveis e enquanto são consumidos pelas bactérias ocorre o consumo de oxigênio.

Outra avaliação de pronta biodegradabilidade foi feita usando concentração mais alta de PRO, Fe^{2+} e H_2O_2 para obter valores de DQO compatíveis com CBT para tempos maiores de tratamento, até 120 min. Os valores de DQO, COD e AOS podem ser observados na Figura 50. Com base nesses resultados os tempos amostrais escolhidos foram 15, 60 e 120 min de tratamento. Como pode ser observado na Figura 50, a amostra de 120 min continha pouco teor de carbono e AOS de aproximadamente 2, desta forma, essa amostra foi usada para o teste de biodegradabilidade simulando o lançamento direto no meio ambiente, como para águas superficiais, após o tratamento de PRO por Foto-Fenton. Essa amostra, em particular, foi apenas adicionado o meio mineral, controle de toxicidade e inoculo com as bactérias teste.

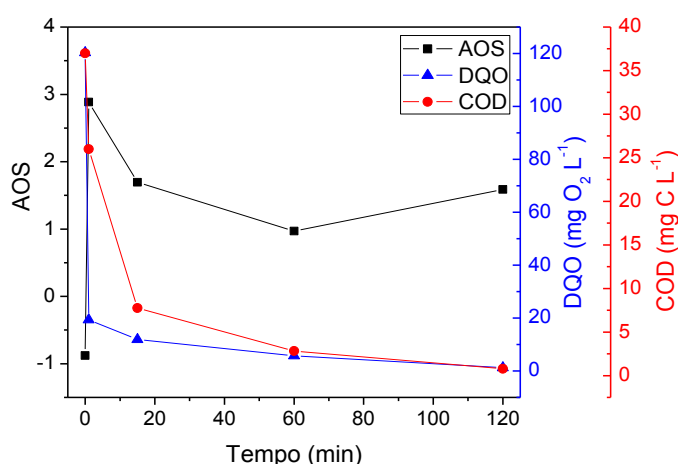


Figura 50. DQO, DOC e AOS das amostras submetidas à CBT. Um experimento para cada tempo amostral. Condições de tratamento: $[\text{PRO}]_0$ 50 mg L⁻¹, pH 4, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 37,5 mg L⁻¹, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 750 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

As respostas de biodegradabilidade estão apresentadas na Figura 51. A amostra aplicada a Foto-Fenton apresentou apenas 28,76, 26,04 e 52,07% de biodegradação, para tempos de 15, 60 e 120 min de tratamento, respectivamente.

A maior concentração inicial de PRO provavelmente forma PDs em maiores concentrações comparado com tratamento usando concentrações de iniciais menores. A menor biodegradação, comparado com o teste usando concentrações menores, pode estar relacionado a esse fato.

Portanto a aplicação de processo Foto-Fenton pode ser considerada uma interessante alternativa para a mitigação da contaminação ambiental por propranolol.

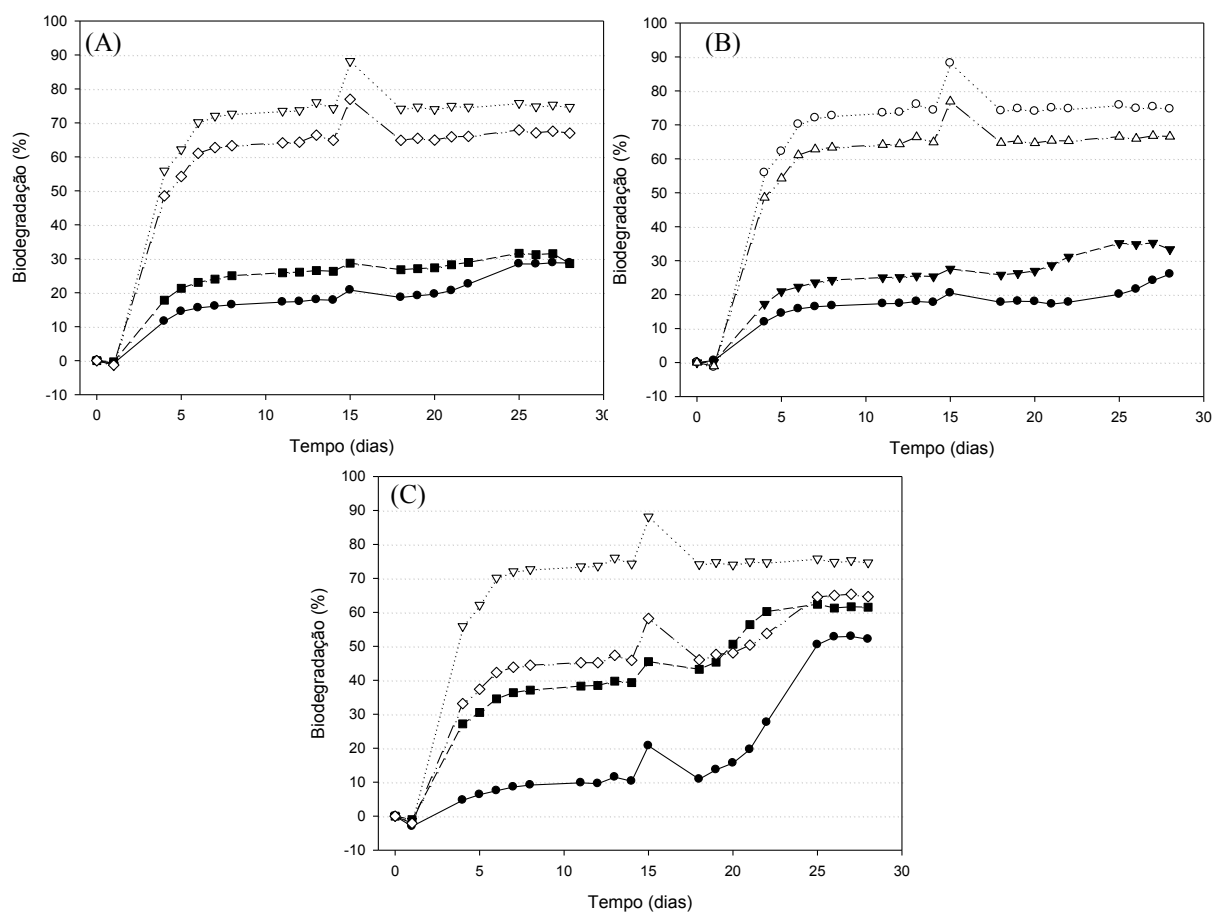


Figura 51. Biodegradação aeróbica por *Closed Bottle Test* (CBT) de (A) Foto-Fenton após 15 min, (B) Foto-Fenton após 60 min, (C) Foto-Fenton após 120 min. (▽) Controle de qualidade (n=2), (■) Controle de Toxicidade (medido) (n=2), (◇) Controle de Toxicidade (calculado) e (●) Substância Testada (n=2). Condições de tratamento: $[PRO]_0$ 50 mg L⁻¹, pH₀ 4, $[Fe^{2+}]_0$ 37,5 mg L⁻¹, $[H_2O_2]_0$ 750 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

Relacionando os valores de AOS medido aos resultados da biodegradabilidade por CBT, observa-se uma correlação entre ambos. Portanto, uma forma de averiguar a biodegradabilidade de PDs formados por PAOs pode ser feita também por meio da análise de

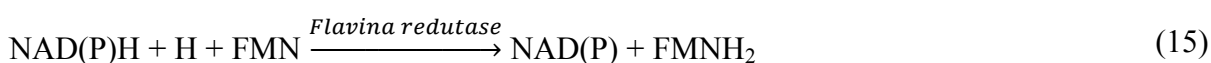
AOS. Além disso, a medida de AOS é mais rápida quando comparada a testes de biodegradabilidade como BOD₅ e CBT.

10.3.4 Teste de Toxicidade com *Vibrio fischeri*

Em geral ciclos de desenvolvimento bacteriano são longos e efeitos agudos, i.e. 30 min, sobre bactérias podem resultar em falsos negativos e subestimar o risco inerente de substâncias e misturas.

A inibição da bioluminescência, ou seja, a diminuição da luminescência devido à inibição da enzima luciferase bacteriana quando em contato com substâncias tóxicas e a resposta da absorvância, ou densidade ótica, resultante do crescimento bacteriano foram monitorados em período de 24 h de exposição (Kralj et al., 2007; Radjenović et al., 2009).

A luminescência resultante de *V. fischeri* depende de um mecanismo bioquímico onde flavina mononucleotídeo (FMN) é reduzida a FMNH₂ por fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD(P)H) sob ação da enzima flavina redutase e, posteriormente, é oxidada a novamente a FMN e H₂O por reação com oxigênio na presença de aldeído pela enzima luciferase emitindo luz, conforme Reações 15 e 16 (Parvez et al., 2006).



Logo qualquer substância tóxica pode interferir sobre esse mecanismo tendo como resposta a diminuição da luminescência.

A Figura 52 (A) mostra a cinética da evolução da luminescência de 1-24 h de exposição para diferentes tempos de tratamento de Propranolol por processo Foto-Fenton. Como pode ser observado, nas primeiras 10 h há um aumento gradativo da luminescência produzida pelo desenvolvimento/reprodução bacteriana. Nesse período nota-se que nenhuma interferência dos PDs presentes nas amostras mudou esse comportamento.

De forma análoga a evolução da luminescência pode-se correlacionar a inibição da luminescência para avaliar a toxicidade (Equação 20, seção 10.2.1.8), o que pode ser observado na Figura 52 (B) Nas primeiras horas de teste notou-se pouca inibição do desenvolvimento bacteriano, ou seja, nas primeiras horas de teste nenhum PD presente nos tempos amostrais de 0-120 min ou mesmo PRO apenas (-3 min) mostraram toxicidade aguda para interferir o crescimento bacteriano.

O efeito mais nítido sobre a luminescência bacteriana foi notado para as amostras 30 e 45 min entre 20 e 23 h de teste e da mesma forma para as amostras de 60-120 min, porém em

menor grau. A inibição nesse período de tempo alcançou 66,85% para os tempos amostrais de 30 e 45 min de tratamento. Essa alta inibição pode estar relacionada à toxicidade crônica apresentada pelos intermediários, ou seja, a inibição causada nesse período não está relacionada à falta de nutrientes, pois para o Branco (apenas bactéria e nutrientes) não houve diminuição na bioluminescência, apresentando apenas um período de “lag” do crescimento bacteriano.

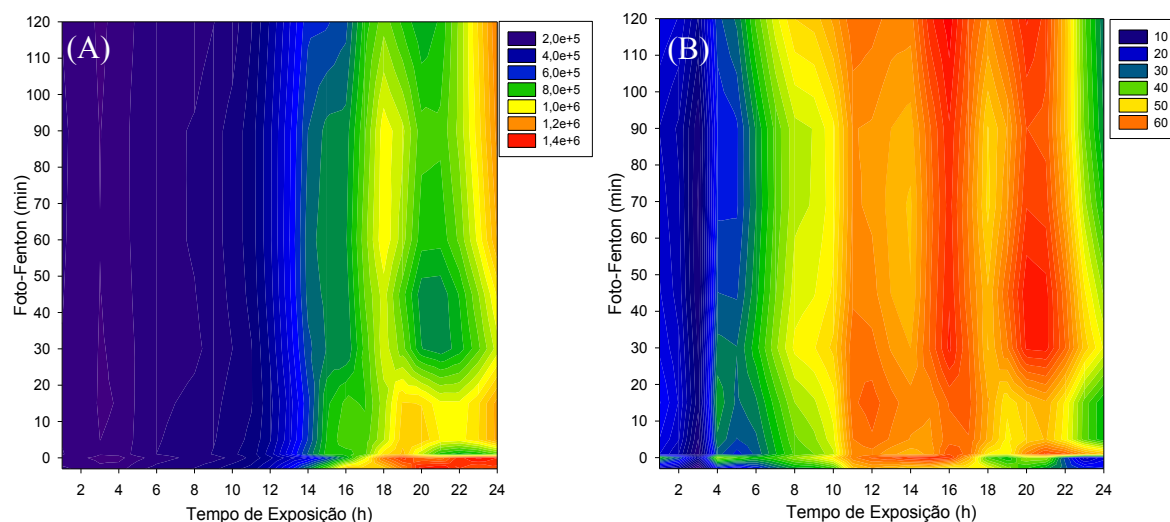


Figura 52. (A) Evolução da luminescência para o teste de toxicidade de Propranolol durante o Processo Foto-Fenton (B) Inibição (%) da luminescência correspondente a toxicidade sobre *V. fischeri* durante 24 h de teste em solução aquosa de Propranolol durante processo Foto-Fenton. Condições de tratamento: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L⁻¹, pH 4, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

A evolução da inibição de -3 a 120 min para um dado tempo de teste em função do tempo de tratamento variou em torno de 2%, o que significa que a inibição da luminescência foi constante durante o processo, não sofrendo grandes alterações até 18 h de teste. Após 18 h de teste o efeito crônico dos intermediários promoveu um aumento da inibição com o aumento do tempo de tratamento.

Como pode ser observado na Figura 52 (B), para tempos de teste de 21-24 h a inibição para PRO foi de 32,5 a 24,57%, respectivamente. Com o prosseguir do tratamento a inibição da luminescência aumentou alcançando até 66,85% e, posteriormente, diminuindo até 63% de inibição para o tempo de processo de 30 min em 21 h de teste.

O crescimento bacteriano (evolução da absorbância) mostrou comportamento diferente ao da luminescência. Observando a Figura 53 (A) nota-se que a absorbância aumentou gradualmente com o passar do tempo, mostrando apenas um pequeno retardo para a amostra de 0 min (lâmpada UV ligada).

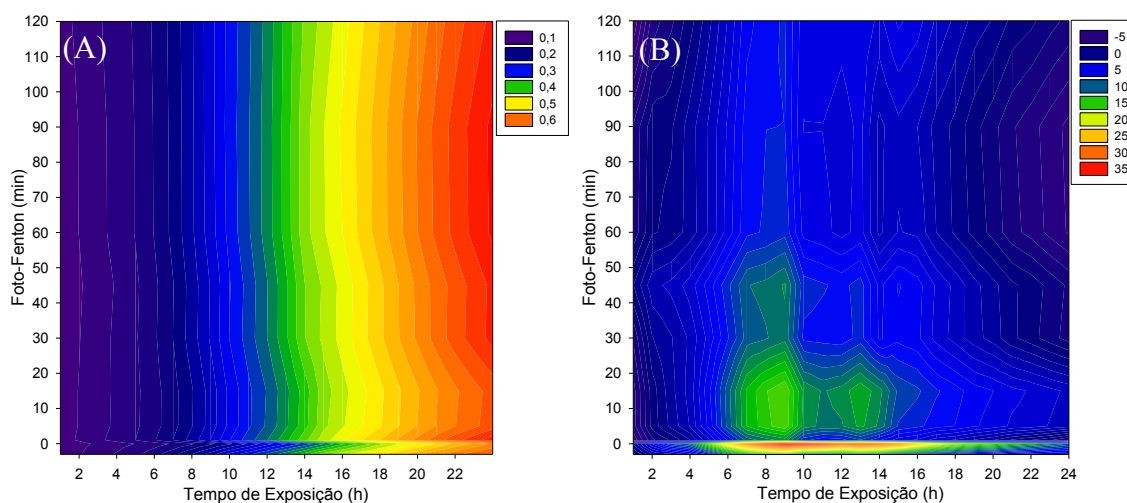


Figura 53. (A) Evolução da Absorbância (crescimento bacteriano) em função do tempo de teste de toxicidade de Propranolol durante o Processo Foto-Fenton (B) Inibição (%) da absorbância correspondente à toxicidade sobre *V. fischeri* durante 24 h de teste em solução aquosa de Propranolol durante processo Foto-Fenton. Condições de tratamento: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L^{-1} , pH 4, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L^{-1} , Temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

Convertendo os resultados para porcentagem de inibição da absorbância (Figura 53 (B)), nota-se que houve efeitos sobre o crescimento bacteriano comparado com o branco. A inibição do crescimento mais pronunciado ocorreu para a amostra de 0 min (que é amostrada no momento em que a lâmpada UV foi ligada), de 8-14 h de teste, com até 34,96% de inibição, enquanto que as amostras coletadas em 1, 5 e 15 min de tratamento por Foto-Fenton, para o mesmo período de teste, mostraram inibição de até 15%.

Uma possível explicação para o comportamento apresentado por *V. fischeri* frente às amostras de PRO tratadas por Foto-Fenton é que os PDs presentes não apresentam efeito tóxico na reprodução bacteriana, apresentando inibições de crescimento baixa ($\approx 5\%$).

Fazendo uma analogia com os PDs encontrados (Figura 46 e Figura 47), a presença em maior quantidade dos PDs nos primeiros minutos de processo produz maior interferência na reprodução de *V. fischeri*.

A exposição de *V. fischeri* frente às amostras de Foto-Fenton no período de 30 min de exposição, i.e., toxicidade aguda, está representada na Figura 54. O comportamento apresentado é semelhante ao descrito para maiores tempos de exposição. O efeito agudo sobre a luminescência tem uma resposta mais sensível à exposição comparada à absorbância. A inibição da absorbância medida após 30 min e 24 h de exposição, representando efeito tóxico agudo e crônico, respectivamente, apresentou um leve aumento no início do processo e posteriormente decaindo a zero. A inibição da luminescência, tanto para 30 min e 24 h de exposição mostrou um leve aumento na toxicidade.

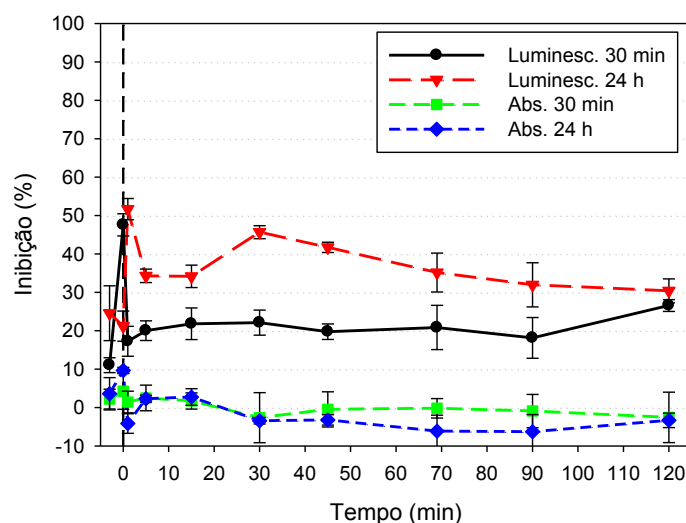


Figura 54. Inibição da luminescência e absorbância (%) correspondente à toxicidade aguda e crônica medida após 30 e 120 min de exposição à solução aquosa de Propranolol durante processo Foto-Fenton. Condições de tratamento: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L⁻¹, pH 4, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

A baixa inibição encontrada para PRO no teste de toxicidade aguda esta de acordo com a literatura, que reporta um EC₅₀ de 81 mg L⁻¹ para *V. fischeri* (Escher et al., 2006).

Portanto, mesmo com o alto grau de mineralização alcançado para o tratamento de Propranolol por Foto-Fenton (78% de redução de COD), a toxicidade crônica apresentada foi relativamente superior comparada a inicial. Mesmo que se tente relacionar a toxicidade aos PDs encontrados, não é possível avaliar qual molécula seria a responsável pela toxicidade.

Testes de toxicidade também foram feitos para os experimentos 19 e 21 da RSM (Tabela 10). Esses experimentos foram escolhidos em particular por representar diferentes processos de geração de radicais hidroxila.

O Exp. 19 foi conduzido na ausência de íons ferrosos caracterizando o processo de fotoperoxidação (UV/H₂O₂). Os resultados dos testes de toxicidade frente a *V. fischeri* para o Exp. 19 são mostrados na Figura 55 (A e B). Como pode ser observado o comportamento da inibição do crescimento de *V. fischeri* foi mais acentuado nos primeiros minutos de processo de 6-12 h de exposição.

Como já discutido, uma possível explicação para esse comportamento pode ser devido à inibição no desenvolvimento bacteriano. O mesmo comportamento ocorreu na inibição da luminescência (Figura 55 (B)), porém, com efeito, mais prolongado de 6-20 h de exposição. Pode ser observado um aumento na inibição após 24 h de exposição para as amostras ao final do processo, indicando toxicidade sobre o mecanismo de produção de luminescência por parte de *V. fischeri*.

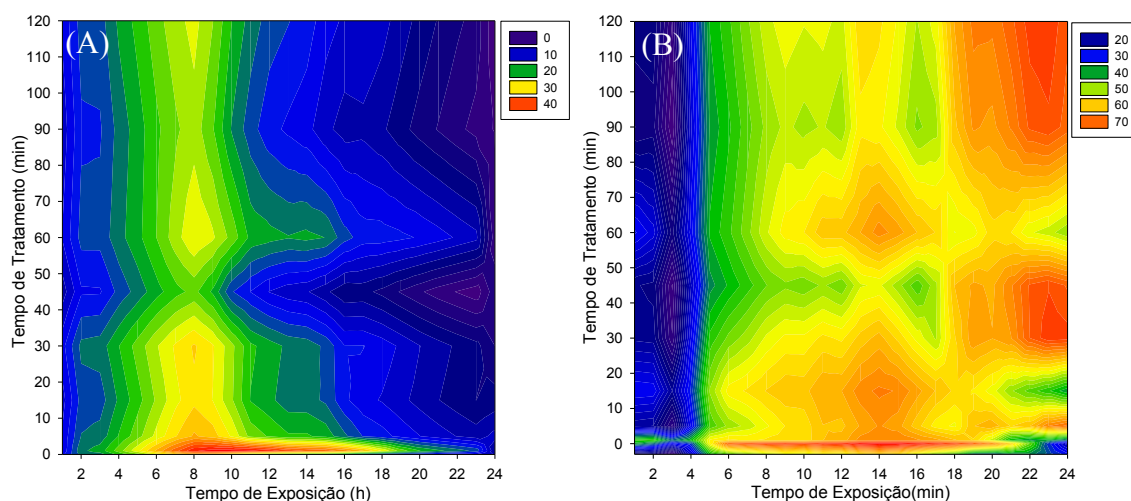


Figura 55. (A) Inibição da absorbância e (B) Inibição da luminescência (%) correspondente à toxicidade sobre *V. fischeri* durante 24 h de teste em solução aquosa de Propranolol para o Exp. 19. Condições de tratamento: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L⁻¹, pH₀ 5, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 0 mg L⁻¹, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 75 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

A inibição da luminescência mostrou-se mais sensível a exposição frente aos PDs ocorrendo inibição de até 78,9% após 14 h de exposição para a amostra coletada no primeiro minuto de tratamento. Após 24 h de exposição houve aumento na toxicidade dos PDs frente as bactérias.

O aumento na inibição pode estar relacionado à formação de PDs mais tóxicos no início do processo, ocorrendo logo após a diminuição da inibição com a degradação dos mesmos, sendo que houve apenas uma variação de 2-6% maior que para PRO apenas.

Observando o perfil dos PDs em função do tempo de tratamento (Figura 56), pode ser observado para o processo UV/H₂O₂ o mesmo comportamento apresentado pelo processo Foto-Fenton. Foram encontrados 12 PDs para esse experimento, que serão discutidos na seção 10.3.5.

Relacionando, ainda, a toxicidade com a remoção de COD (Figura 31), em 120 min de tratamento ocorreu 63,18% de mineralização, evidenciando que além dos PDs encontrados outros PDs, como ácidos orgânicos de cadeia menor, podem ter sido formados não diminuindo significativamente a inibição da luminescência no decorrer do tratamento.

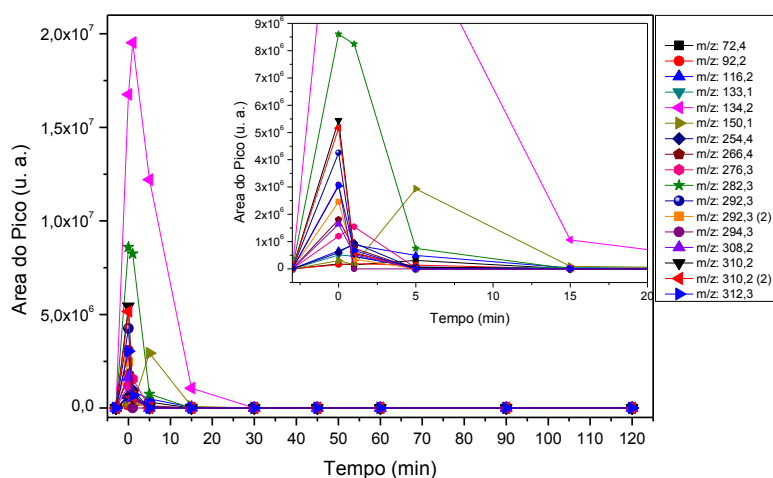


Figura 56. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por *Full Scan* obtidos em solução aquosa para Propranolol no Exp. 19. Condições Iniciais: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L^{-1} , pH_0 5, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 0 mg L^{-1} , $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 75 mg L^{-1} , Temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

Os resultados do teste de inibição para o Exp. 21, conduzido apenas com UV/Fe^{2+} , podem ser vistos na Figura 57 (A e B). Pode ser observado que o crescimento bacteriano sofreu inibição em torno de 30% entre 6-8 h de exposição para todos os tempos de tratamento, decaindo posteriormente a inibição para menos de 10%.

A inibição da luminescência apresentou novamente um comportamento mais sensível quando comparado ao crescimento bacteriano (absorbância). Após 4 h de exposição, houve um aumento gradual na inibição alcançando até 80% de inibição para as amostras coletadas nos primeiros minutos de tratamento. De maneira geral, não houve diminuição na inibição comparada à amostra de PRO apenas de 0 a 120 min de tratamento.

Observando-se o tempo de exposição de 24 h apenas, nota-se que a inibição da luminescência aumentou no início do tratamento alcançando até 70%, seguido de uma diminuição para 39% de inibição entre 5 e 15 min de tratamento e novamente aumentou a inibição permanecendo em torno de 70% até o final do tratamento.

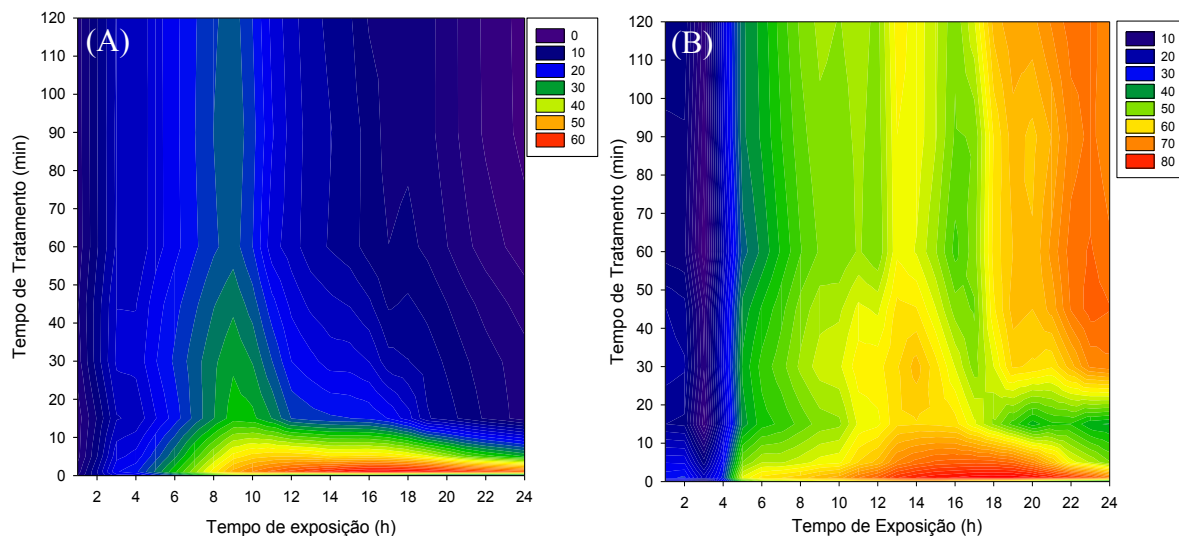


Figura 57. (A) Inibição (%) da absorbância e (B) Inibição da luminescência correspondente à toxicidade sobre *V. fischeri* durante 24 h de teste em solução aquosa de Propranolol para o Exp.21. Condições de tratamento: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L^{-1} , pH_0 5, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 0 mg L^{-1} , Temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

O perfil apresentado para os PDs identificados no Exp. 19 podem ser observados na Figura 58. Assim como para os outros experimentos, os PDs identificados se formaram no início do processo, sendo posteriormente degradados a moléculas menores. De forma análoga, há um aumento na inibição, tanto da luminescência quanto do crescimento bacteriano, logo que ocorreu a formação destes intermediários.

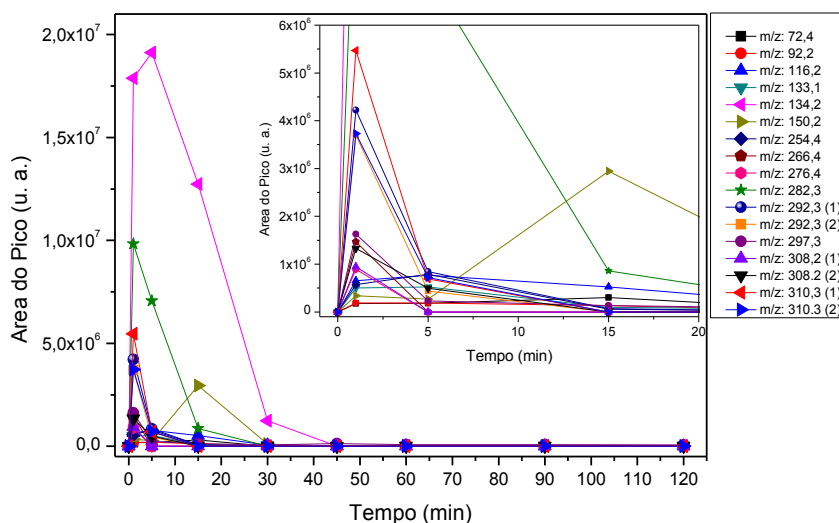


Figura 58. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por *Full Scan* obtidos em solução aquosa para Propranolol no Exp. 21. Condições Iniciais: $[\text{PRO}]_0$ 10 mg L^{-1} , pH_0 5, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 0 mg L^{-1} , Temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

Assim como para o Exp. 19, para o Exp. 21 a mineralização após 120 min de processo foi de 74,48%, evidenciando que PDs não identificados permaneceram recalcitrantes ao tratamento.

A toxicidade aguda e crônica após 30 min e 24 h, respectivamente, para os Exp. 19 e 21 podem ser observadas na Figura 59. O comportamento apresentado para a toxicidade aguda sobre a inibição da absorvância apresentou inibição apenas para o processo UV/Fe²⁺, no início do processo decaindo posteriormente. Já a inibição da luminescência após 30 min de exposição aumentou nos primeiros minutos de processo (UV/Fe²⁺ e UV/H₂O₂), seguido de diminuição, contudo permanecendo ainda superior a inibição inicial de PRO apenas.

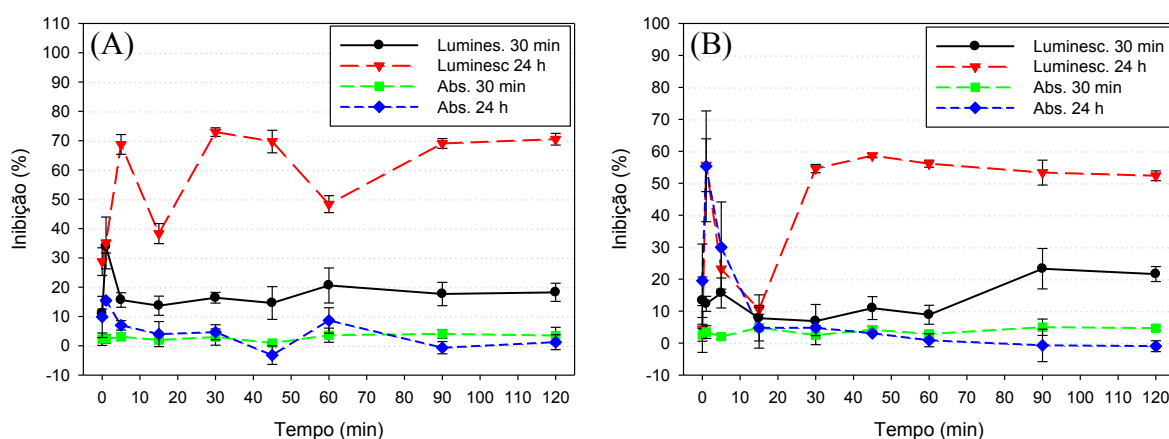


Figura 59. Inibição (%) da luminescência e absorvância correspondente à toxicidade aguda e crônica medida após 30 e 120 min de exposição à solução aquosa de Propranolol durante o (A) Exp. 19 e (B) Exp. 21. Condições de tratamento: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, (●) Exp. 19: pH 5, [Fe²⁺]₀ 0 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 75 mg L⁻¹, temperatura 30 °C, (○) Exp. 21: pH₀ 5, [Fe²⁺]₀ 7,5 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 0 mg L⁻¹, temperatura 30 °C.

Assim como para o processo Foto-Fenton a inibição inicial no teste de toxicidade aguda encontrada ficou abaixo de 20%. Os valores de RSD para as replicatas dos testes de toxicidade ficaram todas abaixo de 10%.

Comparando os PDs do Exp. 19 e 21 (discutidos na seção 10.3.5), pode-se notar que os mesmos intermediários foram encontrados em ambos, e também alguns intermediários encontrados para esses experimentos foram iguais aos encontrados para o processo Foto-Fenton. Deste modo, pode-se inferir que o comportamento idêntico para a inibição inicial nos três processos avaliados se deve ao mesmo tipo de mistura de PDs.

Romero et al. (2011) avaliaram a toxicidade de PRO sobre *V. fischeri* por fotocatalise heterogênea evidenciando também um aumento de toxicidade para os intermediários encontrados nos primeiros minutos de processo com posterior diminuição com o avanço da mineralização, porém nenhum acompanhamento foi feito para verificar se os PDs são degradados ou permanecem inalterados durante o restante do tratamento.

Portanto, testes de toxicidade de PDs frente a *V. fischeri* podem ser avaliados de maneiras diferentes acompanhando a evolução da luminescência e a evolução da absorbância como inibição do crescimento. Outro fator interessante observado durante esses testes é que para diferentes tempos de exposição comportamentos diferentes foram observados. Resultados encontrados após 24 h de exposição podem não refletir fielmente a ação inibitória que ocorre sobre as bactérias frente a misturas de PDs.

10.3.5 Elucidação Estrutural dos PDs de PRO para o processo de UV/H₂O₂ por LC-MSⁿ

O TIC da degradação de Propranolol no Exp. 19 pode ser visto na Figura 60. Os picos mais intensos foram extraídos (dados não apresentados), analisados e revelaram 15 PDs para o processo UV/H₂O₂ (Tabela 13). O acompanhamento individual de cada PD identificado pode ser observado na Figura 56. A maioria dos PDs identificados foram encontrados no início do processo de tratamento, sendo posteriormente degradados e/ou mineralizados. Para não se tornar repetitivo, os PD idênticos aos encontrados para o processo Foto-Fenton não serão detalhados nessa seção.

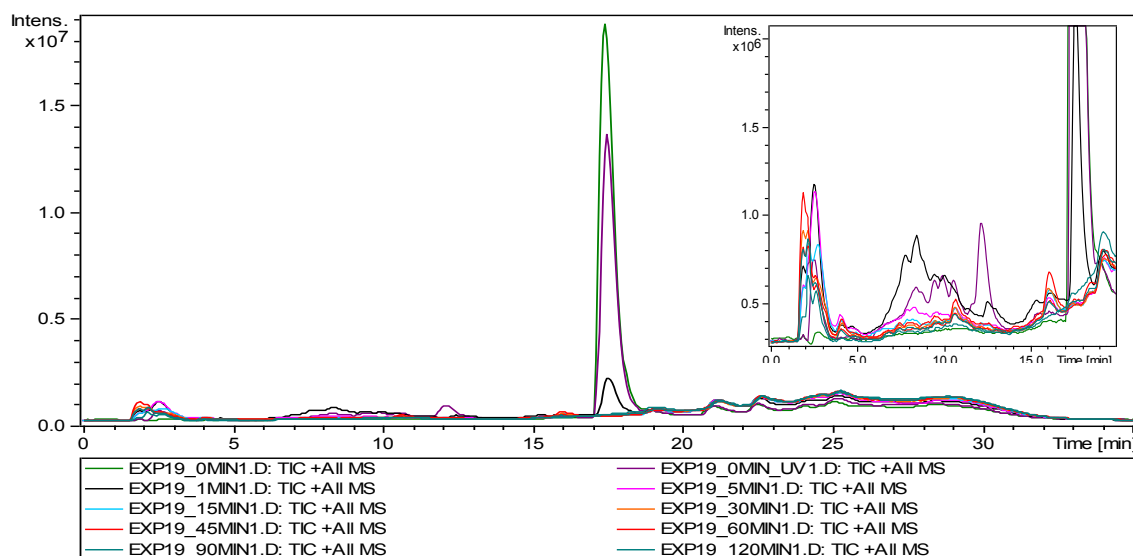


Figura 60. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Propranolol pelo Exp. 19 em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS. Condições iniciais: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹; pH 5, [Fe²⁺]₀ 0 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 75 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

Foram identificados 7 PDs com íon molecular [M+H]⁺ com m/z maior que PRO, caracterizando o alto grau de hidroxilação pela reação com radicais hidroxila formado pela homólise de peróxido de hidrogênio via Reação 11 (página 61). Assim como para o processo Foto-Fenton foram encontrados os PDs 276, 292 e 308 indicando que o mecanismo de ação de radicais hidroxila segue um padrão inicial de ataque ao grupamento naftaleno. Outros PDs

encontrados similares ao processo Foto-Fenton foram PD 134 e 116 indicando também o ataque à cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

O perfil de fragmentação para os PDs semelhantes aos do processo Foto-Fenton (Tabela 13) mostram que as estruturas se repetem. Para o DP 276, apenas os fragmentos de m/z 221,9, 162,3 e 134,3 são diferentes. O fragmento 221,9 representa a perda do grupamento propran-2-amino; m/z 162,3 é gerado pela perda de 114 Da relacionada à cadeia lateral 1-(isopropilamino)propano-2-ol e m/z 134 é o grupamento 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

Tabela 13. Produtos de degradação identificados por LC-MSⁿ para o processo de degradação de PRO por UV/H₂O₂.

PD	tr (min)	Fórmula Molecular	ESI(+) MS m/z ^a	ESI(+) MS ² m/z (% relativa)
PD 312	9,2	C ₁₆ H ₂₅ NO ₅	312,3	NF
PD 310	8,8 e 10,2	C ₁₆ H ₂₃ NO ₅	310,2	292,7 (100), 266,9 (54,36), 238,9 (64,53), 132,9 (31,02)
PD 308	13,1	C ₁₆ H ₂₁ NO ₅	308,2	292,0 (100), 262,0 (68,13), 203,8 (10,29), 174,9 (12,19), 145,9 (24,0), 134,0 (32,27), 116,0 (67,14)
PD 294	9,6	C ₁₆ H ₂₃ NO ₄	294,3	278,0 (100), 260,0 (41,12), 134,0 (9,64), 98,0 (4,19)
PD 292	12,2 e 18,3	C ₁₆ H ₂₁ NO ₄	292,3	273,0 (68,05), 241 (100), 213,0 (24,10), 157,0 (5,09), 93,1 (2,74)
PD 282	10,6	C ₁₄ H ₁₉ NO ₅	282,3	265,1 (100), 247,1 (43,68), 225,1 (8,69), 135,0 (32,52), 109,0 (15,83)
PD 276	10,9	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	276,3	258 (100), 221,9 (42,06), 198,9 (35,96), 162,3 (26,07), 134,3 (37,04), 116,1 (24,52)
PD 266	11,8	C ₁₄ H ₁₉ NO ₄	266,4	247,0 (100), 209,0 (20,48), 179,0 (27,38), 151,0 (40,74), 81,2 (19,94)
PD 254	12,1	C ₁₄ H ₂₃ NO ₃	254,4	237,0 (100), 212,9 (59,77), 184,9 (28,82), 174,9 (18,27), 162,9 (24,37), 149,0 (25,77), 133,0 (22,27)
PD 150	2,6	-	150,1	NI
PD 134	2,8	C ₆ H ₁₃ NO ₂	134,2	115,9 (100), 89,0 (78,96), 45,5 (78,84)
PD 133	15,3	-	133,1	NI
PD 116	2,8	C ₆ H ₁₃ NO	116,2	99,9 (23,26), 96,9 (100), 76,1 (29,16), 69,2 (28,68), 58,9 (26,44)
PD 92	2,8	C ₃ H ₉ NO ₂	92,2	NF
PD 72	2,5	C ₃ H ₅ NO	72,4	NF

^a Valores de m/z mostrados são para o íon molecular protonado [M+H]⁺; NF – Não Fragmentado; NI – Não Identificado;

O PD 292, do mesmo modo que para o processo de Foto-Fenton, apresentou 2 picos com tempos de retenção diferentes, evidenciando que novamente isômeros foram formados. O PD 308 apresenta os fragmentos característicos da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi (m/z 134 e 116), demonstrando que o ataque ocorre novamente sobre o grupamento naftaleno. Da mesma forma os fragmentos PD 134 e 116 são resultantes da cadeia lateral característica dos β-bloqueadores.

O PD 310 mostra um perfil de fragmentação semelhante ao PD 308, indicando que as estruturas são parecidas com diferença de apenas 2 Da (-2 H). Uma possível explicação para isso é que ocorre uma abstração de hidrogênio da molécula (C-OH) do PD 310 pelo radical

hidroxila, gerando uma dupla ligação (C=O), formando, então, o PD 308. O mesmo comportamento apresentado para os compostos acima também foi encontrado para os PDs de m/z 292 e 294, que são originários da hidroxilação do PD 276. O perfil de degradação do PD 294 pode ser observado na Figura 61.

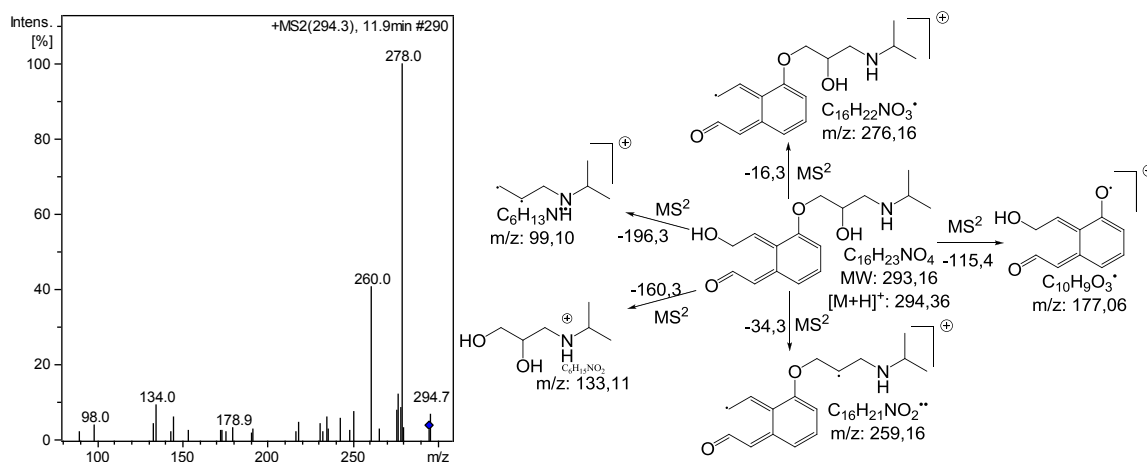


Figura 61. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 294.

O PD 294 apresenta os fragmentos 134 e 98, além de Perda Neutra Constante de 115,4 indicando que a cadeia lateral não sofreu ataque para a formação deste PD. Pode-se considerar que esse PD se origina primeiramente pela abertura do anel aromático do naftaleno com posterior formação do PD 292.

O PD 282 já foi citado com um PD de ozonização (Benner & Ternes, 2009b). Apesar de a estrutura proposta por Benner & Ternes (2009b) apresentar um grupamento hidroxila ligado à amina secundária, no presente trabalho propõe-se que o PD 282 é um derivado do PD 308, ou mesmo do PD 310, pela perda de O=CH₂-CH₂=O ou HO-CH₂-CH₂=O por ataque de radicais hidroxila. O perfil de fragmentação para o PD 282 é apresentado na Figura 62.

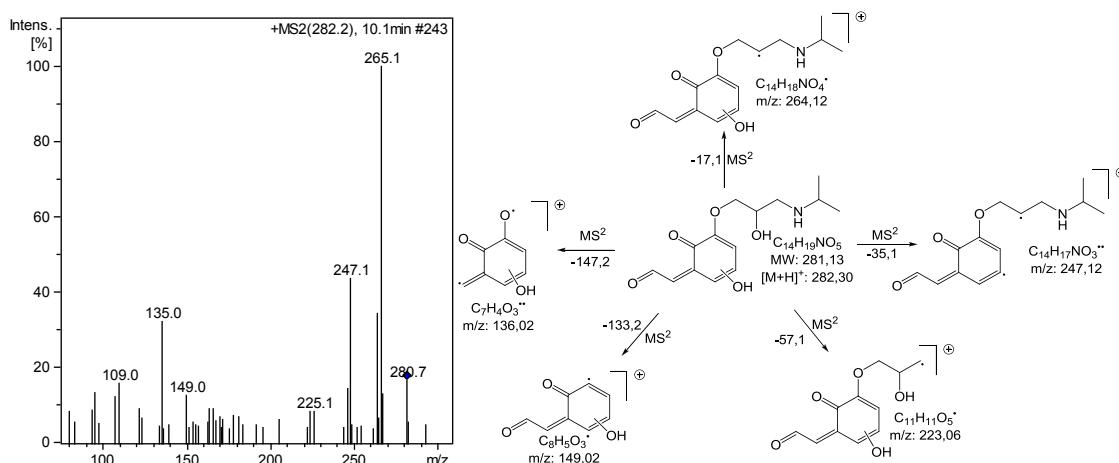


Figura 62. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 282.

O que caracteriza a estrutura proposta é a perda de 133,2 Da característica da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, indicando que o ataque radicalar ocorre sobre o grupamento naftaleno. Um plausível mecanismo de formação do PD 282 via radical hidroxila a partir do PD 308 é proposto na Figura 63. Em um primeiro momento ocorre ataque radicalar à dupla ligação com abstração de hidrogênio e formação de intermediário radicalar (Song et al., 2008). Esse radical reage instável reage rapidamente com água sofrendo então a perda de $\text{O}=\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$.

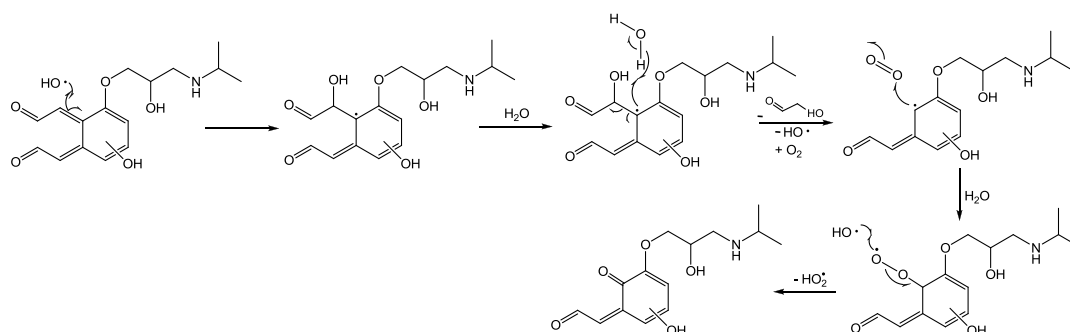


Figura 63. Mecanismo proposto para a formação do PD 282 via radical hidroxila.

O PD 266 encontrado já foi citado como um PD resultante de ozonização pela eliminação de $\text{O}=\text{CH}_2\text{-CH}_2=\text{O}$ por ataque eletrofílico ao PD 292, sendo encontrado apenas em pH ácido ressaltando que o mecanismo é por ozônio molecular (Benner & Ternes, 2009b). Entretanto, analisando o perfil de fragmentação (Figura 64) chega-se a mesma estrutura, evidenciando que o mecanismo proposto para a formação do PD 266 pode também ser via radical hidroxila, semelhante ao mecanismo proposto na Figura 63.

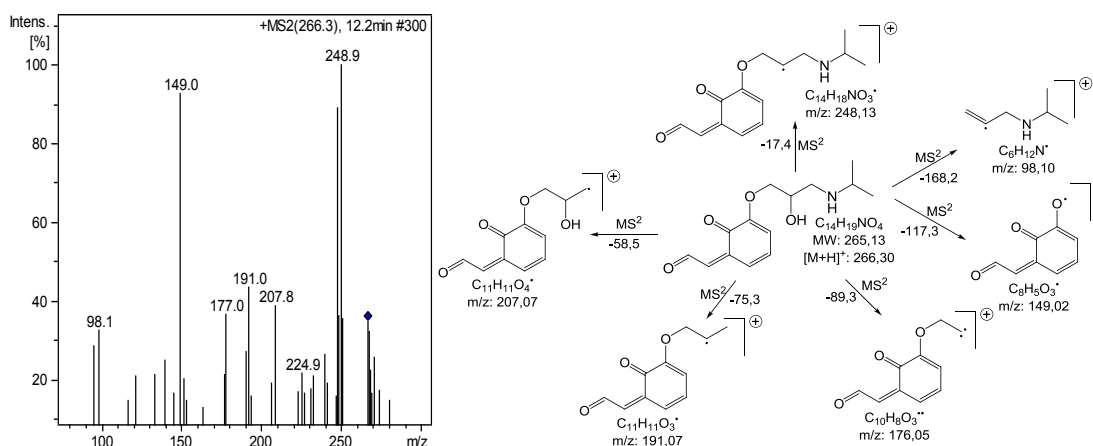


Figura 64. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 266.

Outro PD encontrado foi o PD 254 que de acordo com o perfil de fragmentação apresentado (Figura 65) mostra que a geração deste PD pode ser originado dos PDs 294 ou

292, pela eliminação, via mecanismo de eliminação, de $O=CH_2-CH_2=O$ por ataque de radicais hidroxila e substituição por hidrogênio, semelhante ao mecanismo proposto na Figura 63. A confirmação que a cadeia lateral não foi atacada são os fragmentos 102,9 e 133, conforme caminho de degradação proposto.

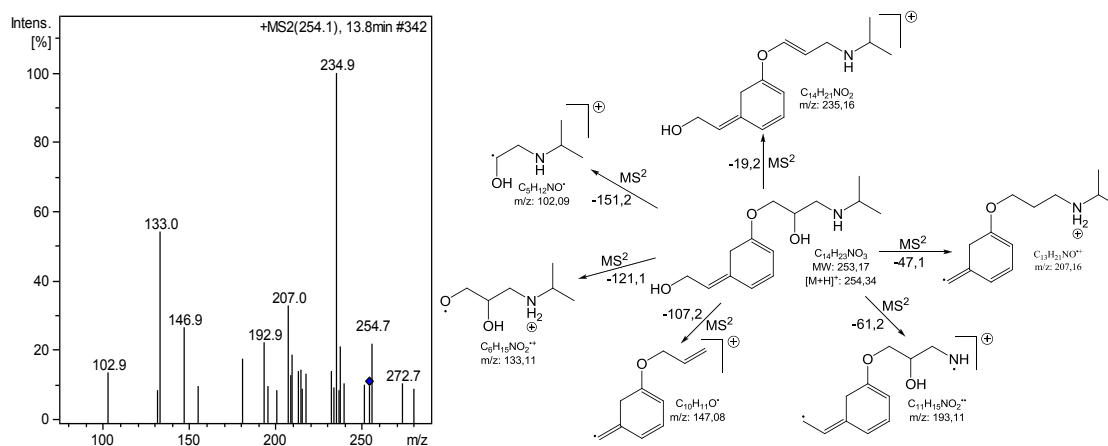


Figura 65. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 254.

Os PDs 150 e 133 não foram identificados, pois foram identificados posteriormente a análise por MS². O PD 312 foi fragmentado e identificado para o processo de ozonização em meio alcalino (seção 12.5.3.4) e como o principal mecanismo de ozonização em meio alcalino é via radicais HO·, pode-se afirmar que é o mesmo PD formado para o processo de UV/H₂O₂.

10.3.6 Elucidação Estrutural dos PDs de PRO para o processo de UV/Fe²⁺ por LC-MSⁿ

O TIC para a degradação de Propranolol no Exp. 21 (UV/Fe²⁺) pode ser visto na Figura 66.

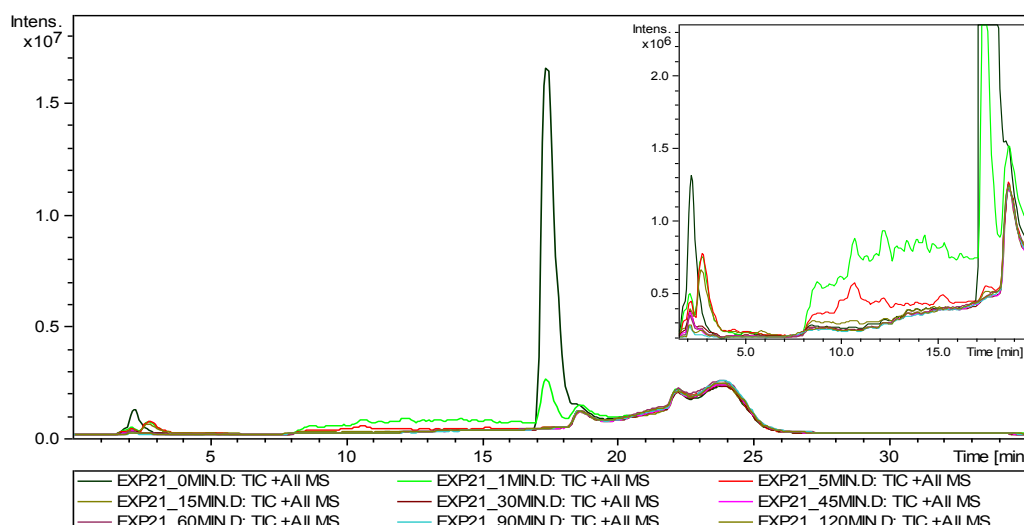


Figura 66. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Propranolol pelo Exp. 21 em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS. Condições iniciais: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹; pH 5, [Fe²⁺]₀ 7,5 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 0 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

Os picos mais intensos foram extraídos (EIC, dados não apresentados), analisados e revelaram 14 PDs para o processo UV/Fe²⁺ (Tabela 14). O acompanhamento individual de cada PD identificado pode ser observado na Figura 58. A maioria dos PDs foram identificados nos primeiros minutos de processo, sendo posteriormente degradados e mineralizados, assim como para o processo Foto-Fenton e UV/H₂O₂.

Assim como para o processo Foto-Fenton e UV/H₂O₂, para o processo UV/Fe²⁺ foram encontrados os mesmos PDs iniciais. Dessa forma, a geração de radicais hidroxila também é a principal via de degradação para o processo UV/Fe²⁺. Os PDs identificados foram os mesmos compostos hidroxilados iniciais 276, 292, 308 e 310. A degradação prossegue, então, com PDs resultantes da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, 134 e 116.

Tabela 14. Produtos de degradação identificados por LC-MS-MS para o processo de degradação de PRO por UV/Fe²⁺.

PD	tr (min)	Fórmula Molecular	ESI(+) MS m/z ^a	ESI(+) MS ² m/z (% relativa)
PD 310	8,8 e 10,3	C ₁₆ H ₂₃ NO ₅	310,2	291,1 (100), 263,0 (51,07), 236,9 (33,80), 221,1 (24,23), 192,0 (73,94), 133,2 (30,91), 105,2 (24,28)
PD 308	12,0 e 13,1	C ₁₆ H ₂₁ NO ₅	308,2	290,0 (100), 238,0 (4,16), 174,9 (13,47), 134,0 (34,70), 116,1 (22,95), 98,1 (9,46)
PD 297	12,5	-	297,2	NF
PD 292	12,2 e 18,3	C ₁₆ H ₂₁ NO ₄	292,3	274,1 (32,18), 232,9 (9,37), 196,9 (3,58), 158,9 (8,96), 132,0 (5,29), 116,1 (100), 98,1 (5,20)
PD 282	10,6	C ₁₄ H ₁₉ NO ₅	282,3	264,0 (100), 221,9 (5,90), 148,9 (9,04), 134,0 (5,61), 116,0 (32,40), 98,0 (2,49)
PD 276	16,2	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	276,3	256,9 (11,66), 232,0 (100), 214,9 (8,68), 172,9 (9,82), 131,9 (5,59), 116,0 (13,18)
PD 266	11,8	C ₁₄ H ₁₉ NO ₄	266,4	248,0 (100), 205,9 (15,92), 132,9 (7,32), 116,0 (7,61), 95,1 (3,63)
PD 254	12,3	C ₁₄ H ₂₃ NO ₃	254,4	237,0 (100), 212,9 (68,22), 193,0 (37,73), 147,0 (14,92), 133,0 (26,02), 111,0 (14,37), 94,1 (12,78)
PD 150	2,6	-	150,1	NF
PD 134	2,9	C ₆ H ₁₅ NO ₂	134,2	116,1 (100), 98,0 (6,84), 92,1 (32,07), 72,2 (44,51), 56,4 (11,05), 44,4 (4,46)
PD 133	15,2	-	133,1	NI
PD 116	2,9	C ₆ H ₁₃ NO	116,2	96,9 (100), 76,1 (55,60), 58,9 (7,43)
PD 92	2,8	C ₃ H ₉ NO ₂	92,2	NF
PD 72	2,8	C ₃ H ₅ NO	72,4	NF

^a Valores de m/z mostrados são para o íon molecular protonado [M+H]⁺; NF – Não Fragmentado; NI – Não Identificado;

O processo UV/Fe²⁺ apresentou os intermediários PD 292, PD 308, PD 310, além dos produtos de descarboxilação PD 282, PD 266 e PD 254, identificados também no processo UV/H₂O₂. Os PDs 133, 150 e 297 não foram identificados.

O grande número de PD identificados demonstra a complexidade de aplicações de PAOs para a degradação de PRO e sugere a existência de vários caminhos de degradação

dependentes da magnitude da geração de radicais hidroxila. De acordo com os PDs encontrados e comparação com trabalhos prévios citados pela literatura, uma tentativa de caminho de degradação para o PRO frente à UV/H₂O₂ e UV/Fe²⁺ foi proposto conforme Figura 67.

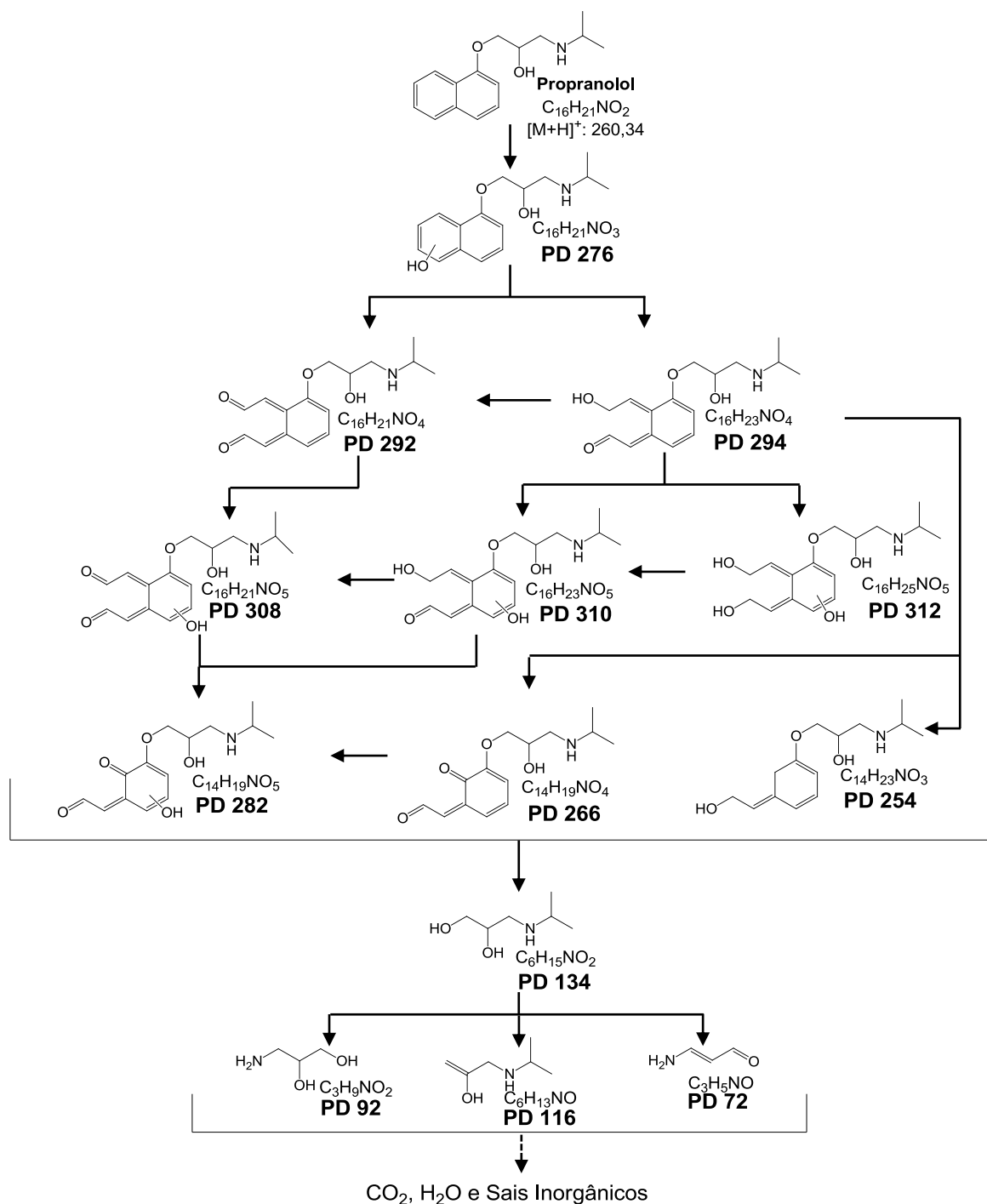


Figura 67. Caminho de degradação proposto para Propranolol em solução aquosa por processo UV/H₂O₂ e UV/Fe²⁺. Condições de tratamento: UV/H₂O₂: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 5, [Fe²⁺]₀ 0 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 75 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C; UV/Fe²⁺: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 5, [Fe²⁺]₀ 7,5 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 0 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C

Sugere-se que a degradação de propranolol segue inicialmente dois caminhos de degradação: (1) ataque radicalar ao grupamento naftaleno; (2) ataque radicalar a ligação C-O do grupamento naftaleno com a cadeia lateral.

O que credita tal afirmação é o acompanhamento individual de cada PD (Figura 56 e Figura 58). O PD 134 é produzido logo no início do processo propondo que derivados naftóis tais como naftodióis, naftoquinonas são formados, com posterior abertura do anel aromático formando ácidos orgânicos de cadeia menor (Isarain-Chávez et al., 2011; Chen et al., 2011).

Por outro lado, ocorre um caminho secundário com ataque ao grupamento naftaleno seguido da abertura do anel aromático. Posteriormente, os PDs formados pelo ataque ao grupamento naftaleno são degradados a outros PDs.

10.3.7 Elucidação Estrutural dos PDs de Atenolol nas condições otimizadas para Foto-Fenton por LC-MSⁿ

Após a otimização das condições experimentais do processo Foto-Fenton proposto usando como β -bloqueador modelo Propranolol, as melhores condições foram aplicadas para avaliar os PDs de Atenolol e Metoprolol frente ao tratamento por Foto-Fenton. Os parâmetros físico-químicos como COD, concentração e cinética foram descritos na seção 10.3.1.7. Nesta seção apenas serão descritos os PDs resultantes do tratamento por Foto-Fenton.

A primeira etapa na elucidação das estruturas dos PDs consistiu em determinar o padrão de fragmentação (*fragmentation pattern*) do composto de Atenolol $[M+H]^+$ de 267,1 Da (*uma*, unidades de massa atômica). A fragmentação (MS^2) de ATE pode ser observada na Figura 68.

O fragmento de m/z 250 surge da perda de 17 Da, o que indica a clivagem do grupamento hidroxila na cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi e o fragmento de m/z 225 surge da perda de 42 Da e indica a clivagem do grupamento isopropila. O fragmento de maior intensidade foi m/z 190, que forma-se pela perda do grupamento hidroxila e do grupamento isopropila ligado à amina secundária resultando na formação de uma dupla ligação.

Os fragmentos resultantes da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi encontrados foram os fragmentos de m/z 116 e 98. Os fragmentos de m/z 162 e 145 surgem de fragmentações em diferentes posições da molécula de atenolol com formação de íons moleculares.

Para facilitar trabalhos futuros os fragmentos principais de MS^2 foram novamente fragmentados (MS^3) e elucidados. O fragmento de m/z 225 foi fragmentado dando origem a

fragmentos de m/z 208, 190, 162, 145 e 74,3 semelhantes aos obtido para molécula de ATE apenas. O fragmento de maior intensidade (m/z 190) foi novamente fragmentado dando origem a dois fragmentos de m/z 173 e 145. O caminho de fragmentação proposto está de acordo com os propostos por Medana et al. (2008), Tay et al. (2011) e Radjenovic et al. (2008).

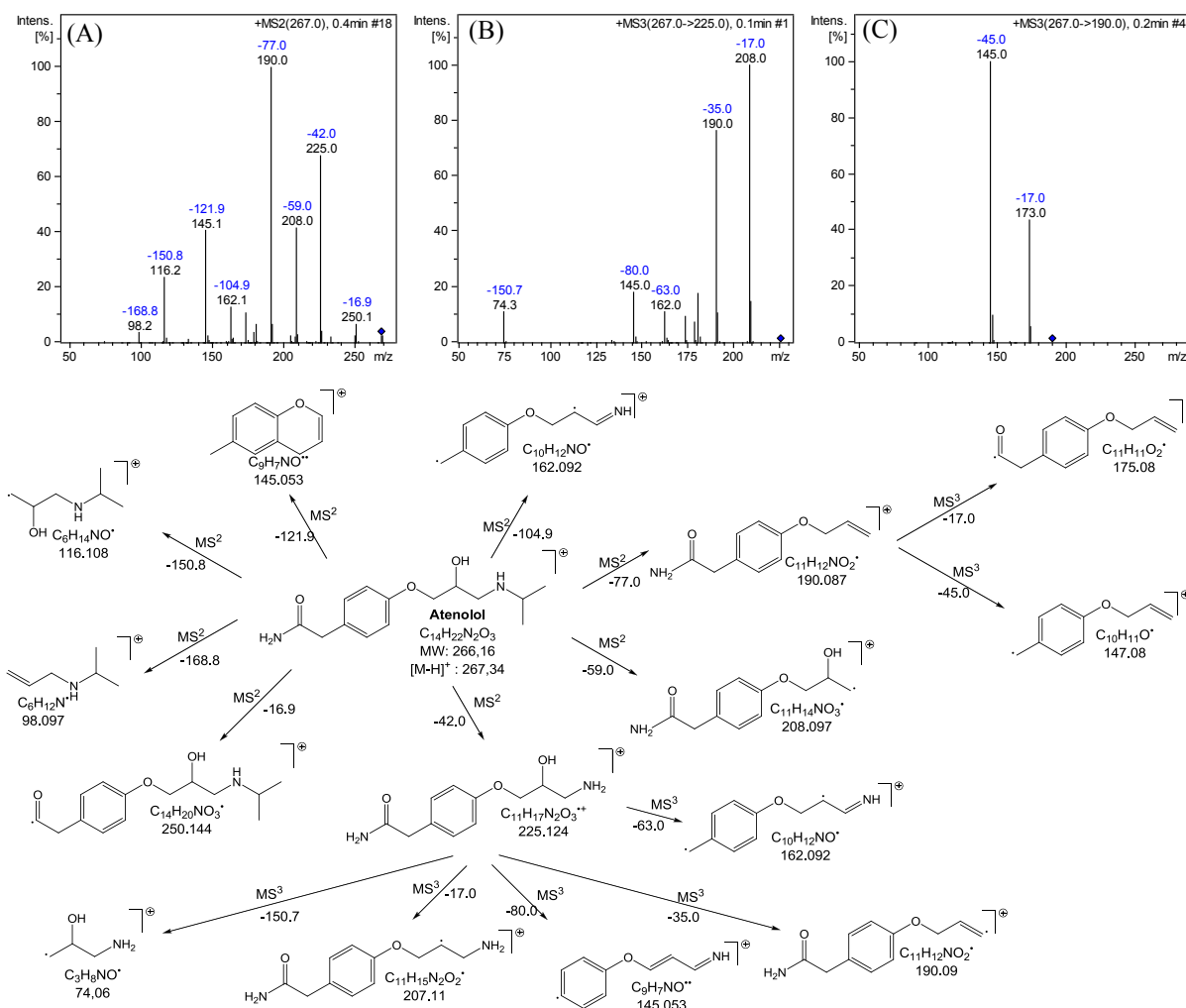


Figura 68. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MSⁿ e caminho de fragmentação proposto para o Atenolol. (A) Atenolol m/z 267 MS², (B) m/z 267 → 225 MS³ e (C) m/z 267 → 190 MS³.

De acordo com o caminho de fragmentação proposto para o Atenolol, as análises de elucidação dos PDs de atenolol por Foto-Fenton foram feitas comparando os dados de espectrometria de massas da solução inicial de Atenolol e os dados das alíquotas amostradas em diferentes tempos do processo (Figura 69).

A análise das soluções aquosas de Atenolol submetidas a tratamento por Foto-Fenton por *Full Scan* revelaram 13 PDs.

Apenas um produto de degradação com m/z maior que Atenolol foi encontrado. Esse DP com íon molecular $[M+H]^+$ de m/z 283,3 – 16 Da maior que ATE – indica hidroxilação

por ataque do radical hidroxila, nomeado PD 283. Alguns estudos reportam diferentes posições do grupamento hidroxila na molécula de ATE para diferentes PAOs (Marco-Urrea et al., 2009; Song et al., 2008; Ignasi Sirés et al., 2010; Tay et al., 2011).

Tay et al. (2011) identificaram três picos com m/z 283,3 na degradação de ATE por ozonização em meio alcalino e neutro com diferentes tempos de eluição e sugeriram diferentes posições para a hidroxilação. Assim, como o DP 283 possui um tempo de eluição similar do que o ATE entende-se que para no presente estudo a hidroxilação se deu sobre o anel aromático do atenolol.

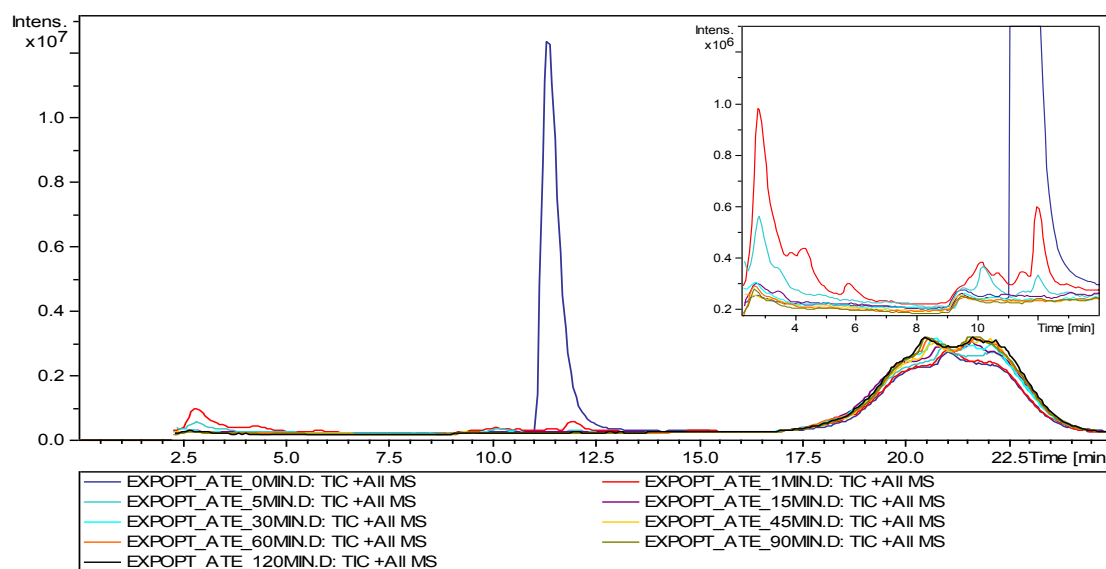


Figura 69. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Atenolol pelo processo Foto-Fenton em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS. Condições iniciais: $[ATE]_0$ 10 mg L⁻¹; pH 4; $[Fe^{2+}]$ 7,5 mg L⁻¹; $[H_2O_2]$ 150 mg L⁻¹, Temp. 30 °C.

O caminho proposto para a fragmentação do DP 283 pode ser observado na Figura 70. A ausência do fragmento de m/z 164 na fragmentação do DP 283 confirma que a hidroxilação se deu no anel aromático. Dois dos fragmentos característicos da cadeia lateral (m/z 133,1 e 89,1) confirmam que não houve ataque radicalar nessa posição.

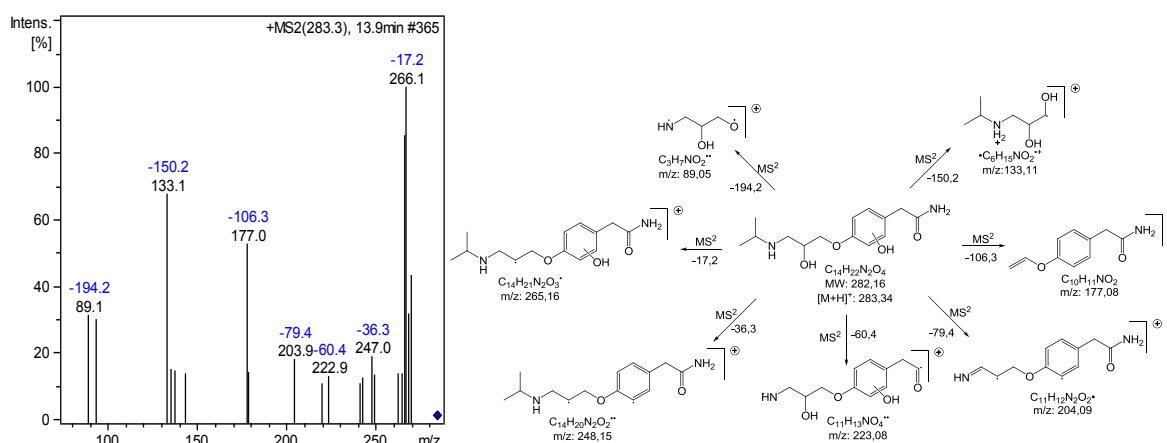


Figura 70. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 283.

Além do composto hidroxilado de ATE, PDs com íon molecular $[M+H]^+$ menores que ATE foram encontrados, evidenciando assim maior degradação de ATE por processo Foto-Fenton.

O PD de m/z 236 (PD 236) mostra, de acordo com seu perfil de fragmentação por MS^2 , que a degradação ocorreu no grupamento amida, com a perda de água e amônia devido à ação oxidante do radical hidroxila. O perfil de fragmentação (Figura 71) deixa claro que a oxidação não ocorre na cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, pois a presença dos produtos iônicos de m/z 131, 116 e 98, típicos deste grupamento, estão presentes.

Observando também o perfil da área do EIC nota-se que o DP 236 forma-se no começo do processo sendo totalmente degradado, ou convertido em outro composto, após 15 min de degradação.

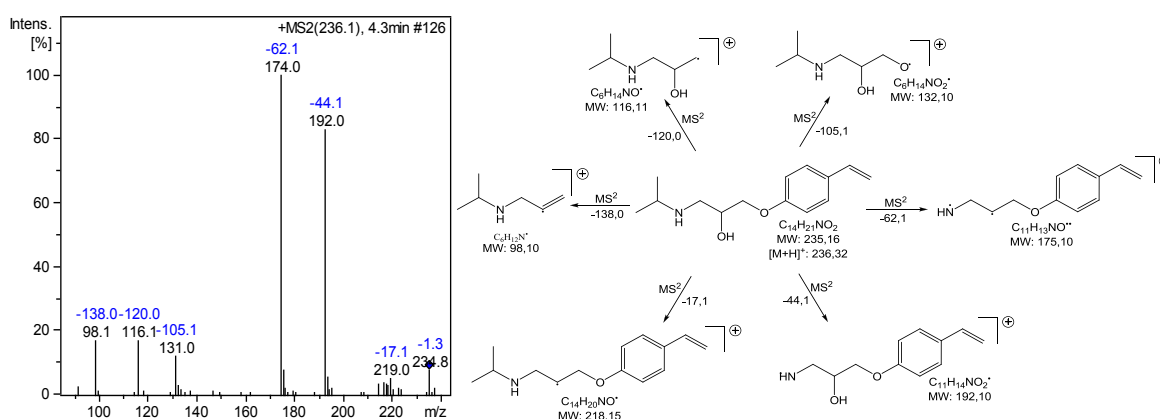


Figura 71. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 236.

O PD de íon molecular $[M+H]^+$ com m/z 232,1 também apresenta os fragmentos característicos da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi (134,1, 116,1 e 98,1). Deste modo, para o PD 232, é proposto um mecanismo com abertura do anel aromático a partir do PD 283 em um intenso meio radicalar (Tay et al., 2011). A estrutura proposta segue o perfil de fragmentação da Figura 72.

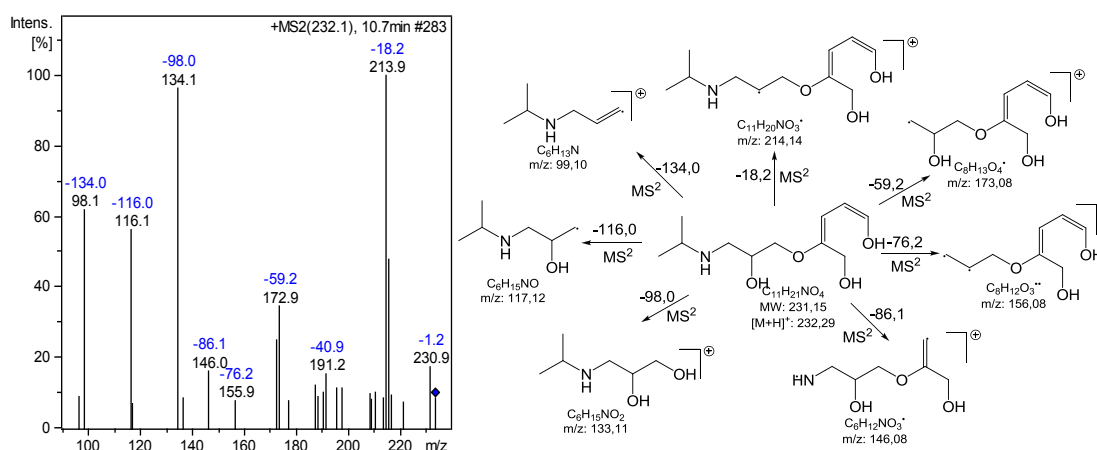


Figura 72. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 232.

A partir da formação do PD 232 surgem outros PDs resultantes, tais como o PD 220 e PD 206. Esses PDs apresentam em comum os fragmentos da cadeia lateral, indicando que a degradação prosseguiu sobre o anel aromático. Os perfis de fragmentação usados para a identificação deste PDs podem ser vistos na Figura 73.

O PD 206 já foi citado como um PD de processo de ozonização em meio alcalino, ou seja, onde o principal mecanismo de oxidação é via radicais hidroxila (Tay et al., 2011; Quispe et al., 2011).

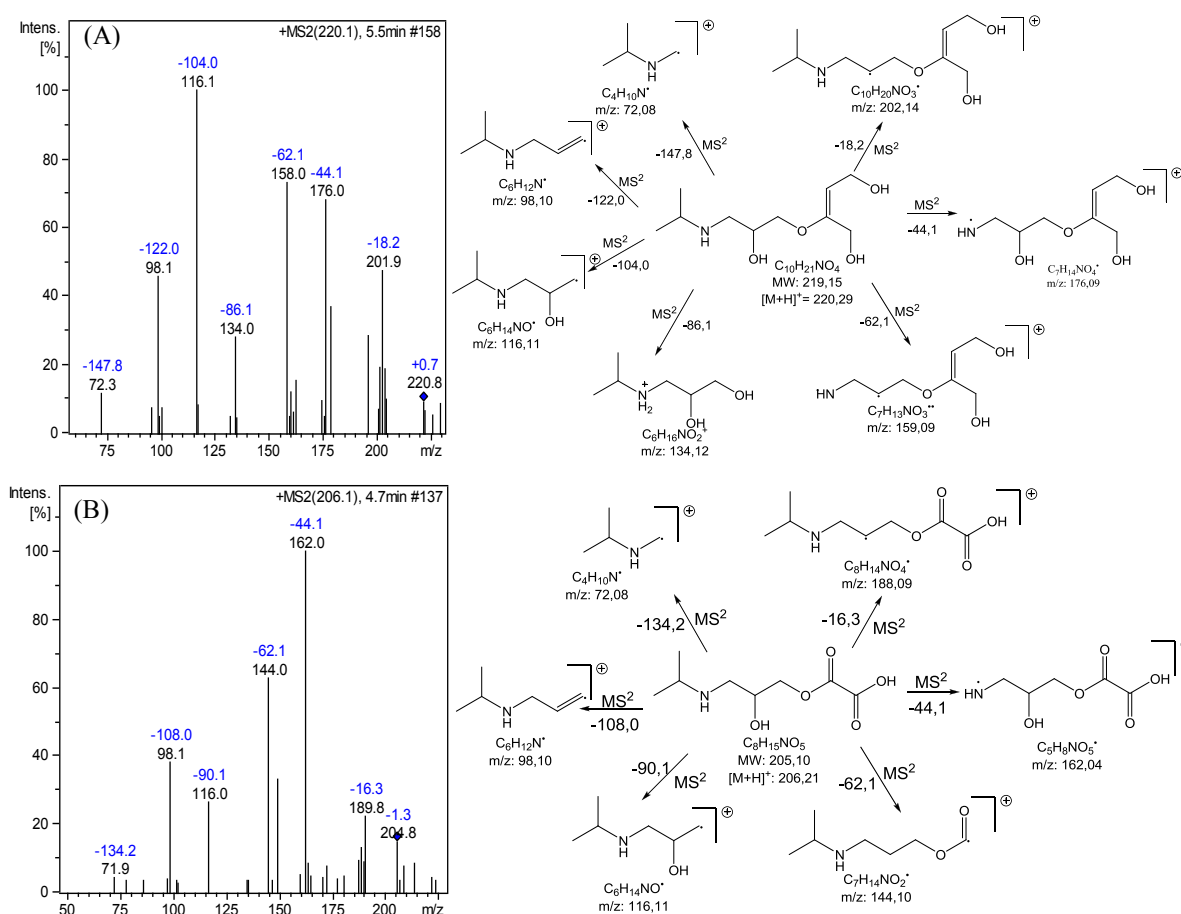


Figura 73. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o (A) PD 220 e (B) PD 208.

O PD de m/z 172 segue o caminho de degradação iniciado pela abertura do anel aromático. O perfil de fragmentação deste PD (Figura 74) mostra que também houve alteração na cadeia lateral, com a perda de 18 Da (H₂O). O que confirma tal afirmação é a falta do fragmento de m/z 134 e a presença do fragmento de m/z 114, mas apresentando ainda os fragmentos característicos m/z 72, 89 e 98.

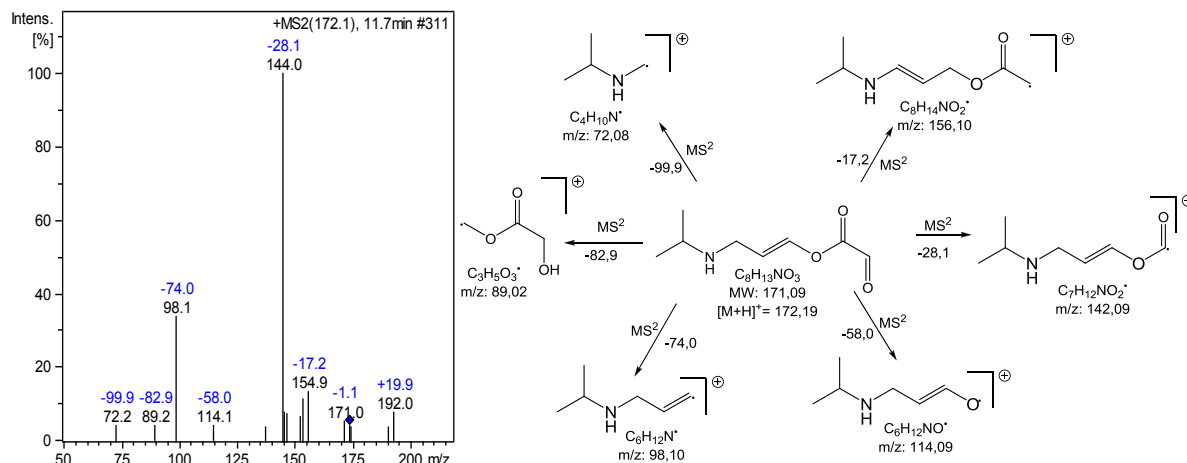


Figura 74. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 172.

Os PDs de m/z 150,1 e 148,1 (Figura 75) são compostos hidroxilados da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi. O surgimento destes compostos pode seguir dois caminhos paralelos, (1) relacionado com o prosseguir da abertura do anel aromático ou (2) a partir da hidroxilação do PD 134 com o prosseguir do processo.

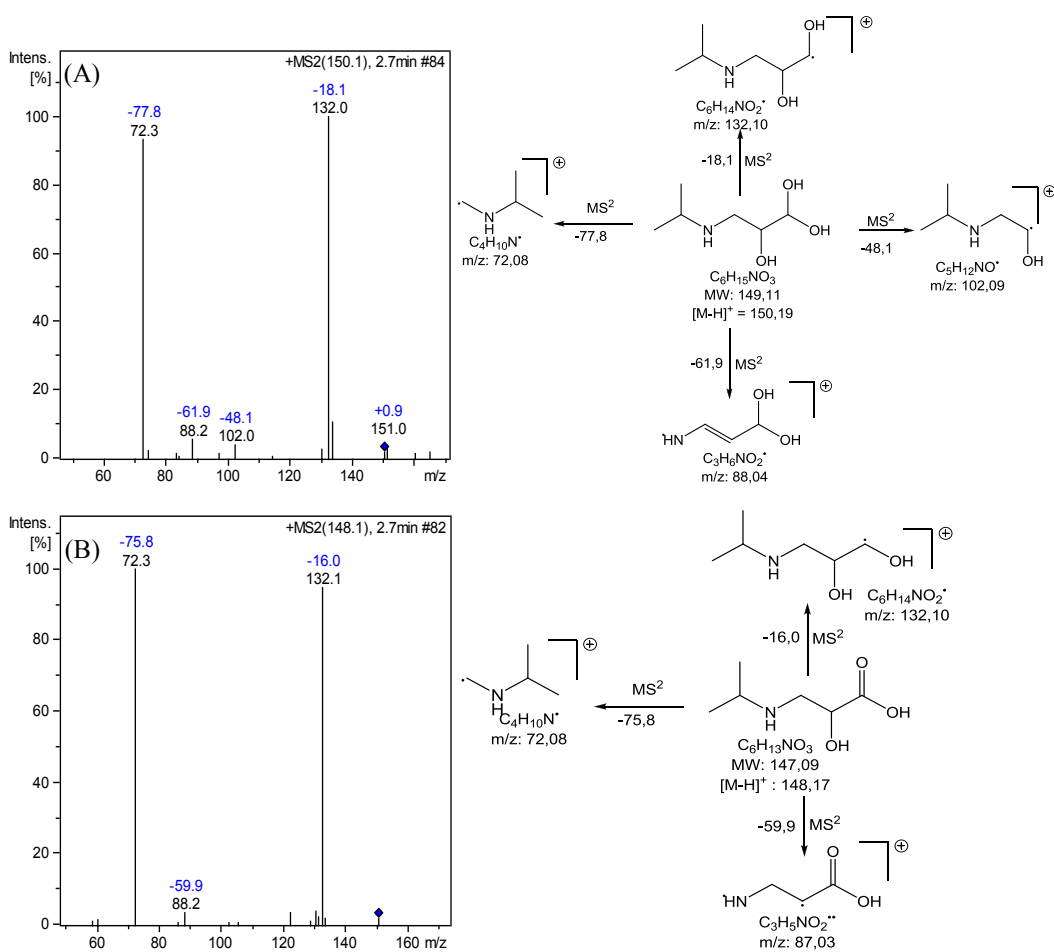


Figura 75. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o (A) PD 150 e (B) PD 148.

Ainda foram encontrados os PDs de m/z 134,2 132,1, 116,2, 102,2, 90,2 e 72,3 resultantes, provavelmente, da oxidação da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi. Os perfis de fragmentação destes PDs não serão apresentados. Foi ainda encontrado o PD de m/z 188,1, mas este PD, mesmo apresentando MS^2 , não foi identificado conclusivamente.

Observando o perfil da área dos EIC plotados na Figura 76, os PDs encontrados e identificados podem ser considerados os intermediários iniciais na degradação de Atenolol por Foto-Fenton, pois eles são formados no início do processo sendo posteriormente degradados a ácidos orgânicos de cadeia menor conforme identificado por GC-MS em processo de eletro-Fenton e foto-eletro-Fenton (Isarain-Chávez et al., 2010).

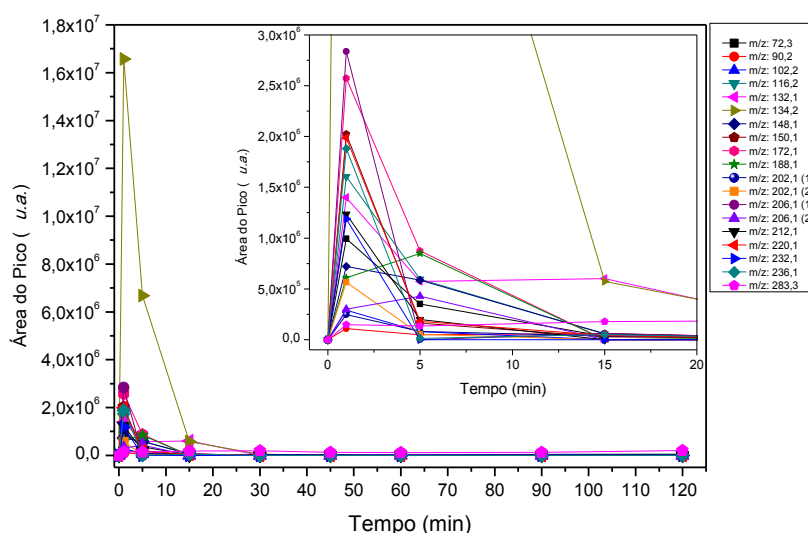


Figura 76. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por *Full Scan* obtidos em solução aquosa para Atenolol no Exp. 21. Condições Iniciais: $[ATE]_0$ 10 mg L⁻¹, pH₀4, $[Fe^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹, $[H_2O_2]_0$ 150 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

De acordo com os PD encontrados foi proposto um caminho de degradação para o Atenolol por processo Foto-Fenton (Figura 77). A degradação de ATE por processo Foto-Fenton segue dois caminhos principais de degradação interconectados simultaneamente:

- 1) Caminho de hidroxilação do anel aromático por abstração de hidrogênio por radical hidroxila e, posterior, abertura do anel aromático como sugerido por (Tay et al. 2011);
- 2) Clivagem da ligação C-O do anel aromático com a cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi e posterior hidroxilação-mineralização, como sugerido por (Yang et al., 2010; Isarain-Chávez et al., 2010).

Embora o PD de m/z 152 (4-hidroxifenilacetamida) característico do caminho II não tenha sido encontrado para assegurar que ambos os caminhos são possíveis, o acompanhamento individual de cada íon molecular (Figura 76) indica que isso possa ocorrer.

A principal característica apresentada pelos PDs, que induz para a abertura do anel aromático do atenolol por radicais hidroxila, são os fragmentos da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

Apenas dois trabalhos reportam a possibilidade da abertura do anel aromático. Tay et al. (2011) encontraram o PD 206 em ozonização em pH alcalino, onde a principal via de oxidação é por radicais $\text{HO}\cdot$, e propuseram um detalhado mecanismo radicalar apontando para a abertura do anel aromático. Quispe et al. (2011) encontraram também PDs resultantes da abertura do anel aromático por ozonização tanto em pH ácido (3) quanto em pH alcalino (9).

Uma plausível explicação para que não ocorra ataque por radicais $\text{HO}\cdot$ sobre a amina secundária pode estar relacionado à protonação deste grupamento em pH 4 (Figura 2). Assim, a reatividade deste grupamento é fraca e $\text{HO}\cdot$ tende a atuar como eletrófilo com ataque à dupla ligação do anel aromático.

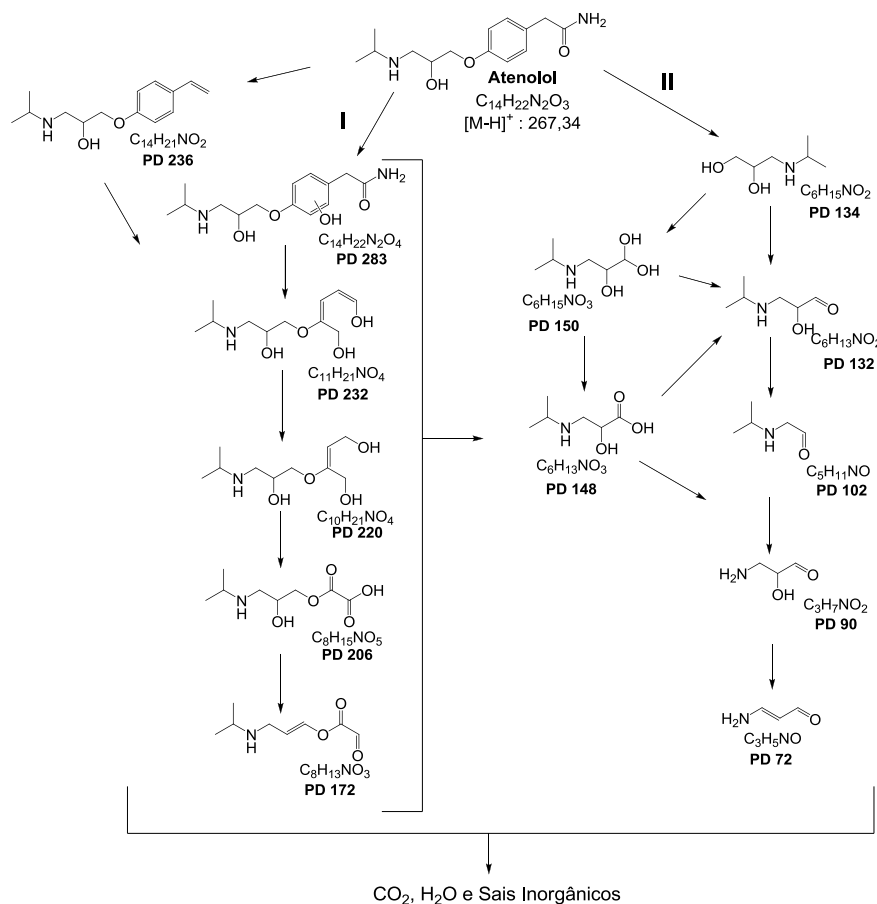


Figura 77. Caminho de degradação proposto para Atenolol em solução aquosa por processo Foto-Fenton. Condições de tratamento: $[\text{ATE}]_0$ 10 mg L^{-1} , pH_0 4, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 7,5 mg L^{-1} , $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L^{-1} , Temperatura 30 $^\circ\text{C}$.

Da mesma forma que para PRO e ATE, para o MET fez-se, primeiramente, um estudo do perfil de fragmentação para facilitar a elucidação dos PDs. O perfil de fragmentação está apresentado na Figura 78. Os fragmentos encontrados estão de acordo com os propostos por Benner & Ternes (2009a) e Slegers et al. (2006). Como pode ser observado, MET apresenta a perda de 18 Da referente à H₂O, 49 Da indicando a perda de H₂O e CH₃OH do grupamento éter lateral.

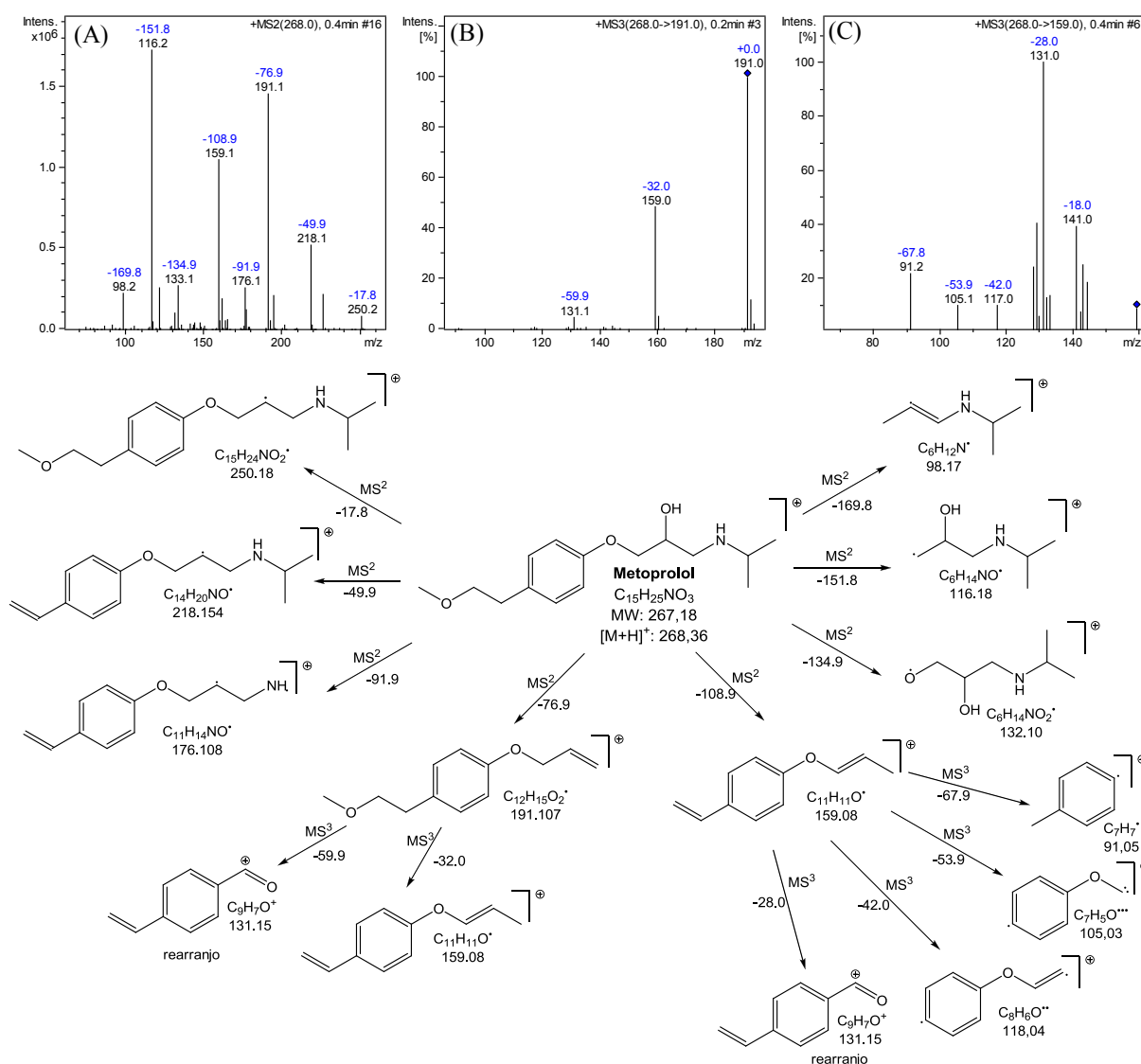


Figura 78. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MSⁿ e caminho de fragmentação proposto para o Metoprolol. (A) Metoprolol m/z 268,0 MS², (B) m/z 268→191,0 MS³ e (C) m/z 268→159,0 MS³.

Assim como para PRO e ATE, o MET apresenta também os fragmentos característicos do grupamento 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, que caracteriza β-bloqueadores, m/z 133, 116 e 98,2. Ainda, para uma melhor elucidação, os fragmentos de m/z 191 e 159 foram

novamente fragmentados gerando em comum os fragmentos de m/z 131, que sofre um rearranjo éter para cetona.

O TIC de MET submetido a tratamento por processo Foto-Fenton pode ser observado na Figura 79. Foram identificados 9 PDs por EIC, dois PDs encontrados apresentaram íon molecular $[M+H]^+$ superior ao MET. O PD de m/z 284, 18 Da a mais que MET, indica a hidroxilação inicial da molécula de MET por ataque radicalar de $HO\cdot$. Do mesmo modo que para alguns PDs encontrados nos outros dois β -bloqueadores, para o MET o PD 284 apresentou 3 picos com tempos de retenção de 13,3, 15,4 e 16,7 min.

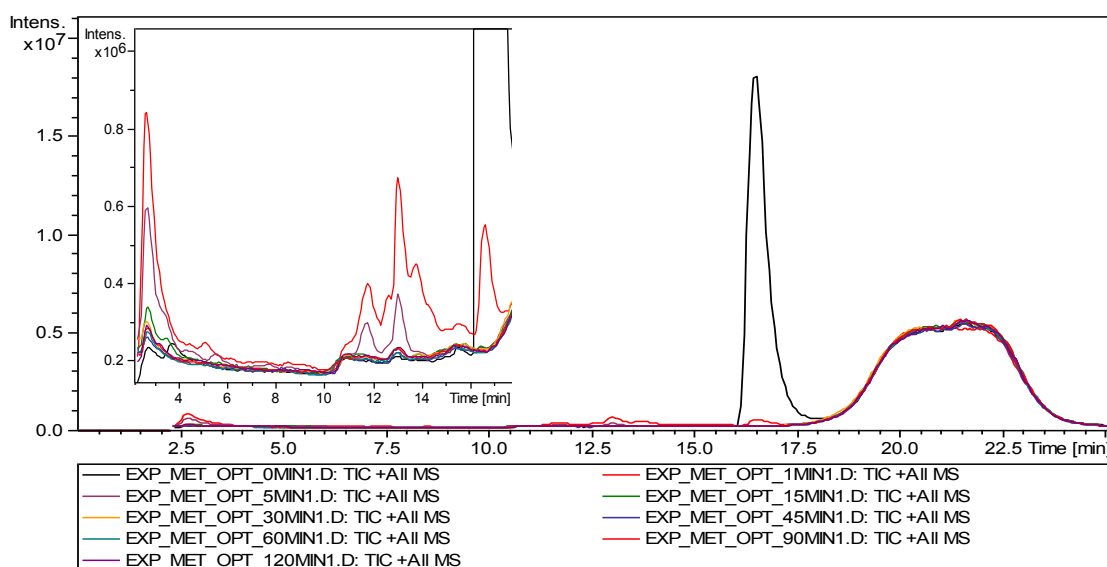


Figura 79. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Metoprolol pelo processo Foto-Fenton em solução aquosa (água ultra pura) por LC-MS. Condições iniciais: $[ATE]_0$ 10 mg L⁻¹; pH 4; $[Fe^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹; $[H_2O_2]_0$ 150 mg L⁻¹, Temp.: 30 °C.

Analisando o perfil de fragmentação para os diferentes tempos de retenção, não observou-se diferenças nos perfis de fragmentação que possam conduzir a diferentes posições do grupamento hidroxila na molécula de MET, indicando que os isômeros podem ser apenas quanto a posição do grupamento hidroxila ligado ao anel aromático. Essa característica também foi citado por Benner & Ternes (2009a).

O perfil de fragmentação para o PD 284 pode ser observado na Figura 80. Outro PD com m/z carga maior que MET encontrado foi o PD 282, 14 Da a mais que MET, mas apenas 2 Da menos que o PD 282. Por meio da análise de MS² (Figura 81), foi proposto que o PD 284 sofre ataque de radicais hidroxila com abstração de hidrogênio e formação de dupla ligação.

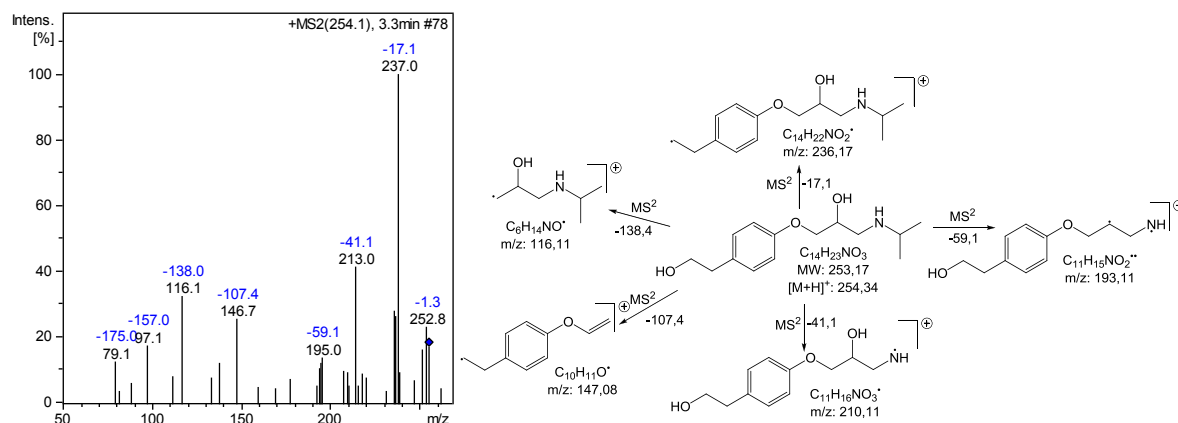


Figura 82. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 254.

Outro PD resultante da cadeia lateral etóxi é o PD 238. Esse PD se forma pela perda de CH₃OH da molécula de MET ou mesmo pela perda de H₂O do PD 254. O perfil de fragmentação (Figura 83) está de acordo com o perfil encontrado por Radjenovic et al. (2011).

Os fragmentos característicos da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi foram encontrados, tais como perda de 41,3 Da referente ao grupamento isopropila e o fragmento característico de m/z 133.

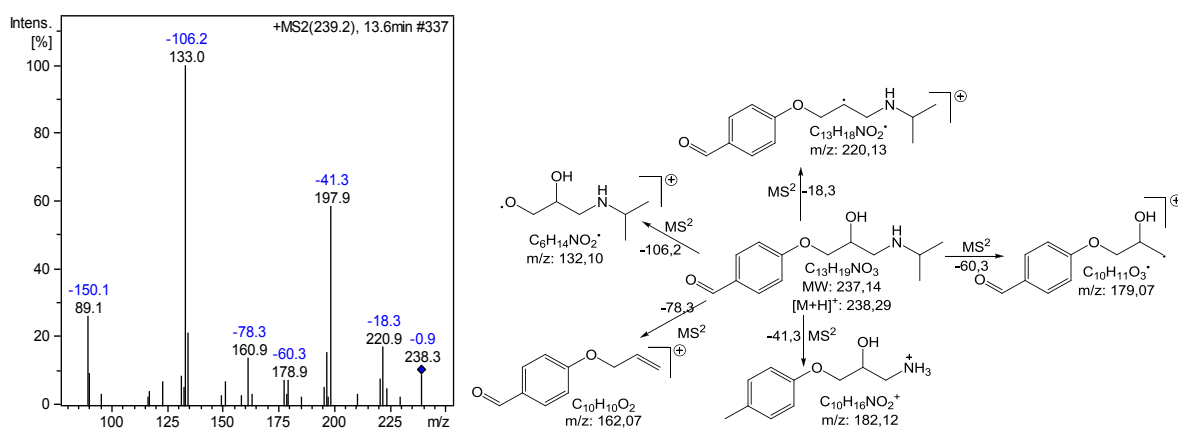


Figura 83. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 238.

Os outros PDs encontrados, de m/z 134, 116, 102, 90 e 72 são resultantes do grupamento 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, também encontrados para ATE e PRO.

O caminho de degradação proposto para MET frente ao tratamento por Foto-Fenton pode ser visto na Figura 84.

Pode-se concluir, de acordo com os PDs identificados, que MET segue três caminhos diferentes de degradação:

- 1) Ataque eletrofílico de radicais HO· ao anel aromático com a formação de compostos hidroxilados iniciais;

2) Ataque de radicais HO· à cadeia lateral metóxi-etila com a eliminação de CH₃OH e posterior formação de cetona.

3) Clivagem da ligação C-O do anel aromático com a cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

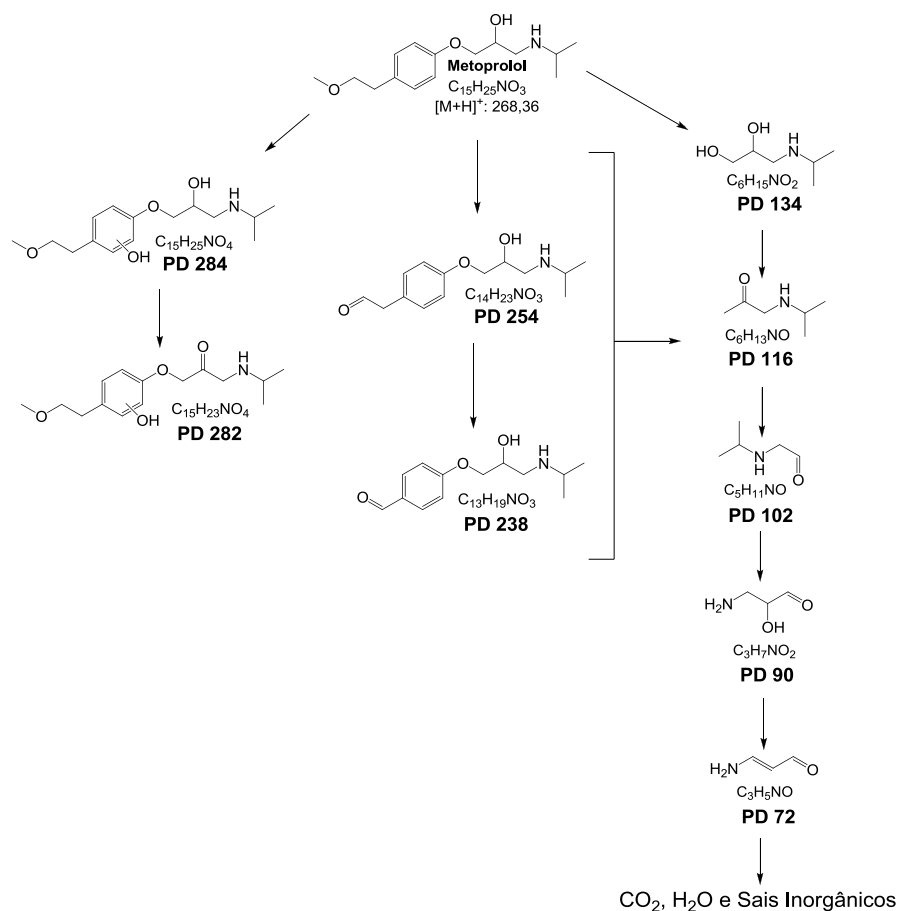


Figura 84. Caminho de degradação proposto para Metoprolol em solução aquosa por processo Foto-Fenton. Condições de tratamento: [MET]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 4, [Fe²⁺]₀ 7,5 mg L⁻¹, [H₂O₂]₀ 150 mg L⁻¹, Temperatura 30 °C.

O acompanhamento individual de cada PD pode ser observado na Figura 85. Da mesma forma que para os outros dois β-bloqueadores estudados, a maioria dos PDs foram identificados no início do tratamento sendo, posteriormente, degradados ou transformados a ácidos orgânicos de cadeia menor.

Nenhum PD inicial resultante da clivagem da ligação –N–CH(CH₃)₂ foi encontrado para a degradação de MET, dando suporte ao fato de que a protonação deste grupamento em pH 4 desativa um possível ataque eletrofílico por radicais HO·. A maioria dos PD acima encontrados foram já citados por outros estudos baseados em formação de radicais HO· (Radjenovic et al., 2011; Slegers et al., 2006; Benner & Ternes, 2009a).

Portanto, os intermediários encontrados para ATE, MET e PRO frente à degradação por Foto-Fenton se formam no início do processo sendo degradados posteriormente. Assim os PDs identificados podem apenas ser considerados intermediários iniciais do processo de degradação, pois análise de COD (Figura 36) evidencia que a mineralização não foi completa para os três β -bloqueadores estudados, ou seja, PDs de cadeia menor tais como ácidos orgânicos são formados e são persistentes ao processo de degradação.

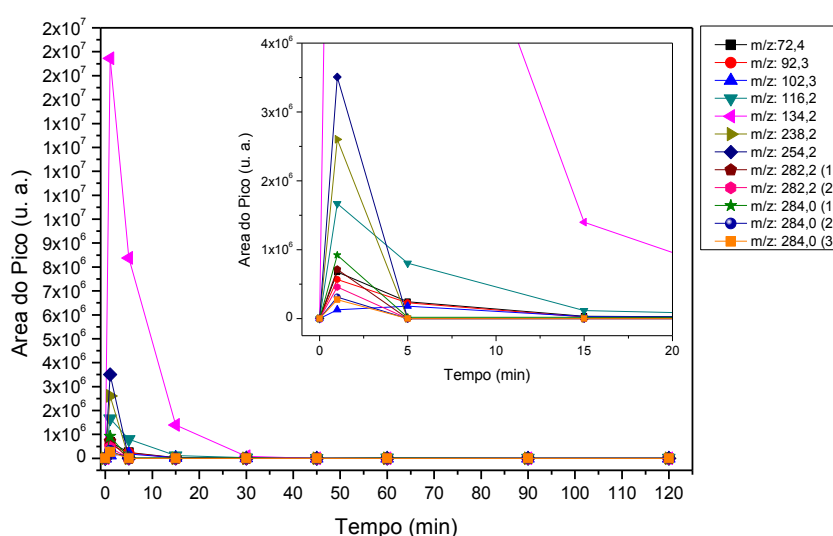


Figura 85. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por *Full Scan* obtidos em solução aquosa para Metoprolol no Exp. 21. Condições Iniciais: $[\text{MET}]_0$ 10 mg L^{-1} , pH_0 4, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L^{-1} , Temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

10.3.9 Aplicação das condições otimizadas para a degradação em Efluente Hospitalar

A aplicação do processo Foto-Fenton para um efluente hospitalar (EH) “real” foi avaliado em condições de concentração dos β -bloqueadores próximas às reais encontradas para o efluente hospitalar (≈ 100 vezes maior).

O efluente escolhido para o estudo foi o ‘Efluente PA’ e as características físico-químicas deste EH podem ser vistas na Tabela 3. A DQO inicial do EH submetido a processo Foto-Fenton foi de $190,15 \text{ mg L}^{-1}$.

Observando a Figura 86 pode-se observar que mesmo frente a complexas matrizes como EH, o processo Foto-Fenton é capaz de degradar os β -bloqueadores completamente em 120 min de processo. ATE e MET mostraram-se mais suscetíveis à degradação quando comparados a PRO. Este fato pode estar relacionado às características físico-químicas destes compostos e, também, do EH. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO pode ser observado no Apêndice G (Figura 168).

Dentre os β -bloqueadores estudados, PRO é o que apresenta o maior $\log K_{ow}$, 3,38 para a espécie neutra e 0,78 para a espécie protonada. Assim frente a matrizes complexas como EH (apenas qualitativamente filtrado), PRO pode sofrer adsorção-dessorção frente a coloides naturalmente presentes no efluente durante a agitação, dificultando, assim, a degradação. O comportamento de degradação semelhante mostrado por ATE e MET pode estar relacionado à semelhança estrutural e, conseqüentemente, físico-química dessas espécies em solução.

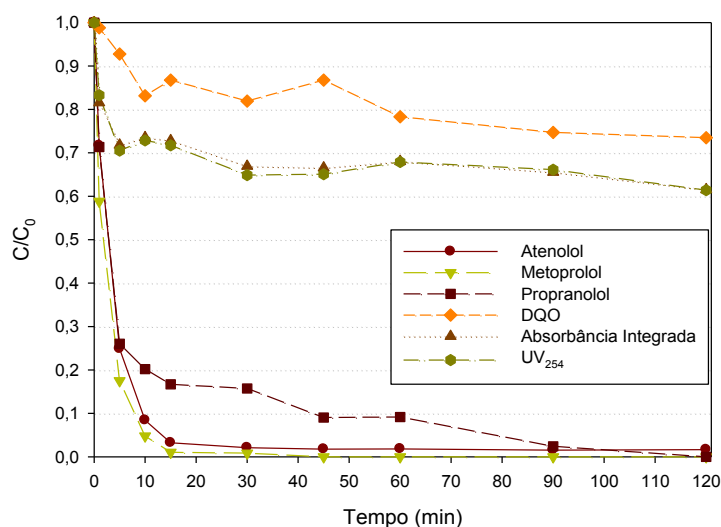


Figura 86. Acompanhamentos dos parâmetros avaliados na degradação de ATE, MET e PRO em EH por Foto-Fenton. Condições Iniciais: $[BB]_0$ $200 \mu\text{g L}^{-1}$, pH_0 4, $[\text{Fe}^{2+}]_0$ $7,5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L^{-1} , Temperatura $30 \text{ }^\circ\text{C}$.

O processo Foto-Fenton foi capaz de mineralizar apenas 26,51% da matéria orgânica e degradar 38,60% da aromaticidade do Efluente hospitalar. As constantes cinética de pseudo-primeira ordem para a degradação de ATE, MET e PRO em EH são apresentadas na Tabela 15, juntamente com o tempo de meia vida.

Tabela 15. Constante cinética de pseudo-primeira ordem (k_{obs}), $t_{1/2}$, t_{90} e ajuste do modelo da degradação de β -bloqueadores por Foto-Fenton em EH.

β -bloqueador	k_{obs} (s^{-1})	$t_{1/2}$ (s)	t_{90} (s)	r^2
Atenolol	$4,93 \times 10^{-3}$	142,08	506,74	0,999
Metoprolol	$7,12 \times 10^{-3}$	95,08	334,48	0,995
Propranolol	$8,19 \times 10^{-3}$	125,63	2628,51	0,998

Como a concentração inicial usada para o processo de degradação em efluente foi de $200 \mu\text{g L}^{-1}$, ou seja, 50 vezes menor que a concentração inicial em solução aquosa. Do mesmo modo que para a determinação das k_{obs} foi usado às concentrações de íons ferrosos e peróxido

de hidrogênio também 50 vezes menor, as constantes de velocidade não apresentaram grande diferença.

ATE apresentou k_{obs} de $4,93 \times 10^{-3}$ e $2,366 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para efluente e solução aquosa, respectivamente, ou seja, a diferença foi de apenas 2,564, que pode estar relacionado a desvio padrão.

A diferença encontrada para MET foi de 4,78 entre a k_{obs} para o processo conduzido em efluente e solução aquosa e PRO apresentou diferença de apenas 0,89 entre efluente e solução aquosa. Como observado não houve grande influência da matriz sobre a constante de velocidade para condições semelhantes de reagentes.

O acompanhamento do consumo de Fe^{2+} e H_2O_2 (Figura 87) mostra que os íons ferrosos presentes em solução são rapidamente convertidos a íons férricos em 1 min de processo. Assim, pode-se concluir que no início do processo Foto-Fenton há uma grande produção de radicais hidroxila e posteriormente geração de $\text{HO}\cdot$ se da principalmente por processo Foto-Fenton *like*.

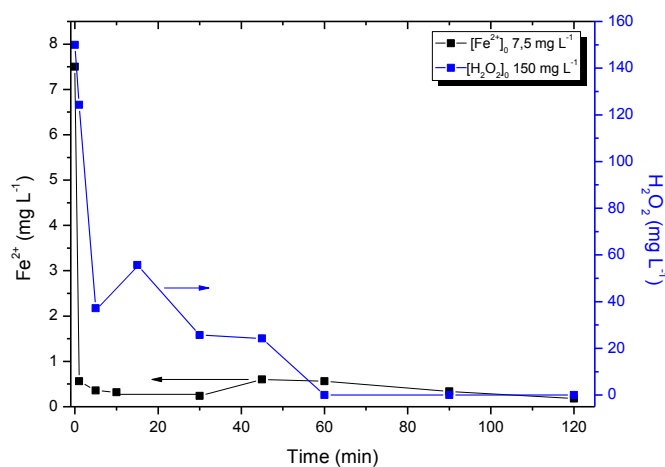


Figura 87. Acompanhamento do decaimento da concentração de H_2O_2 e Fe^{2+} durante o processo Foto-Fenton aplicado em EH. Condições iniciais: $[\text{BB}]_0$ 10 mg L⁻¹; pH 4; $[\text{Fe}^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹; $[\text{H}_2\text{O}_2]_0$ 150 mg L⁻¹; Temp. 30 °C.

Essa afirmação pode ser verificada pelo acompanhamento do consumo de peróxido, que, também, é rapidamente consumido no início do processo (5 min) seguido então de um consumo lento (5-45 min), quando se evidencia a regeneração de íons ferrosos, e posterior consumo completo em 60 min de processo.

Embora todo o peróxido tenha sido consumido em 60 min de processo, pode-se observar que a DQO continua decaindo com o prosseguir do processo até 120 min. Esse fato está relacionado à geração de $\text{HO}\cdot$ pela fotólise de complexos oxi-hidroxidos férricos. A

absorbância integrada (relativa à absorbância molecular 200-700 nm) e a aromaticidade segue o mesmo comportamento.

O intuito deste estudo foi avaliar as condições operacionais próximas as reais, usando menos do que a máxima concentração de Fe que pode ser lançado em efluentes pela legislação brasileira 15 mg Fe L^{-1} (Trovó et al., 2008) e para evitar a etapa de precipitação no tratamento de efluente, a remoção de matéria orgânica alcançada foi de 26,5% em 120 min de tratamento. Apesar da baixa remoção de matéria orgânica, os microcontaminantes estudados foram totalmente degradados ou convertidos a outros PDs.

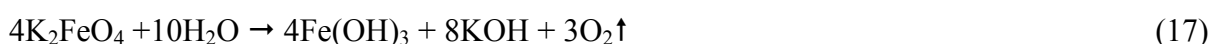
11 Degradação de β -bloqueadores Atenolol, Metoprolol e Propranolol por oxidação-coagulação com K_2FeO_4

Uma das tecnologias mais usadas, principalmente para o tratamento de águas, é a coagulação. Sais metálicos como Fe^{2+} , Fe^{3+} e Al^{3+} são usados largamente, mas este tipo de processo demanda que esses sais não apenas removam as partículas coloidais, mas também deveriam idealmente desinfetar, eliminar micro-organismos e oxidar, parcial ou completamente, contaminantes orgânicos e inorgânicos, tais como fármacos e metais pesados (Duan & Gregory, 2003).

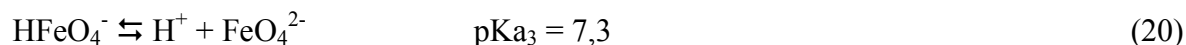
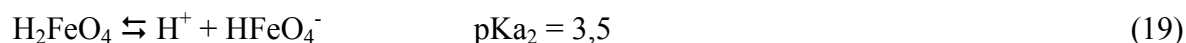
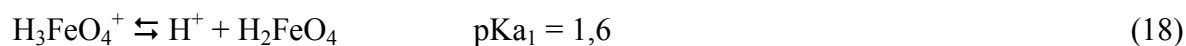
Ferrato de Potássio (K_2FeO_4) abrange todos os requisitos expostos acima e, deste modo, é considerado estrategicamente uma promissora alternativa para o tratamento águas e efluentes (Jiang & Lloyd, 2002).

O duplo caráter oxidante-coagulante de Fe(VI) combinado com seu potencial de oxidação (2,20 eV em meio ácido) superior ao ozônio (2,08 eV) e hipoclorito (1,48 eV), como pode ser observado na Tabela 8, o tornam um importantes objeto de pesquisa (Jiang & Lloyd, 2002). O produto da redução de Fe(VI) é não tóxico e, deste modo, ferrato de potássio pode ser considerado um oxidante ambientalmente correto, pois sua hidrólise gera espécies férricas insolúveis dependentes do pH, tais como $Fe(OH)_3$, $FeO(OH)$, e Fe_2O_3 , que são os principais responsáveis pela coagulação (Sharma, 2002).

Em meio aquoso ferrato(VI) pode se decompor com formação de oxigênio e hidróxido de ferro (Reação 17). A taxa de decomposição depende principalmente da concentração inicial de ferrato(VI), íons coexistentes, pH e temperatura.



Em meio ácido Fe(VI) pode gerar diferentes e instáveis espécies protonadas tais como $H_3FeO_4^+$, H_2FeO_4 e $HFeO_4^-$, enquanto em pH neutro e alcalino, o íon hidrogeno ferrato ($HFeO_4^-$) se dissocia gerando íon ferrato (FeO_4^{2-}) (Reações 18-20). A especiação de ferrato em função do pH pode ser observado na Figura 88.



A reatividade de Fe(VI) com compostos orgânicos mostra que ferrato é um forte, mas seletivo, oxidante. Ferrato oxida seletivamente álcoois primários e secundários a aldeídos (não ácidos) e cetonas, respectivamente, e aminas primárias a aldeídos (Sharma, 2002).

Alguns estudos tem mostrado sua aplicação para a remoção de metais, não metais, radionuclídeos, ácidos húmicos e como desinfetante para o tratamento de efluentes (Jiang &

Lloyd, 2002). Outro potencial uso de Fe(VI) para tratamento de efluentes é sua combinação a PAOs, como oxidante-coagulante e fonte de íons férricos para processo Fenton-like aumentando a potencialidade oxidante com a geração de radicais hidroxila (Martins et al., 2007).

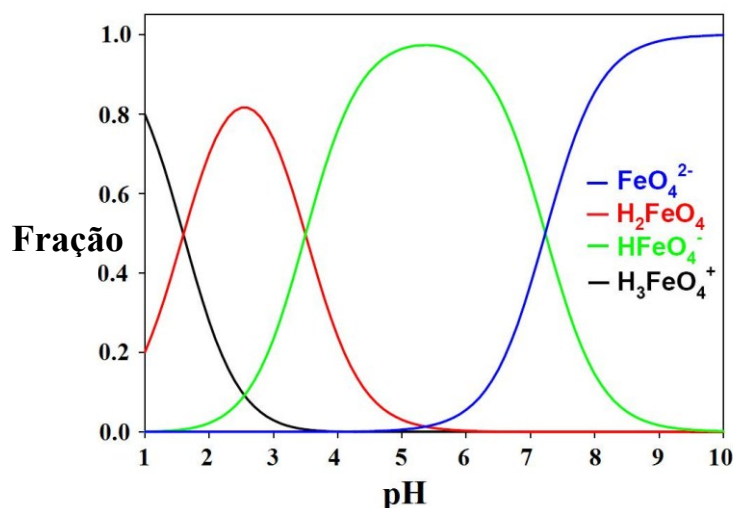


Figura 88. Especiação de Fe(VI) em função do pH baseado no equilíbrio das espécies dissolvidas. Adaptado de Delaude & Laszlo (1996).

A aplicação de Fe(VI) para a remoção de fármacos também tem sido investigado, porém a maioria dos estudos tem focado em analisar as constantes cinéticas de reação (Sharma, 2008).

Recentes publicações também estão focando os PDs de fármacos e disruptores endócrinos por tratamento com Fe(VI) (Sharma et al., 2006; Hu et al., 2009; Yang et al., 2011; Li et al., 2008; Lee et al., 2008).

De qualquer forma, essa tecnologia esta ainda distante de ser implementada para o tratamento de águas e efluentes na prática, principalmente devido ao fato de as soluções de Fe(VI) serem instáveis e seus sais sólidos, ainda que estáveis, requerem onerosos processos de síntese. Contudo avanços na síntese de FeO_4^{2-} sólido como também em sua geração *in situ* têm sido postulados (Jiang et al., 2009; Mácová et al., 2009).

Posto isso e a necessidade de mitigar a descarga de microcontaminantes como β -bloqueadores por EH em águas superficiais o objetivo do presente estudo foi avaliar a degradação de β -bloqueadores por Fe(VI) com particular ênfase a identificação dos PDs e sua biodegradabilidade em solução aquosa.

11.1 Materiais e Métodos

11.1.1 Materiais e reagentes

Os reagentes usados foram os mesmo que os descritos na seção 10.2.1.1. Para os testes em solução aquosa K_2FeO_4 (> 98%) foi adquirido da Sigma-Aldrich e para os testes em EH, K_2FeO_4 foi sintetizado conforme Delaude & Laszlo (1996) sem purificação extra e estocado livre de umidade em dessecador. A identificação de ferrato de potássio foi feita por difração de raios-X (XRD) usando o difratometro Brüker D8 Advance (www.bdal.com) e a pureza foi determinada pelo método de oxidação-redução de cromito ($Cr^{3+} \rightarrow Cr^{6+}$) (Licht et al., 2001). Os demais reagentes foram de grau analítico e usados como recebidos.

11.1.2 Oxidação-coagulação de β -bloqueadores com Fe(VI) em Efluente Hospitalar

Para os testes de degradação em efluente hospitalar ('Efluente PA') as amostras foram coletadas e enriquecidas com β -bloqueadores conforme descrito na seção 10.2.1.3.

O pós tratamento das amostras coletadas foi feito ajustando o pH para 9, centrifugando (89 x g, 1000 rpm, Fanem, São Paulo, SP) e filtrando em filtro seringa de membrana de PTFE 0,45 μm (Chromafil[®] PTFE, www.macherey-nagel.com).

Os experimentos foram conduzidos em reator tipo tanque agitado de 1000 mL e em temperatura ambiente (20 ± 3 °C). Para as análises em HPLC as amostras foram submetidas à *clean-up* por SPE (conforme seções 5 e 6). As variáveis estudadas foram estabelecidas por planejamento baseado em Metodologia de Superfície de Resposta (RSM) usando como variáveis o pH e a concentração de Fe(VI).

11.1.3 Planejamento de experimentos

Para descrever o efeito das variáveis investigadas sobre o processo de degradação de β -bloqueadores por Fe(VI) foi escolhido a metodologia RSM. Planejamento baseado em RSM Composto Central (do inglês, *Central Composite Design* (CCD)), também conhecido como planejamento estrela, foi usado para avaliar o efeito das variáveis independentes pH e concentração de Fe(VI) avaliando a redução da DQO, UV λ 254 nm (UV_{254}) e a degradação de cada β -bloqueador como variáveis dependentes. UV_{254} reflete a absorbância na banda de anéis aromáticos em espectrometria molecular.

O número de experimentos foi calculado conforme Equação 12 (seção 7.1.4) para duas variáveis, perfazendo assim 8 experimentos (4 fatoriais e 4 axiais) e 3 replicatas do ponto central, distribuídos geometricamente conforme Figura 89.

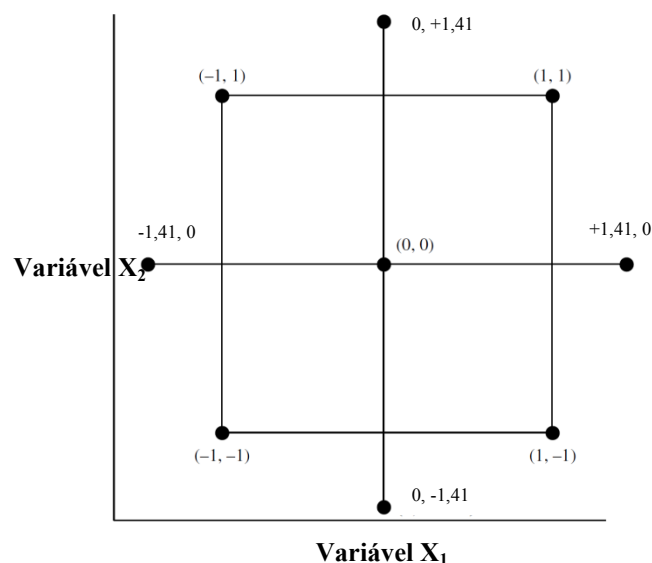


Figura 89. Distribuição geométrica dos pontos experimentais do modelo de planejamento experimental por Metodologia de Superfícies de Resposta (CCD) para 2 variáveis. Adaptado de Armstrong (2006).

Os experimentos foram feitos em ordem randômica para evitar erros atípicos relacionados com a combinação de níveis e os dados experimentais obtidos foram ajustados pelo modelo de segunda-ordem seguindo a Equação 14 (seção 7.1.4)

Os resultados, a verificação e a validação do modelo que melhor se ajusta aos resultados foi feita pela determinação do r^2 e por análise de variância (ANOVA), os coeficientes de regressão foram avaliados por teste de Fischer (F -test) e teste t de Student (t -test) comparados com o valor de probabilidade p para 95% de confiança por meio do software STATISTICA 8 (StatSoft, Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com) conforme recomendado por Ferreira et al. (2007).

11.1.4 Oxidação-coagulação de β -bloqueadores com $\text{Fe}^{(\text{VI})}$ em solução aquosa

Utilizou-se reator tanque agitado de 1000 mL, sempre na mesma velocidade de agitação, para os experimentos de oxidação-coagulação. Os experimentos em solução aquosa foram feitos em água Ultra pura ($18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) em pH 7 sem utilização de soluções tampões para controle de pH e à temperatura de $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

Optou-se por estudar duas diferentes razões entre $\text{Fe}(\text{VI})$ e β -bloqueadores (1:1 e 1:10 [β -bloqueador]:[$\text{Fe}(\text{VI})$]). O ferrato de potássio foi primeiramente pesado e adicionado na forma sólida. Soluções padrão de 10 mg L^{-1} de β -bloqueadores foram preparadas em pH 7 e o tempo de tratamento foi fixado em 120 min.

Para acompanhamento dos parâmetros de processo, amostras foram retiradas em determinados intervalos de tempo. As amostras foram tratadas com ajuste do pH para 8-9, centrifugadas a $2863 \times g$ (4000 rpm) e, para as amostras que foram analisadas por HPLC e

LC-MS, foram filtradas com filtro seringa de porosidade 0,22 μm . O pH foi monitorado com pHmetro WTW inolab[®] Modelo pH 730 (www.wtw.com).

11.1.5 Análises de DQO, UV₂₄₅, COD, HPLC e LC-MSⁿ

O desempenho do processo foi avaliado analisando os parâmetros DQO, COD, concentração e os PD formados.

O COD foi analisado com Shimadzu TOC-5000 com amostrador automático ASI-5000 utilizando a opção por NPOC, que permite analisar apenas a quantidade de carbono dissolvido. A Demanda Química de Oxigênio foi determinada pelo método padrão conforme (Standard Methods 5220D). A DQO da amostra de EH tratada foi de $559,75 \pm 90,16$ para $n = 9$, dentro do intervalo de DQO citado por Martins et al. (2008).

A degradação dos β -bloqueadores em EH foi acompanhada por HPLC-FLD conforme otimizado na seções 5 e 6. Os PDs foram monitorados por LC-ESI-IT-MSⁿ conforme descrito previamente na seção 10.2.1.6. Para as medidas de absorbância foi utilizado espectrofotômetro Shimadzu UV 1800 (www.shimadzu.com).

11.1.6 Avaliação da biodegradabilidade dos PDs por CBT

A avaliação da biodegradabilidade foi feita conforme descrito previamente na seção 10.2.1.7. As amostras escolhidas para o teste foram as amostras pós processo (120 min). O pH das amostras foi ajustado para 7 e a DQO foi medida para avaliar a diluição necessária até 5 $\text{mg O}_2 \text{L}^{-1}$.

11.2 Resultados e Discussão

11.2.1 Caracterização de K₂FeO₄

Ferrato de potássio foi sintetizado e a pureza encontrada foi de 85,08%. A caracterização de K₂FeO₄ por espectrometria Mössbauer identificou, em trabalho anterior, além da presença de íons ferrato(VI) a presença de íons ferrosos, evidenciando que grande parte da impureza presente se deve a oxi-hidróxidos de ferro(III) (Wilde, 2006).

A caracterização por difração de raios-X (XRD) (Figura 90) foram feitas por varredura de $20 - 140^\circ$ (2θ) em temperatura ambiente. A Figura 90 mostra a presença dos picos principais 102, 111, 200, 112, 211 e 013. O pico principal 013 esta em $30,1^\circ$ (2θ) característico de ferrato de potássio e indica a pureza do mesmo. O XRD do ferrato de potássio sintetizado esta de acordo com o citado pela literatura (Li et al., 2005).

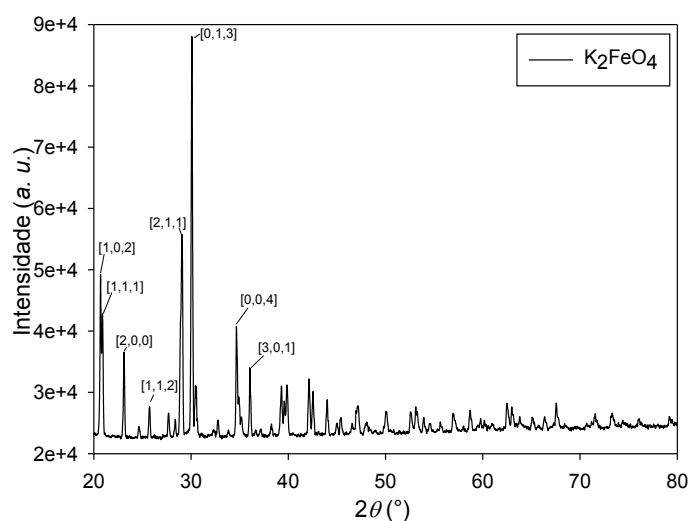


Figura 90. Difração de raios-X (XRD) de K_2FeO_4 sintetizado por via úmida.

11.2.2 Degradação de β -bloqueadores e DQO

As concentrações escolhidas, assim como as combinações entre os níveis e as respostas obtidas, para a degradação e mineralização de β -bloqueadores em EH, podem ser observados na Tabela 16.

Tabela 16. Planejamento por RSM para o processo oxidação-coagulação com Fe(VI) para a degradação de ATE, MET e PRO e remoção de DQO e Aromaticidade (UV 254 nm) em EH. Condições iniciais: 800 mL, $[BB]_0$ 200 $\mu g L^{-1}$, 120 min de tratamento).

Cód.	Níveis→					Red. DQO (%)	Deg. ATE (%)	Deg. MET (%)	Deg. PRO (%)	Red. UV ₂₅₄ (%)
	↓ Variáveis	-1,41	-1	0	+1					
X ₁	pH	2,8	4	7	10	11,2				
X ₂	[Fe(VI)] mg L ⁻¹	29,3	50	100	150	170,7				
Exp.	pH	[Fe(VI)] (mg L ⁻¹)	Red. DQO (%)	Deg. ATE (%)	Deg. MET (%)	Deg. PRO (%)	Red. UV ₂₅₄ (%)			
1	4 (-1)	50 (-1)	4,54	10,09	21,7	86,1	47,7			
2	4 (-1)	150 (1)	13,9	89,9	99,1	98,1	64,2			
3	10 (1)	50 (-1)	5,44	65,4	11,7	66,1	12,1			
4	10 (1)	150 (1)	11,4	96,7	87,9	86,0	48,0			
5	2,8 (-1,41)	100 (0)	17,5	25,3	66,5	99,7	41,9			
6	11,2 (1,41)	100 (0)	7,03	49,4	36,7	54,1	10,2			
7	7 (0)	29,3 (-1,41)	3,37	14,9	25,1	60,1	7,0			
8	7 (0)	170,7 (1,41)	11,6	69,2	94,7	99,5	53,7			
9 (C)	7 (0)	100 (0)	8,08	84,6	81,5	81,4	56,5			
10 (C)	7 (0)	100 (0)	9,88	88,4	83,7	81,6	67,2			
11 (C)	7 (0)	100 (0)	9,30	85,8	74,8	80,5	44,4			

Poucos trabalhos investigam a aplicação de Fe(VI) em meio ácido, assim, o intervalo de pH de 2,76 a 11,24 foi escolhido por abranger de reações de maiores a menores potenciais de oxidação da espécie Fe(VI) ($\approx 1,8 - 0,8$ eV) (Graham et al., 2004).

Como β -bloqueadores são encontrados em ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$, decidiu-se trabalhar com concentrações próximas as encontradas em Efluentes Hospitalares, deste modo decidiu-se trabalhar com concentração inicial de $200 \mu\text{g L}^{-1}$. Assim, os resultados encontrados podem ser transferidos para casos reais de tratamento de contaminantes emergentes em EH.

Observando os resultados na Tabela 16 nota-se que a oxidação-coagulação do EH alcançou o máximo de 17,54% de remoção da DQO em pH ácido. Embora a remoção da DQO do efluente tenha ficado abaixo de 20%, analisando a degradação individual de cada β -bloqueador nota-se que o processo alcançou acima de 90% de degradação, ou seja, mesmo em efluentes de alta complexidade como efluente hospitalar, Fe(VI) atua como eficiente oxidante-coagulante para a remoção de microcontaminantes como fármacos.

Ainda, a redução alcançada para a banda UV_{254} de 67% demonstra que boa parte dos anéis aromáticos presentes no efluente foi degradada, ou seja, Fe(VI) é, também, capaz de degradar estruturas complexas e estáveis como anéis aromáticos concordando com Li et al. (2008).

11.2.3 Ajuste do modelo e análise estatística

A replicata do ponto central evidencia que o erro puro do processo foi baixo. A replicata da redução da DQO mostra diferença de apenas 2%, enquanto que para os compostos individuais ficou em 3,79 e 1,15% para ATE e PRO, respectivamente. Apenas MET apresentou erro puro elevado de 8,86%, indicando que MET foi mais suscetível a pequenas variações experimentais.

O diagrama de Pareto (Figura 91) mostra o efeito das variáveis de processo sobre a eficiência do mesmo com 95% de confiança. Como pode ser observado, a variável de maior influência foi a concentração de Fe(VI). O pH exerceu influência sobre a degradação de MET e PRO.

De acordo com o diagrama de Pareto, as equações quadráticas de regressão para o modelo de respostas está representado nas Equações 34-38.

$$\text{Red}_{DQO}(\%) = 6,232 + 0,1912X_2 \quad (34)$$

$$\text{Deg}_{ATE}(\%) = -205,935 + 40,089X_1 + 2,287X_2 \quad (35)$$

$$\text{Deg}_{MET}(\%) = -85,12 + 19,958X_1 - 1,600X_1^2 + 1,461X_2 \quad (36)$$

$$\text{Deg}_{PRO}(\%) = 95,95 - 4,272X_1 + 0,065X_2 \quad (37)$$

$$\text{Red}_{UV_{254}}(\%) = -20,829 + 10,327X_1 + 0,80X_2 \quad (38)$$

Onde X_1 e X_1^2 representa as variáveis linear e quadrática para o pH e X_2 e X_2^2 as variáveis linear e quadrática para [Fe(VI)]. O coeficiente de regressão de cada modelo foi

0,8442; 0,8448; 0,9537; 0,889 e 0,844 para Red_{DQO} , Deg_{ATE} , Deg_{MET} , Deg_{PRO} e Red_{UV254} , respectivamente. Apesar da complexidade do efluente tratado as equações de regressão explicam bem os modelos de degradação em EH.

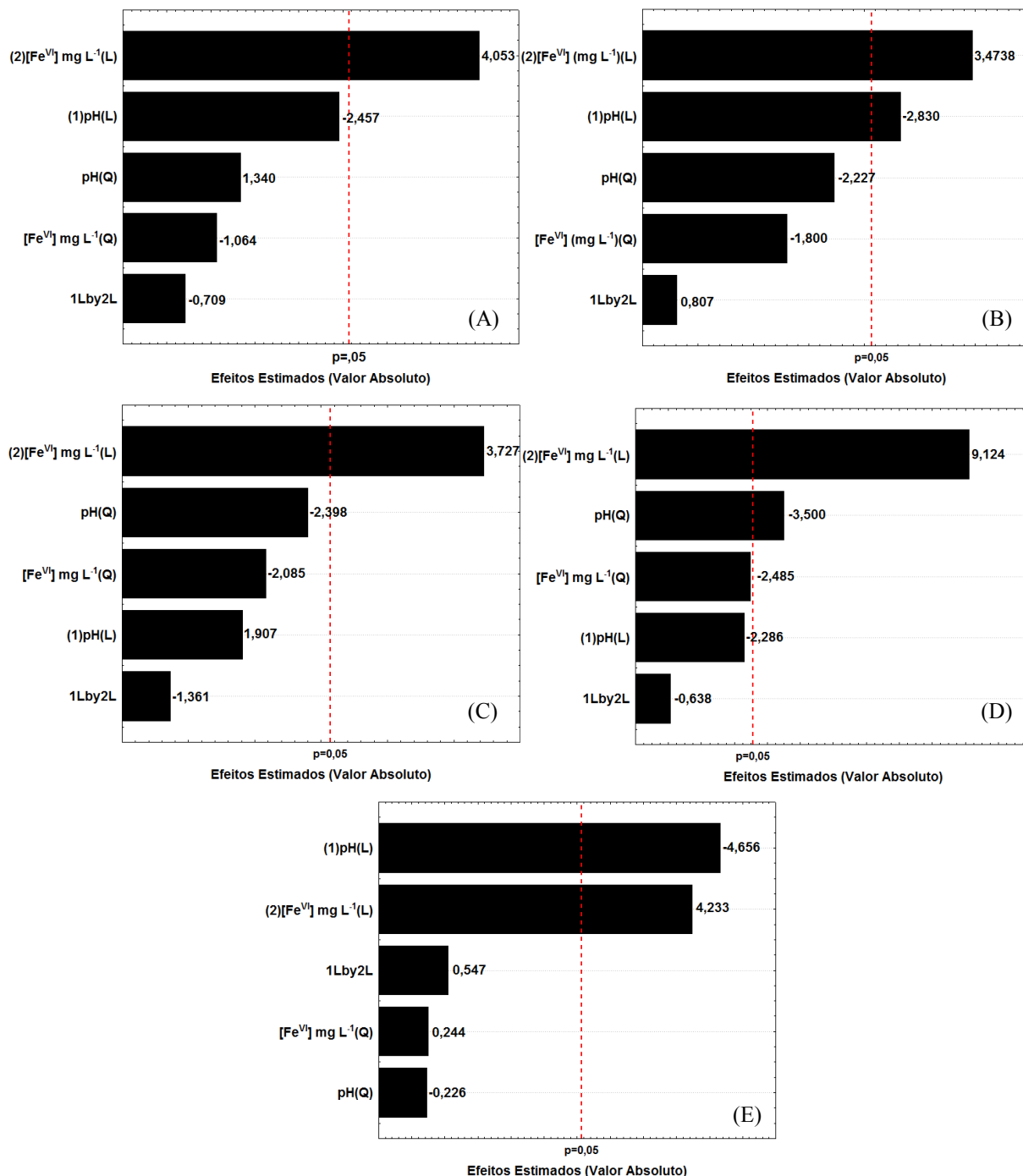


Figura 91. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) para a oxidação-coagulação com Fe(VI). Redução de (A) DQO e (B) UV₂₅₄ e Degradação de (C) Atenolol, (D) Metoprolol, (E) Propranolol. Linha vertical no diagrama define o nível de 95% de confiança, (L) significa variável linear e (Q) significa variável quadrática.

As equações acima descritas podem muitas vezes não descrever satisfatoriamente os resultados, então, muitas vezes é necessário um modo mais confiável de avaliar o ajuste do

modelo. Uma das formas mais adequadas de se fazer isso é por meio dos resultados de ANOVA, comparando as fontes de variação com os valores do teste F de Fischer.

Este teste permite identificar se o modelo se ajusta a população de dados gerados experimentalmente. Esse teste é baseado na razão entre a soma dos quadrados (SS) da regressão do modelo pela dos resíduos. Os valores encontrados para o *F*-test foram de 5,4212; 5,4532; 20,6229; 8,0214 e 5,432 para a Red_{DQO} , Deg_{ATE} , Deg_{MET} , Deg_{PRO} e Red_{UV254} , respectivamente, maiores que a distribuição de *F* tabelado de 3,71 para 10 graus de liberdade e 95% e confiança. As tabelas de ANOVA e os gráficos de ajuste dos valores preditos e observados podem ser vistos no Apêndice H.

11.2.4 Efeito das variáveis de Processo

Por meio da análise das superfícies de resposta (representados na forma de diagrama de contorno) pode-se avaliar a interação entre as variáveis estudadas (pH vs [Fe(VI)]).

A Figura 92 (A) mostra a interação entre pH vs [Fe(VI)] para a Red_{DQO} do EH. Como pode ser observado, os melhores resultados foram alcançados em pH ácidos para concentrações elevadas de Fe(VI). Esse fato se deve ao alto potencial de oxidação de Fe(VI) em pH ácidos, uma vez que quando em pH mais ácidos Fe(VI) mostra alto grau de protonação e espécies protonadas de Fe(VI) possuem maior capacidade de oxidação (Graham et al., 2004).

A Figura 92 (B) mostra o efeito do pH e [Fe(VI)] sobre a degradação de ATE. Nesse caso as melhores condições foram encontradas em pH inicial de 7-9 para concentrações de 100 a 171 mg de Fe(VI) L^{-1} . De acordo com o efeito das variáveis sobre a degradação pode-se afirmar que ela depende principalmente da dose de Fe(VI), enquanto que o pH tem papel secundário na degradação de ATE. A maior degradação alcançada foi de 96,7% para pH inicial de 10, porém em pH inicial 4 e com a mesma dose de ferrato a degradação foi de 89,9%, ressaltando a importância da [Fe(VI)].

Uma plausível explicação pode estar relacionado ao fato de que em pH iniciais de 7-9 a molécula de ATE esta com o grupamento amina secundária predominantemente protonada ($-N(+)H-CH_3-(CH_3)_2$) enquanto que as espécies de Fe(VI) predominante nessa faixa de pH são $HFeO_4^-$ e FeO_4^{2-} . Nessas condições, ferrato possui caráter radicalar parcial ($Fe^{VI}=O \rightleftharpoons Fe^V-O\cdot$) permitindo que este seja protonado e estabilizado, aumentando sua reatividade (Sharma & Mishra, 2006; Yuan et al., 2008). Esse comportamento indica que espécies de ferrato protonadas degradam com maior eficiência espécies de ATE também protonadas.

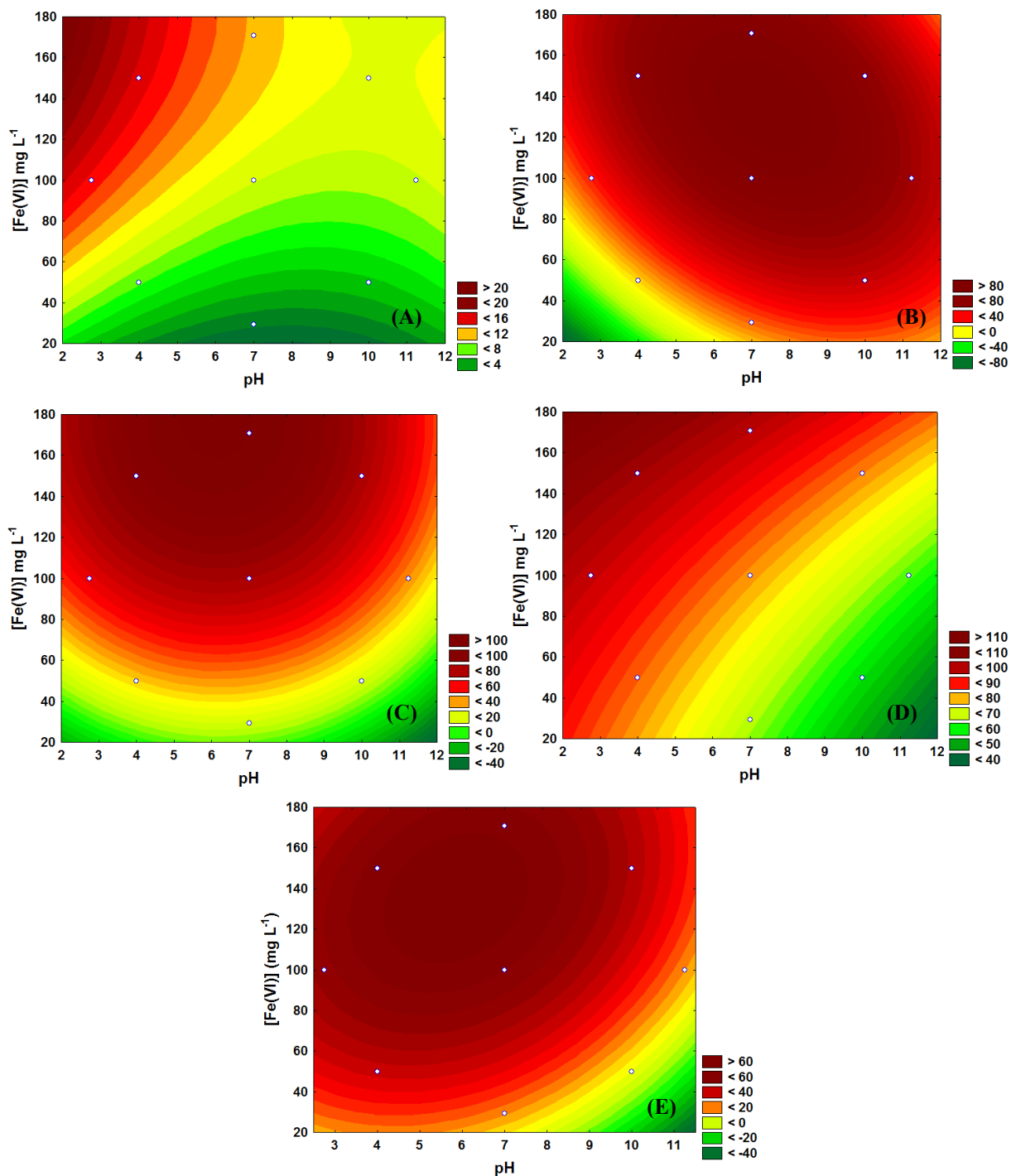


Figura 92. Diagramas de Contorno para a oxidação-coagulação de EH com Fe(VI). Condições: 800 mL, [BB]₀ 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, 120 min de tratamento. (A) Redução da DQO – pH vs [Fe(VI)] e Degradação de (B) Atenolol – pH vs [Fe(VI)], (C) Metoprolol – pH vs [Fe(VI)], (D) Propranolol – pH vs [Fe(VI)], (E) UV₂₅₄ – pH vs [Fe(VI)].

A degradação de MET (Figura 92 (C)) mostra comportamento parecido com ATE. As maiores eficiências de degradação foram alcançadas em pH inicial entre 5-7 para dosagens elevadas de Fe(VI). Para MET ambas as variáveis principais mostraram ser significativas e influenciaram na degradação. Observando o diagrama de Pareto nota-se que a variável pH

quadrática mostrou-se significativa e com sinal negativo, ressaltando que o pH alcança um máximo e depois diminui.

O perfil de desejabilidade (dados não apresentados) e a Figura 92 (C) mostram que esse máximo é em pH 7, enquanto que a variável [Fe(VI)] no diagrama de Pareto é linear, e positiva, indicando que quanto maior a concentração maior será a eficiência de degradação de MET. Assim como para ATE, MET apresenta-se o grupamento amida secundária protonado e nessas condições ferrato, também protonado como explicado acima, reage mais eficientemente com MET.

O comportamento mostrado pela degradação de PRO mostra-se diferente dos demais (Figura 92 (D)). A variável de maior influência nesse caso é o pH (linear), pois as maiores eficiências de degradação foram alcançadas em pH iniciais mais ácidos para maiores doses de Fe(VI), que também mostrou comportamento linear.

Assim como para os outros dois β -bloqueadores estudados, PRO apresenta-se protonado nessas condições, contudo a espécie de Fe(VI) predominante nas condições ótimas de pH para a degradação de PRO é a espécie H_2FeO_4 e, deste modo ferrato(VI) possui elevado potencial de oxidação e reage rapidamente com as espécies em solução além de se decompor mais rapidamente, dando início o processo de coagulação. Como PRO possui um grupamento naftaleno em sua estrutura espera-se que este seja mais estável tendendo a apenas degradar frente a oxidantes mais potentes, como caso de Fe(VI) em pH mais ácidos.

Analisando a degradação de compostos aromáticos no EH (Figura 92 (E)) na banda de absorvância de 254 nm (UV_{254}), observa-se que as maiores degradações foram alcançadas para pH ácidos a neutro e para maiores concentrações de Fe(VI). Devido a complexidade da matriz estudada é difícil estabelecer conclusivamente um plausível mecanismo de remoção de compostos aromáticos por Fe(VI). Graham et al. (2004) estudaram a degradação de fenóis e clorofenóis em função do pH e postularam que podem ocorrer distintas situações de acordo com o grau de substituição de fenóis, seu grau de dissociação e pKa.

Cabe aqui ressaltar que tanto a remoção de matéria orgânica quanto a degradação foram medidas após o pH ser ajustado para 9, onde a espécie férrica predominante é $\text{Fe}(\text{OH})_3$, de maior potencial coagulante. Nessas condições, espécies orgânicas do efluente que possuem afinidade com coloides, isto é, $\log K_{ow}$ e K_d elevado, além de outras características, como protonação, neutralidade, podem coagular formando complexos insolúveis por adsorção seguido de floculação, sendo então removidos por transferência de fase (Cheng & Chi, 2002). Assim, a coagulação é um importante mecanismo a ser considerado na interpretação do processo estudado.

O perfil de remoção da matéria orgânica do EH pode ser verificado na Figura 93. A remoção de matéria orgânica ocorre rapidamente quando o Fe(VI) é adicionado ao efluente, pois o principal mecanismo é o de oxidação seguido de diminuição na degradação devido a decomposição de $\text{Fe(VI)} \rightarrow \text{Fe(III)}$ e predominância do mecanismo de coagulação.

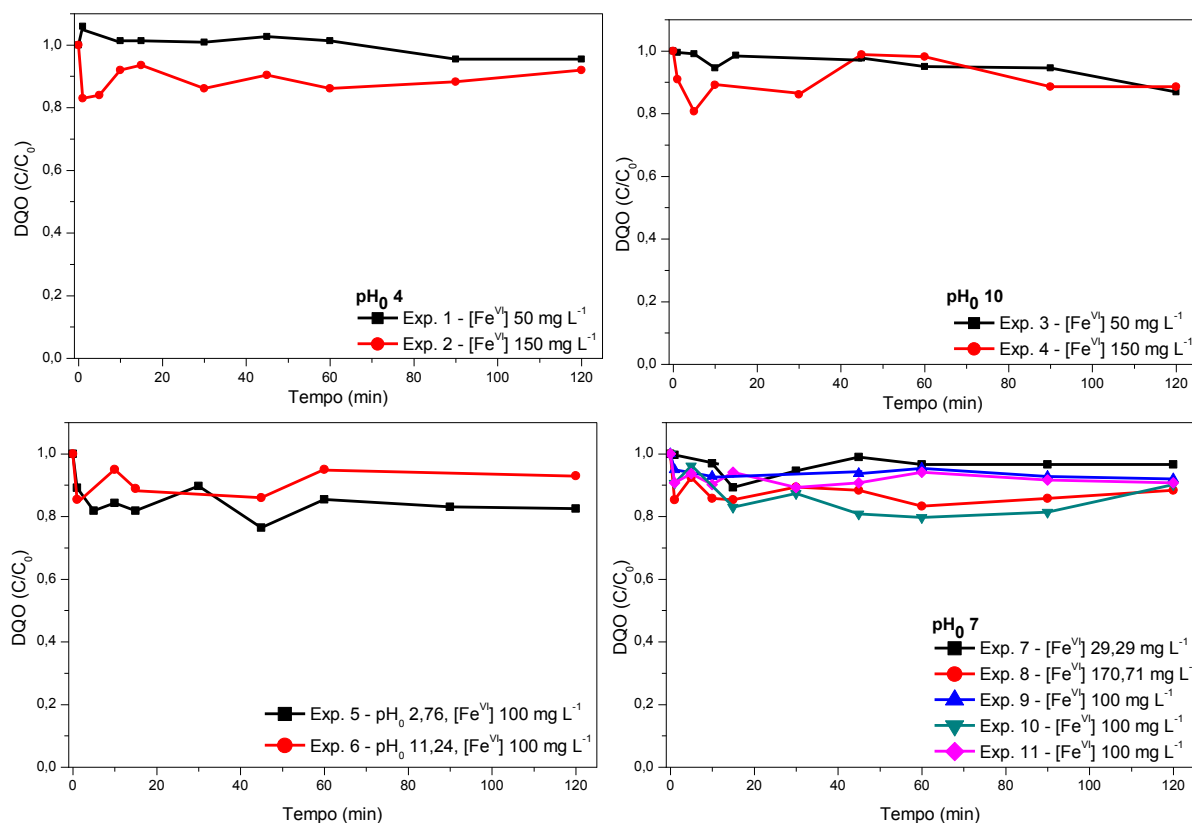


Figura 93. Remoção da DQO em EH por oxidação-coagulação com Fe(VI). Condições: 800 mL, $[\text{BB}]_0$ 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, Temp. 20 ± 3 °C, 120 min.

O perfil de degradação dos β -bloqueadores pode ser observado na Figura 94. A degradação ocorre rapidamente quando o Fe(VI) é adicionado ao EH seguido de uma gradual, mas lenta, degradação. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO por processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) pode ser observado no Apêndice I (Figura 170).

Em pH ácidos pode ser observado que a reação de degradação ocorre rapidamente dentro de 1 min estabilizando-se posteriormente. Esse fato está correlacionado à decomposição de $\text{Fe(VI)} \rightarrow \text{Fe(III)}$, que em pH ácidos ocorre rapidamente e, conseqüentemente, o processo de oxidação segue o mesmo comportamento. Nessas condições Fe(VI) possui elevado potencial de oxidação que leva a rápidas reações de oxidação-redução com contaminantes e com meio aquoso produzindo oxigênio e oxi-hidróxidos de Fe(III), conforme Reação 17 (pág. 121) (Graham et al., 2004).

Como pode ser ainda observado na Figura 94, após os primeiros minutos de processo, ocorre uma variação na concentração, essa variação está relacionada principalmente ao processo de coagulação que, após a decomposição de $\text{Fe(VI)} \rightarrow \text{Fe(III)}$ torna-se o principal mecanismo no processo. O mesmo comportamento foi encontrado para o tratamento apenas em solução aquosa que será discutido nas próximas seções.

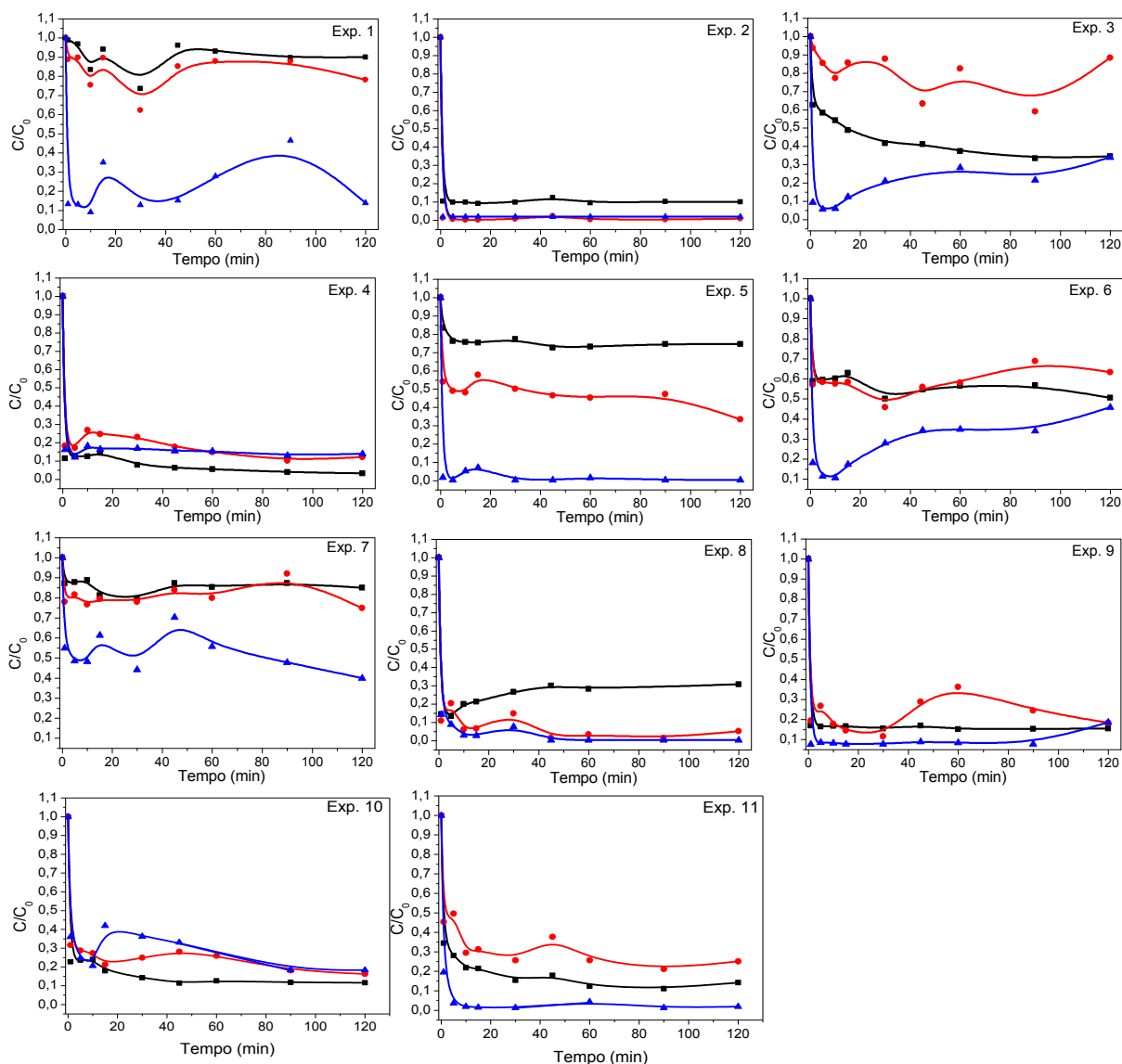


Figura 94. Degradação de β -bloqueadores (■) Atenolol, (●) Metoprolol e (▲) Propranolol em EH por oxidação-coagulação com Fe(VI) . Condições: 800 mL, $[\text{BB}]_0$ $200 \mu\text{g L}^{-1}$, Temp. $20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, 120 min.

O comportamento oscilatório da concentração pode estar relacionado à adsorção-desorção no processo de coagulação, porém como a concentração de ATE, MET e PRO no lodo gerado não foi avaliada essa ocorrência não pode ser afirmada categoricamente. Um rápido decaimento seguido de um aumento na concentração foi observado em particular para PRO nos experimentos em pH alcalino (Exp. 3 – pH_0 10 e Exp. 6 – pH_0 11,24). Esse comportamento pode estar relacionado ao fato que a espécie predominante de PRO nessas

condições é a espécie neutra (Figura 2) com $\log K_{ow} = \log D_{ow} = 3,48$ (Tabela 2) e nessas condições PRO possui a tendência de adsorver-dessorver em coloides formados pelo processo de coagulação.

Posto que o pH possui importante papel no processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) acompanhou-se o perfil do pH durante o processo, o que pode ser observado na Figura 95. O perfil do pH apresentado foi de elevação em 1 ou 2 unidades durante o processo, evidenciando o concomitante comportamento descrito acima de oxidação-redução. Comportamento semelhante também foi encontrado por Xu et al. (2009) na degradação de corante vermelho brilhante X-3B.

Cabe aqui também ressaltar que no presente estudo não foram usados tampões para controle do pH, uma vez que o objetivo foi avaliar a aplicação de Fe(VI) em escala natural de tratamento de efluente, postulando que, em escala real de tratamento de efluente, após tratamento por Fe(VI) o pH deve ser reajustado para o pH ideal do processo biológico, quando este for pós oxidação-coagulação, ou de lançamento em águas naturais, quando Fe(VI) for usado como tratamento final.

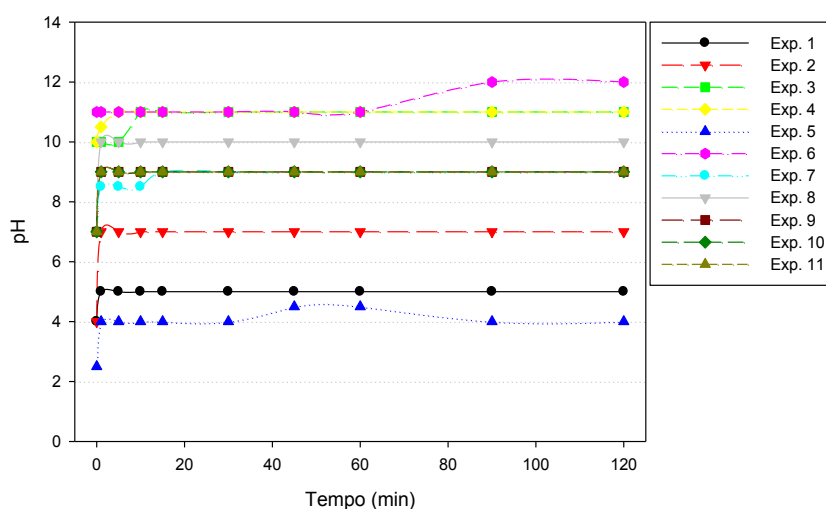


Figura 95. Evolução do pH durante o processo de oxidação-coagulação de EH com Fe(VI).

11.2.5 Oxidação-coagulação de β -bloqueadores com Fe(VI) em solução aquosa

Conforme posto na seção anterior, a dosagem de Fe(VI) mostrou-se o mais importante fator na degradação de BB. Deste modo, a simulação de experimento em solução aquosa foram simulados em duas diferentes razões de $[BB]:[Fe(VI)]$ de 1:1 e 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹ com pH inicial de 7. De modo a possibilitar a medida de remoção da matéria orgânica dos β -

bloqueadores, a concentração inicial estudada foi de 10 mg L^{-1} . Essa concentração inicial é equivalente a $\text{ATE}_{\text{ThDOC}} = 6,308$, $\text{MET}_{\text{ThDOC}} = 5,462$ e $\text{PRO}_{\text{ThDOC}} = 7,40 \text{ mg de C L}^{-1}$.

Observando a Figura 96 (A e B) pode ser observado que PRO foi o mais suscetível a degradação por Fe(VI) em ambas as razões estudadas, enquanto que MET mostrou-se menos suscetível ao tratamento. A degradação de BB em solução aquosa apresentou o mesmo perfil encontrado para a degradação em efluente real, com rápida degradação no começo do processo seguido de uma lenta degradação. Desta forma, a concentração de Fe(VI) mostrou-se o reagente limitante do processo, pois uma vez consumido a reação prosseguiu lentamente, como pode ser observado, principalmente para ATE e MET.

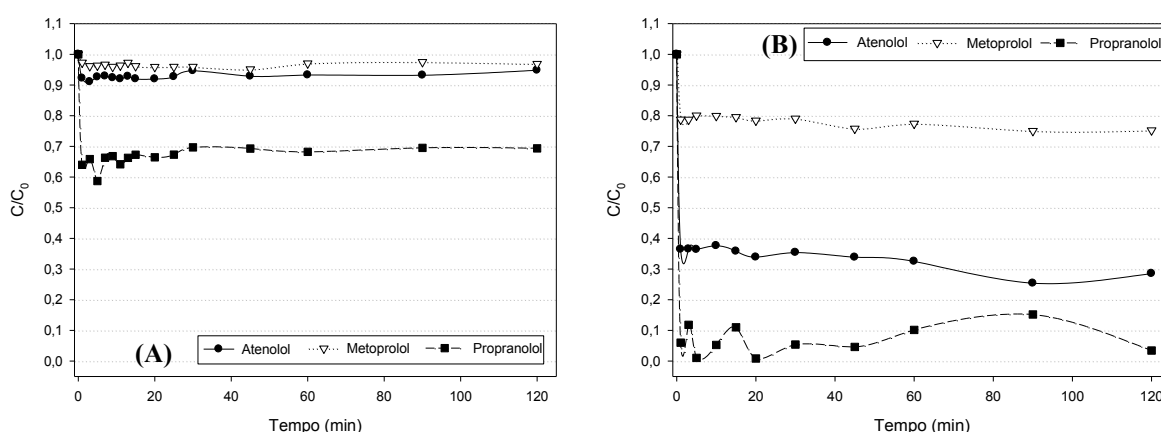


Figura 96. Degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol por oxidação-coagulação de com Fe(VI) em solução aquosa. (A) $[\text{BB}]:[\text{Fe(VI)}] 1:1 \text{ mol L}^{-1}:\text{mol L}^{-1}$ e (B) $[\text{BB}]:[\text{Fe(VI)}] 1:10 \text{ mol L}^{-1}:\text{mol L}^{-1}$. Condições iniciais: pH 7, $[\text{BB}]_0 10 \text{ mg L}^{-1}$; Temp. $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

Após 120 min de tratamento as eficiências de remoção para ATE foi de 5,2 e 71,74%, para MET foi de 3,13 e 24,76% e PRO 30,64 e 96,55% para as razões de 1:1 e 1:10, respectivamente. Uma possível explicação para a suscetibilidade dos β -bloqueadores a tratamento por Fe(VI) pode estar correlacionado as suas diferentes estruturas.

PRO apresenta um grupamento naftaleno, que embora tendam a ser de difícil degradação, possui maior densidade de elétrons para ataque parcial radicalar de ferrato ($\text{Fe}^{\text{VI}}=\text{O} \rightleftharpoons \text{Fe}^{\text{V}}-\text{O}\cdot$), enquanto ATE e MET apresentam grupamento fenólico substituído na posição *p*. MET mostra-se menos reativo com Fe(VI) comparado a ATE pois possui grupamento fracamente doador de elétrons $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2-$ na cadeia lateral enquanto Atenolol possui grupamento $\text{NH}_2\text{C}(\text{O})\text{CH}_2-$ com maior densidade de elétrons.

A evolução do pH durante os experimentos (Figura 97 (A) e (B)) mostrou o mesmo comportamento apresentado quando o processo foi aplicado a EH. Pode-se observar que quando a razão usada foi de 1:1 $[\text{BB}]:[\text{Fe(VI)}]$ (Figura 97 (A)) houve elevação do pH, evidenciando a reação de Fe(VI) com H_2O (Reação 12) e posterior decaimento demonstrando

a possível formação de ácidos orgânicos intermediários. Comportamento inicial semelhante foi observado quando se usou razão de 1:10 de [BB]:[Fe(VI)] (Figura 97 (B)), porém como pode ser observado, não houve posterior decaimento indicando que a formação de ácidos orgânicos foi insuficiente para alterar o pH.

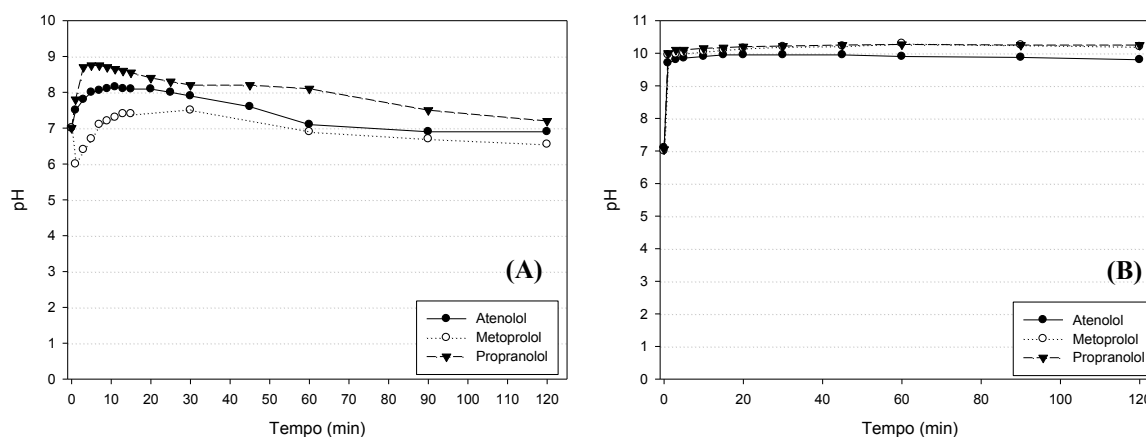


Figura 97. Evolução do pH durante o processo de oxidação-coagulação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em solução aquosa com Fe(VI). (A) [BB]:[Fe(VI)] 1:1 mol L⁻¹, (B) [BB]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹.

A avaliação da mineralização dos β -bloqueadores na diferentes razões estudadas, 1:1 e 1:10 [BB]:[Fe(VI)], respectivamente, foi feita por NPOC e pode ser observado na Figura 98 (A) e (B). Como pode ser visto, praticamente não houve mineralização em solução aquosa (água ultra pura), ou seja, os β -bloqueadores foram apenas transformado a PDs.

Esse comportamento singular foi apenas observado no presente estudo e implica que Fe(VI) apenas oxida parcialmente os compostos de partida, mas não possui capacidade de mineralizá-los em meio aquoso. Nestas condições os experimentos conduzidos em EH a remoção de matéria orgânica alcançada foi de 17,54%, a não mineralização em solução aquosa pode estar na ausência de íons coexistentes em solução, pois os experimentos foram conduzidos em solução aquosa na ausência de tampões, que facilitam a formação de colóides e consequentemente o mecanismo de coagulação-sedimentação não esteve presente no processo.

Li et al. (2008) estudaram a degradação do disruptor endócrino Bisfenol A e alcançaram de 40-80% de mineralização em 10 min de processo para diferentes razões de [Bisfenol]:[Fe(VI)] 1:1 a 1:5. Zhang et al. (2012) também estudaram a degradação de Bisfenol A, porém em condições ácidas (pH 5,5), e alcançaram mineralização de 50% em 60 min de tratamento para a razões de [Bisfenol]:[Fe(VI)] 1:4. Xu et al. (2009) estudaram a degradação de corante vermelho brilhante X-3B por Fe(VI) com mineralização de 42% em 60 min de processo.

Para a interpretação dos resultados de reações de Fe(VI) em solução aquosa e sem uso de tampões para controle de pH, é necessário verificar que Fe(VI) sofre simultaneamente reações de redução-oxidação com água e compostos orgânicos e, subseqüentemente, com PDs. Assim, o grau de reação com tais compostos sofre influência da taxa de decomposição de Fe(VI) em solução aquosa.

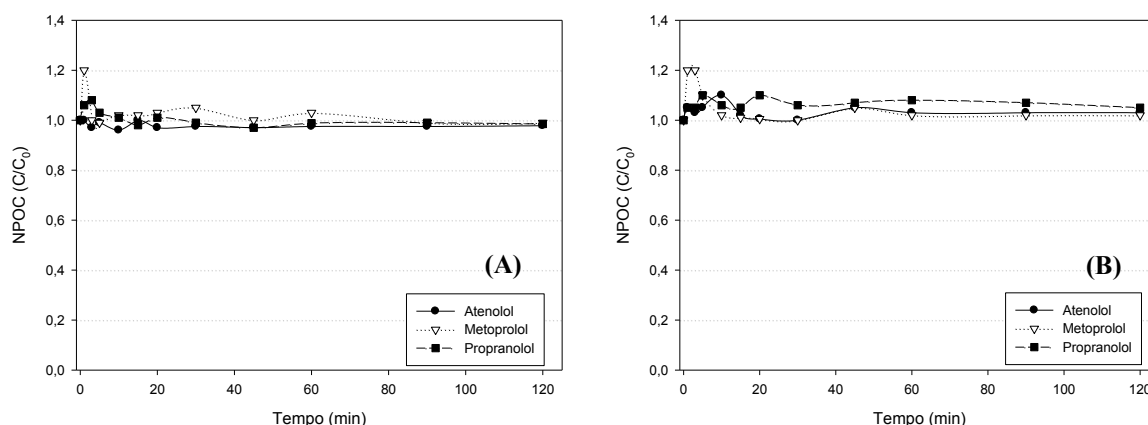


Figura 98. Acompanhamento de NPOC de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em solução aquosa por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) [BB]:[Fe(VI)] 1:1 mol L⁻¹:mol L⁻¹ e (B) [BB]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹. Condições iniciais: [BB] 10 mg L⁻¹; pH 7, [BB]₀ 10 mg L⁻¹; Temp. 20 ± 1 °C.

Em geral, as reações de ferrato(VI) com espécies dissolvidas têm sido citadas como de natureza específica, segunda ordem para Fe(VI) e o composto a ser degradado (Li et al., 2008). Além disso, a redução de Fe(VI) conduz a formação de espécies férricas dependentes do pH, que podem ter a capacidade de adsorver compostos orgânicos e removê-los da solução. Todos esses fenômenos são dependentes do pH do meio e um modelo para prever o tratamento de contaminantes emergentes não é simples, especialmente devido a fármacos que possuem diferentes características em função do pH.

Uma avaliação da cinética da reação entre Fe(VI) e ATE, MET e PRO foi modelada (dados não apresentados), porém como a degradação ocorre rapidamente entre 0 e 1 min de processo (Figura 96) e como não há pontos amostrais entre esse intervalo de tempo, a determinação da k_{obs} tornou-se imprecisa.

11.2.6 Elucidação estrutural dos PDs de Atenolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)

Os PDs da oxidação-coagulação de Atenolol por Fe(VI) na razão 1:1 e 1:10 foram analisados por LC-MSⁿ seguindo o método descrito na seção 10.2.1.6. O TIC da Figura 99 mostra claramente a formação de PDs durante a oxidação-coagulação de ATE com Fe(VI) na razão 1:10 (1:1 dados não apresentados). Por EIC foram identificados 12 PDs, que posteriormente foram isolados, ativados e fragmentados por MRM.

Os PDs identificados, juntamente com os principais fragmentos, podem ser observados na Tabela 17.

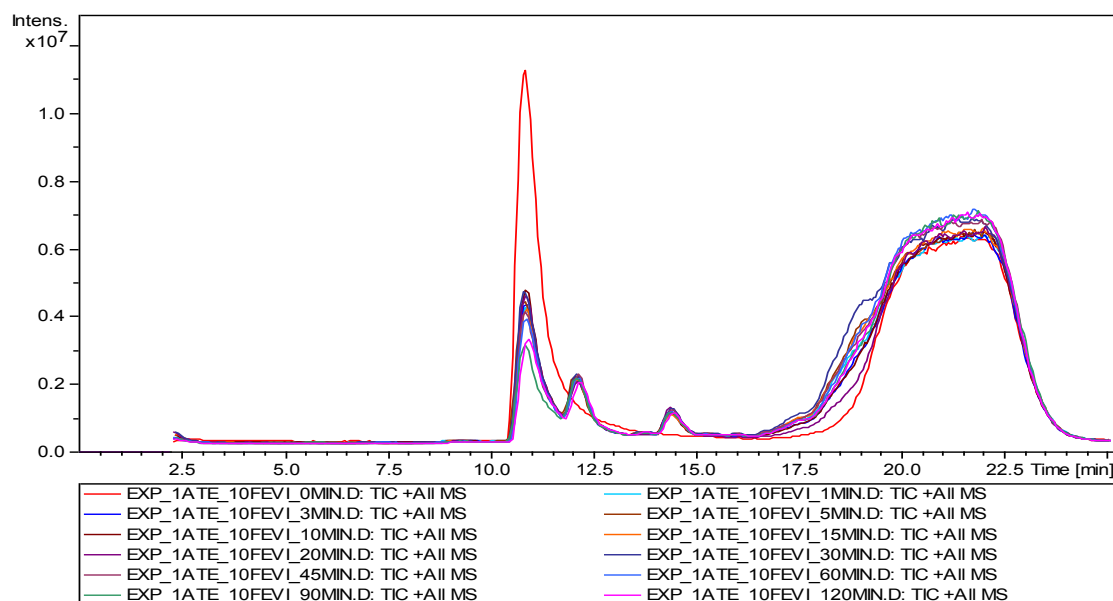


Figura 99. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Atenolol pelo processo oxidação-coagulação com Fe(VI) em solução aquosa (água Ultra pura) por LC-MS. Condições iniciais: [BB] 10 mg L⁻¹, pH 7, [ATE]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹, Temp.20 ± 1 °C.

Foram encontrado 4 PDs com íon molecular $[M+H]^+$ de m/z maior que ATE. Os PDs de m/z 419 e 387 mostram evidências de dimerização de alguns produtos de degradação. Tais dímeros foram encontrados apenas quando o processo foi conduzido em excesso de Fe(VI) (1:10 [ATE]:[Fe(VI)]) e serão discutidos a seguir.

Tabela 17. Produtos de degradação de ATE identificados por LC-MS-MS para o processo de oxidação-coagulação com Fe(VI).

PD	tr (min)	Fórmula Molecular	ESI(+) MS m/z ^a	ESI(+) MS ² m/z (% relativa)
PD 419	14,3	C ₂₂ H ₃₀ N ₂ O ₆	419,0 ^c	401,2 (3,44), 300,5 (3,33), 209,9 (100), 182,0 (13,44), 164,0 (4,99), 146,9 (4,86)
PD 387	12,1	C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₄	387,0 ^c	371,1 (63,52), 342,0 (9,05), 289,0 (2,38), 193,9 (100), 175,9 (33,29), 131,0 (47,53)
PD 327	14,5	C ₁₇ H ₃₀ N ₂ O ₄	327,2 ^c	309,9 (11,21), 279,1 (2,13), 267,8 (3,88), 253,8 (3,00), 236,9 (100), 221,8 (2,00), 193,8(3,00), 132,0 (2,90)
PD 283	13,6	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₄	283,2 ^{b,c}	265,1 (100), 247,1 (38,39), 205,0 (7,94), 176,9 (10,06), 135,0 (13,26), 116,0 (38,0), 95,1 (7,32)
PD 225	7,4	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O ₃	225,1 ^{b,c}	207,0 (21,01), 189,0 (17,66), 164,9 (100), 147,0 (6,16), 121,0 (20,08)
PD 210	14,4	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	210,2 ^{b,c}	191,9 (13,24), 181,9 (100), 164,0 (38,23), 152,0 (16,26), 147,0 (15,16), 121,0 (4,45)
PD 208	11,4	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	207,8 ^{b,c}	191,9(14,77), 181,9 (100), 164,0 (42,33), 151,9(14,79), 121,0 (4,41)
PD 194	12,1	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	194,0 ^c	175,9 (100), 144,9 (3,63), 131,0 (60,42), 107,0 (2,86), 89,1 (2,96)
PD 182	14,4	C ₁₀ H ₁₅ NO ₂	182,1 ^c	163,9 (5,55), 151,9 (100), 107,1 (5,72)
PD 152	11,8	C ₈ H ₆ NO ₂	152,2 ^{b,c}	NF
PD 134	2,7	C ₆ H ₁₅ NO ₂	134,1 ^b	116,1 (100), 92,2 (42,37), 74,3 (32,50), 56,4 (16,75)
PD 132	12,1	C ₅ H ₁₃ NO ₂	131,8 ^c	113,9 (62,90), 100,1 (19,72), 86,3 (33,96), 57,2 (100)

^a Valores de m/z mostrados são para o íon molecular protonado $[M+H]^+$; ^b Identificado em experimento na razão 1:1 [ATE]:[Fe(VI)]; ^c Identificado em experimento na razão 1:10 [ATE]:[Fe(VI)]; NF – Não Fragmentado;

O PD 283 identificado na degradação por ferrato possui o mesmo perfil de fragmentação do PD de mesma m/z encontrado no processo de Foto-Fenton, UV/H₂O₂ e

UV/Fe²⁺. Portanto, pode-se concluir que ferrato também reage por abstração de hidrogênio. Ferrato oxida o anel aromático gerando um radical fenoxila (C₆H₅-O·), que é estabilizado por ressonância do anel aromático, e Fe(V) em uma primeira etapa, com posterior formação de grupamento hidroxila. Lee et al. (2008) encontraram o mesmo comportamento na degradação de 17 α -etinilestradiol com inicial hidroxilação do anel aromático e posterior formação de benzoquinonas.

No presente estudo, para a oxidação-coagulação de ATE por Fe(VI) na razão de 1:1, respectivamente, foram identificados dois picos para o PD 283 com diferentes tempos de retenção de 9,4 e 13,9 min, respectivamente. Enquanto que para o processo conduzido na razão de 1:10 de ATE e Fe(VI) foi identificado apenas um pico com tempo de retenção de 13,6 min. Por meio da análise do perfil de fragmentação não foi possível verificar diferenças na estrutura entre fenol e benzoquinona.

De acordo com Rush & Bielski (1989) a decomposição de Fe(VI) em meio aquoso conduz a formação de intermediários, tais como Fe^V, Fe^{IV}, H₂O₂ e complexos de íons férricos. Além disso, Rush & Bielski (1989) citam trabalho de Carr et al. (1985) (referência não encontrada) que em estudo sobre a decomposição de ferrato(VI) em meio aquoso na presença de 1,10-fenantrolina detectaram a presença de íons ferrosos.

Esse fato evidencia que podem ocorrer reações *Fenton-like* e geração de espécies radicalares como HO·. Ademais, durante a decomposição de Fe(VI) em meio aquoso há produção de oxigênio molecular em uma série de reações baseadas em radicais livres, conforme Reações 21-24.

Mais recentemente, Zhang et al. (2012) assumiu que há formação de HO· para a formação de H₂O₂. Portanto, no presente estudo também se considerará a formação de radicais hidroxila e a reatividade do mesmo como um oxidante deste processo, além de Fe(VI). Assim, a formação do PD 283 pode estar relacionado tanto ao ataque pelo íon ferrato quanto pela formação de radicais hidroxila.



Outra característica de PDs envolvendo Fe(VI) como oxidante é formação de quinonas a partir do anel aromático. Lee et al. (2008) reportaram a formação de quinonas como PDs de 17 α -etinilestradiol pela formação de um radical fenoxila por reação com Fe(VI) e posterior formação de benzoquinona pela reação com outro íon Fe(VI) ou, mesmo, Fe(V).

Sharma et al. (2006) reportaram para sulfametoxazona a formação de grupamento nitroso em aminas terminais. Deste modo, para o PD de íon molecular $[M+H]^+$ de m/z 327,2 (PD327) o presente estudo sugere que possa ter ocorrido ambos mecanismos simultaneamente sobre a molécula de ATE. O perfil de fragmentação e o caminho de fragmentação proposto para o PD 327 podem ser observados na Figura 100.

O fragmento de m/z 309,9 caracteriza a molécula pela perda de H_2O , enquanto que a m/z 279,1 (Perda Neutra Constante de 48,1 Da) caracteriza a perda de NO_2 . O fragmento de m/z 132 infere que a cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi permaneceu intacta. Para uma melhor caracterização do PD 327, isolou-se, ativou-se e fragmentou-se o íon precursor de m/z 236,9. Os fragmentos encontrados por MS^3 foram 221,1 que caracteriza a perda de H_2O ou NH_3 , 194,0 resulta da clivagem de $CH_2CH=O$; 150,7 pela clivagem concomitantemente de $C=O$ e $NH_2CH_2CH(OH)CH_2$.

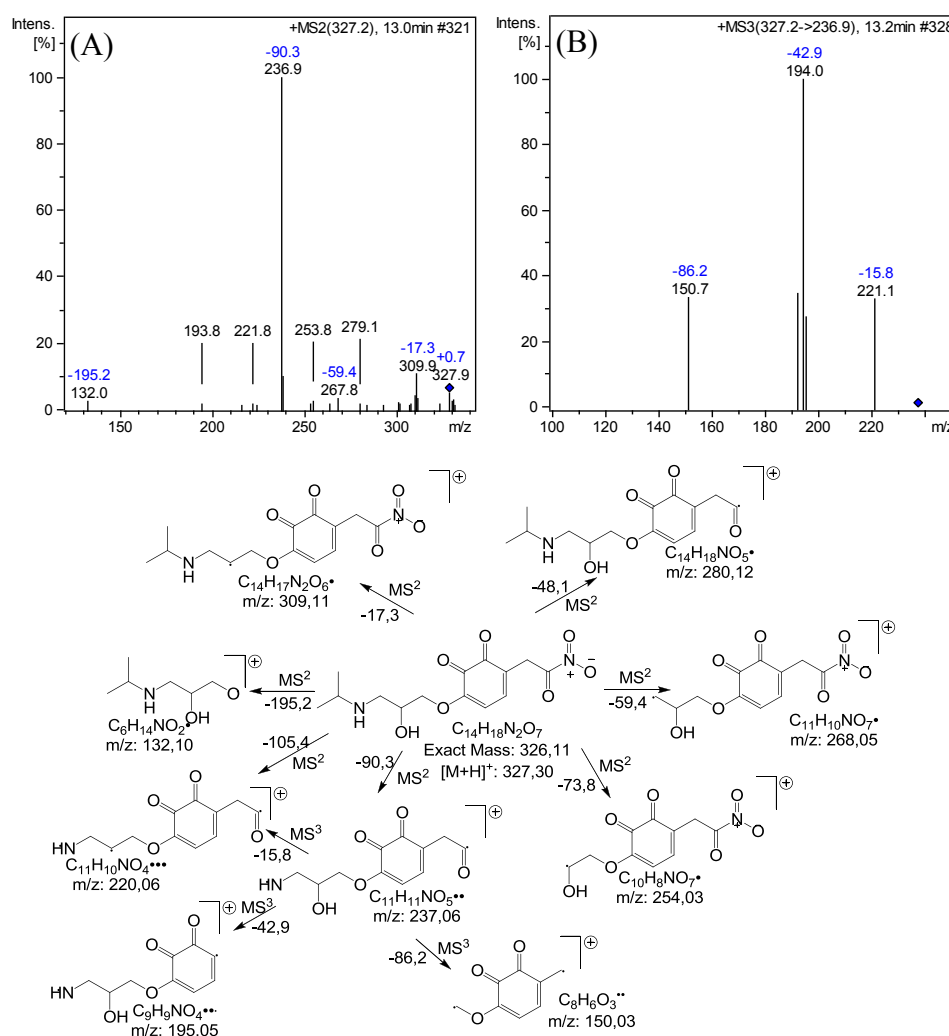


Figura 100. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 327. (A) MS^2 de m/z 297,2 e (B) m/z 327,2 \rightarrow 236,9 MS^3 .

Foram também encontrados 8 PDs com íon molecular $[M+H]^+$ de m/z menor que ATE, indicando a degradação e a formação de compostos de cadeia menor. O PD de m/z 225 (PD 225) indica a perda de 44 Da e poderia estar relacionado à perda do grupamento isopropila ou do grupamento acetoamida.

Por meio da análise do perfil de fragmentação por MS^2 (Figura 101) fica claro que a perda ocorreu no grupamento 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, pois este não apresenta os fragmentos típicos deste grupamento (m/z 132, 116, 72). Observando o perfil de fragmentação pode-se ainda verificar a perda de 18 Da relacionado a H_2O . O fragmento de m/z 164,9, mais intenso encontrado, foi isolado, ativado e novamente fragmentado para MS^3 (dados não apresentados).

Os fragmentos resultantes foram m/z 120,9 e 93,2, fragmentos iguais aos encontrados por MS^2 , reafirmando a estrutura proposta. O PD 225, com a mesma estrutura, também foi citado como PD de processo de ozonização de ATE em meio alcalino (Tay et al., 2011).

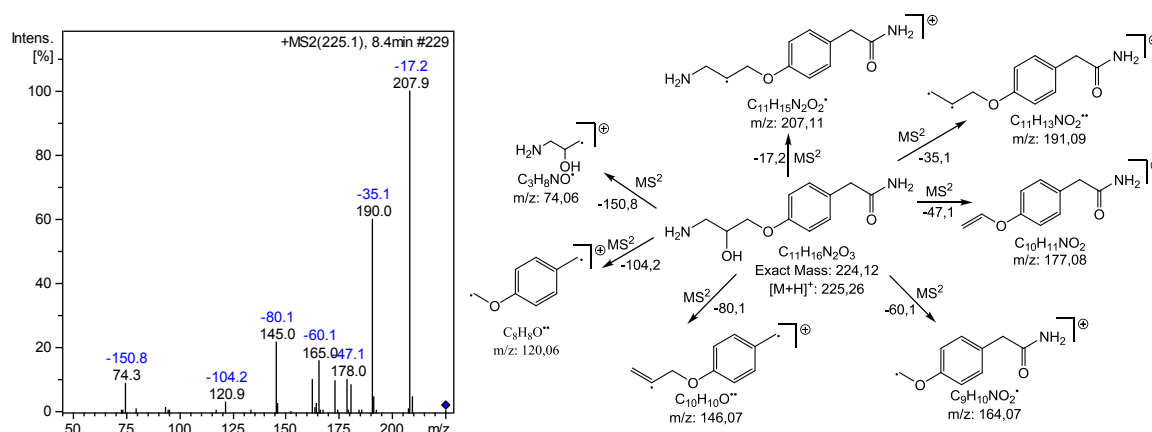


Figura 101. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 225.

O PD 225 foi encontrado em ambas as razões estudadas 1:1 e 1:10. Embora o pH inicial tenha sido ajustado para 7, como descrito anteriormente houve evolução do pH para pH alcalinos (8-10) em ambos processos (Figura 95) e, ainda, conforme Figura 2 (A), nesse intervalo de pH há predominância da espécie ATE neutra, ou seja, a estrutura esta rica em elétrons (do inglês, *electron-rich organic moiety* – ERM) e, deste modo, a reação na amina secundária do grupamento $-NH-CH(CH_3)_2$ é favorecida (Lee & Gunten, 2009).

Observando o acompanhamento da área do PD 225 em função do tempo de tratamento (Figura 108), nota-se que quando o processo foi conduzido na razão 1:1 [ATE]:[Fe(VI)] este foi o PD com maior área relativa encontrado, enquanto que para o processo foi conduzido na razão 1:10 [ATE]:[Fe(VI)] este PD foi encontrado com área relativa menor, o que pode estar relacionado à transformação do mesmo em outros PD, como o PD 210.

Produto de degradação de m/z 210 identificado apresenta a perda de 58 Da em relação ao ATE e 16 Da em relação ao PD 225. Para o PD 210, o presente estudo propõe que ele é resultante da degradação tanto da molécula de ATE, quanto do PD 225.

Inicialmente pode ser proposto duas estruturas isoméricas com a fórmula molecular $C_{11}H_{15}NO_3$, onde para a primeira estrutura inicialmente proposta, a perda de 58 Da ocorreu do grupamento $-NH-CH(CH_3)_2$ da molécula de ATE, enquanto que a segunda estrutura proposta pode ter ocorrido a perda do grupamento $-CH(CH_3)_2$, da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, e a perda de $-NH_2$, do grupamento acetoamida, tanto a partir da molécula de ATE, quanto do PD 225.

A partir da análise do perfil de fragmentação para o PD 210 (Figura 102) observa-se o fragmento mais intenso de m/z 182, que remete a perda de 28 Da e está relacionado à clivagem de $C=O$, que somente foi encontrado para a segunda estrutura proposta, ou seja, é plausível que o PD 210 proposto se forme então da perda do grupamento isopropila e pela formação de um intermediário nitroso seguido da perda de NO_2 do grupamento acetoamida terminal.

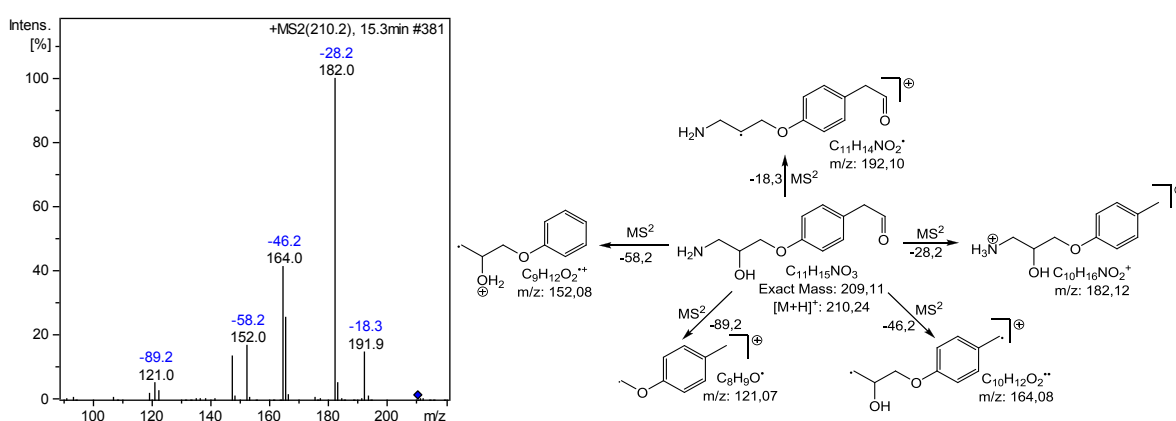


Figura 102. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 210.

Além disso, o grupamento amina de ATE encontra-se neutro no intervalo de pH estudado (7-10), enquanto que a distribuição das espécies do PD 225 em função do pH, (dados não apresentados, gerados por Calculator Plugins de propriedades químicas, Marvin 5.4, 2010, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>)), propõe para o intervalo de pH experimental, que a maioria das espécies do PD 225 encontram-se com o grupamento $-NH_3$ protonado desfavorecendo a reação nesse grupamento terminal.

O PD 210 pode ter ainda dimerizado dando origem ao PD 419 (Figura 103). Analisando o perfil de fragmentação, observa-se o fragmento de m/z 209,9 de maior intensidade (que indica a perda de 209,1 Da), além de outros fragmentos iguais aos

apresentados pelo PD 210. Para maior esclarecimento da estrutura proposta para o PD 419 isolou-se e fragmentou-se o pico de maior intensidade (m/z 209,9) para MS^3 e os mesmos fragmentos encontrados para o PD 210 (m/z : 192,1, 182,0, 164,1 e 152,0) foram obtidos. Esse fenômeno foi apenas observado quando a degradação foi conduzida com excesso de Fe(VI) em relação a ATE (1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹), dando evidências que dimerização somente ocorre em meios mais oxidativos.

Formação de dímeros em processos de degradação de fármacos por Fe(VI) foi recentemente citado por Yang et al. (2011) para a degradação do fármaco triclosan. Os dímeros formaram-se a partir da formação de radicais fenoxila com triclosan ou, mesmo, com outros intermediários formados pela degradação com Fe(VI). Em outro estudo, Huang et al. (2001) propuseram a formação de um dímero com ligação azo por meio da formação de radical anilina (C₆H₅N(H)·) para a degradação de anilina por Fe(VI) e posterior dimerização através de mecanismo associativo com formação de azobenzeno.

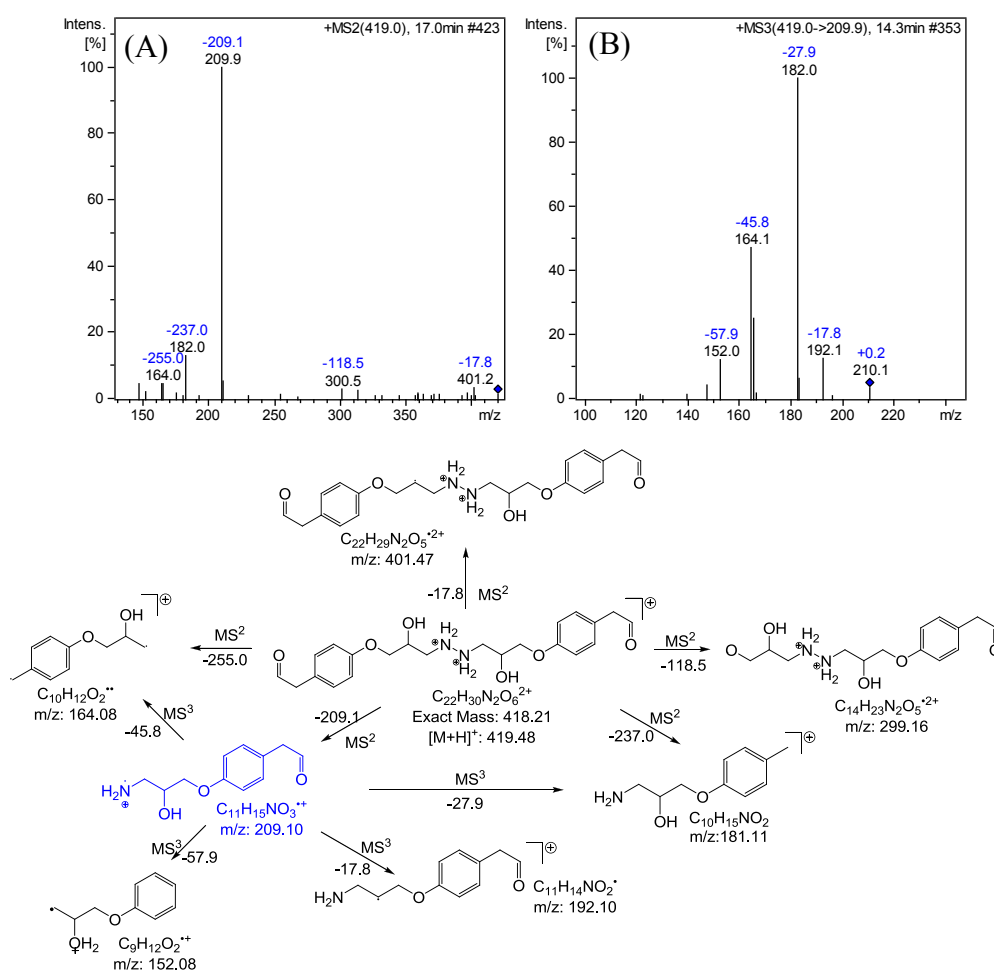


Figura 103. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 419. (A) MS² de m/z 419,0 e (B) m/z 419,0 → 209,9 MS³.

O PD 208 possui apenas 2 Da a menos que o PD 210 e foi encontrado em maior quantidade quando o processo foi conduzido na razão de 1:10 [ATE]:[Fe(VI)], porém observando a Figura 108, observa-se que a área relativa foi menor que para o PD 210.

Esse fato pode estar relacionado à formação deste PD, que o presente estudo propõe ser originado da abstração de hidrogênio do grupamento amina, que embora este tenha a maior parte de suas espécies protonadas no intervalo de pH 7-9, possui uma fração de espécie neutra, que pode reagir com Fe(VI) dando origem ao PD 208.

O perfil e caminho de fragmentação podem ser observados na Figura 104. Por meio da análise do perfil de fragmentação pode-se verificar que não houve a abstração de hidrogênio do grupamento hidroxila, pois o fragmento de m/z 189 apresenta perda de 18 Da, referente a H_2O . O fragmento de maior intensidade (m/z 160,9) foi novamente fragmentado para MS^3 , confirmando a estrutura proposta.

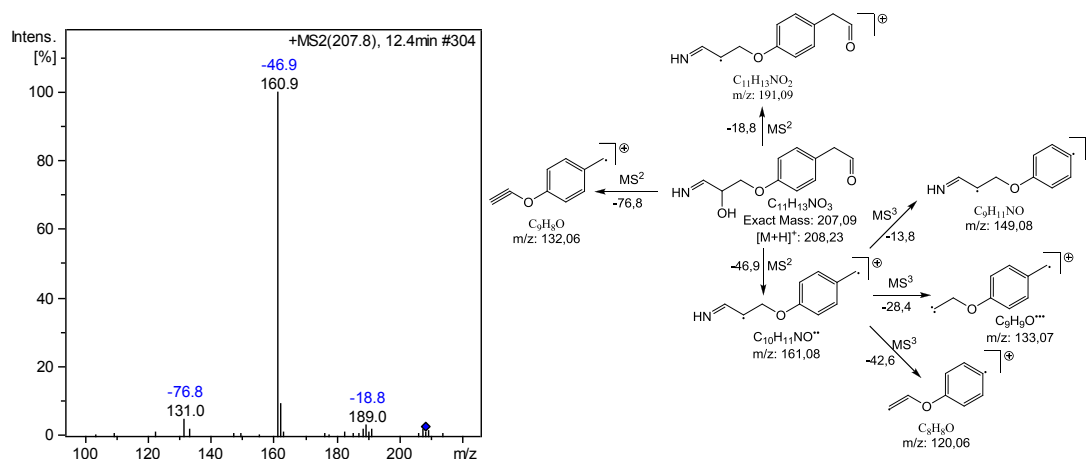


Figura 104. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminho de fragmentação para o PD 208.

O PD de íon molecular m/z 194 pode ser gerado a partir dos PD 210 pela perda de H_2O e pela protonação do oxigênio do grupamento $C=O$ lateral. O perfil e caminho de fragmentação podem ser observados na Figura 105, onde pode ser observado a perda de 18 Da ($-H_2O$), o fragmento característico de ATE com m/z 145 forma um anel ligado ao anel aromático (Medana et al., 2008; Tay et al., 2011; Radjenovic et al., 2008).

O fragmento de maior intensidade (m/z 175,9) foi ainda isolado e fragmentado por MRM (MS^3) e os fragmentos encontrados foram os mesmos fragmentos encontrados para o íon precursor de m/z 194 (m/z : 131,1; 107,1 e 89,2) com exceção do fragmento de m/z 159 que remete à perda de 17 Da, referente ao grupamento amina terminal (NH_2).

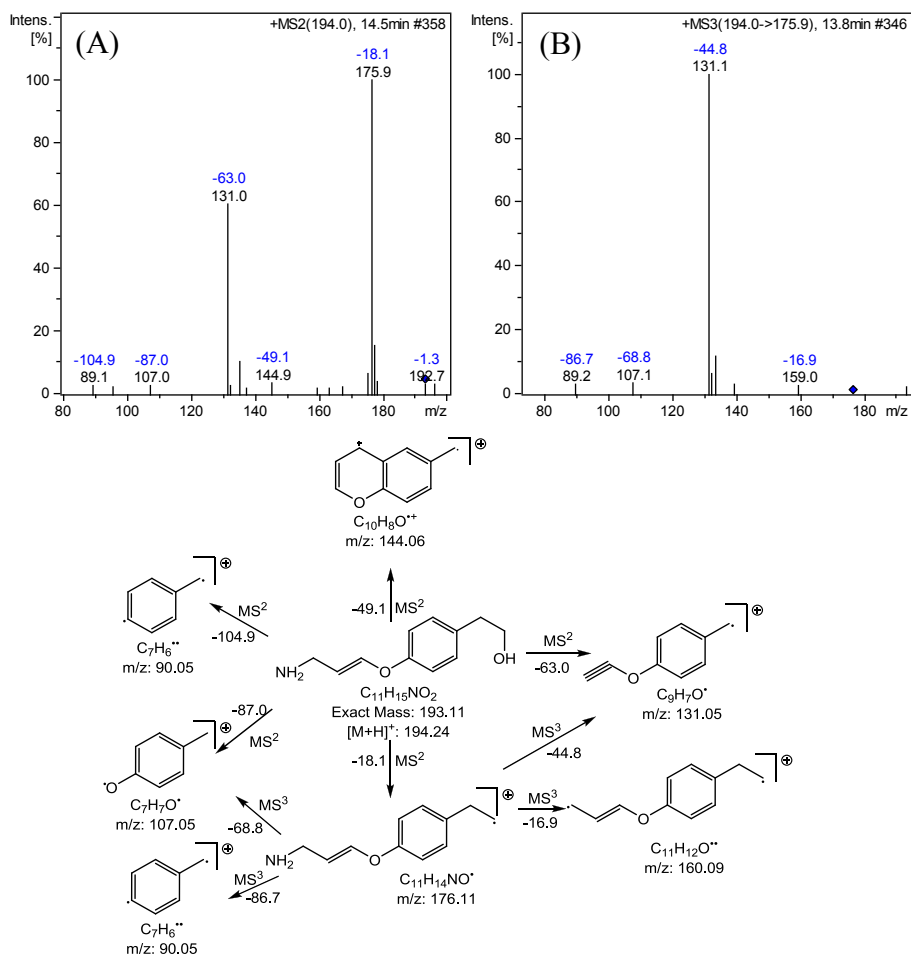


Figura 105. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 194. (A) MS² de m/z 194,0 e (B) m/z 194,0 → 175,9 MS³.

Assim como para o PD 210, o PD 194 pode ter formado um dímero, pois o íon molecular $[M+H]^+$ de m/z 387 apresenta o fragmento principal de m/z 193,4 com Perda Neutra Constante de 193,1 Da. O perfil de fragmentação mostra os mesmos fragmentos encontrados para o PD 194 (Figura 106)

Da mesma forma que para o PD 419, o presente estudo propõe que o dímero é formado por meio do radical (-NH[•]), ou outro possível mecanismo passa pela formação de um intermediário pela inserção de oxigênio na amina terminal NH-O (intermediário não encontrado), com posterior formação do dímero, conforme mecanismo proposto por Huang et al. (2001).

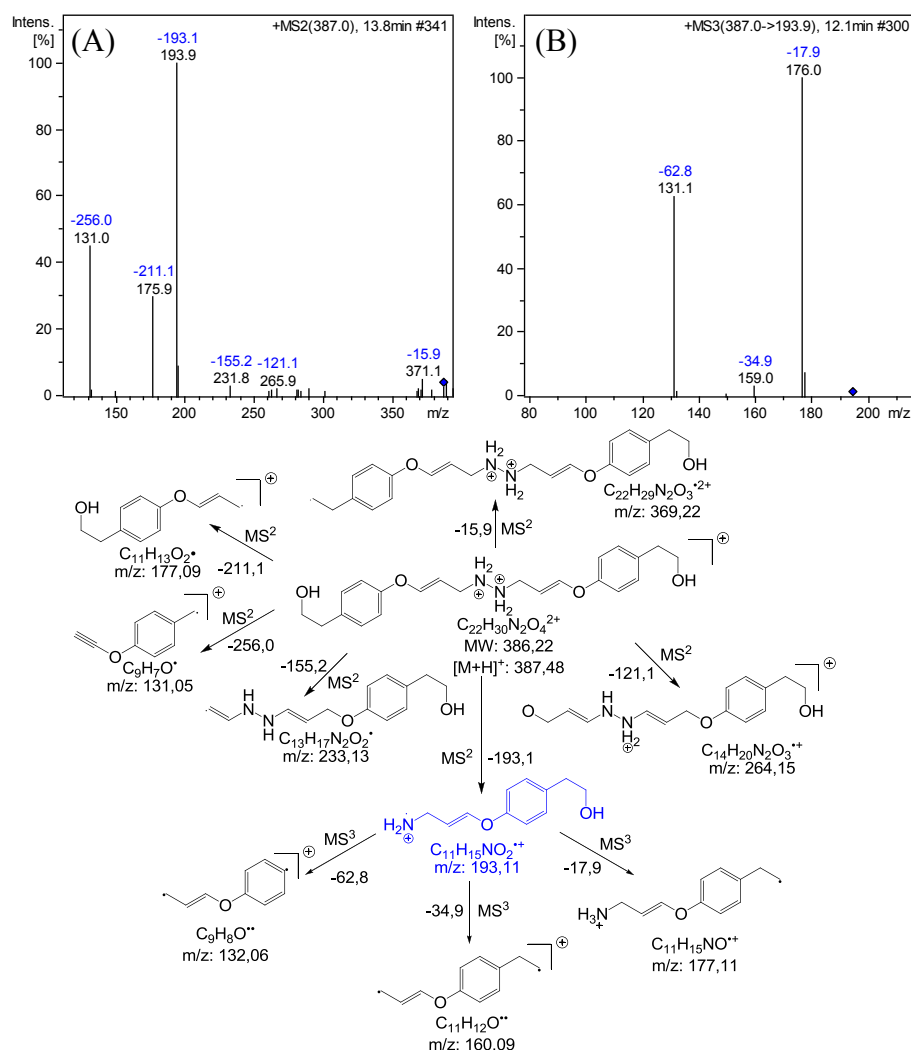


Figura 106. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 387. (A) MS² de m/z 387,0, (B) m/z 387,0 → 193,9 MS³.

Além disso, tanto o PD 194 quanto seu dímero foram apenas encontrados quando a razão entre [ATE]:[Fe(VI)] usada foi de 1:10, ressaltando que esse mecanismo ocorre apenas para altas concentrações de oxidante. Os dímeros encontrados no estudo de Yang et al. (2011) para a oxidação do fármaco triclosan também se formaram em altas concentrações de Fe(VI) (1:15) em relação ao microcontaminante estudado.

Para confirmar que o precursor do dímero proposto tinha o mesmo perfil de fragmentação que o PD 194, isolou-se o fragmento de m/z 193,9 e fragmentou-se novamente por MRM. Os fragmentos encontrados foram os mesmos encontrados para o PD 194, ressaltando que o PD 387 é formado por dimerização.

Observando o perfil da área dos PDs em função do tempo para o processo conduzido na razão de 1:10 (Figura 108) pode ser visto que a maior área relativa encontrada foi para o PD 387.

Outro PD que pode resultar da oxidação do PD 210 e 208 é o PD 182. Esse PD se forma pela clivagem de C=O e, além disso, como pode ser observado em outros PD, a m/z 182 foi encontrada como fragmento em ambos os PD. O perfil de fragmentação pode ser visto na Figura 107. Perda Neutra Constante de 18,1 Da caracteriza a presença de grupamento hidroxila na molécula, enquanto que a perda de 30,1 Da refere-se a clivagem do grupamento amina terminal (NH₂-CH₂·).

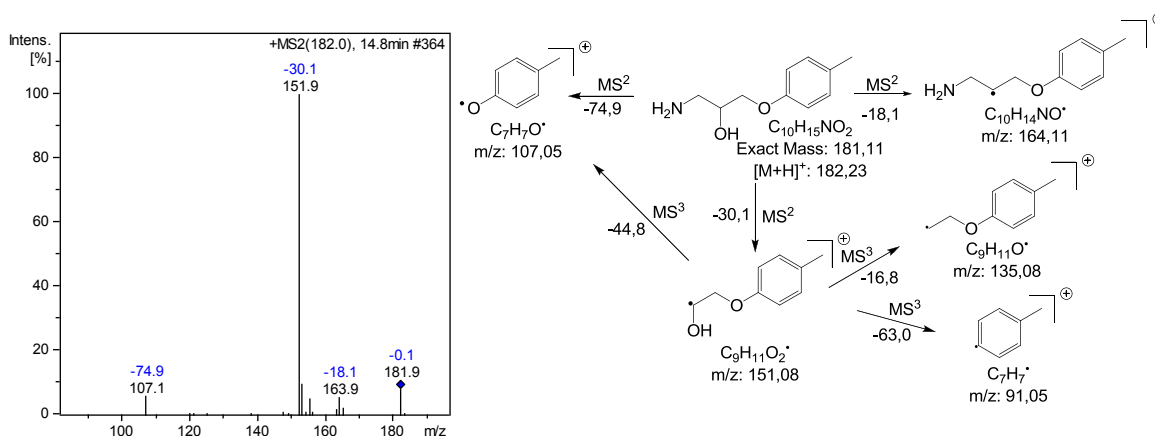


Figura 107. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 182.

Foram encontrados ainda os PDs de íon molecular [M+H]⁺ com m/z 152,2; 134,2 e 131,8. A formação destes PDs remetem ao processo Foto-Fenton, onde o PD 134,2 foi encontrado em grandes quantidades, enquanto que o PD 152,2 embora não identificado supõe-se fazer parte do caminho de degradação. Deste forma, pode se relacionar que a formação destes PDs se formaram por ação de radicais hidroxila, que podem ter se formado via Reações 13-16.

O PD 152 foi somente identificado posteriormente e portanto não se tem o perfil de fragmentação para o presente estudo. O PD 152 foi encontrado em ambas as razões estudadas, enquanto que o PD 134 foi apenas identificado quando o processo foi conduzido na razão 1:1 e o PD 132 foi encontrado apenas para a razão de 1:10 [ATE]:[Fe(VI)]. Ainda, como os PDs 134 e 132 já foram identificados para os outros processos, os perfis de degradação não serão incluídos nesta seção.

O acompanhamento da área do pico de cada intermediário para ambas as razões estudadas podem ser vistas na Figura 108. Como observado os produtos são produzidos e não são degradados permanecendo até o final. Esse comportamento pode estar relacionado à conversão de Fe(VI) → Fe(III) e, assim, a degradação é interrompida, ocorrendo somente o processo de coagulação. Para o processo conduzido na razão de 1:1 [ATE]:[Fe(VI)] o PD de

maior área relativa encontrado foi o PD 225, enquanto que para o processo conduzido na razão de 1:10 [ATE]:[Fe(VI)], o PD de maior área relativa foi o PD 387.

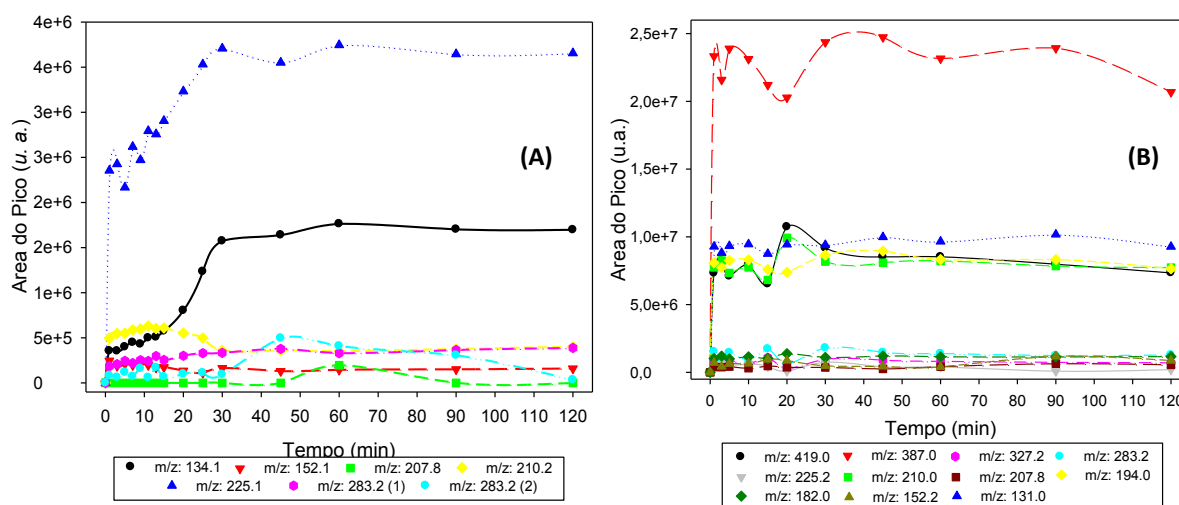


Figura 108. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por *Full Scan* obtidos em solução aquosa para a degradação de Atenolol por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) [ATE]:[Fe(VI)] 1:1 mol L⁻¹:mol L⁻¹, (B) [ATE]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹. Condições Iniciais: [ATE] 10 mg L⁻¹, pH₀7, Temp. 20 ± 1 °C.

11.2.6.1 Caminho de degradação de Atenolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)

A reação entre Fe(VI) e contaminantes orgânicos em meio aquoso é complexa, pois além da oxidação direta por Fe(VI) também pode ocorrer a oxidação via radicais livres formados pela sua decomposição em H₂O. Posto isto e de acordo com os PD identificados foi proposto caminho de degradação para o ATE por oxidação-coagulação por Fe(VI) (Figura 109).

A degradação de ATE segue dois caminhos propostos: (I) ataque eletrofílico do íon FeO₄²⁻ ao anel aromático pela formação de radical fenoxila (C₆H₅-O·), estabilizado por ressonância do anel aromático, e abstração de H de HFeO₄⁻ formando OH. Pode-se também inferir que intermediários radiculares como radicais HO· são formados e reagem por abstração do anel aromático como citado nas seções anteriores.

Pode-se também assumir que posteriormente este intermediário se divide em dois caminhos possíveis: (I (a)) formação de benzoquinona e grupamento nitroso no grupamento acetamida da molécula de Atenolol – formação de grupamento nitroso foi previamente citado por (Sharma et al., 2006) sobre sulfametoxazona; (I (b)) clivagem da ligação entre a cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi e formação de dois produtos de degradação encontrados em vários estudos de degradação de Atenolol por diferentes PAOs.

O PD 134 foi encontrado apenas no processo conduzido na razão 1:1 [ATE]:[Fe(VI)] enquanto que o PD 132 foi encontrado apenas no processo onde foi utilizado 1:10

[ATE]:[Fe(VI)] indicando que para o meio menos oxidativo forma-se por esse mecanismo a ligação C-OH, enquanto em meios mais oxidativos forma-se C=O.

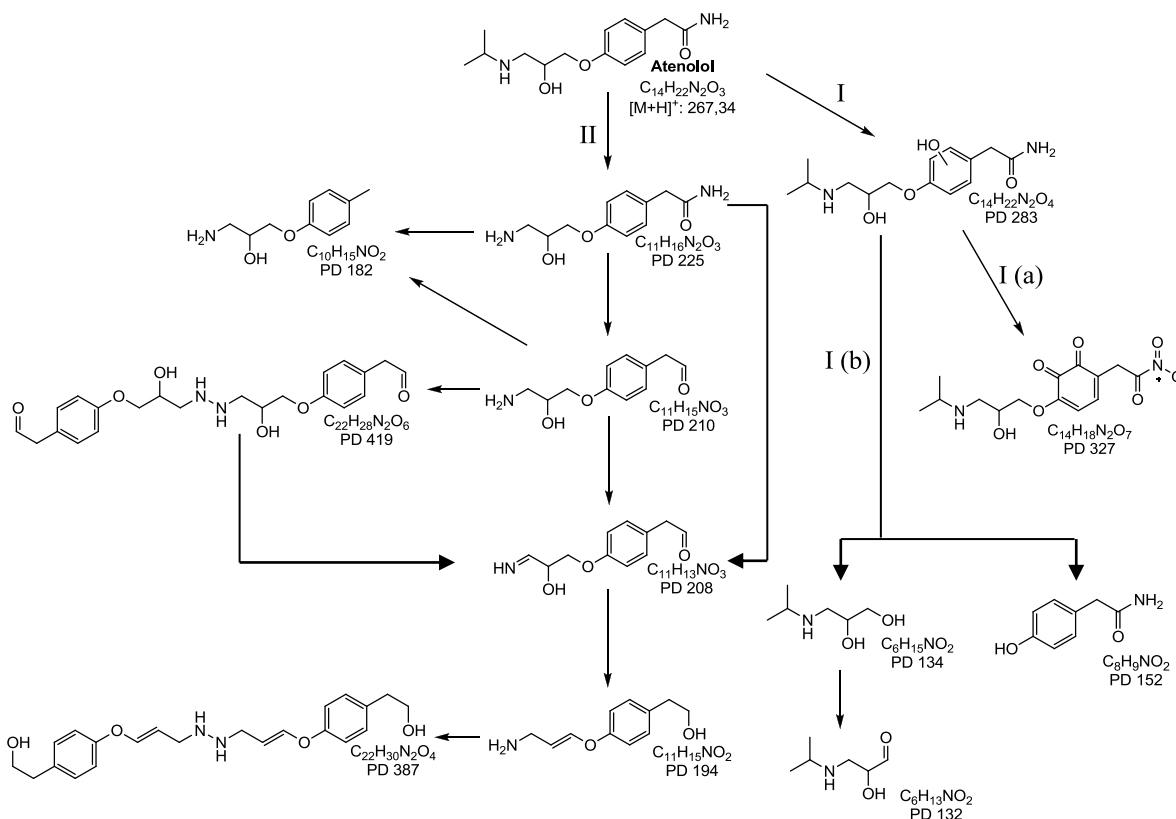


Figura 109. Caminho de degradação proposto para Atenolol em solução aquosa por oxidação-coagulação com Fe(VI) para as duas razões estudadas 1:1 e 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹[ATE]:[Fe(VI)], respectivamente. Condições de tratamento: [ATE]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 7, Temperatura 20 ± 1 °C.

Outro caminho de degradação assumido: (II) é pelo ataque eletrofílico do íon FeO₄²⁻ a amina secundária da molécula de ATE formando, possivelmente, um intermediário -N=O e por conseguinte ataque pelo íon HFeO₄⁻ formação de NH₂ (PD 225). Do mesmo modo que para o caminho I (b), também pode ocorrer a formação e posterior eliminação de NO₂ sobre o grupamento acetoamida do PD 225 gerando então o PD 210 que pode, por meio de reações de acoplamento, também pode formar dímeros.

Os PD 225 e 210 podem dar origem ao PD 182 pela eliminação de NH₂-C=O e C=O, respectivamente. Além disso, PD 210 e seu dímero PD 419 podem originar o PD 208, o PD 210 pela abstração de hidrogênio, enquanto o PD 419 pela clivagem da ligação N-N e formação de dupla ligação C=N.

Por fim, segundo o caminho proposto, é originado o PD 194, que possivelmente pode ser originado a partir do PD 225, 210 e 208 pela eliminação de H₂O e NO₂ seguido da protonação do grupamento C=O. Assim como para o PD 210, o PD 194 forma um dímero por

reação de acoplamento, porém sem formação de grupamento azo conforme sugerido por (Huang et al. 2001).

Formação de dímeros também foi proposto por Fan et al. (2011) para a degradação de sulfasalazina por processo Fenton-*like*. Como a decomposição de ferrato em água pode levar a formação de H_2O_2 e íons férricos (Rush & Bielski, 1989), processos tipo Fenton podem ocorrer, resultando em radicais hidroxila que podem formar radicais $-NH\cdot$ levando a formação de intermediários dímeros no processo de degradação.

11.2.7 Elucidação estrutural dos PDs de Metoprolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)

Os PDs de MET foram identificado por LC-MSⁿ, conforme descrito na seção 10.2.1.6. O TIC para o processo conduzido na razão de 1:10 [MET]:[Fe(VI)] pode ser visto na Figura 110. Como descrito na seção 11.2.5, MET foi degradado apenas 3,13 e 24,76% para as diferentes razões de 1:1 e 1:10 [MET]:[Fe(VI)], respectivamente. Deste modo foram identificados apenas 9 PDs.

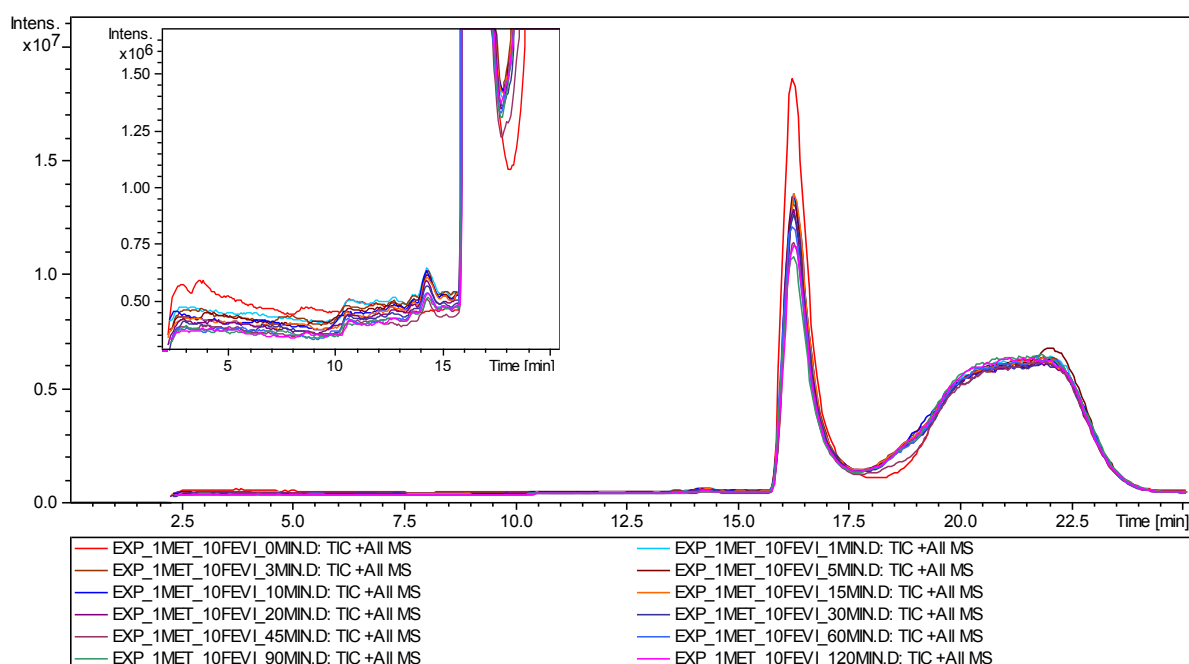


Figura 110. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Metoprolol pelo processo oxidação-coagulação com Fe(VI) em solução aquosa (água ultra pura) por LC-MS. Condições iniciais: [MET] 10 mg L⁻¹, pH 7, [MET]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹, Temp. 20 ± 1 °C.

Os PD identificados foram isolados e fragmentados para MS² e estão apresentados na Tabela 18. A maioria dos PDs foram encontrados para as duas razões estudadas, com exceção dos PDs 297 e 175. Apesar da fragmentação do PD 297, não foi possível propor uma estrutura de acordo com o perfil de fragmentação encontrado. O perfil de fragmentação do PD 297 pode ser visto no Apêndice J.

Tabela 18. Produtos de degradação de MET identificados por LC-MSⁿ para o processo de oxidação-coagulação com Fe(VI).

PD	tr (min)	Fórmula Molecular	ESI(+) MS m/z ^a	ESI(+) MS ² m/z (% relativa)
PD 297	14,6	NI	297,2 ^c	279,1 (27,98), 251,0 (6,16), 238,0 (100), 205,9 (4,53), 190,9 (12,82), 176,9 (4,29), 146,9 (6,12), 132,9 (4,76)
PD 284	13,1	C ₁₃ H ₂₃ NO ₄	284,2 ^{b,c}	265,1 (49,64), 247,1 (44,12), 239,0 (18,37), 204,9 (11,50), 176,9 (100), 149,0 (12,44), 133,0 (94,30), 121,0 (8,95), 107,1 (8,40), 89,1 (33,69)
PD 254	13,9	C ₁₄ H ₂₃ NO ₃	254,2 ^{b,c}	234,9 (54,28), 212,8 (68,46), 192,9 (100), 176,9 (38,29), 147,0 (32,17), 133,0 (27,12), 119,0 (18,26), 102,9 (12,42), 219,9 (10,27), 197,9 (88,48), 177,0 (21,65), 160,9 (13,77), 132,9 (100), 116,0 (4,83), 89,0 (26,05), 74,1 (4,10)
PD 240	13,6	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃	240,4 ^c	219,9 (17,68), 197,9 (100), 178,0 (5,10), 160,9 (18,05), 132,9 (61,12), 89,0 (27,98)
PD 238	13,8	C ₁₃ H ₁₉ NO ₃	238,3 ^b	208,8 (3,07), 193,9 (100), 176,0 (12,72), 158,9 (12,52), 133,0 (9,28), 121,0 (58,92), 93,1 (3,32), 74,2 (34,52)
PD 226	14,2	C ₁₂ H ₁₉ NO ₃	226,2 ^{b,c}	176,8 (100), 169,0 (35,47), 156,8 (14,57), 134,9 (18,55), 121,0 (14,15), 89,0 (6,90), 74,2 (5,00)
PD 195	12,6	C ₁₁ H ₁₇ NO ₂	195,0 ^{b,c}	157,8 (41,48), 144,9 (100), 133,0 (6,21), 119,0 (4,61), 89,0 (8,74)
PD 175	18,0	C ₁₁ H ₁₃ NO	175,2 ^c	116,1 (100), 92,2 (42,37), 74,3 (32,50), 56,4 (16,75)
PD 134	2,8	C ₆ H ₁₃ NO ₂	134,1 ^{b,c}	

^a Valores de m/z mostrados são para o íon molecular protonado $[M+H]^+$; ^b Identificado em experimento na razão 1:1 [MET]:[Fe(VI)]; ^c Identificado em experimento na razão 1:10 [MET]:[Fe(VI)]; NI: Não Identificado;

Os PDs identificados foram extraídos (EIC) e acompanhou-se a área do pico de cada intermediário para ambas as razões estudadas (Figura 111). O PD de maior área relativa encontrado para ambas as razões estudadas é o PD de íon molecular $[M+H]^+$ de m/z 226, que será discutido posteriormente e, como pode ser observado, o PD 226 é degradado com prosseguimento do processo. Outro PD encontrado com maior área relativa é o de $[M+H]^+$ de m/z 175, encontrado apenas quando o processo foi conduzido na razão 1:1. Pode-se dizer que o PD 175 segue caminho diferente do PD 226, pois este, com o prosseguimento do processo, aumenta sua área relativa.

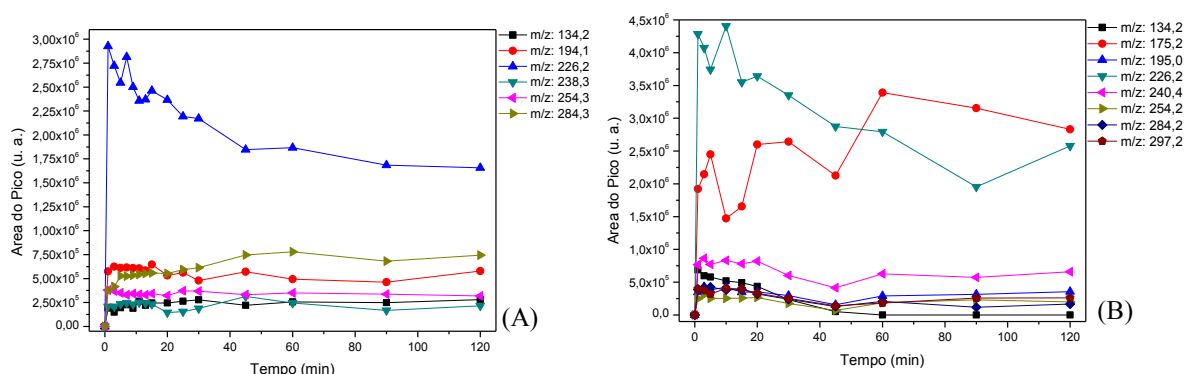


Figura 111. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por *Full Scan* obtidos em solução aquosa para a degradação de Metoprolol por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) [MET]:[Fe(VI)] 1:1 mol L⁻¹:mol L⁻¹, (B) [MET]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹. Condições Iniciais: [MET] 10 mg L⁻¹, pH₀ 7, Temp. 20 ± 1 °C.

Assim como para o processo Foto-Fenton, foi encontrado o PD 284 que apresenta 18 Da a mais que a molécula de MET. Por meio da análise do perfil de fragmentação apresentado pelo PD 284 nas razões 1:1 e 1:10, o presente estudo propõe dois isômeros diferentes.

O PD 284 encontrado na razão 1:1 apresenta perfil de fragmentação igual ao apresentado para o PD de mesma m/z encontrado no processo Foto-Fenton, onde ocorreu hidroxilação no anel benzênico. O PD 284 encontrado no processo de razão 1:10 propõe-se que houve hidroxilação da amina secundária. O perfil de fragmentação pode ser visto na Figura 112. O que caracteriza a hidroxilação sobre a amina secundária é a falta dos fragmentos característicos m/z: 116 e 74,2.

Hidroxilação de fármacos contendo aminas foi proposto por Sharma et al. (2006), que propuseram ataque nucleofílico do grupamento amina sobre o íon HFeO_4^- (predominante em pH 7) formando intermediário radicalar e H_2FeO_4^- , que pode novamente reagir com o intermediário radicalar formando N-OH e HFeO_3^- .

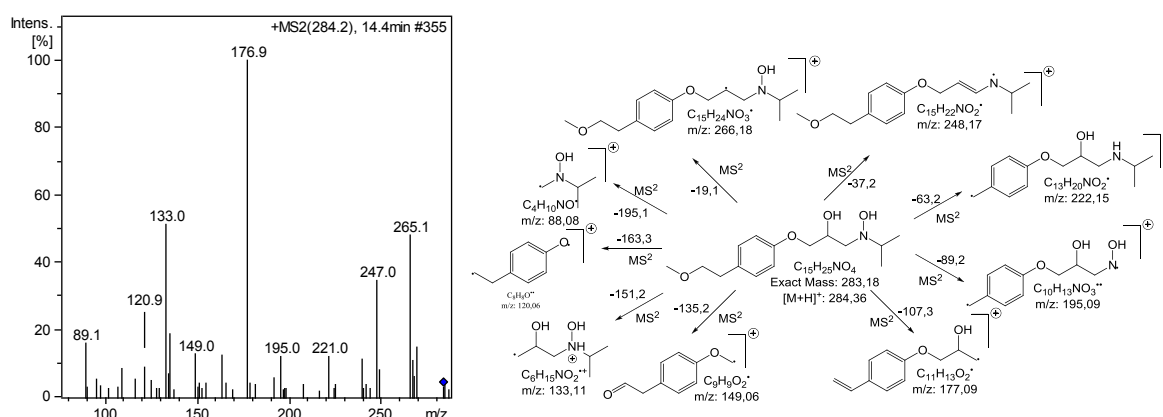


Figura 112. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 284 encontrado para o processo conduzido na razão 1:10 [MET]:[Fe(VI)].

O PD 254 encontrado para o presente processo de oxidação-coagulação possui o mesmo perfil de fragmentação do encontrado para o processo Foto-Fenton e, também, citado em outros estudos de degradação de MET por γ -radiólise, ozonização e degradação eletroquímica (Slegers et al., 2006; Benner & Ternes, 2009a; Radjenovic et al., 2011).

A perda de CH_3OH pode ter ocorrido por ação de radicais livres, como radicais hidroxila, ou mesmo por oxidação com ferrato, pois o grupamento terminal éter é ERM favorecendo a reação nesse grupamento. Para evitar repetições o perfil de fragmentação do PD 254 não será mostrado nessa seção.

Outro PD também encontrado em processos de degradação por ozonização, degradação eletroquímica e γ -radiólise foi o PD 239 (Benner & Ternes, 2009a; Radjenovic et

al., 2011; Song et al., 2008). Assim como para o PD 254, pode surgir da eliminação de $\text{CH}_3=\text{O}$ do próprio PD 254.

O perfil de fragmentação do PD 239 pode ser visto na Figura 113 e mostra claramente pelos fragmentos de m/z 132,9; 116,0; 89,0 e 74,1 que a cadeia lateral permaneceu intacta. O fragmento de m/z 219,9 caracteriza a perda de H_2O , enquanto que o fragmento de m/z 197,9 caracteriza a perda do grupamento isopropila. O PD 254 foi encontrado apenas para o processo conduzido na razão de 1:10 $[\text{MET}]:[\text{Fe}(\text{VI})]$.

Já para o processo conduzido na razão 1:1 $[\text{MET}]:[\text{Fe}(\text{VI})]$, foi encontrado o PD de m/z 238,3. Esse PD possui o mesmo perfil de fragmentação (dados não apresentados) do PD de mesma m/z encontrado para o processo de degradação por Foto-Fenton citado anteriormente. O PD 238 pode ser produzido pela abstração de hidrogênio do PD 254 por ação radicalar de radicais livres como radical hidroxila ou mesmo pelo caráter parcial radicalar de ferrato ($\text{Fe}^{\text{VI}}=\text{O} \rightleftharpoons \text{Fe}^{\text{V}}-\text{O}\cdot$).

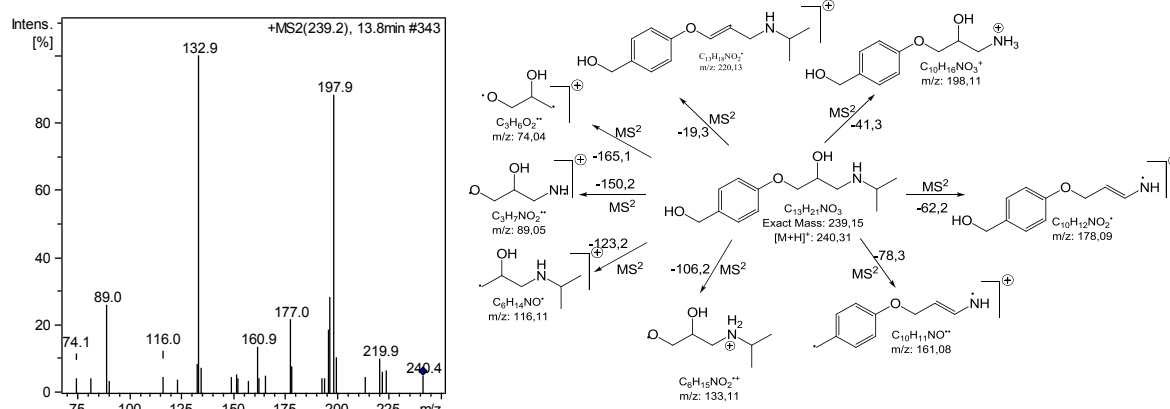


Figura 113. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 239.

O PD de m/z 226,2 mostra evidências de que a reação ocorreu sobre o grupamento amina secundária por N-dealquilação. A estrutura do PD 226 foi confirmada por fragmentação para MS² (Figura 114). A caracterização de que a reação ocorreu sobre o grupamento amina secundária com eliminação do grupamento isopropila se dá pela ausência dos fragmentos característicos da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi de m/z 116,0 e 89,0.

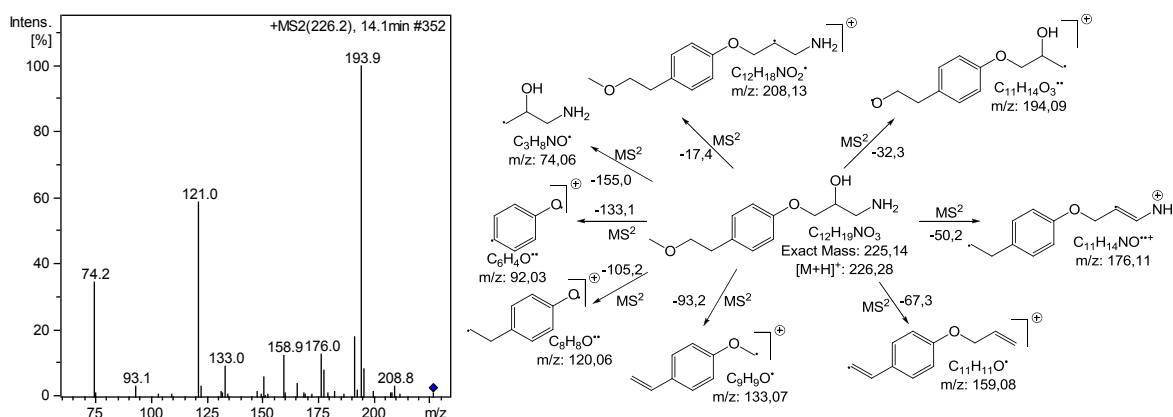


Figura 114. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 226.

Como observado no acompanhamento da área de cada PD (Figura 111), o PD 226 possui a maior área relativa comparado a outros PDs. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato de que o grupamento amina secundária apresenta-se mais reativo pela alta densidade de elétrons e em pH elevados (acima de 9), como no caso do processo conduzido na razão 1:10 [MET]:[Fe(VI)] mol L⁻¹:mol L⁻¹ o pH se eleva logo no início do processo para em torno de 10 e nessas condições a maior fração de MET apresenta-se neutro (Figura 2) favorecendo a reação entre íons FeO₄²⁻ (predominante nesse pH) e o grupamento amina secundária.

Outro PD encontrado em ambas as razões estudadas foi o de íon molecular [M+H]⁺ com m/z 195. Esse PD pode surgir da degradação do PD 226 pela eliminação de CH₃OH e formação de intermediário radicalar, que conseqüentemente pode abstrair H do meio aquoso. De acordo com o perfil de fragmentação (Figura 115) o PD 195 se caracteriza pelos fragmentos de m/z 135 e 121 que remetem à eliminação de CH(OH)CH₂-NH₂ e CH₂-CH(OH)CH₂-NH₂ da cadeia lateral, enquanto que os fragmentos 89,3 e 74,2 caracterizam as estruturas apresentadas na Figura 114.

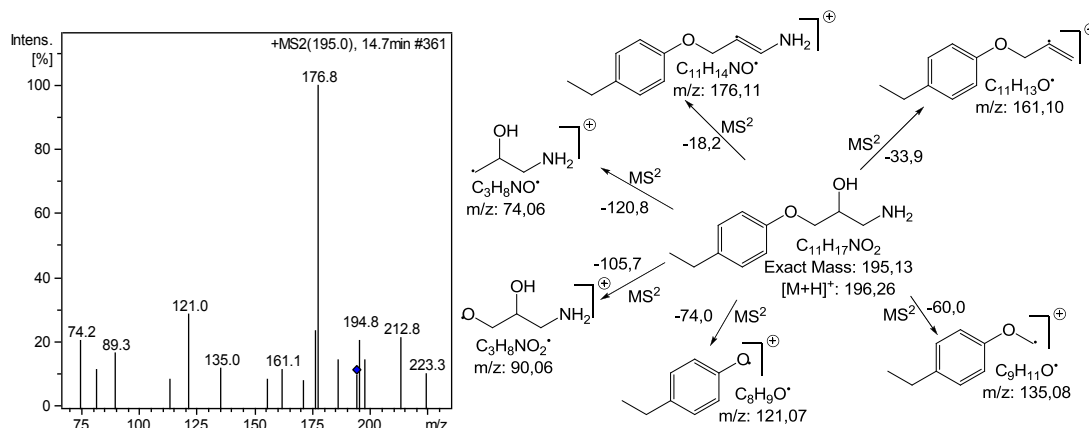


Figura 115. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 195.

O PD de íon molecular $[M+H]^+$ de m/z 175,2 foi encontrado apenas para o processo conduzido na razão de 1:10 $[MET]:[Fe(VI)]$ mol $L^{-1}:\text{mol } L^{-1}$. Como pode ser observado no acompanhamento da área relativa do PD 175 (Figura 111), há aumento com o prosseguir do processo de degradação, logo se pode deduzir que esse PD aparece com a degradação de outros PD. Seguindo esse raciocínio, infere-se que o PD 175 é resultante da degradação do PD 226, que diminui a área relativa com o prosseguir do processo, pela eliminação de CH_3OH da cadeia lateral éter e pela eliminação do grupamento hidroxila. O perfil de fragmentação para o PD 175 pode ser observado na Figura 116.

Ainda foi encontrado o PD de m/z 134,2 característico da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, que pode ser originado pela clivagem da ligação C-O do anel aromático. Comparado ao processo Foto-Fenton esse PD foi encontrado em menor área relativa indicando que a reação pode ser pela presença de radicais livres que são formados em quantidades relativamente menores no processo de decomposição de Fe(VI) em meio aquoso sem uso de tampões.

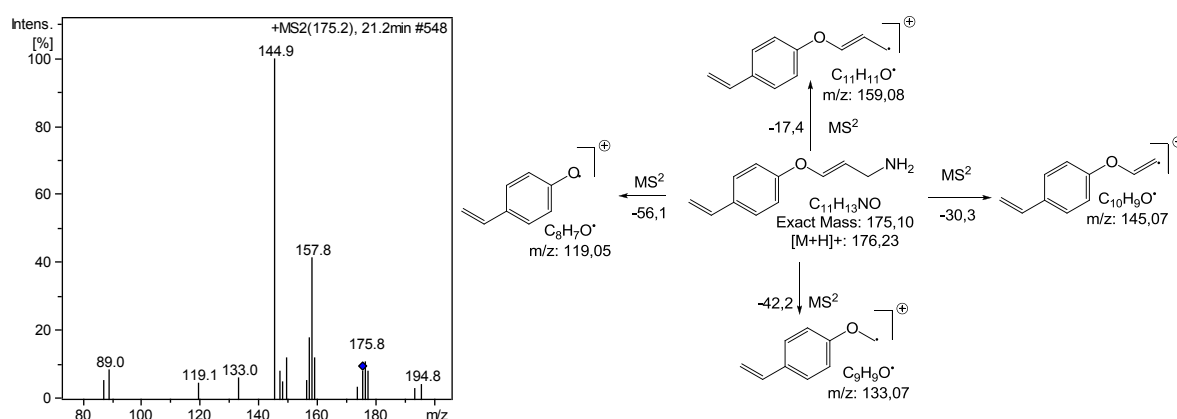


Figura 116. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 175.

11.2.7.1 Caminho de degradação de Metoprolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)

De acordo com os PDs identificados e elucidados para a degradação de MET por oxidação-coagulação por Fe(VI) em solução aquosa, um caminho de degradação foi proposto. Observando os PDs encontrados pode-se propor três diferentes caminhos de degradação para o MET, representados por números romanos na Figura 117.

O caminho I se caracteriza pela hidroxilação da molécula de Metoprolol, que pode se originar de duas formas produzindo diferentes PDs. Uma plausível explicação para o PD 284 (a) pode estar relacionado à presença de radicais livres, como $HO\cdot$, formados pela decomposição de Fe(VI) em água, que reagem não seletivamente, podendo então, por

abstração de hidrogênio, hidroxilar o anel aromático. Cabe aqui ressaltar que o PD 284 (a) foi encontrado para a razão 1:1 de $[\text{MET}]:[\text{Fe(VI)}]$ e, pelo acompanhamento da evolução do pH, pode-se dizer que o grupamento amina secundária está protonado no intervalo observado experimentalmente, favorecendo a reação sobre o anel aromático.

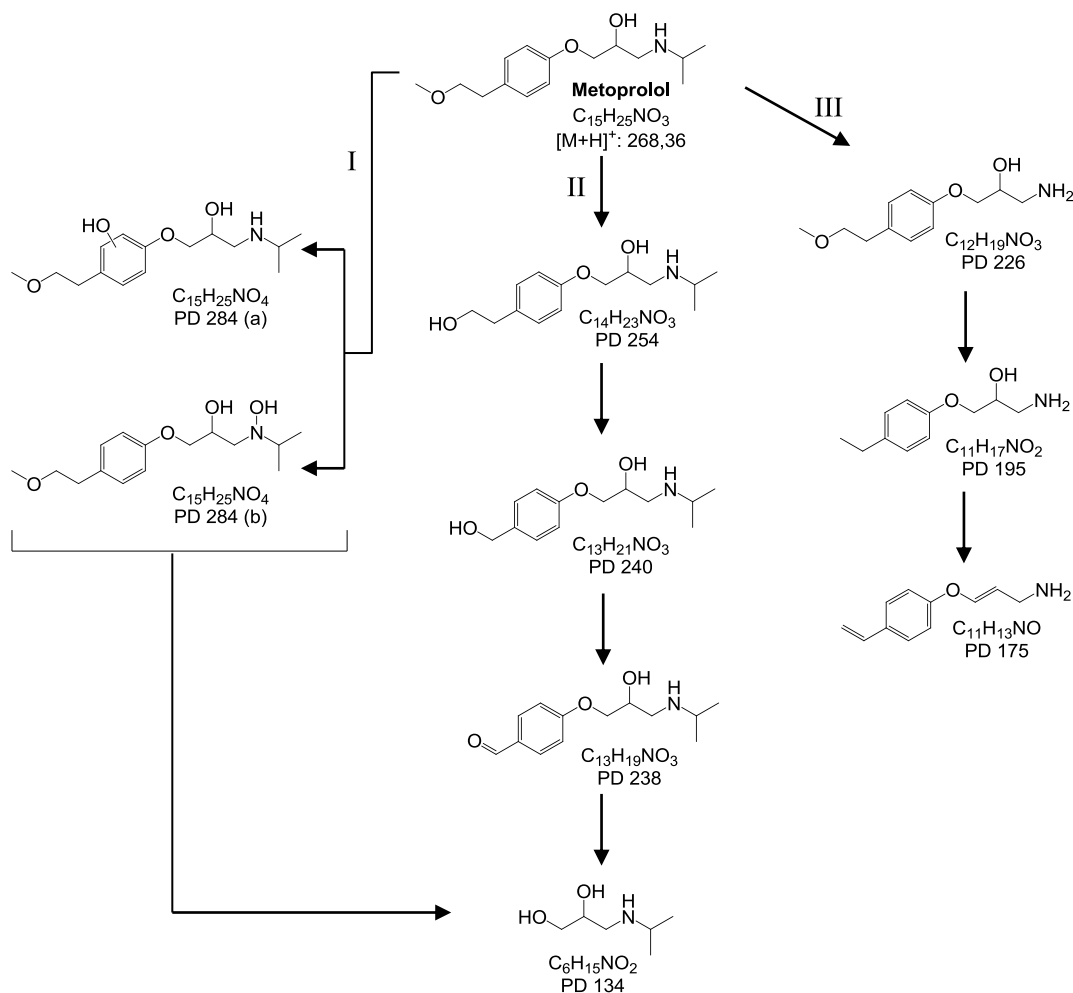


Figura 117. Caminho de degradação proposto para Metoprolol em solução aquosa por oxidação-coagulação com Fe(VI) para as duas razões estudadas 1:1 e 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹ $[\text{MET}]:[\text{Fe(VI)}]$, respectivamente. Condições de tratamento: $[\text{MET}]_0$ 10 mg L⁻¹, pH₀ 7, Temperatura 20 ± 1 °C.

Enquanto que o PD 284 (b), encontrado apenas para o processo conduzido na razão 1:10 de $[\text{MET}]:[\text{Fe(VI)}]$, foi hidroxilado sobre o grupamento amina secundária, de acordo com seu perfil de fragmentação. Uma também plausível explicação pode estar relacionado à evolução do pH em função do tempo de tratamento que sobe para em torno de 10. Nesse pH a molécula de Metoprolol encontra-se predominantemente neutra e, conseqüentemente, o grupamento amina secundária torna-se um ERM, favorecendo a reação com íons Fe(VI).

O caminho de degradação II acontece sobre a cadeia éter lateral. Uma explicação plausível para esse caminho de degradação pode estar relacionado ao oxigênio atuar como nucleófilo sobre HFeO_4^- formando possivelmente um intermediário $-\text{H}_2\text{C}\cdot$ e eliminação de

$\text{CH}_2=\text{O}$. O intermediário radicalar pode então reagir com H_2O formando $-\text{CH}_2-\text{OH}$. Esse mecanismo pode também ocorrer sobre o PD 254 dando origem ao PD 240. Por outro lado, oxidação de álcoois a aldeídos e cetonas tem sido citado na literatura, experimentalmente (Delaude & Laszlo, 1996) e teoricamente (Kamachi et al., 2005).

Ambos os caminhos I e II podem levar ainda a formação do PD 134, porém como esse PD foi encontrado apenas em menor área relativa, quando comparado ao processo Foto-Fenton, pode ser deduzido que a clivagem da ligação do anel aromático $\text{C}_6\text{H}_5-\text{O}$ ocorre apenas via radicais livres ($\text{HO}\cdot$), que podem ser formados pela decomposição de Fe(VI) em água.

O caminho de degradação III proposto se constitui sobre N-dealquilação por ataque eletrofílico do íon FeO_4^{2-} sobre $-\text{NH}-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ da molécula de MET formando, possivelmente, um intermediário $-\text{N}=\text{O}$ e por conseguinte ataque pelo íon HFeO_4^- formação de NH_2 (PD 226). Possivelmente este seja o mecanismo de maior ocorrência na degradação de MET, visto que a maior área relativa encontrada foi do PD 226. Esse mecanismo é favorecido pela evolução do pH de 7 para 9 a 10, onde o grupamento amina secundária da molécula de MET encontra-se desprotonado e, portanto, mais reativo.

Como observado para o processo de degradação em ambas as razões estudadas, como o prosseguimento do processo a área relativa do PD 226 diminui (Figura 111), o que pode estar relacionado ao surgimento dos PDs 195 e 175, que ocorrem via caminho de degradação sobre a cadeia éter lateral.

11.2.8 Elucidação estrutural dos PDs de Propranolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)

Como pôde ser observado anteriormente, PRO é o β -bloqueador mais suscetível a degradação por oxidação-coagulação com Fe(VI) , alcançando 30,64 e 96,55% de degradação para as razões de 1:1 e 1:10 $[\text{PRO}]:[\text{Fe(VI)}]$ mol $\text{L}^{-1}:\text{mol L}^{-1}$, respectivamente, sem mineralização. Deste modo, espera-se encontrar maior quantidade de PDs.

O TIC da degradação (Figura 118) de PRO por Fe(VI) mostra exatamente isso. Foram identificados, isolados, ativados e, como íon precursor, fragmentados por MRM no total 14 PDs, destes 9 foram identificados para o processo conduzido na razão 1:1, enquanto 12 PDs foram identificados para o processo 1:10 $[\text{PRO}]:[\text{Fe(VI)}]$ e em comum, entre as diferentes razões estudadas, foram encontrados 7 PDs.

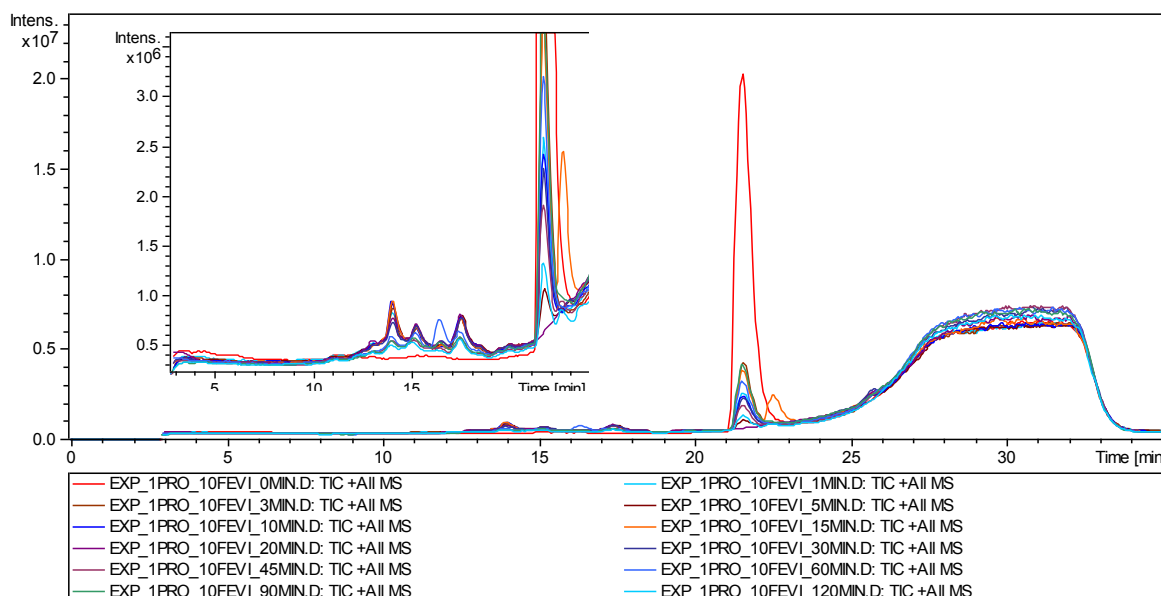


Figura 118. Cromatograma Total de Íons (TIC) da degradação de Propranolol pelo processo oxidação-coagulação com Fe(VI) em solução aquosa (água ultra pura) por LC-MS. Condições iniciais: [PRO] 10 mg L⁻¹, pH 7, [PRO]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹, Temp. 20 ± 1 °C.

Os PDs identificados e seus respectivos fragmentos (MS²) podem ser observados na Tabela 19. A maioria dos PDs encontrados apresentam m/z superior ao próprio PRO, indicando que houve grande hidroxilação sobre a molécula.

Tabela 19. Produtos de degradação de PRO identificados por LC-MSⁿ para o processo de oxidação-coagulação com Fe(VI).

PD	tr (min)	Fórmula Molecular	ESI(+) MS m/z ^a	ESI(+) MS ² m/z (% relativa)
PD 340	12,8	C ₁₆ H ₂₁ NO ₇	340,2 ^c	322,0 (100), 296,0 (21,00), 280,0 (32,89), 261,9 (15,51), 217,9 (17,128), 162,9 (18,24), 134,0 (51,40), 116,0 (37,06)
PD 326	12,5 e 13,3	C ₁₆ H ₂₃ NO ₆	326,2 ^{b,c}	308,1 (40,45), 282,9 (8,18), 264,0 (21,83), 221,0 (20,00), 194,8 (7,57), 177,0 (70,77), 133,0 (100), 116,0 (23,09)
PD 310	15,0	C ₁₆ H ₂₃ NO ₅	310,2 ^b	293,1 (100), 274,0 (29,80), 238,9 (12,31), 198,9 (11,50), 176,9 (10,23), 132,9 (14,20), 101,0 (2,59)
PD 308	15,1	C ₁₆ H ₂₁ NO ₅	308,2 ^{b,c}	290,0 (100), 265,0 (46,96), 230,0 (18,68), 192,0 (65,65), 174,9 (29,06), 149,9 (25,23), 134,0 (91,52), 116,0 (87,49), 98,1 (30,32)
PD 296	12,5	C ₁₆ H ₂₅ NO ₄	296,2 ^c	278,0 (100), 260,0 (27,39), 234,9 (14,80), 216,9 (5,90), 162,9 (8,05), 144,0 (6,08), 134,0 (6,53), 116,1 (19,10)
PD 294	13,9 e 15,2	C ₁₆ H ₂₃ NO ₄	294,3 ^{b,c}	276,0 (83,53), 233,9 (58,88), 205,9 (12,53), 161,9 (20,47), 132,9 (16,82), 116,0 (100), 98,1 (6,68)
PD 292	14,4 e 16,4	C ₁₆ H ₂₁ NO ₄	292,2 ^c	274,0 (22,02), 249,9 (2,51), 232,9 (5,70), 158,9 (5,55), 130,9 (21,04), 116,0 (100), 98,1 (11,94)
PD 282	14,0 e 22,5	C ₁₄ H ₁₉ NO ₅	282,2 ^{b,c}	264,0 (100), 221,9 (4,90), 148,9 (14,17), 134,0 (34,43), 116,1 (68,51), 98,1 (10,83)
PD 276	18,2	C ₁₆ H ₂₁ NO ₃	276,2 ^{b,c}	248,0 (100), 233,9 (18,24), 187,9 (4,07), 161,9 (9,25), 132,9 (5,11), 98,0 (2,60)
PD 268	16,5	C ₁₄ H ₂₁ NO ₄	268,4 ^c	249,0 (100), 206,9 (8,53), 190,9 (17,91), 158,9 (19,89), 133,0 (13,56), 116,0 (22,74), 81,1 (6,78)
PD 266	19,6	C ₁₄ H ₁₉ NO ₄	266,3 ^c	248,0 (100), 205,9 (11,50), 187,9 (6,64), 145,9 (2,77), 132,0 (4,20), 116,0 (5,29)
PD 134	3,0	C ₆ H ₁₅ NO ₂	134,2 ^b	116,0 (100), 107,9 (21,90), 89,1 (10,73), 72,3 (42,43)
PD 132	17,1	C ₅ H ₁₃ NO ₂	132,0 ^{b,c}	113,8 (100), 105,0 (40,26), 89,0 (21,63), 72,2 (19,74), 45,5 (24,83)
PD 116	2,7	C ₆ H ₁₃ NO	116,2 ^{b,c}	96,9 (100), 88,1 (6,18), 72,2 (12,22), 59,3 (4,55)

^a Valores de m/z mostrados são para o íon molecular protonado [M+H]⁺; ^b Identificado em experimento na razão 1:1 [PRO]:[Fe(VI)]; ^c Identificado em experimento na razão 1:10 [PRO]:[Fe(VI)];

Como não existem padrões que permitam a quantificação dos PDs formados por processos de degradação, uma das formas de auxiliar na interpretação de processos de

degradação é usar a área integrada de cada PD para avaliar seu perfil com o prosseguimento do processo. Deste modo os PDs identificados nas diferentes razões estudadas foram integrados e plotados em função do tempo (Figura 119).

Observando a Figura 119 (A) nota-se que para o processo conduzido na razão 1:1 os PD são produzidos e aumentam com o prosseguimento do processo. Nessa razão, o PD de maior área relativa encontrado foi o PD de íon molecular $[M+H]^+$ de m/z 310,2, mostrando evidências do alto grau de hidroxilação dos PD obtidos.

O processo conduzido na razão 1:10 apresenta comportamento diferente. A Figura 119 (B) demonstra que os PDs são gerados no início do processo e posteriormente são degradados a outros PDs ou, mesmo, ácidos orgânicos de cadeia menor. O PD de maior área relativa encontrado para essa razão estudada foi o PD de m/z 282,2, que forma-se em grande quantidade no início do processo sendo posteriormente degradado ou transformado em outro intermediário.

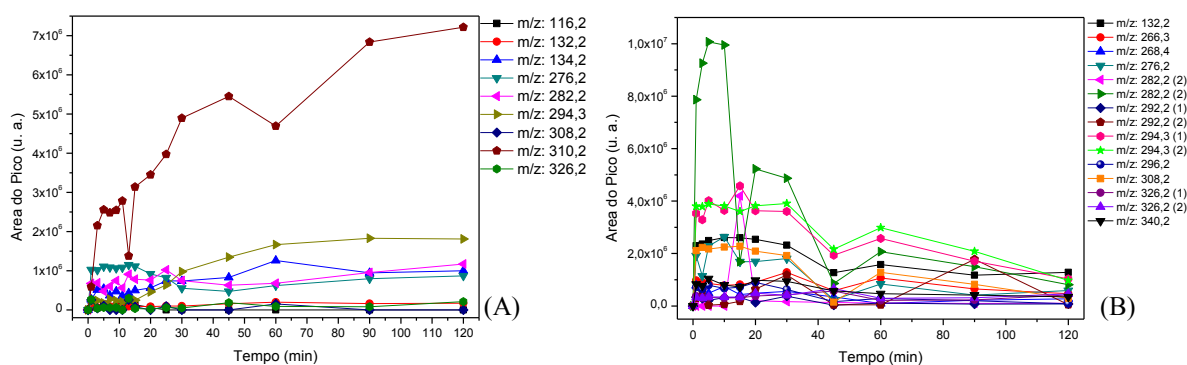


Figura 119. Acompanhamento da área (EIC) dos Produtos de Degradação por *Full Scan* obtidos em solução aquosa para a degradação de Propranolol por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) [PRO]:[Fe(VI)] 1:1 mol L⁻¹:mol L⁻¹, (B) [PRO]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹. Condições Iniciais: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 7, Temp. 20 ± 1 °C.

Para evitar repetições, serão apenas apresentados nessa seção os perfis de fragmentação dos PDs não encontrados nos outros processos estudados.

O PD de íon molecular $[M+H]^+$ m/z 276,2 apresenta 16 Da a mais que PRO, indicando que houve monohidroxilação sobre o grupamento naftaleno. O perfil de fragmentação apresentado por esse PD é igual ao encontrado para o processo Foto-Fenton, UV/H₂O₂ e UV/Fe²⁺, indicando que o mecanismo de degradação pode seguir o mesmo caminho.

Outro PD que indica nova hidroxilação sobre o PD 276 foi o PD 292 que apresenta 32 Da a mais que a molécula de PRO e 16 Da a mais que o PD 276. Esse PD foi identificado apenas para o processo conduzido na razão de 1:10 [PRO]:[Fe(VI)], onde foram encontrados dois picos com diferentes tempos de retenção.

A análise dos perfis de fragmentação mostrou-se a mesma para os dois picos encontrados, indicando que a hidroxilação pode ter ocorrido em diferentes posições sobre o grupamento naftaleno, ou mesmo, um dos PD pode ter sofrido ruptura do anel aromático, como proposto anteriormente.

Uma indicativa da abertura do anel aromático do grupamento naftaleno foram os PD 294 e 296. O PD 296 apresenta 4 Da a mais que o PD 292 e 2 Da a mais que o PD 294, indicando que houve ruptura do anel aromático. O perfil de fragmentação do PD 296 pode ser observado na Figura 120 e confirma a abertura do anel aromático. Os fragmentos de m/z 134 e 116 indicam que a cadeia lateral ficou intacta e que a hidroxilação se deu sobre o grupamento naftaleno. Outro fragmento que indica a estrutura proposta é o de m/z 163 que indica Perda Neutra Constante de 133,3 Da.

Para uma confirmação mais precisa da estrutura proposta, isolou-se, ativou-se e fragmentou-se novamente o fragmento de maior intensidade (m/z 278,0) como íon precursor para MS³. Os fragmentos encontrados (dados não apresentados) reforçam a estrutura proposta.

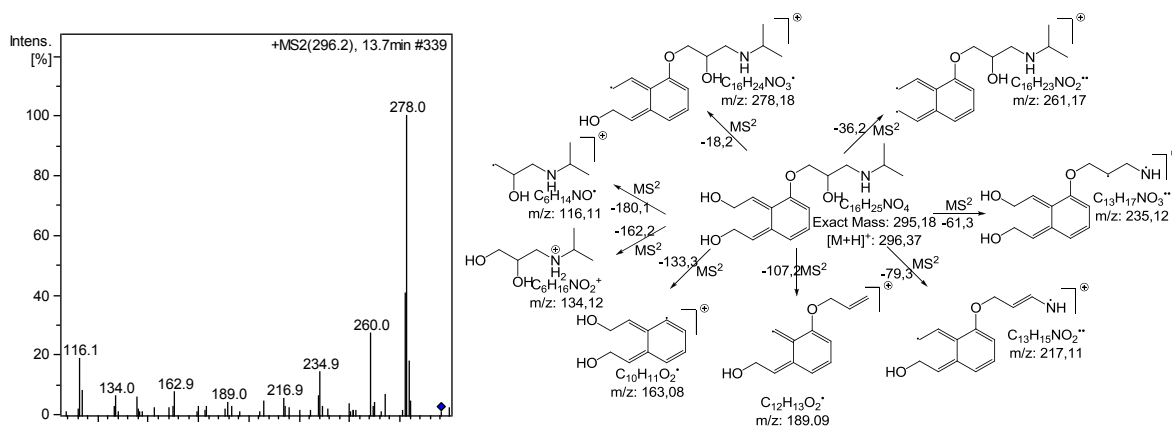


Figura 120. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 296.

O PD 294, elucidado na seção 10.3.5, indica que o PD 296 forma-se em um primeiro momento sendo posteriormente oxidado de C-OH a C=O por ação do íon FeO₄²⁻, ou mesmo, por ação de radicais livres formados pela decomposição de FeO₄²⁻ em água. Foram encontrados 2 picos com diferentes tempos de retenção (13,9 e 15,2 min) para o PD 294, porém nenhuma diferença nos perfis de fragmentação foi encontrado, indicando que podem apenas ser isômeros, ou seja, a abertura pode ter ocorrido em ambos os anéis aromáticos.

Outro PD encontrado que indica o grau de hidroxilação sobre a molécula de PRO foi o PD 308, que apresenta 48, 32 e 16 Da a mais que PRO, PD 276 e PD 292, respectivamente. O perfil de fragmentação (Figura 121) indica que as hidroxilações ocorreram sobre o grupamento naftaleno.

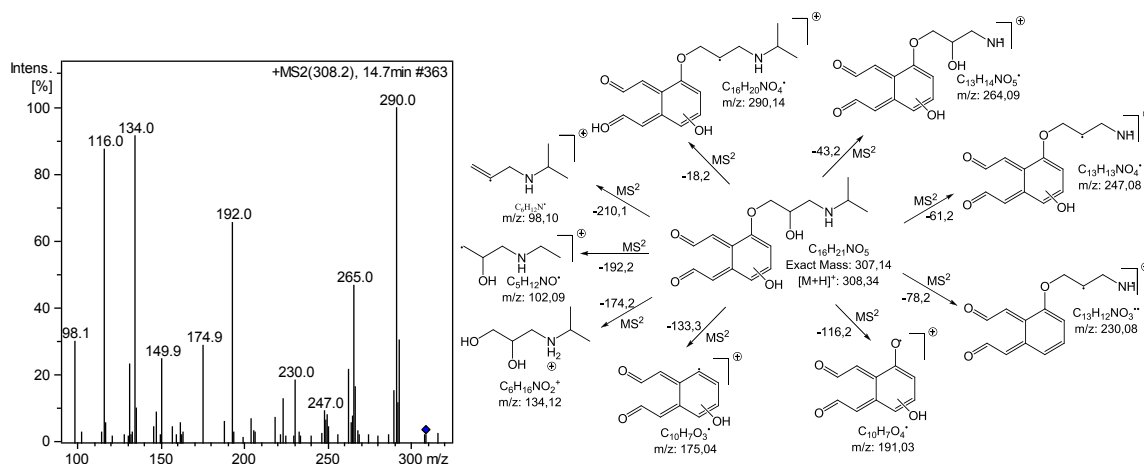


Figura 121. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 308.

O que reforça tal afirmação são os fragmentos característicos da cadeia lateral (m/z 134,0; 116,0 e 98,1). Da mesma forma que para o processo UV/H₂O₂ e UV/Fe²⁺ pode ter também ocorrido a quebra do anel aromático e a formação de aldeído, porém apenas com o perfil de fragmentação não se pode afirmar com confiança uma ou outra estrutura, portanto no presente estudo adotar-se-á ambas as estruturas como isômeros de possíveis PDs formados para o processo de oxidação-coagulação com Fe(VI).

O PD 310 possui 2 Da a mais que o PD 308, indicando correlação entre esses PDs. Cabe ressaltar que o PD 310 foi encontrado apenas para o processo conduzido na razão 1:1, sugerindo que mesmo para condições menos oxidantes, a abertura do anel aromático do grupamento naftaleno pode ocorrer. O perfil de fragmentação (Figura 122) mostra semelhanças ao perfil de fragmentação do PD 308, indicando que a estrutura é semelhante, alterando apenas a ligação de C-OH a C=O. Observando o acompanhamento da área do PD 310 (Figura 119 (A)) nota-se que PD 310 apresenta a maior área relativa encontrada para o processo conduzido na razão 1:1.

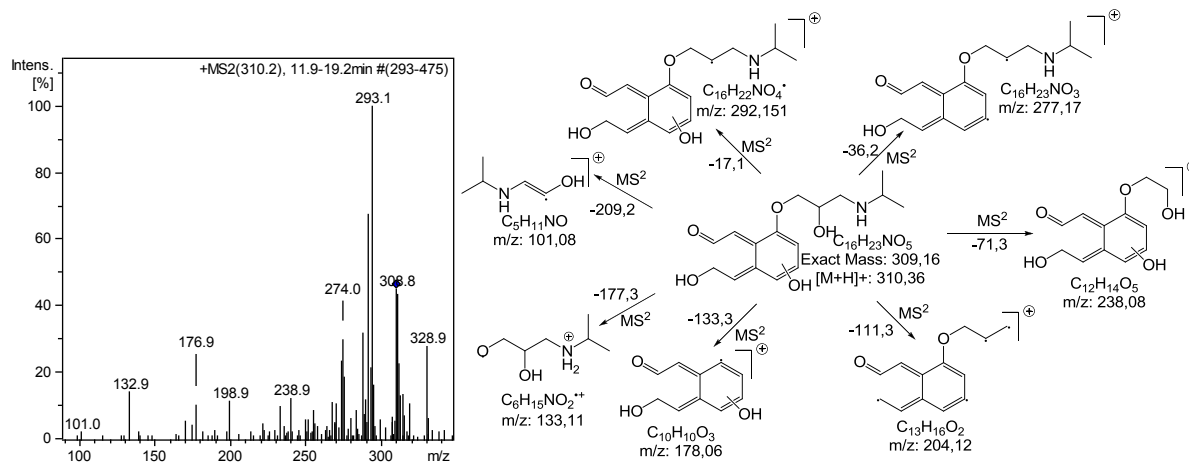


Figura 122. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 310.

O prosseguimento do processo de degradação produziu mais compostos hidroxilados, como os compostos PD 326 e PD 340. O PD 326 foi encontrado para as duas razões estudadas, enquanto o PD 340 foi encontrado apenas na razão 1:10 [PRO]:[Fe(VI)].

O presente estudo propõe que o PD 326 seja formado a partir do PD 308 com nova hidroxilação sobre o anel aromático. Foram encontrados dois picos com tempos de retenção distintos para esse PD (12,5 e 13,3 min) apenas para a razão 1:10 [PRO]:[Fe(VI)], enquanto que na razão 1:1 foi encontrado apenas um pico individual. O perfil de fragmentação para os dois picos encontrados não apresentou diferenças que possam levar a estruturas diferentes, tal como hidroxilação do grupamento amina secundária. Dessa forma, o presente estudo sugere-se que os diferentes picos encontrados remetem a isômeros, tais como abertura de um ou outro anel aromático do grupamento naftaleno.

Por meio da análise do perfil de fragmentação (Figura 123) não se pode afirmar com certeza em qual anel aromático do PD 310 possa ter ocorrido à abertura e, ademais, propõe-se que houve apenas hidroxilação. O fragmento de m/z 308,1 foi novamente isolado, ativado e fragmentado para MS^3 . O perfil de fragmentação encontrado para MS^3 (dados não apresentados) é igual ao próprio perfil de fragmentação do PD 308.

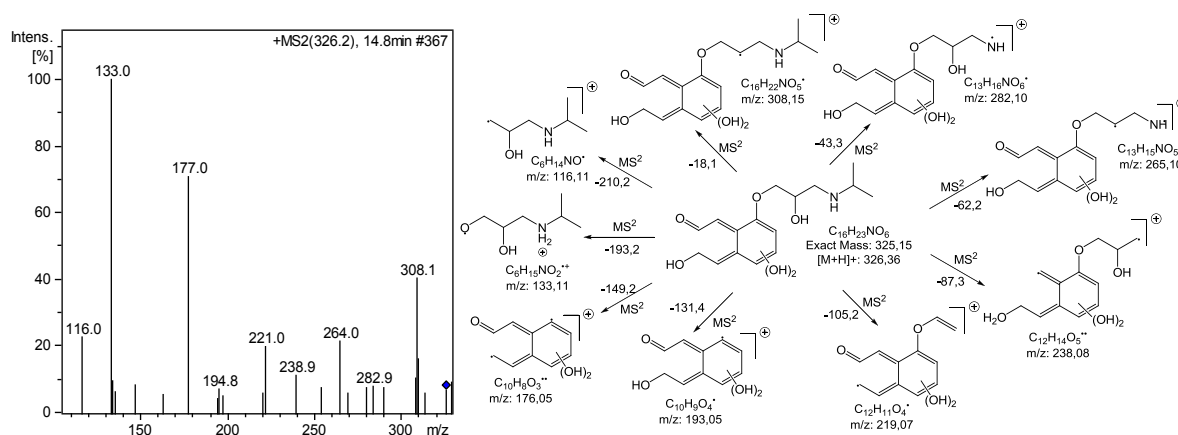


Figura 123. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 326.

Para o PD de maior m/z encontrado, PD 340, o presente estudo propõe que a hidroxilação ocorre sobre o grupamento amina secundária formando hidroxilamina. O perfil de fragmentação (Figura 124) mostra que ambos os anéis aromáticos foram abertos pelo processo de degradação.

O fragmento de m/z de maior intensidade (322,0) foi ainda isolado, ativado e fragmentado para MS^3 (dados não apresentados). A análise dos íons produtos reforçou a possibilidade da abertura de ambos os anéis, reiterando a estrutura proposta para o presente

PD. O acompanhamento da área do PD 340 (Figura 119) evidencia sua baixa ocorrência no processo.

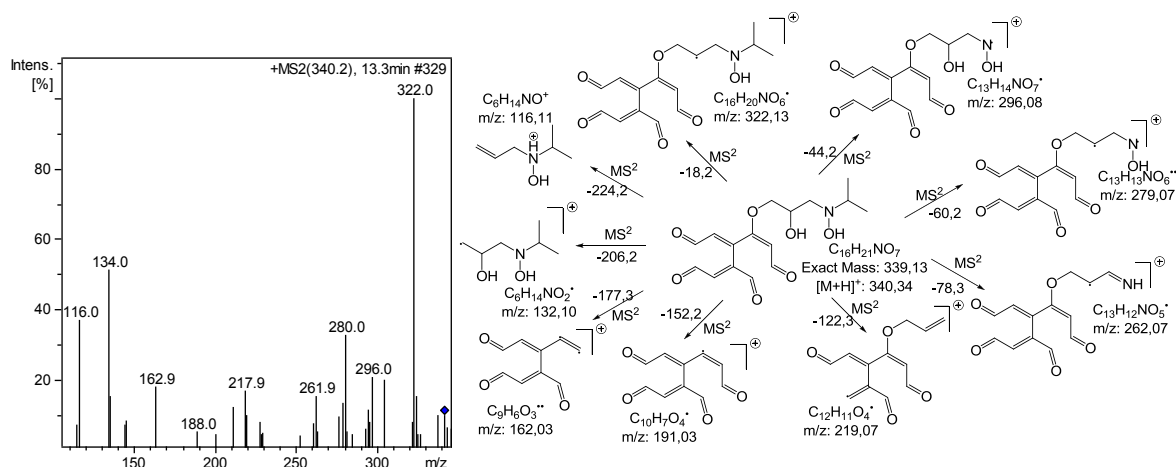


Figura 124. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 340.

Como evidenciado no acompanhamento da área de cada PD, alguns intermediários são formados e novamente degradados. A análise dos PDs de íon molecular $[M+H]^+$ de m/z 282,2; 266,3 (elucidados na seção 10.3.5) e 268,4; mostram que o processo de degradação prossegue por meio de descarboxilação dos PDs de maior m/z.

O PD 268, ainda não elucidado, apresenta 2 Da a mais que o PD 266 e, por meio da análise do perfil de fragmentação (Figura 125), pode-se notar a semelhança entre ambos. Os íons produto de m/z 116 e 133 confirmam que a cadeia lateral está intacta. Ainda os íons produto 249 e 206,9 caracterizam a perda de H₂O e H₂O e isopropila, respectivamente.

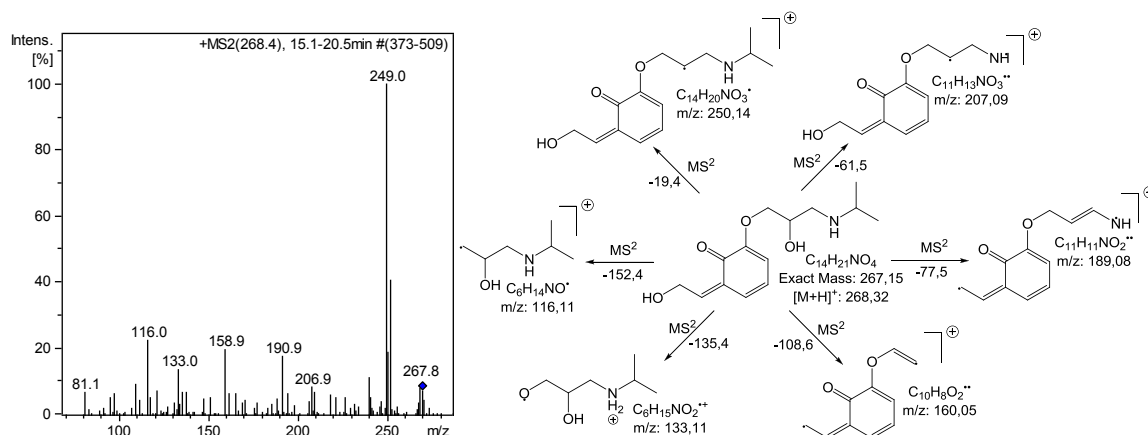


Figura 125. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminho de fragmentação para o PD 268.

Para o processo de degradação conduzido na razão 1:1 [PRO]:[Fe(VI)] apenas o PD 282 foi identificado, enquanto os PDs 268 e 266 foram encontrado para o processo conduzido

na razão 1:10 [PRO]:[Fe(VI)]. Isso pode corroborar para a interpretação de que o processo de descarboxilação é favorecido em processos mais oxidantes.

Ainda foram identificados 3 PDs resultantes da oxidação da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, PD 134, 132 e 116 (elucidados em seções anteriores).

11.2.8 Caminho de degradação de Propranolol por oxidação-coagulação com Fe(VI)

O grande número de PDs identificados para o processo de oxidação-coagulação de PRO com Fe(VI) mostra a complexidade deste processo e sugere a existência de vários caminhos oxidativos e redutivos baseados em várias etapas interconectadas paralela e consecutivamente. Deste modo, a tentativa da proposição de um caminho de degradação foi configurada na Figura 126 e as etapas de degradação propostas estão apresentadas em números romanos.

Em um primeiro momento (I) propõe-se que ocorre hidroxilação sobre o grupamento naftaleno, que pode ser por reação entre a molécula de PRO e o íon HFeO_4^- (predominante em pH inicial 7) ou por radicais $\text{HO}\cdot$, formados pela decomposição de Fe(VI) em água. Por conseguinte, ocorre nova etapa de hidroxilação (II) com subsequente abertura do anel benzênico formando isômeros. Abertura de anel aromático por consequência da ação de FeO_4^{2-} foi citado por Li et al. (2008) na degradação de bisfenol A e por Xu et al. (2009) na degradação de azo corante.

A subsequente abertura do anel acarreta em etapa de abstração de hidrogênio (III) com formação de aldeídos. Como citado anteriormente, essa etapa pode ser governada pelo íon FeO_4^{2-} , conhecido oxidante de álcoois a aldeídos e cetonas (Delaude & Laszlo, 1996), ou mesmo por radicais livres. O PD 292 já foi citado na literatura, e no presente estudo, como comum PD de PRO com e sem ruptura do anel aromático, por ozonização (Benner & Ternes, 2009b), fotólise (Liu & Williams, 2007), UV/TiO₂ (Romero et al., 2011; Yang et al., 2010).

Consecutivamente à abertura do anel aromático, ocorre a etapa IV com descarboxilação dos PDs 292, 294 e 296 formando os PDs 266 e 268. Essa etapa se baseia principalmente na ação de radicais hidroxila, pois o PD 266 foi também encontrado como intermediário para a degradação de PRO por UV/H₂O₂ e UV/Fe²⁺ (seção 10.3.5).

Concomitantemente à etapa de descarboxilação pode ocorrer outra etapa de hidroxilação (V) sobre os PDs 294 e 292 formando os PDs 308 e 310 ou, do mesmo modo que para os PDs 292, 294 e 296, pode ocorrer a oxidação a aldeído do PD 310 ao 308 por ação do íon FeO_4^{2-} . Assim como para os PDs 292, 294 e 296 pode, paralelamente a formação dos PDs 308 e 310, ocorrer sua descarboxilação originando o PD 282, etapa esta proposta no

presente estudo por ação radicalar, pois este PD também foi citado como intermediário da degradação de PRO por UV/H₂O₂ e UV/Fe²⁺ (seção 10.3.5).

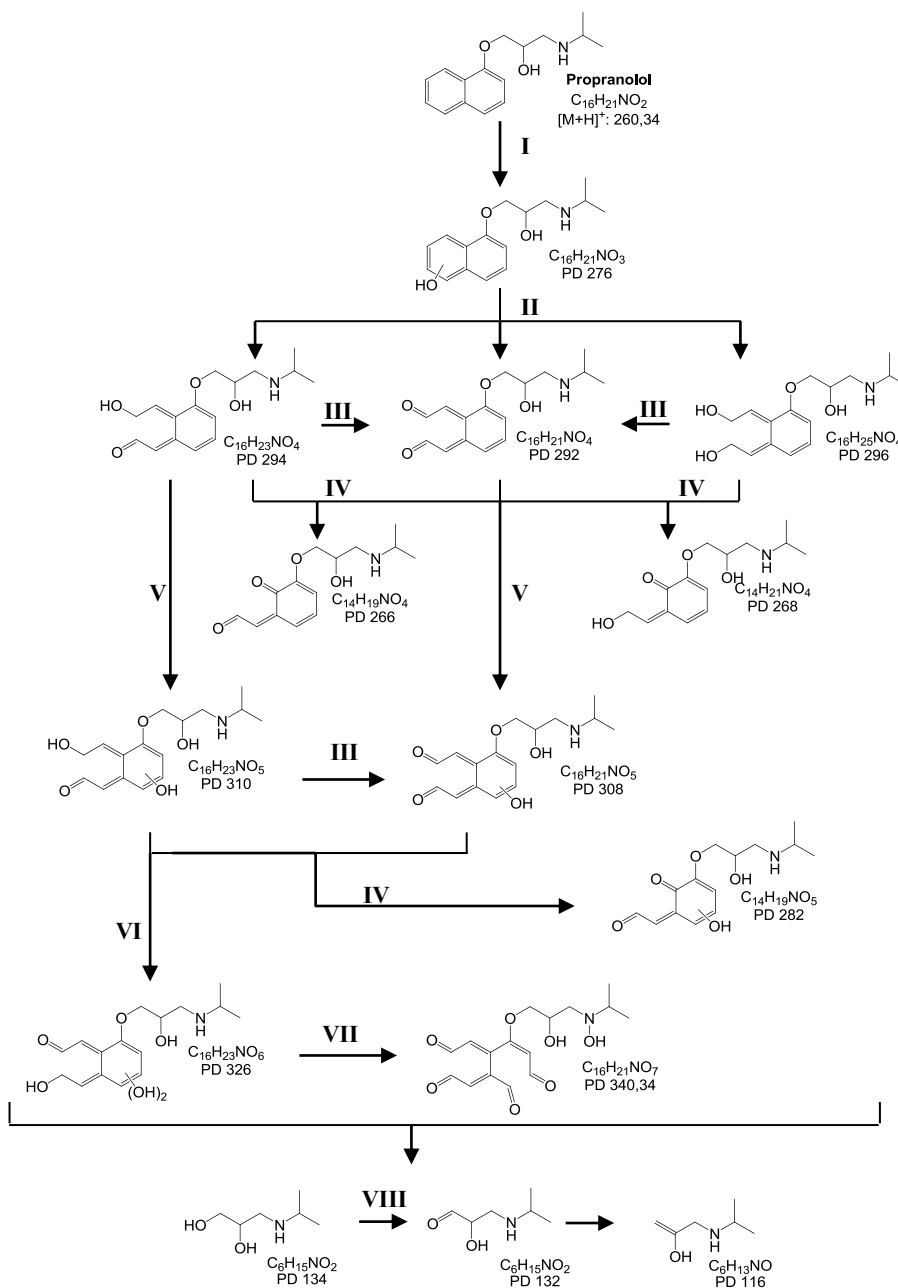


Figura 126. Caminho de degradação proposto para Propranolol em solução aquosa por oxidação-coagulação com Fe(VI) para as duas razões estudadas 1:1 e 1:10 mol L⁻¹:mol L⁻¹ [PRO]:[Fe(VI)], respectivamente. Condições de tratamento: [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 7, Temperatura 20 ± 1 °C.

Ocorrem ainda outras duas etapas de hidroxilação (VI e VII), a partir dos PDs 308 e 310 formando o PD 326, que pode, ou não, romper o outro anel aromático, e, a partir do PD 326, originar o PD 340, que o presente estudo propõe ocorrer ruptura do segundo anel aromático e hidroxilação sobre o grupamento amina secundária. Nenhuma diferença entre as estruturas com e sem a abertura do anel aromático para o PD 326 foram encontradas e o presente estudo propõe que possam ocorrer ambas como isômeros. A possibilidade da

formação de isômeros com diferentes tempos de retenção também foi citado na ozonização de PRO (Benner & Ternes, 2009b).

Por outro lado, a clivagem da ligação C-O do grupamento naftaleno à cadeia lateral também pode ocorrer (VIII), simultânea ou concomitante as demais etapas, formando os típicos PDs desse grupamento. Comparado aos outros processos baseados na geração de radicais hidroxila aqui estudados (Foto-Fenton, UV/H₂O₂ e UV/Fe²⁺) e no acompanhamento individual do PD 134 em função do tempo de processo, pode-se dizer que esse mecanismo somente é favorecido para altas concentrações de radicais livres, que não foi o caso do presente processo, e evidenciado na Figura 119, onde a área relativa encontrada para o PD 134 foi menor comparada a de outros processos aqui estudados.

Portanto, o processo de degradação de PRO por oxidação-coagulação com Fe(VI) se baseia no ataque ao grupamento naftaleno ligado à cadeia lateral característica de β-bloqueadores. Esse grupamento possui maior densidade de elétrons (ERM) para a reação com ambos oxidantes FeO₄²⁻ e HO·.

Cabe aqui também lembrar que, conforme citado por Rush & Bielski (1989), a decomposição de Fe(VI) → Fe(III) em água forma peróxido de hidrogênio. Desta forma, pode se dizer que processos tipo Fenton-*like* possam ocorrer, acarretando na formação de radicais HO·. Outro fato que reforça tal afirmação são alguns PDs encontrados para o processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em meio aquoso serem iguais aos PDs encontrado para o processo Foto-Fenton, UV/H₂O₂ e UV/Fe²⁺.

11.2.9 Avaliação da biodegradabilidade do PDs de Atenolol, Metoprolol Propranolol

Como os resultados encontrados para os processos conduzidos em solução aquosa não levaram a nenhuma mineralização, isto é, CO₂ e H₂O, e sim a uma ampla gama de PDs, estudos envolvendo a avaliação da biodegradabilidade pós-processo foi investigada.

As amostras de ATE, MET e PRO submetidas a tratamento por oxidação-coagulação com Fe(VI) foram coletadas pós processo para o teste de pronta biodegradabilidade por CBT, ou seja, apenas a amostra final, após 120 min de tratamento, foi analisada, o guia OECD 1992 e os resultados encontrados preencheram os critérios de validação da OECD.

Na Figura 127 (A) podem ser observados os resultados dos testes de biodegradação por CBT para a substância pura de ATE e para amostra pós 120 min de tratamento por oxidação-coagulação com Fe(VI). Para a amostra contendo apenas ATE não houve biodegradação, ou seja, ATE não é prontamente biodegradável, reiterando a necessidade de desenvolvimento de processos de degradação ou transformação a compostos biodegradáveis.

Como observado na seção 11.2.5, ATE foi degradado 71,74% após 120 min de processo, porém nenhuma mineralização foi detectada. Deste modo, conclui-se que após 120 min de processo apenas a mistura de PDs mais uma fração de ATE encontram-se em solução para o teste de pronta biodegradabilidade. A Figura 127 (B) mostra que após 120 min de tratamento foi alcançado 72,70% de biodegradação, ou seja, a mistura de PDs e a fração de ATE presentes no pós-tratamento mostraram-se prontamente biodegradáveis.

Como correlação entre a degradação de ATE por Fe(VI) e a pronta biodegradabilidade após 28 dias, pode ser inferido que 30% de ATE não degradado por tratamento com Fe(VI) e reiterado não ser prontamente biodegradável, é um dos responsáveis pela biodegradação não alcançar um patamar maior de biodegradabilidade, uma vez que o perfil de biodegradação da amostra pós-tratamento aparenta não atingir a fase de “lag”.

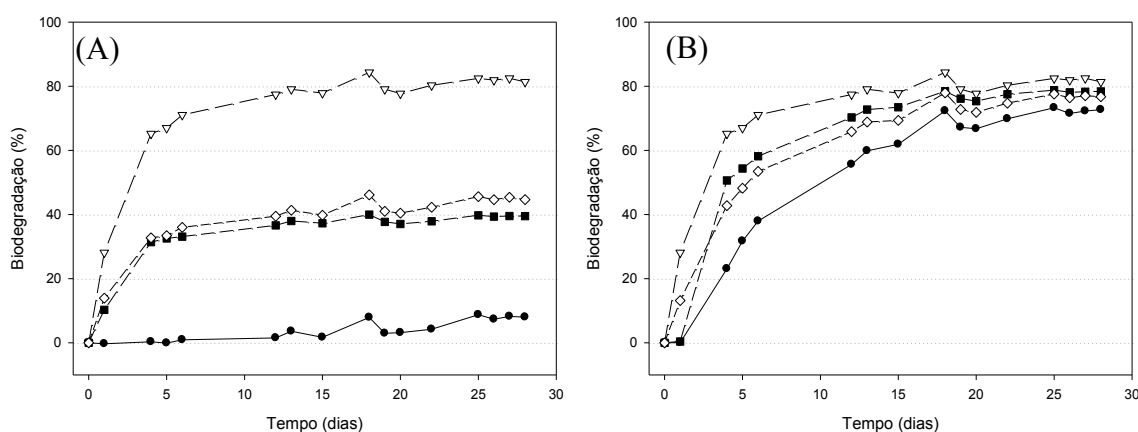


Figura 127. Biodegradação aeróbica por *Closed Bottle Test* (CBT) de (A) Atenolol, (B) Pós-Tratamento (120 min) por oxidação-coagulação com Fe(VI). (∇) Controle de qualidade (n=2), (\blacksquare) Controle de Toxicidade (medido) (n=2), (\diamond) Controle de Toxicidade (calculado) e (\bullet) Substância Testada (n=2). Condições de tratamento: [ATE]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹: mol L⁻¹, [ATE]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 7, Temperatura 20 ± 1 °C.

Relacionando os PDs identificados para o processo de degradação conduzido na razão 1:10 [ATE]:[Fe(VI)] aos resultados de biodegradação pode-se inferir que a transformação de ATE a outras substâncias conduziram a pronta biodegradabilidade dos PDs.

Como CBT usa baixa densidade bacteriana, de maneira geral os resultados obtidos podem ser extrapolados para comportamento em águas superficiais, ou seja, mesmo que lançados diretamente a um córrego após tratamento por Fe(VI). Cabe aqui ressaltar que foram identificados apenas PDs por LC-MS, ou seja, não foram identificados LMWOA, isto é, o tratamento com Fe(VI) pode ter também produzido, além dos PD identificados, uma gama de compostos de baixo peso molecular biodegradáveis.

Klopman & Tu (1997) citaram a pronta biodegradabilidade de anilina (aminobenzeno), porém não para compostos benzênicos contendo mais de um grupamento

amina. De acordo com os PDs identificados, a maioria sofreu a perda de um dos grupamentos amina ou acetoamida, deste modo, os resultados aqui expostos concordam em certo ponto com o exposto por Klopman & Tu (1997).

Os PDs identificados que ainda possuem ambos grupamentos amina e acetoamida mostram menor área relativa (Figura 108), enquanto que os PDs com maior área relativa PD 419, PD 387, PD 210, PD 194, apresentam apenas um grupamento amina e, ainda, grupamentos álcool, cetona e éter, além de dímeros encontrados. Embora a única informação a respeito dos PDs seja sua área relativa, de maneira grosseira pode ser correlacionada a sua concentração. Não foram retiradas amostras após 28 dias de teste para avaliação da possível biotransformação dos PDs pós CBT por LC-MS, ou mesmo da mineralização pós biodegradação por análise de COT.

Assim como para Atenolol, Metoprolol também se mostrou não prontamente biodegradável frente a CBT (Figura 128 (A)).

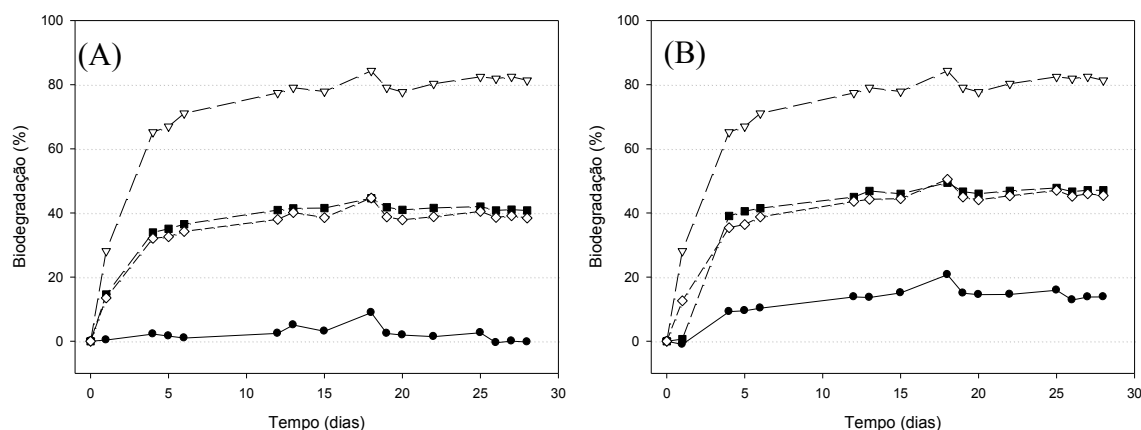


Figura 128. Biodegradação aeróbica por *Closed Bottle Test* (CBT) de (A) Metoprolol, (B) Pós-Tratamento (120 min) por oxidação-coagulação com Fe(VI). (∇) Controle de qualidade (n=2), (\blacksquare) Controle de Toxicidade (medido) (n=2), (\diamond) Controle de Toxicidade (calculado) e (\bullet) Substância Testada (n=2). Condições de tratamento: [MET]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹: mol L⁻¹, [MET]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 7, Temperatura 20 ± 1 °C.

Como MET foi degradado apenas 24,76% para a razão de 1:10 [MET]:[Fe(VI)], espera-se que a amostra pós processo também não apresente biodegradação e observando a Figura 128 (B), a mistura de MET e PDs encontrados mostraram-se realmente não prontamente biodegradáveis, apresentando apenas 13,82% de biodegradação. Esse comportamento se deve principalmente a presença de MET do que propriamente aos PDs identificados, pois apenas 24,76% de MET foi degradado no tratamento, estando intacto durante o teste de pronta biodegradabilidade por CBT.

A biodegradabilidade de Propranolol e após degradação por Fe(VI) pode ser observado na Figura 129 (A e B). Como já citado na seção 10.3.3, PRO mostrou-se

novamente não prontamente biodegradável, confirmando a reprodutibilidade deste tipo de teste.

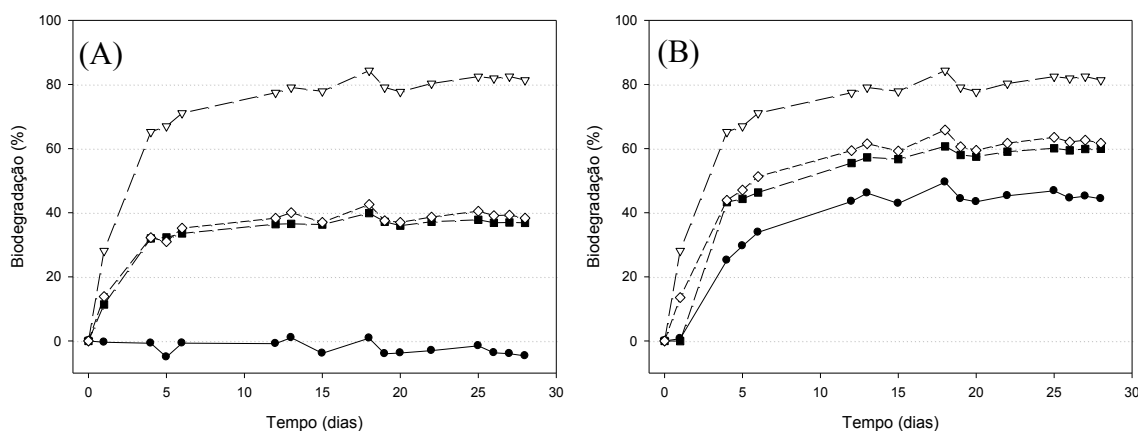


Figura 129. Biodegradação aeróbica por *Closed Bottle Test* (CBT) de (A) Propranolol, (B) Pós-Tratamento (120 min) por oxidação-coagulação com Fe(VI). (▽) Controle de qualidade (n=2), (■) Controle de Toxicidade (medido) (n=2), (◇) Controle de Toxicidade (calculado) e (●) Substância Testada (n=2). Condições de tratamento: [PRO]:[Fe(VI)] 1:10 mol L⁻¹: mol L⁻¹, [PRO]₀ 10 mg L⁻¹, pH₀ 7, Temperatura 20 ± 1 °C.

A amostra de PRO pós processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) também mostrou-se não prontamente biodegradável, alcançando 44,35% de biodegradação após 28 dias de teste quando o teste requer 60% de biodegradação para ser considerado prontamente biodegradável. O perfil apresentado pelo teste de biodegradabilidade aparenta atingir a fase de “lag” após 15 dias de teste.

Como PRO foi 96,55% degradado após 120 min de processo, pode-se dizer que a amostra submetida ao teste de pronta biodegradabilidade continha apenas os PDs identificados e, apesar de não identificados por LC-MS, LMWOA e alguns PDs provavelmente derivados do grupamento naftaleno, tais como naftóis, naftoquinonas identificados em outros processos de degradação (Yang et al., 2010; Isarain-Chávez et al., 2010).

Correlacionando os PDs identificados para a degradação de PRO por Fe(VI) com o resultado de biodegradabilidade, pode-se inferir que a complexa mistura de PDs formados apresenta parte biodegradável e parte não biodegradável. Como descrito na seção 11.2.8, parte dos PDs identificados podem ser isômeros com e sem abertura do grupamento naftaleno. Cabe ressaltar que para PRO, a particularidade de apresentar grupamento naftaleno caracteriza sua maior toxicidade, lipofilicidade e, também, não biodegradabilidade. Além disso, a quantidade de PDs hidroxilados e com grupamentos aldeído podem não ser biodegradáveis.

12 Ozonização e Ozonização catalítica aplicada à degradação de β -bloqueadores

12.1 Ozonização

O ozônio vem sendo usado no tratamento de água desde 1906 e devido a seu alto poder de oxidação e desinfecção, tem recebido muita atenção em tecnologias de tratamento de efluentes (Glaze, 1987; Gunten, 2003; Ternes et al., 2002). Uma das deficiências da ozonização convencional está na reação com compostos aromáticos inativos que, na maioria dos casos, não sofrem oxidação completa, resultando intermediários que podem apresentar toxicidade e mutagenicidade considerável (Sayato et al., 1987; Hibino et al., 1992).

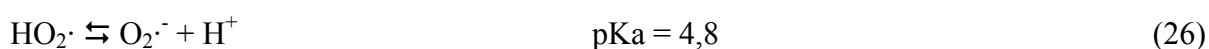
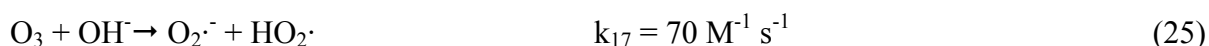
O ozônio é um poderoso oxidante ($E^\circ = 2,07$ eV, Tabela 8) e, devido a sua natureza dipolar, pode reagir como eletrófilo, agente nucleofílico ou em reações de adição dipolar (i.e. reação direta), com a maioria das espécies que possuem duplas ligações tais como C=C, C=N, N=N, etc. e não com compostos com ligações simples como C-C, C-O, O-H (Gogate & Pandit, 2004).

Em meio ácido, a formação de radicais hidroxila é limitada e a degradação de contaminantes se dá por meio da reação direta com ozônio molecular, que é uma reação seletiva com baixa cinética de reação ($1.0 - 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$) (Pera-Titus et al., 2004). No entanto, em meio alcalino o ozônio promove a geração de radicais, tais como radical hidroxila, aumentando a eficiência de degradação.

Usualmente em $\text{pH} < 4$ o principal mecanismo de reação do ozônio é a reação direta com compostos orgânicos, enquanto que para pH entre 4 e 9 ambos os mecanismos estão presentes, ozonização direta e por radicais. Em $\text{pH} > 9$ predomina o mecanismo de geração de radicais livres (Gunten, 2003). O mecanismo de geração de radicais pode ser dividido em três etapas principais, conforme descrito abaixo.

1ª Etapa: *Iniciação*

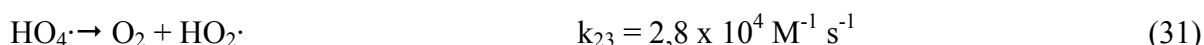
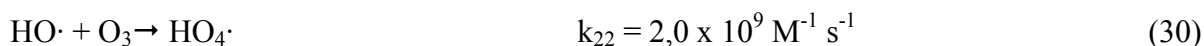
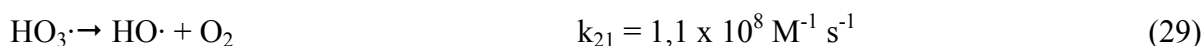
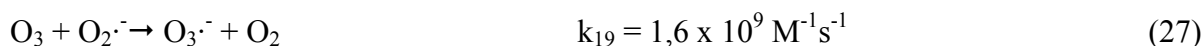
A reação entre íons hidroxila e ozônio promove a formação do ânion radicalar superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) e radicais hidroperoxila ($\text{HO}_2\cdot$), este último em equilíbrio ácido-base, Reações 25 e 26.



2ª Etapa: *Cadeia Radicalar*

O ânion radicalar ozonídeo ($\text{O}_3^{\cdot-}$), formado pela reação entre ozônio e o ânion radicalar superóxido (Reação 27), se decompõe imediatamente em radical hidroxila, que poder reagir

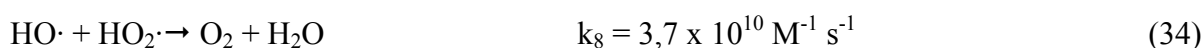
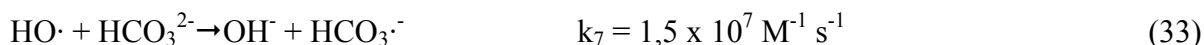
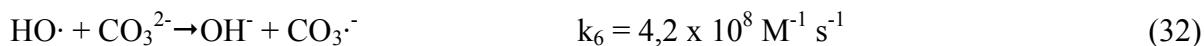
com compostos orgânicos, microcontaminantes ou mesmo com radical hidroxila, além de poder reagir com o próprio ozônio gerando $\text{HO}_4\cdot$, que decompõe-se gerando oxigênio e radical hidroperoxila (Reações 27–31) e, deste modo, a cadeia radicalar pode começar novamente (Reações 25 e 26).



Qualquer substância que reage com radicais hidroxila gerando $\text{O}_2\cdot^-$ e $\text{HO}_2\cdot$ promove a cadeia radicalar.

3ª Etapa: *Terminação*

Alguns compostos orgânicos (microcontaminantes) e inorgânicos podem reagir com radicais hidroxila formando radicais secundários, produtos degradados (Reações 24-27), interrompendo a geração de radicais $\text{O}_2\cdot^-$ e $\text{HO}_2\cdot$. Da mesma forma, a reação entre radicais pode promover o fim da cadeia radicalar de rações, como pode ser vistos nas reações 32-35. A combinação destes mecanismos pode ser observada na Figura 130.



Embora efetiva, a ozonização apresenta algumas desvantagens que limitam sua aplicação, dentre elas podem ser citadas sua baixa solubilidade, baixa transferência de massas (gás-líquido), alto custo para a geração de ozônio e, além disso, quando utilizado o mecanismo de oxidação direta reage seletivamente com compostos orgânicos (Kasprzyk-Hordern et al., 2003).

Portanto a combinação de ozônio com métodos que visam uma maior geração de radicais hidroxila têm sido estudada. Através do mecanismo de reação indireta da ozonização, os catalisadores, promovem a geração de radicais hidroxila, oxidante mais poderoso do que o próprio ozônio, levando à oxidação não seletiva de várias espécies. A ozonização catalítica pode, ainda, ser dividida em homogênea e heterogênea (Legube & Leitner, 1999; Kasprzyk-Hordern et al., 2003; Nawrocki & Kasprzyk-Hordern, 2010).

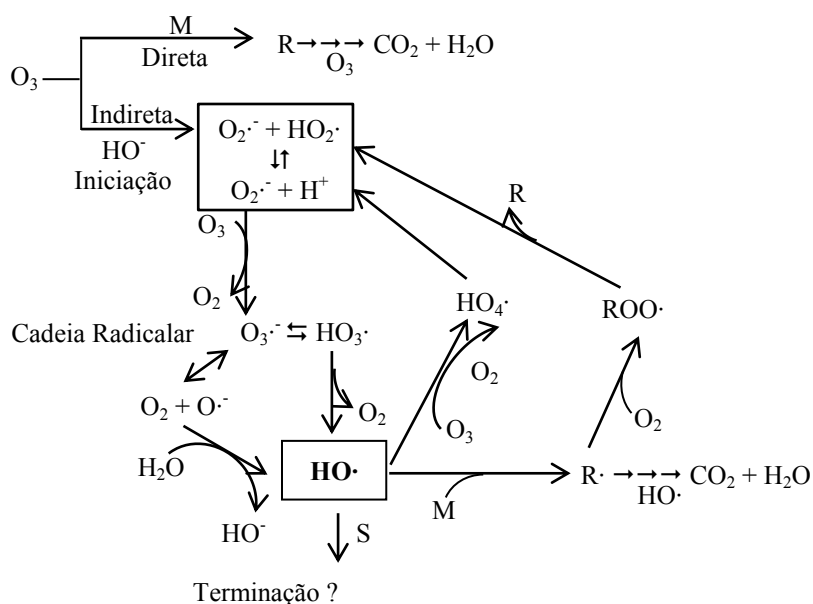


Figura 130. Mecanismo combinado da ozonização direta e indireta. Onde M: Microcontaminante, S: Sequestrante de radicais, R: Produto de degradação. Modificado de Gottschalk et al., 2000; Pera-Titus et al., 2004.

Ozonização de fármacos como microcontaminantes tem sido extensivamente estudada e pode ser consultada em artigos de revisão (Santiago-Esplugas et al., 2007; Sharma, 2008; Klavarioti et al., 2009).

12.2 Ozonização catalítica homogênea

A ozonização catalítica homogênea é baseada na ativação de ozônio por metais em solução. Os catalisadores propostos normalmente são metais de transição como o Fe(II), Mn(II), Ni(II), Co(II), Cd(II), Cu(II), Ag(I), Cr(III) e Zn(II). A natureza do metal aplicado determina não somente a velocidade de reação, mas também a seletividade e o consumo de ozônio.

O mecanismo desta reação é baseado na decomposição do ozônio seguida pela geração de radical hidroxila. Os íons dos metais de transição em solução iniciam a reação de decomposição da molécula de ozônio pela geração do radical ânion superoxila $O_2\cdot^-$. A transferência de um elétron do $O_2\cdot^-$ para o O_3 forma o radical ânion ozonídeo $O_3\cdot^-$ e subsequentemente o $HO\cdot$ (Kasprzyk-Hordern et al., 2003).

Dentre os metais mais usados para a catálise homogênea estão Fe(II) e Mn(II), que também encontram-se naturalmente em águas superficiais. Esses íons podem ser oxidados a óxidos facilmente por ozonização e, posteriormente, ser removido por simples filtração. O mecanismo O_3/Fe^{2+} , baseado na geração de radicais hidroxila, foi proposto conforme Reações 36-7 (Piera et al., 2000; Sauleda & Brillas, 2001).



FeO^{2+} pode também reagir com Fe^{2+} gerando íons Fe^{3+} (lentamente) terminando a cadeia de reação (Reação 38).



Segundo Kasprzyk-Hordern et al. (2003), geralmente dois principais processos podem ser considerados quando se leva em conta o hipotético mecanismo em ozonização catalítica homogênea: (1) decomposição de ozônio por espécies metálicas ativas seguidas pela geração de radicais livres e (2) formação de complexos entre o catalisador e os compostos orgânicos seguidos pela reação de oxidação final direta. De qualquer forma, tem de ser enfatizado que alguns fatores influenciam a eficiência e o mecanismo da ozonização catalítica homogênea, tais como pH da solução e a concentração dos reagentes.

Há ainda muitas controvérsias em ozonização catalítica homogênea e ainda não está completamente esclarecido se os catalisadores atuam decompondo ozônio formando radicais hidroxila (Nawrocki & Kasprzyk-Hordern, 2010).

12.3 Ozonização catalítica heterogênea

Os principais catalisadores propostos para este processo são óxidos metálicos (MnO_2 , TiO_2 e Al_2O_3), metais em suportes de óxidos metálicos ($\text{Cu-Al}_2\text{O}_3$, Cu-TiO_2 e Ru-CeO_2), óxidos metálicos em suportes de óxidos metálicos ($\text{TiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$, $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$) ou ainda carvão ativado (Kasprzyk-Hordern et al., 2003; Yang et al., 2009; Nawrocki & Kasprzyk-Hordern, 2010; Villaseñor et al., 2002)

A eficiência da ozonização catalítica depende em grande extensão do catalisador e das suas propriedades superficiais, como também do pH da solução, que influencia as propriedades dos sítios ativos do óxido metálico e as reações de decomposição do ozônio em solução aquosa (Kasprzyk-Hordern et al., 2003).

O ozônio e a molécula orgânica são transportados para a superfície do catalisador ocorrendo assim adsorção de ambos. Radicais $\text{HO}\cdot$ e O- radicais são gerados a partir da transferência de um elétron do $\text{O}_2\cdot^-$ para O_3 com formação do ânion radicalar ozonídeo ($\text{O}_3\cdot^-$), que, dependendo das condições do meio, irá produzir radical hidroxila.

Radicais livres podem iniciar a reação em cadeia na superfície do catalisador e em solução aquosa. Estes são continuamente gerados pelo o ozônio dissolvido, que é transferido para a superfície do catalisador. O mecanismo catalítico heterogêneo depende ainda a influência de vários processos físicos e químicos, como transferência de massa, dinâmica do

fluido, área da superfície interfacial, material da superfície, cinética química, temperatura, pH da solução e as propriedades da molécula orgânica do microcontaminante (Kasprzyk-Hordern et al., 2003; Legube & Leitner, 1999; Nawrocki & Kasprzyk-Hordern, 2010).

Embora a ozonização catalítica tenha recebido significativa atenção na remoção de contaminantes orgânicos, seus mecanismos, tanto para ozonização catalítica heterogênea quanto para a homogênea, são ainda um tanto desconhecidos. Um entendimento mais apurado dos mecanismos ainda é requerido.

12.4 Materiais e Métodos

12.4.1 Materiais e reagentes

Conforme descrito na seção 10.2.1.1.

12.4.2 Otimização da geração de ozônio

Em uma primeira fase de trabalho com ozônio torna-se necessário a otimização das condições de trabalho do ozonizador, uma vez que o ozônio deve ser gerado “*in situ*”. A otimização da geração de ozônio pode ser vista no Apêndice K.

12.4.3 Planejamento de experimentos

Os planejamentos de otimização do presente estudo foram baseados em RSM para duas variáveis independentes e cinco níveis de cada variável (-1,41, -1, 0, +1, +1,41), que foram escolhidas conforme Equação 39.

$$x_i = \left(\frac{X_i - X_i^0}{\Delta X_i} \right) \cdot \beta_d \quad (39)$$

Onde x_i é o valor codificado, X_i é o valor real da variável independente, X_i^0 é o valor real no ponto central, ΔX_i é a distância entre o valor real no ponto central e o valor real no ponto inferior ou superior de cada variável (e.g., -1 ou +1) e β_d é o maior valor limite codificado na matriz de cada variável (Bezerra et al., 2008).

Os dados experimentais obtidos foram ajustados pelo modelo polinomial de segunda-ordem seguindo a Equação 14 (seção 7.1.4).

Uma vez otimizada a geração de ozônio, o processo de ozonização catalítica visou otimizar as outras variáveis de processo como variáveis independentes pH (2-12) e $[\text{Fe}^{2+}]$ (17-590 mg L⁻¹). Para descrever o efeito das variáveis investigadas sobre o processo de degradação de β -bloqueadores por ozonização catalítica foram escolhidas como variáveis

dependentes a redução da DQO, Red. UV (λ 254 nm) e a degradação de cada β -bloqueador individual.

O número de experimentos foi calculado conforme Equação 11, perfazendo 9 experimentos e 3 replicatas do ponto central para cada planejamento para calcular o erro puro dos experimentos. Os experimentos foram feitos em ordem randômica para evitar erros atípicos relacionados com a combinação de níveis.

12.4.4 Ozonização e ozonização catalítica (O_3/Fe^{2+}) em Efluente Hospitalar

O sistema de ozonização empregado no presente estudo consistiu de reator semi-batelada tubular de 800 mL de vidro borosilicato (Figura 131). O gerador de ozônio utilizado foi o modelo experimental MV01 (Qualidor Saneamento Inc – Instituto tecnológico da Aeronáutica), com geração de ozônio pelo método corona (Glaze, 1987). Como fonte de oxigênio foi usado ar previamente seco pela passagem em tubo secante contendo Carvão Granulado Ativo (do inglês, *Granular Active Carbon* – GAC), Cloreto de cálcio ($CaCl_2$) e sílica gel. A mistura ar mais ozônio foi purgado e dispersado no fundo do reator em pequenas bolhas através de fritas de vidro sintetizado.

Para os testes de degradação em efluente hospitalar ('Efluente PA') as amostras foram coletadas e acondicionadas conforme descrito na seção 10.2.1.3.

O efluente foi enriquecido com os β -bloqueadores para a concentração final de $200 \mu g L^{-1}$. Após isso, as amostras foram ajustadas para pH 9, centrifugadas ($89 \times g$, 1000 rpm, Fanem, São Paulo, SP) e filtradas em filtro seringa de membrana de PTFE $0,45 \mu m$ (Chromafil[®] PTFE, www.macherey-nagel.com).

Os experimentos de ozonização e ozonização catalítica usando como catalisador Fe^{2+} ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) foram conduzidos em batelada de 800 mL e em temperatura ambiente (20 ± 2 °C). Para as análises em HPLC as amostras foram submetidas à *clean-up* por SPE (seção 7). Para os experimentos de ozonização variou-se apenas o pH do efluente de 3-11, enquanto que para o processo de ozonização catalítica as variáveis estudadas foram estabelecidas por planejamento baseado RSM descrito na seção 12.4.3.

12.4.4. Ozonização de β -bloqueadores em solução aquosa

Os experimentos em solução aquosa foram feitos em água destilada e deionizada no intervalo de pH de 3-11 ajustado com NaOH ($6 mol L^{-1}$) e H_2SO_4 (1:1 v/v) sem utilização de soluções tampões para controle de pH e à temperatura de 20 ± 2 °C. A concentração inicial de Atenolol, Metoprolol e Propranolol foi de $1 mg L^{-1}$. Para acompanhamento, amostras foram

retiradas em determinados intervalos de tempo e foram purgadas com N_2 para remoção de ozônio residual e analisadas por HPLC e LC-MS.

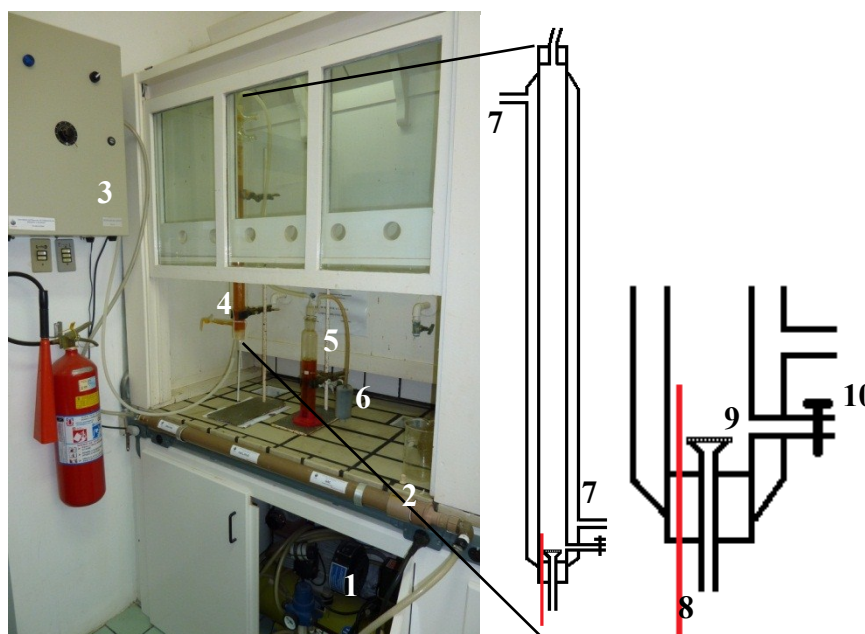


Figura 131. Sistema de tratamento utilizado nos processos de ozonização e ozonização catalítica. Onde (1) compressor de ar; (2) tubo com secantes (GAC + $CaCl_2$ + Sílica Gel); (3) gerador de ozônio; (4) Reator Semi-batelada Tubular ($h = 81$ cm, $\varnothing_i = 4$ cm), (5) frasco lavador para destruição de ozônio (KI/H_3BO_3) e (6) GAC. No detalhe: (7) entrada e saída de água para arrefecimento, (8) Termômetro, (9) Difusor de ozônio e (10) porta de amostragem.

12.4.5 Análises de DQO, Fe^{2+} e concentração por HPLC-FLD

O desempenho do processo foi avaliado analisando os parâmetros DQO (Standard Methods 5220D), concentração de ATE, MET e PRO e os PD formados (apenas para ozonização em solução aquosa). A DQO inicial da amostra de EH ('Efluente PA') submetida à ozonização e ozonização catalítica foi $354,0 \pm 3,31$ e $388,30 \pm 47,27$ $mg\ O_2\ L^{-1}$ para $n = 5$ e $n = 9$, respectivamente. Esses valores se enquadram dentro do intervalo de DQO citado por Martins, et al. (2008).

A degradação dos β -bloqueadores em EH foi acompanhada por HPLC-FLD conforme otimizado na seção 6.2.2. O decaimento da concentração de Fe^{2+} foi acompanhado espectrofotometricamente como descrito na seção 10.2.1.4.

12.4.6 Identificação dos Produtos de degradação por LC-MSⁿ

Os produtos de degradação (PDs) foram monitorados na Central Analítica da Universidade de São Paulo (CA-USP) por HPLC-MSⁿ com sistema de HPLC Shimadzu (www.shimadzu.com) equipado com bomba LC-AD vp, Detector UV-Vis SPD-M10A vp, injetor automático SIL-10AF acoplado a espectrômetro de massas Esquire 3000plus Ion Trap

com fonte de ionização por eletrospray ortogonal (Brüker Daltonics, www.bdal.com). A separação dos PDs foi feita por coluna de fase reversa C18 (Phenomenex Luna 5u, 250 x 4,6 mm - 5 μm) e pré-coluna (Phenomenex 5u, 50 x 10 mm - 5 μm) da Phenomenex (www.phenomenex.com).

De modo a determinar os PDs do Atenolol (A), Metoprolol (B) e Propranolol (C) por ozonização foram injetados 50 μL de amostra e usou-se diferentes gradientes onde o Solvente A foi H_2O Ultra pura acidificada com 0,1% (v/v) de ác. fórmico e o Solvente B foi Acetonitrila com fluxo de 1 mL min^{-1} , como descrito na seção 10.2.1.6, ajustado para coluna de 250 mm.

12.5 Resultados e Discussão

12.5.1 Degradação de β -bloqueadores em Efluente Hospitalar por ozonização catalítica ($\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$)

As variáveis, os níveis e as respostas obtidas para a Red_{DQO} , remoção de compostos aromáticos e degradação de β -bloqueadores em EH por ozonização catalítica com Fe^{2+} podem ser observadas na Tabela 20.

Tabela 20. Planejamento por RSM para o processo ozonização catalítica com Fe^{2+} para a degradação de ATE, MET e PRO e remoção de DQO e Aromaticidade (UV_{254}) em EH. Condições iniciais: 800 mL, $[\text{BB}]_0 200 \mu\text{g L}^{-1}$, $[\text{O}_3]_0 380 \pm 20 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, 120 min de tratamento, Temp. $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Cód.	↓ Variáveis		Níveis→				
			-1,41	- 1	0	+ 1	+1,41
X_1	pH		2,76	4	7	10	11,24
X_2	$[\text{Fe}^{2+}]$ (mg L^{-1})		17,15	100	300	500	582,8
Exp.	$[\text{Fe}^{2+}]$ (mg L^{-1})	pH	Red_{DQO} (%)	Red. UV_{254} (%)	Deg. _{ATE} (%)	Deg. _{MET} (%)	Deg. _{PRO} (%)
1	100 (-1)	4 (-1)	44,3	54,9	98,8	93,6	80,9
2	100 (-1)	10 (1)	28,9	47,3	94,1	99,4	85,0
3	500 (1)	4 (-1)	45,9	75,9	86,4	79,7	68,7
4	500 (1)	10 (1)	35,2	74,7	97,0	100	98,3
5	17,15 (-1,41)	7 (0)	33,5	31,9	95,4	86,5	95,3
6	582,84 (1,41)	7 (0)	26,2	73,8	97,2	98,5	89,9
7	300 (0)	2,75 (-1,41)	49,1	77,9	92,1	97,9	87,7
8	300 (0)	11,24 (1,41)	4,18	58,1	93,2	100	100
9 (C)	300 (0)	7 (0)	26,4	68,5	100	91,1	90,6
10 (C)	300 (0)	7 (0)	32,3	65,7	94,1	100	90,1
11 (C)	300 (0)	7 (0)	29,4	62,0	100	100	82,9

Observando os resultados na Tabela 20 nota-se que a ozonização catalítica com Fe^{2+} do EH alcançou o máximo de 49,13% de remoção da DQO em pH ácido. Embora a remoção de matéria orgânica do efluente tenha alcançado o máximo de 49%, a redução da aromaticidade, medida na banda UV_{254} foi de 77,90% demonstrando que uma grande parte

dos anéis aromáticos presentes no efluente foi degradada, ou seja, transformada a LMWOA. A degradação individual de cada β -bloqueador mostra que o processo de ozonização catalítica foi eficiente para a mitigação destes contaminantes emergentes, pois alcançou a completa degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol.

12.5.1.1 Ajuste do modelo e análise estatística

A replicata do ponto central para a Redução da DQO e de UV_{254} evidencia que o erro puro do processo foi baixo para esses dois parâmetros. A replicata da Red_{DQO} e redução da aromaticidade mostra diferença de apenas 5 e 6% para ambas replicatas com variância de 8,8 e 10,4%, respectivamente. A degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol mostrou-se mais complexa com diferença de 6, 9 e 8% para ATE, MET e PRO, para variâncias de 11,5; 26,28 e 18,23%, respectivamente, evidenciando a complexidade de ajustar a ozonização catalítica com Fe^{2+} para diferentes pH e concentrações de catalisador. Uma plausível explicação para essa complexidade será reportada no decorrer do texto.

O diagrama de Pareto (Figura 132) mostra o efeito das variáveis de processo sobre a eficiência de O_3/Fe^{2+} no intervalo de 95% de confiança. Como pode ser observado o processo de ozonização catalítica é um processo de difícil ajuste devido aos diferentes fenômenos envolvidos, tais como transferência gás-líquido e para sistema heterogêneo, que pode ser formado em pH elevados, gás-líquido-sólido, que será esclarecido posteriormente.

De acordo com os diagramas de Pareto, cada variável dependente, ou seja, Red_{DQO} , $Red_{UV_{254}}$, Red_{ATE} , Red_{MET} e Red_{PRO} , apresenta comportamento diferente frente a variação das variáveis independentes pH e $[Fe^{2+}]$. A variável que exerceu maior influência sobre a remoção de matéria orgânica do EH foi o pH com resposta negativa, isto é, o aumento do pH de valores ácidos para alcalinos diminui a eficiência da Red_{DQO} . A redução da aromaticidade do efluente também mostrou dependência negativa do pH assim como para a Red_{DQO} , porém a variável de maior influência foi a concentração de Fe^{2+} como catalisador.

Dentre os β -bloqueadores estudados apenas a degradação de ATE mostrou ser influenciada pelas variáveis estudadas dentro do intervalo de confiança de 95%. A Deg_{ATE} mostrou-se dependente da interação entre pH e $[Fe^{2+}]$ para valores positivos, isto é, a tendência de aumentar ambas as variáveis conjuntamente conduz a maiores degradações. Metoprolol e Propranolol mostraram-se suscetíveis a degradação por ozonização catalítica independente da variação do pH e $[Fe^{2+}]$.

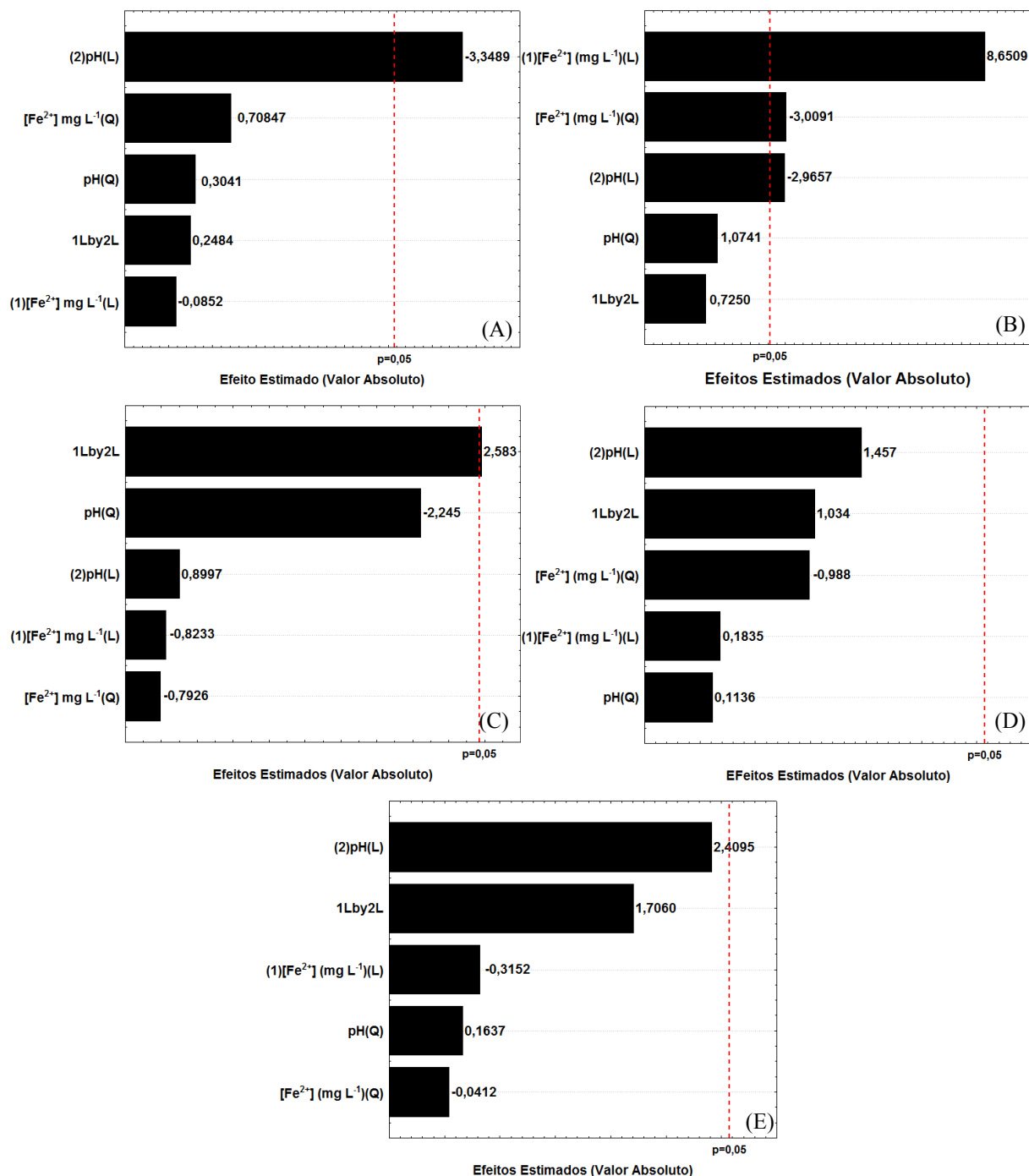


Figura 132. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) para a ozonização catalítica com Fe^{2+} . (A) Redução da DQO, (B) Redução UV 254 nm e Degradação de (C) Atenolol, (D) Metoprolol, (E) Propranolol. Linha vertical no diagrama define o nível de 95% de confiança, (L) significa variável linear e (Q) significa variável Quadrática.

De acordo com o diagrama de Pareto, as equações quadráticas de regressão para os modelos de respostas são representado nas Equações 40-42.

$$Red_{DQO}(\%) = 72,98 - 6,20X_1 \quad (40)$$

$$Red_{UV_{254}}(\%) = 59,84 + 0,1323X_2 - 0,00014X_2^2 \quad (41)$$

$$Deg_{ATE}(\%) = 93,1 + 0,0064X_1X_2 \quad (42)$$

Onde X_1 e X_1^2 representa as variáveis linear e quadrática para o pH e X_2 e X_2^2 as variáveis linear e quadrática para $[\text{Fe}(\text{VI})]$. Os coeficientes de regressão de cada modelo foram 0,7023; 0,9512; 0,7257 para Red_{DQO} , $\text{Red}_{\text{UV254}}$, Deg_{ATE} , respectivamente. As tabelas de ANOVA para o processo de $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$ podem ser vistas no Apêndice L.

12.5.1.2 Análises das Superfícies de Resposta

As superfícies de resposta (representados na forma de diagramas de contorno) para $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$ de EH estão representadas na Figura 133. A remoção de matéria orgânica do efluente está representada na Figura 133 (A), onde pode ser observado claramente a dependência do pH da solução sobre a eficiência da Red_{DQO} . Com o aumento do pH observa-se a diminuição da eficiência sobre a Red_{DQO} do EH. A dependência do pH e a adição de metais de transição promove efeitos sinérgicos positivos para a remoção de matéria orgânica e está diretamente correlacionado ao mecanismo de geração de radicais hidroxila, conforme Reações 28 e 29, e a ação direta de ozônio em pH ácido, devido a sua maior estabilidade nesse intervalo de pH.

Além das reações acima citadas para pH ácido, a geração de radicais hidroxila por $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$ pode seguir também outro caminho conforme a Reações 40 e 41. O Fe^{2+} sofre oxidação a íon férrico formando o radical O_3^- , que em meio ácido forma o intermediário HO_3^- , que, conforme a cadeia radicalar (Figura 130), se decompõe em radicais hidroxila e O_2 aumentando a geração de radicais hidroxila (Legube & Leitner, 1999).



Como observado no acompanhamento da evolução do pH (Figura 134) há diminuição do pH com o prosseguir do processo. Esse comportamento está relacionado provavelmente à formação de LMWOA que se formam com a degradação da matéria orgânica como pode ser observado para a remoção da matéria orgânica e, principalmente pela diminuição da aromaticidade do EH.

A superfície de resposta para a redução da aromaticidade do EH por $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$ pode ser observada na Figura 133 (B), onde pode ser visto comportamento semelhante à Red_{DQO} . Essa correlação também foi reportada por (Nanaboina & Korshin, 2010) que correlacionou a degradação de fármacos e da matéria orgânica à redução da absorvância de efluentes ozonizados.

A $\text{Red}_{\text{UV254}}$ foi o parâmetro que mais mostrou dependência das variáveis de processo pH e $[\text{Fe}^{2+}]$ e como pode ser visto as maiores eficiências foram encontradas para pH ácidos e para maiores concentrações de $[\text{Fe}^{2+}]$. Altas eficiências foram também encontradas em altas

concentrações de $[\text{Fe}^{2+}]$ mesmo para pH alcalinos. A rápida diminuição do pH no decorrer do processo de $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$ quando pH inicial foi alcalino demonstra a rápida formação de LMWOA. Cabe aqui ressaltar que em pH alcalinos domina o mecanismo de produção de radicais hidroxila, tanto pela ozonização quanto pela catálise.

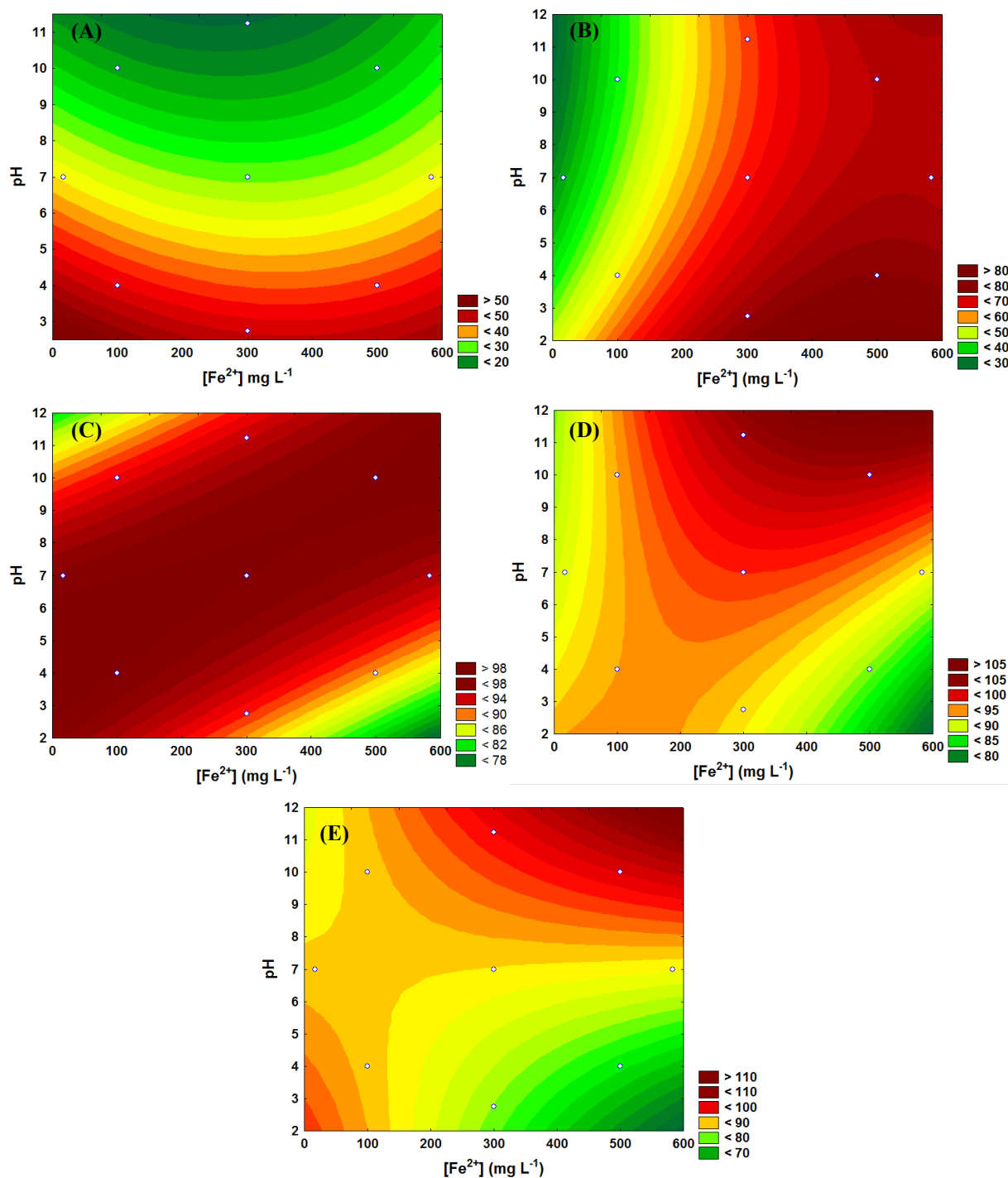


Figura 133. Diagrama de Contorno para a ozonização catalítica de EH com Fe^{2+} . Condições: 800 mL, $[\text{BB}]$ 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, 120 min de tratamento. (A) Redução da DQO – pH vs $[\text{Fe}^{2+}]$ e (B) UV_{254} – pH vs $[\text{Fe}^{2+}]$ e Degradação de (C) Atenolol – pH vs $[\text{Fe}^{2+}]$, (D) Metoprolol – pH vs $[\text{Fe}^{2+}]$, (E) Propranolol – pH vs $[\text{Fe}^{2+}]$. Condições iniciais: 800 mL, $[\text{BB}]_0$ 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, $[\text{O}_3]_0$ 380 \pm 20 $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$, 120 min de tratamento, Temp. 20 \pm 2 $^\circ\text{C}$.

A superfície de resposta da degradação de ATE (Figura 133 (C)) mostra claramente a dependência de ambas as variáveis conjugadas conforme citado pelo diagrama de Pareto. Como observado a máxima degradação segue uma “linha” de pH ácidos e menores concentrações de $[\text{Fe}^{2+}]$ para pH alcalinos e altas concentrações de $[\text{Fe}^{2+}]$.

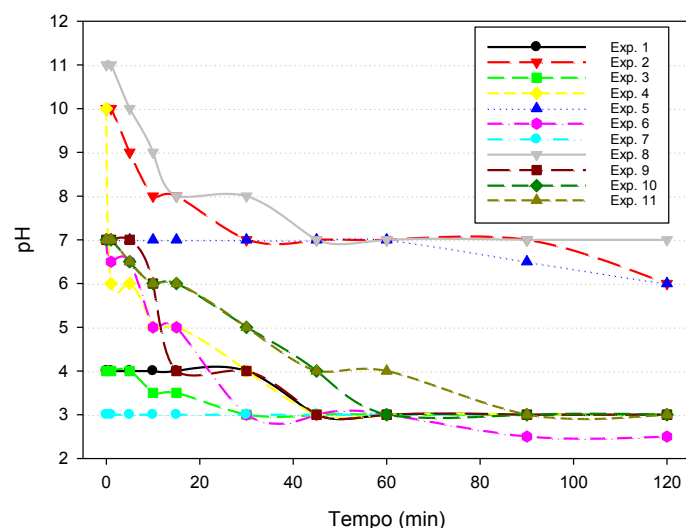


Figura 134. Evolução do pH durante o processo de ozonização catalítica de EH com Fe^{2+} . Condições iniciais: 800 mL, $[\text{BB}]_0$ 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, $[\text{O}_3]_0$ 380 \pm 20 $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$, 120 min de tratamento, Temp. 20 \pm 2 $^\circ\text{C}$.

Apesar de nenhuma variável apresentar significância estatística sobre a degradação de MET e PRO a Figura 133 (D) e (E) mostram que as maiores degradações foram alcançadas em pH alcalinos para maiores concentrações de $[\text{Fe}^{2+}]$. Uma plausível explicação para esse comportamento pode estar relacionada a característica físico-química de MET e PRO em pH alcalinos, em especial para pH acima de 9, onde a espécie predominante é a espécies neutra e, nessas condições e exposto anteriormente, essas espécies podem sofrer ataque radicalar tanto no anel aromático quanto no grupamento amina secundária.

Outra característica importante a salientar para o processo $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$ é o comportamento dos íons ferrosos em função do tempo de processo (Figura 135). Como pode ser observado para concentrações elevadas de íons ferrosos, houve um período de estabilidade, onde nenhuma conversão a íons férricos foi observada, ou seja, em altas concentrações de íons ferrosos pode ter ocorrido efeito inibitório sobre a catálise do ozônio. O efeito inibitório da concentração de ferro como catalisador também foi citado por Park et al. (2004) que estudou a decomposição de ozônio sobre FeOOH .

Experimentalmente a adição de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ em solução foi feita antes da adição de ozônio e em pH alcalinos (10 e 11,24) houve formação direta de coloides no efluente. Deste

modo, pode-se dizer que o processo ocorreu heterogeneamente, retardando o processo catalítico, principalmente para altas concentrações de Fe^{2+} .

Com o decaimento da concentração de íons ferrosos ocorre o acúmulo de íon férricos dependentes do pH. Para pH entre 6-9 há predominância da espécie férrica $\text{Fe}(\text{OH})_3$, que forma precipitado coloidal em solução, resultando em processo catalítico heterogêneo, além é claro do processo de coagulação (Figura 30).

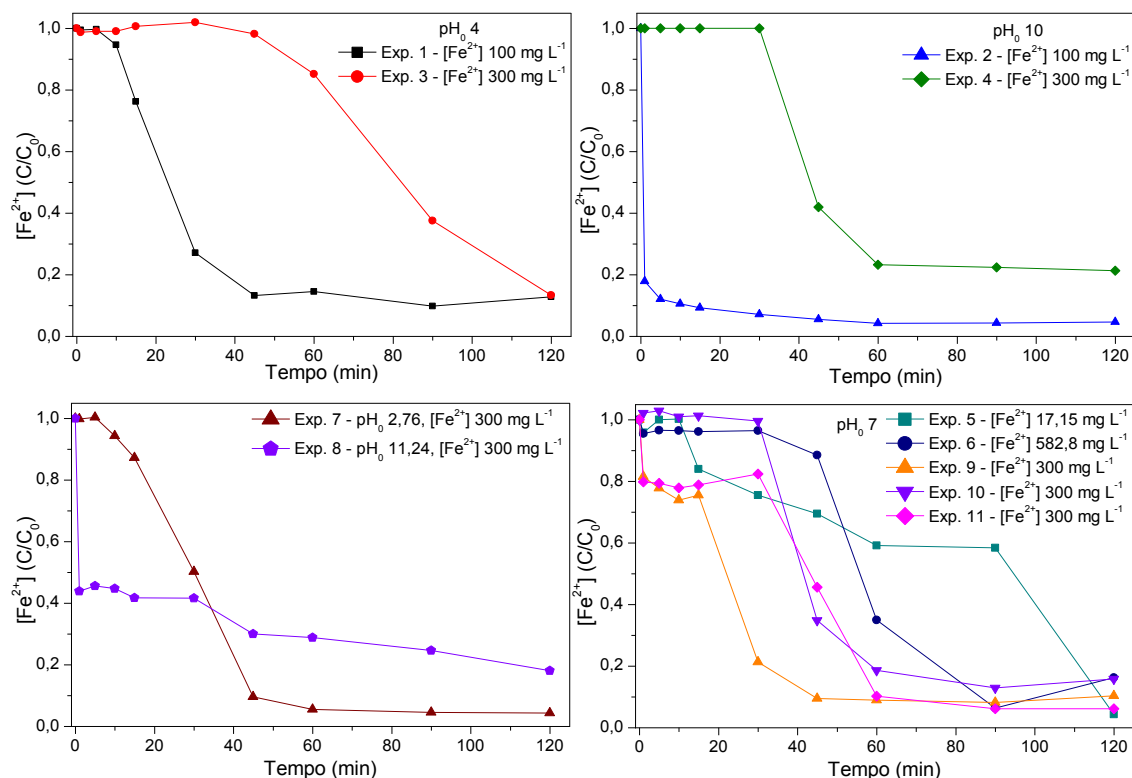
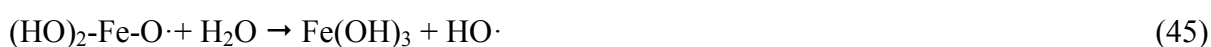


Figura 135. Acompanhamento do decaimento da concentração de Fe^{2+} durante o processo $\text{O}_3/\text{Fe}^{2+}$ na degradação de EH. Condições iniciais: 800 mL, $[\text{BB}]_0$ $200 \mu\text{g L}^{-1}$, $[\text{O}_3]_0$ $380 \pm 20 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, 120 min de tratamento, Temp. $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Para os experimentos com pH inicial alcalino observa-se a diminuição do pH inicial para pH final próximo a 6. Nessas condições, um mecanismo baseado em Sui et al. (2010) que reportou a reação de FeOOH com O_3 , e para o presente estudo adaptado para a forma coloidal de $\text{Fe}(\text{OH})_3$, o principal mecanismo de formação de radicais hidroxila é por meio de catálise heterogênea sobre a superfícies do colóide de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ em solução (Reações 43-45).



A inibição resultante do excesso de íons ferrosos influenciou principalmente a degradação dos β -bloqueadores estudados retardando a degradação, como observado na Figura 136.

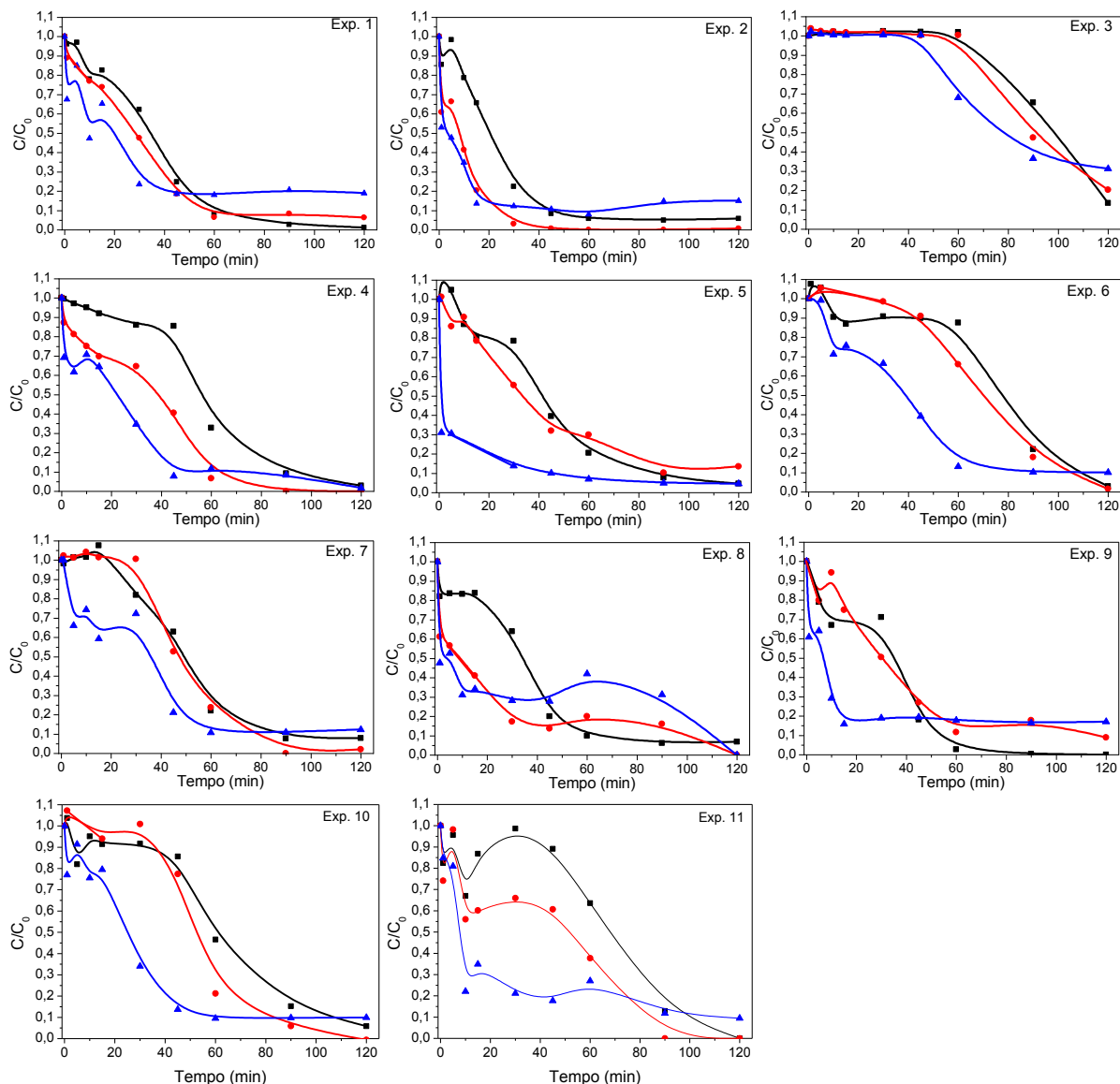


Figura 136. Degradação de β -bloqueadores (■) Atenolol, (●) Metoprolol e (▲) Propranolol em EH por O_3/Fe^{2+} . Condições iniciais: 800 mL, $[BB]_0$ 200 $\mu g L^{-1}$, $[O_3]_0$ 380 \pm 20 $mg L^{-1} h^{-1}$, 120 min de tratamento, Temp. 20 \pm 2 $^\circ C$.

O decaimento da concentração de ATE, MET e PRO segue o mesmo perfil dos íons ferrosos, ou seja, a degradação de ATE, MET e PRO dependeu principalmente do processo catalítico e pode-se também dizer que a reação molecular direta da ozonização exerceu pouca influência sobre a degradação.

Como observado na Figura 136 o comportamento apresentado da degradação de β -bloqueadores foi o mesmo que o apresentado no processo de oxidação-coagulação com Fe(VI), evidenciando que a oscilação é causada principalmente pelo processo de coagulação resultante da formação de íons férricos. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO pode ser observado no Apêndice M (Figura 175).

A dificuldade em ajustar a degradação por O_3/Fe^{2+} na ampla faixa das variáveis estudadas pode estar correlacionado aos diferentes mecanismos de oxidação envolvidos, pois

em pH ácidos a geração de radicais livres, como radicais HO·, esta diretamente relacionado a eficiência da transferência gás-líquido e a competição entre o catalisador e a matéria orgânica do efluente pelo ozônio, enquanto que para o processo de catálise conduzido em pH alcalinos e por conseguinte formação de condições predominantemente heterogêneas, resultando em processo de transferência de massa envolvendo as três fases gás-líquido-sólido.

Skoumal et al. (2006) reportaram ainda a formação de H₂O₂ durante o processo de O₃/Fe²⁺ para a degradação de paracetamol, ressaltando ainda mais a complexidade deste processo.

12.5.2 Ozonização de β-bloqueadores

Como o pH é o mais importante fator sobre o mecanismo de ozonização, este parâmetro foi escolhido para ser estudado, uma vez que o fluxo e a concentração de ozônio foram otimizadas anteriormente.

Os experimentos de ozonização de β-bloqueadores em solução aquosa e em efluente hospitalar foram conduzidos em diferentes pH de 3 a 11, sem uso de tampões para controle do pH, com as condições de operação otimizadas para a geração de ozônio. A concentração inicial dos β-bloqueadores para os experimentos em solução aquosa foi de 1 mg L⁻¹ e os experimentos foram feitos separadamente para cada β-bloqueador.

Todos os β-bloqueadores foram degradados em no máximo 10 min de ozonização. A degradação de ATE, MET e PRO em solução aquosa pode ser observada na Figura 137. A Figura 137 (A) mostra a degradação de ATE em função dos diferentes pH iniciais e, como pode ser visto, o aumento do pH aumenta a degradação de ATE, mas pouca diferença foi observada no intervalo de pH de 7-11.

MET e PRO apresentaram comportamento semelhante entre si, mas diferentes de ATE como pode ser visto na Figura 137 (B) e (C), onde pode ser observado que a degradação foi mais rápida em pH ácidos.

O comportamento para MET e PRO é contraditório ao esperado, pois em pH ácidos espera-se principalmente o mecanismo de degradação por ozonização, que reage seletivamente em função do pH, enquanto que em pH alcalinos espera-se a formação preferencial de radicais hidroxila.

Ozônio é um eletrófilo altamente seletivo e os β-bloqueadores investigados contêm dois sítios reativos para reação com ozônio, anel aromático e amina secundária (Tabela 21). A reação entre ozônio e as estruturas aromáticas independe do pH, mas por outro lado a reação entre ozônio, ou mesmo radicais hidroxila, sobre o grupamento amina secundária depende do

pH, sendo amina citado por Hoigne & Bader (1983) como não reativos quando protonados. Assim, a reação do grupamento amina secundária de β -bloqueadores depende principalmente de seu pKa.

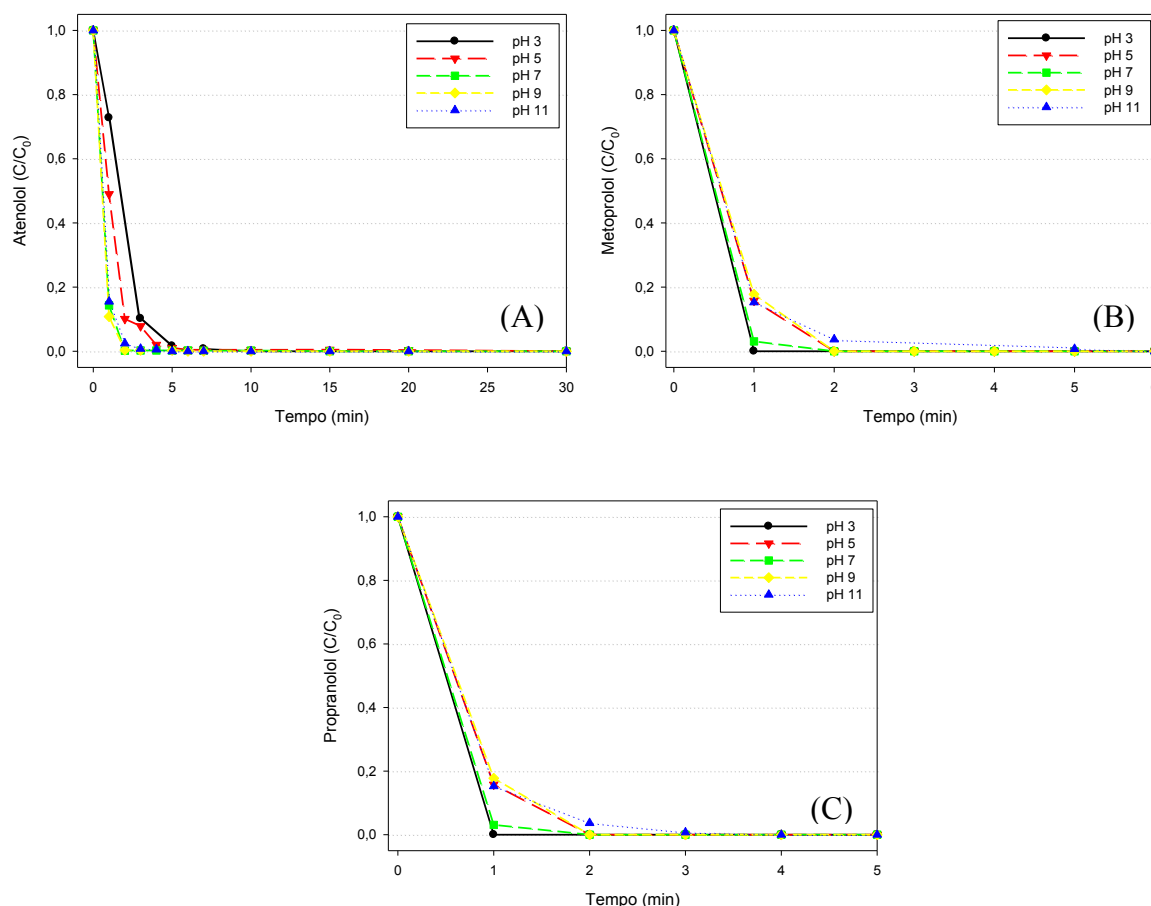
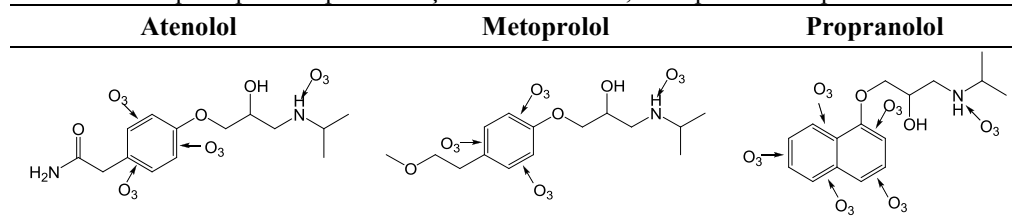


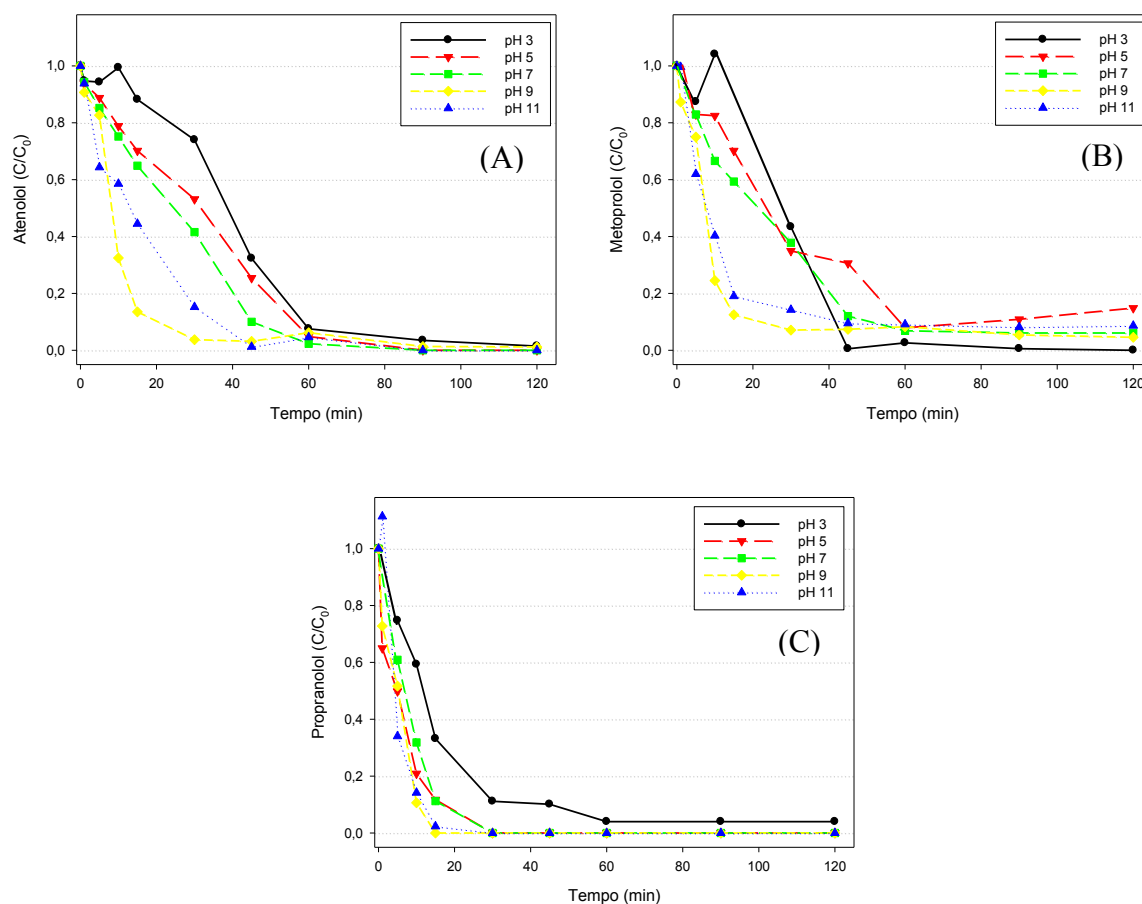
Figura 137. Acompanhamento da degradação de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol por ozonização para diferentes pH iniciais em solução aquosa. Condições iniciais: 800 mL, $[BB]_0$ 1 mg L⁻¹, $[O_3]_0$ 380 ± 20 mg L⁻¹ h⁻¹, 30 min de tratamento, Temp. 20 ± 2 °C.

Ademais, é conhecido que para pH acima de 5 a decomposição de ozônio aumenta com o aumento do pH, conduzindo a cadeia radicalar da Figura 130 (Gunten, 2003) e formação de radicais HO·, este sabidamente oxidante não seletivo. Dessa forma, espera-se que a taxa de degradação aumente com o aumento do pH. Porém, como observado para MET e PRO esse comportamento não foi seguido.

Como no presente estudo não foram usados sequestrantes de radicais livres para averiguar a contribuição de ozônio apenas em pH elevados, não pode-se afirmar conclusivamente que a menor degradação em pH elevados foi devido a radicais livres ou a instabilidade de ozônio.

Tabela 21. Sítios de ataque esperados para a reação entre Atenolol, Metoprolol e Propranolol e ozônio.

A degradação de ATE, MET e PRO em efluente hospitalar pode ser observada na Figura 138. A Figura 138 (A) mostra a degradação de ATE em efluente hospitalar e, assim como em solução aquosa, com o aumento do pH observa-se aumento da velocidade de degradação até pH 9, com diminuição para pH 11. Esse comportamento também foi observado para MET (Figura 138 (B)). PRO (Figura 138 (C)) apresentou o mesmo comportamento dos outros dois β -bloqueadores, porém pouca diferença foi observada entre pH 9 e 11. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO pode ser observado no Apêndice N (Figura 176).

**Figura 138.** Acompanhamento da degradação de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol por ozonização para diferentes pH iniciais em EH. Condições iniciais: 800 mL, $[BB]_0$ 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, $[O_3]_0$ 380 \pm 20 $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$, 120 min de tratamento, Temp. 20 \pm 2 $^\circ\text{C}$.

A menor efetividade na degradação de β -bloqueadores em pH ácido está relacionada à seletividade de ozônio como oxidante e com o aumento do pH há aumento da geração de radicais livres que reagem não seletivamente com os microcontaminantes e com os demais contaminantes orgânicos presentes no EH.

A remoção de matéria orgânica do EH foi acompanhada e pode ser observada na Figura 139. Contraditoriamente ao esperado a maior taxa de redução de DQO do EH foi encontrada em pH 3, onde espera-se que o mecanismo de oxidação seja via ozônio molecular. A aromaticidade seguiu caminho inverso ao da remoção da matéria orgânica sendo que a maior redução da aromaticidade foi encontrada em pH alcalinos.

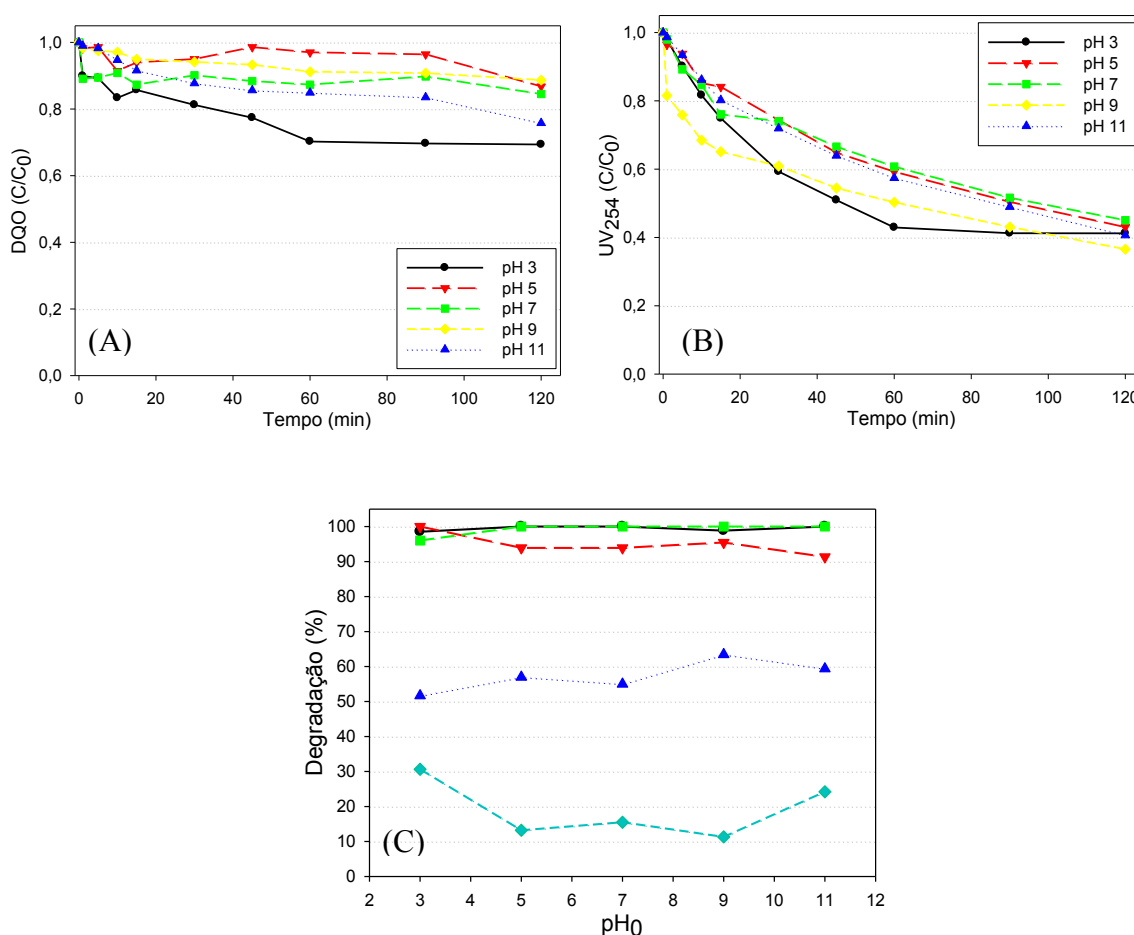


Figura 139. Acompanhamento da (A) redução da DQO, da (B) redução da aromaticidade e (C) correlação entre redução de DQO e redução da aromaticidade na degradação de EH por ozonização em diferentes pH iniciais. Condições iniciais: 800 mL, [BB]₀ 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, [O₃]₀ 380 \pm 20 $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$, 120 min de tratamento, Temp. 20 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$.

Como pode ser observado na Figura 139 (B) a remoção de matéria orgânica nem sempre é proporcional à redução da aromaticidade. Em pH 3 obteve-se a maior taxa de redução de DQO porém a redução da aromaticidade foi menor comparada aos outros pH iniciais estudados. Especialmente em pH ácido, onde o mecanismo predominante é via ozônio

molecular que reage seletivamente com espécies que possuem duplas ligações tais como C=C, C=N, N=N, espera-se que a remoção de matéria orgânica não seja tão elevada e que a formação de intermediários seja maior.

A evolução do pH durante os experimentos de ozonização foi acompanhada (Figura 140). Como pode ser observado, para pH alcalinos houve diminuição do pH durante o experimento, o que remete a formação de LMWOA, enquanto que em pH 3, 5 e 7 não houve alteração perceptível no pH.

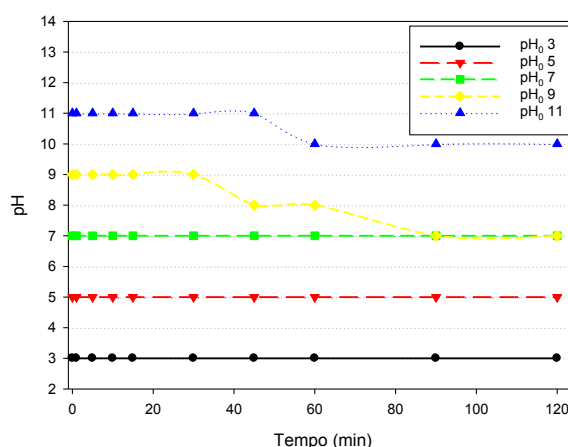


Figura 140. Evolução do pH durante o processo de ozonização de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em EH. Condições iniciais: 800 mL, [BB]₀ 200 µg L⁻¹, [O₃]₀ 380 ± 20 mg L⁻¹ h⁻¹, 120 min de tratamento, Temp. 20 ± 2 °C.

12.5.2.1 Constantes cinéticas de reação entre Atenolol, Metoprolol, Propranolol e O₃

A transferência de massa gás-líquido ozônio/água é um processo cineticamente controlado, ou seja, usualmente observa-se uma cinética de ordem quase zero até que o sistema atinja um equilíbrio para concentração de ozônio em meio aquoso e formação de um estado estacionário de concentração, isto é, ozônio em excesso (Chu & Ma, 2000).

Ademais, a transferência gás-líquido de ozônio independe do pH do meio quando o fluxo ar + ozônio é baixo (Chu & Ching, 2003), o que confere a característica de concentração de ozônio constante durante os experimentos. Portanto, como otimizado anteriormente, a concentração de ozônio durante os experimentos foi de 6,34 mg L⁻¹ min⁻¹ (0,13 mmol L⁻¹ min⁻¹) e foi usado como uma condição constante durante esse estudo.

A reação direta entre O₃ e compostos orgânicos tem sido demonstrada como de segunda ordem para pH abaixo de 7. Logo, a cinética da reação direta entre β-bloqueadores e ozônio pode ser descrita conforme Equação 43.

$$\frac{d[BB]}{dt} = -k_{O_3}[BB][O_3] \quad (43)$$

Onde k_{O_3} é a constante cinética, $[BB]$ é a concentração do microcontaminante (espécies neutras e protonadas), $[O_3]$ é a concentração de ozônio. Porém, em estudos que não fazem uso de sequestrantes de radicais livres para apenas reação entre ozônio e o composto orgânico a ser degradado, a equação global que envolve a degradação de $[BB]$ em termos de ozônio molecular e, principalmente, radicais hidroxila produzidos em pH elevados, é reformulada de acordo com Equação 44.

$$\frac{d[BB]}{dt} = -k_{O_3}[BB][O_3] + K_{HO\cdot}[BB][HO\cdot] \quad (44)$$

Onde $k_{HO\cdot}$ é a constante cinética para a reação entre $[BB]$ e radicais hidroxila e $[HO\cdot]$ é a concentração de radicais hidroxila.

Para experimentos conduzidos em excesso de O_3 ($[O_3]:[BB] \geq 10 \text{ mol L}^{-1}:\text{mol L}^{-1}$), a concentração de ozônio e radicais hidroxila podem ser presumidamente constantes (Chu e Ching, 2003). Nessas condições a cinética de pseudo-primeira ordem é predominante e, assim, k_{obs} (s^{-1}) pode ser estimado. Deste modo, a Equação 44 pode ser rearranjada para a Equação 45 e conseqüentemente 46.

$$\frac{d[BB]}{dt} = -(k_{O_3}[O_3] + k_{HO\cdot}[HO\cdot])[BB] = -k_{obs}[BB] \quad (45)$$

$$[BB] = [BB]_0 \cdot e^{-k_{obs}t} \quad (46)$$

Neste estudo adotou-se apenas a determinação de k_{obs} em diferentes pH (3-11) sem o uso de tampões e sem considerar as características das espécies protonadas ou neutras, com objetivo de avaliar o comportamento dos β -bloqueadores frente a ozonização em condições não controladas de espécies reativas (O_3 ou $HO\cdot$) em solução.

A constante cinética (k_{obs}) e $t_{1/2}$ foram determinadas simulando a aplicação da Equação 42 para os dados experimentais da degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol usando software Mathematica 7.0 (Wolfram Research, Champaign, IL). A confirmação de k_{obs} foi feita aplicando ajuste dos dados por regressão não-linear (SigmaPlot 2008, SPSS Software).

Como pode ser observado na Figura 141 (A) para a degradação em solução aquosa a k_{obs} para o Atenolol aumenta com o aumento do pH, enquanto para MET e PRO devido a rápida degradação não puderam ser estimados. Os resultados encontrados para k_{obs} na oxidação de ATE, MET e PRO em EH (Figura 141 (B)) aumenta com o aumento do pH para os três β -bloqueadores estudados.

Pode também ser observado que as k_{obs} foram aproximadamente iguais e esse comportamento pode estar relacionado à estrutura semelhante para ATE e MET, conforme já descrito na seção 10.3.1.7 para o processo Foto-Fenton. Assim como para processo Foto-

Fenton, PRO apresenta k_{obs} maior que os demais β -bloqueadores e este comportamento se deve ao grupamento naftaleno.

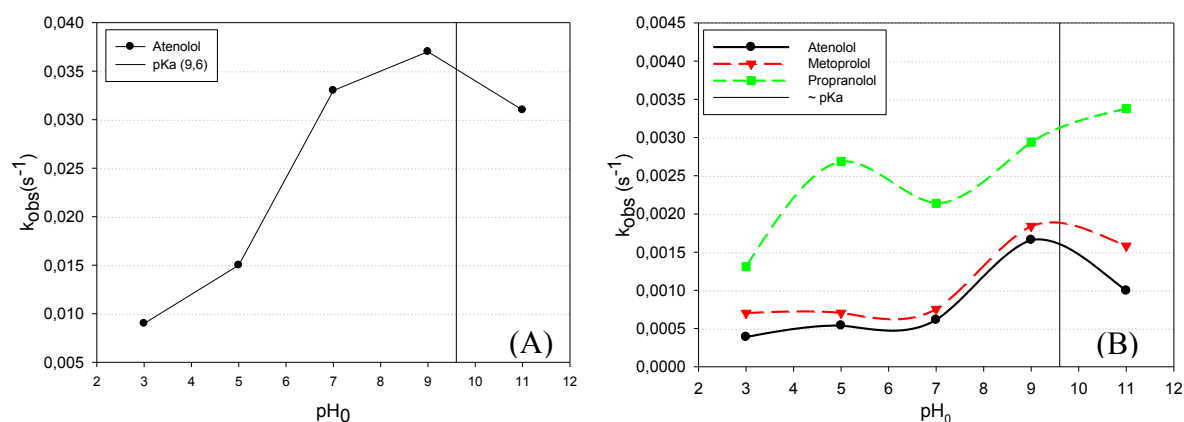


Figura 141. Constantes cinética de pseudo-primeira ordem (k_{obs}) para a degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em (A) solução aquosa e (B) efluente hospitalar em função do pH.

As constantes cinéticas (k_{obs}) em solução aquosa foram aproximadamente uma ordem de grandeza maior do que para em EH. Claramente esse comportamento está relacionado aos demais contaminantes presentes em EH, que competem tanto por ozônio quanto por radicais $HO\cdot$.

12.5.2.2. Elucidação Estrutural dos PDs de Atenolol por ozonização em pH 5, 7 e 9

A análise por LC-MS usando a opção Auto MSⁿ para apenas MS/MS da amostra de 1 min de processo de degradação de ATE por ozonização em pH 5, 7 e 9, permitiu a identificação de 9 PDs (Tabela 22). Foram encontrados 3 PDs com íon molecular $[M+H]^+$ de m/z maior que ATE.

Tabela 22. Produtos de degradação de ATE identificados por LC-MSⁿ para o processo de ozonização em pH 5, 7, 9.

PD	tr (min)	Fórmula Molecular	ESI(+) MS m/z ^a	ESI(+) MS ² m/z (% relativa)
PD 301	20,2	C ₁₄ H ₂₄ N ₂ O ₅	301,7 ^{b,c,d}	284,0 (45,47), 145,2 (6,09), 135,3 (100), 117,4 (45,44)
PD 281	21,4	C ₁₄ H ₂₀ N ₂ O ₄	280,8 ^b	280,8 (100), 260,9 (5,73), 230,9 (7,97), 204,9 (20,67), 149,1 (51,42)
PD 279	11,6	C ₁₄ H ₁₅ N ₂ O ₄	278,9 ^{b,c,d}	233,0 (30,17), 223,0 (18,69), 194,8 (13,40), 149,2 (100), 121,3 (4,00)
PD 239	17,7	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃	239,1 ^{b,c,d}	220,9 (61,43), 201,0 (62,12), 149,0 (32,82), 120,1 (36,86), 109,4 (100), 91,5 (10,26)
PD 218	23,8	C ₁₀ H ₁₉ NO ₄	218,4 ^b	189,1 (73,08), 143,0 (100), 95,7 (96,86), 72,0 (42,22)
PD 208	4,8	C ₈ H ₁₇ NO ₆	207,1 ^{b,c,d}	207,0 (100), 189,0 (19,50), 161,3 (3,5), 149,1 (90,05), 134,3 (8,65)
PD 195	9,4	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	195,0 ^{c,d}	175,2 (28,41), 133,2 (87,08), 111,5 (3,43), 93,8 (100)
PD 191	10,3	C ₈ H ₁₇ NO ₄	191,0 ^b	159,2 (100), 134,2 (19,92), 66,0 (87,75)
PD 114	7,0	C ₆ H ₁₁ NO	114,4 ^{b,c}	83,7 (3,54), 70,0 (100), 58,3 (7,78)

^a Valores de m/z mostrados são para o íon molecular protonado $[M+H]^+$; ^b pH 5; ^c pH 7; ^d pH 9;

O PD de m/z 301,7 (PD 301) foi encontrado para os 3 pH iniciais estudados. Logo o mecanismo de oxidação pode ser via reação com ozônio molecular ou por via radicalar com radicais $HO\cdot$, conforme será proposto mais adiante. O perfil de fragmentação pode ser

observado na Figura 142. O íon produto de m/z 284 remete à perda de 17 Da referente à NH_4 da cadeia lateral acetoamida e os fragmentos 135,3 e 117,4 são os íons produtos protonados da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)proxi.

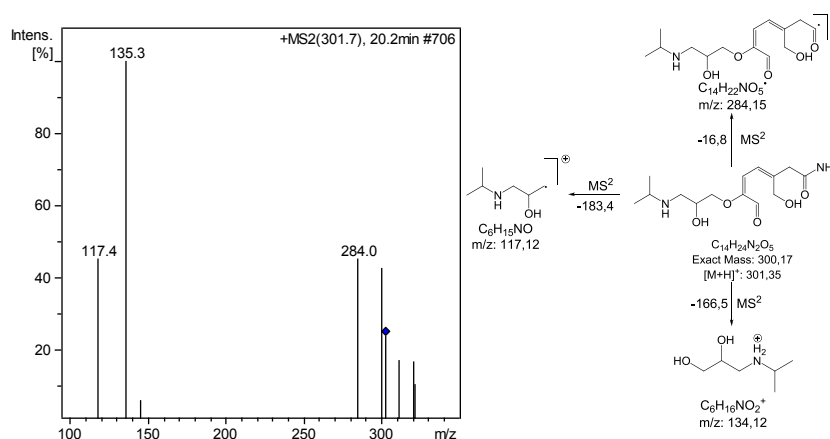


Figura 142. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 301.

Outro PD de m/z maior que ATE é o PD 281 que apresenta 2 Da a menos que o PD 283 (encontrado no processo Foto-Fenton e Fe(VI)) indicando que para o processo de oxidação pode ter ocorrido a inicial hidroxilação e posterior abstração de hidrogênio.

O perfil de fragmentação apresentado na Figura 143 mostra a perda de 18 Da referente à perda de H_2O , 48 Da referente à clivagem concomitante de H_2O e NH_4 do grupamento amida. O íon produto de m/z 149 se refere à clivagem da ligação C-O da cadeia lateral e, também, à perda de H_2O . Tay et al. (2011) reportaram o PD 281 como PD de ozonização de ATE, porém encontraram diferentes picos no cromatograma e sugeriram diferentes posições da dupla ligação e do grupamento hidroxila.

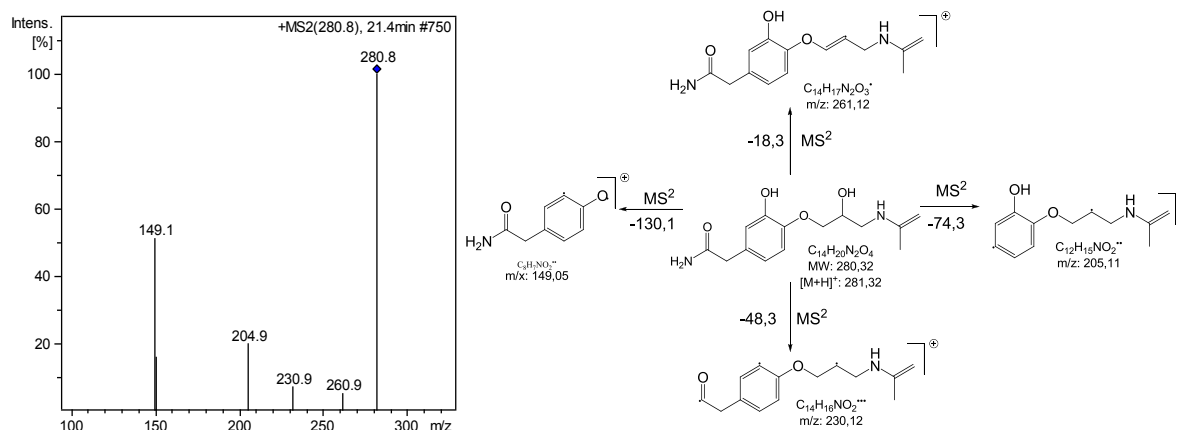


Figura 143. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 281.

O presente estudo propõe de acordo com o perfil de fragmentação que a formação da dupla ligação ocorre no grupamento isopropila, pois como esse PD foi encontrado apenas em

pH 5 e para esse pH o grupamento amina secundária está protonado e, como já referido anteriormente, são não reativos quando protonados (Hoigne & Bader, 1983).

O PD 279 (Figura 144) apresenta 2 Da a menos que o PD 281 indicando que pode ter ocorrido formação de uma nova dupla ligação. O PD 279 também já foi citado por Tay et al. (2011) como PD de ATE por ozonização em pH 7. Da mesma forma que Tay et al. (2011) propuseram, o presente estudo que identificou o PD 279 nos três pH estudados propõe que houve formação de dupla ligação sobre o grupamento álcool da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

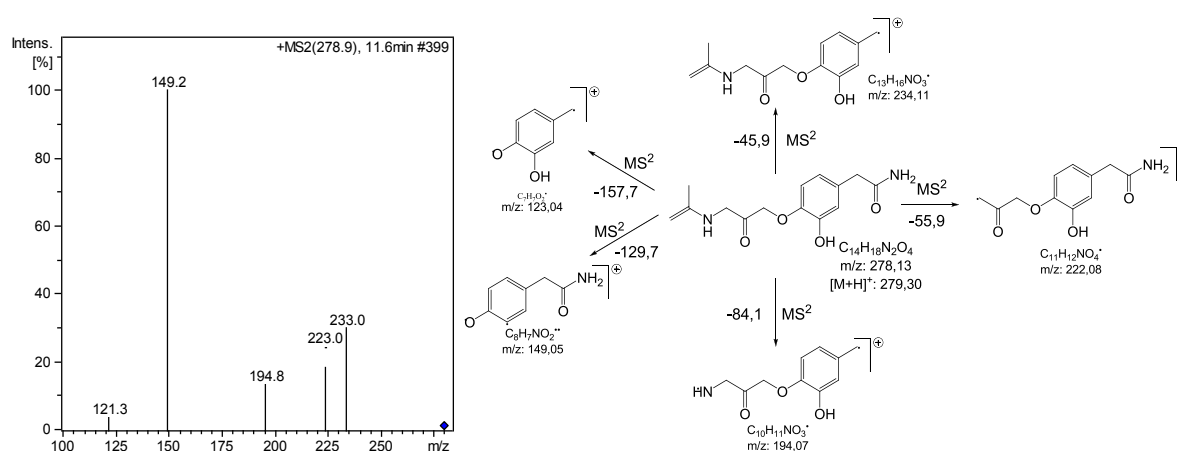


Figura 144. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 279.

O PD 239, encontrado também para os três pH estudados, apresenta o perfil de fragmentação mostrado na Figura 145. Um PD semelhante foi citado nas seções anteriores como PD de MET e como os dois compostos ATE e MET apresentam apenas diferença em uma cadeia lateral, o presente estudo propõe que esses PD possam ser idênticos em estrutura, porem para o processo de ozonização propõe-se que ocorre a perda de NO₂ e CO₂ da cadeia lateral acetoamida.

Tay et al. (2011) identificaram PD de íon molecular [M+H]⁺ de m/z 238,14 Da e, baseado na estrutura proposta com idêntico perfil de fragmentação ressaltando que a reação ocorreu no grupamento acetoamida. Como observado para os íons produto da fragmentação da m/z 239,1 ocorre a perda de 18 Da referente a H₂O e os íons produto de m/z 120 e 107 indicam a presença de grupamento hidroxila sobre o anel aromático.

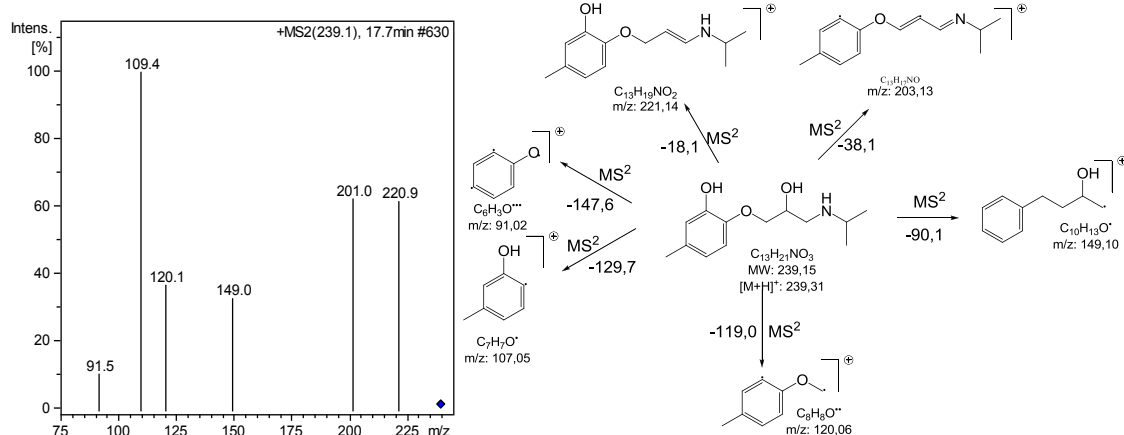


Figura 145. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 239.

O PD 218 foi encontrado apenas em pH 5 e o perfil de fragmentação (Figura 146) mostra fragmentos de quebra do anel aromático por reação direta do ozônio.

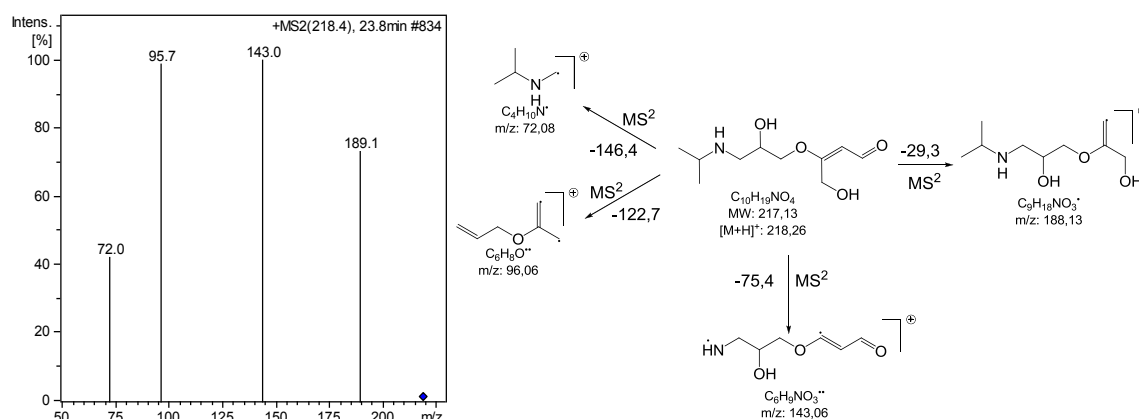


Figura 146. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 218.

O presente estudo propõe que o PD 218 se forma a partir do PD 301 por ataque eletrofílico de ozônio (Figura 147) conforme o clássico mecanismo proposto por Crigée (Crigée, 1975).

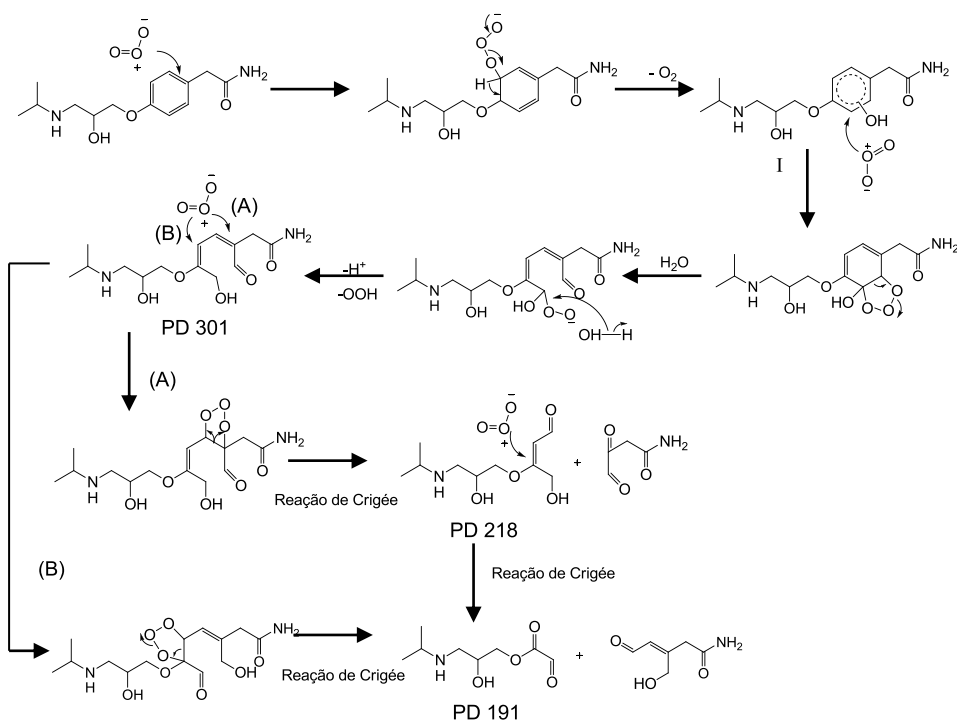


Figura 147. Mecanismo proposto para a formação dos PD 301, 218 e 191 por ozonólise em solução aquosa.

Outro PD resultante da reação direta entre ozônio e ATE pelo mecanismo de Crigée, ou mesmo por meio de mecanismo radicalar com radicais $HO\cdot$, é o PD 207. O perfil de fragmentação e o caminho de fragmentação podem ser vistos na Figura 148. O íon produto de m/z 134,3 é o fragmento característico da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, enquanto o fragmento de m/z 189 se refere a perda de H_2O , o de m/z 161 a perda de $COOH$ e o fragmento de m/z 149 a perda do grupamento isopropila.

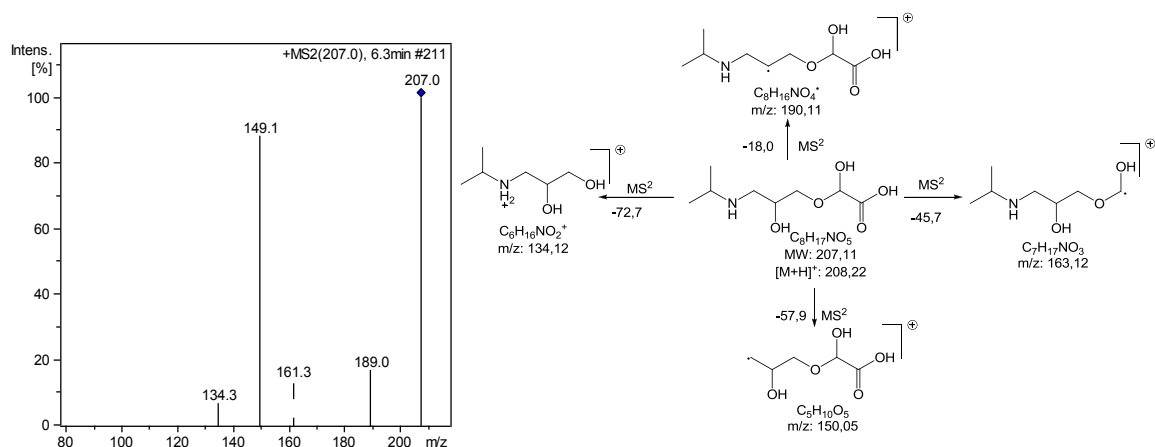


Figura 148. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 208.

O PD 195 foi identificado para os processos conduzidos em pH 7 e 9, indicando que o principal mecanismo envolvido foi por ação radicalar tanto na cadeia lateral 2-hidroxi-3-

(isopropilamino)propoxi eliminando o grupamento isopropila, quanto sobre o grupamento acetoamida eliminando CO_2 e NO_2 . O perfil de fragmentação para o PD 195 pode ser observado na Figura 149.

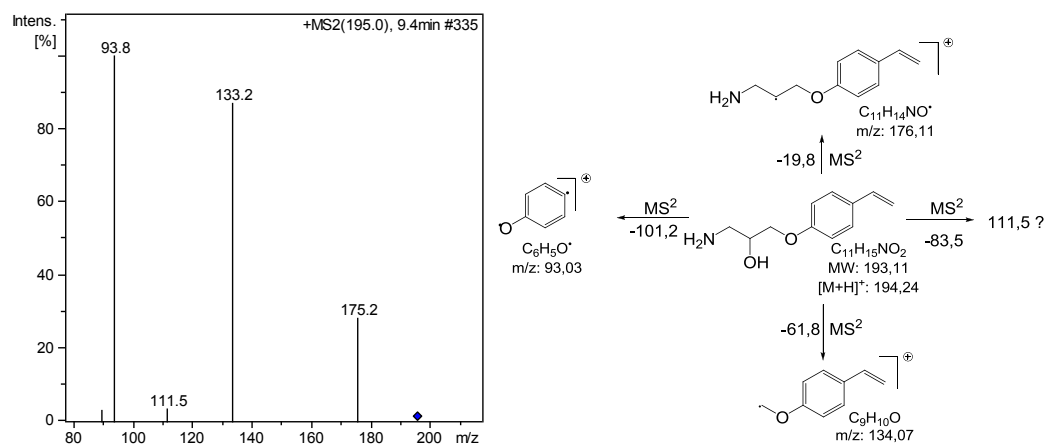


Figura 149. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminhos de fragmentação para o PD 195.

Outro PD resultante do mecanismo Crigée (Crigée, 1975) é o PD 191 que tem origem da ozonólise do PD 301 ou mesmo do PD 218. O perfil de fragmentação para o PD 191 pode ser observado na Figura 150. O fragmento de m/z 159,2 caracteriza a perda de 31 Da característico da ligação $\text{C}=\text{O}$ e o fragmento de m/z 134,2 é característico da cadeia lateral.

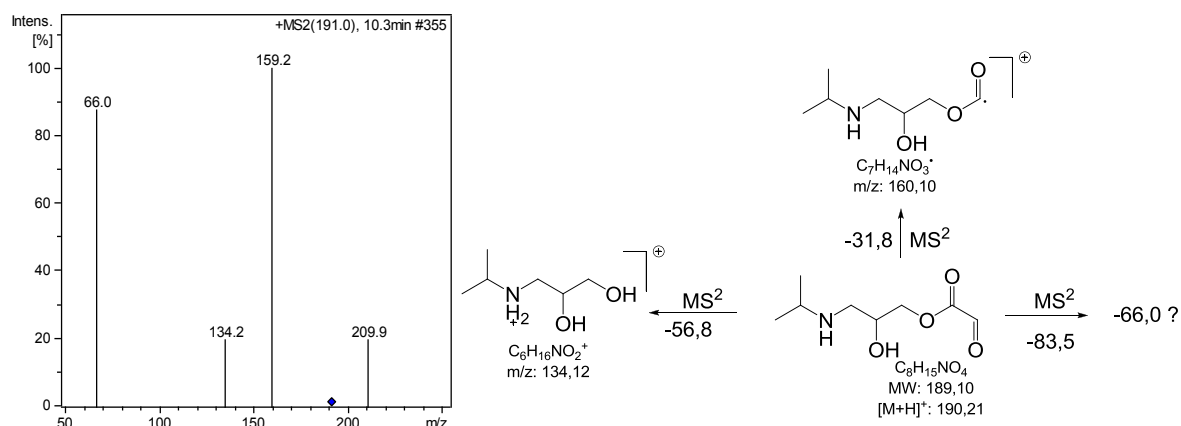


Figura 150. Espectro de massas obtido por ESI(+)- MS^2 e caminhos de fragmentação para o PD 191.

O último PD identificado para o processo de ozonização de ATE em pH 5, 7, 9 foi o PD 114 (Figura 151). Esse PD é resultante da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

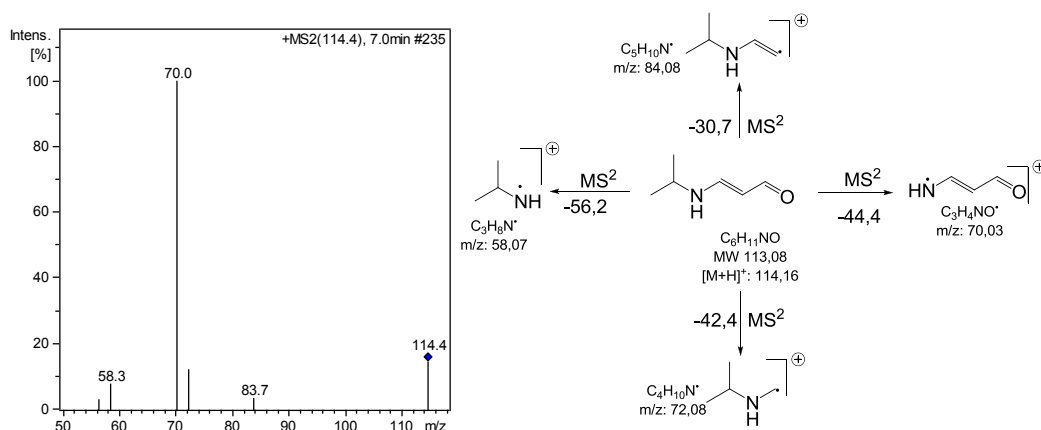


Figura 151. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 114.

12.5.2.2.1 Caminho de degradação de Atenolol por ozonização em pH 5, 7 e 9

De acordo com os PDs identificados por LC/MS² para o processo de ozonização em pH 5, 7 e 9 o presente estudo propõe um caminho de degradação para ATE que pode ser visto na Figura 152.

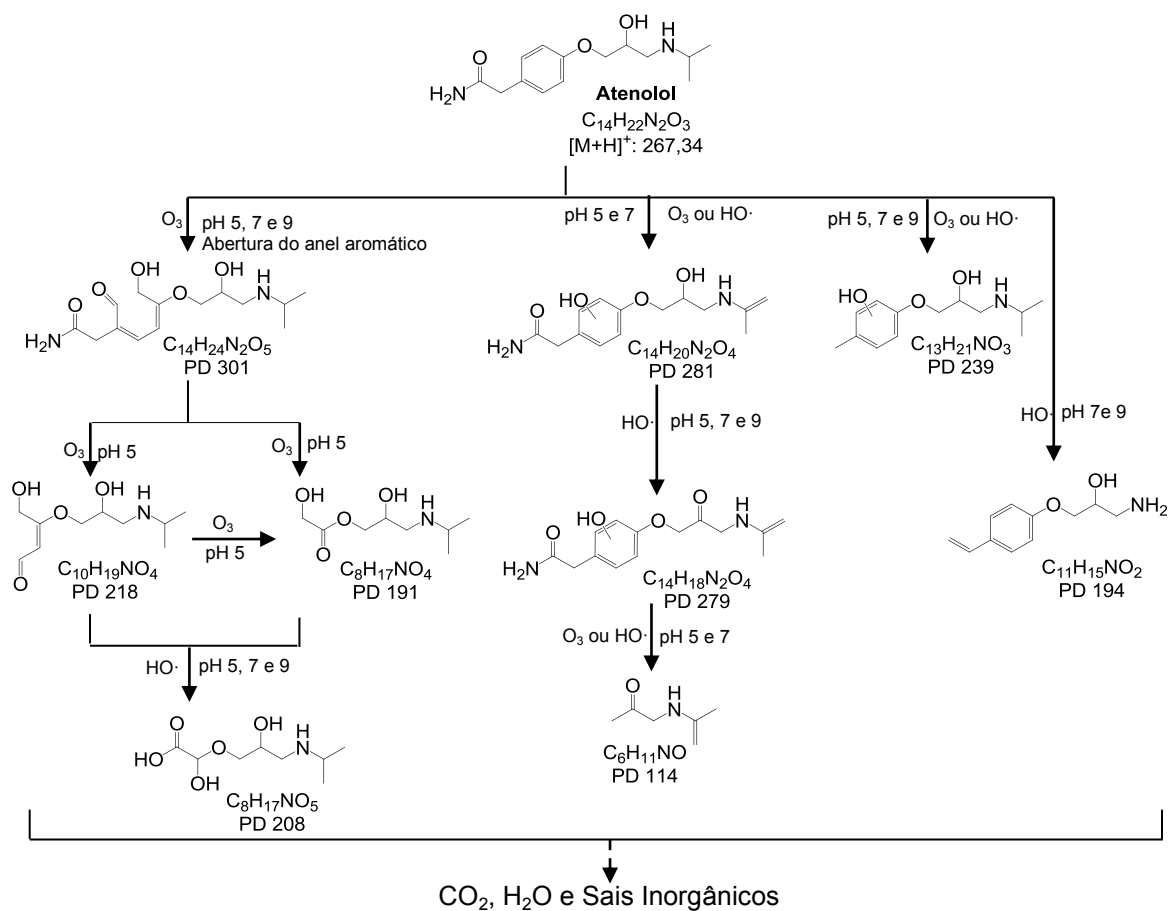


Figura 152. Caminho de degradação proposto para Atenolol em solução aquosa por processo ozonização em pH 5, 7 e 9.

Como já mencionado anteriormente, diferentes pH conferem diferentes mecanismos de degradação, podendo envolver a reação direta entre ozônio molecular e Atenolol, ou mesmo em pH elevados o caminho de degradação segue reações radicalares com radicais HO·.

Como observado na Tabela 22, vários PDs foram encontrados para os três pH estudados indicando que o mecanismo de ação envolvido pode ser o mesmo neste caso.

O PD 301, embora encontrado nos três pH estudados, provavelmente tem origem pelo mecanismo de ozonólise proposto por Crigée (Crigée, 1975). Para a formação do PD 301 o presente estudo propõe a formação de um intermediário encontrado em outros processos de degradação (Foto-Fenton e Fe(VI)) por hidroxilação do anel aromático (identificado como I na Figura 147), porém não identificado no presente estudo de ozonização, que tanto pode ser formado via ozônio (Dantas et al., 2007; Gunten, 2003) quanto por ação radicalar (Benner & Ternes, 2009a). Esse intermediário sofre novamente ataque que tanto pode ser por ozonólise ou quanto radicalar, formando então o PD 301.

O PD 301 pode dar origem ao PD 218 e 192 por ozonólise como exposto na Figura 147, pois foram identificados apenas em pH 5. Ademais, o PD 192 pode ser um PD da ozonólise do PD 218. Além disso, PD 208 encontrado para os três pH, pode, também, ter sua origem a partir do PD 301, ou mesmo para o pH 5 por ozonólise dos PD 218 ou por hidroxilação do PD 191.

Por outro lado, o mecanismo de ação radicalar pode dar origem ao PD 281 que se forma da hidroxilação do anel aromático, como já discutido, e posterior abstração de hidrogênio do grupamento isopropila ligado à amina secundária. O PD 279 pode sofrer o mesmo mecanismo de degradação que o PD 281, ou mesmo o PD 281 pode sofrer abstração de hidrogênio do grupamento hidroxila ligado à cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi originando então o PD 279.

O presente estudo, assim como proposto por (Tay et al., 2011), propõe que ocorra abstração de hidrogênio sobre CH₃ do grupamento isopropila da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi, pois, nos pH estudados, o grupamento amina secundária esta protonado tornando-se não reativo (Hoigne & Bader, 1983).

Ainda foi encontrado o PD 239 resultante da ação sobre o grupamento acetoamida. Esse PD provavelmente tem origem do intermediário I (Figura 147) pela perda de CO₂ e NO₂ do grupamento acetoamida. Mesmo protonado e pouco reativo, propõe-se que o grupamento amina secundária foi também atacado provavelmente via radicais livres dando origem ao PD

194, por eliminação de isopropila, enquanto o grupamento acetoamida também sofreu degradação eliminando CO₂ e NO₂.

Apenas um PD resultante da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi foi encontrado, o PD 114, indicando que possa ter ocorrido clivagem da ligação C–O da cadeia lateral com o anel aromático do PD 279. Por fim, assim como os demais processos de degradação, LMWOA podem ser formados como citado em outros estudos de degradação de Atenolol, porém não identificados pela técnica LC-MS.

Cabe também ressaltar que as amostras analisadas foram amostrada em 1 min de ozonização, deste modo os PDs encontrados podem ser considerados os PD primários para o tratamento com ozônio.

12.5.2.3 Elucidação Estrutural dos PDs de Metoprolol por ozonização em pH 5, 7 e 9

Para os experimentos de degradação de MET por ozonização em pH 5, 7 e 9 foram identificados 10 PDs, que podem ser observado na Tabela 23.

Foi encontrado apenas um PD com íon molecular [M+H]⁺ de m/z maior que MET, o PD 300 para os três pH estudados, evidenciando que a formação deste intermediário independe do mecanismo por ozônio molecular ou por ação de radicais hidroxila. Assim como para ATE, o PD monohidroxilado que se formou em outros processos de degradação não foi encontrado desta vez, ou seja, a monohidroxilação pode ter ocorrido como um intermediário temporário para a formação de outros PDs, como também foi proposto para ATE.

Tabela 23. Produtos de degradação de MET identificados por LC-MSⁿ para o processo de ozonização em pH 5, 7, 9.

PD	tr (min)	Fórmula Molecular	ESI(+) MS m/z ^a	ESI(+) MS ² m/z (% relativa)
PD 300	19,2	C ₁₅ H ₂₅ NO ₅	300,6 ^{b, c, d}	301,8 (100), 282,8 (9,38), 253,0 (33,87), 230,7 (46,58), 209,8 (16,0), 165,0 (30,33), 131,3 (20,17), 107,1 (21,56)
PD 240	17,7	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃	240,0 ^{b, c, d}	240,0 (100), 220,9 (9,06), 192,9 (15,44), 123,2 (5,09)
PD 236	5,0	C ₁₃ H ₁₇ NO ₃	236,9 ^{b, c, d}	236,9 (75,19), 217,0 (45,30), 161,1 (100), 135,4 (60,53), 95,4 (24,74)
PD 226	19,0	C ₁₂ H ₁₉ NO ₃	226,3 ^{b, c, d}	226,3 (42,29), 177,2 (100), 149,2 (45,02), 127,1 (18,29)
PD 216	21,0	C ₁₀ H ₁₇ NO ₄	216,8 ^c	197,0 (100), 187,2 (67,50), 99,4 (33,89), 85,5 (10,75)
PD 195	10,6	C ₁₁ H ₁₇ NO ₂	196,9 ^{c, d}	196,9 (14,53), 147,2 (8,12), 134,2 (15,03), 121,4 (8,57), 89,7 (100)
PD 134	3,1	C ₆ H ₁₅ NO ₂	134,3 ^b	114,5 (100), 89,5 (22,36), 73,9 (12,42)
PD 114	6,2	C ₆ H ₁₁ NO	114,4 ^c	71,9 (98,37), 69,9 (100), 56,2 (25,92)
PD 112	3,0	C ₆ H ₉ NO	112,4 ^{c, d}	83,6 (100), 70,0 (85,98), 56,2 (30,72)
PD 102	5,3	C ₅ H ₁₁ NO	102,5 ^b	102,5 (100), 85,8 (9,15), 71,9 (19,92)

^a Valores de m/z mostrados são para o íon molecular protonado [M+H]⁺; ^b pH 5; ^c pH 7; ^d pH 9;

O perfil de fragmentação do PD 300 pode ser observado na Figura 153. O que caracteriza a estrutura proposta é a perda de 18 Da referente à H₂O, a perda de 47,6 Da referente a CH₃OCH₂ do grupamento éter lateral. O fragmento 131,3 caracteriza a cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

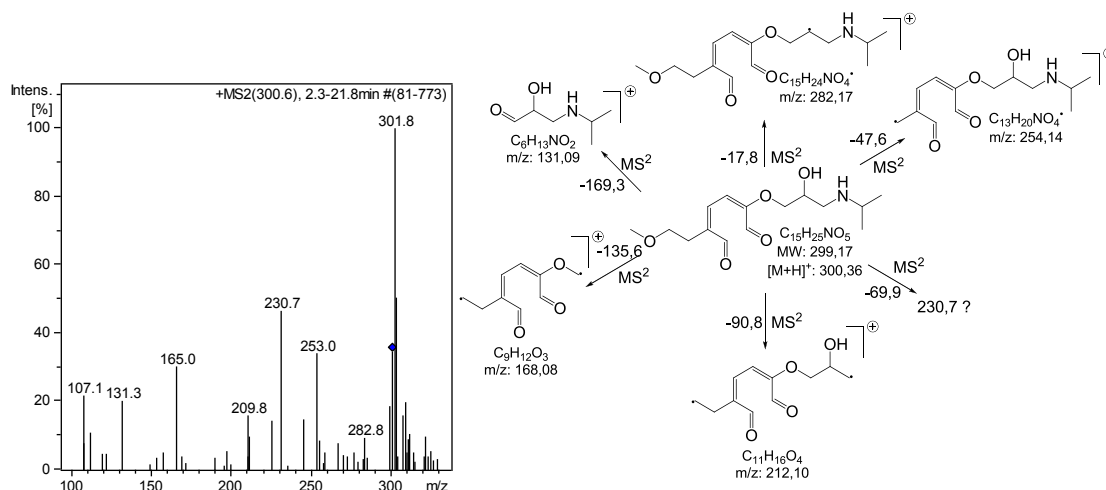


Figura 153. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 300.

Os PDs de íon molecular $[M+H]^+$ com m/z de 240,0; 226,3; 196,9; 134,3 e 114,4 apresentam perfil de fragmentação semelhante aos PDs de mesma m/z que foram elucidados em seções anteriores e portanto não serão elucidados nessa seção. A formação destes PDs remetem ao mecanismo de ação por radicais HO·.

O PD de m/z 236,9 (PD 236) mostra um perfil de fragmentação (Figura 154) semelhante ao PD 238 identificado para o processo de oxidação de MET por Fe(VI), evidenciando que o mecanismo de degradação foi por ação de radicais livres. A clivagem da cadeia éter lateral e a formação de ligação C=O são semelhantes ao PD 238, porém para o presente PD houve ainda a abstração de hidrogênio do grupamento isopropila com mecanismo semelhante ao proposto por (Tay et al., 2011).

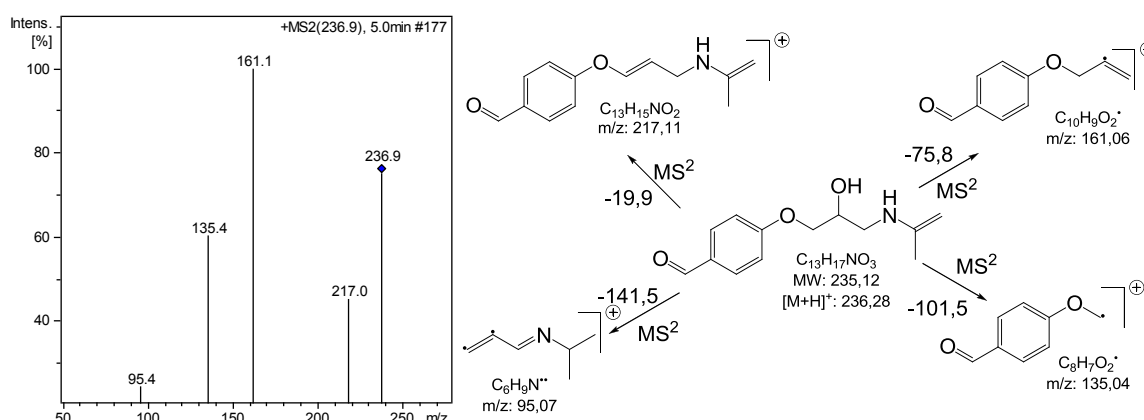


Figura 154. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 236.

O PD 216 apresenta estrutura semelhante ao PD 218 encontrado para o processo de ozonização de ATE. Deste modo, o mecanismo de degradação para a formação do PD 216

segue o mesmo caminho proposto para o PD 218, ou seja, a partir da ozonólise do PD 300, conforme mecanismo de Crigée (Crigée, 1975), proposto na Figura 147.

O perfil de fragmentação do PD 216 pode ser visto na Figura 155 e o que caracteriza a estrutura é a perda de 29,2 Da relativa à clivagem e a perda do grupamento C=O, além da perda de 131,3 Da referente à cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi.

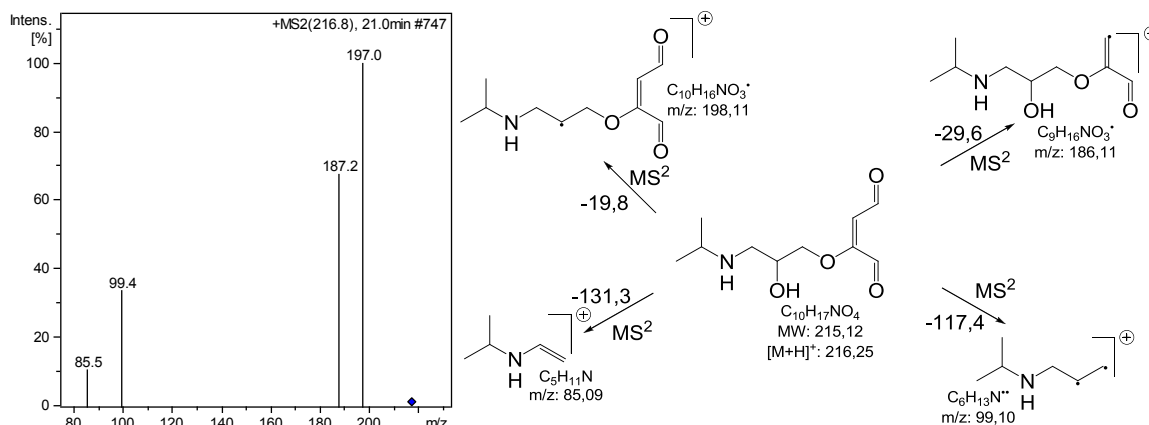


Figura 155. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 216.

O PD 102 é um PD resultante da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi. Como pode ser observado para o perfil de fragmentação Figura 156, ocorre a perda de 30,6 Da referente à eliminação de C=O e a perda de 16,7 Da referente à clivagem da ligação C-C do grupamento isopropila.

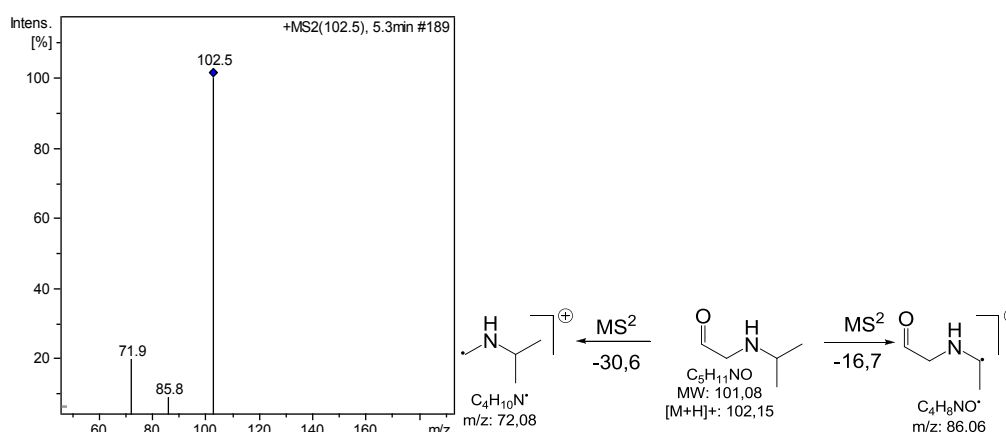


Figura 156. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 102.

12.5.2.3.1 Caminho de degradação de Metoprolol por ozonização em pH 5, 7 e 9

A identificação e elucidação dos PDs por LC-MS² permitiu a proposição de caminho de degradação para MET nas diferentes condições estudadas. Pode-se dizer que a degradação

de MET segue quatro caminhos distintos de degradação dependente, principalmente, do meio oxidante gerado pelas características de pH e um caminho comum de formação de PD da cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi. Assim como para ATE, os PDs de MET foram identificados em amostra retirada após 1 min de processo, indicando que os PDs citados podem ser os PDs primários para o processo de degradação por ozônio.

O caminho de degradação proposto pelo presente estudo pode ser visto na Figura 157. O caminho I de degradação é proposto seguir o mecanismo de Crigée (Crigée, 1975), com ataque eletrofilico sobre o anel aromático por ciclo adição 1,3-dipolar e formação de ozonídeo, com posterior abertura do anel e formação de aldeído (PD 300), semelhante ao mecanismo proposto para a abertura do anel aromático de ATE (Figura 147). Esse mecanismo também foi proposto por Benner & Ternes (2009a). O mesmo mecanismo pode dar origem ao PD 216, que pode ser formado por ozonólise do PD 300.

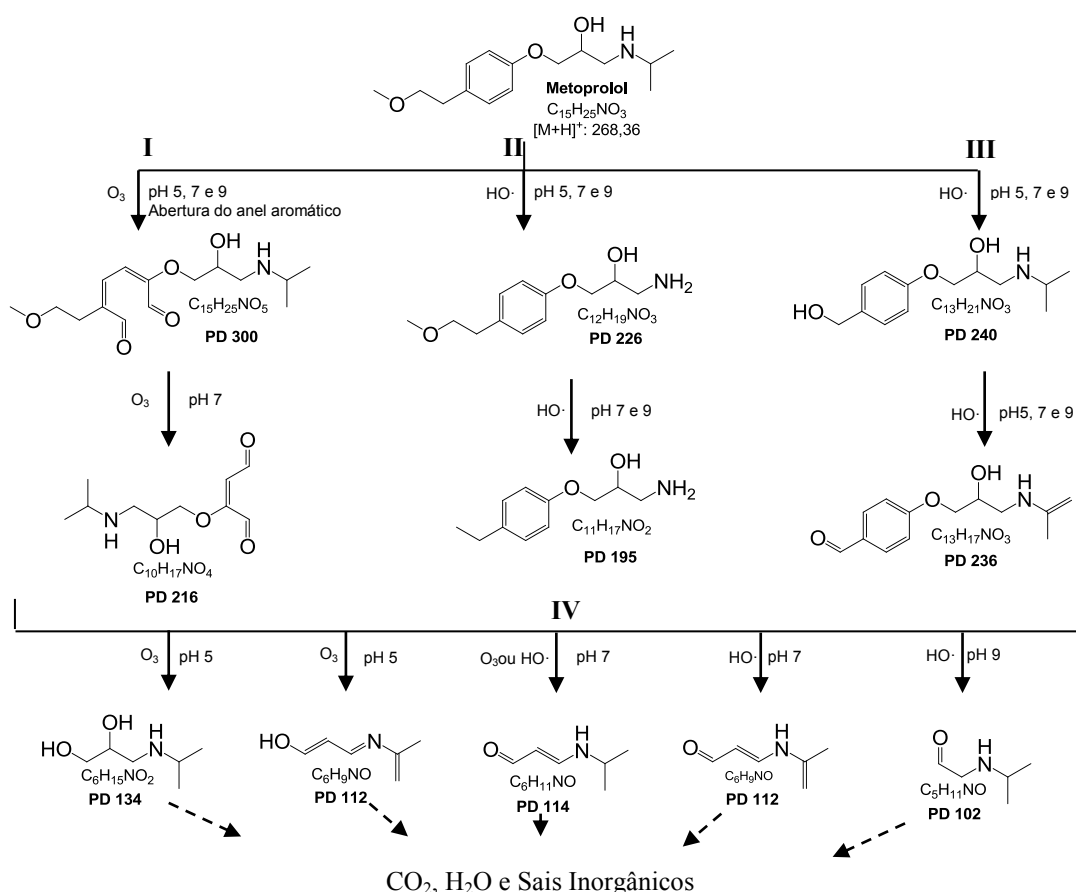


Figura 157. Caminho de degradação proposto para Metoprolol em solução aquosa por processo de ozonização em pH 5, 7 e 9.

O caminho II proposto segue primeiramente com mecanismo de N-dealquilação sobre a amina secundária que, embora protonada no intervalo de pH estudado pode sofrer ataque principalmente radicalar por $HO\cdot$. O PD 226 já foi citado como PD do processo de oxidação-

coagulação com Fe(VI) e também foi encontrado em outros estudos envolvendo a geração de radicais livres (Radjenovic et al., 2011; Slegers et al., 2006; Benner & Ternes, 2009a). O caminho II prossegue com ataque radicalar sobre o PD 226 dando origem ao PD 195 por eliminação de CH₃OH.

O caminho III proposto é por ataque à cadeia éter lateral com eliminação de CH₃OH e formação de intermediário –H₂C· que em meio aquoso pode dar origem ao PD 240. O PD 240 pode sofrer abstração de hidrogênio tanto no grupamento isopropila quanto no grupamento álcool lateral dando origem ao PD 236.

Por fim o mecanismo IV é principalmente sobre a cadeia lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi por clivagem da ligação C–O do grupamento fenoxila gerando PDs de m/z menor. Embora não determinados, pode também ocorrer formação de LMWOA, uma vez que o acompanhamento do pH mostrou que o pH diminui durante o processo (dados não apresentados).

12.5.2.4 Elucidação Estrutural dos PDs de Propranolol por ozonização em pH 5, 7 e 9

Para a degradação de PRO por ozonização em pH 5, 7 e 9 foram identificados 9 PDs para a amostra de 1 min de tratamento. A maioria dos PDs encontrados apresentaram íon molecular [M+H]⁺ de m/z maior que PRO, indicando que houve hidroxilação ou formação de aldeídos por ozonólise. Os PDs encontrados podem ser observados na Tabela 24.

Como a fragmentação foi conduzida por Auto MSⁿ alguns fragmentos característico da cadeia lateral lateral 2-hidroxi-3-(isopropilamino)propoxi não foram encontrados.

Tabela 24. Produtos de degradação de MET identificados por LC-MSⁿ para o processo de ozonização em pH 5, 7 e 9.

PD	tr (min)	Fórmula Molecular	ESI(+) MS m/z ^a	ESI(+) MS ² m/z (% relativa)
PD 312	25,8	C ₁₆ H ₂₅ NO ₅	312,1 ^{b, d}	292,9 (83,89), 265,2 (6,00), 237,2 (100), 208,9 (63,97), 178,8 (14,96), 149,3 (4,47), 123,6 (23,58)
PD 310	8,1	C ₁₆ H ₂₃ NO ₅	310,0 ^d	310,0 (100), 225,6 (57,3), 177,0 (38,41), 90,5 (9,29)
PD 308	12,5	C ₁₆ H ₂₁ NO ₅	308,9 ^{b, d}	308,9 (54,79), 269,1 (25,55), 217,6 (100), 176,1 (21,04)
PD 286	24,8	C ₁₄ H ₂₃ NO ₅	286,8 ^{b, c}	240,2 (100), 220,9 (4,72), 197,1 (3,5), 163,0 (26,09), 151,1 (23,10)
PD 284	28,9	C ₁₄ H ₂₁ NO ₅	284,4 ^b	286,3 (100)*, 265,1 (6,15), 241,0 (10,04), 225,5 (6,82), 208,4 (35,48), 181,0 (2,63), 163,0 (10,79)
PD 282	28,8	C ₁₄ H ₁₉ NO ₅	282,1 ^d	282,1 (26,50), 205,0 (62,29), 167,0 (2,91), 149,0 (100)
PD 272	22,8	C ₁₄ H ₂₅ NO ₄	272,2 ^{b, c}	273,4 (100)*, 254,5 (34,45), 239,8 (37,61), 229,0 (30,37), 151,4 (11,21)
PD 268	10,4	C ₁₄ H ₂₁ NO ₄	268,8 ^b	287,8 (19,19)*, 189,7 (9,75), 177,9 (45,89), 150,9 (100)
PD 134	2,6	C ₆ H ₁₅ NO ₂	134,3 ^{b, d}	135,2 (100)*, 92,4 (12,03), 87,2 (5,71)

^a Valores de m/z mostrados são para o íon molecular protonado [M+H]⁺; ^b pH 5; ^c pH 7; ^d pH 9; * Íon aduto (H⁺);

Os PDs de m/z 310, 308, 282 e 134 já foram elucidados em seções anteriores e portanto não serão comentados nessa seção.

O PD de íon molecular $[M+H]^+$ de m/z 312,1 foi citado como produto de degradação por UV/H₂O₂ (seção 10.3.5) porém não foi elucidado. O PD 312 pode ser originado por abertura do anel aromático por meio de ataque de radicais hidroxila.

O perfil de fragmentação e o caminho de fragmentação podem ser observados na Figura 158. O íon produto de m/z 178,8 e a perda neutra de 133,3 caracterizam que a hidroxilação ocorreu sobre o anel aromático e não sobre o grupamento amina secundária.

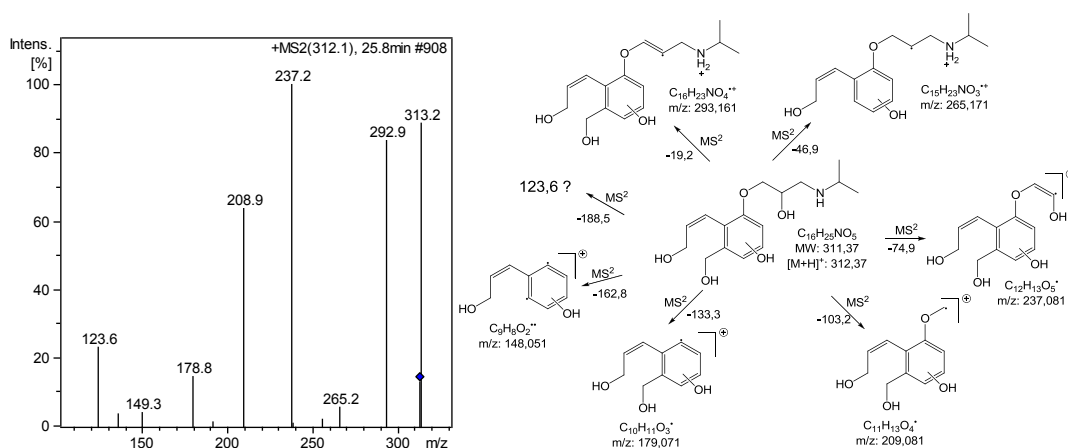


Figura 158. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 312.

O PD 312 pode dar origem a dois PDs por ozonólise pelo mecanismo de Crigée com eliminação de O=CH-CH=O e formação de OH para o PD 286 por ataque radicalar de HO· e aldeído por ação do ozônio para o PD 284, pois o PD 286 foi encontrado em pH 5 e 7, enquanto o PD 284 foi encontrado apenas em pH 5. O perfil de fragmentação para os PDs 286 e 284 demonstram a semelhança entre ambos. O perfil de fragmentação do PD 286 (Figura 159) demonstra que o anel aromático está hidroxilado pela presença do fragmento de m/z 169.

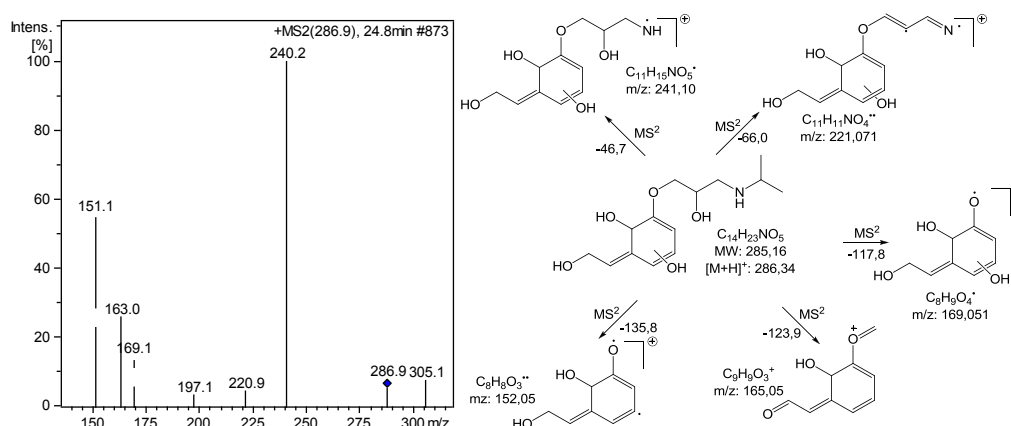


Figura 159. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 286.

O PD 284 encontrado apenas para o processo conduzido em pH 5 e pode ser originado por ozonólise do PD 312 e formação de aldeído. O perfil e caminho de fragmentação do PD

284 pode ser observado na Figura 160. O fragmento de m/z 181 caracteriza que o grupamento hidroxila está ligado ao anel aromático.

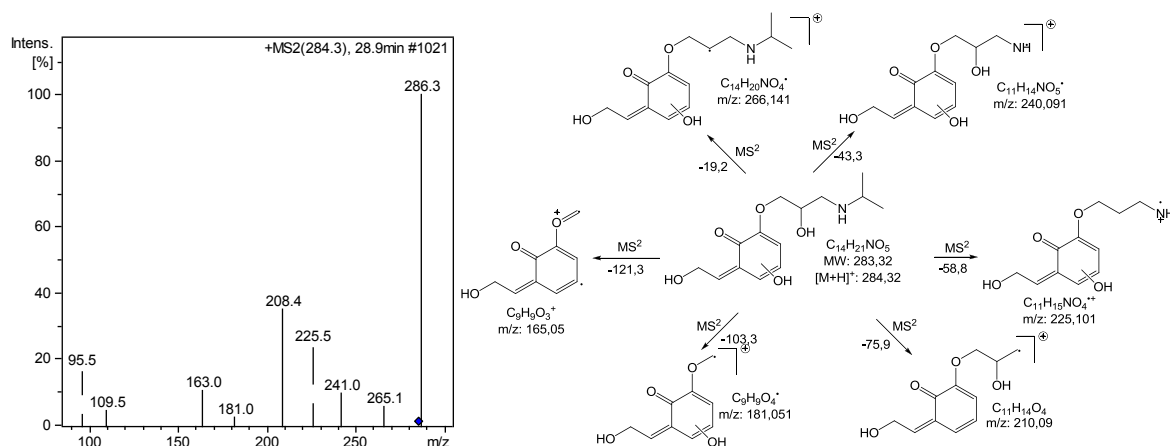


Figura 160. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 284.

Outro PD resultante da ozonólise sobre o grupamento naftaleno é o PD 272, o que reforça esse mecanismo é o fato deste PD ter sido encontrado para ozonização em pH 5 e 7. O perfil de fragmentação apresentado na Figura 161. O fragmento de m/z 254,5 caracteriza a eliminação de H₂O, o fragmento de m/z 239,8 caracteriza a eliminação de C–OH, o fragmento de m/z 229 remete a eliminação de isopropila.

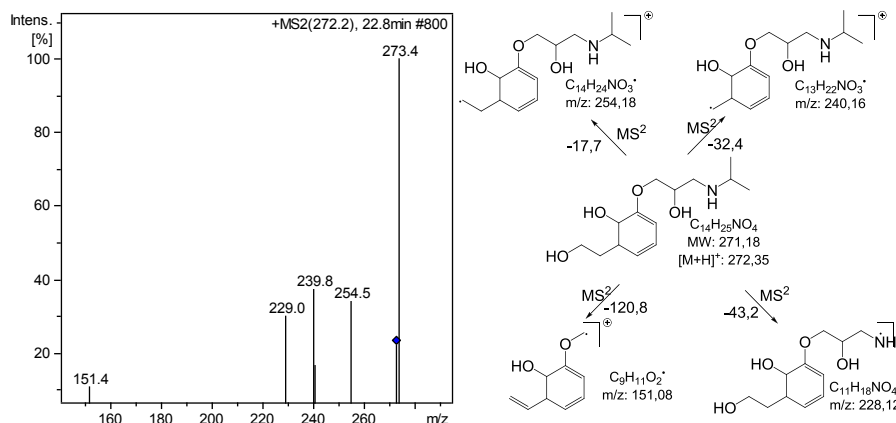


Figura 161. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 272.

O PD 268 foi encontrado apenas para o processo de ozonização em pH 5, evidenciando que o mecanismo de formação é via ozonólise com eliminação de O=CH–CH=O pelo bem conhecido mecanismo de Crigée. O perfil de fragmentação e caminho de fragmentação pode ser vistos na Figura 162.

Como pode ser observado o perfil de fragmentação é semelhante ao do PD 272 (encontrado em pH 5 e 7) evidenciando que a formação do PD 268 pode também ter ocorrido via abstração de hidrogênio por ação da cadeia radicalar (Figura 130), que pode ocorrer mesmo em pH 5 (Gunten, 2003).

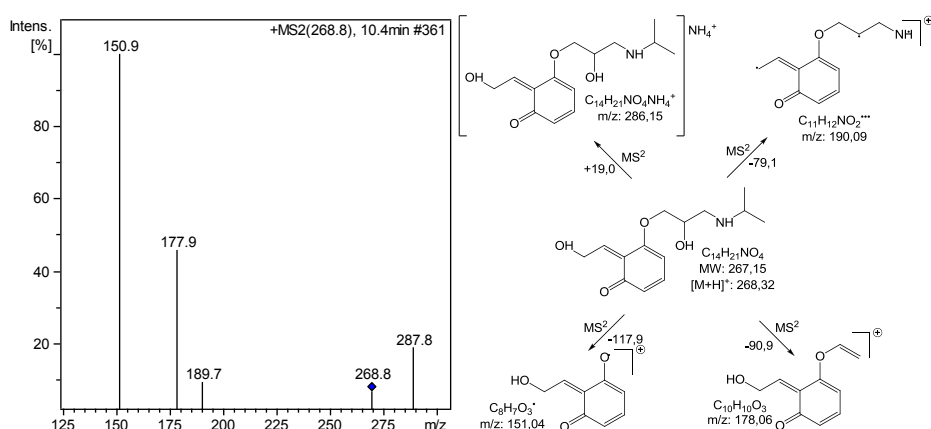


Figura 162. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MS² e caminhos de fragmentação para o PD 268.

O íon produto de m/z 287,8 é o aduto do PD 268 formado com NH_4^+ . O fragmento de m/z 150,9 indica que a estrutura é semelhante ao PD 272 e 286.

12.5.2.4.1 Caminho de degradação de Propranolol por ozonização em pH 5, 7 e 9

Como os PDs foram identificados para a amostra de 1 min de processo de ozonização pode-se afirmar que os PDs identificados são os PDs iniciais para a ozonização de PRO em pH 5, 7 e 9.

Um caminho de degradação foi proposto para a degradação de PRO por ozonização e pode ser observado na Figura 163. O grande número de PDs identificados evidencia a complexidade deste tipo de processo de degradação, que envolve tanto mecanismo de oxidação direta por ozônio, quanto o mecanismo via radicalar, uma vez que, no presente estudo, não se fez uso de sequestrantes de radicais com vias a estudar os PDs que podem ser gerados em solução aquosa em ambos os mecanismos de ação do processo de ozonização em meio aquoso.

A maioria dos PDs encontrados é resultante da degradação por ozonólise ou via radicalar sobre o grupamento naftaleno da molécula de PRO. Como descrito anteriormente, para o intervalo de pH estudado a molécula de PRO apresenta o grupamento amina secundária protonado e, desta forma, o mecanismo de degradação segue preferencialmente sobre o grupamento naftaleno. Além disso, o grupamento naftaleno é considerado ERM e mais suscetível a degradação que propriamente o grupamento amina secundária.

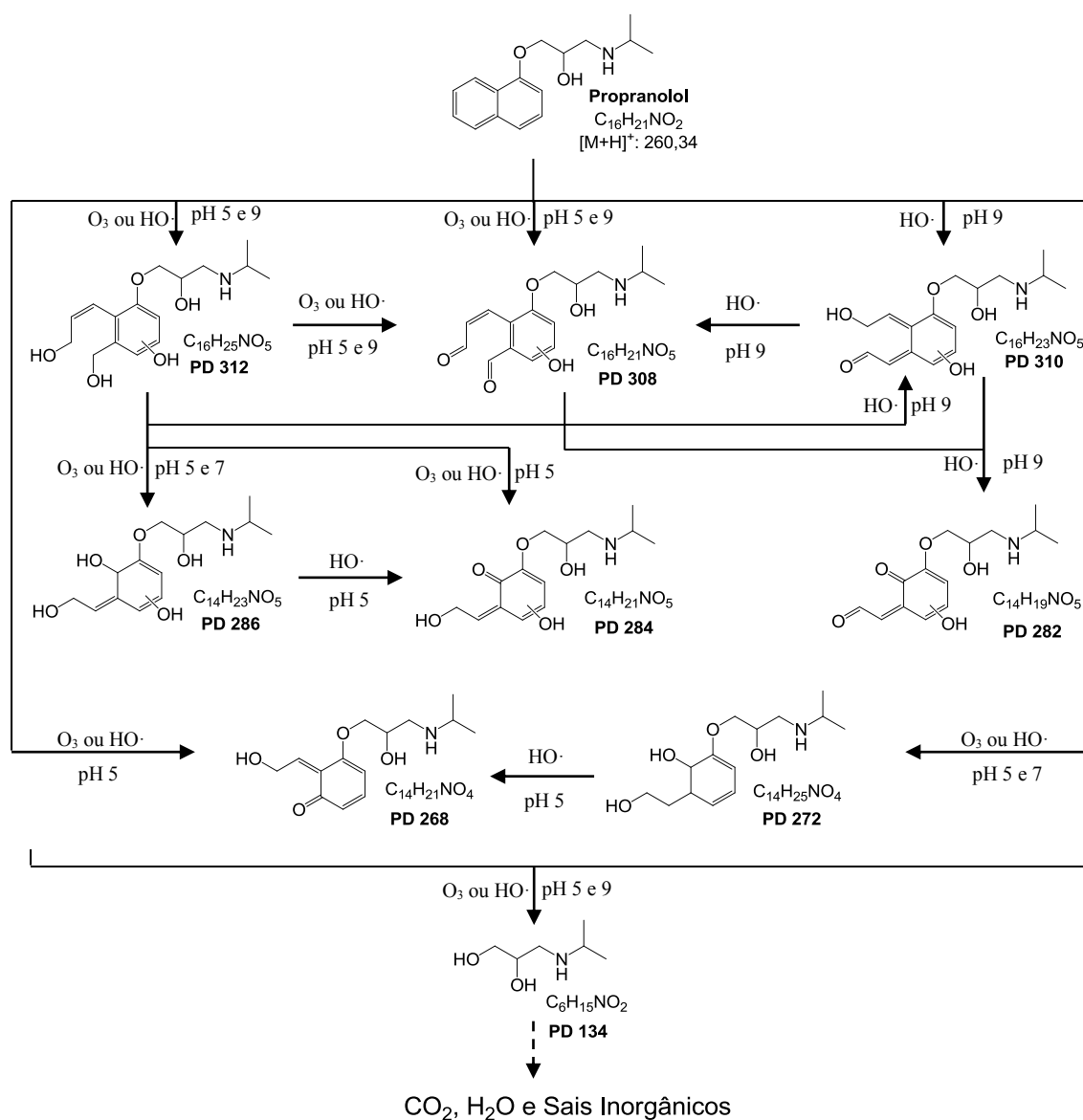


Figura 163. Caminho de degradação proposto para Propranolol em solução aquosa por processo de ozonização em pH 5, 7 e 9. Condições iniciais: 800 mL, $[PRO]_0$ 1 mg L⁻¹, $[O_3]_0$ 380 ± 20 mg L⁻¹ h⁻¹, 120 min de tratamento, Temp. 20 ± 2 °C.

Alguns PDs identificados no presente estudo foram também citados por (Benner & Ternes, 2009b), por ozonização em pH 3 e 8 com o uso de sequestrantes de radicais hidroxila, isto é, apenas foram determinados os PDs referentes a oxidação direta com ozônio molecular que foram os PDs 308 e 282.

O caminho de degradação proposto para PRO segue um modelo de reações consecutivas e paralelas dependentes do pH do meio. Como observado na Figura 163 a degradação de PRO inicialmente segue por ozonólise ou ação radicalar sobre o grupamento naftaleno gerando um intermediário de íon molecular de m/z 292, que já citado como PD de PRO por Foto-Fenton, UV/H₂O₂, UV/Fe²⁺ e oxidação-coagulação com Fe(VI) e embora não

identificado no presente estudo (ver seções 10.3.5 e 11.2.8), pode ser formado em processo de ozonização conforme (Benner & Ternes, 2009b). Esse intermediário, não identificado no presente estudo, posteriormente é hidroxilado por ozônio ou mesmo por meio de radicais HO· dando origem ao PD 308. O PD 308 pode então gerar os PDs 310 e 312, que provavelmente ocorre por via radicalar.

Por outro lado, esse mesmo intermediário pode sofrer descabroxilação via ozônio ou radicais hidroxila formando os PDs 272 e 268. Da mesma forma esses PD 308, 310 e 312 podem sofrer ozonólise seguida de descarboxilação e formação de aldeído. O mecanismo de ozonização segue o mecanismo proposto por Crigée e semelhante ao da Figura 147, formando os PDs 282, 284 e 286. O PD 282 foi identificado para o processo de UV/H₂O₂ e por oxidação-coagulação com Fe(VI) (ver seções 9.2.11 e 10.2.8), indicando que o caminho de degradação pode também ser via radicalar. Por outro lado o intermediário de m/z 292 pode sofrer ozonólise e produzir os PDs 268 e 272.

Por fim, tanto PRO quanto os PDs identificados podem sofrer clivagem da ligação C–O do grupamento naftaleno com a cadeia lateral produzindo o PD 134, também encontrado para os outros processos de degradação estudados.

13 Comparação entre os diferentes processos estudados

Os parâmetros disponíveis para comparar diferentes processos de degradação incluem desde dados de cinética de degradação, custos e demanda de energia. Dados de cinética de velocidade de reação podem ser usados, uma vez que diferentes processos podem ser englobados por esse parâmetro (Shemer et al., 2006). Deste modo, a cinética de velocidade de reação pode não ser o mais adequado para o presente caso, pois processos baseados em fotólise dependem fortemente da intensidade e do comprimento de onda da irradiação e, além disso, os diferentes processos propostos apresentaram diferentes ordens cinéticas.

Posto isso, a comparação entre os diferentes processos aqui estudados, foi feita baseada na avaliação de custo que, devido aos estudos conduzidos em escala de bancada, podem estar inexatos para uma estimativa em escala real. Assim, considerou-se a avaliação de custo para os diferentes PAOs baseados em consumo de energia elétrica por ordem (EE/O) usando, para isto, a Equação 47 (Azbar et al., 2004).

$$EE/O(kW h m^{-3}) = \frac{(P \cdot t \cdot 1000)}{\left[V \cdot 60 \cdot \log\left(\frac{C_0}{C_F}\right) \right]} \quad (47)$$

Onde P é a potência (kW), V é o volume de efluente tratado (L), t é o tempo de tratamento (min), C₀ e C_F são a DQO (mg O₂ L⁻¹) inicial e final do efluente, respectivamente, para um custo de kW h de R\$ 0,19 (www.aessul.com.br).

Os dados comparativos de eficiência e de custos dos diferentes processos aplicados podem ser observados na Tabela 25.

Tabela 25. Comparação entre os diferentes processos estudados para a degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em solução aquosa e Efluente Hospitalar.

Parâmetros	Foto-Fenton		Fe(VI)		Ozonização		O ₃ /Fe ²⁺
	Sol. Aquosa	Efluente ^a	Sol. Aquosa	Efluente ^b	Sol. Aquosa	Efluente ^c	Efluente ^d
Red. _{COD} (%)	86,5	-	0	-	-	-	-
Red. _{DQO} (%)	99,5	26,5	48,6	17,5	-	30,6	49,1
Red. _{UV254} (%)	-	38,6	-	67,2	-	63,4	77,9
Deg. _{ATE} (%)	100	100	71,4	96,7	100	100	100
Deg. _{MET} (%)	100	100	24,8	99,1	100	100	100
Deg. _{PRO} (%)	100	100	96,5	99,7	100	100	100
PD ATE	13	-	11	-	9	-	-
PD MET	9	-	8	-	10	-	-
PD PRO	12	-	12	-	9	-	-
EE/O (kW h m ⁻³)	-	2336,5	-	-	-	937,0	511,0
Custo (R\$ m ⁻³)	-	443,93	-	-	-	178,03	97,09

^a DQO₀ = 190,15 mg O₂ L⁻¹; ^b DQO₀ = 559,75 mg O₂ L⁻¹; ^c DQO₀ = 338,30 mg O₂ L⁻¹; ^d DQO₀ = 354,0 mg O₂ L⁻¹; PD: Produtos de Degradação;

Analisando o custo energético pode se dizer que o processo de O₃/Fe²⁺ mostra-se como o processo mais barato (R\$ 97,09 m⁻³) para o tratamento de efluente hospitalar. Porém,

embora tenha se mostrado como processo mais caro, dentre os estudados, o processo Foto-Fenton pode ser ainda barateado, levando em consideração que a fonte de irradiação pode ser substituída por irradiação solar e, deste modo, apenas os reagentes representariam os custos deste processo, H_2O_2 50% (R\$ 774,00 $\text{ton}^{-1} \text{m}^{-3}$) e $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ > 90% (R\$ 153,00 ton^{-1}).

Por outro lado, processos baseados no uso de ferro como reagente possuem a limitação de etapa adicional de precipitação, para adequar a quantidade de ferro residual à não interferir em tratamento biológico posterior ou mesmo para a quantidade limite de 15 mg L^{-1} para lançamento em corpo receptor (CONAMA, 2011).

Ferrato de Potássio possui sua principal limitação a sua produção e instabilidade, mas em termos de tratamento de águas os custos podem ser menores, pois como oxidante-coagulante e com capacidade de desinfecção em um único produto (Jiang et al., 2006), seus custos diminuem.

Processos baseados no uso de ozônio possuem a principal limitação na transferência de massa gás-líquido e materiais preparados para suportar pressão positiva (Homem & Santos, 2011).

Portanto, apenas aplicações em escala piloto determinariam de maneira apropriada o processo mais adequado como solução para o problema do Efluente Hospitalar do HUSM, uma vez que todos os processos alcançaram degradações > 90% para os β -bloqueadores, processos como Foto-Fenton e Fe(VI) demonstraram melhora na biodegradabilidade dos PDs e os processos a base de ozônio alcançaram as maiores remoções de matéria orgânica.

14 Conclusões

- A utilização de ferramenta multivariada baseada em Metodologia de Superfície de Resposta (RSM) e *Box-Behnken Design* (BBD) permitiu a otimização das variáveis experimentais sem a realização de muitos experimentos.
- O Método de SPE/HPLC-FLD mostrou ser adequado para a determinação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em efluente hospitalar. As condições otimizadas para a metodologia de SPE foram pH da amostra 9, pH da água no condicionamento e posterior lavagem do sorvente 9 e a percentagem da mistura CH₃OH:CH₃CN:Ác. Fórmico de 90:9,9:0,1 para a etapa de eluição, respectivamente. Nessas condições as percentagens de recuperação foram de 97,4, 95,4 e 82,6% para ATE, MET e PRO, respectivamente (n=3). Ainda, a avaliação do volume de *breakthrough* permitiu trabalhar com 100 mL de amostra de efluente com fator de pré-concentração de 50 vezes.
- A análise de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em amostras de efluente lançado pelo HUSM evidenciaram a ocorrência desta classe de fármaco em efluente e em córrego na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ nos três pontos amostrados ‘Efluente PA’, ‘HUSM principal’ e ‘Córrego’, sendo as maiores concentrações encontradas no ‘Efluente PA’. A avaliação de risco da exposição de β -bloqueadores (MEC/PNEC) mostrou que Propranolol, embora tenha sido quantificado em concentração mais baixa comparado aos demais, apresentou o maior risco ambiental.
- Aplicação de Processos Avançados de Oxidação (PAOs) mostrou ser adequada para a degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol.
- O processo Foto-Fenton conduziu a total degradação de ATE, MET e PRO, alcançando ainda 80% de mineralização em solução aquosa, porém para amostra de EH foram removidos apenas 26,51% da matéria orgânica e 38,60% da aromaticidade.
 - Testes de pronta biodegradabilidade para Propranolol mostraram aumento da biodegradabilidade após aplicação de processo Foto-Fenton.
 - Testes de toxicidade com *V. fischeri* mostraram que tanto a inibição da luminescência quanto do crescimento bacteriano aumentaram durante o processo,

sendo as maiores inibições encontradas no início do processo com posterior diminuição.

- Foram identificados com auxílio de LC-MSⁿ 12, 14 e 15 Produtos de Degradação (PDs) para Propranolol nos processos de Foto-Fenton, UV/Fe²⁺ e UV/H₂O₂, respectivamente. Enquanto que para Atenolol e Metoprolol foram identificados 13 e 9 PDs, respectivamente. A identificação de PD permitiram a proposição de caminhos de degradação.
- O processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em efluente hospitalar mostrou-se eficiente para a degradação de ATE, MET e PRO (> 90%), porém a remoção de matéria orgânica mostrou-se limitada, alcançando apenas 17% (> 60% de remoção de aromaticidade).
 - A baixa capacidade de mineralização combinada com a alta taxa de degradação conduziram a identificação de vários PDs, com caminhos de degradação dependentes da característica individual de cada β-bloqueador.
 - A alta taxa de degradação também conduziu a uma melhora na biodegradabilidade, principalmente para Atenolol e Propranolol.
- A ozonização catalítica O₃/Fe²⁺ mostrou-se efetiva para a degradação de β-bloqueadores e matéria orgânica em efluente hospitalar. O processo alcançou 49% de remoção de matéria orgânica, redução de 77,9% da aromaticidade e completa degradação de ATE, MET e PRO. Embora o processo tenha sido eficiente, o processo de O₃/Fe²⁺ mostrou-se de difícil otimização frente às condições estudadas, principalmente para a degradação de Metoprolol e Propranolol.
- O processo de ozonização em efluente hospitalar os β-bloqueadores foram degradados > 95% independente do pH do meio. A maior remoção de matéria orgânica alcançada foi de apenas 30% em pH 3 e a aromaticidade do efluente foi reduzida > 50% para todos os pH estudados.
 - Em solução aquosa Atenolol, Metoprolol e Propranolol foram totalmente degradados em 10 min de processo. Foram identificados aproximadamente 10 PDs para cada β-bloqueador em pH 5, 7 e 9, o que permitiu a proposição de caminhos de degradação.

Portanto a contaminação resultante do lançamento de β -bloqueadores no meio ambiente por hospitais, em geral, deve ser considerada e soluções de remediação da contaminação por meio deste tipo de contaminante devem ser tomadas a curto prazo.

Dentre os PAOs estudados todos alcançaram degradações de β -bloqueadores acima de 90%, porém a carga orgânica e aromaticidade não foram totalmente removidos, indicando formação de PDs. Testes em soluções aquosa evidenciaram a formação de PDs e os caminhos de degradação de ATE, MET e PRO, porém os processos de degradação aplicados aumentaram relativamente a biodegradabilidade dos β -bloqueadores.

De qualquer modo, estudos mais apurados de ecotoxicidade são ainda necessários antes de qualquer aplicação prática dos tratamentos propostos, pois a interação entre β -bloqueadores, PDs e o meio ambiente são ainda incipientes.

15 Sugestões para futuros trabalhos

O presente estudo sugere algumas pesquisas com a finalidade de elucidar ainda mais o potencial risco de β -bloqueadores como contaminantes emergentes e sua degradação por Processos Avançados de Oxidação:

- Investigar mais profundamente a avaliação de risco de fármacos lançados não apenas para o HUSM, mas também para a cidade de Santa Maria, com vistas a avaliar o risco com relação quantitativa estrutura-atividade (do inglês, *quantitative structure-activity relationships* (QSAR) e *Ecological Structure Activity Relationships* (ECOSAR));
- Investigar a ocorrência de metabólitos de β -bloqueadores no sistema de esgoto lançados pelo HUSM por LC-MS;
- Aplicar modelagem matemática e modelos fenomenológicos para determinar a cinética e a ordem de reação de fármacos para os diferentes processos avançados de oxidação aplicados;
- Avaliar a combinação dos processos estudados com processo microbiológico no sentido de potencial aplicação da degradação em escala piloto;
- Investigar a toxicidade e biodegradabilidade da mistura de PDs de Atenolol, Metoprolol e Propranolol degradados por ozonização;
- Investigar a degradação de fármacos com outros processos de ozonização catalítica, tais como O_3/TiO_2 , O_3/H_2O_2 , O_3/UV entre outros;
- Utilizar outras formas de planejamento e otimização de experimentos, tais como, rede neuronal (ANN, do inglês *Artificial Neural Network*), que podem explicar melhor que a RSM a interação entre as variáveis.

16 Referências

- ANVISA, 2004. Resolução n. 306, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, DF, 7 dez. 2004. Acesso em Setembro 2011. Available at: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2004/rdc/306_04rdc.htm.
- APHA-AWWA, 1995a. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 3500-Fe*. 20th ed., American Public Health Association.
- APHA-AWWA, 1995b. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 5220-D*. 20th ed., American Public Health Association.
- Alder, A.C. et al., 2010. Fate of β -blocker human pharmaceuticals in surface water: comparison of measured and simulated concentrations in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Water Research*, 44(3), pp.936-48.
- Alexy, R., Kämpel, T. & Kümmerer, K., 2004. Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test. *Chemosphere*, 57(6), pp.505-12.
- Andreozzi, R. et al., 1999. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catalysis Today*, 53, pp.51-59.
- Armstrong, N.A., 2006. *Pharmaceutical experimental design and interpretation* 2nd ed., Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Azbar, N., Yonar, T. & Kestioglu, K., 2004. Comparison of various advanced oxidation processes and chemical treatment methods for COD and color removal from a polyester and acetate fiber dyeing effluent. *Chemosphere*, 55(1), pp.35-43.
- Bagatini, M.D. et al., 2009. Biomonitoring hospital effluents by the *Allium cepa* L. test. *Bull Environ Contam Toxicol*, 82(5), pp.590-2.
- Bendz, D. et al., 2005. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Høje River in Sweden. *Journal of Hazardous Materials*, 122(3), pp.195-204.
- Benner, J. & Ternes, T.A., 2009a. Ozonation of metoprolol: elucidation of oxidation pathways and major oxidation products. *Environmental Science & Technology*, 43(14), pp.5472-80.
- Benner, J. & Ternes, T.A., 2009b. Ozonation of propranolol: formation of oxidation products. *Environmental Science & Technology*, 43(13), pp.5086-93.
- Bezerra, M.A. et al., 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), pp.965-77.
- Bila, D.M. & Dezotti, M., 2003. Fármacos no meio ambiente. *Quim. Nova*, 26(4), pp.523-530.

- Boillot, C. et al., 2008. Daily physicochemical, microbiological and ecotoxicological fluctuations of a hospital effluent according to technical and care activities. *The Science of the Total Environment*, 403(1-3), pp.113-29.
- Bourne, G.R., 1981. The metabolism of β -adrenoreceptor blocking drugs. *Prog. Drug Metab.*, (6), pp.77-110.
- Brenner, C.G.B. et al., 2011. Determination of Sulfamethoxazole and Trimethoprim and Their Metabolites in Hospital Effluent. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 39(1), pp.28-34.
- Brillas, E., Sirés, I. & Oturan, M.A., 2009. Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. *Chemical reviews*, 109(12), pp.6570-631.
- CONAMA, 2011. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução N° 430, de 13 de maio de 2011.
- Camel, V., 2003. Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochimica Acta*, 58, pp.1177-1233.
- Carlsson, C. et al., 2006. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *The Science of the Total Environment*, 364(1-3), pp.67-87.
- Castiglioni, S. et al., 2005. A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. *Journal of Chromatography A*, 1092(2), pp.206-15.
- Castiglioni, S. et al., 2006. Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy. *Environmental Science & Technology*, 40(1), pp.357-63.
- Chen, Y. et al., 2011. Photodegradation of propranolol by Fe(III)-citrate complexes: kinetics, mechanism and effect of environmental media. *Journal of Hazardous Materials*, 194(3), pp.202-8.
- Cheng, W.P. & Chi, F.H., 2002. A study of coagulation mechanisms of polyferric sulfate reacting with humic acid using a fluorescence-quenching method. *Water Research*, 36(18), pp.4583-91.
- Chu, W. & Ching, M.H., 2003. Modeling the ozonation of 2,4 dichlorophoxyacetic acid through a kinetic approach. *Water Research*, 37, pp.39-46.
- Chu, W. & Ma, C.-W., 2000. Quantitative prediction of direct and indirect dye ozonation kinetics. *Water Research*, 34(12), pp.3153-3160.
- Cleuvers, M., 2005. Initial risk assessment for three beta-blockers found in the aquatic environment. *Chemosphere*, 59(2), pp.199-205.
- Crigée, R., 1975. Mechanism of Ozonolysis. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, (14), pp.745-752.

- Dantas, R.F. et al., 2007. Bezafibrate removal by means of ozonation: Primary intermediates, kinetics, and toxicity assessment. *Water Research*, 41, pp.2525 - 2532.
- Delaude, L. & Laszlo, P., 1996. A novel oxidizing reagent based on Potassium Ferrate(VI). *The Journal of Organic Chemistry*, 61(18), pp.6360-6370.
- Djebbar, K.E. et al., 2008. Comparison of Diuron degradation by direct UV photolysis and advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Management*, 88(4), pp.1505-12.
- Dorne, J.L.C.M. et al., 2007. Trends in human risk assessment of pharmaceuticals. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(4), pp.1167-72.
- Duan, J. & Gregory, J., 2003. Coagulation by hydrolysing metal salts. *Advances in Colloid and Interface Science*, 100-102, pp.475-502.
- Dzialowski, E.M., Turner, P.K. & Brooks, B.W., 2006. Physiological and reproductive effects of beta adrenergic receptor antagonists in *Daphnia magna*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50(4), pp.503-10.
- EMA & European Medicines Agency, 2006. Committee for medicinal products for human use (CHMP). *Doc. Ref. EMA/CHMP/SWP/4447/00*. Available at: www.emea.europa.eu/pdfs/human/swp/444700en.pdf.
- EN, ISO 11348-1:1998 L34. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamm- Untersuchung: Bestimmung der Hemmwirkung von Wasserproben auf die Lichtemission von *Vibrio fischeri* (Leuchtbakterientest) Teil 1: Verfahren mit frisch gezüchteten Bakt.
- Escher, B.I. et al., 2010. Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water Research*, 45(1), pp.75-92.
- Escher, B.I. et al., 2006. Comparative ecotoxicological hazard assessment of beta-blockers and their human metabolites using a mode-of-action-based test battery and a QSAR approach. *Environmental Science & Technology*, 40(23), pp.7402-8.
- Esplugas, S. et al., 2007. Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *Journal of Hazardous Materials*, 149, pp.631-642.
- Fan, X. et al., 2011. Removal and degradation pathway study of sulfasalazine with Fenton-like reaction. *Journal of Hazardous Materials*, 190(1-3), pp.493-500.
- Fatta-Kassinos, D., Vasquez, M.I. & Kümmerer, K., 2011. 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*, 85(5), pp.693-709.

- Feinberg, M. & Raguènès, N., 1999. Development and application of a standardized validation procedure for food chemistry laboratories. *Analytica Chimica Acta*, 391, pp.239-252.
- Feng, W. & Nansheng, D., 2000. Photochemistry of hydrolytic iron(III) species and photoinduced degradation of organic compounds . A minireview. *Chemosphere*, 41, pp.1137-1147.
- Fent, K., Weston, A.A. & Caminada, D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic toxicology*, 76(2), pp.122-59.
- Fernández-Alba, A.R. et al., 2002. Toxicity assays: a way for evaluating AOPs efficiency. *Water Research*, 36(17), pp.4255-62.
- Ferreira, S.L.C., Bruns, R.E., Ferreira, H.S., et al., 2007. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta*, 597, pp.179-186.
- Ferreira, S.L.C., Bruns, R.E., da Silva, E.G.P., et al., 2007. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. *Talanta*, 1158, pp.2-14.
- Flamm, D.T., 1977. Analysis of Ozone at Low Concentrations with Boric Acid Buffered KI. *Environmental Science & Technology*, 11, pp.978-983.
- Gabet-Giraud, V. et al., 2010. Occurrence and removal of estrogens and beta blockers by various processes in wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment*, 408(19), pp.4257-4269.
- Gibs, J. et al., 2007. Persistence of pharmaceuticals and other organic compounds in chlorinated drinking water as a function of time. *The Science of the Total Environment*, 373(1), pp.240-249.
- Glaze, W.H., 1987. Drinking-water treatment with ozone. *Environmental Science & Technology*, 3(21), pp.224-230.
- Gogate, P.R. & Pandit, A.B., 2004a. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. *Advances in Environmental Research*, 8, pp.501-551.
- Gogate, P.R. & Pandit, A.B., 2004b. A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods. *Advances in Environmental Research*, 8(3-4), pp.553-597.
- Gonzalez, O. et al., 2009. Optimization and validation of a SPE-HPLC-PDA-fluorescence method for the simultaneous determination of drugs used in combined cardiovascular therapy in human plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 50, pp.630-639.
- Gottschalk, C., Libra, J.A. & Saupe, A., 2000. *Ozonation of water and wastewater: a practical guide to understanding ozone and its application*, Ed. Wiley-VCH, Alemanha.

- Graham, N. et al., 2004. The influence of pH on the degradation of phenol and chlorophenols by potassium ferrate. *Chemosphere*, 56(10), pp.949-56.
- Gros, M. et al., 2008. Trace level determination of beta-blockers in waste waters by highly selective molecularly imprinted polymers extraction followed by liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1189(1-2), pp.374-84.
- Gulkaya, I., Surucu, G.A. & Dilek, F.B., 2006. Importance H_2O_2/Fe^{2+} ratio in Fenton's treatment of a carpet dyeing wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 136, pp.763-769.
- Gunten, U.V., 2003. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37, pp.1443-1467.
- Gupta, P. et al., 2009. Genotoxicity evaluation of hospital wastewaters. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), pp.1925-1932.
- Gómez, M.J. et al., 2006. Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *Journal of Chromatography A*, 1114(2), pp.224-33.
- Gültekin, I. & Ince, N.H., 2007. Synthetic endocrine disruptors in the environment and water remediation by advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Management*, 85, pp.816-832.
- Haiss, A. & Kümmerer, K., 2006. Biodegradability of the X-ray contrast compound diatrizoic acid, identification of aerobic degradation products and effects against sewage sludge micro-organisms. *Chemosphere*, 62(2), pp.294-302.
- Halling-Sørensen, B. et al., 1998. Occurrence, Fate and Effects of pharmaceutical Substances in the Environment - A review. *Chemosphere*, 36(2), pp.357-393.
- Heberer, T., 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology letters*, 131(1-2), pp.5-17.
- Hennion, M.-C., 1999. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 856, pp.3-54.
- Hernando, M. et al., 2007. LC-MS analysis of basic pharmaceuticals (beta-blockers and anti-ulcer agents) in wastewater and surface water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(6), pp.581-594.
- Hernando, M. et al., 2004. Analysis by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for β -blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. *Journal of Chromatography A*, 1046(1-2), pp.133-140.
- Hernando, M.D. et al., 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, 69(2), pp.334-42.

- Hibino, M. et al., 1992. Generation of mutagenicity by ozonation of humic substances' components. *The Science of the Total Environment*, 116, pp.1-13.
- Hilton, M. & Thomas, K., 2003. Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1015(1-2), pp.129-141.
- Hoigne, J. & Bader, H., 1983. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water. 2. Dissociating organic-compounds. *Water Research*, 17(2), pp.185–194.
- Homem, V. & Santos, L., 2011. Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices - A review. *Journal of Environmental Management*, 92(10), pp.2304-2347.
- Hu, L. et al., 2009. Oxidation of Carbamazepine by Mn(VII) and Fe(VI): Reaction Kinetics and Mechanism. *Environmental Science & Technology*, 43(2), pp.509-515.
- Huang, H. et al., 2001. Ferrate (VI) oxidation of aniline. *J. Chem. Soc. - Dalton Trans.*, pp.1301-1305.
- Hug, S.J. & Leupin, O., 2003. Iron-catalyzed oxidation of arsenic(III) by oxygen and by hydrogen peroxide: pH-dependent formation of oxidants in the Fenton reaction. *Environmental Science & Technology*, 37(12), pp.2734-42.
- Huggett, D.B. et al., 2002. Toxicity of select beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-blockers) on aquatic organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(2), pp.229-35.
- IBGE, 2008a. *Pesquisa Nacional de Saneamento Básico*, Available at: www.ibge.gov.br, acessado em 01/10/2011.
- IBGE, 2008b. *Projeção da População do Brasil por Sexo e Idade - 1980 - 2050*, Available at: www.ibge.gov.br, acessada em 01/10/2011.
- ICH, 2005. International Conference on Harmonization. ICH Q2 (R1): Validation of Analytical Procedures — Text and Methodology, Geneva, Switzerland, 2005. *Text*, 2.
- Isarain-Chávez, E. et al., 2010. Mineralization of the drug β -blocker atenolol by electro-Fenton and photoelectro-Fenton using an air-diffusion cathode for H_2O_2 electrogeneration combined with a carbon-felt cathode for Fe^{2+} . *Applied Catalysis B: Environmental*, 96, pp.361-369.
- Isarain-Chávez, E. et al., 2011. Electro-Fenton and photoelectro-Fenton degradations of the drug beta-blocker propranolol using a Pt anode: Identification and evolution of oxidation products. *Journal of Hazardous Materials*, 185, pp.1228-1235.

- Jiang, J.-Q. & Lloyd, B., 2002. Progress in the development and use of ferrate(VI) salt as an oxidant and coagulant for water and wastewater treatment. *Water Research*, 36(6), pp.1397-408.
- Jiang, J.-Q., Stanford, C. & Alsheyab, M., 2009. The online generation and application of ferrate(VI) for sewage treatment — A pilot scale trial. *Separation and Purification Technology*, 68, pp.227-231.
- Jiang, J.-Q., Wang, S. & Panagouloupoulos, A., 2006. The exploration of potassium ferrate(VI) as a disinfectant/coagulant in water and wastewater treatment. *Chemosphere*, 63(2), pp.212-9.
- Jolibois, B. & Guerbet, M., 2006. Hospital wastewater genotoxicity. *The Annals of Occupational Hygiene*, 50(2), pp.189-96.
- Joss, A. et al., 2006. Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: proposing a classification scheme. *Water Research*, 40(8), pp.1686-96.
- Kajitvichyanukul, P. & Suntronvipart, N., 2006. Evaluation of biodegradability and oxidation degree of hospital wastewater using photo-Fenton process as the pretreatment method. *Journal of Hazardous Materials*, 138, pp.384-391.
- Kamachi, T., Kouno, T. & Yoshizawa, K., 2005. Participation of multioxidants in the pH dependence of the reactivity of ferrate(VI). *The Journal of Organic Chemistry*, 70(11), pp.4380-8.
- Kasprzyk-Hordern, B., Ziólek, M. & Nawrocki, J., 2003. Catalytic ozonation and methods of enhancing molecular ozone reactions in water treatment. *Applied Catalysis B: Environmental*, 46(4), pp.639-669.
- Kavitha, V. & Palanivelu, K., 2004. Degradation of nitrophenols by Fenton and photo-Fenton processes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 170(1), pp.83-95.
- Kazakevich, Y. & LoBrutto, R., 2007. *HPLC for pharmaceutical scientists* Y. Kazakevich & R. LoBrutto, eds., Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Khetan, S.K. & Collins, T.J., 2007. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to Green Chemistry. *Chemical reviews*, 107(6), pp.2319-64.
- Khodadoust, S. & Hadjmohammadi, M., 2011. Determination of N-methylcarbamate insecticides in water samples using dispersive liquid – liquid microextraction and HPLC with the aid of experimental design and desirability function. *Analytica Chimica Acta*, 699(1), pp.113-119.
- Kibbey, T.C.G. et al., 2007. Adsorption of beta-blockers to environmental surfaces. *Environmental Science & Technology*, 41(15), pp.5349-56.
- Klavarioti, M., Mantzavinos, D. & Kassinos, D., 2009. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment International*, 35(2), pp.402-417.

- Klopman, G. & Tu, H., 1997. Structure-biodegradability study and computer automated prediction of biodegradation of chemicals. *Environ. Chem. Toxicol.*, 16, pp.1829–1835.
- Kosjek, T. & Heath, E., 2008. Applications of mass spectrometry to identifying pharmaceutical transformation products in water treatment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(10), pp.807-820.
- Kosjek, T. et al., 2007. Mass spectrometry for identifying pharmaceutical biotransformation products in the environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(11), pp.1076-1085.
- Kralj, M.B., Trebše, P. & Franko, M., 2007. Applications of bioanalytical techniques in evaluating advanced oxidation processes in pesticide degradation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(11), pp.1020-1031.
- Kumar, A., Kumar, S. & Sabumon, P.C., 2007. Preliminary study of physico-chemical treatment options for hospital wastewater. *Journal of Environmental Management*, 83, pp.298-306.
- Kümmerer, K., 2009a. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere*, 75(4), pp.417-434.
- Kümmerer, K., 2009b. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II. *Chemosphere*, 75(4), pp.435-441.
- Kümmerer, K., 2001. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. *Chemosphere*, 45(6-7), pp.957-69.
- Kümmerer, K., 2009c. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management*, 90, pp.2354-2366.
- Kümmerer, K., Al-Ahmad, A. & Mersh-Sundermann, V., 2000. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere*, 40(7), pp.701-710.
- de Laat, J., Le, G.T. & Legube, B., 2004. A comparative study of the effects of chloride, sulfate and nitrate ions on the rates of decomposition of H₂O₂ and organic compounds by Fe(II)/H₂O₂ and Fe(III)/H₂O₂. *Chemosphere*, 55, pp.715-723.
- Lee, H.-B., Sarafin, K. & Peart, T.E., 2007. Determination of β -blockers and β 2-agonists in sewage by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1148(2), pp.158-67.
- Lee, Y. & von Gunten, U., 2009. Oxidative transformation of micropollutants during municipal wastewater treatment: Comparison of kinetic aspects of selective (chlorine, chlorine dioxide, ferrate^{VI}, and ozone) and non-selective oxidants (hydroxyl radical). *Water Research*, p.in press.

- Lee, Y., Escher, B.I. & von Gunten, U., 2008. Efficient Removal of Estrogenic Activity during Oxidative Treatment of Waters Containing Steroid. *Environmental Science & Technology*, 42(17), pp.6333-6339.
- Lee, Y., Lee, C. & Yoon, J., 2003. High temperature dependence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degradation by $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$ system. *Chemosphere*, 51, pp.963-971.
- Legrini, O., Oliveros, E. & Braun, A.M., 1993. Photochemical Processes for Water Treatment. *Chemical reviews*, (93), pp.671-698.
- Legube, B. & Leitner, N.K.V., 1999. Catalytic ozonation: a promising advanced oxidation technology for water treatment. *Catalysis Today*, 53(1), pp.61-72.
- Li, C., Li, X.Z. & Graham, N., 2005. A study of the preparation and reactivity of potassium ferrate. *Chemosphere*, 61, pp.537-543.
- Li, C. et al., 2008. The aqueous degradation of bisphenol A and steroid estrogens by ferrate. *Water Research*, 42, pp.109 - 120.
- Li, K., Stefan, M.I. & Crittenden, J.C., 2007. Trichloroethene degradation by UV/ H_2O_2 advanced oxidation process: product study and kinetic modeling. *Environmental Science & Technology*, 41(5), pp.1696-703.
- Licht, S. et al., 2001. Analysis of ferrate(VI) compounds and super-iron Fe(VI) battery cathodes: FTIR, ICP, titrimetric, XRD, UV/VIS, and electrochemical characterization. *Journal of Power Sources*, 101(2), pp.167-176.
- Liu, Q.-T. & Williams, H.E., 2007. Kinetics and degradation products for direct photolysis of beta-blockers in water. *Environmental Science & Technology*, 41(3), pp.803-10.
- Marco-Urrea, E. et al., 2009. Oxidation of atenolol, propranolol, carbamazepine and clofibrac acid by a biological Fenton-like system mediated by the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Water Research*, pp.1-12.
- Martins, A.F., Frank, C.S. & Wilde, M.L., 2007. Treatment of a Trifluraline Effluent by Means of Oxidation-Coagulation with Fe(VI) and Combined Fenton Processes. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 35(1), pp.88-99.
- Martins, A.F. et al., 2011. Occurrence of the Antimicrobials Sulfamethoxazole and Trimethoprim in Hospital Effluent and Study of Their Degradation Products after Electrocoagulation. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 39(1), pp.21-27.
- Martins, A.F. et al., 2009. A Study of Photocatalytic Processes Involving the Degradation of the Organic Load and Amoxicillin in Hospital Wastewater. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 37(4-5), pp.365-371.
- Martins, A.F., Arsand, D.R., et al., 2008. COD Evaluation of Hospital Effluent by Means of UV-Spectral Deconvolution. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 36(10-11), pp.875-878.

- Martins, A.F., Vasconcelos, T.G., et al., 2008. Concentration of Ciprofloxacin in Brazilian Hospital Effluent and Preliminary Risk Assessment: A Case Study. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 36(3), pp.264-269.
- Martins, R.C., Lopes, R.J.G. & Quinta-Ferreira, R.M., 2010. Lumped kinetic models for single ozonation of phenolic effluents. *Chemical Engineering Journal*, 165(2), pp.678-685.
- Maurer, M. et al., 2007. Elimination of β -blockers in sewage treatment plants. *Water Research*, 41(7), pp.1614-22.
- Medana, C. et al., 2008. Characterization of atenolol transformation products on light-activated TiO₂ surface by high-performance liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 22, pp.301–313.
- Melo, S.A.S. et al., 2009. Degradação de Fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Quim. Nova*, 32(1), pp.188-197.
- Minetto, L., 2009. *Reatores de discos Rotativos e tubular helicoidal na degradação fotocatalítica de diclofenaco e carga orgânica de efluente hospitalar*. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- Minh, H.V. & Hung, N., 2011. Economic Aspects of Sanitation in Developing Countries. *Environmental Health Insights*, (5), pp.63-70.
- Montgomery, D.C., 2001. *Design and analysis of experiments* 5th ed., N.Y.: John Wiley & Sons.
- Mosquera, V. et al., 1999. Thermodynamics of micellization of surfactants of low aggregation number: the aggregation of propranolol hydrochloride. *J. Colloid Interface Sci.*, 210, pp.97-102.
- Mácová, Z. et al., 2009. Research progress in the electrochemical synthesis of ferrate(VI). *Electrochimica Acta*, 54, pp.2673-2683.
- Nanaboina, V. & Korshin, G.V., 2010. Evolution of Absorbance Spectra of Ozonated Wastewater and Its Relationship with the Degradation of Trace-Level Organic Species. *Environmental Science & Technology*, 44(16), pp.6130-6137.
- Nawrocki, L. & Kasprzyk-Hordern, B., 2010. The efficiency and mechanisms of catalytic ozonation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 99, pp.27-42.
- Neyens, E. & Baeyens, J., 2003. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *Journal of Hazardous Materials*, 98(1-3), pp.33-50.
- Nogueira, R.F.P., Oliveira, M.C. & Paterlini, W.C., 2005. Simple and fast spectrophotometric determination of H₂O₂ in photo-Fenton reactions using metavanadate. *Talanta*, 66(1), pp.86-91.

- Nyholm, N., 1991. The European system of standardized legal tests for assessing the biodegradability of chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.*, 10(10), pp.1327-1246.
- OECD, 1992. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: Sixteenth Addendum – 1992, Lslf. , (July), pp.1-62.
- Oppenländer, T., 2003. *Photochemical Purification of Water and Air*, Weinheim, Alemanha: Wiley-VCH.
- Park, J.-S., Choi, H. & Cho, J., 2004. Kinetic decomposition of ozone and para-chlorobenzoic acid (pCBA) during catalytic ozonation. *Water Research*, 38, pp.2285-2292.
- Parvez, S., Venkataraman, C. & Mukherji, S., 2006. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. *Environment international*, 32(2), pp.265-8.
- Pavlović, D.M. et al., 2007. Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(11), pp.1062-1075.
- Pera-Titus, M. et al., 2004. Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 47(4), pp.219-256.
- Petrovic, M. & Barceló, D., 2007. LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(6), pp.486-493.
- Piera, E. et al., 2000. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid degradation by catalyzed ozonation: TiO₂/UVA/O₃ and Fe(II)/UVA/O₃ systems. *Applied Catalysis B: Environmental*, 27, pp.169-177.
- Piram, A. et al., 2008. Development and optimisation of a single extraction procedure for the LC/MS/MS analysis of two pharmaceutical classes residues in sewage treatment plant. *Talanta*, 74(5), pp.1463-75.
- Quispe, C. et al., 2011. Monitoring of β -blockers ozone degradation via electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 22(5), pp.919-928.
- Radjenovic, J., Escher, B.I. & Rabaey, K., 2011. Electrochemical degradation of the β -blocker metoprolol by Ti/Ru_{0.7}Ir_{0.3}O₂ and Ti/SnO₂-Sb electrodes. *Water Research*, 45, pp.3205-3214.
- Radjenović, J., Petrović, M. & Barceló, D., 2009. Complementary mass spectrometry and bioassays for evaluating pharmaceutical-transformation products in treatment of drinking water and wastewater. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 28(5), pp.562-580.
- Radjenović, J. et al., 2007. Advanced mass spectrometric methods applied to the study of fate and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 26(11), pp.1132-1144.

- Radjenović, J. et al., 2008. Identification and structural characterization of biodegradation products of atenolol and glibenclamide by liquid chromatography coupled to hybrid quadrupole time-of-flight and quadrupole ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1210(2), pp.142-53.
- Radjenović, J., Sirtori, C, et al., 2009. Solar photocatalytic degradation of persistent pharmaceuticals at pilot-scale: Kinetics and characterization of major intermediate products. *Applied Catalysis B: Environmental*, 89(1-2), pp.255-264.
- Reeves, P.R. et al., 1978. Metabolism of atenolol in man. *Xenobiotica*, 8(5), pp.131-320.
- Rigg, T., Taylor, W. & Weiss, J., 1954. The rate constant of the reaction between Hydrogen Peroxide and Ferrous Ions. *The Journal of Chemical Physics*, 22(1953), pp.575-577.
- Roberts, P.H. & Thomas, K.V., 2006. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *The Science of the Total Environment*, 356(1-3), pp.143-53.
- Rodriguez, M.L. et al., 2003. Rate equation for the degradation of nitrobenzene by “Fenton-like” reagent. *Advances in Environmental Research*, 7, pp.583-595.
- Romero, V. et al., 2011. Photocatalytic treatment of metoprolol and propranolol. *Catalysis Today*, 161(1), pp.115-120.
- Rush, J.D. & Bielski, B.H.J., 1989. Kinetics of Ferrate(V) decay in aqueous solution. A Pulse-Radiolysis study. *Inorganic Chemistry*, 28, pp.3947-3951.
- Sauleda, R. & Brillas, E., 2001. Mineralization of aniline and 4-chlorophenol in acidic solution by ozonation catalyzed with Fe^{2+} and UVA light. *Applied Catalysis B: Environmental*, 29, pp.135-145.
- Sayato, Y., Nakamuro, K. & Ueno, H., 1987. Mutagenicity of products formed by ozonation of naphthoresorcinol in aqueous solutions. *Mutation Research*, 189, pp.217-222.
- Sharma, V.K. & Mishra, S.K., 2006. Ferrate (VI) oxidation of ibuprofen: A kinetic study. *Environmental Chemistry Letters*, 3, pp.182-185.
- Sharma, V.K., 2008. Oxidative transformations of environmental pharmaceuticals by Cl_2 , ClO_2 , O_3 , and Fe(VI): Kinetics assessment. *Chemosphere*, 73(9), pp.1379-1386.
- Sharma, V.K., 2002. Potassium ferrate(VI): an environmentally friendly oxidant. *Advances in Environmental Research*, 6(2), pp.143-156.
- Sharma, V.K., Mishra, S.K. & Nesnas, N., 2006. Oxidation of sulfonamide antimicrobials by ferrate(VI) [$\text{Fe}^{\text{VI}}\text{O}_4^{2-}$]. *Environmental Science & Technology*, 40(23), pp.7222-7.
- Shemer, H., Kunukcu, Y.K. & Linden, K.G., 2006. Degradation of the pharmaceutical metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. *Chemosphere*, 63(2), pp.269-76.

- Sirés, I., Oturan, N. & Oturan, M.A., 2010. Electrochemical degradation of Beta-blockers. Studies on single and multicomponent synthetic aqueous solutions. *Water Research*, 44(10), pp.3109-3120.
- Sivakumar, T. et al., 2007. Multi-criteria decision making approach and experimental design as chemometric tools to optimize HPLC separation of domperidone and pantoprazole. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43, pp.1842-1848.
- Skoumal, M. et al., 2006. Mineralization of paracetamol by ozonation catalyzed with Fe^{2+} , Cu^{2+} and UVA light. *Applied Catalysis B: Environmental*, 66, pp.228-240.
- Slegers, C. et al., 2006. LC-MS analysis in the e-beam and gamma radiolysis of metoprolol tartrate in aqueous solution: Structure elucidation and formation mechanism of radiolytic products. *Radiation Physics and Chemistry*, 75, pp.977-989.
- Song, W. et al., 2008. Free radical destruction of β -blockers in aqueous solution. *Environmental Science & Technology*, 42(4), pp.1256-61.
- Stumpf, M. et al., 1999. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *The Science of the total environment*, 225, pp.135-141.
- Sui, M. et al., 2010. FeOOH catalytic ozonation of oxalic acid and the effect of phosphate binding on its catalytic activity. *Applied Catalysis B: Environmental*, 96(1-2), pp.94-100.
- Sun, J.-H. et al., 2007. A kinetic study on the degradation of p-nitroaniline by Fenton oxidation process. *Journal of Hazardous Materials*, 148, pp.172-177.
- Tay, K.S., Rahman, N.A. & Abas, M.R.B., 2011. Characterization of atenolol transformation products in ozonation by using rapid resolution high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 99, pp.312-326.
- Ternes, T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, 32(11), pp.3245-3260.
- Ternes, T.A. & Hirsch, R., 2000. Occurrence and Behavior of X-ray Contrast Media in Sewage Facilities and the Aquatic Environment. *Environmental Science & Technology*, 34(13), pp.2741-2748.
- Ternes, T.A. et al., 1998. Methods for the determination of neutral drugs as well as betablockers and 2-sympathomimetics in aqueous matrices using GC/MS and LC/MS/MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, pp.329-340.
- Ternes, T.A. et al., 2002. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science & Technology*, 36(17), pp.3855-63.
- Terzić, S. et al., 2008. Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region. *The Science of the Total Environment*, 399(1-3), pp.66-77.

- Trovó, A.G., Melo, S.A.S. & Nogueira, R.F.P, 2008. Photodegradation of the pharmaceuticals amoxicillin, bezafibrate and paracetamol by the photo-Fenton process—Application to sewage treatment plant effluent. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 198(2-3), pp.215-220.
- Trovó, A.G. et al., 2009. Degradation of sulfamethoxazole in water by solar photo-Fenton. Chemical and toxicological evaluation. *Water Research*, 43, pp.3922-3931.
- Upadhyaya, A. et al., 2006. Microemulsion phase behavior of anionic - cationic surfactant mixtures: effect of tail branching. *J. Surfactants Deterg.*, 9, pp.169-170.
- Vanderford, B.J. et al., 2011. Assessment of sample preservation techniques for pharmaceuticals , personal care products, and steroids in surface and drinking water. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, (399), pp.2227-2234.
- Vasconcelos, T.G. et al., 2009. Ciprofloxacin in hospital effluent: degradation by ozone and photoprocesses. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), pp.1154-8.
- Verlicchi, P. et al., 2010. Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. *Journal of Hydrology*, (389), pp.416-428.
- Vieno, N.M., Tuhkanen, T. & Kronberg, L., 2006. Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography. A*, 1134(1-2), pp.101-11.
- Villaseñor, J., Reyes, P. & Pecchi, G., 2002. Catalytic and photocatalytic ozonation of phenol on MnO₂ supported catalysts. *Catalysis Today*, 76(2-4), pp.121-131.
- Walling, C., 1975. Fenton's reagent revisited. *Acc. Chem. Res.*, (8), pp.125-131.
- Wick, A. et al., 2009. Fate of beta blockers and psycho-active drugs in conventional wastewater treatment. *Water Research*, 43(4), pp.1060-74.
- Wilde, M.L., 2006. *Tratamento de efluente da produção de trifluralina por oxidação-coagulação com ferrato de potássio e processos Fenton combinados*. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.
- Xu, G.R., Zhang, Y.P. & Li, G.B., 2009. Degradation of azo dye active brilliant red X-3B by composite ferrate solution. *Journal of Hazardous Materials*, 161(2-3), pp.1299-305.
- Yang, B. et al., 2011. Oxidation of triclosan by ferrate: Reaction kinetics, products identification and toxicity evaluation. *Journal of Hazardous Materials*, 186(1), pp.227-235.
- Yang, H. et al., 2010. Photocatalytic degradation kinetics and mechanism of environmental pharmaceuticals in aqueous suspension of TiO₂: A case of β -blockers. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1-3), pp.834-839.

- Yang, L. et al., 2009. Catalytic ozonation of selected pharmaceuticals over mesoporous alumina-supported manganese oxide. *Environmental Science & Technology*, 43(7), pp.2525-9.
- Yuan, B.-L., Li, X.-Z. & Graham, N., 2008. Reaction pathways of dimethyl phthalate degradation in TiO₂-UV-O₂ and TiO₂-UV-Fe(VI) systems. *Chemosphere*, 72(2), pp.197-204.
- Zhang, P. et al., 2012. Bisphenol A oxidative removal by ferrate (Fe(VI)) under a weak acidic condition. *Separation and Purification Technology*, 84, pp.46-51.
- Zuccato, E., Castiglioni, S. & Fanelli, R., 2005. Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 122(3), pp.205-9.

17 Apêndices

Apêndice A. Espectros de fluorescência de Atenolol, Metoprolol e Propranolol.

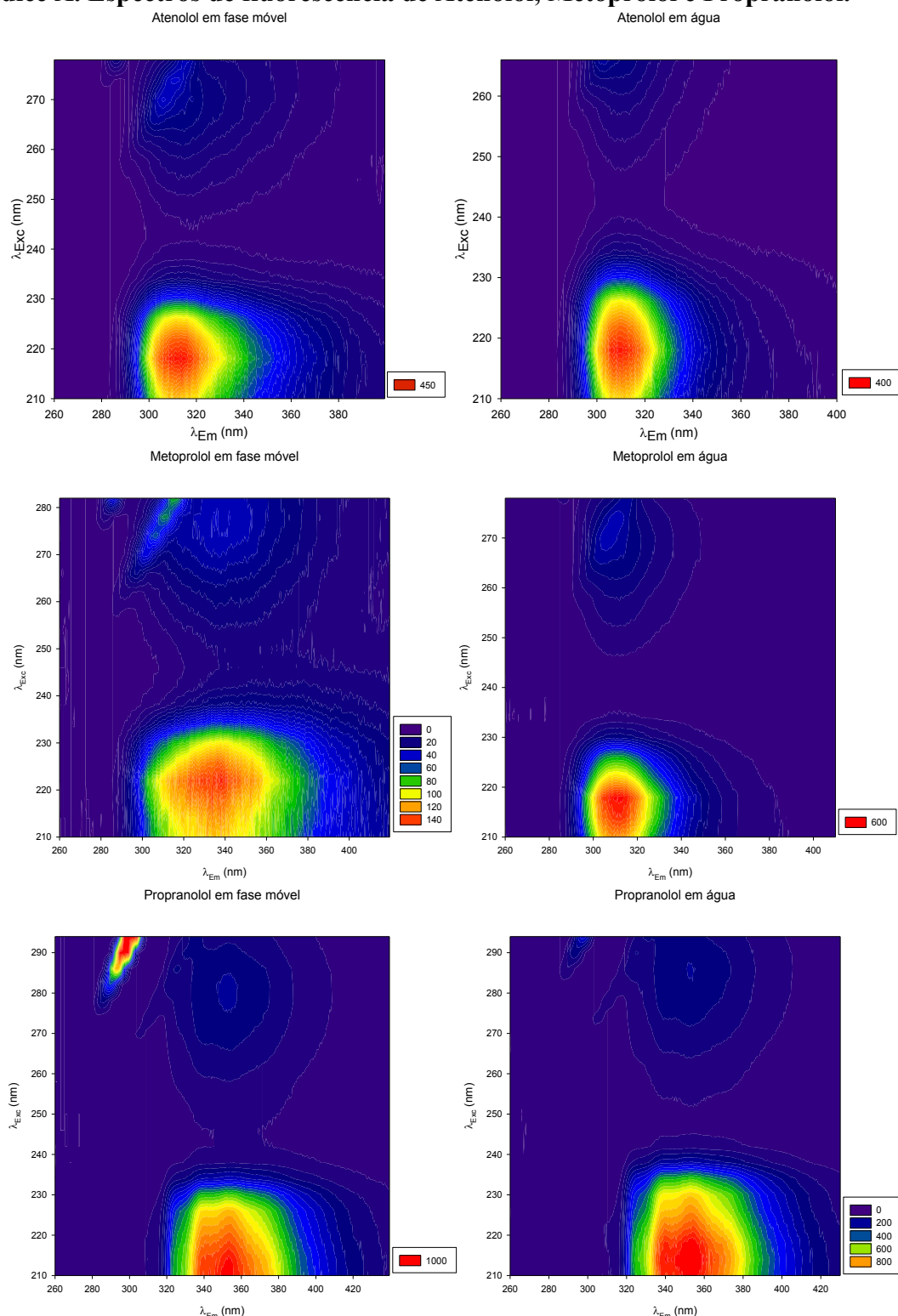


Figura 164. Diagramas de Contorno da comparação sobre o efeito do solvente sobre a fluorescência dos β -bloqueadores. Concentração dos β -bloqueadores [ATE], [MET] e [PRO] $25 \mu\text{g L}^{-1}$. (A) Atenolol em fase móvel; (B) Atenolol em água; (C) Metoprolol em fase móvel; (D) Metoprolol em água; (E) Propranolol em fase móvel; (F) Propranolol em água.

Apêndice B. ANOVA para a otimização da separação cromatográfica de Atenolol, Metoprolol e Propranolol.

Tabela 26. ANOVA dos efeitos principais para o modelo quadrático de *Box-Behnken Design* da $RS_{\text{Atte-Met}}$. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
(1)pH (L)	1,288156	1	1,288156	120,2621	0,000110
pH (Q)	0,050964	1	0,050964	4,7580	0,080982
(2)Temperatura (°C)(L)	0,001704	1	0,001704	0,1591	0,706453
Temperatura (°C)(Q)	0,001174	1	0,001174	0,1096	0,754067
(3)Tampão (mmol L-1)(L)	0,886538	1	0,886538	82,7671	0,000269
Tampão (mmol L-1)(Q)	0,346070	1	0,346070	32,3090	0,002348
1L by 2L	0,025566	1	0,025566	2,3869	0,183018
1L by 3L	0,112161	1	0,112161	10,4713	0,023053
2L by 3L	0,184281	1	0,184281	17,2044	0,008929
Erro	0,053556	5	0,010711		
Total SS	2,931382	14			

Tabela 27. ANOVA dos efeitos principais para o modelo quadrático de *Box-Behnken Design* da $RS_{\text{Met-Pro}}$. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
(1)pH (L)	0,052493	1	0,052493	9,01919	0,029989
pH (Q)	0,035854	1	0,035854	6,16042	0,055703
(2)Temperatura (°C)(L)	0,025727	1	0,025727	4,42037	0,089473
Temperatura (°C)(Q)	0,005608	1	0,005608	0,96354	0,371376
(3)Tampão (mmol L-1)(L)	0,143037	1	0,143037	24,57636	0,004257
Tampão (mmol L-1)(Q)	0,121722	1	0,121722	20,91407	0,005984
1L by 2L	0,348385	1	0,348385	59,85876	0,000576
1L by 3L	0,156703	1	0,156703	26,92440	0,003499
2L by 3L	0,187255	1	0,187255	32,17373	0,002370
Erro	0,029101	5	0,005820		
Total SS	1,092335	14			

Apêndice C. ANOVA para a otimização da metodologia de SPE.

Tabela 28. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da recuperação da extração de Atenolol por SPE. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
(1)pH (L)	20,6570	1	20,65703	1,693802	0,229327
pH (Q)	60,8980	1	60,89804	4,993422	0,055895
(2)pH H ₂ O (Cond. e Lav.)(L)	0,2209	1	0,22090	0,018113	0,896265
pH H ₂ O (Cond. e Lav.)(Q)	2,5322	1	2,53223	0,207634	0,660742
(3)CH ₃ OH (L)	0,0812	1	0,08122	0,006660	0,936962
CH ₃ OH (Q)	0,8777	1	0,87774	0,071971	0,795276
1L by 2L	36,4658	1	36,46580	2,990065	0,122034
1L by 3L	5,1842	1	5,18420	0,425086	0,532691
2L by 3L	10,7185	1	10,71845	0,878875	0,375945
Erro	97,5652	8	12,19565		
Total SS	244,8090	17			

Tabela 29. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da recuperação da extração de Metoprolol por SPE. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
(1)pH (L)	14,8803	1	14,8803	1,30294	0,286691
pH (Q)	182,2819	1	182,2819	15,96081	0,003977
(2)pH H ₂ O (Cond. e Lav.)(L)	21,4601	1	21,4601	1,87907	0,207663
pH H ₂ O (Cond. e Lav.)(Q)	20,2831	1	20,2831	1,77601	0,219346
(3)CH ₃ OH (L)	181,5083	1	181,5083	15,89307	0,004024
CH ₃ OH (Q)	57,4670	1	57,4670	5,03187	0,055151
1L by 2L	16,9653	1	16,9653	1,48550	0,257633
1L by 3L	4,0470	1	4,0470	0,35436	0,568108
2L by 3L	5,3956	1	5,3956	0,47245	0,511295
Erro	91,3647	8	11,4206		
Total SS	530,3134	17			

Tabela 30. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da recuperação da extração de Propranolol por SPE. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
(1)pH (L)	0,456	1	0,4556	0,03080	0,865054
pH (Q)	607,401	1	607,4010	41,05660	0,000207
(2)pH H ₂ O (Cond. e Lav.)(L)	109,307	1	109,3070	7,38849	0,026323
pH H ₂ O (Cond. e Lav.)(Q)	215,295	1	215,2950	14,55263	0,005128
(3)CH ₃ OH (L)	523,723	1	523,7232	35,40049	0,000342
CH ₃ OH (Q)	536,500	1	536,4998	36,26412	0,000316
1L by 2L	8,778	1	8,7780	0,59334	0,463267
1L by 3L	0,011	1	0,0113	0,00076	0,978676
2L by 3L	42,412	1	42,4121	2,86680	0,128879
Erro	118,354	8	14,7942		
Total SS	1683,204	17			

Apêndice D. Características de operação do Espectrometro de Massas (MS) e Cromatograma de Íons Total (TIC) de Atenolol, Metoprolol e Propranolol.

Tabela 31. Características de operação do espectrômetro de massas (LC-ESI-IT-MSⁿ).

Mode	Tune SPS		Tune Source			Trap	
Mass Range Mode	Std/Normal	Target Mass	400 m/z	Trap Drive	51.00	Rolling	On
Ion Polarity	Positive	Compound Stability	100%	Octopole RF Amplitude	150.0 Vpp	Rolling Averages	2 cts
Ion Source Type	ESI	Trap Drive Level	100%	Lens 2	60.0 V	Scan Begin	40 m/z
Alternating Ion Polarity	On	Optimize	Normal	Capillary Exit	- 121.0 V	Scan End	800 m/z
Current Alternating Ion Polarity	Positive	Smart Parameter Setting	active	Dry Temp.	350 °C	Averages	6 Spectra
				Nebulizer	30.00 psi	Accumulation Time	200000 µs
				Dry Gas	12.00 L min ⁻¹	(Smart) ICC Target	40000
				HV Capillary	-4000 V	ICC	On
				HV End Plate Offset	-500 V	trap driver	37.2%
				Skimmer	-40 V		
				octopole one	12 V		
				octopole two	1.7 V		

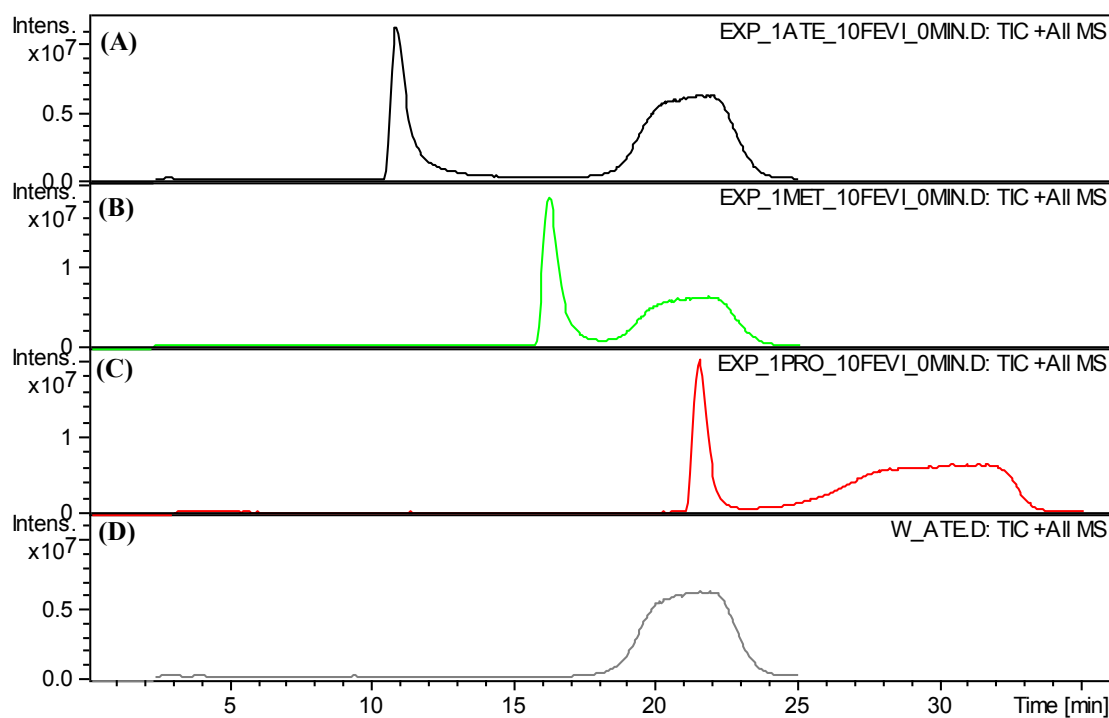


Figura 165. Cromatograma Total de Íons (TIC) de solução padrão de 10 mg L⁻¹ de (A) Atenolol, (B) Metoprolol e (C) Propranolol. (D) Branco (Água ultra pura).

Apêndice E. ANOVA para a otimização da degradação de PRO por processo Foto-Fenton.

Tabela 32. ANOVA para o modelo quadrático de Superfície de resposta para a mineralização de Propranolol. (SQ: Soma Quadrática; GL: Graus de Liberdade; MQ: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
(1) pH (L)	38,582	1	38,5819	1,66521	0,221212
pH (Q)	11,646	1	11,6461	0,50265	0,491882
(2) [Fe ²⁺] (mg L ⁻¹)(L)	34,123	1	34,1235	1,47278	0,248253
[Fe ²⁺] (mg L ⁻¹)(Q)	197,098	1	197,0979	8,50684	0,012921
(3) [H ₂ O ₂] (mg L ⁻¹)(L)	297,753	1	297,7525	12,85113	0,003749
[H ₂ O ₂] (mg L ⁻¹)(Q)	0,451	1	0,4508	0,01945	0,891384
(4) Temperatura (°C)(L)	26,009	1	26,0087	1,12255	0,310231
Temperatura (°C)(Q)	438,529	1	438,5286	18,92709	0,000944
1L by 2L	1,453	1	1,4533	0,06272	0,806478
1L by 3L	48,681	1	48,6814	2,10111	0,172819
1L by 4L	240,147	1	240,1474	10,36487	0,007362
2L by 3L	3,769	1	3,7691	0,16268	0,693797
2L by 4L	5,798	1	5,7977	0,25023	0,625959
3L by 4L	0,098	1	0,0980	0,00423	0,949226
Erro	278,032	12	23,1694		
Total SS	1564,527	26			

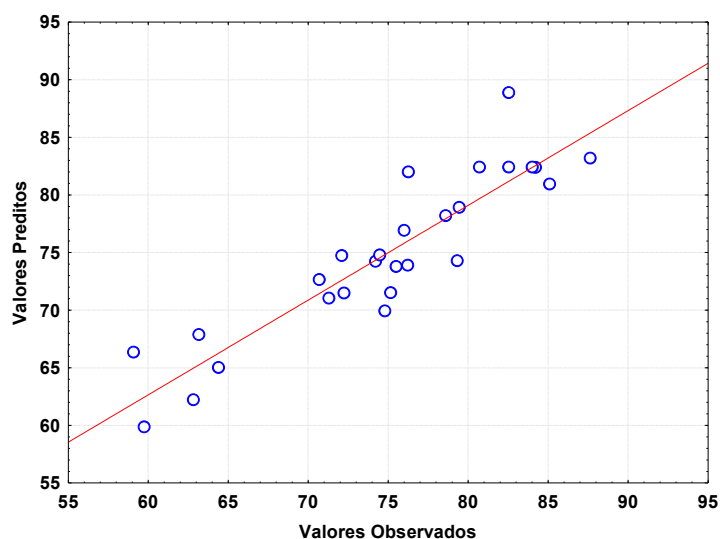


Figura 166. Perfil dos valores experimentais observados vs os valores preditos pelo modelo proposto para a degradação de Propranolol por Foto-Fenton.

Apêndice F. Produtos de degradação não identificado de Propranolol por processo Foto-Fenton.

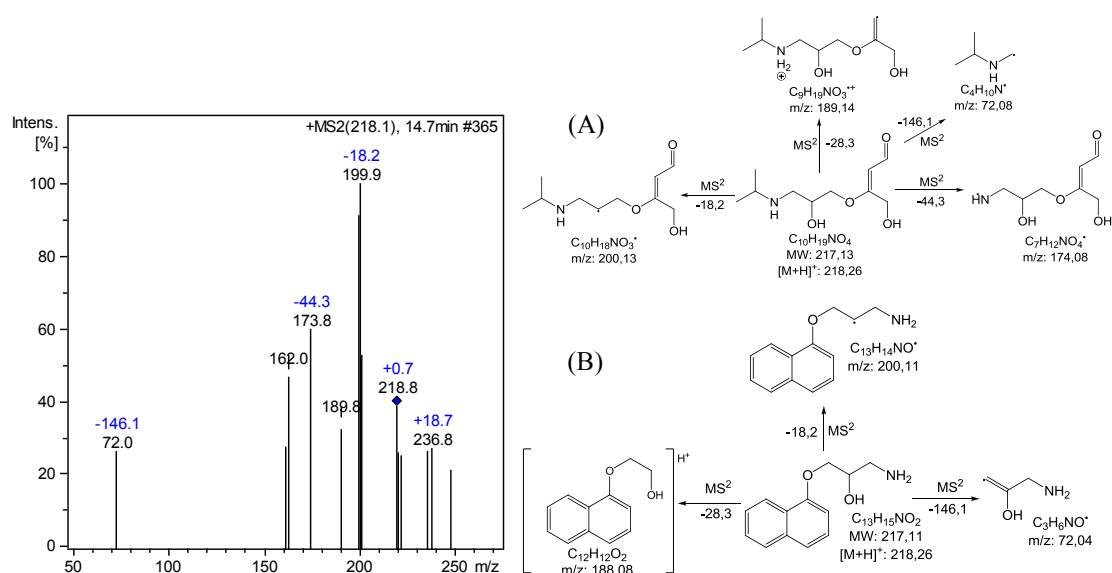


Figura 167. Espectro obtido por ESI(+)-MS², estruturas propostas e caminhos de fragmentação para o PD 218.

Apêndice G. Cromatograma da degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em Efluente Hospitalar por Foto-Fenton.

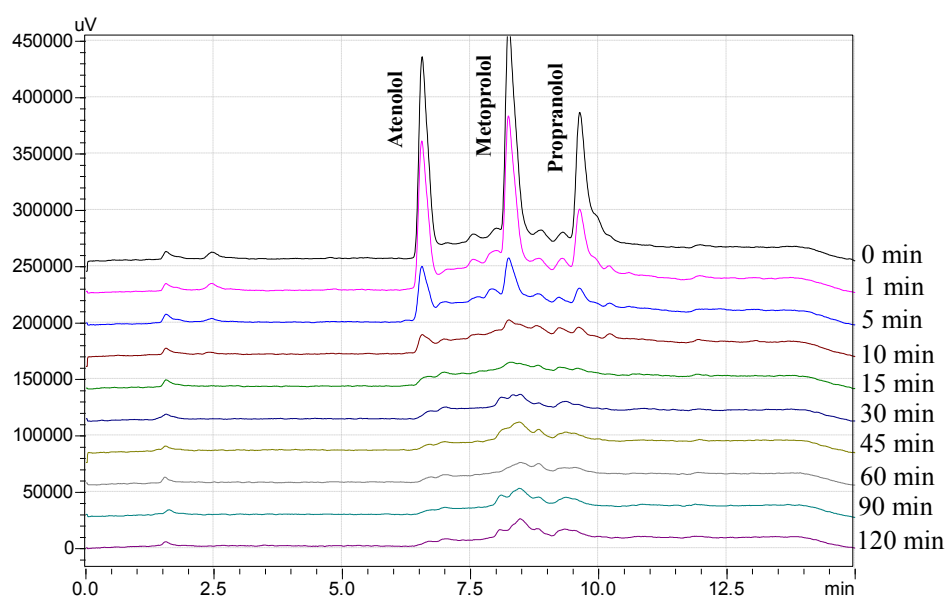


Figura 168. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO em Efluente Hospitalar por processo Foto-Fenton. Condições iniciais: $[BB]_0$ 10 mg L⁻¹; pH 4; $[Fe^{2+}]_0$ 7,5 mg L⁻¹; $[H_2O_2]_0$ 150 mg L⁻¹; Temp. 30 °C.

Apêndice H. ANOVA dos modelos de regressão e plot observados vs preditos do planejamento de degradação por Fe(VI).

Tabela 33. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Red_{DOO} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	151	5	30,2	5,4212856	0,003
(1)pH (L)	33,6250	1	33,62501	6,03810	0,057422
pH (Q)	10,0033	1	10,00328	1,79630	0,237836
(2)[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (L)	91,4914	1	91,49135	16,42924	0,009793
[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (Q)	6,3095	1	6,30949	1,13301	0,335816
1L by 2L	2,7994	1	2,79945	0,50270	0,509997
Erro	27,8441	5	5,56881		
Total SS	178,7239	10			

Tabela 34. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{ATE} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	8652	5	1730	5,4532144	0,0002
(1)pH (L)	1155,14	1	1155,136	3,63512	0,114886
pH (Q)	1825,37	1	1825,374	5,74431	0,061870
(2)[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (L)	4415,89	1	4415,892	13,89648	0,013602
[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (Q)	1381,41	1	1381,414	4,34721	0,091479
1L by 2L	588,87	1	588,869	1,85313	0,231556
Erro	1588,85	5	317,771		
Total SS	10237,21	10			

Tabela 35. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{MET} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	9829	5	1966	20,622922	0,001
(1)pH (L)	502,74	1	502,742	5,27300	0,070095
pH (Q)	1168,10	1	1168,103	12,25163	0,017280
(2)[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (L)	7936,54	1	7936,537	83,24225	0,000265
[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (Q)	588,60	1	588,602	6,17355	0,055523
1L by 2L	0,39	1	0,388	0,00407	0,951581
Erro	476,71	5	95,343		
Total SS	10305,76	10			

Tabela 36. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{PRO} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	2150	5	430	8,0214418	0,00005
(1)pH (L)	1163,598	1	1163,598	21,67864	0,005552
pH (Q)	2,741	1	2,741	0,05107	0,830158
(2)[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (L)	961,910	1	961,910	17,92106	0,008222
[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (Q)	3,191	1	3,191	0,05945	0,817050
1L by 2L	16,070	1	16,070	0,29940	0,607785
Erro	268,374	5	53,675		
Total SS	2418,347	10			

Tabela 37. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Red_{UV254} do processo de oxidação-coagulação com Fe(VI) em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	3946	5	789	5,432077	0,0014
(1)pH (L)	1164,874	1	1164,874	8,00903	0,036674
pH (Q)	721,372	1	721,372	4,95976	0,076448
(2)[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (L)	1755,117	1	1755,117	12,06723	0,017777
[Fe(VI)] mg L ⁻¹ (Q)	471,365	1	471,365	3,24085	0,131718
1L by 2L	94,863	1	94,863	0,65223	0,456003
Erro	727,225	5	145,445		
Total SS	4672,466	10			

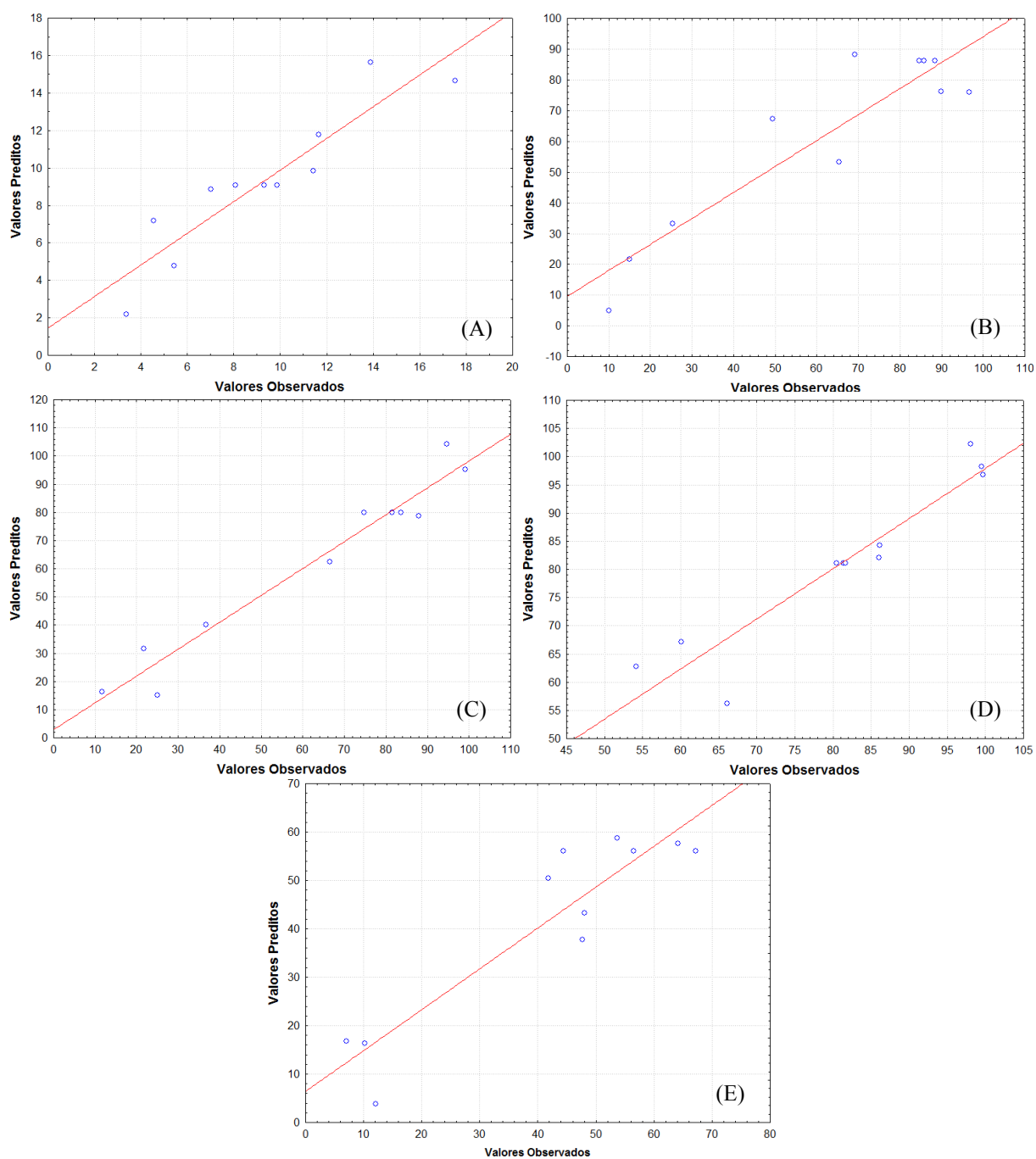


Figura 169. Perfil dos valores experimentais observados vs os valores preditos pelo modelo proposto para a oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) Redução da DQO, degradação de (B) Atenolol, (C) Metoprolol e (D) Propranolol e (E) Redução da Aromaticidade (Red_{UV254}).

Apêndice I. Cromatograma da degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em Efluente Hospitalar por oxidação-coagulação com Fe(VI).

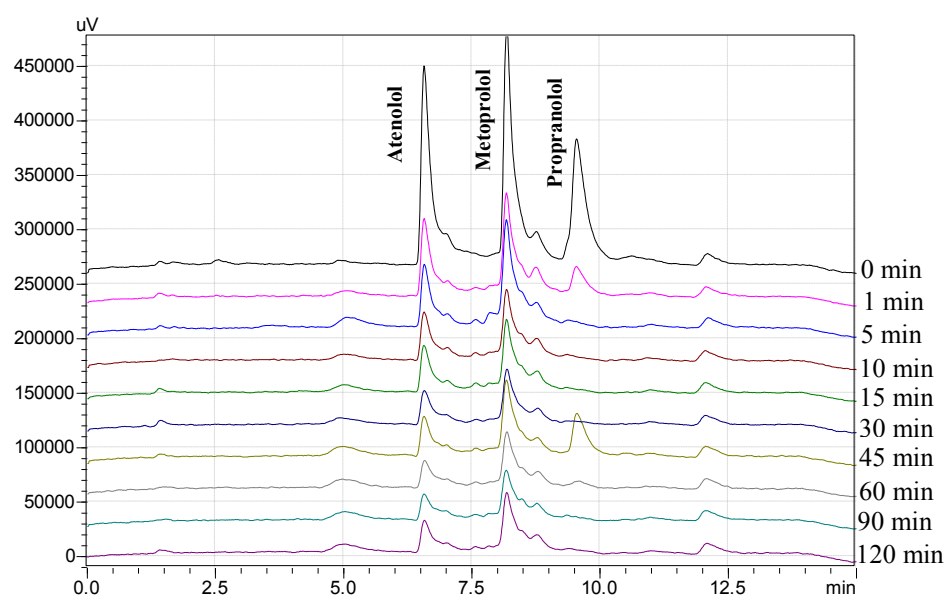


Figura 170. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO em Efluente Hospitalar por processo de oxidação-coagulação com Fe(VI). Condições iniciais: Exp. 2; [BB] 200 $\mu\text{g L}^{-1}$; pH 4; [Fe(VI)] 150 mg L^{-1} ; Temp. 20 $^{\circ}\text{C}$.

Apêndice J. Produto de Degradação não identificado da oxidação-coagulação de Metoprolol por Fe(VI).

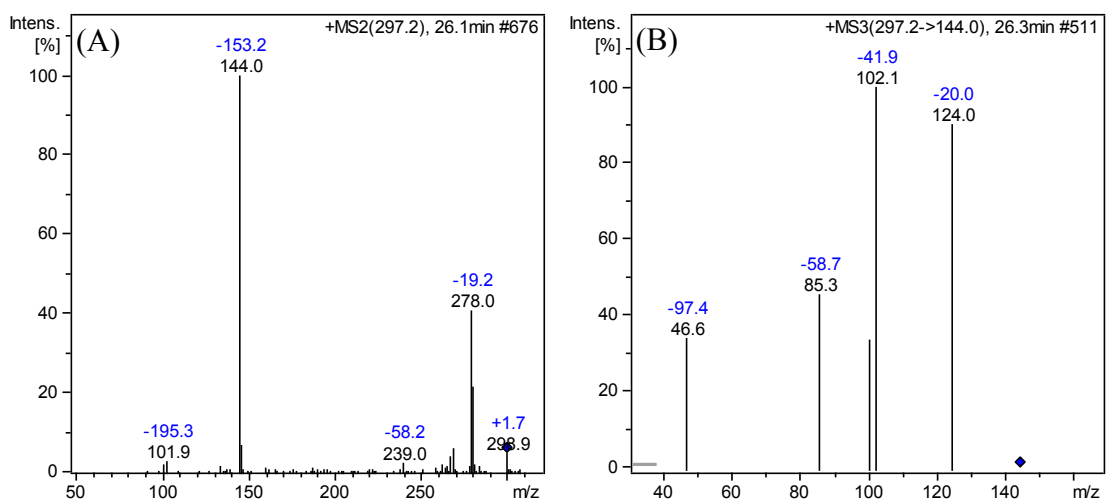
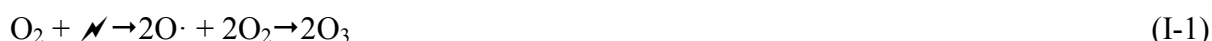


Figura 171. Espectro de massas obtido por ESI(+)-MSⁿ para o Produto de Degradação PD 297 de Metoprolol por oxidação-coagulação com Fe(VI). (A) MS² da m/z 297,2, (B) m/z 297,2 → 144,0 MS³.

Apêndice K. Otimização da geração de ozônio.

A otimização da geração de ozônio foi baseado em RSM para as duas variáveis independentes Fluxo de ar ($1,2-6,8 \text{ L min}^{-1}$) e Tensão aplicada entre os eletrodos (65-95 %). Como variável dependente foi escolhido a resposta em termos de concentração de O_3 ($\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Para a máxima produção de ozônio foram otimizados o fluxo de ar seco (L min^{-1}) e Tensão (%), que ajusta a diferença de potencial entre os eletrodos para a descarga corona (Reação I-1).



A determinação de ozônio em fase aquosa foi feita espectrofotometricamente por meio da reação de ozônio com KI 1% (m/v) em H_3BO_3 ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) ($\epsilon = 26500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, $\lambda 352 \text{ nm}$), de acordo com as Reações I-2 e I-3, conforme recomendado por (Flamm, 1977).



A solução de KI/ H_3BO_3 foi ozonizada por 5 min e então foi retirada uma alíquota para análise por espectrofotometria.

As variáveis, os níveis e as respostas obtidas para a geração de ozônio podem ser observados na Tabela 38. Usou-se, além do reator semi-batelada de 800 mL um frasco lavador de gases contendo também a solução de KI 1% (m/v)/ H_3BO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ após a saída do reator semi-batelada para averiguar a possibilidade de uma não eficiente transferência de fase gás-líquido no reator semi-batelada.

Tabela 38. Planejamento por RSM para a otimização da geração de ozônio (800 mL, KI 1% em H_3BO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, 5 min ozonização).

		Níveis→				
		-1,41	-1	0	1	+1,41
X ₁	Tensão (%)	65	70	80	90	95
X ₂	Fluxo (L min^{-1})	1,2	2	4	6	6,8
Item	Tensão (%)	Fluxo (L min^{-1})		O_3 ($\text{mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$)		
1	70 (-1)	2(-1)		67,57		
2	70 (-1)	6 (1)		16,70		
3	90 (1)	2(-1)		381,58		
4	90 (1)	6 (1)		132,64		
5	65 (-1,41)	4 (0)		20,74		
6	95 (1,41)	4 (0)		315,96		
7	80 (0)	1,2 (-1,41)		88,33		
8	80 (0)	6,8 (1,41)		107,44		
9 (C)	80 (0)	4 (0)		67,01		
10 (C)	80 (0)	4 (0)		71,72		
11 (C)	80 (0)	4 (0)		75,05		

Dentro do intervalo de tempo experimental (5 min), nenhuma alteração foi encontrada na absorvância do frasco lavador de gases, evidenciando a eficiente transferência de fase do ozônio no reator de semi-batelada para a solução de KI 1% (m/v)/H₃BO₃ 0,1 mol L⁻¹.

Como pode ser observado na Tabela 38, as maiores eficiências para a produção de ozônio foram alcançadas para fluxos de ar mais lentos e maiores percentagens de Tensão. A replicata do ponto central evidencia que o erro puro do processo foi baixo, com diferença de apenas 8% e erro puro de 16,32%.

O efeito das variáveis sobre a geração de ozônio pode ser visto no diagrama de Pareto (Figura 172) para a eficiência do mesmo com 95% de confiança. Como pode ser observado, a variável de maior influência foi a Tensão (%), enquanto o fluxo não apresentou influência efetiva sobre o a produção de ozônio acima do limite de 95% de confiança.

Ainda de acordo com o diagrama de paretos, a equações de regressão para o modelo de respostas da geração de ozônio esta representado na Equação I-1.

$$O_3(mg L^{-1}h^{-1}) = 1630,91 - 55,511X_1 \quad (I-1)$$

Onde X_1 representa a variável linear para a Tensão (%) e o coeficiente de regressão para o modelo resultante foi 0,896 com coeficiente de ajuste foi 0,792, ou seja, apenas 10,40% da variância total não foram explicados pelo modelo proposto.

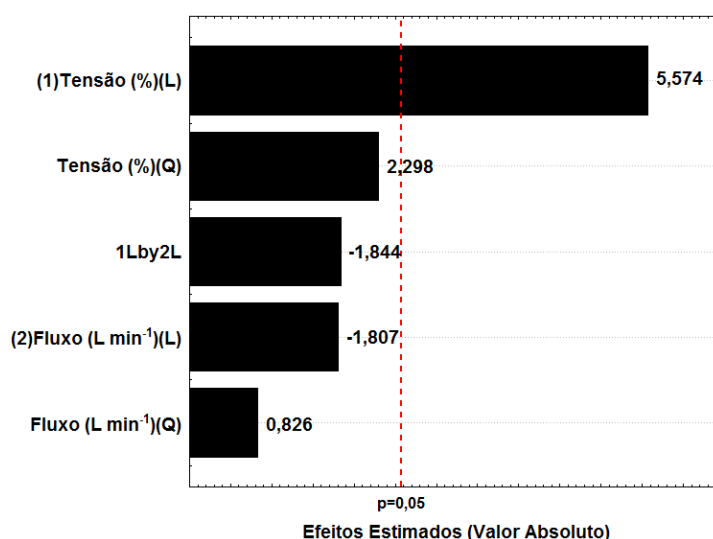


Figura 172. Diagrama de Pareto para os efeitos padronizados (Valores absolutos) para a geração de ozônio. Linha vertical no diagrama define o nível de 95% de confiança, (L) significa variável linear e (Q) significa variável Quadrática.

O valor encontrado para o *F-test* foi de 8,93, superior a distribuição de F tabelado de 3,71 para 10 graus de liberdade e 95% de confiança. A tabela de ANOVA e o gráfico de ajuste dos valores preditos e observados podem ser vistos na Tabela 39.

O comportamento da produção de ozônio por geradores de ozônio por descarga elétrica (EDOGs, *Electrical Discharge Ozone Generators*) é bem estabelecido e não será discutido em detalhes no presente estudo. Para uma leitura mais aprofundada recomenda-se (Gottschalk et al., 2000).

Tabela 39. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da otimização da geração de ozônio. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	124572	5	24914	8,9301639	0,0156338
(1)Tensão (%)(L)	89617,1	1	89617,05	31,06842	0,002560
Tensão (%)(Q)	15226,7	1	15226,72	5,27880	0,069985
(2)Fluxo (L min ⁻¹)(L)	9414,1	1	9414,09	3,26367	0,130649
Fluxo (L min ⁻¹)(Q)	1966,0	1	1966,02	0,68158	0,446631
1L by 2L	9807,9	1	9807,93	3,40021	0,124511
Error	14422,5	5	2884,51		
Total SS	138521,0	10			

Observando a superfície de resposta, na forma de diagrama de contorno (Figura 173), para a geração de ozônio pode ser observado que as maiores concentrações foram alcançadas para maiores percentagens de Tensão e menores fluxos, ou seja, quanto maior a descarga elétrica para produção de ozônio na fase gasosa e maior o tempo de contato do ozônio gasoso com o líquido, maior será a eficiência de transferência de fase gás-líquido e maiores concentrações de ozônio na fase líquida serão encontrados. Esse comportamento inversamente proporcional está de acordo com o esperado e citado pela literatura (Gottschalk et al. 2000).

Além disso, em fluxos mais elevados, o tamanho das bolhas é maior levando a menor área interfacial e, conseqüentemente, diminuindo a eficiência na transferência gás-líquido.

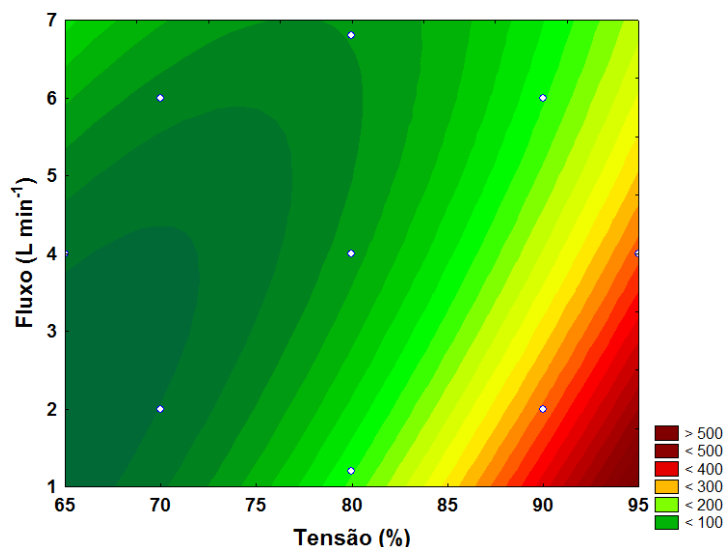


Figura 173. Diagrama de Contorno para a geração de ozônio. Condições: 800 mL, KI 1%/H₃BO₃ 0,1 mol L⁻¹, 5 min de ozonização.

Com o objetivo de encontrar a região ótima de geração de ozônio foi usado a opção de desejabilidade do STATISTICA 8.0 (Figura 174). A função de desejabilidade das respostas foi feita especificando os graus de liberdade para cada variável e assumindo a escala de desejabilidade de 0 (indesejável) a 1 (muito desejável), para a menor concentração de ozônio encontrada 16,7 (mínimo), 199,14 (média) e 381,58 (máximo) mg O₃ L⁻¹ h⁻¹, respectivamente.

Como observado na Figura 174 os valores ótimos para a geração de ozônio, isto é, desejabilidade 1, foram para a maior Tensão aplicada (95 %) e para o fluxo de 2,6 L min⁻¹. Como o fluxo de 2,6 L min⁻¹ é de difícil ajuste no rotâmetro e como a função de desejabilidade aponta que não há diferença estatística entre o fluxo de 1,2 a 2,6 L min⁻¹ para a máxima geração de ozônio, escolheu-se trabalhar com fluxo de 2 L min⁻¹, permitindo também uma melhor agitação da solução no reator semi-batelada.

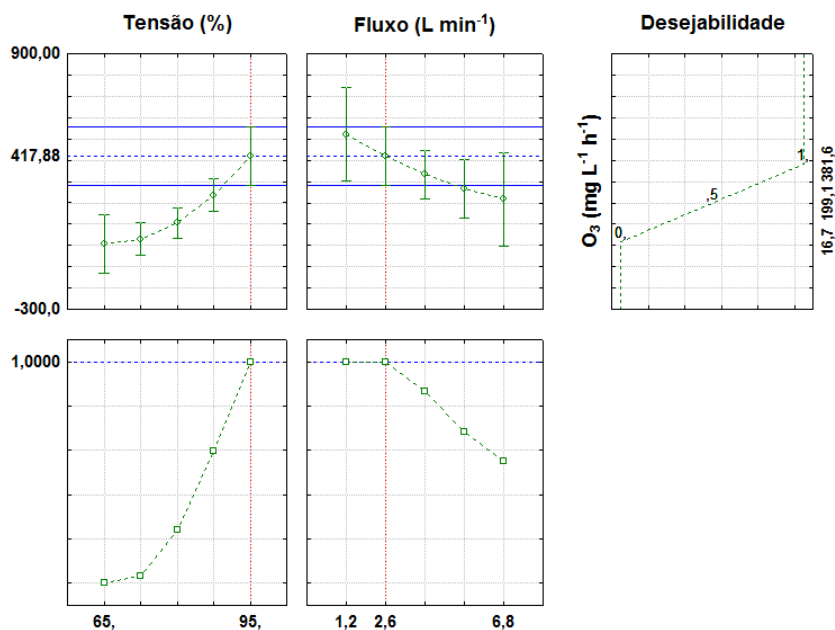


Figura 174. Perfil das variáveis independentes Tensão (%) e Fluxo de ar (L min^{-1}) para a função de desejabilidade da geração de O_3 .

Nessas condições a produção de ozônio foi de $380,60 \pm 20 \text{ mg O}_3 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ com RSD de 5,25% para $n = 5$. Posto isso, todos os experimentos subsequentes de ozonização e ozonização catalítica foram feitos nessas condições.

Apêndice L. ANOVA para a otimização do processo de O_3/Fe^{2+} .

Tabela 40. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Red_{DQO} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	1056	5	211	2,36031	0,183830
(1)[Fe^{2+}] mg L ⁻¹ (L)	0,650	1	0,650	0,00726	0,935384
[Fe^{2+}] mg L ⁻¹ (Q)	44,919	1	44,919	0,50193	0,510308
(2)pH (L)	1003,648	1	1003,648	11,21487	0,020354
pH (Q)	8,279	1	8,279	0,09252	0,773255
1L by 2L	5,523	1	5,523	0,06171	0,813695
Erro	447,463	5	89,493		
Total SS	1503,429	10			

Tabela 41. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Red_{UV254} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	1887	5	377	19,579948	0,0026816
(1)[Fe^{2+}] mg L ⁻¹ (L)	1449,003	1	1449,003	74,83850	0,000341
[Fe^{2+}] mg L ⁻¹ (Q)	175,316	1	175,316	9,05474	0,029786
(2)pH (L)	170,290	1	170,290	8,79518	0,031313
pH (Q)	22,337	1	22,337	1,15368	0,331859
1L by 2L	10,176	1	10,176	0,52558	0,500966
Erro	96,809	5	19,362		
Total SS	1983,512	10			

Tabela 42. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{ATE} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	115,408	5	23,1	2,6476968	0,1544664
(1)[Fe^{2+}] mg L ⁻¹ (L)	5,9091	1	5,90908	0,677920	0,447781
[Fe^{2+}] mg L ⁻¹ (Q)	5,4756	1	5,47558	0,628187	0,463950
(2)pH (L)	7,0554	1	7,05538	0,809430	0,409525
pH (Q)	43,9330	1	43,93301	5,040224	0,074740
1L by 2L	58,1698	1	58,16980	6,673542	0,049234
Erro	43,5824	5	8,71648		
Total SS	158,9028	10			

Tabela 43. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg_{MET} do processo de O_3/Fe^{2+} em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	217,33364	5	43,4667	0,8770483	0,5554812
(1)[Fe^{2+}] mg L ⁻¹ (L)	1,6704	1	1,6704	0,033687	0,861584
[Fe^{2+}] mg L ⁻¹ (Q)	48,3872	1	48,3872	0,975812	0,368596
(2)pH (L)	105,2611	1	105,2611	2,122773	0,204909
pH (Q)	0,6402	1	0,6402	0,012911	0,913956
1L by 2L	53,0414	1	53,0414	1,069673	0,348426
Erro	247,9330	5	49,5866		
Total SS	465,0799	10			

Tabela 44. ANOVA para o modelo quadrático para a Superfície de Resposta da Deg._{PRO} do processo de O₃/Fe²⁺ em EH. (SS: Soma Quadrática; df: Graus de Liberdade; MS: Média Quadrática; F: Teste Fischer; p: Probabilidade).

	SS	df	MS	F	p
Regressão	496,2483	5	99,2497	1,772176	0,2726281
(1)[Fe ²⁺] mg L ⁻¹ (L)	5,5678	1	5,5678	0,099319	0,765377
[Fe ²⁺] mg L ⁻¹ (Q)	0,0954	1	0,0954	0,001702	0,968689
(2)pH (L)	325,4665	1	325,4665	5,805676	0,060902
pH (Q)	1,5026	1	1,5026	0,026803	0,876367
1L by 2L	163,1616	1	163,1616	2,910479	0,148720
Erro	280,3002	5	56,0600		
Total SS	776,3721	10			

Apêndice M. Cromatograma da degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em Efluente Hospitalar por O_3/Fe^{2+} .

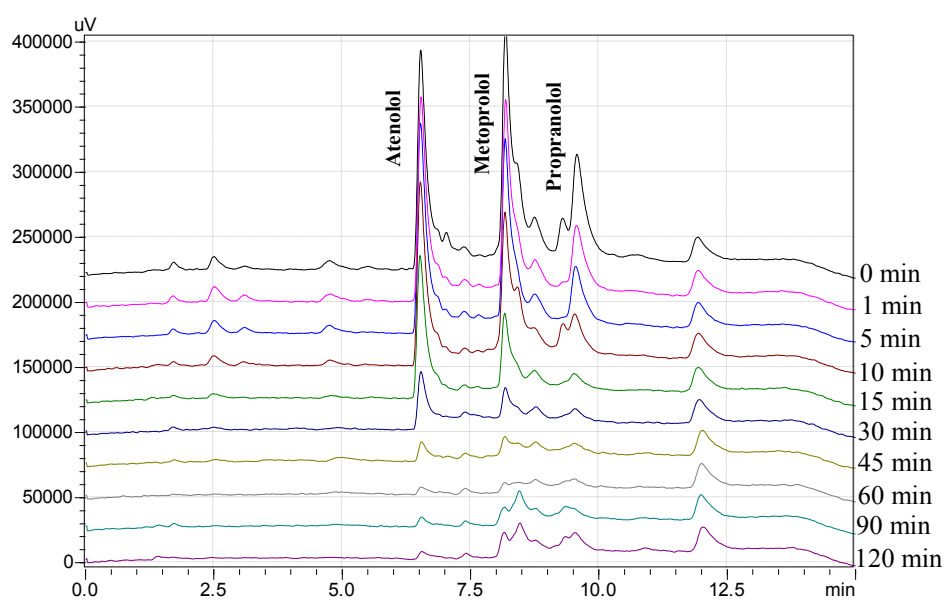


Figura 175. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO em Efluente Hospitalar por processo de O_3/Fe^{2+} . Condições iniciais: 800 mL, $[BB]_0$ 200 $\mu g L^{-1}$, $[O_3]_0$ 380 \pm 20 $mg L^{-1} h^{-1}$, 120 min de tratamento, Temp. 20 \pm 2 $^{\circ}C$.

Apêndice N. Cromatograma da degradação de Atenolol, Metoprolol e Propranolol em Efluente Hospitalar por O_3

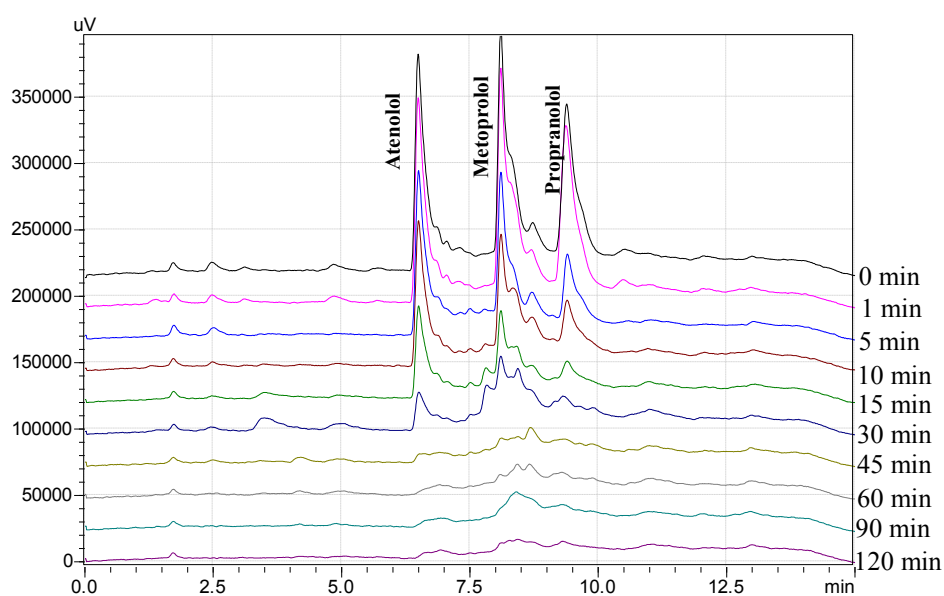


Figura 176. Cromatograma da degradação de ATE, MET e PRO em Efluente Hospitalar por processo de O_3 . Condições iniciais: 800 mL, $[BB]_0$ 200 $\mu\text{g L}^{-1}$, $[O_3]_0$ 380 \pm 20 $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$, Temp. 20 \pm 2 $^\circ\text{C}$.