UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ/UNICENTRO CURSO DE DOUTORADO EM QUÍMICA ASSOCIAÇÃO AMPLA UEL/UEPG/UNICENTRO

ISMAEL LAURINDO COSTA JUNIOR

TESE

OCORRÊNCIA DE ANTIDEPRESSIVOS RESIDUAIS E CAFEÍNA EM SEDIMENTOS E LODOS DE ESGOTO:

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA E ESTUDOS DE FOTODEGRADAÇÃO E SORÇÃO

> GUARAPUAVA 2017

OCORRÊNCIA DE ANTIDEPRESSIVOS RESIDUAIS E CAFEÍNA EM SEDIMENTOS E LODOS DE ESGOTO:

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA E ESTUDOS DE FOTODEGRADAÇÃO E SORÇÃO

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Em Química – PPGQ/UNICENTRO como requisito à obtenção do título de Doutor em Química Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Yohandra R. Torres Co-orientador: Prof. Dr. Adelmo L. Pletsch

Guarapuava 2017

BANCA EXAMINADORA

ISMAEL LAURINDO COSTA JUNIOR

TESE

OCORRÊNCIA DE ANTIDEPRESSIVOS RESIDUAIS E CAFEÍNA EM SEDIMENTOS E LODOS DE ESGOTO:

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA E ESTUDOS DE FOTODEGRADAÇÃO E SORÇÃO

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química, Área de Concentração: Química Analítica pelo Programa de Pós-Graduação em Química – PPGQ/UNICENTRO ofertado pela Associação Ampla UEL/UEPG/UNICENTRO.

Aprovada em _____ de ______ de _____.

Componentes da banca examinadora:

Profa. Dra. Yohandra Reyes Torres UNICENTRO – PR (Orientadora) Prof. Dr. Vanderlei Aparecido de Lima UTFPR – PR

Prof. Dr. Adelmo Lowe Pletsch UTFPR – PR (Co-orientador)

Profa. Dra. Juliana Bortoli Rodrigues Mees UTFPR – PR

Profa. Dra. Sueli Pércio Quináia UNICENTRO – PR

Prof. Dr. Sergio Toshio Fujiwara UEPG – PR

GUARAPUAVA

À minha Esposa Qili Mirian e pelo amor, amizade, apoio e paciência.

As minhas Filhas Lara e Isis, pela colaboração, carinho e ausências.

OFEREÇO

Hos meus familiares, meus professores e amigos que compartilharam comigo

mais esta experiência de vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida.

Aos Professores Orientadores Yohandra Reyes Torres e Adelmo Lowe Pletsch pela disponibilidade, clareza nas respostas, e pela autonomia dada no desenvolvimento deste trabalho.

A Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO Campus Cedetg e Associação Ampla UEL/UNICENTRO/ UEPG, pela oportunidade ofertada.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Medianeira, pelo apoio e colaboração.

Em especial, aos colegas de laboratório Christiane e Andressa, agradeço pela disponibilidade e pela colaboração.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Química, pelos ensinamentos transmitidos através das disciplinas ministradas no decorrer do curso.

Aos familiares, pela constante valorização e incentivo ao estudo e ao conhecimento.

Aos amigos, com os quais dividimos as angústias e as realizações deste momento.

Por fim, de forma carinhosa agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a consecução deste trabalho.

"A ciência é uma construção completamente humana, movida pela fé de que, se sonharmos, insistirmos em descobrir, explicarmos e sonharmos de novo, o mundo de algum modo se tornará mais claro e toda estranheza do universo se mostrará interligada e com sentido."

(E. O. Wilson)

"Todas as vitórias ocultam uma abdicação".

(Simone de Beauvoir)

COSTA JUNIOR, Ismael Laurindo. **Ocorrência de antidepressivos residuais e cafeína em sedimentos e lodos de esgoto:** Desenvolvimento de metodologia analítica e estudos de fotodegradação e sorção. 2017. 307f. Tese (Doutorado em Química – Área: Química Analítica) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2017.

RESUMO

A identificação de poluentes emergentes em matrizes ambientais tem se tornado cada vez mais frequente. Dentre esses poluentes, a presença de fármacos tem grande relevância, pois essa categoria de contaminantes inclui um grande número de substâncias ativas amplamente consumidas no mundo todo. Os medicamentos neuroativos, como os antidepressivos, apresentaram significativo aumento na prescrição e consumo nas últimas décadas. Esses medicamentos apresentam ação direta sobre o sistema nervoso humano e são apontados como de grande preocupação ambiental, pois estudos têm verificado sua presença em estações de tratamento de efluentes, em águas superficiais, sedimentos e em tecidos de organismos aquáticos. A grande variedade de substâncias consideradas microcontaminantes dificulta as ações de monitoramento individuais, com isso o emprego de marcadores de poluição antrópica vem sendo introduzido como indicadores diretos para algumas classes de poluentes como os fármacos. A utilização da cafeína como marcador químico para medicamentos residuais justificase pelas suas propriedades físico-químicas e a semelhança quanto às rotas de introdução e transporte nos compartimentos aquáticos. Inicialmente foi proposta a otimização de um método para extração simultânea de antidepressivos de uso frequente (citalopram, venlafaxina, fluoxetina, sertralina e amitriptilina) e cafeína baseado no uso de solventes auxiliado por micro-ondas e CLAE-PDA. Na otimização foram aplicados os delineamentos experimentais simplex-centroide para composição da fase extratora, e um planejamento composto central rotacional (DCCR) 2³ para adequar o protocolo de extração quanto ao pH de trabalho, menor emprego de solvente e tempo de processamento. A análise de variância (ANOVA) e o estudo da falta de ajuste foram usados para avaliar a significância dos ajustes ao nível de 95% de confiança. A função desirability foi a ferramenta de otimização empregada na obtenção das condições ideais e apresentou valores próximos a 1,0, o que indicou uma resposta significativa para ambos os delineamentos. A composição obtida para a fase líquida na extração simultânea nas duas matrizes foi uma mistura binária de metanol e acetonitrila na proporção de 45:55 e 53:47 (v/v) para lodo e sedimento respectivamente. As condições otimizadas foram pH 3, volume de 4 mL do solvente extrator e 3 ciclos de extrações para o lodo de esgoto. Para o sedimento os valores foram pH 11, volume de 3 mL da mistura de solventes e 4 ciclos de extrações. Na seguência, foi proposto um método rápido para determinação simultânea dos analitos, baseado em extração por solvente auxiliada por micro-ondas otimizadas com detecção por CLAE-PDA. O método analítico foi validado e considerado satisfatório para quantificações em lodos de esgoto e sedimentos. O método foi aplicado em amostras de lodo de esgoto e sedimentos da região do Reservatório de

Itaipu-PR. Os resultados confirmam a presenca dos analitos no lodo de esgoto e indicam os resíduos de estações de tratamento como uma rota de inserção de micropoluentes no meio ambiente local, uma vez que os antidepressivos também foram encontrados nos sedimentos de rio. Na etapa seguinte, estudou-se a degradação dos analitos por fotólise direta. Foram realizados ensaios de degradação empregando um reator de bancada com capacidade para 100 mL equipado com fonte artificial de radiação composta por uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (254 nm) e insolação natural. Os produtos de degradação foram avaliados de forma qualitativa nos ensaios empregando água e fonte artificial de radiação. Os dados experimentais foram ajustados a modelos cinéticos a fim de obter as taxas de reação e o tempo de meia-vida nas condições estudadas. Foi observada maior degradação em matrizes complexas como esgoto e águas superficiais, indicando que a persistência depende também de espécies dissolvidas capazes de fazerem parte dos mecanismos de degradação. A cinética que aparentemente descreve a fototransformação dos compostos nas condições estudadas foi a de pseudo-primeira ordem. O estudo qualitativo dos subprodutos formados no processo artificial em solução aguosa possibilitou confirmar a degradação dos analitos. Os resultados obtidos empregando luz solar sugerem a persistência dos microcontaminantes investigados quando expostos apenas a esta fonte de radiação no ambiente. Por fim, considerando a interação dos microcontaminantes investigados com o compartimento sólido como um fator importante quando se considera seu destino nos ecossistemas foi estudada a sorção e dessorção em sedimentos de água doce e lodos de estação de tratamento de esgoto. Os experimentos foram conduzidos pelo método em bateladas e as determinações foram realizadas por espectrofotometria no ultravioleta e por CLAE-PDA. Os dados experimentais foram ajustados a modelos cinéticos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem. A sorção e a dessorção foram estudadas por meio do ajuste às isotermas linear e de Freundlich. A partição foi avaliada pelos coeficientes k_d, k_{oc} e pelo cálculo do percentual de dessorção. O estudo cinético indicou comportamento de pseudo-primeira ordem. A interpretação da sorção pela isoterma de Freundlich mostrou-se satisfatória para todos os analitos e matrizes. A avaliação das constantes do modelo e dos coeficientes k_d e k_{oc} foi coerente com outros estudos e indicou concordância entre a hidrofobicidade dos fármacos e a sua afinidade pelas matrizes sólidas. Os elevados percentuais obtidos para a dessorção sugerem mobilidade dos analitos, sendo esta mais intensa no lodo do que no sedimento, visto que existem particularidades de composição em cada matriz e, portanto, mecanismos diferenciados em termos de energia e afinidade com as substâncias estudadas. O panorama obtido nessa pesquisa permite consider que os antidepressivos e a cafeína residuais apresentaram comportamento persistente a processos naturais como a fótolise e apresentam tendências ao acúmulo no compartimento sólido, com mobilidade em potencial, dependente das condições ambientais, como o pH e composição matricial. Devido a estas características podem ser encontrados nos lodos de estações de tratamento de esgotos e sedimento, e apresentam possibilidade serem transferidos para os ecossistemas aquáticos.

Palavras Chave: Poluentes emergentes; Marcadores antrópicos; Fármacos residuais; Desenvolvimento de método, Monitoramento, Fotodegradação, Sorção.

COSTA JUNIOR, Ismael Laurindo. Occurrence of residual antidepressants and caffeine in sediment and sewage sludge: Development of analytical methodology and studies of photodegradation and sorption. 2017. 307f. Thesis (Ph.D. in chemistry -with an emphasis on analytical chemistry) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2017.

ABSTRACT

The identification of emerging pollutants in environmental matrices has become increasingly frequent. Among these pollutants, the presence of drugs has great relevance, since this category of contaminants includes a large number of active substances widely consumed worldwide. Neuroactive drugs, such as antidepressants, have shown a significant increase in prescription and consumption in the last decades. These drugs present direct action on the nervous system and are considered as of great environmental concern, since studies have verified their presence in effluent treatment plants, in superficial waters, sediments and in tissues of aquatic organisms. The wide variety of microcontaminants substances makes individual monitoring actions difficult, with the use of anthropic pollution markers being introduced as direct indicators for some classes of pollutants such as drugs. The use of caffeine as a chemical marker for residual medicines is justified by its physicochemical properties and the similarity of the routes of introduction and transport in the compartments. Initially, it was proposed the optimization of a method for the simultaneous extraction of frequent-use antidepressants (citalopram, venlafaxine, fluoxetine, sertraline and amitriptyline) and caffeine based on the use of solvents aided by microwave and HPLC-PDA. In the optimization, the simplexcentroid experimental designs for extractive phase composition were applied, and a central rotational compound (CCRD) 2³ was used to adjust the extraction protocol for the working pH. lower solvent use and processing time. The analysis of variance (ANOVA) and the study of the lack of fit were used to evaluate the significance of the adjustments at the 95% confidence level. The desirability function was the optimization tool used to obtain the ideal conditions and presented values close to 1.0, which indicated a significant response for both designs. The composition obtained for the liquid phase in the simultaneous extraction in the two matrices was a binary mixture of methanol and acetonitrile in the proportion of 45:55 and 53:47 (v / v) for sludge and sediment respectively. The optimized conditions were pH 3, volume of 4 mL of the solvent extractor and 3 cycles of extractions for the sewage sludge. For the sediment the values were pH 11, volume of 3 mL of the solvent mixture and 4 cycles of extractions. A fast method for the simultaneous determination of analytes based on optimized microwave-assisted solvent extraction with HPLC-PDA detection was proposed. The analytical method was validated and considered satisfactory for quantifications in sewage sludge and sediments. The method was applied to samples of sewage sludge and sediments from the Itaipu reservoir region. The results confirm the presence of the analytes in the sewage sludge and indicate the treatment plant residues as a route of insertion of micropollutants into the local environment, since the antidepressants were also found in the river sediments. In the next step, the degradation of the analytes was studied by direct photolysis. Degradation tests were performed using a 100 mL capacity bench reactor equipped with an artificial radiation source composed of a high pressure mercury vapor lamp (254 nm) and natural insolation. The degradation products were evaluated qualitatively in the tests using water and artificial radiation source. The experimental data were adjusted to kinetic models in order to obtain the reaction rates and the half-life in the studied conditions. Further degradation was observed in complex matrices such as sewage and surface waters, indicating that the persistence also depends on dissolved species capable of being part of the degradation mechanisms. The kinetics that apparently describes the phototransformation of the compounds under the studied conditions was that of pseudo-first order. The qualitative study of the by-products formed in the artificial process in aqueous solution made it possible to confirm the transformation of the analytes. The results obtained using sunlight suggests the persistence of microcontaminants investigated when exposed to this source of radiation in the environment. Finally, considering the interaction the of investigated microcontaminants with the solid compartment as an important factor when considering their fate in the ecosystems, sorption and desorption were studied in freshwater sediments and sewage treatment plant sludges. The experiments were conducted by the batch method and the determinations were performed by ultraviolet spectrophotometry and by HPLC-PDA. The experimental data were fitted to kinetic models of pseudo-first and pseudo-second order. Sorption and desorption were studied by adjusting the linear and Freundlich isotherms. The partition was evaluated by the coefficients k_{d} , k_{oc} and by the calculation of the desorption percentage. The kinetic study indicated pseudo-first-order behavior. The interpretation of sorption by the Freundlich isotherm proved to be satisfactory for all analytes and matrices. The evaluation of the model constants and the k_d and k_oc coefficients was consistent with other studies and indicated agreement between the hydrophobicity of the drugs and their affinity for the solid matrices. The high percentages obtained for the desorption suggest mobility of the analytes, being this one more intense in the sludge than in the sediment, since there are particularities of composition in each matrix and, therefore, mechanisms differentiated in terms of energy and affinity with the studied substances. The panorama obtained in this research allows us to consider that the residual antidepressants and caffeine presented persistent behavior to natural processes such as photolysis and present tendencies to the solid compartment accumulation, with potential mobility, depending on environmental conditions, such as pH and matrix composition. Due to these characteristics can be detected in sewage sludge and sediment treatment sludge, and present possibility of exposure to biota in aquatic ecosystems.

Keywords: Emerging pollutants; Anthropic markers; Residual drugs; Development of method, Monitoring, Photodegradation, Sorption

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Possíveis rotas de dispersão de fármacos no ambiente12
Figura 1.2 - Estrutura química dos principais representantes de cada classe de antidepressivos classificados segundo sua ação no sistema nervoso
Figura 1.3 - Faixa de aplicação da CLAE e GC para determinação de poluentes orgânicos emergentes baseados em suas propriedades físico- químicas
Figura 2.1 - Estrutura dos 16 HPAs prioritários52
Figura 2.2 - Estrutura e propriedades físico-químicas da cafeína
Figura 4.1 - a) Coleta de sedimento; b) Preservação das amostras e c) Coleta de lodo de Esgoto75
Figura 4.2 - a) Acondicionamento das amostras para secagem, b) Desagregação c) Peneiramento em malha, d) Amostra pronta para armazenamento
Figura 4.3 - Localização geográfica dos pontos de coleta
Figura 4.4 - Espectro de absorção na região do infravermelho para as matrizes sedimento e lodo de esgoto81
Figura 5.1 - Delineamento experimental simplex-centroide de 3 componentes para otimização da composição do solvente para extração de cafeína e

Figura 5.2 - Percentual de recuperação da Cafeína (CAF) e dos antidepressivos Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) empregando planejamento simplex-

antidepressivos......92

- Figura 5.4 Percentual de recuperação da Cafeína (CAF) e dos antidepressivos Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) empregando delineamento composto central 2³ para otimização da extração em lodo de esgoto......99
- Figura 5.5 Percentual de recuperação da Cafeína (CAF) e dos antidepressivos Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEM) empregando delineamento composto central 2³ para otimização da extração em sedimento......102
- Figura 5.6 Distribuição dos resíduos em torno da reta normal do modelo cúbico especial para o efeito da mistura de solventes sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto107
- Figura 5.7 Distribuição dos resíduos em torno da reta normal do modelo cúbico especial para o efeito da mistura de solventes sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em sedimento............107

- Figura 5.13 (a) Superfície de respostas (b) Gráfico de Contornos para composição da fase extratora preditas pelo modelo cúbico especial para extração simultânea em lodo de esgoto com base na função *desirability*.113
- Figura 5.15 (a) Superfície de respostas (b) Gráfico de Contornos para composição da fase extratora preditas pelo modelo cubico especial para extração simultânea em sedimento com base na função *desirability*......115

- Figura 5.24 Otimização das variáveis pH, número de extrações e volume de solvente para recuperações simultâneas de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina

- Figura 6.3 Porcentagens de recuperação de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em três níveis de fortificação. (SER) e Venlafaxina (VEN)....152

Figura 6.4 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L3......153

Figura 7.2 - Sistema utilizado para fotólise natural......170

- Figura 7.13 Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do citalopram em solução aquosa inicial de 5 mg L⁻¹ e pH 4 obtidos para a fotólise artificial nos tempos de monitoramento e comprimento de 241 nm. 187

- Figura 8.11 Percentuais de dessorção dos fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto e sedimentos......235
- Figura A.1 Cromatogramas completos da solução padrão com a mistura dos seis analitos, extrato de amostra de lodo (b) e extrato de amostra de sedimento sem os analito (c): Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹, extraídos em 226 nm.248
- Figura A.2 Cromatogramas completos da solução padrão com a mistura dos seis analitos, extrato de amostra de lodo (b) e extrato de amostra de sedimento sem os analito (c): Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹, extraídos em 230 nm.249
- Figura A.3 Cromatogramas completos da solução padrão com a mistura dos seis analitos, extrato de amostra de lodo (b) e extrato de amostra de sedimento sem os analito (c): Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹, extraídos em 241 nm.250
- Figura A.4 Cromatogramas completos da solução padrão com a mistura dos seis analitos, extrato de amostra de lodo (b) e extrato de amostra de sedimento sem os analito (c): Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹, extraídos em 274 nm.251

Figura B.1 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L1....253

- Figura B.3 Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L2....254
- Figura B.5 Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L3.....255
- Figura B.7 Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L4.....256
- Figura B.9 Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra S1257
- Figura B.11 Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra S2...258

- Figura B.13 Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra S3...259
- Figura B.15 Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra S4 ... 260

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Principais poluentes emergentes estudados em matrizes ambientais10
Tabela 1.2 - Classes de antidepressivos e suas características. 15
Tabela 1.3 - Análise cromatográfica de antidepressivos em matrizes ambientais27
Tabela 2.1 - Principais esteróis e suas possíveis fontes 49
Tabela 2.2 - Análise cromatográfica de Cafeína em matrizes ambientais60
Tabela 3.1 - Características dos analitos investigados71
Tabela 3.2 - Gradiente de eluição da fase móvel para análise de antidepressivos e cafeína por CLAE-PDA 73
Tabela 4.1 - Localização dos pontos amostrais77
Tabela 4.2 - Características físico-químicas das amostras de sedimento e lodo usadas nos ensaios80
 Tabela 5.1 - Matriz do delineamento composto central 2³ para estudo das variáveis pH, número de extrações e volume sobre e recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN)
Tabela 5.2- Análise de variância para o ajuste dos dados ao modelo linear para a curva de calibração96
Tabola 5.3 - Matriz do dolinoamonto simploy-controido o recuperações do Cataína

Tabela 0.1 - Dosagelis de adição padrão para quantincação dos análitos	Tabela 6.1	- Dosagens	de adição	padrão para	quantificação	dos analitos	142
--	------------	------------	-----------	-------------	---------------	--------------	-----

- Tabela 6.2 Parâmetros de calibração do estudo de efeito matriz144
- Tabela 6.4 Parâmetros de calibração e análise da linearidade para cafeína e
antidepressivos em lodo de esgoto e sedimento.148

- Tabela 6.7 Concentrações dos antidepressivos e cafeína nas amostras de lodo e esgoto.

 155
- Tabela 7.1 Matriz do delineamento composto central 2² para estudo das variáveis pH e concentração sobre a fotólise direta de Cafeína (CAF),

- Tabela 8.3 Coeficientes de distribuição, log k_d e log k_{oc} para os fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto e sedimentos.

Tabela 8.4 - Parâmetros de dessorção dos fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto e sedimentos......234

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

- ADTs Antidepressivos tricíclicos
- AMI Amitriptilina
- ANOVA Análise de variância
- AOAC Association of analytical communities
- CAF Cafeína
- CIT Citalopram
- CLAE-MS Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao espectrômetro de massa (do inglês, High Performance Liquid Chromatography coupled to mass spectrometry)
- CLAE-PDA Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de arranjo de fotodiodos (do inglês, High *Performance Liquid Chromatography coupled to photodiode array*)
- CLAE-UV Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector ultravioleta (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography coupled to ultraviolet detector*)
- CLAE-FL Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de Fluorescência (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography coupled to fluorescence detector*)
- CV Coeficiente de Variação
- DA Dopamina
- DCCR Delineamento Composto Central Rotacional
- DNA Ácido desoxirribonucleico
- Eq. Equação
- ETE Estação de tratamento de esgoto
- FLU Fluoxetina
- FT-IR Fourier transform infrared spectroscopy
- GC-MS Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (do inglês, gas chromatography coupled to mass spectrometry)
- GL Graus de Liberdade
- HPAs Hidrocarbonetos poliaromáticos
- HT Serotonina

IMAO	Inibidores de monoaminoxidase
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
IRSA	Inibidores de recaptura de serotonina antagônicos
ISRD	Inibidores seletivos de recaptura de dopamina
ISRN	Inibidores seletivos de recaptura de noradrenalina
ISRS	Inibidores seletivos de recaptura de serotonina
ISRSN	Inibidores seletivos de recaptura de noradrenalina e serotonina
LD	Limite de detecção
LLE	Extração líquido-líquido (do inglês, Liquid-Liquid extraction)
LQ	Limite de Quantificação
MQ	Média Quadrática
NE	Noradrenalina
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
PCZ	Ponto de carga zero
PE	Ponto de ebulição
рН	Potencial hidrogeniônico
POPs	Poluentes orgânicos persistentes
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe.
R²	Coeficiente de determinação
RALF	Reator anaeróbio de leito fluidificado
RSD	Desvio padrão relativo
SER	Sertralina
SPE	Extração em fase sólida Microextração (do inglês, Solid-phase
	extraction)
SPME	Microextração em fase sólida (do inglês, Solid-phase Microextraction)
SQ	Soma Quadrática
UPLC	cromatografia líquida de ultra eficiência (do inglês, Ultra Performance
	Liquid Chromatography)
USEPA	United States Environmental Protection Agency
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta-visível
VEN	Venlafaxina

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
OBJETIVOS	3
OBJETIVO GERAL	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3

CAPÍTULO 1 - OCORRÊNCIA DE FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS NO MEIO
AMBIENTE - REVISAO
RESUMO6
ABSTRACT7
1.1 INTRODUÇÃO
1.2 FÁRMACOS COMO POLUENTES EMERGENTES9
1.2.1 Rotas de dispersão de fármacos no ambiente11
1.2.2 Farmacovigilância Ambiental12
1.2.3 Os Antidepressivos No Meio Ambiente13
1.2.3.1 Principais classes de antidepressivos e suas características farmacológicas
1.2.3.2 Os antidepressivos nas matrizes ambientais19
1.2.3.3 Perfil ecotoxicológico21
1.3 METODOLOGIAS ANALÍTICAS PARA ESTUDO DE POLUENTES
EMERGENTES
1.3.1 Principais técnicas cromatográficas aplicadas à análise de fármacos em
matrizes ambientais25
1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS29
REFERÊNCIAS

CAPÍTULO 2 - CAFEÍNA COMO MARCADOR ANTRÓPICO DE POLUIÇÃO -
REVISÃO
RESUMO43
ABSTRACT
2.1 INTRODUÇÃO45
2.2 MARCADORES ANTRÓPICOS DE POLUIÇÃO46
2.2.1 Esteróis
2.2.2 Hidrocarbonetos Poliaromáticos (HPAs)51
2.3 A CAFEÍNA COMO MARCADOR DE POLUIÇÃO ANTROPOGÊNICA53
2.3.1 Persistência da cafeína nos compartimentos
2.3.2 Ocorrência antropogênica de cafeína no meio ambiente
2.3.3 Metodologias analíticas empregadas nos estudos da cafeína como marcador
de poluição60
2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS61

CAPÍTULO 3 -	MATERIAIS	Е	MÉTODOS	GERAIS
				70
3.1 REAGENTES,	PADRÕES E SOLUÇ	ÕES		71
3.2 INSTRUMENT	ĄÇÃO			72
3.3 CONDIÇÕES C	ROMATOGRÁFICAS	5		72

CAF	PÍTULO 4 -	OBTENÇÃO	DAS	AMOSTRAS	Ε	CARACT	ERIZAÇÃO	DAS
MA	RIZES				•••••			74
4.1 SEC	COLETAS DIMENTOS	E PREPARC	DAS	AMOSTRAS	DE	LODO	DE ESGO	TO E 75
4.2	CARACTER	IZAÇÕES DAS	S MATR	IZES LODO D	E E	SGOTO E	SEDIMENT	OS 79
4.2.	1 Análises F	ísico-químicas						79

4.2.2 Espectroscopia Infravermelho	81
REFERENCIAS	84

CAPÍTULO 5 - OTIMIZAÇÃO DE UM MÉTODO PARA EXTRAÇÃO DE CAFEÍN ANTIDEPRESSIVOS RESIDUAIS EM SEDIMENTO E LODO DE ESGO EMPREGANDO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	A E)TO 86
RESUMO	.87
ABSTRACT	.88
5.1 INTRODUÇÃO	.89
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS	.91
5.2.1 Otimização da composição da fase extratora empregando delineame simplex-centroide	ento 91
5.2.2 Otimização da variáveis pH, volume de solvente e número de extraç empregando DCCR	ões 92
5.2.3 Análise estatística e otimização das condições experimentais	93
5.2.3 Protocolo de extração	94
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
5.3.1 Quantificação e recuperação dos analitos	.95
5.3.2 Análise estatística dos resultados obtidos a partir do planejamento de mist simplex-centroide para otimização da fase extratora em sedimento e lodo de eso	ura joto 102
5.3.3 Análise estatística dos resultados obtidos a partir do delineamento compo	osto
central rotacional (DCCR) 2 ³ para otimização das variáveis pH, volume de solven número de extrações em sedimento e lodo de esgoto	te e 115
5.4 CONCLUSÕES	131
REFERÊNCIAS	132

CAPÍTULO 6 - PESQUISA DE CAFEÍNA E ANTIDEPRESSIVOS COMUMENTE PRESCRITOS EM LODO DE ESTACÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS E
SEDIMENTOS DE ÁGUA DOCE136
RESUMO137
ABSTRACT138
6.1 INTRODUÇÃO139
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS140
6.2.1 Protocolo de Extração140
6.2.2 Estudo do efeito matriz141
6.2.3 Validação141
6.2.4 Aplicação do método143
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO143
6.3.1 Efeito matriz143
6.3.2 Validação do método CLAE-PDA para determinação simultânea dos antidepressivos e cafeína em sedimentos e lodos de esgoto usando adição padrão
6.3.3 Aplicação do método em amostras de sedimentos e lodos de esgoto da região
do Reservatório de Itaipu, Paraná, Brasil153
6.4 CONCLUSÕES158
REFERÊNCIAS159

CAPITULO 7 - ESTUDO DE DEGRADAÇÃO DE ANTIDEPRESS E CAFEÍNA EMPREGANDO FOTÓLISE DIRETA	IVOS RESIDUAIS
RESUMO	164
ABSTRACT	165
7.1 INTRODUÇÃO	166
7.2 MATERIAIS E MÉTODOS	167
7.2.1 Instrumental	168

7.2.2 Otimização das condições de fotólise168
7.2.3 Experimentos de fotodegradação169
7.2.4 Cinética de Fotodegradação170
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO172
7.3.1 Avaliação espectrofotométrica172
7.3.2 Otimização das condições de fotodegradação empregando delineamento 2 ² com pontos centrais
7.3.3 Estudo de degradação por fotólise direta empregando lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão e luz solar
7.3.3.1 Estudo dos produtos de degradação em solução aquosa empregando fotólise artificial
7.3.3.2 Cinética de fotodegradação em solução aquosa e esgoto empregando radiação artificial e luz solar
7.4 CONCLUSÕES
REFERÊNCIAS

CAPÍTULO 8 - ESTUDO DE SORÇÃO E DESSORCAO DE ANTIDEPRESSIVOS
RESIDUAIS E CAFEÍNA EM SEDIMENTOS DE ÁGUA DOCE E LODO DE
ESTAÇÃO DE TRATAMENTO208
RESUMO
ABSTRACT
8.1 INTRODUÇÃO
8.2 MATERIAIS E MÉTODOS214
8.2.1 Determinação do ponto de carga zero (PCZ)215
8.2.2 Ensaios de sorção e dessorção em sedimento e lodo de esgoto215
8.2.2.1 Cinética de sorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e
lodo de esgoto216
8.2.2.2 Estudo do equilíbrio de sorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto
--
8.2.2.3 Determinação dos coeficientes de sorção218
8.2.2.4 Avaliação da dessorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto218
8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO220
8.3.1 Ponto de carga zero (PCZ)220
8.3.2 Cinética de sorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto
8.3.3 Estudo do equilíbrio de sorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto
8.3.3.1 Coeficientes de distribuição dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto
8.3.4 Estudo de dessorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto233
8.4 CONCLUSÕES237
REFERÊNCIAS239

APÊNDICE	Α-	CROMATO	GRAMAS	USADOS	NA	AVALIAÇÃ	O DA
SELETIVIDA	DE DO I	MÉTODO					247
APÊNDICE E	3 - CRO	MATOGRAM	MAS OBTI	DOS NA AI	PLICA	ÇÃO DO M	ÉTODO
NAS AMOST	RAS DE	LODO E SI	EDIMENTO				252
APÊNDICE	C - AJ	JSTE NÃO	LINEAR [DOS DADO	S EXF	PERIMENTA	S AOS
	DE ISOTI	ERMA DE A	DSORÇÃO				261
APÊNDICE [) - CUR	AS PARA (OBTEÇÃO	DO COEFIC	IENTE	DE DISTRIE	3UIÇÃO
(K _d) EXPERI	MENTAI						264

INTRODUÇÃO GERAL

A ocorrência de poluentes emergentes é uma realidade e necessita de atenção, pois se trata de um tema de grande relevância ambiental com impacto direto sobre os ecossistemas.

O desenvolvimento de bens e serviços resulta na inserção de inúmeros compostos xenobiontes nos compartimentos ambientais. Especificamente sobre os fármacos, tendo em vista seus amplos usos em diversas terapias, há uma crescente preocupação com seus efeitos sobre a biota. Por outro lado, a ausência de informações sobre o transporte e o comportamento dessas substâncias no meio ambiente, bem como o desenvolvimento de competências analíticas para sua detecção e quantificação, representa uma lacuna a ser preenchida.

No Capitulo1 é apresentada uma revisão da literatura atual sobre a ocorrência, detecção e farmacovigilância ambiental dos antidepressivos residuais nos compartimentos água, lodo, sedimento e esgoto.

O Capítulo 2 contempla a utilização de marcadores antropogênicos de poluição, como a cafeína, para auxílio no estudo de poluentes emergentes tendo em vista a grande variedade de classes de compostos e a dificuldade no monitoramento individual.

Os capítulos 3 e 4 referem-se respectivamente aos métodos gerais utilizados ao longo dos estudos propostos e na descrição dos procedimentos de coleta e tratamento das amostras de sedimento e lodo de esgoto, bem como a caracterização físico-química das matrizes investigadas.

Uma etapa decisiva e limitante nos estudos de monitoramento de poluentes residuais como os antidepressivos e a cafeína é a extração. O desenvolvimento de uma metodologia para estudo desses microcontaminantes, baseada em extração por solventes auxiliada por ultrassom e micro-ondas, e sua otimização empregando delineamentos experimentais e ferramentas quimiométricas são apresentados no Capítulo 5.

O Capítulo 6 é composto pelo estudo de validação do método de extração e de determinação propostos, bem como sua aplicação em amostras reais, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de arranjo de fotodiodos

(PDA). Foram realizadas determinações em amostras de lodo de esgoto e sedimentos coletados na região do Reservatório de Usina Hidrelétrica de Itaipu (Paraná, Brasil).

Ao serem introduzidos no ambiente, os micropoluentes são expostos a diferentes processos capazes de modificá-los ou acumulá-los nos compartimentos. A incidência de radiação ultravioleta do sol em lagos e em alguns sistemas de tratamento se configura como uma fonte em potencial para a ocorrência desses processos e, portanto, de grande relevância. O Capítulo 7 compreende um estudo de fotodegradação da cafeína e dos antidepressivos investigados aplicando fontes artificiais e naturais de radiação UV, tendo em vista a avaliação da susceptibilidade dos analitos à fotólise como mecanismo natural de eliminação e alternativa de tratamento avançado para esgotos domésticos.

Por fim, no Capítulo 8, foi verificada a interação dos micropoluentes pesquisados com os compartimentos lodo de esgoto e sedimentos, visto que há uma tendência, baseada na estrutura química dos fármacos, que sugere afinidade por meios mais hidrofóbicos. Foram realizados estudos de sorção e dessorção em batelada com o intuito de se conhecer a partição e avaliar a possibilidade de acúmulo nas matrizes investigadas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Esta pesquisa teve como proposta contribuir para o estudo de antidepressivos residuais, pertencentes à classe dos fármacos psicoativos e da cafeína, fundamentando-se no desenvolvimento de metodologia analítica para determinação destes compostos nas matrizes lodo de esgoto e sedimentos, bem como a realização de estudos de degradação e sorção com o intuito de subsidiar informações sobre possíveis transformações e a partição nos compartimentos estudados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Desenvolver e otimizar metodologia de extração de cafeína e dos antidepressivos venlafaxina, citalopram, fluoxetina, sertralina e amitriptilina em sedimentos e lodos de esgoto;
- b) Desenvolver um método simples e rápido para determinação dos analitos propostos por CLAE-PDA;
- c) Validar e aplicar o método de extração e de análise por CLAE-PDA propostos para determinação dos analitos em amostras de lodo e sedimento provenientes da região do Reservatório de Itaipu;
- d) Estudar a susceptibilidade dos analitos aos processos de fotólise natural e artificial, tendo em vista a degradação no ambiente aquático pela luz solar e a possibilidade de tratamento baseado na irradiação artificial do esgoto;
- e) Avaliar a partição dos analitos por meio do estudo de sorção e dessorção nas matrizes lodo de esgoto e sedimentos, visando indicar o compartimento de maior aporte dos fármacos estudados e suas mobilidades.



CAPÍTULO 01 OCORRÊNCIA DE FÁRMACOS ANTIDEPRESSIVOS NO MEIO AMBIENTE - REVISÃO



RESUMO

A identificação de poluentes emergentes em matrizes ambientais tem se tornado cada vez mais frequente. Dentre esses poluentes, a presença de fármacos tem grande relevância, pois essa categoria de contaminantes inclui um grande número de substâncias ativas amplamente consumidas no mundo todo. Os medicamentos neuroativos, como os antidepressivos, apresentaram significativo aumento na prescrição e consumo nas últimas décadas. Esses medicamentos apresentam ação direta sobre o sistema nervoso e são apontados como de grande preocupação ambiental, pois estudos têm verificado sua presença em estações de tratamento de efluentes, em águas superficiais, sedimentos e em tecidos de organismos aquáticos. As pesquisas ambientais envolvendo fármacos estão ligadas a sua baixa biodegradabilidade e sua persistência no ambiente, com o risco em potencial de efeitos ecotoxicológicos. Este capítulo revisa os dados da literatura relacionados à ocorrência ambiental de fármacos, com enfoque na distribuição dos antidepressivos, bem como seus efeitos nos organismos não alvos a estes compostos. Além disso, contribui para a literatura científica abordando as técnicas analíticas mais difundidas neste segmento de pesquisa, bem como a necessidade de estudos mais abrangentes focados na detecção, destino, transporte e elucidação dos possíveis efeitos causados por medicamentos residuais no meio ambiente.

Palavras-chave: Determinação de Antidepressivos; Poluentes emergentes, Ecotoxicologia.

ABSTRACT

Lately, the identification of emerging pollutants in environmental matrices has become frequent. Among these pollutants, the presence of drugs is highly relevant, because these categories of contaminants comprised thousands of active substances highly consumed worldwide. In the last decades, there has been a significant increase in the prescription and consumption of neuroactive drugs, such as antidepressants, and due to their direct action on the nervous system, neuroactive drugs are cited as a major environmental concern. Several studies have reported the presence of neuroactive drugs in wastewater treatment plants, surface waters, sediments and tissues of aquatic organisms. Environmental researches involving drugs are linked to their low biodegradability and persistence in the environment, with the potential risk of ecotoxicological effects. This paper reviews the literature related to environmental occurrence of pharmaceuticals, focusing on antidepressants incidence as well as their effects on non- target organisms. Moreover, it contributes to the scientific literature addressing the most widespread analytical techniques in this research field as well as the need for more comprehensive studies focused in detection, destination, distribution and elucidation of the likely effects caused by residual drugs in the environment.

Key-words: Determination of Antidepressants; Emerging pollutants; Ecotoxicology.

1.1 INTRODUÇÃO

Em decorrência do crescimento populacional e da elevada demanda por serviços e produtos, existe a intensificação nos processos de desenvolvimento de novos compostos. Com isso, diversas substâncias, até então despercebidas ou consideradas inofensivas passam a figurar como de grande importância no cenário das preocupações ambientais.

Partindo dessa preocupação, a denominação de poluentes emergentes vem sendo colocada na atualidade como uma maneira de analisar estes compostos, no sentido de chamar a atenção quanto aos riscos à saúde dos ecossistemas. Quando há possibilidade de interação destes compostos com o sistema endócrino dos seres vivos emprega-se o termo perturbadores endócrinos.

Tais fatos têm despertado o interesse da comunidade científica, que vem buscando detectar e monitorar a presença destes novos poluentes em diversas matrizes, com atenção especial às águas residuárias e de abastecimento (MARTÍN *et al.*, 2012; RODIL *et al.*, 2012).

Especificamente quanto aos fármacos, anualmente, uma grade quantidade é produzida e consumida em todo o mundo (RUNNQVIST *et al.*, 2010). Em meio a esta realidade existe a crescente preocupação quanto ao descarte inadequado dos resíduos gerados pela indústria farmacêutica e também da presença de metabólitos ou estruturas intactas destes medicamentos provenientes do consumo humano no meio ambiente (TOURAUD *et al.*, 2011; VAZQUEZ-ROIG *et al.*, 2012).

Nesse sentido, os primeiros estudos sobre a presença de fármacos no ambiente datam da década de 70, mediante a análise de águas residuárias de Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs), nos Estados Unidos (CRESTANA e SILVA, 2011). Desde então, diversos estudos pontuais têm sido realizados com o intuito de iniciar os trabalhos de detecção e monitoramento da presença de resíduos de fármacos em corpos hídricos, em várias partes do mundo (KUMMERER, 2001; CARBALLA *et al.*, 2004; BROWN *et al.*, 2006; GULKOWSKA *et al.*, 2007; XU *et al.*, 2007).

Em meio às diversas categorias de fármacos, os antidepressivos estão entre os que têm apresentado maior aumento do consumo nos últimos anos (HANSEN *et*

al., 2007). Assim como os demais poluentes emergentes de origem farmacológica, sua influência ecotoxicológica é praticamente desconhecida, necessitando de investigação e elucidação quanto aos seus comportamentos e efeitos.

Sendo assim, a proposta deste capítulo de revisão é contribuir na discussão sobre a presença de fármacos antidepressivos no meio ambiente focando estudos já realizados ou em andamento. Nesta revisão, serão abordados trabalhos que englobam aspectos de monitoramento, detecção, tratamento e potencial ecotoxicológico, tendo em vista as diferentes matrizes ambientais nas quais estes poluentes podem estar presentes.

1.2 FÁRMACOS COMO POLUENTES EMERGENTES

Poluentes emergentes referem-se a qualquer composto químico presente numa variedade de produtos comerciais que podem ser encontrados em matrizes ambientais e biológicas. Não são usualmente monitorados ou ainda não possuem regulamentação legal quanto ao descarte e presença no ambiente, contudo apresentam risco potencial à saúde humana e ao meio ambiente (KUSTER *et al.*, 2008a; b).

Dentre os contaminantes emergentes existem alguns grupos específicos que merecem atenção por apresentarem potencial de interação com os organismos e que mesmo em baixíssimas concentrações podem provocar efeitos nos seres vivos. Figuram nestes segmentos os fármacos, defensivos agrícolas, hormônios e produtos de higiene pessoal. Os principais grupos de substâncias, apontadas em pesquisas recentes como agentes em potenciais de contaminação dos ecossistemas, são listados na Tabela 1.1.

Tomando os resíduos medicamentosos como foco de interesse no estudo dos contaminantes emergentes, podemos conceber os fármacos como uma grande família de compostos com finalidades terapêuticas que apresentam grande variedade em consumo e prescrição. Os principais grupos incluem antipiréticos, analgésicos, reguladores lipídicos, antibióticos, antidepressivos, agentes quimioterápicos, drogas contraceptivas e outros mais. Entre essas classes, as mais impactantes são antibióticos (76,6%), hormônios (73,6%) e antidepressivos (69,4%), sendo que os respectivos valores correspondem aos percentuais de fármacos de cada classe com inerente risco ambiental (BOUND, KITSOU e VOULVOULIS, 2006).

Grupo	Matriz ambiental	Referência
Pesticidas	Água superficial; Água de abastecimento; Água subterrânea; Solos;	SACHER <i>et al.</i> , (2001); KOPLIN <i>et al.</i> , (2002); BRUCE, PLEUS e SNYDER, (2010); FILIZOLA <i>et al.</i> , (2002); CAVALCANTE <i>et al.</i> , (2012); LAZARTIGUES <i>et al.</i> , (2011); YANG <i>et al.</i> , (2013); NOMEN <i>et al.</i> , (2012).
Fármacos	Água de abastecimento; Estações de tratamento de esgoto; Água superficial; Sedimentos.	FRAM e BELITZ, (2011); BENOTTI e SNYDER, (2009); PHILLIPS <i>et al.</i> , (2010); RUNNQVIST <i>et al.</i> , (2010); VALCARCEL <i>et al.</i> , (2011); LAPWORTH <i>et al.</i> , (2012); JURADO <i>et al.</i> , (2012); JELIC <i>et al.</i> , (2011); MICHAEL <i>et al.</i> , (2013); VERLICCHI, AL AUKIDY e ZAMBELLO, (2012); MARTÍN <i>et al.</i> , (2012); FANG <i>et al.</i> , (2012); BEHERA <i>et al.</i> , (2011); DEVIER <i>et al.</i> , (2013); STUMPF <i>et al.</i> , (1999); BROZINSKI <i>et al.</i> , (2013); THOMAS e HILTON, (2004); WANG <i>et al.</i> , (2011); DA SILVA <i>et al.</i> , (2011)
Produtos de higiene pessoal	Água superficial; esgoto; Água de abastecimento.	BRAUSCH e RAND, (2011); GOUIN <i>et al.</i> , (2012); HEDGESPETH <i>et al.</i> , (2012); YU, WU e CHANG, (2013); KUMAR e XAGORARAKI, (2010);
Hormônios	Água superficial; Estações de tratamento de esgoto.	WOLZ et al., (2011); BEHERA et al., (2011); DEVIER et al., (2013); GROVER et al., (2011); HUERTA-FONTELA, GALCERAN e VENTURA, (2011); VULLIET, CREN-OLIVE e GRENIER- LOUSTALOT, (2011); KLEYWEGT et al., (2011); ZHENG et al., (2012); DE GRAAFF et al., (2011); AUFARTOVA et al., (2011).

Tabela 1.1 - Principais poluentes emergentes estudados em matrizes ambientais.

Atendo-nos aos contaminantes que tem relação direta a este segmento, além dos hormônios e os antibióticos, cujas pesquisas vêm despontando de modo mais abrangente dentro da literatura de contaminantes emergentes, existem outras substâncias que necessitam de atenção, como os antidepressivos (KUMMERER, 2001; BILA e DEZOTTI, 2003). Com isso, devido à carência de estudos e pesquisas, os possíveis danos são baseados em previsões ou comparação a outras classes. 1.2.1 Rotas de dispersão de fármacos no ambiente

A introdução dos resíduos farmacológicos no meio ambiente é centrada em dois processos distintos, sendo um deles o descarte direto da indústria farmacêutica e o outro inerente ao metabolismo dos indivíduos pós-ingestão durante o tratamento medicamentoso.

No caso da contribuição gerada pelo consumo humano e agropecuário, os compostos farmacológicos são parcialmente metabolizados e excretados na urina e fezes. Subsequentemente são lançados diretamente no ambiente ou entram nas estações de tratamento de esgoto onde são processados, juntamente com outros constituintes orgânicos e inorgânicos das águas residuárias (TOURAUD *et al.*, 2011).

Pesquisas preliminares tem mostrado que alguns desses fármacos não são completamente removidos, uma vez que são desenvolvidos para ser persistentes, mantendo suas propriedades químicas o bastante para servir a um propósito terapêutico (BILA e DEZOTTI, 2003; VERLICCHI, AL AUKIDY e ZAMBELLO, 2012).

Assim, tais compostos, não são completamente eliminados durante o processo convencional de tratamento dos esgotos, pois as estações geralmente são equipadas com unidades focadas na remoção de contaminantes convencionais em níveis de concentração da ordem de mg L⁻¹. Fármacos por sua vez, requerem tecnologias capazes de alcançar teores de µg L⁻¹ a ng L⁻¹ e como resultado, são encontrados em águas superficiais e subterrâneas, bem como nos sedimentos (LE-MINH *et al.*, 2010; ZIYLAN e INCE, 2011).

Os sítios de ocorrência ambiental de fármacos podem ser divididos em cinco grupos principais (COMORETTO e CHIRON, 2005; BOUND, KITSOU e VOULVOULIS, 2006):

a) águas de lençóis freáticos: por infiltração de linhas de esgoto ou efluentes;

 b) águas de rios: por despejo de esgoto doméstico ou industrial ou rural quando transportado do solo pelas chuvas;

c) águas oceânicas: por despejo de esgoto doméstico ou dos próprios rios;

d) sedimentos: pela deposição de espécies ativas insolúveis;

e) solo: pelo despejo urbano inadequado ou do uso rural.

Estudos apontam que 30% de todos os fármacos desenvolvidos são lipofílicos (hidrossolubilidade < 10%) e sedimentam em ambientes aquáticos ou são transferidos para fase biótica (SORENSEN *et al.*, 1998).

Na Figura 1.1 é apresentada uma das possíveis rotas para a dispersão de fármacos no ambiente.



Figura 1.1 - Possíveis rotas de dispersão de fármacos no ambiente FONTE: HEBERER (2002); BILA e DEZOTTI (2003)

Cabe ressaltar que as possíveis vias de contaminação ambiental relacionando fármacos e seus metabólitos, compreendem tanto a zona urbana quanto a rural. No meio urbano estão diretamente ligadas a medicamentos de uso humano. Por sua vez, na zona rural, estão associados predominantemente, a medicamentos de uso veterinário, os quais podem ser utilizados para fins diversos na cadeia produtiva (GIL e MATHIAS, 2005).

1.2.2 Farmacovigilância Ambiental

A ocorrência de fármacos residuais no meio ambiente pode apresentar efeitos adversos em organismos aquáticos e terrestres. Pouco se sabe sobre o destino e o comportamento dessas substâncias no ambiente, assim como não está claro quais organismos são mais afetados e em que grau, já que alguns desses efeitos podem ser observados em concentrações na ordem de ng L⁻¹ (JORGENSEN e HALLING-SORENSEN, 2000).

Tendo em vista as possíveis rotas de exposição ambiental, a concepção de que são planejados para que tenham boa estabilidade ou meia vida prolongada e somando outras propriedades físico-químicas, estas substâncias possuem elevada tendência à bioacumulação. As possibilidades de supostos efeitos transitam entre os genotóxicos, mutagênicos, alterações no desenvolvimento e na aquisição de resistência por organismos patogênicos contra os tratamentos comumente aplicados (BERGER, PETERSEN e BUNINGPFAUE, 1986; MANDAL e SUZUKI, 2002; GIL e MATHIAS, 2005).

Atualmente, dois tópicos sobre o efeito desses fármacos no meio ambiente são os mais discutidos. O desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos e avaliações de perturbações no sistema endócrino por substâncias como estrogênios (BERGER, PETERSEN e BUNINGPFAUE, 1986; MANDAL e SUZUKI, 2002; GIL e MATHIAS, 2005).

1.2.3 Os Antidepressivos No Meio Ambiente

Na década de 50 foram descobertos os primeiros fármacos antidepressivos, tornando possível o tratamento de pacientes com depressão (LOPEZ-MUNOZ e ALAMO, 2009). Com o crescente quadro de estresse na sociedade moderna, estes medicamentos passam a ocupar posição de destaque entre as classes de maior sucesso de comercialização, com o número de novas receitas sendo superado anualmente (DEVANE, 1999). Pesquisas estimam que o aumento no consumo ultrapasse 60% na última década, principalmente no continente europeu (SILVA et al., 2012). O Brasil não difere deste quadro, sendo considerado na atualidade um dos maiores mercados mundiais no consumo antidepressivos.

Em geral estes medicamentos apresentam meia-vida longa, permitindo a sua utilização em dose única diária, com efeito sedativo (uso preferencial noturno)

e efeitos que aumentem o estado de alerta (uso preferencial pela manhã). As doses iniciais devem ser menores, podendo ser aumentadas até a obtenção dos efeitos desejados, ou até que o aparecimento de efeitos adversos exija sua redução (GRAEFF e GUIMARÃES, 2001).

As implicações ambientais do uso cada vez mais elevado desta categoria de fármacos e os requisitos de doses mais significativas para respostas nos paciente começam a ser percebidos em estudos envolvendo poluentes emergentes. Com isso, drogas antidepressivas estão entre os contaminantes detectados com maior frequência em trabalhos pioneiros no Canadá, Estados Unidos, e em outros países ao redor do mundo (CALISTO e ESTEVES, 2009; SCHULTZ *et al.*, 2010; LAJEUNESSE *et al.*, 2011).

Para evitar a presença destes poluentes no meio ambiente, e por extensão a exposição dos organismos mesmo em baixas concentrações, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos de redução e remediação destes compostos mediante a adequação das estações de tratamento, bem como o desenvolvimento de metodologias analíticas adequadas ao seu monitoramento e detecção.

1.2.3.1 Principais classes de antidepressivos e suas características farmacológicas

Os critérios para a classificação de antidepressivos e seu agrupamento em categorias, são definidos de acordo sua farmacocinética, estrutura química e linhas de ação sobre o sistema nervoso.

Até a década de 80 havia duas classes de antidepressivos, os tricíclicos (ADTs) e os inibidores de monoaminoxidase (IMAOs). Com o crescimento dos sintomas clínicos da depressão e os avanços no campo científico, novas classes foram obtidas, a partir da pesquisa de moléculas desprovidas dos efeitos adversos dos clássicos ADTs e IMAOs, sendo denominados antidepressivos da nova geração, ou antidepressivos não tricíclicos (MORENO, MORENO e SOARES, 1999).

Apesar dos avanços obtidos ao logo dos anos a ação completa e adequada do funcionamento dos antidepressivos não é totalmente conhecida. A cerca disso, pesquisadores destas substâncias se baseiam em hipóteses para entender seu mecanismo de ação (STAHL, 1998).

Na Tabela 1.2 são apresentadas as principais categorias de fármacos de uso comercial, aplicados no tratamento dos diversos casos de depressão. Para exemplificar a relação entre estrutura química dos antidepressivos e sua ação no sistema nervoso central alguns desses compostos estão representadas na Figura 1.2.

Classe	Representantes	Informações relevantes
Inibidores da monoaminoxidase (IMAO)	Não seletivos e Irreversíveis Iproniazida Isocarboxazida Tranilcipromina Fenelzina Seletivos e Irreversíveis Clorgilina (MAO-A) Seletivos e Reversíveis Brofaromina Moclobemida Toloxatona	 Utilização em casos específicos já que possuem restrições alimentares; Indicados para sintomas antidepressivos que não respondam aos tratamentos convencionais; Inibem a atividade da enzima monoaminoxidase (MAO) o que resulta em aumento na concentração desses neurotransmissores nos locais de armazenamento no sistema nervoso central e no sistema nervoso simpático; São bem absorvidos pelo trato gastrintestinal, sofrem biotransformação hepática rápida por oxidação e possivelmente têm metabólitos ativos.
Inibidores não seletivos de recaptura de monoaminas (ADTs)	Inibição mista de recaptura de 5- HT/NE Imipramina Desipramina Clomipramina Amitriptilina Nortriptilina Doxepina Maprotilina	 Bloqueiam a recaptura de monoaminas, principalmente norepinefrina e serotonina; Indicados apenas em casos extremos de depressão, quando os demais grupos não surtem efeitos; A atividade pós-sináptica varia de acordo com o sistema neurotransmissor envolvido e geralmente é responsável pelos efeitos colaterais; O mecanismo de ação exato não está totalmente elucidado. Sabe-se que promovem agudamente aumento na eficiência da transmissão monoaminérgica; São absorvidos completamente pelo trato gastrintestinal, metabolizados em grande parte (55% a 80%) pelo efeito de primeira passagem

Tabela 1.2 -	Classes de	antider	oressivos e	suas	características.
	0.0000 00	a			•

a de		 São resultados de pesquisas racionais para encontrar medicamentos tão eficazes quanto os ADTs;
Inibidores seletivos de recaptura serotonina (ISRS)		 Apresentam poucos problemas de tolerabilidade e segurança;
	Fluoxetina Paroxetina	 Primeiras indicações nos estágios iniciais do tratamento;
	Sertralina Citalopram Fluvoxamina	 Inibem de forma potente e seletiva a recaptação de serotonina, resultando em potencialização da neurotransmissão serotonérgica;
		 Possuem perfis farmacocinéticos variados, que incluem meia vida, farmacocinética linear versus não linear, efeito da idade na sua depuração e no seu potencial de inibir isoenzimas metabolizadoras de medicamentos no citocromo.
os de IT/NE		 São inibidores seletivos da recaptação de serotonina e noradrenalina e apresentam fraca atividade como inibidores da recaptação de dopamina;
Inibidores seletivo recaptura de 5-H (ISRSN)	Venlafaxina Duloxetina	 Alteram a sensibilidade de receptores beta- adrenérgicos após dose única, diferente de outros antidepressivos que levam à dessensibilização desses receptores após doses repetidas;
		 São rapidamente absorvidos, sua biodisponibilidade é de 45%, e a ingestão com alimentos retarda, porém não compromete sua absorção.
e HT e FA-2		 O mecanismo de ação se dá por meio da inibição da captação neuronal de serotonina e noradrenalina;
Inibidores de recaptura de 5-H antagonistas ALI (IRSA)	Nefazodona Trazodona	 São absorvidos rapidamente e a ingestão com alimentos retarda a absorção e reduz a biodisponibilidade em cerca de 20%;
		 Suas biodisponibilidades absolutas são baixas (20% da dose oral) e variáveis, em função do elevado metabolismo.
s de SRN)		 Apresentam atividades seletivas sobre a recaptação de noradrenalina, com atividade antagonista alfa-2;
seletivos le NE (IS	Reboxetina Vilovazina	 Não possuem efeitos significativos sobre receptores colinérgicos, histamínicos, alfa-1-adrenérgicos, ou na inibição da monoaminoxidase;
idores ptura (Seus efeitos antidepressivos foram descritos inicialmente na década de 1980;
Inibic recap		 São absorvidos pelo trato gastrintestinal e apresentam alta ligação à glicoproteína alfa-1 plasmática;

Inibidores seletivos de recaptura de DA (ISRD)	Amineptina Bupropion Minaprina	 O mecanismo de ação se dá através de suas atividades noradrenérgica e dopaminérgica; Aumentam a liberação de noradrenalina corpórea e é um fraco inibidor <i>in vitro</i> da captação neuronal de noradrenalina e de dopamina; São rapidamente absorvidos pelo trato intestinal, porém o metabolismo pré-sistêmico elevado diminui a biodisponibilidade.
Antagonistas de alfa-2 adrenorreceptores	Mianserina Mirtazapina	 Aumentam a atividade noradrenérgica e serotonérgica central; Suas afinidades pelos receptores histamínicos explicam o efeito sedativo; Apresentam fracas atividades por receptores muscarínicos e dopaminérgicos; São bem absorvidos pelo trato gastrintestinal, porém devido ao metabolismo de primeira passagem sua biodisponibilidade é de 50%.

5-HT: serotonina; NE: noradrenalina; DA: dopamina

Fonte: Adaptado de BEZCHLIBNYK-BUTLER e JEFFRIES (1999); MORENO, MORENO e SOARES, (1999).

Com a intensificação dos estudos psicofarmacológicos de antidepressivos, o foco encontra-se voltado para produção de substâncias com perfis farmacocinéticos mais adequados aos pacientes quanto à tolerância no organismo e nas interações com outras drogas. A preocupação ambiental durante o desenvolvimento e a fabricação destes compostos, quando existente ou levada em consideração, é uma dimensão de pouca relevância, uma vez que o foco principal é a interação com o organismo e seus efeitos clínicos.





1.2.3.2 Os antidepressivos nas matrizes ambientais

A preocupação quanto à presença dos fármacos nas matrizes ambientais vem se colocando como um dos temas de grande relevância junto aos demais poluentes emergentes. Devido à especificidade e o número de medicamentos disponíveis, a efetivação de estudos sobre os efeitos ecotoxicológicos desses compostos acaba sofrendo certas limitações, pela própria abrangência e amplitude de compostos. Com isso certas classes farmacológicas são mais visadas em relação às outras, como o caso dos anti-inflamatórios e hormônios.

Especificamente em relação aos antidepressivos, vários trabalhos vêm sendo desenvolvidos no sentido de determinar a presença e aferir as concentrações dos neuroativos de maior consumo, bem como seus possíveis efeitos sobre a biota.

Por exemplo, no norte da Europa tem sido detectadas concentrações de fluoxetina, composto antidepressivo inibidor seletivo de recaptura de serotonina (ISRS), na faixa de 150 a 225 ng L⁻¹, em águas residuárias domésticas (FILIZOLA *et al.*, 2002). Em um estudo de caso na Bélgica envolvendo multideterminação de 43 fármacos de diferentes classes, foi reportada concentração de 205 ng L⁻¹ do antidepressivo venlafaxina, presente em efluentes de estações de tratamento de esgotos (VERGEYNST *et al.*, 2015).

O antidepressivo citalopram e seus metabolitos tiveram suas concentrações de determinadas em diversas amostras de águas residuárias de estações de tratamentos de esgotos, apresentando concentrações que variaram de 63 a 304 ng L⁻¹ (VASSKOG *et al.*, 2008), 190 ng L⁻¹ (BUCHBERGER, 2007) e 11 a 322 ng L⁻¹ (LAJEUNESSE, GAGNON e SAUVE, 2008; VASSKOG *et al.*, 2008; METCALFE *et al.*, 2010) no efluente inicial. Ao longo do rio, que recebeu o descarte destes sistemas de tratamento foram verificadas concentrações de 40 a 90 ng L⁻¹ (SCHULTZT e FURLONG, 2008; METCALFE *et al.*, 2010).

Na Espanha, diversos fármacos presentes em água, solo e sedimento passaram por avaliação de risco e determinação de suas ocorrências em uma região alagada em Valência. Os resultados apresentaram ocorrência de antidepressivos em 34% das amostras investigadas (VAZQUEZ-ROIG *et al.*, 2012). Em Madri, um estudo em diversos pontos ao longo de sete rios da região revelaram concentrações médias de amitriptilina, citalopram, clomipramina, fluoxetina, paroxetina e

venlafaxina e seus metabólitos nas faixas de 1 ng L⁻¹, 54 ng L⁻¹, 2 ng L⁻¹, 1 ng L⁻¹ e 395 ng L⁻¹, respectivamente (VALCARCEL *et al.*, 2011).

Em um estudo similar, envolvendo sedimentos e águas de rios, da região metropolitana da mesma cidade foram apontados teores médios de 43 ng L⁻¹, 14 ng L⁻¹ e 57 ng L⁻¹ de citalopram, fluoxetina e venlafaxina, respectivamente (GONZALEZ ALONSO *et al.*, 2010). Ainda baseado em dados de fontes espanholas, se estima que a quantidade total de fluoxetina e citalopram consumida naquele país no ano de 2003 seja maior que 4 ton, delas apenas 1,6 ton com prescrição médica. Vários autores determinaram concentrações ambientais de fluoxetina que vão de 80 a 120 ng L⁻¹ para a região da Galiza e 135 a 200 ng L⁻¹ para a área mais densamente povoada da Catalunha (CARBALLA, OMIL e LEMA, 2008). A venlafaxina foi detectada em 2,01 ng L⁻¹ em amostras de esgoto tratado da Catalunha, Espanha (LAMAS *et al.*, 2004). Concentrações médias de 48,5 ng L⁻¹ para carbamazepina também foram obtidas em amostras ambientais no nordeste espanhol (GROS, PETROVIC e BARCELO, 2007).

Medicamentos do grupo dos antibióticos (tetraciclinas, fluoroquinolonas), bactericidas (triclosan, triclocarban), betabloqueadores (atenolol, propranolol, metoprolol), antidepressivos (fluoxetina, citalopram, venlafaxina, sertralina), antifúngicos (miconazol), analgésicos (paracetamol, ibuprofeno) e anticonvulsivantes (carbamazepina) foram monitorados a diferentes profundidades em solo agrícola que recebeu biossólidos obtidos de lodos de tratamento de esgotos. Especificamente para a classe de antidepressivos analisados foram reportados teores de entre 109 e 114 ng L⁻¹ no biossólido e 5 e 74 ng L⁻¹ nas amostras de solos (GOTTSCHALL *et al.*, 2012).

Vários estudos confirmaram a presença de antidepressivos em águas residuárias depois de passarem pelo processo convencional em estações de tratamento de esgotos urbanos. Medidas de 2,19 ng L⁻¹ para venlafaxina e 1,9 ng L⁻¹ para duloxetina foram quantificados em St. Paul, Minnesota (SCHULTZT e FURLONG, 2008; METCALFE *et al.*, 2010).

Duloxetina, bupropiona, citalopram e novamente a venlafaxina também foram encontradas em concentrações de 2, 50, 40 a 90 e 900 ng L^{-1} , respectivamente, em amostras de águas fluviais distantes 1,7 km à jusante da estação de tratamento em Pecan Creek, no Texas (SCHULTZT e FURLONG, 2008).

Na mesma região, estudos realizados em peixes revelaram concentrações de fluoxetina, sertralina, norfluoxetina, e norsertralina superior a 0,1 ng g⁻¹ em todas as amostras de músculo, fígado e tecidos cerebrais examinados (BROOKS *et al.*, 2005). Os valores relatados para citalopram no Rio St. Lawrence em Montreal, no Canadá, variaram entre 3,4 e 15,5 ng L⁻¹ (LAJEUNESSE, GAGNON e SAUVE, 2008).

Também têm sido reportados resultados indicando a presença de drogas antidepressivas em águas de abastecimento destinadas ao consumo humano em fontes superficiais de captação e redes de fornecimento com teores de 0,5 a 0,8 ng L^{-1} e 0,77 ng L^{-1} para fluoxetina e norfluoxetina, respectivamente (SNYDER, 2008; BENOTTI e SNYDER, 2009). Em poços e águas subterrâneas na Índia foram detectadas concentrações de citalopram e metabólitos na ordem de 76 a 1400 ng L^{-1} (FICK *et al.*, 2009).

Os dados apresentados incluem uma visão geral dos trabalhos científicos publicados focando diferentes fontes de contaminação, destino e de ocorrência como interferentes. Além disso, são fortes indicadores da dispersão destes poluentes emergentes nos diversos sistemas hídricos, como também representam o conhecimento atual sobre os antidepressivos como contaminantes ambientais. O grupo de drogas antidepressivas mais visadas nas pesquisas apresentadas são os Inibidores seletivos de recaptura de serotonina (ISRS) por serem os mais comumente prescritos e utilizados nos tratamento contra depressão, colocando-se dessa forma como os de maior ocorrência.

1.2.3.3 Perfil ecotoxicológico

Como antidepressivos estão presentes em níveis relativamente baixos no ambiente, o risco de efeitos tóxicos agudos é improvável, mas os efeitos crônicos não podem ser descartados (PERY *et al.*, 2008), portanto justificando a necessidade de se analisar estes efeitos e o caráter subletal desses medicamentos sobre a vida aquática (FLAHERTY e DODSON, 2005; CONNERS *et al.*, 2009).

Os potenciais impactos ecotoxicológicos dessas drogas se dão em uma primeira instância em organismos aquáticos, onde tais efeitos não são bem

compreendidos, em princípio pela limitação dos dados disponíveis. Além disso, a falta de informações sobre o destino, os efeitos em longo prazo e seus metabólitos dificulta a avaliação precisa dos riscos (STANLEY *et al.*, 2007; PATERSON e METCALFE, 2008).

No Mississipi (EUA) pesquisadores têm estudado a capacidade de fármacos antidepressivos presentes em águas fluviais interferirem no desenvolvimento de girinos na etapa de metamorfose em rãs, além da percepção de pequenos peixes frente à fuga dos predadores. Os resultados preliminares têm sugerido alterações comportamentais durante a fase larval do ciclo de vida, o que pode levar a respostas mais lentas em um ambiente hostil e competitivo (KNOPPER, 2013).

Em Shanghai (China) embriões de peixe da espécie *Danio rerio*, foram usados em ensaios de toxicidade aguda com exposição à amitriptilina por via aquática em concentrações subletais de 1, 10, 100 ng L⁻¹; 1, 10, 100 μg L⁻¹ e 1 mg L⁻¹. Os resultados mostraram que o fármaco reduziu significativamente o tempo de incubação e o comprimento do corpo dos embriões após a exposição de uma forma dependente da concentração, além da modulação coordenada de parâmetros fisiológicos e bioquímicos como estresse oxidativo e níveis hormonais (YANG *et al.*, 2014).

Estudos realizados com mexilhões de água doce, sob exposição prolongada a concentrações de 2,5 a 22,3 μ g L⁻¹ de fluoxetina, indicaram alterações consideráveis de comportamento e mobilidade espacial, o que pode interferir no papel destes organismos quanto à manutenção da estabilidade e estrutura dos sedimentos e na dinâmica de nutrientes (HAZELTON *et al.*, 2014).

Mudanças no comportamento de anfípodes marinhos por exposição à fluoxetina (10 ng L⁻¹ a 10 µg L⁻¹) e outros fármacos foram verificadas em Portsmouth (Reino Unido). O estudo destacou o potencial ecotoxicológico dos antidepressivos em mudar o comportamento fototáxico e geotáxico das espécies marinhas investigadas (GULER e FORD, 2010).

O efeito de quatro antidepressivos (fluoxetina, fluvoxamina, venlafaxina, citalopram) presentes em águas doces e oceânicas foi estudado em caracóis de água doce nos EUA. As substâncias testadas induziram o descolamento do pé (estrutura locomotora) da massa visceral (corpo) em todas as espécies de caracóis de maneira dependente às doses aplicadas. Os resultados sugerem evidências de

possíveis mecanismos fisiológicos provocados por estes fármacos e dessa forma, danos ecológicos ao grupo de organismos estudado (FONG e MOLNAR, 2013).

Um estudo recente realizado em um estuário na Flórida contaminado pelo lançamento de efluentes detectou em amostras de plasma de tubarões da espécie *Carcharhinus leucas* a presença de diversos fármacos de uso humano, dentre os quais citalopram, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina, sertralina, venlafaxina, sugerindo a acumulação destas substâncias nestes animais (GELSLEICHTER e SZABO, 2013).

A influência dos antidepressivos fluoxetina, venlafaxina e carbamazepina sobre o material DNA de peixes foi reportada em pesquisa envolvendo a patologia genética do autismo. Os resultados sugerem que o contato com estes fármacos em águas pode levar a manifestação da doença em indivíduos com pré-disposição genética (THOMAS e KLAPER, 2012).

A exposição de gastrópodes de água doce (*Valvata piscinalise* e *Potamopyrgus antipodarum*) à presença de fluoxetina em níveis de mg L⁻¹ foi avaliada, ocorrendo diminuição dos parâmetros de reprodução (tais como o número de recém-nascidos e o número de embriões na bolsa incubadora), tamanho dos organismos, aumento no tempo de maturação dos organismos jovens e alterações nos níveis de testosterona (GUST, BURONFOSSE, *et al.*, 2010; GUST, GARRIC, *et al.*, 2010; GUST, VULLIET, *et al.*, 2010; GUST *et al.*, 2011). Foi constatado também que a exposição ambiental à fluoxetina tem o potencial de afetar os mecanismos de osmorregulação intestinal e excreção de nitrogênio branquial em peixes (MORANDO, MEDEIROS e MCDONALD, 2009).

Antidepressivos como a fluoxetina, norfluoxetina e sertralina foram analisados juntamente com outros medicamentos em tecidos de peixes expostos às águas de reuso contaminadas por fármacos, revelando a presença destes compostos nos organismos dos espécimes (VALENTI *et al.*, 2012; WANG e GARDINALI, 2012). Em geral, os estudos dessa natureza têm confirmado a capacidade destes fármacos de se bioacumularem em organismos aquáticos (CHU e METCALFE, 2007).

Os principais resultados apontam para a capacidade dos antidepressivos imitarem os efeitos dos neurotransmissores, sendo estes responsáveis por regularem a maioria dos sistemas biológicos. Tais efeitos estão sendo inicialmente avaliados em peixes, moluscos, protozoários. Contudo, essas moléculas também podem causar efeitos mais severos sobre estes e outros organismos aquáticos (CHU e METCALFE, 2007; MOMPELAT, LE BOT e THOMAS, 2009; DEMEESTERE *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2010).

Outro fato interessante apontado pelos pesquisadores tem relação com o caráter anfótero destas drogas e sua ionização no ambiente, o que parece contribuir para a alteração da atividade biológica dos organismos aquáticos e, mesmo em níveis traços, podem causar efeitos sobre o sistema reprodutor, anormalidades no desenvolvimento embrionário, como também retardo no desenvolvimento fisiológico e sexual (MOMPELAT, LE BOT e THOMAS, 2009; DEMEESTERE *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012).

Comparado com a exposição aquática, o efeito sobre o organismo humano é muito mais incerto, principalmente pela escassez de estudos considerando as doses em nível traço e a complexidade na relação dose-resposta (DAUGHTON e RUHOY, 2011).

1.3 METODOLOGIAS ANALÍTICAS PARA ESTUDO DE POLUENTES EMERGENTES

Tendo em vista a presença cada vez mais significativa dos poluentes emergentes e sua persistência ao entrarem em contato com os diversos compartimentos ambientais bem como, os possíveis efeitos a médio e longo prazo, um fator indispensável para a sugestão de ações para remediação desses ambientes diz respeito à intensificação dos trabalhos e pesquisas para se detectar, monitorar e avaliar tais substâncias no meio ambiente.

Assim, existe urgência por resultados e avanços científicos nos procedimentos de monitoramento ambiental, em especial no desenvolvimento de competências analíticas, equipamentos e métodos com a sensibilidade necessária à investigação nos diferentes focos de contaminação (BUCHBERGER, 2007; CARBALLA, OMIL e LEMA, 2008; AUFARTOVA *et al.*, 2011; DEVIER *et al.*, 2013).

Somado a isto, o desenvolvimento de técnicas analíticas torna possível a determinação dessas substâncias em matrizes ambientais e/ou biológicas em concentrações cada vez mais reduzidas. Com isso, a otimização e a proposição de novas técnicas são imprescindíveis antes de quaisquer outras ações. Um diagnóstico preciso e confiável deve ser a base para procedimentos posteriores (KUSTER *et al.*, 2008b; LOCATELLI, SODRE e JARDIM, 2011).

1.3.1 Principais técnicas cromatográficas aplicadas à análise de fármacos em matrizes ambientais

As baixas concentrações ambientais de fármacos associadas a matrizes complexas exigem investimentos sobre o trabalho analítico, para o estudo eficiente desses compostos (JORGENSEN e HALLING-SORENSEN, 2000; HAO, CLEMENT e YANG, 2007).

Atualmente a base das metodologias analíticas para determinar a presença de compostos farmacêuticos e seus respectivos metabolitos em amostras ambientais tem sido desenvolvida para as águas superficiais, efluentes, sedimentos e lodos de estações de tratamento dando ênfase a processos de extração com maior adaptação às propriedades dos analitos e robustez operacional (LAJEUNESSE, GAGNON e SAUVE, 2008; SCHULTZT e FURLONG, 2008; RADJENOVIC *et al.*, 2009; METCALFE *et al.*, 2010).

Devido à escassez de dados e inicio de estudos mais aprofundados não existe um método universalmente aceito como sendo mais adequado para a detecção e quantificação dos principais grupos de poluentes emergentes.

Várias abordagens analíticas têm sido utilizadas, fundamentadas em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS), cromatografia gasosa com espectrômetro de massa em série (CG-MS²), cromatografia gasosa com espectrometria de massas de alta resolução, cromatografia líquida com detecção ultravioleta (CLAE-UV), cromatografia líquida com detector por arranjo de diodos (CLAE-PDA) e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (CLAE-MS). (SACHER *et al.*, 2001; KOPLIN *et al.*, 2002; LAJEUNESSE, GAGNON e SAUVE, 2008; ITO *et al.*, 2011; LAJEUNESSE *et al.*, 2011; VALCARCEL *et al.*,

2011; ALIZADEH, NAJAFI e POURSANI, 2012; MARTINEZ BUENO et al., 2012; DEVIER et al., 2013).

Em linhas gerais, a análise de fármacos compreende basicamente as etapas de extração e pré-concentração do analito, eliminação de interferentes, separação, detecção e quantificação (HENNION, 1999).

A seleção de qual técnica cromatográfica melhor se adapta é feita com base nas propriedades do poluente de interesse, observando volatilidade e semivolatilidade, polaridade, hidro e lipossolubilidade, conforme a Figura 1.3.



Figura 1.3 - Faixa de aplicação da CLAE e GC para determinação de poluentes orgânicos emergentes baseados em suas propriedades físico-químicas.



As técnicas baseadas na cromatografia líquida de alta resolução são mais adequadas para uma variedade de compostos orgânicos que apresentam polaridade mais alta e volatilidade mais baixa ou ainda elevada instabilidade térmica (WOŹNIAKIEWICZ *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 2011; BROECKER, HERRE e

FONTE: GIGER (2009)

PRAGST, 2012). As técnicas cromatográficas de separação possuem um vasto campo de aplicações dentro da química analítica e da ciência ambiental, sendo utilizadas como uma ferramenta eficiente e precisa para os mais variados estudos envolvendo os poluentes emergentes.

Especificamente para drogas antidepressivas em organismos e ambientes aquáticos, alguns métodos fundamentados nas separações cromatográficas e diferentes acoplamentos têm sido reportados com satisfatoriedade (BROOKS *et al.*, 2005; CHU e METCALFE, 2007; METCALFE *et al.*, 2010; SCHULTZ *et al.*, 2010).

A Tabela 1.3 apresenta um breve levantamento da aplicação de técnicas cromatográficas na detecção e quantificação de medicamentos antidepressivos em matrizes ambientais.

Compostos	Matriz	Técnica	Limites (ng.g ⁻¹ ou ng.L ⁻¹)	Referências
Venlafaxina, paroxetina, citalopram, fluoxetina, sertralina e amitriptilina	Tecidos de peixes e águas residuárias.	CLAE- MS/MS	LD: 0,01	LAJEUNESSE et al. (2011)
Venlafaxina, citalopram e fluoxetina,	Água, sedimento e tecido cerebral em peixes.	CLAE - MS/MS	LQ: 0,25 a 2,50 LD: 0,02 a 0,07	SCHULTZ <i>et al.</i> (2010)
Norfluoxetina	Esgotos e biossólidos	CLAE -MS CG-MS	LD: 0,1	BUCHBERGER (2007)
Venlafaxina e paroxetina	Águas fluviais e esgotos	UHPLC MS/MS	LD: 0,038 LD: 0,004	GRACIA-LOR, SANCHO e HERNANDEZ (2011)
Citalopram	Água de abastecimento tratada	CLAE – MS/MS	-	HORSING <i>et al.</i> (2012)
Fluoxetina e Norfluoxetina	Água de aquário e tecidos de peixes	CLAE -MS	LD: 0,0025 LD: 0,1	PATERSON e METCALFE(200 8)
Venlafaxina, Citalopram e Fluoxetina	Águas fluviais, esgoto in natura e pós- tratamento	UHPLC- MS/MS	LD: 0,001	DEMEESTERE <i>et al.</i> , (2010)
Amitriptilina, Citalopram, Fluoxetina e Venlafaxina	Águas fluviais e de abastecimento	CLAE -MS	LD: 0,001	VALCARCEL <i>et</i> al., 2011; VALCARCEL <i>et</i> al., (2013)

 Tabela 1.3 - Análise cromatográfica de antidepressivos em matrizes ambientais

	<i>i</i>			
Fluoxetina	Aguas de rios e lagos	CG-MS	-	BOYD <i>et al.</i> (2003)
Venlafaxina e Fluoxetina	Água e Esgoto	CLAE – QTOF	LD: 2,2 LD: 0,8	BAGNALL <i>et al.</i> (2012)
Sertralina, Citalopram, Venlafaxina, Fluoxetina e Norfluoxetina	Águas fluviais, esgotos, reservatórios e água marinha.	UHPLC- MS/MS	LD: 0,001 a 0,013	GROS, RODRIGUEZ- MOZAZ e BARCELO (2012)
Fluoxetina, sertralina e metabolitos	Músculo, fígado e cérebro de peixes	GC-MS	LD: 0,01	BROOKS <i>et al.</i> (2005)
Norfluoxetina	Água de abastecimento	CLAE – MS/MS	LD: 0,5	BENOTTI e SNYDER (2009)
Fluvoxamina, Citalopram, Fluoxetina,	Estação de tratamento de esgotos.	SPE- CLAE –MS	LD: 0,12 a 0,16	VASSKOG et al.(2006)
Citalopram, Venlafaxina, Fluoxetina e Sertralina	Solos e esgoto	CLAE - PDA	LD: 1000 LQ: 3000	FLORES <i>et al.</i> (2011)
Fluoxetina, Sertralina, Citalopram e Venlafaxina	Plasma	CLAE - PDA	LD: 2500 LQ: 5000	DUVERNEUIL <i>et</i> <i>al.</i> (2003)
Fluoxetina	Água superficial	CLAE – PDA	LD: 2340 LQ: 8000	ALVI; HAMMAMI, (2011)
	Esgoto	CLAE – FL	LD: 5000	RIBEIRO <i>et al.</i> (2012)
Venlafaxina	Tecido cerebral de peixes	CLAE – FL	-	BISESI <i>et al.</i> (2014)
Fluoxetina, Citalopram e Paroxetina	Plasma	CLAE- FL	LQ: 2000 a 5000	PORTO <i>et al.</i> (2012)

Dados recentes, envolvendo análises de fármacos antidepressivos no meio ambiente, apresentam o uso predominante das cromatografias líquidas e gasosas, principalmente para análise de amostras ambientais aquosas. São encontrados também vários estudos destes fármacos em matrizes provenientes de solos, sedimentos, lodos biológicos de ETES, bem como tecidos de organismos aquáticos. Os detectores que empregam espectrometria de massas são os mais usados, devido à possibilidade de detectar baixos níveis de concentração o que é essencial para a determinação de poluentes emergentes em amostras ambientais. Apresentam ainda a vantagem de operação como detector seletivo possibilitando a identificação inequívoca e, portanto, a confirmação estrutural dos poluentes, principalmente quando usados em configurações em série (MS/MS). Entretanto, o acesso e disponibilidade a esses tipos de detectores podem configurar-se como uma limitação para estudo desses analitos.

Os detectores baseados em arranjos de diodos (PDA) permitem o uso de vários diodos para adquirir e armazenar dados de uma faixa espectral. Isto, atrelado ao uso de *hardwares* e *softwares* potentes, permitem a geração de espectros tridimensionais e a determinação automática da pureza de picos cromatográficos, com isso a baixa seletividade dos detectores universais pode ser contornada (LANÇAS, 2013).

Assim, o emprego desses detectores mais comuns, como PDA e Fluorescência, quando combinados a procedimentos robustos de extração, *clean up* adequado e o emprego de colunas mais seletivas e com alto poder de resolução, permite a realização de determinações satisfatórias mesmo em baixas concentrações.

1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os possíveis impactos ambientais que podem ser causados pela ação dos antidepressivos ainda são pouco conhecidos e discutidos na literatura, mas trazem preocupações e discussões que deverão ser esclarecidas a partir dos avanços no campo das pesquisas, envolvendo testes de ecotoxicidade tanto *in vitro* e *in vivo* para que sejam conhecidos os reais efeitos sobre a biota. Em relação aos fármacos de outras categorias, estudos dessa natureza também são pouco explorados. Além disso, a complexidade matricial e o transporte no ambiente tornam incertas as projeções de efeitos e, juntamente com a insuficiência de informações, dificultam a implementação de mecanismos de controle dos órgãos reguladores.

Somado a isto, o desenvolvimento das técnicas analíticas é uma necessidade emergente para que a pesquisa se torne mais conclusiva, possibilitando a quantificação dessas substâncias em matrizes ambientais e biológicas em concentrações cada vez mais reduzidas, apoiando os estudos sobre os efeitos ecotoxicológicos.

A proposição de novas técnicas e a otimização de outras técnicas como as cromatográficas, será um passo importante na determinação dos fármacos e demais poluentes emergentes.

Conclui-se que a problemática em torno dos poluentes emergentes, em especial os fármacos antidepressivos, assim como ocorre com os poluentes convencionais e prioritários, ainda necessita de maior intensificação nos estudos, focados em elucidar seu comportamento e ação ecotoxicológica, para propor métodos específicos de remoção, uma vez que se têm indícios da persistência dessas substâncias no ambiente aquático e sua passagem pelos sistemas de tratamento de esgotos, tornando-se, portanto disponíveis pelo consumo das águas de abastecimento urbano.

REFERÊNCIAS

ALIZADEH, R.; NAJAFI, N. M.; POURSANI, E. M. Arrays of SnO2 nanorods as novel solid phase microextraction for trace analysis of antidepressant drugs in body fluids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 70, p. 492-8, 2012.

ALVI, S. N.; HAMMAMI, M. M. Validated HPLC method for determination of caffeine level in human plasma using synthetic plasma: application to bioavailability studies. **Journal Chromatographic Science**, v. 49, n. 4, p. 292-6, 2011.

AUFARTOVA, J.; MAHUGO-SANTANA, C.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRIGUEZ, J. J.; NOVAKOVA, L.; SOLICH, P. Determination of steroid hormones in biological and environmental samples using green microextraction techniques: An overview. **Analytica Chimica Acta**, v. 704, n. 1-2, p. 33-46, 2011.

BAGNALL, J. P.; EVANS, S. E.; WORT, M. T.; LUBBEN, A. T.; KASPRZYK-HORDERN, B. Using chiral liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface and wastewater at the enantiomeric level. **Journal of Chromatography** A, v. 1249, p. 115-129, 2012.

BEHERA, S. K.; KIM, H. W.; OH, J. E.; PARK, H. S. Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 20, p. 4351-4360, 2011.

BENOTTI, M. J.; SNYDER, S. A. Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds: Implications for Ground Water Replenishment with Recycled Water. **Ground Water**, v. 47, n. 4, p. 499-502, 2009.

BERGER, K.; PETERSEN, B.; BUNINGPFAUE, H. Persistence of Drugs Occurring in Liquid Manure in the Food-Chain. **Archiv Fur Lebensmittelhygiene**, v. 37, n. 4, p. 99-102, 1986.

BEZCHLIBNYK-BUTLER, K. Z.; JEFFRIES, J. J. **Clinical handbook of psychotropic drugs**. Hogrefe & Huber Publishers, v. 9th ed., Toronto (Canada). 1999.

BISESI, J. H.; BRIDGES, W.; KLAINE, S. J. Effects of the antidepressant venlafaxine on fish brain serotonin and predation behavior. **Aquatic Toxicology**, v. 148, p. 130-138, 2014.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Pharmaceutical drugs in the environment. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

BOUND, J. P.; KITSOU, K.; VOULVOULIS, N. Household disposal of pharmaceuticals and perception of risk to the environment. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 21, n. 3, p. 301-307, 2006.

BOYD, G. R.; REEMTSMA, H.; GRIMM, D. A.; MITRA, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. **Science of the Total Environment**, v. 311, n. 1-3, p. 135-149, 2003.

BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1518-1532, 2011.

BROECKER, S.; HERRE, S.; PRAGST, F. General unknown screening in hair by liquid chromatography-hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC–QTOF-MS). Forensic Science International, v. 218, n. 1-3, p. 68-81, 2012.

BROOKS, B. W.; CHAMBLISS, C. K.; STANLEY, J. K.; RAMIREZ, A.; BANKS, K. E.; JOHNSON, R. D.; LEWIS, R. J. Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 2, p. 464-9, 2005.

BROWN, K. D.; KULIS, J.; THOMSON, B.; CHAPMAN, T. H.; MAWHINNEY, D. B. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy, effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. **Science of the Total Environment**, v. 366, n. 2-3, p. 772-783, 2006.

BROZINSKI, J. M.; LAHTI, M.; MEIERJOHANN, A.; OIKARI, A.; KRONBERG, L. The Anti-Inflammatory Drugs Diclofenac, Naproxen and Ibuprofen are found in the Bile of Wild Fish Caught Downstream of a Wastewater Treatment Plant. Environmental **Science & Technology**, v. 47, n. 1, p. 342-348, 2013.

BRUCE, G. M.; PLEUS, R. C.; SNYDER, S. A. Toxicological Relevance of Pharmaceuticals in Drinking Water. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 14, p. 5619-5626, 2010.

BUCHBERGER, W. W. Novel analytical procedures for screening of drug residues in water, waste water, sediment and sludge. **Analytica Chimica Acta**, v. 593, n. 2, p. 129-139, 2007.

CALISTO, V.; ESTEVES, V. I. Psychiatric pharmaceuticals in the environment. **Chemosphere**, v. 77, n. 10, p. 1257-1274, 2009.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M. Comparison of predicted and measured concentrations of selected pharmaceuticals, fragrances and hormones in Spanish sewage. **Chemosphere**, v. 72, n. 8, p. 1118-23, 2008.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M.; LLOMPART, M.; GARCIA-JARES, C.; RODRIGUEZ, I.; GOMEZ, M.; TERNES, T. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. **Water Research**, v. 38, n. 12, p. 2918-2926, 2004.

CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M.; FERNANDES, G. M.; DUAVI, W. C. Relation factor: A new strategy for quality control in the determination of pesticides in environmental aqueous matrices. **Talanta**, v. 93, p. 212-218, 2012.

CHU, S.; METCALFE, C. D. Analysis of paroxetine, fluoxetine and norfluoxetine in fish tissues using pressurized liquid extraction, mixed mode solid phase extraction cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1163, n. 1-2, p. 112-8, 2007.

COMORETTO, L.; CHIRON, S. Comparing pharmaceutical and pesticide loads into a small Mediterranean river. **Science of the Total Environment**, v. 349, n. 1-3, p. 201-210, 2005.

CONNERS, D. E.; ROGERS, E. D.; ARMBRUST, K. L.; KWON, J. W.; BLACK, M. C. Growth and development of tadpoles (*Xenopus laevis*) exposed to selective serotonin reuptake inhibitors, fluoxetine and sertraline, throughout metamorphosis. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 12, p. 2671-6, 2009.

CRESTANA, G. B.; SILVA, J. H. Fármacos residuais: panorama de um Cenário negligenciado. **Revista Internacional de Direito e Cidadania**, v. 9, p. 55-65, 2011.

DA SILVA, B. F.; JELIC, A.; LOPEZ-SERNA, R.; MOZETO, A. A.; PETROVIC, M.; BARCELO, D. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. **Chemosphere**, v. 85, n. 8, p. 1331-9, 2011.

DAUGHTON, C. G.; RUHOY, I. S. Green pharmacy and pharmEcovigilance: prescribing and the planet. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, v. 4, n. 2, p. 211-32, 2011.

DE GRAAFF, M. S.; VIENO, N. M.; KUJAWA-ROELEVELD, K.; ZEEMAN, G.; TEMMINK, H.; BUISMAN, C. J. N. Fate of hormones and pharmaceuticals during combined anaerobic treatment and nitrogen removal by partial nitritation-anammox in vacuum collected black water. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 375-383, 2011.

DEMEESTERE, K.; PETROVIC, M.; GROS, M.; DEWULF, J.; VAN LANGENHOVE, H.; BARCELO, D. Trace analysis of antidepressants in environmental waters by molecularly imprinted polymer-based solid-phase extraction followed by ultraperformance liquid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 2, p. 825-37, 2010. DEVANE, C. L. Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 19, n. 4, p. 443-466, 1999.

DEVIER, M. H.; LE MENACH, K.; VIGLINO, L.; DI GIOIA, L.; LACHASSAGNE, P.; BUDZINSKI, H. Ultra-trace analysis of hormones, pharmaceutical substances, alkylphenols and phthalates in two French natural mineral waters. **Science of the Total Environment**, v. 443, p. 621-632, 2013.

DUVERNEUIL, C.; LA GRANDMAISON, G. L.; MAZANCOURT, P.; ALVAREZ, J. C. A high-performance liquid chromatography method with photodiode-array UV detection for therapeutic drug monitoring of the nontricyclic antidepressant drugs. **Therapeutic drug monitoring**, v. 25, n. 5, p. 565-73, 2003.

FANG, T. H.; NAN, F. H.; CHIN, T. S.; FENG, H. M. The occurrence and distribution of pharmaceutical compounds in the effluents of a major sewage treatment plant in Northern Taiwan and the receiving coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, n. 7, p. 1435-1444, 2012.

FICK, J.; SODERSTROM, H.; LINDBERG, R. H.; PHAN, C.; TYSKLIND, M.; LARSSON, D. G. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 12, p. 2522-7, 2009.

FILIZOLA, H. F.; FERRACINI, V. L.; SANS, L. M. A.; GOMES, M. A. F.; FERREIRA, C. J. A. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, 2002.

FLAHERTY, C. M.; DODSON, S. I. Effects of pharmaceuticals on Daphnia survival, growth, and reproduction. **Chemosphere**, v. 61, n. 2, p. 200-7, 2005.

FLORES, J. R.; SALCEDO, A. M. C.; FERNÁNDEZ, L. M. Rapid HPLC Method for Monitoring Relevant Residues of Pharmaceuticals Products in Environmental Samples. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 02, n. 01, p. 18-26, 2011.

FONG, P. P.; MOLNAR, N. Antidepressants cause foot detachment from substrate in five species of marine snail. **Marine Environmental Research**, v. 84, p. 24-30, 2013.

FRAM, M. S.; BELITZ, K. Occurrence and concentrations of pharmaceutical compounds in groundwater used for public drinking-water supply in California. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 18, p. 3409-3417, 2011.

GELSLEICHTER, J.; SZABO, N. J. Uptake of human pharmaceuticals in bull sharks (*Carcharhinus leucas*) inhabiting a wastewater-impacted river. **Science of the Total Environment**, v. 456-457, p. 196-201, 2013.

GIGER, W. Hydrophilic and amphiphilic water pollutants: using advanced analytical methods for classic and emerging contaminants. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, n. 1, p. 37-44, 2009.

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

GONZALEZ ALONSO, S.; CATALA, M.; MAROTO, R. R.; GIL, J. L.; DE MIGUEL, A. G.; VALCARCEL, Y. Pollution by psychoactive pharmaceuticals in the Rivers of Madrid metropolitan area (Spain). **Environment International**, v. 36, n. 2, p. 195-201, 2010.

GOTTSCHALL, N.; TOPP, E.; METCALFE, C.; EDWARDS, M.; PAYNE, M.; KLEYWEGT, S.; RUSSELL, P.; LAPEN, D. R. Pharmaceutical and personal care products in groundwater, subsurface drainage, soil, and wheat grain, following a high single application of municipal biosolids to a field. **Chemosphere**, v. 87, n. 2, p. 194-203, 2012.

GOUIN, T.; VAN EGMOND, R.; PRICE, O. R.; HODGES, J. E. N. Prioritising chemicals used in personal care products in China for environmental risk assessment: Application of the RAIDAR model. **Environmental Pollution**, v. 165, p. 208-214, 2012.

GRACIA-LOR, E.; SANCHO, J. V.; HERNANDEZ, F. Multi-class determination of around 50 pharmaceuticals, including 26 antibiotics, in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 16, p. 2264-75, 2011.

GRAEFF, F.; GUIMARÃES, F. S. Medicamentos antidepressivos e estabilizadores de humor. **Fundamentos da Psicofarmacologia**, v. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 93-122., 2001.

GROS, M.; PETROVIC, M.; BARCELO, D. Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro River basin (northeast Spain). **Environmental Toxicology and Chemis**try, v. 26, n. 8, p. 1553-62, 2007.

GROS, M.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELO, D. Fast and comprehensive multiresidue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1248, p. 104-21, 2012.

GROVER, D. P.; ZHOU, J. L.; FRICKERS, P. E.; READMAN, J. W. Improved removal of estrogenic and pharmaceutical compounds in sewage effluent by full scale granular activated carbon: Impact on receiving river water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 185, n. 2-3, p. 1005-1011, 2011.

GULER, Y.; FORD, A. T. Anti-depressants make amphipods see the light. **Aquatic Toxicology**, v. 99, n. 3, p. 397-404, 2010.

GULKOWSKA, A.; HE, Y. H.; SO, M. K.; YEUNG, L. W. Y.; LEUNG, H. W.; GIESY, J. P.; LAM, P. K. S.; MARTIN, M.; RICHARDSON, B. J. The occurrence of selected antibiotics in Hong Kong coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, n. 8, p. 1287-1293, 2007.

GUST, M.; BURONFOSSE, T.; ANDRE, C.; MONS, R.; GAGNE, F.; GARRIC, J. Is exposure temperature a confounding factor for the assessment of reproductive parameters of New Zealand mudsnails *Potamopyrgus antipodarum* (Gray)? **Aquatic Toxicology**, v. 101, n. 2, p. 396-404, 2011.

GUST, M.; BURONFOSSE, T.; GEFFARD, O.; MONS, R.; QUEAU, H.; MOUTHON, J.; GARRIC, J. In situ biomonitoring of freshwater quality using the New Zealand mudsnail Potamopyrgus antipodarum (Gray) exposed to waste water treatment plant (WWTP) effluent discharges. **Water Research**, v. 44, n. 15, p. 4517-28, 2010.
GUST, M.; GARRIC, J.; GIAMBERINI, L.; MONS, R.; ABBACI, K.; GARNIER, F.; BURONFOSSE, T. Sensitivity of New Zealand mudsnail Potamopyrgus antipodarum (Gray) to a specific aromatase inhibitor. **Chemosphere**, v. 79, n. 1, p. 47-53, 2010.

GUST, M.; VULLIET, E.; GIROUD, B.; GARNIER, F.; COUTURIER, S.; GARRIC, J.; BURONFOSSE, T. Development, validation and comparison of LC-MS/MS and RIA methods for quantification of vertebrates-like sex-steroids in prosobranch molluscs. J Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, v. 878, n. 19, p. 1487-92, 2010.

HANSEN, D. G.; ROSHOLM, J. U.; GICHANGI, A.; VACH, W. Increased use of antidepressants at the end of life: population-based study among people aged 65 years and above. **Age and Ageing**, v. 36, n. 4, p. 449-454, 2007.

HAO, C.; CLEMENT, R.; YANG, P. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry of bioactive pharmaceutical compounds in the aquatic environment--a decade's activities. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1247-57, 2007.

HAZELTON, P. D.; DU, B.; HADDAD, S. P.; FRITTS, A. K.; CHAMBLISS, C. K.; BROOKS, B. W.; BRINGOLF, R. B. Chronic fluoxetine exposure alters movement and burrowing in adult freshwater mussels. **Aquatic Toxicology**, v. 151, p. 27-35, 2014.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology Letters**, v. 131, n. 1-2, p. 5-17, 2002.

HEDGESPETH, M. L.; SAPOZHNIKOVA, Y.; PENNINGTON, P.; CLUM, A.; FAIREY, A.; WIRTH, E. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in treated wastewater discharges into Charleston Harbor, South Carolina. **Science of the Total Environment**, v. 437, p. 1-9, 2012.

HENNION, M. C. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 856, n. 1-2, p. 3-54, 1999.

HORSING, M.; KOSJEK, T.; ANDERSEN, H. R.; HEATH, E.; LEDIN, A. Fate of citalopram during water treatment with O3, CIO2, UV and Fenton oxidation. **Chemosphere**, v. 89, n. 2, p. 129-35, 2012.

HUERTA-FONTELA, M.; GALCERAN, M. T.; VENTURA, F. Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. **Water Research**, v. 45, n. 3, p. 1432-1442, 2011.

ITO, R.; USHIRO, M.; TAKAHASHI, Y.; SAITO, K.; OOKUBO, T.; IWASAKI, Y.; NAKAZAWA, H. Improvement and validation the method using dispersive liquid-liquid microextraction with in situ derivatization followed by gas chromatography-mass spectrometry for determination of tricyclic antidepressants in human urine samples. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 879, n. 31, p. 3714-20, 2011.

JELIC, A.; GROS, M.; GINEBREDA, A.; CESPEDES-SANCHEZ, R.; VENTURA, F.; PETROVIC, M.; BARCELO, D. Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. **Water Research**, v. 45, n. 3, p. 1165-1176, 2011.

JORGENSEN, S. E.; HALLING-SORENSEN, B. Drugs in the environment. **Chemosphere**, v. 40, n. 7, p. 691-9, 2000.

JURADO, A.; VAZQUEZ-SUNE, E.; CARRERA, J.; DE ALDA, M. L.; PUJADES, E.; BARCELO, D. Emerging organic contaminants in groundwater in Spain: A review of sources, recent occurrence and fate in a European context. **Science of the Total Environment**, v. 440, p. 82-94, 2012.

KLEYWEGT, S.; PILEGGI, V.; YANG, P.; HAO, C. Y.; ZHAO, X. M.; ROCKS, C.; THACH, S.; CHEUNG, P.; WHITEHEAD, B. Pharmaceuticals, hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario, Canada - and treatment efficiency. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 8, p. 1481-1488, 2011.

KNOPPER, M. Fish on drugs: the mellowing of minnows and other consequences of antidepressants in the water. E Sept.-Oct. 2010: 12+. Academic OneFile, 2013.

KOPLIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Response to comment on "Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance". **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 18, p. 4004-4004, 2002.

KUMAR, A.; XAGORARAKI, I. Pharmaceuticals, personal care products and endocrine-disrupting chemicals in U.S. surface and finished drinking waters: A proposed ranking system. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 23, p. 5972-5989, 2010.

KUMMERER, K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. **Chemosphere**, v. 45, n. 6-7, p. 957-969, 2001.

KUSTER, M.; DE ALDA, M. J.; HERNANDO, M. D.; PETROVIC, M.; MARTIN-ALONSO, J.; BARCELO, D. Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). **Journal of Hydrology**, v. 358, p. 12-123, 2008.

LAJEUNESSE, A.; GAGNON, C.; GAGNE, F.; LOUIS, S.; CEJKA, P.; SAUVE, S. Distribution of antidepressants and their metabolites in brook trout exposed to municipal wastewaters before and after ozone treatment - Evidence of biological effects. **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p. 564-571, 2011.

LAJEUNESSE, A.; GAGNON, C.; SAUVE, S. Determination of basic antidepressants and their n-desmethyl metabolites in raw sewage and wastewater using solid-phase extraction and liquid chromatography - Tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 14, p. 5325-5333, 2008.

LAMAS, J. P.; SALGADO-PETINAL, C.; GARCIA-JARES, C.; LLOMPART, M.; CELA, R.; GOMEZ, M. Solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of selective serotonin reuptake inhibitors in environmental water. **Journal of Chromatography A**, v. 1046, n. 1-2, p. 241-7, 13 2004.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente "compatíveis"? II. A escolha do analisador de massas. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 1, p. 27-46, 2013.

LAPWORTH, D. J.; BARAN, N.; STUART, M. E.; WARD, R. S. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. **Environmental Pollution**, v. 163, p. 287-303, 2012.

LAZARTIGUES, A.; FRATTA, C.; BAUDOT, R.; WIEST, L.; FEIDT, C.; THOMAS, M.; CREN-OLIVE, C. Multiresidue method for the determination of 13 pesticides in three environmental matrices: water, sediments and fish muscle. **Talanta**, v. 85, n. 3, p. 1500-1507, 2011.

LE-MINH, N.; KHAN, S. J.; DREWES, J. E.; STUETZ, R. M. Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. **Water Research**, v. 44, n. 15, p. 4295-323, 2010.

LOCATELLI, M. A.; SODRE, F. F.; JARDIM, W. F. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 3, p. 385-93, 2011.

LOPEZ-MUNOZ, F.; ALAMO, C. Monoaminergic Neurotransmission: The History of the Discovery of Antidepressants from 1950s Until Today. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 14, p. 1563-1586, 2009.

MANDAL, B. K.; SUZUKI, K. T. Arsenic round the world: a review. **Talanta**, v. 58, n. 1, p. 201-35, 2002.

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

MARTINEZ BUENO, M. J.; ULASZEWSKA, M. M.; GOMEZ, M. J.; HERNANDO, M. D.; FERNANDEZ-ALBA, A. R. Simultaneous measurement in mass and mass/mass mode for accurate qualitative and quantitative screening analysis of pharmaceuticals in river water. **Journal of Chromatography A**, v. 1256, p. 80-8, 2012.

METCALFE, C. D.; CHU, S. G.; JUDT, C.; LI, H. X.; OAKES, K. D.; SERVOS, M. R.; ANDREWS, D. M. Antidepressants and Their Metabolites in Municipal Wastewater, and Downstream Exposure in an Urban Watershed. Environmental. **Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 79-89, 2010.

MICHAEL, I.; RIZZO, L.; MCARDELL, C. S.; MANAIA, C. M.; MERLIN, C.; SCHWARTZ, T.; DAGOT, C.; FATTA-KASSINOS, D. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. **Water Research**, v. 47, n. 3, p. 957-995, 2013.

MOMPELAT, S.; LE BOT, B.; THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. **Environment International**, v. 35, n. 5, p. 803-14, 2009.

MORANDO, M. B.; MEDEIROS, L. R.; MCDONALD, M. D. Fluoxetine treatment affects nitrogen waste excretion and osmoregulation in a marine teleost fish. **Aquatic Toxicology**, v. 93, n. 4, p. 253-60, 2009.

MORENO, R. A.; MORENO, D. H.; SOARES, M. B. D. S. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, 1999.

NOMEN, R.; SEMPERE, J.; CHAVEZ, F.; DE LOPEZ, N. A.; ROVIRA, M. D. Measurement of pollution levels of organochlorine and organophosphorus pesticides in water, soil, sediment, and shrimp to identify possible impacts on shrimp production at Jiquilisco Bay. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 8, p. 3547-3555, 2012.

PATERSON, G.; METCALFE, C. D. Uptake and depuration of the anti-depressant fluoxetine by the Japanese medaka *(Oryzias latipes)*. **Chemosphere**, v. 74, n. 1, p. 125-30, 2008.

PERY, A. R. R.; GUST, M.; VOLLAT, B.; MONS, R.; RAMIL, M.; FINK, G.; TERNES, T.; GARRIC, J. Fluoxetine effects assessment on the life cycle of aquatic invertebrates. **Chemosphere**, v. 73, n. 3, p. 300-304, 2008.

PHILLIPS, P. J.; SMITH, S. G.; KOLPIN, D. W.; ZAUGG, S. D.; BUXTON, H. T.; FURLONG, E. T.; ESPOSITO, K.; STINSON, B. Pharmaceutical Formulation Facilities as Sources of Opioids and Other Pharmaceuticals to Wastewater Treatment Plant Effluents. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 13, p. 4910-4916, 2010.

PORTO, C. E. D.; MAIA, P. P.; FREITAS, D. F. D.; ARAÚJO, R. C. C.; SIQUEIRA, M. E. P. B. D.; MARTINS, I.; SANTOS-NETO, Á. J. D. Liquid-phase microextraction for simultaneous chromatographic analysis of three antidepressant drugs in plasma. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 72-76, 2012.

RADJENOVIC, J.; JELIC, A.; PETROVIC, M.; BARCELO, D. Determination of pharmaceuticals in sewage sludge by pressurized liquid extraction (PLE) coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, n. 6-7, p. 1685-95, 2009.

RIBEIRO, A. R.; AFONSO, C. M.; CASTRO, P. M. L.; TIRITAN, M. E. Enantioselective HPLC analysis and biodegradation of atenolol, metoprolol and fluoxetine. **Environmental Chemistry Letters**, v. 11, n. 1, p. 83-90, 2012.

RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; CONCHA-GRANA, E.; LOPEZ-MAHIA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRIGUEZ, D. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, v. 86, n. 10, p. 1040-1049, 2012.

RUNNQVIST, H.; BAK, S. A.; HANSEN, M.; STYRISHAVE, B.; HALLING-SORENSEN, B.; BJORKLUND, E. Determination of pharmaceuticals in environmental and biological matrices using pressurised liquid extraction-Are we developing sound extraction methods? **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2447-2470, 2010.

SACHER, F.; LANG, F. T.; BRAUCH, H. J.; BLANKENHORN, I. Pharmaceuticals in groundwaters - Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Wurttemberg, Germany. **Journal of Chromatography A**, v. 938, n. 1-2, p. 199-210, 2001.

SANTOS, L. H.; ARAUJO, A. N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. Ecotoxicological aspects related to the presence of

pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1-3, p. 45-95, 2010.

SCHRODER, H. F.; TAMBOSI, J. L.; SENA, R. F.; MOREIRA, R. F.; JOSE, H. J.; PINNEKAMP, J. The removal and degradation of pharmaceutical compounds during membrane bioreactor treatment. **Water Science and Technology**, v. 65, n. 5, p. 833-9, 2012.

SCHULTZ, M. M.; FURLONG, E. T.; KOLPIN, D. W.; WERNER, S. L.; SCHOENFUSS, H. L.; BARBER, L. B.; BLAZER, V. S.; NORRIS, D. O.; VAJDA, A. M. Antidepressant Pharmaceuticals in Two US Effluent-Impacted Streams: Occurrence and Fate in Water and Sediment, and Selective Uptake in Fish Neural Tissue. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 6, p. 1918-1925, 2010.

SCHULTZT, M. M.; FURLONG, E. T. Trace analysis of antidepressant pharmaceuticals and their select degradates in aquatic matrixes by LC/ESI/MS/MS. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 5, p. 1756-1762, 2008.

SILVA, L. J.; LINO, C. M.; MEISEL, L. M.; PENA, A. Selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs) in the aquatic environment: an ecopharmacovigilance approach. **Science of the Total Environment**, v. 437, p. 185-95, 2012.

SNYDER, S. A. Occurrence, treatment, and toxicological relevance of EDCs and pharmaceu-ticals in water. **Ozone: Science & Engineering**, v. 30, p. 65-69, 2008.

SORENSEN, B. H.; NIELSEN, S. N.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; LUTZHOFT, H. C. H.; JORGENSEN, S. E. Ocurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. **Chemosphere**, v. 36, p. 357-393, 1998.

STAHL, S. M. Basic psychopharmacology of antidepressants, part 1: Antidepressants have seven distinct mechanisms of action. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 59, p. 5-14, 1998.

STANLEY, J. K.; RAMIREZ, A. J.; CHAMBLISS, C. K.; BROOKS, B. W. Enantiospecific sublethal effects of the antidepressant fluoxetine to a model aquatic vertebrate and invertebrate. **Chemosphere**, v. 69, n. 1, p. 9-16, 2007.

STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R. D.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 135-41, 1999.

THOMAS, K. V.; HILTON, M. J. The occurrence of selected human pharmaceutical compounds in UK estuaries. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, n. 5-6, p. 436-444, 2004.

THOMAS, M. A.; KLAPER, R. D. Psychoactive pharmaceuticals induce fish gene expression profiles associated with human idiopathic autism. **Plos One**, v. 7, n. 6, p. e32917, 2012.

TOURAUD, E.; ROIG, B.; SUMPTER, J. P.; COETSIER, C. Drug residues and endocrine disruptors in drinking water: Risk for humans? **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 214, n. 6, p. 437-441, 2011.

VALCARCEL, Y.; ALONSO, S. G.; RODRIGUEZ-GIL, J. L.; CASTANO, A.; MONTERO, J. C.; CRIADO-ALVAREZ, J. J.; MIRON, I. J.; CATALA, M. Seasonal variation of pharmaceutically active compounds in surface (Tagus River) and tap

water (Central Spain). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 3, p. 1396-412, 2013.

VALCARCEL, Y.; ALONSO, S. G.; RODRIGUEZ-GIL, J. L.; MAROTO, R. R.; GIL, A.; CATALA, M. Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/antiinflammatory/antipyretic pharmaceuticals in river- and drinking-water of the Madrid Region in Spain. **Chemosphere**, v. 82, n. 7, p. 1062-1071, 2011.

VALENTI, T. W.; GOULD, G. G.; BERNINGER, J. P.; CONNORS, K. A.; KEELE, N. B.; PROSSER, K. N.; BROOKS, B. W. Human Therapeutic Plasma Levels of the Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (SSRI) Sertraline Decrease Serotonin Reuptake Transporter Binding and Shelter-Seeking Behavior in Adult Male Fathead Minnows. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 4, p. 2427-2435, 2012.

VASSKOG, T.; ANDERSSEN, T.; PEDERSEN-BJERGAARD, S.; KALLENBORN, R.; JENSEN, E. Occurrence of selective serotonin reuptake inhibitors in sewage and receiving waters at Spitsbergen and in Norway. **Journal of Chromatography** A, v. 1185, n. 2, p. 194-205, 2008.

VASSKOG, T.; BERGER, U.; SAMUELSEN, P. J.; KALLENBORN, R.; JENSEN, E. Selective serotonin reuptake inhibitors in sewage influents and effluents from Tromso, Norway. **Journal of Chromatography A**, v. 1115, n. 1-2, p. 187-195, 2006.

VAZQUEZ-ROIG, P.; ANDREU, V.; BLASCO, C.; PICO, Y. Risk assessment on the presence of pharmaceuticals in sediments, soils and waters of the Pego-Oliva Marshlands (Valencia, eastern Spain). **Science of the Total Environment**, v. 440, p. 24-32, 2012.

VERGEYNST, L.; HAECK, A.; DE WISPELAERE, P.; VAN LANGENHOVE, H.; DEMEESTERE, K. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography–magnetic sector mass spectrometry: Method quality assessment and application in a Belgian case study. **Chemosphere**, v. 119, p. S2-S8, 2015.

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

VULLIET, E.; CREN-OLIVE, C.; GRENIER-LOUSTALOT, M. F. Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters. **Environmental Chemistry Letters**, v. 9, n. 1, p. 103-114, 2011.

WANG, C. A.; SHI, H. L.; ADAMS, C. D.; GAMAGEDARA, S.; STAYTON, I.; TIMMONS, T.; MA, Y. F. Investigation of pharmaceuticals in Missouri natural and drinking water using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Water Research**, v. 45, n. 4, p. 1818-1828, 2011.

WANG, J.; GARDINALI, P. R. Analysis of selected pharmaceuticals in fish and the fresh water bodies directly affected by reclaimed water using liquid chromatographytandem mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistr**y, v. 404, n. 9, p. 2711-2720, 2012.

WOLZ, J.; GROSSHANS, K.; STRECK, G.; SCHULZE, T.; RASTALL, A.; ERDINGER, L.; BRACK, W.; FLEIG, M.; KUHLERS, D.; BRAUNBECK, T.; HOLLERT, H. Estrogen receptor mediated activity in bankside groundwater, with flood suspended particulate matter and floodplain soil - An approach combining

tracer substance, bioassay and target analysis. **Chemosphere**, v. 85, n. 5, p. 717-723, 2011.

WOŹNIAKIEWICZ, M.; WIETECHA-POSŁUSZNY, R.; GARBACIK, A.; KOŚCIELNIAK, P. Microwave-assisted extraction of tricyclic antidepressants from human serum followed by high performance liquid chromatography determination. **Journal of Chromatography A**, v. 1190, n. 1-2, p. 52-56, 2008.

XU, W. H.; ZHANG, G.; LI, X. D.; ZOU, S. C.; LI, P.; HU, Z. H.; LI, J. Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China. **Water Research**, v. 41, n. 19, p. 4526-4534, 2007.

YANG, D.; QI, S. H.; ZHANG, J. Q.; WU, C. X.; XING, X. L. Organochlorine pesticides in soil, water and sediment along the Jinjiang River mainstream to Quanzhou Bay, southeast China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 89, p. 59-65, 2013.

YANG, M.; QIU, W.; CHEN, J.; ZHAN, J.; PAN, C.; LEI, X.; WU, M. Growth inhibition and coordinated physiological regulation of zebrafish (Danio rerio) embryos upon sublethal exposure to antidepressant amitriptyline. **Aquatic Toxicology**, v. 151, p. 68-76, 2014.

YU, Y.; WU, L. S.; CHANG, A. C. Seasonal variation of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, v. 442, p. 310-316, 2013.

ZHENG, W.; LI, X. L.; YATES, S. R.; BRADFORD, S. A. Anaerobic Transformation Kinetics and Mechanism of Steroid Estrogenic Hormones in Dairy Lagoon Water. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 10, p. 5471-5478, 2012.

ZIYLAN, A.; INCE, N. H. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: treatability by conventional and non-conventional processes. **Journal of Hazardous Materials,** v. 187, n. 1-3, p. 24-36, 2011.



CAPÍTULO 2

CAFEÍNA COMO MARCADOR ANTRÓPICO DE POLUIÇÃO -REVISÃO



RESUMO

A ocorrência de poluentes emergentes é uma preocupação crescente no cenário ambiental, tendo em vista os riscos em potenciais sobre os ecossistemas. A grande variedade de substâncias enquadradas nesta categoria de microcontaminantes dificulta as ações de monitoramento individuais, com isso o emprego de marcadores de poluição antrópica vem sendo introduzido como indicadores diretos para algumas classes de poluentes como os fármacos. A utilização de uma substância como marcador químico é dependente de suas propriedades físico-químicas e a semelhança quanto às rotas de introdução e transporte nos compartimentos. Esteróis, hidrocarbonetos poliaromáticos e a cafeína figuram entre os principais marcadores em estudo na atualidade. O monitoramento de micropoluentes relacionados a fármacos residuais tem incluído cafeína como indicador, pois além de fontes comuns, esta substância apresenta baixa degradabilidade e tempo de meiavida adequado. A literatura atual tem reportado determinações de cafeína de maneira prioritária para águas superficiais, no entanto, também são verificados estudos em lodos de esgoto e sedimentos. O repertório analítico empregado é baseado em técnicas de extração em fase sólida ou líquido-líquido combinado às cromatografias líquida ou gasosa com diferentes métodos de detecção. Em linhas gerais, o emprego da cafeína como marcador antrópico de poluição tem se mostrado efetivo, porém ainda existe a necessidade de estudos mais aprofundados em ambientes tropicais para detalhamento de seu transporte e partição nos compartimentos ambientais e sobre a relação entre sua concentração e sua degradação no meio ambiente.

Palavras Chave: Poluentes emergentes; Marcadores antrópicos de poluição; Fármacos; Monitoramento.

ABSTRACT

The occurrence of emerging pollutants is a growing concern in the environmental scenario, given the potential risks on ecosystems. The wide variety of substances classified in this category microcontaminants difficult individual monitoring actions, thus the use of anthropogenic pollution markers has been introduced as direct indicators for some pollutants classes as drugs. The use of a substance as a chemical marker is dependent on its physicochemical properties and the like as the routes of introduction and transport magazines. Sterols, polyaromatic hydrocarbons and caffeine are among the main markers studied today. Monitoring of micropollutants related to residual drugs has included caffeine as an indicator, as well as common sources, this substance has a low degradability and time suitable half-life. The current literature has reported caffeine determinations on a priority basis for surface water, however, they are also checked studies in sewage sludge and sediments. The repertoire is employed analytical techniques based on solid phase extraction or liquid-liquid or gas combined with liquid chromatography with various detection methods. In general, the caffeine job as pollution anthropic marker has been effective, but there is still a need for further studies in tropical environments for details of transport and partition in environmental compartments and on the relationship between concentration and degradation in environment.

Keywords: Emerging Pollutants; anthropic markers of pollution; drugs; Monitoring.

2.1 INTRODUÇÃO

Durante muito tempo os estudos voltados ao impacto do desenvolvimento da sociedade sobre os ecossistemas têm considerado como marcador de poluição nesses ambientes os parâmetros convencionais como a matéria orgânica, nutrientes e microrganismos. Assim, com a implementação de políticas ambientais, instituindo a obrigatoriedade no tratamento de resíduos bem como o estabelecimento de teores máximos destas substâncias juntamente a outras características físico-químicas, acreditou-se que estas variáveis, quando monitoradas, eram capazes de traduzir a condição antropizada do meio ambiente, em especial do meio aquático (SAITO *et al.*, 1984; VIDAL, DOMINI e CANALS, 2013).

Contudo, a crescente demanda por novos produtos e a expansão de áreas como a química e a farmacologia, resultaram nos últimos séculos em uma ampliação significativa no rol de compostos exógenos (não naturais) produzidos e consumidos em larga escala no mundo (RUNNQVIST *et al.*, 2010). Estas substâncias passaram a fazer parte do meio onde são dispersas, seja pela atividade de descarte dos resíduos industriais, pela sobra eliminada nas excretas após administração nas terapias medicinais, ou ainda pelo uso desenfreado nos mais variados segmentos. Este comportamento é possível devido à complexidade estrutural desses compostos, o que propicia uma ocorrência recalcitrante nos ecossistemas (TAKAHASHI, KARRI e TANABE, 2014).

Tendo em vista este novo panorama, os parâmetros legalmente instituídos passam a não ter relevância exclusiva nas ações de monitoramento e controle ambiental. Estes novos poluentes apresentam potencial mais efetivo nesta tarefa, sendo úteis na aferição da extensão da poluição ou por servirem de indicador ambiental para a ocorrência desta (GAVRILESCU *et al.*, 2015).

Nesta vertente, algumas substâncias de uso exclusivamente humano vem sendo apontadas como marcadores antropogênicos de poluição. São compostos que não pertencem ao ambiente natural e sua inserção só é possível mediante a ocorrência de alguma rota de poluição proveniente de atividades humanas (BUERGE *et al.*, 2003).

Um marcador antrópico de poluição não necessita apresentar efeito ecotoxicológico, basta estar presente no compartimento em estudo, pois sua ocorrência está associada a diversos outros compostos atualmente descritos na literatura como poluentes emergentes. Estes por sua vez, apresentam risco incerto e pouco esclarecido sobre a biota.

Neste sentido, neste capítulo são apresentados os principais marcadores antrópicos de poluição que são relatados na literatura atual, suas formas de utilização e potencialidades nas ações de monitoramento ambiental para poluentes emergentes, com ênfase na cafeína.

2.2 MARCADORES ANTRÓPICOS DE POLUIÇÃO

Marcadores podem ser definidos como substâncias cujas estruturas estão ligadas a origens predefinidas. Devido a sua natureza podem gerar informações específicas difíceis de serem obtidas por outras aproximações. Compostos orgânicos relacionados estruturalmente a fontes biológicas específicas, utilizados como marcadores, podem ser denominados biomarcadores (EGANHOUSE, 1997).

Os marcadores podem ser divididos em duas categorias de acordo com o método de avaliação (CARREIRA *et al.*, 2001). Substâncias intencionalmente dispersadas através de rotas de entrada de poluentes como o esgoto doméstico, por exemplo, são denominados marcadores ativos. Neste grupo estão compostos radioativos e corantes. Os marcadores passivos são substâncias de ocorrência natural na fonte de poluição, tais como as bactérias do grupo coliforme, a amônia e a matéria orgânica biodegradável (STEBBING, 1992; CARREIRA *et al.*, 2001).

Os marcadores moleculares antropogênicos são compostos orgânicos introduzidos no ambiente através de atividades humanas relativamente recentes, portanto estão mais relacionados à contaminação ambiental (GLASSMEYER *et al.*, 2005; NAKADA *et al.*, 2008). Estes marcadores são divididos em dois grupos onde o primeiro é formado pelas substâncias sintéticas não naturais produzidas pelos seres humanos em suas atividades (herbicidas, hidrocarbonetos poliaromáticos, etc.), e o outro, por compostos cuja rota de dispersão passa pelo organismo humano,

associados com os sistemas de águas e esgoto (esteróis fecais, fármacos, etc.) (GLASSMEYER *et al.*, 2005).

A seleção de um marcador molecular com a finalidade de obter informações sobre fonte, transporte ou concentração de outros contaminantes, deve considerar a similaridade e/ou a diferença entre as propriedades físico-químicas dos mesmos. A propriedade mais importante que controla a concentração de poluente num ambiente aquático é a solubilidade, daí a relevância de se conhecer o coeficiente de partição (índice de hidrofobicidade), pois este orienta a matriz na qual o poluente se encontrará aportado (coluna de água ou sedimento) (EGANHOUSE, 1997).

Especificamente no ramo da poluição ambiental são considerados marcadores moleculares antropogênicos determinados compostos introduzidos no meio ambiente pela ação humana e que possuem algumas características: alta especificidade em relação à fonte, boa resistência à destruição pela atividade bacteriana e ampla distribuição na água e/ou no sedimento (EGANHOUSE, 1997; CARREIRA *et al.*, 2001).

Além disso, o consumo regular e constante é mais um pré-requisito para um bom marcador, o que implica que os hábitos de consumo não mudam ou o composto não é extinto dentro dos próximos anos, etc. Finalmente, as quantidades presentes nas águas residuárias e nos ecossistemas deve ser suficiente para permitir a quantificação analítica após a diluição / dispersão no ambiente (BUERGE *et al.*, 2003; SAUVÉ *et al.*, 2012).

Os primeiros grupos investigados como traçadores de poluição decorrente de atividades humanas foram os esteróis e os hidrocarbonetos. Entretanto, pesquisas recentes vêm destacando a aminopropanona e a cafeína como marcadores muito promissores e efetivos (SINGH e GARDINALI, 2006; ROCKNE *et al.*, 2014; LYONS *et al.*, 2015).

2.2.1 Esteróis

Os esteróis são um grupo pioneiro e prioritário de substâncias cujo uso como marcador para poluição antrópica está relacionado com o lançamento de esgotos,

devido a sua complexidade química e relação com esta matriz (ISOBE *et al.*, 2002; CAMPOS *et al.*, 2012).

O estudo dos esteróis de natureza fecal têm se consolidado como uma forma alternativa de avaliação da poluição ambiental atrelada ao esgotamento sanitário. Esteróis e seus derivados, apesar de apresentarem uma grande variedade estrutural, possuem um esqueleto comum formado por 17 a 30 átomos de carbono e com 4 anéis condensados. A classificação é baseada nos grupos funcionais ligados a esta estrutura (RESENDE *et al.*, 2014). Os principais esteróis e suas fontes de contribuição são apresentados na Tabela 2.1.

Este grupo de esteróis permite examinar o histórico de contribuições por esgoto em um corpo hídrico, bem como a sua distribuição e transporte no ambiente. Por isso são considerados uma forma de *fingerprint* para esta rota de inserção de micropoluentes devido à distribuição dos mesmos em fezes humanas e devido a sua persistência nos compartimentos.

Por serem pouco solúveis em água, os esteróis fecais tendem a se associar ao material particulado e a se acumular nos sólidos presentes nos esgotos e posteriormente nos grânulos de sedimentos através da adsorção, onde a degradação é muito lenta sob condições anóxicas.

Alguns dos esteróis detectados nos sedimentos podem ter sua origem em fontes naturais, como o dinosterol, colesterol, campesterol, β-sitosterol, colestanol, estigmasterol. Além daqueles de ocorrência natural, o coprostanol e o epicoprostanol, são considerados esteróis fecais (PRATT *et al.*, 2008).

Dentre os esteróis encontrados nos compartimentos, o coprostanol e seu epímero, o epicoprostanol, são os principais empregados em estudos voltados a o monitoramento e dispersão da poluição por lançamento de esgotos, pois não são naturais nos sedimentos (MARTINS, VENKATESAN e MONTONE, 2003; REEVES e PATTON, 2005; MARTINS, FILLMANN e MONTONE, 2007; NORDIN e ALI, 2013).



Tabela 2.1 - Principais esteróis e suas possíveis fontes



Fonte: Adaptado de LEEMING et al., (1998)

O coprostanol é o esterol fecal predominante em excretas humanas, com isso, apresenta abundante ocorrência, tornando-se um biomarcador para avaliar e monitorar essa rota de poluição em ambientes aquáticos (STEFENS *et al.*, 2007; BATAGLION *et al.*, 2016). Apesar de ser considerado um marcador conservativo, uma vez que vai sendo acumulado em matrizes como sedimento, seu emprego ainda não é amplamente difundido por não ser diretamente associado ao risco à saúde (LEEMING *et al.*, 1998; ISOBE *et al.*, 2002).

Uma vez que o coprostanol tem sua origem não apenas no organismo humano, sua avaliação ocorre por meio de índices derivados da relação entre sua concentração e a de outros esteróis (CARREIRA *et al.*, 2001). A principal relação usada no estudo da presença de esgoto em ambientes aquáticos envolve o coprostanol e o epicoprostanol, pois os valores distinguem as fontes de esteróis (MARTINS, VENKATESAN e MONTONE, 2003).

Além disso, a relação entre a quantidade de coprostanol e os esteróis totais serve para a diferenciação de fontes naturais, quando apresenta valores elevados, e fontes antrópicas, quando observados baixos valores (VENKATESAN e KAPLAN, 1990).

Apesar do emprego dos esteróis como biomarcadores ser uma prática implementada há várias décadas, seu uso continua fortemente associado apenas à poluição por esgoto doméstico, no que diz respeito à substituição ou complementação de parâmetros convencionais como a matéria orgânica e a microrganismos.

Pela sua relevância no monitoramento desta fonte de contaminação dos ecossistemas aquáticos, novas abordagens podem ser exploradas, uma vez que esta também é a rota para inserção de inúmeros contaminantes emergentes. Dessa forma a mensuração dos esteróis fecais também pode indicar de modo relativo a dispersão de micropoluentes como os fármacos (MURPHY *et al.*, 2016).

2.2.2 Hidrocarbonetos Poliaromáticos (HPAs)

Os Hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) estão inclusos em uma categoria de compostos denominados poluentes orgânicos persistentes (POPs). Por apresentarem tendências mutagênicas e carcinogênicas têm impacto no meio ambiente e por isso são utilizados no monitoramento em compartimentos e organismos (MCCREADY *et al.*, 2000; MURPHY *et al.*, 2016).

A estrutura básica dos HPAs possui entre 2 e 6 anéis aromáticos condensados. A toxicidade aumenta com o número de anéis (PEREIRA NETTO *et al.*, 2002). Por conta disto, órgãos ambientais têm sugerido o monitoramento de dezesseis HPAs prioritários (Figura 2.1) (WANG, LIU e YANG, 2014).

A origem de grande parte dos HPAs está diretamente relacionada com atividades antropogênicas e também serve como critério de classificação. A fonte pirogênica compreende os HPAs produzidos em processos de combustão incompleta da matéria orgânica, especialmente combustíveis fósseis e seus derivados. Os petrogênicos associados a fontes petrolíferas como derramamentos, jazidas e atividades de extração; os diagênicos, produzidos por meio de transformações ocorridas no compartimento onde estão retidos, devido a precursores biogênicos (PATHIRATNE *et al.*, 2007; KALWA *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2016). As fontes naturais são infinitamente insignificantes frente às fontes antrópicas (SOCLO, GARRIGUES e EWALD, 2000).



Figura 2.1 - Estrutura dos 16 HPAs prioritários

Fonte: Adaptado de ABDEL-SHAFY e MANSOUR (2016).

Os HPAs podem estar nas formas gasosa, particulada e dissolvida, sendo encontrados na água, solo, sedimento, material particulado atmosférico, organismos aquáticos e alimentos (PATHIRATNE *et al.*, 2007; DONG *et al.*, 2016). Devido a sua capacidade de dispersão e distribuição através dos variados compartimentos, são caracterizados como ambientalmente estáveis, resistentes à degradação, acumuláveis na biota, hidrofóbicos e tóxicos. Sendo estas algumas qualidades desejáveis em um traçador de poluição (BASHEER, OBBARD e LEE, 2003; WANG *et al.*, 2016).

As principais formas de introdução dos HPAs no ambiente aquático ocorrem através de efluentes domésticos e industriais, descarregados via águas de escoamento superficial (*runoff*), aporte atmosférico (precipitação de gases originados da queima de combustíveis), derrames de petróleo ou derivados e síntese por organismos (WANG, LIU e YANG, 2014; ABDEL-SHAFY e MANSOUR, 2016).

A diferenciação dos HPAs quanto às fontes pirogênicas e petrogênicas envolve a quantificação relativa da massa molecular destes compostos. Aqueles procedentes de fontes petrogênicas são identificados pela presença de massas moleculares predominantemente menores. Já, os de fontes pirogênicas apresentam alta proporção de compostos alquilados e, portanto de maior massa (SOCLO, GARRIGUES e EWALD, 2000; KALWA *et al.*, 2014).

As principais relações usadas nos estudos envolvendo HPAs são fenantreno/antraceno e fluoranteno/pireno utilizadas para distinguir as fontes de contaminação da matéria orgânica de origem pirogênica. A razão do metilfenantreno/fenantreno também pode ser utilizada para avaliar a origem da contaminação nos sedimentos (TAM *et al.*, 2001; ABDEL-SHAFY e MANSOUR, 2016).

O estudo dos HPAs tem grande importância na consolidação dos marcadores antropogênicos nas ações de monitoramento, apesar de originados em processos distintos à maioria dos micropoluentes emergentes, como os produtos farmacêuticos. Contudo, algumas rotas de transporte são comuns, permitindo a prospecção da extensão da poluição também por esta categoria de contaminantes.

2.3 A CAFEÍNA COMO MARCADOR DE POLUIÇÃO ANTROPOGÊNICA

A 1,3,7-trimetilxantina é conhecida como cafeína, trata-se de um alcaloide cuja estrutura é formada por um esqueleto de purina heterocíclica (Figura 2.2).

O conjunto de propriedades físico-químicas apresentadas pela cafeína permite considerar que ela possui significativa afinidade pelo meio aquoso (log Kow e solubilidade), sendo, portanto facilmente transportada em ecossistemas aquáticos e em águas residuárias (BUERGE *et al.*, 2006). Além disso, em termos de distribuição nos compartimentos, a cafeína pode preferir a fase aquosa à fase sedimentar (BRADLEY *et al.*, 2007).

A ocorrência natural de cafeína está associada apenas a espécies vegetais superiores, estando presente em mais de sessenta plantas (BARONE e ROBERTS, 1996; CAMARGO, 1999). Porém, a principal fonte de obtenção ocorre por meio da síntese industrial tendo em vista o uso atrelado à composição de fármacos (BUERGE *et al.*, 2003).



Figura 2.2 - Estrutura e propriedades físico-químicas da cafeína. Fonte: Adaptado de Adaptado de GARDINALI e ZHAO (2002) e PEELER, OPSAHL e CHANTON (2006).

Por ser amplamente utilizada na medicina e prioritariamente nas dietas e hábitos alimentares da população a sua abundância no ambiente é significativa, reforçando suas potencialidades como marcador de poluição (PEELER, OPSAHL e CHANTON, 2006). Apesar de algumas pesquisas indicarem sua remoção durante as operações de tratamento empregadas nas estações, outros estudos apontam que na realidade ocorre prioritariamente a transferência para a fase sólida (SUI *et al.*, 2010; WILLIAMS e MCLAIN, 2012). Com isso, novas rotas de inserção nos ecossistemas são possíveis pela disposição dos sólidos gerados e destinados a adubação.

2.3.1 Persistência da cafeína nos compartimentos

Para a utilização de uma determinada substância como marcador de poluição, além da abundância e ocorrência, faz-se necessária a investigação de seu comportamento no meio ambiente, tendo em vista avaliar sua persistência em meio aos principais processos, físicos, químicos e biológicos que ocorrem nos

compartimentos. Na literatura atual, poucos estudos focados nesta avaliação são reportados para a cafeína.

A estimativa do tempo de meia vida para este composto no meio ambiente pode variar de 3 a 30 dias dependendo do clima e dos processos como insolação, oxigenação, pH, etc. (BENOTTI e BROWNAWELL, 2009; KURISSERY *et al.*, 2012; EDWARDS, KULIKOV e GARNER-O'NEALE, 2015).

A avaliação da biodegradabilidade da cafeína em sistemas convencionais de tratamento de esgotos realizada em Irvine (EUA), empregando bactérias do gênero *Pseudomonas* obteve taxa de degradação 2,9 µg mL⁻¹ d⁻¹ (OGUNSEITAN, 1996). Os resultados sugerem baixa susceptibilidade à ação microbiológica e indicam a passagem da cafeína pelo sistema sem efetivo tratamento (HEBERER, 2002; BUERGE *et al.*, 2003; WEIGEL *et al.*, 2004; SAUVÉ *et al.*, 2012).

Um estudo da persistência da cafeína em lagos na Suíça, frente aos processos de sorção/sedimentação e volatilização revelou que estes mecanismos são de baixa relevância, indicando preferência pela coluna de água (BUERGE *et al.*, 2003; CHEN, LI e ZHU, 2012; ZHANG *et al.*, 2013). No mesmo estudo, a degradação bioquímica e fotoquímica foi avaliada por meio de experimentos com água doce fortificada com cafeína. Foram observadas taxas de degradação de 1,0 a 54,0 µg mL⁻¹ d⁻¹ (BUERGE *et al.*, 2003).

A avaliação da decomposição da cafeína em águas marinhas da Flórida (EUA), sob diferentes temperaturas e insolação, monitoradas por cinquenta e quatro dias revelou remoções de 64,0, 50,5 e 11,0% para amostras à temperatura ambiente sob insolação, amostras sem insolação e protegidas da luz à frio, respectivamente (PEELER, OPSAHL e CHANTON, 2006).

A biodegradação da cafeína em sedimento e água procedente de rios americanos (Foumile Creek, Boulder Creek e Platte River) verificada em condições aeróbias e anóxicas revelou que as taxas de biotransformação são mais sensíveis às condições redox. Desta forma, a concentração de oxigênio no meio tem relevância direta à persistência da cafeína no ambiente (BRADLEY *et al.*, 2007).

Em linhas gerais, a degradação da cafeína em ambientes naturais depende de diversos fatores, como a atividade microbiológica, a temperatura, o grau de trofia, vazão e a profundidade do corpo hídrico (BUERGE *et al.*, 2003; MUSOLFF *et al.*, 2009; EDWARDS, KULIKOV e GARNER-O'NEALE, 2015). Com isso, a avaliação precisa do seu comportamento não é tarefa simples. Contudo, a meiavida encontrada para a cafeína nos compartimentos comumente estudados permite sua aplicação como indicador de poluição recente (em torno de 30 dias). Pode-se considerar que seu comportamento apresenta estabilidade, o que permite sua mensuração no ambiente após algum tempo.

2.3.2 Ocorrência antropogênica de cafeína no meio ambiente

A literatura atual tem reportado diversos trabalhos empregando a cafeína como marcador de poluição antrópica nos ecossistemas (OGUNSEITAN, 1996; SEILER *et al.*, 1999; GARDINALI e ZHAO, 2002; BUERGE *et al.*, 2003; 2006; PEELER, OPSAHL e CHANTON, 2006; FROEHNER *et al.*, 2009; KURISSERY *et al.*, 2012; EDWARDS, KULIKOV e GARNER-O'NEALE, 2015; LINDEN *et al.*, 2015; DONG *et al.*, 2016).

Os primeiros estudos envolvendo a determinação desse composto em compartimentos ambientais remontam à década de 70 para estudos qualitativos (SIEVERS *et al.*, 1977; SHELDON e HITES, 1978). As primeiras quantificações ocorreram no final da década de 80 para esgotos e, posteriormente, para águas superficiais e subterrâneas já na década de 90 (BUSZKA *et al.*, 1994; PAXEUS e FRIEDRICHSCHRODER, 1996; SEILER *et al.*, 1999).

Um dos primeiros usos efetivos da cafeína como biomarcador ocorreu em Reno, Nevada (EUA) onde esta substância foi usada no monitoramento de águas subterrâneas e esgoto de forma comparativa ao parâmetro convencional nitrato. No ponto amostral onde foram determinadas as maiores concentrações de cafeína e nitrato foram obtidos os valores de 0,23 µg L⁻¹ e 30 mg L⁻¹, respectivamente (SEILER *et al.*, 1999).

O monitoramento de cafeína em águas subterrâneas realizado na Macedônia (Grécia) revelou que sua ocorrência e concentração decresce com o aumento da profundidade, com isso, sugere-se que a principal rota de entrada para este compartimento possui relação com os processos de infiltração do esgoto doméstico procedente em grande parte dos tanques sépticos ou fossas sem a configuração adequada de tratamento. O mesmo estudo apontou ainda que em pontos amostrais de áreas desabitadas foi detectada a presença do analito, indicando sua mobilidade (PAPADOPOULOU-MOURKIDOU *et al.*, 2001).

A cafeína foi empregada como marcador em uma pesquisa envolvendo seis antibióticos monitorados em estações de tratamento e águas superficiais em Nova York (EUA). Os teores de cafeína obtidos para as matrizes investigadas variaram de 0,2 a 9,9 μ g L⁻¹ (BATT, BRUCE e AGA, 2006). Um estudo semelhante realizado em Zurich (Suíça) obteve teores 7 a 73 μ g L⁻¹ no esgoto bruto, 0,3 a 0,9 μ g L⁻¹ após o tratamento e 0,25 μ g L⁻¹ em águas de rio (POIGER *et al.*, 2003). Estes resultados confirmam a presença do marcador de poluição tanto no esgoto quanto no ambiente.

A avaliação do potencial como biomarcador de poluição da cafeína foi comparada ao parâmetro microbiológico convencional atualmente aceito e consolidado, baseado em coliformes fecais, durante a estação chuvosa no Deal Lake, New Jersey (EUA). Foram observadas correlações diretas e positivas correspondentes a 1,0; 0,97 e 0,97 entre o marcador químico e os grupos coliformes fecais, estreptococos fecais e enterococos. Isto indica que suas ocorrências são de fontes comuns e que a cafeína é adequada para estudos de monitoramento (SANKARARAMAKRISHNAN e GUO, 2005).

Um estudo realizado em Lake Simcoe (Canadá) fez uso da cafeína como biomarcador em amostras de água e sedimento monitoradas em campanhas mensais no ano de 2010. Foram reportadas concentrações na faixa de 0,005 a 0,07 µg L⁻¹ em água e 0,007 µg g⁻¹ em sedimento, sendo este semelhante em todas as amostras, sugerindo persistência e baixa suscetibilidade a biodegradação nesta matriz (KURISSERY *et al.*, 2012).

A cafeína, juntamente com outros micropoluentes, foi monitorada na bacia hidrográfica do Zumbro River, Minessota (EUA) em amostras de água e sedimento, para a prospecção ambiental na região, considerando o uso do solo, a atividade agropecuária, esgotamento sanitário e população. Para a cafeína a frequência de detecção foi de 100% nas amostras de sedimento e 98% nas amostras de água. Nas determinações, as concentrações médias foram de 0,0004 µg g⁻¹ e 0,04 µg L⁻¹ em sedimento e água, respectivamente (FAIRBAIRN *et al.*, 2015).

Em KwaZulu-Natal (África do Sul) foi realizada uma pesquisa empregando lodo de estações de tratamento e sedimentos de rios em um estudo de monitoramento de diversos fármacos onde estava inclusa a cafeína. Para os biossólidos gerados no tratamento foram reportadas concentrações de cafeína na faixa de 0,0007 a 0,014 μ g g⁻¹ e nos sedimentos 0,0002 a 0,0013 μ g g⁻¹ (MATONGO, SOLOMON *et al.*, 2015).

A ocorrência de cafeína, apesar de ser uma droga biologicamente ativa, tem sido amplamente documentada em águas costeiras. Os níveis de concentração reportados demandam de melhores estudos a fim de avaliar os efeitos sobre a biota (GONZALEZ-REY e BEBIANNO, 2012). Neste sentido, um estudo empregando moluscos da espécie *Mytilus galloprovincialis*, procedentes do Mar Adriático (Itália) avaliou os efeitos sub-letais induzidos por uma exposição de 7 dias a concentrações ambientalmente relevantes de cafeína (5, 50 e 500 ng L⁻¹). Foi obtido um baixo perfil de toxicidade indicando que a aplicação da cafeína como biomarcador integrado pode fornecer uma visão abrangente do grau de stress induzido por contaminantes emergentes em invertebrados marinhos (CAPOLUPO *et al.*, 2016).

No Brasil, as pesquisas com cafeína também vêm sendo realizadas com emprego deste marcador químico no monitoramento de qualidades de águas superficiais (FERREIRA, 2005; FROEHNER *et al.*, 2009; LINDEN *et al.*, 2015) (MONTAGNER e JARDIM, 2011).

A avaliação da poluição urbana na bacia hidrográfica do Leopoldina (RJ) através da cafeína como traçador para água superficial em cinco pontos amostrais, incluindo a Baia de Guanabara, obteve concentrações de 134 a 367 µg L⁻¹ (FERREIRA, 2005). Segundo o autor, os elevados valores são fortes indícios da ineficiência do tratamento de esgotos, além de fontes diretas de águas residuárias e do alto padrão de consumo da substância na dieta alimentar.

Na bacia hidrográfica do Rio dos Sinos (RS) foram determinados ao longo de cinco estações amostrais e seis campanhas no ano de 2012 valores na faixa de 0,00015 a 0,02 µg L⁻¹ para cafeína (LINDEN *et al.*, 2015). Estas medidas são coerentes com estudos semelhantes realizados em outros países, sugerindo maior remoção da cafeína pelos sistemas de tratamento existentes na região. Contudo, a detecção reforça a potencialidade da cafeína enquanto marcadora de poluição antropogênica.

A cafeína e os esteróis fecais foram avaliados como biomarcadores em água superficial e em sedimentos, respectivamente, em um estudo realizado na bacia do Rio Barigui, Curitiba (PR) compreendendo sete pontos de coleta e três campanhas. A concentração de cafeína variou de níveis menores que o limite de detecção para amostras procedentes de regiões menos antropizadas a 539 µg L⁻¹ em locais com efetiva poluição por esgotos, conforme sugerido por outros parâmetros físico-químicos avaliados na pesquisa (FROEHNER *et al.*, 2009).

Outro estudo semelhante foi realizado na mesma região, no Alto Rio Iguaçu, com o objetivo de serem monitorados cafeína, bisfenol-a e xileno de almíscar em água, procedentes de esgotos domésticos e industriais. Nesta pesquisa foram reportadas concentrações de 1,7 a 123,4 µg L⁻¹ para a cafeína (FROEHNER *et al.*, 2010).

A cafeína foi avaliada como indicador de contaminantes emergentes e de atividade estrogênica em águas naturais amostradas em diferentes rios no estado de São Paulo. A análise multivariada dos dados permitiu concluir que existe uma correlação significativa entre a concentração de cafeína e a atividade estrogênica (MONTAGNER *et al.*, 2014).

O estudo da eutrofização e a determinação de micropoluentes no Lago Paranoá em Brasília (DF) apresentou a cafeína como principal contaminante emergente nas águas superficiais, onde as concentrações variaram entre 67,9 e 211,9 ng L⁻¹ (COSTA *et al.*, 2016). A fonte de inserção dessa substância na água foi associada à elevada concentração determinada nas duas estações de tratamento que tributam seus esgotos no lago.

Em sedimentos marinhos foi determinada a concentração média de 0,003 μ g g⁻¹ de cafeína em amostras procedentes da Baia de Todos os Santos (BA), onde também foram quantificadas a eritromicina e o atenolol (BERETTA, PERELO e DE OLIVEIRA, 2010).

Estes resultados confirmam a relevância do estudo da cafeína como marcador antrópico de poluição. Seu uso tem maior aplicação em estudos na fase aquosa, porém a cafeína também vêm sendo empregada em amostras de sedimentos devido a sua relação direta com a ocorrência de micropoluentes com afinidade por este compartimento, como reportado para fármacos e outros compostos.

2.3.3 Metodologias analíticas empregadas nos estudos da cafeína como marcador de poluição.

A Tabela 2.2 apresenta um breve levantamento da aplicação de técnicas cromatográficas na detecção e quantificação de cafeína em matrizes ambientais.

Matriz	Técnica	Extração	LD	Referência
Água marinha	LC-APCI-MS	LLE	4*	GARDINALI e ZHAO (2002)
Esgoto	GC-MS	SPE	3*	STAMATIS e KONSTANTINOU(2 013)
Água subterrânea	HPLC GC	- LLE	5000* 40*	SEILER <i>et al.</i> (1999)
Água doce	LC-DAD GC-MS	SPE	50* 10*	PAPADOPOULOU- MOURKIDOU <i>et al.</i> (2001)
Água doce Esgoto	LC-MS-IT-TOF	SPE	-	COSTA <i>et al.</i> , (2016)
Água doce	GC-MS	LLE	-	SANKARARAMAK RISHNAN e GUO (2005)
Água doce Sedimento	GC-IT-MS/MS	LLE	1-2* 0,2**	KURISSERY <i>et al.</i> (2012)
Sedimento Água doce	LC-MS/MS	SPE	0,12** 0,58*	FAIRBAIRN <i>et al.</i> (2015)
Água doce Sedimento Esgoto	LC-MS	SPE	312* 624** 104*	MATONGO <i>et al.</i> , (2015)
Água Tecido muscular	LC-MS/MS	SPE	4,8* 1,3**	CAPOLUPO <i>et al.</i> (2016)
Água doce	LC-DAD	SPME	50*	FROEHNER <i>et al.</i> (2009)
Lodo de esgoto Sedimento	LC-DAD-FL	LLE	1,5** 66,1**	MARTÍN <i>et al.</i> (2010)

Tabela 2.2 - Análise cromatográfica de Cafeína em matrizes ambientais

* (ng L⁻¹), ** (ng g⁻¹)

A aplicação da cafeína como marcador de poluição em matrizes ambientais tem sido realizada simultaneamente com outros micropoluentes, como os fármacos, cujas ocorrências são da ordem de ng L⁻¹ até µg L⁻¹ (ZIYLAN e INCE, 2011). As principais abordagens analíticas são baseadas em técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou de cromatografia gasosa (CG), acoplados a detectores

de arranjo de diodos (DAD) ou por espectrometria de massa (MS) (CHEN *et al.*, 2002; SHRAIM *et al.*, 2012; DE SOUSA *et al.*, 2015).

As técnicas de pré-concentração e separação por meio de fase sólida (SPE) também são procedimentos comumente aplicados, pois contribuem para a detecção em níveis de traços dos analitos nas amostras (DE SOUSA *et al.*, 2015; EDWARDS, KULIKOV e GARNER-O'NEALE, 2015). Entretanto, métodos tradicionais como a extração líquido-líquido (LLE) são também aplicados na extração de cafeína em água (GARDINALI e ZHAO, 2002).

2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O emprego de biomarcadores de poluição antropogênica como os esteróis, HPAs e cafeína vêm ganhando espaço na área de monitoramento ambiental por permitirem uma prospecção mais fidedigna nas rotas de entrada de contaminantes emergentes e da magnitude da interferência nos compartimentos ambientais.

Com base nas informações reportadas na literatura atual foi possível conhecer o emprego da cafeína como marcador de poluição por esgotos domésticos e com significativa possibilidade de correlação com os micropoluentes que apresentam risco em potencial sobre os ecossistemas, como os fármacos. A maioria das pesquisas observou o aumento nas concentrações de cafeína nas áreas estudadas nas proximidades de regiões urbanizadas ou de estações de tratamento de esgotos.

Com isso, a cafeína, quando empregada como marcador de poluição, é uma nova ferramenta de monitoramento, principalmente em situações onde a aplicação dos demais parâmetros de avaliação convencionais não puder ser elucidativa. Outro aspecto importante tem relação com a meia-vida da cafeína em ambientes naturais, pois permite sua mensuração, após algum tempo à contaminação inicial. Este importante comportamento deve-se a sua estabilidade frente aos processos, físicos, químicos e bioquímicos que ocorrem nos compartimentos.

O emprego da extração em fase sólida ou extração líquido-líquido combinadas tanto à cromatografia liquida quanto a gasosa por diferentes

sistemas de detecção mostrou-se eficiente na determinação de cafeína em águas superficiais impactadas por esgoto. Para a matriz sedimento, apesar de a cafeína possuir maior afinidade pela coluna de água, também são reportadas avaliações em conjunto a outros fármacos.

Cabe ressaltar ainda a necessidade de estudos mais aprofundados sobre a degradação da cafeína em ambientes tropicais, suas possíveis fontes naturais, seu transporte e partição nos compartimentos ambientais e sobre a relação entre sua concentração e sua degradação do ambiente.

REFERÊNCIAS

ABDEL-SHAFY, H. I.; MANSOUR, M. S. M. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 25, n. 1, p. 107-123, 2016.

BARONE, J. J.; ROBERTS, H. R. Caffeine consumption. Food and Chemical Toxicology, v. 34, n. 1, p. 119-129, 1996.

BASHEER, C.; OBBARD, J. P.; LEE, H. K. Persistent Organic Pollutants in Singapore's Coastal Marine Environment: Part II, Sediments. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 149, n. 1/4, p. 315-325, 2003.

BATAGLION, G. A.; KOOLEN, H. H. F.; WEBER, R. R.; EBERLIN, M. N. Quantification of Sterol and Triterpenol Biomarkers in Sediments of the Cananéia-Iguape Estuarine-Lagoonal System (Brazil) by UHPLC-MS/MS. International Journal of Analytical Chemistry, v. 2016, p. 1-8, 2016.

BATT, A. L.; BRUCE, I. B.; AGA, D. S. Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges. **Environmental Pollution**, v. 142, n. 2, p. 295-302, 2006.

BENOTTI, M. J.; BROWNAWELL, B. J. Microbial degradation of pharmaceuticals in estuarine and coastal seawater. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 3, p. 994-1002, 2009.

BERETTA, M.; PERELO, L. W.; DE OLIVEIRA, I. B. Quantification and toxicity testing of pharmaceuticals in tropical marine sediments, All Saints Bay, Bahia, Brazil. **Microorganisms in Industry and Environment**, p. 187-191, 2010.

BRADLEY, P. M.; BARBER, L. B.; KOLPIN, D. W.; MCMAHON, P. B.; CHAPELLE, F. H. Biotransformation of Caffeine, Cotinine, and Nicotine in Stream Sediments: Implications for Use as Wastewater Indicators. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 1116, 2007.

BUERGE, I. J.; POIGER, T.; MÜLLER, M. D.; BUSER, H.-R. Caffeine, an Anthropogenic Marker for Wastewater Contamination of Surface Waters. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 4, p. 691-700, 2003.

BUERGE, I. J.; POIGER, T.; MÜLLER, M. D.; BUSER, H.-R. Combined Sewer Overflows to Surface Waters Detected by the Anthropogenic Marker Caffeine. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 13, p. 4096-4102, 2006.

BUSZKA, P. M.; BARBER II, L.; SCHROEDER, M.; BECKER, L. D. Organic compounds downstream from a treated-waste water discharge near Dallas, Texas, March 1987. **USGS Water Resources Investigations Report**, p. 93-4194, 1994.

CAMARGO, M. C. R. Caffeine daily intake from dietary sources in Brazil. **Food Additives and Contaminants**, v. 16, n. 2, p. 79-87, 1999.

CAMPOS, V.; FRACÁCIO, R.; FRACETO, L. F.; ROSA, A. H. Fecal Sterols in Estuarine Sediments as Markers of Sewage Contamination in the Cubatão Area, São Paulo, Brazil. **Aquatic Geochemistry**, v. 18, n. 5, p. 433-443, 2012.

CAPOLUPO, M.; VALBONESI, P.; KIWAN, A.; BURATTI, S.; FRANZELLITTI, S.; FABBRI, E. Use of an integrated biomarker-based strategy to evaluate physiological stress responses induced by environmental concentrations of caffeine in the Mediterranean mussel Mytilus galloprovincialis. **Science of The Total Environment**, v. 563-564, p. 538-548, 2016.

CARREIRA, R.; WAGENER, A. D. L. R.; FILEMAN, T.; READMAN, J. W. Distribuição de coprostanol (5beta(H)-colestan-3beta-ol) em sedimentos superficiais da Baía de Guanabara: indicador da poluição recente por esgotos domésticos. **Quimica Nova**, v. 24, n. 1, 2001.

CHEN, H.; LI, X.; ZHU, S. Occurrence and distribution of selected pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments: a comparative study of regions in China with different urbanization levels. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 6, p. 2381-2389, 2012.

CHEN, Z.; PAVELIC, P.; DILLON, P.; NAIDU, R. Determination of caffeine as a tracer of sewage effluent in natural waters by on-line solid-phase extraction and liquid chromatography with diode-array detection. **Water Research**, v. 36, n. 19, p. 4830-4838, 2002.

COSTA, N. Y. M. D.; BOAVENTURA, G. R.; MULHOLLAND, D. S.; ARAÚJO, D. F.; MOREIRA, R. C. A.; FAIAL, K. C. F.; BOMFIM, E. D. O. Biogeochemical mechanisms controlling trophic state and micropollutant concentrations in a tropical artificial lake. **Environmental Earth Sciences**, v. 75, n. 10, 2016.

DE SOUSA, D. N. R.; GROSSELI, G. M.; MOZETO, A. A.; CARNEIRO, R. L.; FADINI, P. S. Ultrasound-assisted extraction method for the simultaneous determination of emerging contaminants in freshwater sediments. **Journal of Separation Science**, v. 38, n. 19, p. 3454-3460, 2015.

DONG, J.; XIA, X.; WANG, M.; XIE, H.; WEN, J.; BAO, Y. Effect of recurrent sediment resuspension-deposition events on bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic environments. **Journal of Hydrology**, v. 540, p. 934-946, 2016.

EDWARDS, Q. A.; KULIKOV, S. M.; GARNER-O'NEALE, L. D. Caffeine in surface and wastewaters in Barbados, West Indies. **SpringerPlus**, v. 4, n. 1, 2015.

EGANHOUSE, R. P. **Molecular markers in environmental geochemistry**. Washington: American Chemical Society, 1997.

FAIRBAIRN, D. J.; KARPUZCU, M. E.; ARNOLD, W. A.; BARBER, B. L.; KAUFENBERG, E. F.; KOSKINEN, W. C.; NOVAK, P. J.; RICE, P. J.; SWACKHAMER, D. L. Sediment–water distribution of contaminants of emerging concern in a mixed use watershed. **Science of the Total Environment**, v. 505, p. 896-904, 2015.

FERREIRA, A. P. Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 6, p. 1884-1892, 2005.

FROEHNER, S.; MACHADO, K. S.; FALCÃO, F.; MONNICH, C.; BESSA, M. Inputs of Domestic and Industrial Sewage in Upper Iguassu, Brazil Identified by Emerging Compounds. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 215, n. 1-4, p. 251-259, 2010.

FROEHNER, S.; SOUZA, D. B.; MACHADO, K. S.; DA ROSA, E. C. Tracking Anthropogenic Inputs in Barigui River, Brazil Using Biomarkers. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 210, n. 1-4, p. 33-41, 2009.

GARDINALI, P. R.; ZHAO, X. Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization–mass spectrometry (LC–APCI–MS). **Environment International**, v. 28, n. 6, p. 521-528, 2002.

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

GLASSMEYER, S. T.; FURLONG, E. T.; KOLPIN, D. W.; CAHILL, J. D.; ZAUGG, S. D.; WERNER, S. L.; MEYER, M. T.; KRYAK, D. D. Transport of Chemical and Microbial Compounds from Known Wastewater Discharges: Potential for Use as Indicators of Human Fecal Contamination. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 14, p. 5157-5169, 2005.

GONZALEZ-REY, M.; BEBIANNO, M. J. Does non-steroidal anti-inflammatory (NSAID) ibuprofen induce antioxidant stress and endocrine disruption in mussel Mytilus galloprovincialis? **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 33, n. 2, p. 361-371, 2012.

HEBERER, T. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. **Journal of Hydrology**, v. 266, n. 3-4, p. 175-189, 2002.

ISOBE, K. O.; TARAO, M.; ZAKARIA, M. P.; CHIEM, N. H.; MINH LE, Y.; TAKADA, H. Quantitative application of fecal sterols using gas chromatography-mass spectrometry to investigate fecal pollution in tropical waters: western Malaysia and Mekong Delta, Vietnam. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 21, p. 4497-507, 2002.

KALWA, M.; QUINÁIA, S. P.; PLETSCH, A. L.; TORRES, Y. R.; FINGER, D. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of Binacional Itaipu Lake, Brazil: characteristics, sources and toxicity evaluation. **Environmental Earth Sciences**, v. 72, n. 11, p. 4473-4481, 2014.

KURISSERY, S.; KANAVILLIL, N.; VERENITCH, S.; MAZUMDER, A. Caffeine as an anthropogenic marker of domestic waste: A study from Lake Simcoe watershed. **Ecological Indicators**, v. 23, p. 501-508, 2012.

LEEMING, R.; BATE, N.; HEWLETT, R.; NICHOLS, P. Discriminating faecal pollution: A case study of stormwater entering Port Phillip Bay, Australia. **Water Science and Technology**, v. 38, n. 10, p. 15-22,1998.

LINDEN, R.; ANTUNES, M. V.; HEINZELMANN, L. S.; FLECK, J. D.; STAGGEMEIER, R.; FABRES, R. B.; VECCHIA, A. D.; NASCIMENTO, C. A.; SPILKI, F. R. Caffeine as an indicator of human fecal contamination in the Sinos River: a preliminary study. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 2, p. 81-84, 2015.

LYONS, B. P.; DEVLIN, M. J.; ABDUL HAMID, S. A.; AL-OTIABI, A. F.; AL-ENEZI, M.; MASSOUD, M. S.; AL-ZAIDAN, A. S.; SMITH, A. J.; MORRIS, S.; BERSUDER, P.; BARBER, J. L.; PAPACHLIMITZOU, A.; AL-SARAWI, H. A. Microbial water quality and sedimentary faecal sterols as markers of sewage contamination in Kuwait. **Marine Pollution Bulletin**, v. 100, n. 2, p. 689-698, 2015.

MARTÍN, J.; SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 12, p. 1760-1766, 2010.

MARTINS, C. C.; VENKATESAN, M. I.; MONTONE, R. C. Sterols and linear alkylbenzenes in marine sediments from Admiralty Bay, King George Island, South Shetland Islands. **Antarctic Science**, v. 14, n. 03, 2003.

MARTINS, C. D. C.; FILLMANN, G.; MONTONE, R. C. Natural and anthropogenic sterols inputs in surface sediments of Patos Lagoon, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 106-115, 2007.

MATONGO, S.; BIRUNGI, G.; MOODLEY, B.; NDUNGU, P. Occurrence of selected pharmaceuticals in water and sediment of Umgeni River, KwaZulu-Natal, South Africa. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 13, p. 10298-10308, 2015.

MATONGO, S.; BIRUNGI, G.; MOODLEY, B.; NDUNGU, P. Occurrence of selected pharmaceuticals in water and sediment of Umgeni River, KwaZulu-Natal, South Africa. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 13, p. 10298-308, 2015.

MCCREADY, S.; SLEE, D. J.; BIRCH, G. F.; TAYLOR, S. E. The Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surficial Sediments of Sydney Harbour, Australia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 11, p. 999-1006, 2000.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

MONTAGNER, C. C.; UMBUZEIRO, G. A.; PASQUINI, C.; JARDIM, W. F. Caffeine as an indicator of estrogenic activity in source water. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 16, n. 8, p. 1866, 2014.

MURPHY, B. T.; O'REILLY, S. S.; MONTEYS, X.; REID, B. F.; SZPAK, M. T.; MCCAUL, M. V.; JORDAN, S. F.; ALLEN, C. C. R.; KELLEHER, B. P. The occurrence of PAHs and faecal sterols in Dublin Bay and their influence on

sedimentary microbial communities. Marine Pollution Bulletin, v. 106, n. 1-2, p. 215-224, 2016.

MUSOLFF, A.; LESCHIK, S.; MÖDER, M.; STRAUCH, G.; REINSTORF, F.; SCHIRMER, M. Temporal and spatial patterns of micropollutants in urban receiving waters. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 11, p. 3069-3077, 2009.

NAKADA, N.; KIRI, K.; SHINOHARA, H.; HARADA, A.; KURODA, K.; TAKIZAWA, S.; TAKADA, H. Evaluation of Pharmaceuticals and Personal Care Products as Watersoluble Molecular Markers of Sewage. **Environmental Science & Technolog**y, v. 42, n. 17, p. 6347-6353,2008.

NORDIN, N.; ALI, M. M. Distribution of fecal sterols in surface sediment of Sungai Tebrau, Johor. **AIP Conference Proceedings** 1571, p. 460-465, 2013.

OGUNSEITAN, O. A. Removal of caffeine in sewage by Pseudomonas putida: Implications for water pollution index. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 12, n. 3, p. 251-256, 1996.

PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E.; PATSIAS, J.; PAPADAKIS, E.; KOUKOURIKOU, A. Use of an automated on-line SPE–HPLC method to monitor caffeine and selected aniline and phenol compounds in aquatic systems of Macedonia–Thrace, Greece. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 371, n. 4, p. 491-496, 2001.

PATHIRATNE, K. A. S.; DE SILVA, O. C. P.; HEHEMANN, D.; ATKINSON, I.; WEI, R. Occurrence and Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Bolgoda and Beira Lakes, Sri Lanka. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 79, n. 2, p. 135-140, 2007.

PAXEUS, N.; FRIEDRICHSCHRODER, H. Screening for non-regulated organic compounds in municipal wastewater in göteborg, sweden. **Water Science and Technology**, v. 33, n. 6, p. 9-15, 1996.

PEELER, K. A.; OPSAHL, S. P.; CHANTON, J. P. Tracking Anthropogenic Inputs Using Caffeine, Indicator Bacteria, and Nutrients in Rural Freshwater and Urban Marine Systems. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 24, p. 7616-7622, 2006.

PEREIRA NETTO, A. D.; BARRETO, R. P.; MOREIRA, J. C.; ARBILLA, G. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Total Suspended Particulate of Niterói, RJ, Brazil: A Comparison of Summer and Winter Samples. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 2, p. 173-180, 2002.

POIGER, T.; BUSER, H.-R.; MÜLLER, M. D.; BALMER, M. E.; BUERGE, I. J. Occurrence and Fate of Organic Micropollutants in the Environment: Regional Mass Balances and Source Apportioning in Surface Waters Based on Laboratory Incubation Studies in Soil and Water, Monitoring, and Computer Modeling. **CHIMIA** International Journal for Chemistry, v. 57, n. 9, p. 492-498,2003.

PRATT, C.; WARNKEN, J.; LEEMING, R.; ARTHUR, M. J.; GRICE, D. I. Degradation and responses of coprostanol and selected sterol biomarkers in sediments to a simulated major sewage pollution event: A microcosm experiment under sub-tropical estuarine conditions. **Organic Geochemistry**, v. 39, n. 3, p. 353-369, 2008. REEVES, A. D.; PATTON, D. Faecal sterols as indicators of sewage contamination in estuarine sediments of the Tay Estuary, Scotland: an extended baseline survey. **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 9, n. 1/2, p. 81-94, 2005.

RESENDE, M. F.; SANTOS, M. D. R.; MATOS, R. C.; MATOS, M. A. C. The analysis of faecal sterols in sediment samples by HPLC-UV using ultrasound-assisted treatment. **Analytical Methods**, v. 6, n. 24, p. 9581-9587, 2014.

ROCKNE, K.; TAVAKOLY SANY, S. B.; HASHIM, R.; SALLEH, A.; REZAYI, M.; MEHDINIA, A.; SAFARI, O. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Coastal Sediment of Klang Strait, Malaysia: Distribution Pattern, Risk Assessment and Sources. **PLoS One**, v. 9, n. 4, p. e94907, 2014.

RUNNQVIST, H.; BAK, S. A.; HANSEN, M.; STYRISHAVE, B.; HALLING-SORENSEN, B.; BJORKLUND, E. Determination of pharmaceuticals in environmental and biological matrices using pressurised liquid extraction-Are we developing sound extraction methods? **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2447-2470, 2010.

SAITO, T.; WIDAYAT; WIWIN, W.; HAGIWARA, K.; MURAKAMI, Y. Study on organic pollution parameters for dyes and dyeing auxiliaries. **Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie**, v. 319, n. 4, p. 433-434, 1984.

SANKARARAMAKRISHNAN, N.; GUO, Q. Chemical tracers as indicator of human fecal coliforms at storm water outfalls. **Environment International**, v. 31, n. 8, p. 1133-1140, 2005.

SAUVÉ, S.; ABOULFADL, K.; DORNER, S.; PAYMENT, P.; DESCHAMPS, G.; PRÉVOST, M. Fecal coliforms, caffeine and carbamazepine in stormwater collection systems in a large urban area. **Chemosphere**, v. 86, n. 2, p. 118-123, 2012.

SEILER, R. L.; ZAUGG, S. D.; THOMAS, J. M.; HOWCROFT, D. L. Caffeine and Pharmaceuticals as Indicators of Waste Water Contamination in Wells. **Ground Water**, v. 37, n. 3, p. 405-410, 1999.

SHELDON, L. S.; HITES, R. A. Organic compounds in the Delaware River. **Environmental Science & Technology**, v. 12, n. 10, p. 1188-1194, 1978.

SHRAIM, A.; DIAB, A.; ALSUHAIMI, A.; NIAZY, E.; METWALLY, M.; AMAD, M.; SIOUD, S.; DAWOUD, A. Analysis of some pharmaceuticals in municipal wastewater of Almadinah Almunawarah. **Arabian Journal of Chemistry**, 2012.

SIEVERS, R. E.; BARKLEY, R. M.; EICEMAN, G. A.; SHAPIRO, R. H.; WALTON, H. F.; KOLONKO, K. J.; FIELD, L. R. Environmental trace analysis of organics in water by glass capillary column chromatography and ancillary techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 142, p. 745-54, 1977.

SINGH, S. P.; GARDINALI, P. R. Trace determination of 1-aminopropanone, a potential marker for wastewater contamination by liquid chromatography and atmospheric pressure chemical ionization–mass spectrometry. **Water Research**, v. 40, n. 3, p. 588-594, 2006.

SOCLO, H. H.; GARRIGUES, P.; EWALD, M. Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Coastal Marine Sediments: Case Studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) Areas. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, n. 5, p. 387-396, 2000.

STAMATIS, N. K.; KONSTANTINOU, I. K. Occurrence and removal of emerging pharmaceutical, personal care compounds and caffeine tracer in municipal sewage treatment plant in Western Greece. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 48, n. 9, p. 800-813, 2013.

STEBBING, A. R. D. Environmental capacity and the precautionary principle. **Marine Pollution Bulletin**, v. 24, n. 6, p. 287-295, 1992.

STEFENS, J. L.; DOS SANTOS, J. H. Z.; MENDONÇA FILHO, J. G.; DA SILVA, C. G. A.; RUARO PERALBA, M. D. C. Lipid biomarkers profile—presence of coprostanol: recent sediments from Rodrigo de Freitas Lagoon—Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Environmental Science and Health**, Part A, v. 42, n. 11, p. 1553-1560, 2007.

SUI, Q.; HUANG, J.; DENG, S.; YU, G.; FAN, Q. Occurrence and removal of pharmaceuticals, caffeine and DEET in wastewater treatment plants of Beijing, China. **Water Research**, v. 44, n. 2, p. 417-426, 2010.

TAKAHASHI, S.; KARRI, R.; TANABE, S. Contamination by Persistent Organic Pollutants and Related Compounds in Deep-Sea Ecosystems Along Frontal Zones Around Japan. **The Handbook of Environmental Chemistry**, p. 1-36, 2014.

TAM, N. F. Y.; KE, L.; WANG, X. H.; WONG, Y. S. Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. **Environmental Pollution**, v. 114, n. 2, p. 255-263, 2001.

VENKATESAN, M. I.; KAPLAN, I. R. Sedimentary coprostanol as an index of sewage addition in Santa Monica basin, southern California. **Environmental Science & Technology**, v. 24, n. 2, p. 208-214, 1990.

VIDAL, L.; DOMINI, C.; CANALS, A. Main Parameters and Assays Involved with the Organic Pollution of Water. **Handbook of Water Analysis**, p. 459-491, 2013.

WANG, C.; ZOU, X.; GAO, J.; ZHAO, Y.; YU, W.; LI, Y.; SONG, Q. Pollution status of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments from the Yangtze River Estuary and its adjacent coastal zone. **Chemosphere**, v. 162, p. 80-90, 2016.

WANG, Z.; LIU, M.; YANG, Y. Characterization and sources analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments in the Yangtze River Estuary. **Environmental Earth Sciences**, v. 73, n. 5, p. 2453-2462, 2014.

WEIGEL, S.; BERGER, U.; JENSEN, E.; KALLENBORN, R.; THORESEN, H.; HÜHNERFUSS, H. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. **Chemosphere**, v. 56, n. 6, p. 583-592, 2004.

WILLIAMS, C. F.; MCLAIN, J. E. T. Soil Persistence and Fate of Carbamazepine, Lincomycin, Caffeine, and Ibuprofen from Wastewater Reuse. **Journal of Environment Quality**, v. 41, n. 5, p. 1473, 2012.

ZHANG, T.; WU, B.; SUN, N.; YE, Y.; CHEN, H. Sorption and degradation of wastewater-associated pharmaceuticals and personal care products in agricultural soils and sediment. **Water Science & Technology**, v. 68, n. 5, p. 991, 2013.

ZIYLAN, A.; INCE, N. H. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: treatability by conventional and non-

conventional processes. Journal of Hazardous Materials, v. 187, n. 1-3, p. 24-36, 2011.



CAPÍTULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS GERAIS


3.1 REAGENTES, PADRÕES E SOLUÇÕES

A cafeína (CAF) e os antidepressivos citalopram (CIT), venlafaxina (VEN), fluoxetina (FLU), sertralina (SER) e amitriptilina (AMI) foram adquiridos na forma de padrões comerciais para farmácias de manipulação com pureza de 99,98%. Foram preparadas soluções estoques individuais dos analitos em metanol na concentração de 1000 µg mL⁻¹ e conservadas a 4°C. A solução de trabalho foi preparada a partir das soluções estoques, contendo todos os antidepressivos e a cafeína na concentração de 100 µg mL⁻¹ para as fortificações e 0,5 µg mL⁻¹ para as calibrações por adição de padrão. As principais propriedades dos analitos investigados são apresentadas na Tabela 3.1.

Fármaco	Solubilidade em água a 25°C (mg mL⁻¹)	Massa Molar (g mol⁻¹)	р <i>К</i> а	Log K _{ow}
Cafeína (CAF) C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	11,0	194,2	10,4	0,01
Amitriptilina (AMI) (C ₂₀ H ₂₃ N)	0,0097	313,9	9,8	4,92
Citalopram (CIT) (C ₂₀ H ₂₁ FN ₂ O)	0,0059	324,4	9,6	3,74
Fluoxetina (FLU) (C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO)	0,0017	309,3	10,1	4,05
Sertralina (SER) (C ₁₇ H ₁₇ Cl ₂ N)	0,00014	306,2	9,5	5,29
Venlafaxina (VEN) (C ₁₇ H ₂₇ NO ₂)	0,023	277,4	9,4	3,28

Tabela 3.1 - Características dos analitos investigados

Fonte: Adaptado de ANVISA (2010)

Os solventes empregados na extração e eluição foram acetonitrila (TEDIA), metanol (TEDIA), com grau de pureza CLAE e a água ultrapura obtida pelo sistema Human UP 900. Os demais reagentes foram dietilamina (Synth), o ácido clorídrico (Alphatec), hidróxido de sódio (Synth), cloreto de cálcio (Synth), dihidrogenofosfato de potássio (Vetec), bifosfato de potássio (Vetec) e dihidrogenofosfato de sódio (Vetec) todos com grau de pureza analítico.

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

Neste estudo foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Cromatógrafo Líquido Waters[™] 600 Pump;
- Espectrofotômetro UV-vis Perkin Elmer Lambda 45;
- Espectrômetro de Infravermelho PerkinElmer FT-IR Spectrum 100S;
- Micro-ondas Brastemp;
- Rota-evaporador Fisatom;
- Banho ultrassônico Unique;
- Agitador de tubos vortex;
- Incubadora shaker Láctea;
- Sistema de purificação de água sistemas Human UP 900;
- Centrífuga 5.000 rpm Sigma;
- Forno Mufla 1200 °C Forlabo;
- Estufa/ /Circulação Ar Quimis;
- Potenciômetro digital de bancada Pa-200 Alphalab;
- Balança Analítica Digital Marte;
- Bomba a Vácuo Rotativa Fabre Primar;
- Liofilizador a vácuo;

3.3 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Utilizou-se um sistema CLAE acoplado a um detector por arranjo de diodos (DAD) Waters[™] 2696 com lâmpada de deutério e faixa de operação de 190 a 800nm. O gerenciamento, controle de módulos do CLAE, aquisição e processamento de dados é realizado por um microcomputador IBM Pentium IV com o software EMPOWER 2 (Waters[™] Corporation).

Os analitos foram separados em coluna Phenomenex Luna C18 (4,6 × 150 mm, 5µm), à temperatura de 30°C e injeção de 20 µL e com vazão constante de 0,8 mL min⁻¹.

A eluição foi realizada com gradiente de fase móvel previamente otimizada considerando resolução cromatográfica e tempo de análise, conforme a tabela 3.2.

Acetonitrila (% v/v)	Dietilamina 2,0 mmol L ⁻¹ (pH≈11) (% v/v)	Tempo (min)	Fluxo (mL min ⁻¹)
70	30	0-8	0,8
80	20	8-9	0,8
100	0	9-10	0,8
70	30	10-15	0,8

Tabela 3.2 - Gradiente de eluição da fase móvel para análise de antidepressivos ecafeína por CLAE-PDA

Os cromatogramas foram obtidos com o detector PDA operando no modo varredura na faixa de 210 a 400 nm. Para processamento dos dados, os cromatogramas foram extraídos no comprimento de onda ótimo para cada antidepressivo (CIT: 240nm; VEN: 227nm; FLU: 231nm; SER: 225 nm; AMI: 245nm e CAF: 274 nm). Como resposta analítica foi registrada a área do pico cromatográfico correspondente a cada analito.



CAPÍTULO 4 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS E CARACTERIZAÇÃO DAS MATRIZES



4.1 COLETAS E PREPARO DAS AMOSTRAS DE LODO DE ESGOTO E SEDIMENTOS.

A metodologia de coleta foi baseada na NBR nº 16434/15 (ABNT, 2015). O instrumento usado na coleta das amostras foi uma draga tipo Petersen, com o intuito de retirar-se um bloco das camadas superficiais do sedimento de fundo. A quantidade de material recolhido foi em torno de 1 kg.

O acondicionamento foi feito em recipientes plásticos revestidos com papel alumínio e identificados adequadamente. Na Figura 4.1 são representadas algumas etapas da coleta.



Figura 4.1 – a) Coleta de sedimento; b) Preservação das amostras e c) Coleta de lodo de Esgoto

Após a coleta o material foi acondicionado em recipientes de papel alumínio e preservado sob refrigeração até a liofilização para eliminação do excesso de umidade. Depois de seco o material foi desagregado, peneirado em malha de 32 mesh (0,5 mm) e estocado em frascos de vidro à temperatura ambiente e ao abrigo da Luz. A Figura 4.2 ilustra alguns dos processamentos realizados.



Figura 4.2 – a) Acondicionamento das amostras para secagem, b) Desagregação c) Peneiramento em malha, d) Amostra pronta para armazenamento

Para o desenvolvimento do protocolo de extração, ensaios de sorção e validação foram usadas alíquotas do sedimento de fundo (S0) colhidas em uma nascente isenta de fontes de poluição antrópica (S25°3'39,8";W53°52'15,9") e lodo (L0) proveniente de uma estação de tratamento de esgotos (S24°51'20,3";W54°19'23,8"), ambos localizada na região de estudo.

Na aplicação do método foram utilizadas amostras de sedimentos de rios, onde são lançados esgotos, e amostras de lodos, provenientes de duas estações de tratamento de esgotos (ETEs). Uma das ETEs é constituída de lagoas de estabilização que atendem uma população urbana de aproximadamente 12596 habitantes em Santa Helena - PR e a outra ETE opera por reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF) atendendo 37403 habitantes em Medianeira – PR. Ambas ETEs estão localizadas na região do Reservatório de Itaipu-PR.

Para definição dos pontos de coleta foi inicialmente feita a divisão de áreas por meio de uma campanha *in loco*, onde foram identificados os locais adequados, considerando a foz de tributários receptores de esgotos urbanos e as zonas do leito do corpo hídrico com maior deposição de sedimento. Os locais amostrais em estações de tratamentos de esgotos foram definidos mediante a identificação daqueles presentes em tributário de maior porte no reservatório. Foram estabelecidos pontos de coleta na entrada do sistema de tratamento e na região de lançamento. A Tabela 4.1 apresenta as coordenadas geográficas dos pontos amostrais e algumas das especificidades destes locais. Na Figura 4.3 é apresentado o mapeamento destes pontos.

Ponto	Foto	Coordenadas	Altitude (m)	h (m)	Descrição
S1		S 24°30'55,2'' W 54°13'1,3"	241	3	Foz do Rio Arroio Fundo em Entre Rios do Oeste - PR
S2		S 25°13'51,3'' W 54°13'25,7"	226	1	Foz do Rio Ocoi em São Miguel do Iguaçu - PR
S3		S 24°50'52'' W 54°19'25"	212	1	Região distante 1 km do ponto de lançamento da ETE Santa Helena- PR
S4		S 25°17'10'' W 54°06'7,4"	306	0,5	Corpo receptor da ETE Medianeira – PR, ponto distante do local de lancamento
L1		S 24°51'20,3'' W 54°19'23,8"	243	1	Lagoa Anaeróbia 1 na entrada do tratamento biológico, ETE Santa Helena-PR
L2		S 24°51'17" W 54°19'22,8"	250	1	Lagoa Facultativa 2 no final dos tratamento biológico, ETE Santa Helena-PR
L3		S 25°17'11,2'' W 54°6'5"	306	0,5	Manta de lodo do RALF da ETE, Medianeira-PR
L4		S 25°17'11,2'' W 54°6'5"	306	0,2	Leito de secagem do lodo excedente do RALF, ETE Medianeira-PR

Tabela 4.1	- Localização	dos	pontos	amostrais.
------------	---------------	-----	--------	------------



Figura 4.3 – Localização geográfica dos pontos de coleta.

O Ponto S1 foi demarcado na região de confluência do Rio Arroio Fundo com o Reservatório de Itaipu. Na microbacia e entorno desse riacho, dentre os vários usos múltiplos, destacam-se a captação de água para irrigação, área de lazer pública e corredores de dessedentação. Além disso, nesta microrregião estão localizadas cidades como Marechal Cândido Rondon-PR e Entre Rios do Oeste-PR que utilizam o manancial como fonte de abastecimento público e para descarte de esgotos domésticos provenientes da rede urbana. Cabe ressaltar ainda que o afluente principal é receptor de águas residuárias provenientes de agroindústrias de processamento de aves.

Os Pontos L1, L2 e S3 localizam-se próximo ao Balneário de Santa Helena-PR que caracteriza-se por ser um terminal turístico, sendo de interesse a investigação no local pelas intensas atividades de lazer com contato primário. Os pontos de coleta L1, L2 compreendem a entrada e a saída do sistema de tratamento de Esgotos da ETE-Santa Helena e o S3 a área de despejo no Reservatório de Itaipu pós-tratamento. A escolha destes locais corrobora com a perspectiva de estudar os antidepressivos residuais no lodo *in natura*, após as unidades de tratamento por lagoas de estabilização e na zona de dispersão dos mesmos no reservatório.

Outra microrregião definida para a amostragem foi a microbacia do Rio Ocoi nos municípios de Medianeira-PR e São Miguel do Iguaçu-PR. Este rio recebe ainda afluentes onde são lançados esgotos domésticos de cidades menores como Matelândia-PR e Ramilândia-PR.

O Ponto L3 foi admitido como o Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (RALF) usado no tratamento do esgoto doméstico da cidade de Medianeira-PR. O Ponto L4 consistiu no leito de secagem onde é disposto periodicamente o lodo gerado pela estação de tratamento. O efluente tratado é lançado em um rio de menor porte, Rio Alegria que é um dos tributários, definido como ponto S4. No Rio Ocoi propriamente dito foi afixado os Ponto S2 correspondendo a sua região de foz dentro do Reservatório de Itaipu-PR.

4.2 CARACTERIZAÇÕES DAS MATRIZES LODO DE ESGOTO E SEDIMENTOS

4.2.1 Análises Físico-químicas

Antes da liofilização uma parcela do material foi separada para a caracterização físico-química mediante a determinação do pH pelo método potenciométrico (DONAGEMA *et al.*, 2011), umidade, sólidos totais, cinzas, matéria orgânica e carbono total por gravimetria (KIEHL, 1985) e a textura do sedimento pelo método do densímetro (SANTOS *et al.*, 1995). Os valores foram expressos em porcentagem com base às análises realizadas em amostras de 30 g de cada matriz em triplicata. Na Tabela 4.2 são apresentados os valores médios obtidos.

As amostras foram submetidas ao tratamento térmico logo após coleta e, portanto, saturadas de umidade, o que justifica os percentuais de aproximadamente 48% e 17% da massa perdida na etapa de secagem em estufa a 100-110 °C para o sedimento e lodo respectivamente.

Dorômotro		Se	dimen	to			Lod	o de E	sgoto	
Parametro	S0	S1	S2	S3	S4	L0	L1	L2	L3	L4
pH*	6,8	6,7	5,7	5,6	6,9	6,6	7,7	6,6	6,5	6,4
Umidade* (%)	48,2	40,1	37,4	38,2	37,0	36,6	42,0	41,6	36,2	38,9
Sólidos Totais (%)*	51,9	59,9	62,6	61,8	63,0	63,4	58,0	58,4	63,8	61,1
Fração Inorgânica (%)**	88,4	87,8	88,5	90,9	91,9	76,9	75,3	68,9	88,0	75,7
Fração Orgânica (%)**	11,6	12,2	11,5	9,1	8,1	23,1	24,7	31,1	22,0	24,3
Carbono Total (%)***	6,5	6,9	6,5	5,1	4,6	7,3	13,9	17,5	12,4	13,7
Argila (%)	63,5	64,2	42,5	67,4	58,2	-	-	-	-	-
Silte (%)	14,2	13,2	21,2	14,5	16,2	-	-	-	-	-
Areia (%)	22,3	22,6	36,3	18,1	27,3	-	-	-	-	-

Tabela 4.2- Características físico-químicas das amostras de sedimento e lodo usadas nos ensaios

* matrizes in natura.

** Determinado na fração de sólidos totais.

*** Determinado na fração de matéria orgânica pelo fator de Van Bemmelen (KIEHL, 1985).

Devido ao fato de a água ter ação solvente, diversas espécies químicas se encontram dissolvidas na água intersticial, o que faz com que essa solução funcione como meio e como rota principal pela qual um contaminante apresente mobilidade (MOZETO *et al.*, 2014). A retenção de água pelo sedimento depende de vários fatores, tais como sua textura, estrutura, material orgânico e tipo de argila, sendo esta a principal responsável pelos efeitos de contração e expansão nos processos de perda ou absorção de água por interações com suas moléculas.

A ocorrência de argila é típica dos sedimentos, diferentemente dos lodos precipitados em unidades de tratamento cuja estrutura é flocosa constituída predominantemente de biomassa (RANGEL e SANCHES FILHO, 2014). Estas diferenças justificam o maior aporte de umidade nos sedimentos. A massa que se manteve constante após a remoção da umidade foi definida como teor de sólidos totais, e pode ser considerada como a soma das frações orgânicas e inorgânicas.

A determinação dessas duas frações, bem como o teor de carbono total ocorreu pelo tratamento térmico da amostra desidratada em mufla a 550-560°C, com aferição do teor de cinzas e da perda por calcinação. Os resultados indicaram elevada presença de material orgânico, 8 a 12 % e 23 a 31 %; sílica, silte e argila, 87 a 91% e 75 a 88% sobre o teor de sólidos totais para os sedimentos e lodos respectivamente. Quando os sedimentos apresentam valores de matéria orgânica acima de 10% são considerados orgânicos, e abaixo de 10% são considerados sedimentos inorgânicos ou minerais (LI *et al.*, 2001; ESTEVES, 2011).

4.2.2 Espectroscopia Infravermelho

Análises de infravermelho foram utilizadas, principalmente para detectar qualitativamente a presença de matéria orgânica e demais componentes das matrizes e estabelecer semelhanças e diferenças entre as mesmas. Utilizou-se para determinação dos espectros a técnica de disco KBr a uma concentração aproximada de 1%. A amostra foi homogeneizada e comprimida a alta pressão em molde evacuado de modo a formar uma pastilha. O registro espectral foi feito na região de 4000 cm⁻¹ a 400 cm⁻¹, com resolução de 4 cm⁻¹ e 64 varreduras em espectrofotômetro Perkin-Elmer, modelo FT-IR Spectrum 100S acoplado a um registrador automático.

A Figura 4.4 ilustra os espectros de absorção na região do infravermelho para as amostras de lodo bruto e sedimentos após a secagem. Foram apresentados os perfis gerais, visto não foram observadas particularidades nos espectros comuns a cada amostra de sedimento e lodo.



Figura 4.4- Espectro de absorção na região do infravermelho para as matrizes sedimento e lodo de esgoto

Na inspeção dos espectros são observadas bandas de absorção identificadas a seguir:

 a) Banda alargada entre 3700 e 3000 cm⁻¹ que pode ser atribuída ao estiramento do grupo O-H e/ou N-H em ligação de hidrogênio. De modo geral as bandas observadas podem ser atribuídas à presença de ácidos, álcoois, fenóis e/ou aminas na amostra, ou também de grupos silanóis (Si-OH), devido à presença de água oclusa em sílica ou quartzo (BARBOSA, 2007; SMIDT e MEISSL, 2007; SILVERSTEIN, 2006; PAVIA *et al.*, 2010).

- b) Vibração em 2900 e 2800 cm⁻¹ referente ao estiramento de C sp³ H, dos grupos –CH₂ e –CH₃ presentes nas cadeias alifáticas de moléculas orgânicas (2930 cm⁻¹) (PAVIA *et al.*, 2010). São observadas bandas mais intensas no lodo sugerindo maior abundância dessas estruturas nesta matriz. A presença dos grupamentos metila e metileno também é deduzida pelas bandas características de deformação angular de C-H alifático na região de absorção de 1450–1375 cm⁻¹ (DICK *et al.*, 2003). Isto é observado no lodo, indicando a presença de cadeias alifáticas e sugerindo a presença de matéria orgânica na amostra (CAPANA *et al.*, 2009).
- c) Estiramentos C=O de carboxilatos por volta de 1650 cm⁻¹ (SMIDT e MEISSL, 2007) e C=C de compostos aromáticos, em torno de 1552 cm⁻¹ (PAVIA *et al.*, 2010).
 - d) Uma banda fraca em torno de 1420 cm⁻¹ refere-se ao estiramento C-O e/ou à deformação angular na ligação δO-H de COOH e estiramento simétrico do grupo COO⁻ (CANELLAS *et al.*, 2001). Bandas entre 1544 e 1068 cm⁻¹ podem sugerir polissacarídeos integrantes à estruturas húmicos (STEVENSON, 1982; HERNANDEZ *et al.*, 1993).
 - e) Estiramento C-O em 1050 cm⁻¹ (PAVIA *et al.,* 2010) e a presença de quartzo por volta de 1040 cm⁻¹ (SMIDT e MEISSL, 2007).
 - f) Vibração do grupo Si-O e a deformação angular de Si-H, que aparece como uma banda bem definida entre 800 e 1110 cm⁻¹ (SILVERSTEIN, 2006).
 Podem também nesta região ocorrer bandas características de compostos aromáticos.
 - g) Nesta região são comuns bandas associadas aos argilominerais como dobramentos em torno de 950 a 915 cm⁻¹, relativa à ligação Al-OH e bandas às proximidades de 790 a 800, 750 a 780, 640 a 690 cm⁻¹ ou no intervalo de 400 a 600 cm⁻¹ típicas de caulinita (BARROS *et al.*, 2012; TIRONI *et al.*, 2012).

Ambos os espectros de infravermelho apresentam perfis semelhantes de bandas de absorção, exceto pelas regiões b e c referentes às ligações de carbonos

alifáticos e a carboxilatos, respectivamente mais intensas no lodo do que no sedimento.

A matéria orgânica aportada nos sedimentos tem origem tanto em fontes naturais como detritos orgânicos, vegetação marginal e fitoplâncton presente nas águas do rio, além de fontes antropogênicas como os efluentes domésticos e industriais. Elevadas concentrações de matéria orgânica no sedimento podem indicar contribuição antrópica (ROBAINA *et al.*, 2002). No caso do sedimento estudado, por ser um local protegido dos principais efeitos antrópicos a contribuição é considerada de fonte natural e com isso a classificação é orgânica.

O material orgânico sedimentado no lodo de esgoto é proveniente dos processos de estabilização da matéria orgânica, composto basicamente por biomoléculas e material celular gerado na atividade biológica nos tanques de tratamento. Com isso, a fração orgânica é superior àquela verificada em sedimentos de águas doces. Os espectros de infravermelho sugerem a presença de material orgânico nas duas matrizes, sendo maior a ocorrência no lodo de esgoto.

As estruturas na matéria orgânica natural e antrópica são possuidoras de alta concentração de cargas eletrolíticas. Em contraste com as superfícies de óxidos minerais que possuem apenas um tipo de grupo funcional. Compostos orgânicos possuem elevada complexidade, podendo apresentar uma rica e variada quantidade de grupos funcionais de superfície, particularmente os grupos carboxílicos (WARREN e HAACK, 2001).

Nos solos e sedimentos a presença de tais grupos é característica das substâncias húmicas presentes na matéria orgânica em decomposição e que podem ser classificadas, operacionalmente, em função da solubilidade em meio aquoso como ácidos fúlvicos, ácidos húmicos ou huminas. A presença destes compostos é indicada pela banda relativa ao ânion carboxilato (região de 1400 cm⁻¹) e as bandas na região de 1544 e 1068 cm⁻¹, relativas a polissacarídeos (STEVENSON, 1982; HERNANDEZ *et al.*, 1993).

Os ácidos fúlvicos apresentam quantidade de grupos hidrofílicos suficientes para permanecerem solúveis em qualquer valor de pH e os ácidos húmicos, mais hidrofóbicos, apresentam agregação e precipitação em meio ácido (PICCOLO, 2002; BALDOTTO *et al.*, 2013). Como consequência, o pH dos sedimentos em que estes compostos estão presentes tem características ácidas, conforme observado na

amostra utilizada (pH=6,8). De modo similar, no lodo de esgoto (pH=6,6), devido à atividade metabólica, ocorre a formação de ácidos orgânicos variados no meio que são incorporados aos grânulos de biomassa.

REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. Norma NBR 16434:2015 - Amostragem de resíduos sólidos, solos e sedimentos - Análise de compostos orgânicos voláteis (COV). Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro. 2015.

BALDOTTO, M. A.; GOBO, A. A. R.; SALOMÃO, M. S. M. D. B.; REZENDE, C. E.; CAMARGO, P. B. D. Frações da matéria orgânica e propriedades redox de substâncias húmicas em sedimentos de oceanos profundos. **Química Nov**a, v. 36, n. 9, p. 1288-1295, 2013.

BARBOSA, L. C. Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. 3. Viçosa-MG: Ed. UFV, 2007. 189.

BARROS, A.; COSTA, W.; LIMA, W. Estudo espectroscópico preliminar sobre a matéria orgânica de folhelhos associados à Formação Pirabas (Falésia da Praia do Bispo, Ilha de Mosqueiro-PA). **Geochimica Brasiliensis**, v. 19, n. 1, 2012.

CANELLAS, L. P.; SANTOS, G. D. A.; RUMJANEK, V. M.; MORAES, A. A.; GURIDI, F. Distribuição da matéria orgânica e características de ácidos húmicos em solos com adição de resíduos de origem urbana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, 2001.

CAPANA, A. S.; MARTINS, Q. V.; CRESPI, M. S.; RIBEIRO, C. A.; BARUD, H. S. Thermal behavior of residues (sludge) originated from Araraquara water and sewage treatment station. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 2, p. 601-604, 2009.

DICK, D. P.; SANTOS, J. H. Z.; FERRANTI, E. M. Chemical characterization and infrared spectroscopy of soil organic matter from two southern brazilian soils. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, n. 1, p. 29-39, 2003.

DONAGEMA, G. K.; CAMPOS, D. V. B. D.; CALDERANO, S. B.; TEIXEIRA, W. G.; VIANA, J. H. M. Manual de métodos de análise de solos. Rio de Janeiro: Embrapa Solos. 2011

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro.: Editora Interciência. 2011.

HERNANDEZ, T.; MORENO, J.; COSTA, F. Infrared spectroscopic characterization of sewage sludge humic acids. Evidence of sludge organic matter-metal interactions. **Agrochimica**, v. 37, n. 1, p. 12-17, 1993.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres Ltda.: 419 p. 1985.

LI, X. D.; POON, C. S.; SUN, H.; LO, I. M.; KIRK, D. W. Heavy metal speciation and leaching behaviors in cement based solidified/stabilized waste materials. **Journal of Hazardous Materials**, v. 82, n. 3, p. 215-30, 2001.

MOZETO, A. A.; YAMADA, T. M.; DE MORAIS, C. R.; DO NASCIMENTO, M. R.; FADINI, P. S.; TORRES, R. J.; SUEITT, A. P.; DE FARIA, B. M. Assessment of organic and inorganic contaminants in sediments of an urban tropical eutrophic reservoir. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 2, p. 815-34, 2014.

PAVIA, D. L.; VYVYAN, J. R.; KRIZ, G. S.; LAMPMAN, G. M. Introdução à espestroscopia. 4. São Paulo-SP: Cengage Learning, 2010.

PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. **Advances in Agronomy**, v. 75, p. 57-134, 2002.

RANGEL, E. M.; SANCHES FILHO, P. J. Determinação de metais traço no sedimento do canal prolongamento da Avenida Bento Gonçalves, Pelotas (RS). **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 5, n. 1, p. 229, 2014.

ROBAINA, L. E.; FORMOSO, M. L. L.; PIRES, C. A. D. F. Metais pesados nos sedimentos de corrente, como indicadores de risco ambiental - Vale do Rio dos Sinos, RS. **Revista do Instituto Geológico**, v. 23, n. 2, p. 35-47, 2002.

SANTOS, H. D.; HOCHMÜLLER, D.; CAVALCANTI, A.; REGO, R.; KER, J.; PANOSO, L.; AMARAL, J. D. **Procedimentos normativos de levantamentos pedológicos**. Brasília: Embrapa-SPI, 1995.

SILVERSTEIN, R. M. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 7ed. Rio de Janeiro: JTC, 2006.

SMIDT, E.; MEISSL, K. The applicability of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management. **Waste Management**, v. 27, n. 2, p. 268-76, 2007.

STEVENSON, F. J. Humus chemistry. New York: John Wiley & Sons, 1982.

TIRONI, A.; TREZZA, M. A.; IRASSAR, E. F.; SCIAN, A. N. Thermal Treatment of Kaolin: Effect on the Pozzolanic Activity. **Procedia Materials Science**, v. 1, p. 343-350, 2012.

WARREN, L. A.; HAACK, E. A. Biogeochemical controls on metal behaviour in freshwater environments. **Earth-Science Reviews**, v. 54, n. 4, p. 261-320, 2001.





CAPÍTULO 5

OTIMIZAÇÃO DE UM MÉTODO PARA EXTRAÇÃO DE CAFEÍNA E ANTIDEPRESSIVOS RESIDUAIS EM SEDIMENTO E LODO DE ESGOTO EMPREGANDO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL



RESUMO

Os antidepressivos estão entre os fármacos mais utilizados pela população. A cafeína tem amplo uso associado à diversos princípios ativos em medicamentos, além de servir como importante marcador antrópico. Este capítulo propõe a otimização de um método para extração simultânea de antidepressivos de uso frequente (citalopram, venlafaxina, fluoxetina, sertralina e amitriptilina) e cafeína baseado no uso de solventes auxiliado por micro-ondas e CLAE-PDA. Na otimização foram aplicados os delineamentos experimentais simplex-centroide para composição da fase extratora, e um planejamento composto central rotacional (DCCR) 2³ para adequar o protocolo de extração quanto ao pH de trabalho, menor emprego de solvente e tempo de processamento. Nos ensaios, triplicatas amostrais de sedimento e lodo de esgoto foram fortificadas solução padrão mista dos analitos e posteriormente submetidas aos procedimentos de extração. Os percentuais de recuperação foram aplicados como respostas nos delineamentos e ajustadas aos modelos empíricos. A análise de variância (ANOVA) e o estudo da falta de ajuste foram usados para avaliar a significância dos ajustes ao nível de 95% de confiança. A função desirability foi a ferramenta de otimização empregada na obtenção das condições ideais e apresentou valores próximos a 1,0, o que indicou uma resposta significativa para ambos os delineamentos. A composição obtida para a fase líquida na extração simultânea nas duas matrizes foi uma mistura binária de metanol e acetonitrila na proporção de 45:55 e 53:47 (v/v) para lodo e sedimento respectivamente. As condições otimizadas foram pH 3, volume de 4 mL do solvente extrator e 3 ciclos de extrações para o lodo de esgoto. Para o sedimento os valores foram pH 11, volume de 3 mL da mistura de solventes e 4 ciclos de extrações. Os percentuais de recuperação previstos, no nível de fortificação empregado nas duas matrizes, foram superiores a 91% de para todos os analitos. Por se tratarem de matrizes contendo material orgânico, os lodos e sedimentos possuem a capacidade de interagir com os analitos de maneira estável, dificultando a extração e justificando a necessidade de um protocolo de capaz de tornar os analitos disponíveis. Concluiuse que o emprego de ferramentas quimiométricas contribui positivamente para a superação dessa dificuldade.

Palavras Chaves: Poluentes emergentes, Iodo, sedimentos, monitoramento ambiental, planejamento experimental.

ABSTRACT

Antidepressants are among the drugs most frequently used by the public. Caffeine has extensive use associated with various active ingredients in medicines, as well as serving as an important anthropic marker. This work proposes the optimization of a method for the simultaneous extraction of common antidepressants (citalopram, venlafaxine, fluoxetine, sertraline and amitriptyline) and caffeine based on the use of solvents assisted by microwave and HPLC-PDA. Optimization were applied experimental simplex centroid for composition of the extraction phase designs, and a central composite rotational design (CCRD) 2³ to adjust the extraction protocol for pH work, less use of solvent and processing time. In tests, sample triplicates sediment and sewage sludge were fortified mixed standard solution of the analytes and then subjected to extraction procedures. The recovery percentages were applied as responses in designs and adjusted to empirical models. The analysis of variance (ANOVA) and the study of lack of fit was used to assess the significance of settings at 95% confidence. The desirability function was the optimization tool used to obtain the ideal conditions and showed values close to 1.0, which indicated a significant response to both designs. The composition obtained to simultaneous extraction in liquid phase in the two arrays is a binary mixture of methanol and acetonitrile in the ratio of 45:55 to 53:47 (v / v) to silt and sediment respectively. The optimized conditions were pH 3, volume of 4 mL of solvent extractor and 3 cycles of extraction for sewage sludge. To the sediment values were pH 11, volume 3 ml of the mixed solvent extractions and 4 cycles. The recovery percentages provided in the fortification level employed in the two arrays have greater than 91% for all of the analytes. Because these arrays containing organic material, sludge and sediment have the ability to interact with the analytes in a stable manner, making the extraction and justifying the need for a protocol to be able to make the analytes available. It was concluded that the use of chemometric tools contributes positively to overcome this difficulty.

Key Words: Emerging pollutants, sludge, sediment, environmental monitoring, experimental design.

5.1 INTRODUÇÃO

Os sedimentos e lodos são matrizes formadas basicamente por detritos, partículas orgânicas e inorgânicas, e são relativamente heterogêneos em termos de suas características químicas, físicas e biológicas. São considerados compartimentos de acúmulo de espécies poluentes transferidos da coluna de água por mecanismos de adsorção (principalmente troca iônica), interações do tipo redox, dependentes do oxigênio e atividade de bactérias, fungos, plâncton e invertebrados BAIRD, 2002; DEY-SARKAR *et al.*, 2007; BITTENCOURT *et al.*, 2016).

A determinação de contaminantes emergentes nos compartimento sólidos como sedimentos e lodos de estações de tratamento de esgoto têm se tornado uma etapa indispensável para o monitoramento e o entendimento da dinâmica de dispersão dessas substâncias nos ecossistemas aquáticos. Os níveis de concentrações na faixa de ng L⁻¹ e µg L⁻¹ em que esses compostos se apresentam e a complexidade matricial exigem investimentos sobre o trabalho analítico.

As principais abordagens são baseadas em cromatografia líquida e gasosa com diferentes tipos de detectores (MARTINEZ BUENO *et al.*, 2012; DEVIER *et al.*, 2013). A extração dos analitos consiste em uma etapa decisiva na prospecção de poluentes no ambiente, visto que a complexidade matricial geralmente tornam os processos laboriosos e de difícil reprodução. Além disso, influencia diretamente na sensibilidade do instrumental.

Várias tipologias, como por exemplo, extração líquido-líquido, extração em fase sólida, extração com fluido supercrítico e extração com membranas, são reportadas em estudos com fármacos (BOSSIO *et al.*, 2008; MUTAVDZIC *et al.*, 2012; DUAN *et al.*, 2013; RADOVIC *et al.*, 2015).

Para os sedimentos e lodos de esgoto são comumente empregados solventes orgânicos capazes de desfazer a interação do analito com os componentes da matriz sólida de elevada complexidade (argila, matéria orgânica, sílica, etc.) (RADOVIC *et al.*, 2015). Essa interação é governada principalmente pela polaridade. Com isso, são estabelecidas relações de diferentes intensidades entre as matérias mineral e orgânica contidas nos grânulos, justificando o uso de solventes orgânicos ou misturas com polaridade adequada.

Além disso, aparatos como banho ultrassônico, Soxhlet e forno micro-ondas também são usados para assegurar um melhor desempenho, sendo aplicados em diversos protocolos (HAWTHORNE *et al.*, 2000; BANJOO e NELSON, 2005; RICE e MITRA, 2007; AZZOUZ e BALLESTEROS, 2012; DARWANO *et al.*, 2014).

O banho de ultrassônico é rápido e pode ter uma boa eficiência de recuperação (LUQUE-GARCÍA e LUQUE-DE-CASTRO, 2003). As transformações observadas durante a sonicação não são provenientes de interações diretas entre o campo ultrassônico e os analitos, mas sim, a consequência da grande quantidade de energia gerada pelo fenômeno de cavitação (SUSLICK *et al*, 1999). Isto resulta na implosão de microbolhas na interface sólido-líquido capazes de dessorver os analitos.

A aplicação de micro-ondas tem sido usada como uma alternativa na preparação de amostras para a determinação de poluentes orgânicos de diferentes polaridades em sólidos, possibilitando redução no tempo de análise, no consumo de solventes e a possibilidade de tratamento simultâneo em várias amostras (PINO *et al*, 2000; SUN *et al*, 2002). A solubilidade de um analito pode ser afetada pelas suas características de solvatação e temperatura de extração. Com a aplicação das micro-ondas ocorre aumento abrupto da temperatura do solvente, o que aumenta a eficiência e reduz o tempo de extração. Desse modo, a solubilidade do analito pode ser maximizada (DEAN *et al*, 2000).

O sucesso no isolamento dos analitos depende de uma combinação otimizada das variáveis envolvidas. Uma delas é a fase extratora cuja composição emprega solventes com polaridades adequadas à natureza físico-química do analito. O uso de planejamentos experimentais aliados a análises multivariadas são algumas das ferramentas quimiométricas empregadas na definição das proporções mais rentáveis na extração (YOSHIARA *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2014).

A utilização de misturas com três componentes através do delineamento simplex-centroide permite a variação nas proporções entre os três solventes escolhidos, propiciando a uma combinação que favoreça a extração (BARROS NETO *et al.*, 2003). Seu propósito geral consiste em empregar a metodologia de superfície de resposta como estimativa das propriedades de um sistema multicomponente, considerando um número limitado de observações (FERREIRA *et al.*2007).

Além da composição da fase extratora faz-se necessária a definição de outras variáveis como o pH, volume de solvente e número de extrações sequenciais. O emprego de ferramentas estatísticas, como o planejamento experimental fatorial alia a possibilidade de explorar todo o espaço experimental com a realização do menor número possível de ensaios. Quando se trabalha com duas ou três variáveis independentes em dois níveis, é recomendado aplicar um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) (RODRIGUES e IEMMA, 2005).

Neste estudo, optou-se pela extração líquido-líquido com o diferencial de ser assistida por ultrassom e micro-ondas. Com intuito de maximizar os parâmetros definidos como relevantes para extração, realizando o mínimo de ensaios possíveis, foi empregado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), além do delineamento simplex-centroide para obtenção de uma fase extratora favorável.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

A definição dos procedimentos para isolamento dos analitos foi baseada na utilização de uma mistura de solventes para compor a fase extratora e pelo uso de tratamentos auxiliares envolvendo aquecimento e agitação. Foram realizadas duas otimizações, sendo a primeira para a definição da proporção na mistura de solventes extratores e a segunda para os fatores pH, volume de solvente e número de extrações sequenciais.

5.2.1 Otimização da composição da fase extratora empregando delineamento simplex-centroide

Para o estudo de influência da composição do solvente extrator na recuperação dos analitos foi realizado um planejamento de misturas simplexcentroide (Figura 5.1). Foram testadas (2ⁿ-1)+n combinações, sendo n o número de componentes ou variáveis cuja soma é 1 ou 100%, para n=3 componentes gerando 7 ensaios obrigatórios acrescidos de 3 ensaios extras com duas repetições, totalizando 30 ensaios (BARROS NETO *et al.*, 2003; MOREIRA *et al.*, 2014). No estudo foi investigada a eficiência de extração dos antidepressivos pelos solventes metanol, acetonitrila, água e suas misturas segundo o planejamento delineado.



Figura 5.1 - Delineamento experimental simplex-centroide de 3 componentes para otimização da composição do solvente para extração de cafeína e antidepressivos.

5.2.2 Otimização da variáveis pH, volume de solvente e número de extrações empregando DCCR

A segunda otimização foi projetada visando adequar o protocolo de extração quanto ao menor emprego de solventes, cujas proporções foram definidas separadamente, e quanto ao tempo de processamento. Foi aplicado um planejamento experimental do tipo DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional). Este planejamento foi composto pelo planejamento fatorial completo 2³ (16 ensaios), com adição de 6 pontos axiais (12 ensaios) e 2 pontos centrais (4 ensaios) totalizando 32 ensaios. As condições e os níveis estudados pelo DCCR estão discriminados na Tabela 5.1, com os valores reais e codificados.

Encoioc	Fatores (codificação)						
Ensaios	рН	Número de extrações	Volume de Solvente (mL)				
	4 (-1)	2 (-1)	2 (-1)				
П	4 (-1)	2 (-1)	4 (+1)				
111	4 (-1)	4 (+1)	2 (-1)				
IV	4 (-1)	4 (+1)	4 (+1)				
V	10 (+1)	2 (-1)	2 (-1)				
VI	10 (+1)	2 (-1)	4 (+1)				
VII	10 (+1)	4 (+1)	2 (-1)				
VIII	10 (+1)	4 (+1)	4 (+1)				
IX	2 (-1,68)	3 (0)	3 (0)				
Х	12 (+1,68)	3 (0)	3 (0)				
XI	7 (0)	1 (-1,68)	3 (0)				
XII	7 (0)	5 (+1,68)	3 (0)				
XIII	7 (0)	3 (0)	1 (-1,68)				
XIV	7 (0)	3 (0)	5 (+1,68)				
XV	7 (0)	3 (0)	3 (0)				
XVI	7 (0)	3 (0)	3 (0)				

Tabela 5.1 - Matriz do delineamento composto central 2³ para estudo das variáveis pH, número de extrações e volume sobre e recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN).

5.2.3 Análise estatística e otimização das condições experimentais

O programa computacional *STATISTICA 10.0* foi utilizado para ajuste dos dados experimentais aos modelos linear, quadrático e cúbico especial, assim como a obtenção de curvas de níveis e a otimização. A avaliação estatística foi baseada na ANOVA de regressão e no estudo da falta de ajuste.

A ferramenta utilizada pelo programa para otimizar as variáveis de resposta – nesse caso, a recuperação dos analitos – foi a função *desirability*. Esta consiste em converter primeiro cada resposta y_i em uma função individual *desirability* d_i , que varia de 0,0 a 1,0. Nessa função, quanto mais próximo de 1,0, melhor o ajuste. Assim, as variáveis independentes são escolhidas de modo a maximizar a *desirability* global (Equação 5.1)., definida como a média geométrica de todas as funções individuais d_n . (DERRINGER e SUICH, 1980; CALADO e MONTGOMERY, 2003; CANDIOTI *et al.*, 2014).

 $D = (d_1. d_2. \cdots . d_n)^{1/n}$ (Eq. 5.1)

A função *desirability* é classificada como um método multicritério que permite analisar um grupo de respostas, de forma simultânea, o que possibilita encontrar o conjunto de condições mais próximo ideal para os requisitos do estudo em questão, valores de 0,8≤ di <1,0 indicam uma resposta estatisticamente favorável (VAN GYSEGHEM *et al.*, 2004).

5.2.3 Protocolo de extração

No protocolo de extração, triplicatas de cada matriz, secas e peneiradas, obtidas conforme descrito no capítulo 4, passaram por microextração auxiliada por micro-ondas e ultrassom. Aproximadamente amostras de 1 g de sólidos foram inseridas em tubos de ensaio e fortificadas com 500 µL da solução de trabalho na concentração de 100 µg mL⁻¹.

O Tempo de fortificação foi definido mediante a um estudo no qual foram testados 1, 12, 24 e 48h, a avaliação se deu por meio de uma ANOVA no nível de significância de 95%, onde observou-se que as recuperações não apresentaram diferenças significativas nos tempos testados. Sendo assim, por questões práticas utilizou-se o tempo de 1h.

Após este tempo, acrescentou-se a quantidade de solvente de acordo com o delineamento experimental em cada estudo. A homogeneização da mistura ocorreu por agitação em vortex durante 30 s. Na sequência, as amostras foram aquecidas em forno micro-ondas por 20 s na potência 10 W.

As amostras foram resfriadas à temperatura ambiente em banho ultrassônico por 60s e repetiram-se os procedimentos de agitação e aquecimento por três vezes. Para a separação das fases foi empregada centrifugação por 2 min a 2000 rpm. O extrato foi recolhido em um balão de volumétrico de 5 mL e a amostra resubmetida ou não aos mesmos procedimentos conforme o planejamento experimental empregado. O extrato final foi avolumado em acetonitrila e filtrado em filtro de seringa 0,22 µm (nylon, Chromafil®).

Para a quantificação dos analitos nos extratos obtidos foi preparada uma curva de calibração na faixa de 5 a 140 µg mL⁻¹ com oito pontos. O sinal de

correlação usado foi área do pico no cromatograma, correspondente a cada analito no comprimento de onda máximo.

A concentração no extrato obtido em cada ensaio foi determinada através da equação do ajuste linear (concentração *versus* área do pico) avaliada por uma análise de regressão e a recuperação calculada pela equação 5.2.

% Recuperação =
$$\frac{C_2}{C_1} \times 100$$
 Eq. 5.2

Onde C₁ é a concentração em μ g mL⁻¹ prevista com base na fortificação e avolumagem final e C₂ a concentração em μ g mL⁻¹ determinada através do instrumental e da curva de calibração.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Quantificação e recuperação dos analitos

A investigação da melhor composição de solvente extrator e a otimização das etapas do protocolo de extração para recuperação dos analitos cafeína (CAF), citalopram (CIT), venlafaxina (VEN), fluoxetina (FLU), sertralina (SER) e amitriptilina (AMI) a partir dos sedimentos e do lodo de esgoto, foi realizada em ensaios de adição e recuperação dos padrões, com o auxílio dos planejamentos simplex-centroide e DCCR 2³, respectivamente.

Para a quantificação por CLAE-PDA das recuperações dos fármacos estudados foi utilizada a calibração externa com soluções mistas dos analitos, submetidas às mesmas condições cromatográficas das amostras. A Tabela 5.2 apresenta a análise de variância para o ajuste dos dados as curvas de calibração.

O método apresentou linearidade para todos os analitos na faixa de trabalho, com valores de R² de 99,8 a 99,9%, conforme apresentado na Tabela 5.2. A regressão para cada curva foi avaliada segundo a ANOVA da regressão no nível de confiança de 95%, apresentada na Tabela 5.2, indicando que o modelo linear se ajusta bem aos dados. As regressões foram consideradas satisfatórias, pois o

 $F_{calculado}$ foi maior que o $F_{crítico (0,05; 1,6)}$ =5,99 para todos os analitos. O estudo da falta de ajuste também comprovou que o modelo linear se ajusta satisfatoriamente aos dados experimentais, pois o valor de $F_{crítico (0,05; 2,4)}$ =6,94 foi maior do que o $F_{calculado}$ para cada analito ($F_{crítico}$ > $F_{calculado}$).

	Fontes de	SQ	GL	MQ	F	Equação	R ²
	variaçao				calculado		
	Regressão	2,9x10 ¹³	1	2,9x10 ¹³	5216,4		
	Resíduos	3,4x10 ¹⁰	6	5,7x10 ⁹			
CAF	Falta de ajuste	14x10 ¹⁰	2	6,8x10 [°]	1,32	ÅREA=181080+27093[CAF]	99,9
	Erro puro	2,1x10 ¹⁰	4	5,1x10 ⁹			
	Total	3,0x10 ¹³	7				
	Regressão	1,8x10 ¹³	1	1,8x10 ¹³	4711,1		
	Resíduos	2,3x10 ¹⁰	6	3,9x10 ⁹			
CIT	Falta de ajuste	3,4x10 ⁸	2	1,7x10 ⁷	0,03	ÁREA=54781+21234[CIT]	99,9
	Erro puro	2,3x10 ¹¹	4	5,7x10 ⁹			
	Total	1,8x10 ¹³	7				
	Regressão	$1,6x10^{13}$	1	$1,6x10^{13}$	4547,5		
	Resíduos	2,1x10 ¹⁰	6	3,5x10 ⁹			
VEN	Falta de ajuste	2,7x10 ⁹	2	1,3x10 ⁹	0,3	ÁREA=83846+19866[VEN]	99,8
	Erro puro	1,8x10 ¹⁰	4	4,6x10 ⁹			
	Total	1,6x10 ¹³	7				
	Regressão	$1,7x10^{13}$	1	$1,7x10^{13}$	14565,3		
	Resíduos	7,0x10 ¹⁰	6	1,2x10 ⁹			
FLU	Falta de ajuste	2,8x10 ¹⁰	2	1,4x10 ⁹	1,38	ÅREA=126047+20443[FLU]	99,9
	Erro puro	4,1x10 ¹⁰	4	1,0 x10 ⁹			
	Total	1,7x10 ¹³	7	·			
	Regressão	2,9x10 ¹³	1	2,9x10 ¹³	13182,8		
	Resíduos	1,3x10 ¹⁰	6	2,2x10 ⁹			
SER	Falta de ajuste	2,2x10 ⁹	2	1,1x10 ⁹	0,41	ÁREA=181050+26667[SER]	99,9
	Erro puro	1,1x10 ¹⁰	4	2,7x10 ⁹			
	Total	2,9x10 ¹³	7				
	Regressão	2,1x10 ¹³	1	$2,1x10^{13}$	14148,4		
	Resíduos	8,8x10 ⁹	6	1,5x10 ⁹			
AMI	Falta de ajuste	3,3x10 ⁹	2	1,6x10 ⁹	1,17	ÁREA=118356+22688[AMI]	99,9
	Erro puro	5,7x10 ⁹	4	1,4x10 ⁹			
	Total	2,1x10 ¹³	7				

Tabela 5.2 - Análise de variância para o ajuste dos dados ao modelo linear para a curva de calibração

SQ=Soma quadrática; GL= Graus de liberdade; MQ= Média Quadrática.

F_{crítico (0,05; 1,6)} =5,99; F_{crítico (0,05; 2,4)} =6,94

As recuperações dos analitos cafeína (CAF), citalopram (CIT), venlafaxina (VEN), fluoxetina (FLU) e sertralina (SER), obtidas nos ensaios aplicando os planejamentos simplex-centroide e o DCCR 2³ foram calculadas através da Equação 5.2. Os valores médios e o desvio padrão correspondentes ao experimento para o efeito da composição do solvente extrator nas matrizes estudadas são apresentados nas Tabelas 5.3 e 5.4 e Figura 5.2 e 5.3.

	Solventes (mL) Recuperações (%)								
ensalos (mistura)	Metanol (A)	Acetonitrila (B)	Água (C)	CAF	СІТ	VEN	FLU	SER	ΑΜΙ
				90,4	76,5	90,6	91,0	82,5	83,4
	3,0	0,0	0,0	89,5	77,8	88,6	90,2	82,5	83,1
(1.0.0)				87,7	74,5	87,0	92,4	78,7	82,6
				89,2	77,4	73,3	81,0	66,2	78,1
II (0: 1: 0)	0,0	3,0	0,0	94,6	80,0	77,4	76,7	70,4	78,9
(0. 1. 0)				94,1	78,3	78,8	79,5	67,5	83,4
				82,8	42,0	85,5	0,0	0,0	12,1
(0: 0: 1)	0,0	0,0	3,0	84,9	44,9	83,4	0,0	0,0	16,5
(0. 0. 1)				88,2	43,0	88,3	0,0	0,0	16,1
11/				104,9	97,1	96,5	100,1	106,3	104,2
$(1/\cdot 1/\cdot 0)$	1,5	1,5	0,0	104,4	96,6	97,3	99,3	105,7	102,8
(/2. /2. 0)				104,1	95,9	99,0	98,1	107,1	104,6
V				97,5	91,9	100,1	80,9	62,1	79,8
v (14 · 0· 14)	1,5	0,0	1,5	97,3	91,3	98,2	77,2	60,7	78,8
(72. 0. 72)				97,4	92,5	100,1	78,3	61,8	80,2
VI				98,9	96,8	100,1	100,9	99,3	98,5
(0: 1⁄2: 1⁄2)	0,0	1,5	1,5	99,6	97,7	101,0	100,2	100,7	97,7
				98,8	95,8	99,0	98,5	102,8	95,3
1/11				97,7	95,8	99,7	99,5	105,4	97,9
$(1/2 \cdot 1/2 \cdot 1/2)$	1,0	1,0	1,0	97,7	95,6	101,9	99,0	104,4	96,3
(/3. /3. /3)				98,1	95,9	99,0	99,9	105,7	95,5
\/III				97,6	93,4	98,4	99,1	97,4	96,4
$(\frac{2}{1}, \frac{1}{1}, \frac{1}{1})$	2,0	0,5	0,5	96,5	93,8	98,7	100,2	96,8	95,6
(73.76.76)				97,9	94,1	97,8	98,9	97,2	95,7
IX				99,3	95,8	94,5	102,1	106,2	100,9
$(1/(\cdot 2/(\cdot 1/)))$	0,5	2,0	0,5	98,8	96,1	95,1	100,8	105,3	99,5
(76. 73. 76)				99,9	95,4	94,8	101,3	106,8	99,8
X				94,6	82,5	98,2	69,0	68,6	71,1
$(1/(\cdot 1/(\cdot 2/(\cdot))))$	0,5	0,5	2,0	95,2	83,1	99,0	68,2	67,5	70,9
(76. 76. 73)				94,9	82,4	98,4	67,9	69,0	71,3

Tabela 5.3 - Matriz do delineamento simplex-centroide e recuperações de Cafeína
(CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e
Venlafaxina (VEN) no lodo de esgoto.



Figura 5.2 - Percentual de recuperação da Cafeína (CAF) e dos antidepressivos Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) empregando planejamento simplex-centroide para otimização da composição da fase extratora para a matriz lodo de esgoto.

Tabela 5.4 - Matriz do delineamento simplex-centroide e recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) no sedimento.

	S	olventes (mL)			R	ecupera	ações ('	%)	
(mistura)	Metanol (A)	Acetonitrila (B)	Água (C)	CAF	СІТ	VEN	FLU	SER	AM
				97,4	2,5	19,6	36,6	52,0	23,8
(1 · 0 · 0)	3,0	0,0	0,0	98,3	2,6	22,6	33,2	39,5	20,2
(1.0.0)				101,9	2,4	22,1	38,4	45,7	21,9
				99,6	27,9	28,9	51,2	53,6	33,5
(0: 1: 0)	0,0	3,0	0,0	100,0	26,6	28,6	50,3	51,9	32,6
(0. 1. 0)				96,1	27,5	28,8	49,8	51,3	32,4
				49,5	0,9	3,0	0,0	0,0	0,0
(0: 0: 1)	0,0	0,0	3,0	53,6	0,4	3,1	0,0	0,0	0,0
(0. 0. 1)				46,9	0,7	1,6	0,0	0,0	0,0
11/				105,5	47,6	43,4	71,6	71,4	50,8
(16 · 16 · 0)	1,5	1,5	0,0	101,8	45,8	42,6	73,2	62,8	48,5
(72. 72. 0)				104,7	47,7	44,3	72,6	72,4	51,1
V (½: 0: ½)		0,0		91,2	1,9	22,7	42,6	53,9	28,4
	1,5		1,5	91,5	2,2	23,7	44,6	59,8	30,7
				93,2	1,7	22,8	46,4	60,7	32,2
VI				99,3	28,6	25,8	52,3	41,7	21,3
(0: 1⁄2: 1⁄2)	0,0	1,5	1,5	99,1	28,1	24,8	52,0	41,3	21,5
				100,7	28,4	26,5	52,6	41,2	21,5
1/11				103,9	23,9	28,0	61,0	58,0	28,6
V II (1/+ 1/+ 1/)	1,0	1,0	1,0	98,4	22,3	27,2	58,5	56,0	27,9
(/3. /3. /3)				104,8	25,0	28,8	62,6	59,1	28,9
\/III				102,9	18,7	29,8	57,8	62,3	34,0
(2/.1/.1/.)	2,0	0,5	0,5	100,8	18,2	28,4	56,5	59,4	33,1
(/3.76.76)				101,5	19,3	31,1	59,0	65,1	35,0
				105,3	35,8	33,1	65,1	58,9	34,6
$I \land$	0,5	2,0	0,5	104,2	35,2	31,7	63,9	56,0	33,7
(76. /3. 76)				103,8	36,4	34,4	66,4	61,7	35,6
v				85,2	11,9	18,1	39,0	37,9	17,2
$(1/\cdot 1/\cdot 2/)$	0,5	0,5	2,0	86,2	11,3	16,8	37,8	35,0	16,2
(76. 76. 73)				87,1	12,5	19,5	40,3	38,8	18,1



(VEN) empregando planejamento simplex-centroide para otimização da composição da fase extratora para a matriz sedimento.

Considerando o emprego dos solventes metanol, acetonitrila e água na extração em lodo de esgoto podem ser verificadas recuperações superiores a 60% para todos os analitos e ensaios, exceto para o ensaio III (0:0:1 (v/v/v)) onde foi utilizado apenas água. O ensaio IV (1/2:1/2:0 (v/v/v)) onde foi testada uma mistura binária de metanol e acetonitrila apresentou as maiores recuperações.

O desempenho na extração dos antidepressivos na matriz sedimento com o mesmo delineamento usado no lodo de esgoto foi expressivamente inferior, pois foram observadas recuperações inferiores a 75% em todos os ensaios. Contudo, os valores para a cafeína foram próximos em ambos os experimentos. A condição IV (½:½:0 (v/v/v)) que representa a mistura binária de metanol e acetonitrila também apresentou as melhores recuperações para o sedimento, sugerindo que o solvente orgânico interage de modo mais efetivo com os analitos nas duas matrizes.

Os valores médios e os desvios padrão correspondentes ao experimento empregando o DCCR 2³ para avaliação dos efeitos do pH, volume de solvente e número de extrações sobre as recuperações nas matrizes estudadas são apresentados nas Tabelas 5.5 e 5.6 e Figuras 5.4 e 5.5.



Figura 5.4 - Percentual de recuperação da Cafeína (CAF) e dos antidepressivos Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) empregando delineamento composto central 2³ para otimização da extração em lodo de esgoto.

Para o lodo de esgoto foram verificadas recuperações superiores a 60% para todos os analitos e ensaios, exceto para a fluoxetina nos ensaios V e X. Com base na inspeção do gráfico a condição IX, onde se utilizaram 3 mL de fase extratora com pH 2 e 3 ciclos de extrações, apresentou os maiores percentuais, em torno de 100%.

		Fatores		_		Recuper	acões (%	5)		
		(codificação)	Solvente				(/i			
	рН	Extrações	(mL)	CAF	CIT	VEN	FLU	SER	AMI	
1	4 (-1)	2 (-1)	2 (-1)	78,8	80,9	83,4	90,5	69,9	80,6	
<u> </u>	4(1)	2(1)	2(1)	83,6	82,1	86,4	93,4	71,8	85,4	
п	4 (-1)	2 (-1)	1 (土1)	102,9	99,9	103,3	104,7	99,9	103,7	
	4(1)	2(1)	4(11)	102,4	102,5	105,9	102,5	103,9	103,0	
ш	4 (-1)	<i>A</i> (+1)	2 (-1)	104,3	106,7	109,7	105,6	111,3	104,8	
	4 (-1)	4 (+1)	2 (-1)	103,2	107,2	110,0	103,5	112,8	103,5	
IV/	4 (-1)	<i>A</i> (+1)	<i>A</i> (± 1)	78,4	110,8	105,1	91,7	113,6	92,9	
10	4(1)	4(11)	4(11)	81,3	108,7	107,5	95,3	105,3	102,1	
V	10 (+1) 2 (-1)	2 (-1)	2 (-1)	99,1	87,2	96,8	84,7	77,2	81,5	
v	10(11)			2(1)	96,4	84,6	89,9	82,5	79,6	80,6
V/I	$10(\pm 1)$	0 (+1) 2 (-1)	<i>A</i> (± 1)	94,4	79,2	95,5	32,7	75,0	78,7	
	10(11)	2(1)	4(11)	98,1	80,1	100,5	32,2	74,3	80,1	
VII	10 (+1)	4 (+1)	2 (-1)	99,1	85,3	95,9	78,0	92,4	82,8	
<u></u>	10(11)	4(11)	2(1)	102,9	87,3	97,5	79,9	94,7	87,9	
VIII	10 (+1)	4 (+1)	4 (+1)	4 (+1)	99,1	93,3	108,4	76,4	82,5	88,7
• III	10(11)	4(11)	4(11)	95,0	90,5	105,1	72,9	85,5	88,1	
IX	2 (-1 7)	3 (0)	3 (0)	106,6	112,5	116,9	110,4	112,2	108,1	
	2(1,7)	0 (0)	0(0)	104,3	108,1	112,8	105,7	111,1	104,6	
х	12 (+1 7)	3 (0)	3 (0)	80,5	74,0	79,4	43,1	73,2	72,4	
	12 (11,17)	0 (0)	0(0)	86,8	78,6	83,1	47,5	69,3	79,1	
XI	7 (0)	1 (-1 7)	3 (0)	83,6	81,1	83,4	80,7	77,1	78,4	
	. (0)	. (.,.)	0 (0)	83,6	79,9	82,9	79,4	83,2	76,5	
XII	7 (0)	5 (+1 7)	3 (0)	97,3	105,0	107,4	97,8	105,8	100,3	
,	. (0)	0(11,1)	0 (0)	93,0	103,0	105,7	95,3	100,2	95,0	
XIII	7 (0)	3 (0)	1 (-1 7)	91,5	88,4	91,3	87,5	88,3	87,1	
	. (0)	0 (0)	. (.,.)	95,6	92,7	97,0	92,6	98,7	86,3	
XIV	7 (0)	3 (0)	5 (+1.7)	98,3	104,5	106,9	97,0	94,0	97,9	
	. (0)	0 (0)		97,7	103,3	105,6	95,6	93,0	96,6	
XV	7 (0)	3 (0)	3 (0)	106,0	105,9	99,8	87,3	104,6	95,5	
	. (0)	0 (0)	0 (0)	100,4	95,4	98,3	94,3	104,3	92,6	
XVI	7 (0)	3 (0)	3 (0)	102,2	98,0	100,4	96,4	100,7	95,3	
/	. (0)		3(0)	108,7	104,5	107.6	104,4	99,3	98,7	

Tabela.5.5 - Matriz do delineamento composto central 2³ para estudo das variáveis pH, número de extrações e volume sobre e recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) no lodo de esgoto

As recuperações obtidas para os ensaios de otimização da extração em sedimento foram inferiores às obtidas para o lodo nas mesmas condições. A maioria dos ensaios apresentou recuperações superiores a 50%, porém em seis deles foram observados valores inferiores. Os dados obtidos indicam uma maior dificuldade na extração em sedimento quando comparada à extração dos lodos devido à complexidade inerente a este tipo de matriz.

	(Fatores codificação))		Recuperações (%)					
	рН	Extraçõe s	Solvente (mL)	CAF	СІТ	VEN	FLU	SER	AMI	
Ι	4 (-1)	2 (-1)	2 (-1)	78,5 82,1	62,4 64,1	59,6 59,3	84,4 86,1	79,9 77,3	67,5 66,2	
II	4 (-1)	2 (-1)	4 (+1)	79,2 81,3	75,1 75,3	72,2 72,7	90,3 92,2	78,6 80,9	76,7 78,3	
III	4 (-1)	4 (+1)	2 (-1)	86,0 79,3	83,8 76,7	80,8 73,9	95,9 88.5	84,2 77.2	85,8 78,5	
IV	4 (-1)	4 (+1)	4 (+1)	72,7 70,7	86,7 85,4	84,9 87,1	84,6 84,7	72,1 68.2	82,2 80.0	
V	10 (+1)	2 (-1)	2 (-1)	94,0 92,4	44,9 48.1	42,8 44,3	47,2 53.8	59,5 65.2	50,6 55.8	
VI	10 (+1)	2 (-1)	4 (+1)	92,5 91,2	70,1 68.5	71,3 73,7	81,1 82,4	78,6 68,7	79,8 78,3	
VII	10 (+1)	4 (+1)	2 (-1)	98,3 96,2	80,5 85,9	79,6 85,7	82,2 86,5	83,0 86,4	82,9 85.4	
VIII	10 (+1)	4 (+1)	4 (+1)	88,1 89,3	88,0 88,9	90,7 92.0	88,8 88,8	77,9 77 1	91,0 90,6	
IX	2 (-1,7)	3 (0)	3 (0)	53,9 53 1	82,5 85,5	75,7 77 7	91,2 95,0	83,3 84 1	84,5 85.0	
Х	12 (+1,7)	3 (0)	3 (0)	98,3 98,7	92,0	95,6 94 1	100,1 99.9	89,8 88.0	98,9 97.0	
XI	7 (0)	1 (-1,7)	3 (0)	72,9 71,5	41,0 39,0	40,0 41,0	43,5	35,9 34,3	43,0 41,6	
XII	7 (0)	5 (+1,7)	3 (0)	84,8 87.1	94,3 90.9	100,1 102.5	87,8 83.6	65,4 60.6	89,2 85.7	
XIII	7 (0)	3 (0)	1 (-1,7)	91,8 84,4	34,4 29,3	29,9 24.8	54,6 47,9	47,4	33,9 28,0	
XIV	7 (0)	3 (0)	5 (+1,7)	88,6 93,8	50,3 53,3	44,6 49,4	67,0 73,3	55,3 58,9	49,3 52,0	
XV	7 (0)	3 (0)	3 (0)	99,6 100,8	49,7 51,6	45,1 47,3	74,2	62,0 65,3	52,4 53,9	
XVI	7 (0)	3 (0)	3 (0)	97,4	48,5	44,5	73,5	62,5 52,2	51,1 46,8	

Tabela 5.6 - Matriz do delineamento composto central 2 ³ para estudo das variáveis pH,
número de extrações e volume sobre e recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina
(AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) no
sedimento



Figura 5.5 - Percentual de recuperação da Cafeína (CAF) e dos antidepressivos Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEM) empregando delineamento composto central 2³ para otimização da extração em sedimento.

5.3.2 Análise estatística dos resultados obtidos a partir do planejamento de mistura simplex-centroide para otimização da fase extratora em sedimento e lodo de esgoto

A avaliação do efeito do solvente na extração dos antidepressivos e da cafeína da matriz sedimento para a interpretação dos resultados obtidos ocorreu pelo ajuste dos dados a modelos de mistura lineares, quadráticos e cúbicos especiais, considerando o planejamento simplex-centroide. A definição do modelo mais adequado ocorreu pela ANOVA de regressão e pelo teste de falta de ajuste ao nível de confiança de 95%. As Tabelas 5.7 e 5.8 apresentam as análises de variância para a modelagem do efeito solvente nas matrizes lodo de esgoto e sedimento respectivamente.

Tabela 5.7 - Análise de variância (ANOVA) para comparação dos modelos linear, quadrático e cúbico especial no o estudo do efeito da mistura de solventes sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto.

	Modelo	GL regressão	GL resíduos	p-Valor	F _{calculado}	R²
CAF	Linear	2	27	0,05	3,43	20,25
	Quadrático	3	24	0,00	36,22	85,57
	Cúbico Especial	1	23	0,00	47,91	95,32
	Linear	2	27	0,01	5,99	30,74
CIT	Quadrático	3	24	0,00	216,00	97,52
	Cúbico Especial	1	23	0,00	215,77	99,86
	Linear	2	27	0,15	2,01	12,93
VEN	Quadrático	3	24	0,00	141,55	95,34
	Cúbico Especial	1	23	0,01	14,04	97,18
FLU	Linear	2	27	0,00	18,65	54,90
	Quadrático	3	24	0,00	973,75	99,58
	Cúbico Especial	1	23	0,00	46,64	99,85
SER	Linear	2	27	0,00	13,22	45,73
	Quadrático	3	24	0,00	2948,24	99,83
	Cúbico Especial	1	23	0,01	7,15	99,86
ΑΜΙ	Linear	2	27	0,00	17,72	56,75
	Quadrático	3	24	0,00	310,23	98,91
	Cúbico Especial	1	23	0,00	84,88	99,76

SQ=Soma quadrática; GL= Graus de liberdade; MQ= Média Quadrática.

 $F_{crítico(0,05; 2,27)} = 3,35; F_{crítico(0,05; 3,24)} = 3,01 \text{ e } F_{crítico(0,05; 1,23)} = 4,28$

O modelo linear foi rejeitado, pois apesar da regressão ter sido significativa com base no $F_{calculado}$ e *p*-Valor, apresentou valores de coeficientes de determinação (R²) inferiores a 68% para todos os analitos e matrizes.

A análise de variância também indicou regressão significativa para os modelos quadrático e cúbico (*p*-Valor<0,05 e $F_{crítico} < F_{calculado}$), porém o modelo cúbico especial apresentou melhores coeficientes de determinação (R²).

	Modelo	GL regressão	GL resíduos	p-Valor	F _{calculado}	R²		
	Linear	2	27	0,00	29,8	68,80		
CAF	Quadrático	3	24	0,22	1,6	98,67		
	Cúbico Especial	1	23	0,00	179,7	98,76		
	Linear	2	27	0,00	22,1	62,03		
CIT	Quadrático	3	24	0,00	157,0	98,16		
	Cúbico Especial	1	23	0,00	285,2	99,86		
	Linear	2	27	0,00	29,99	68,96		
VEN	Quadrático	3	24	0,00	46,43	95,44		
	Cúbico Especial	1	23	0,00	41,52	98,37		
	Linear	2	27	0,00	17,92	57,04		
FLU	Quadrático	3	24	0,00	400,75	99,16		
	Cúbico Especial	1	23	0,00	28,95	99,63		
SER	Linear	2	27	0,00	22,53	62,53		
	Quadrático	3	24	0,00	97,48	97,16		
	Cúbico Especial	1	23	0,00	9,45	97,99		
ΑΜΙ	Linear	2	27	0,00	26,13	65,94		
	Quadrático	3	24	0,00	39,52	94,27		
	Cúbico Especial	1	23	0,00	232,12	99,48		

Tabela 5.8 - Análise de variância (ANOVA) para comparação dos modelos linear,
quadrático e cúbico especial no o estudo do efeito da mistura de solventes sobre as
recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU),
Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em sedimento.

SQ=Soma quadrática; GL= Graus de liberdade; MQ= Média Quadrática. $F_{crítico}$ (0.05; 2.27) =3,35; $F_{crítico}$ (0.05; 3.24) =3,01 e $F_{crítico}$ (0.05; 1.23) =4,28

Desse modo, a avaliação do efeito solvente sobre as recuperações nas matrizes considerou o modelo cúbico especial. Nas Tabelas 5.9 e 5.10 são apresentados os estudos de falta de ajuste e as equações para cada analito desprezados os termos não significativos.

Tabela 5.9 - Análise de variância do ajuste dos dados experimentais e equações preditas pelo modelo Cúbico especial para o estudo do efeito da proporção do solvente extrator sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) no lodo de esgoto.

	Fontes de Variação	SQ	GL	MQ	F _{calc.}	p-Valor	Modelo
CAF	Modelo	813,93	6	135,66	79,08	0,00	(%)R = 89,2(±0,7) * A +
	Resíduos	39,96	23	1,74			92,6(±0,7) * B +
	Falta de	0.47	2	0.40	0.00	0.07	85,4(±0,7) * C +
	ajuste	0,47	3	0,16	0,08	0,97	$54,0(\pm 3,7) * AB +$
	Erro puro	39,48	20	1,97			$40,6(\pm 3,7) * AC +$ $40.5(\pm 3,7) * BC -$
	Total	853,89	29				169.0(+24.4) * ABC
	Modelo	7466.00	6	1244.33	1604.99	0.00	$(\%)R = 76,3(\pm 0,5) * A +$
	Resíduos	17,83	23	0,78	,	-,	$78,5(\pm 0,5) * B +$
	Falta de	,		-, -			43,3(±0,5) * C +
CIT	ajuste	0,33	3	0,11	0,13	0,94	$76,4(\pm 2,5) * AB +$
	Erro puro	17,50	20	0,88			$128,6(\pm 2,5) * AC +$ $142.2(\pm 2.5) * BC -$
	Total	7483,83	29	·			$239.6(\pm 16.3) * BC =$
	Modelo	1674.66	6	279.11	132.31	0.00	$(\%)R = 88,7(\pm0,8) * A +$
	Resíduos	48.52	23	2.11	- ,-	-,	76,5(±0,8) * B +
VEN	Falta de			,			85,8(±0,8) * C +
	ajuste	0,42	3	0,14	0,06	0,98	$59,8(\pm 4,1) * AB +$
	Erro puro	48,10	20	2,40			$48,9(\pm 4,1) * AC +$
	Total	1723.17	29	,			$75,7(\pm 4,1) * BC =$ 104 3(+26 9) * ABC
	Modelo	25833 39	6	4305 57	3388 43	0.00	(0) $P = 012(10.6) + A + 100$
	Resíduos	29.23	23	1.27	0000,10	0,00	$(\%)R = 91,3(\pm 0,6) * A + 78.9(\pm 0.6) * B \pm$
	Falta de			.,			56.2(+3.2) * AB +
FLU	ajuste	2,05	3	0,68	0,50	0,68	$132,9(\pm 3,2) * AC +$
	Érro puro	27,17	20	1,36			240,8(±3,2) * <i>BC</i> –
	Total	25862,62	29	·			$142,6(\pm 20,9) * ABC$
	Modelo	29278,07	6	4879,68	3672,65	0,00	$(\%)R = 812(\pm0.6) * A \pm$
	Resíduos	30,56	23	1,33			$68,1(\pm0,6) * B +$
SED	Falta de	0.20	2	0.00	0,06	0,98	$126,9(\pm 3,2) * AB +$
SER	ajuste	0,20	3	0,09			83,5(±3,2) * <i>AC</i> +
	Erro puro	30,28	20	1,51			$267,6(\pm 3,2) * BC +$
	Total	29308,63	29				$57,1(\pm 21,3) * ABC$
	Modelo	18214,14	6	3035,69	1650,17	0,00	(%)R = 83,1(±0,8) * A +
	Resíduos	42,31	23	1,84			$80,0(\pm 0,8) * B +$
AMI	Falta de	1 5 2	2	0.51	0.25	0.96	$14,9(\pm 0,8) * C +$
	ajuste		3	0,01	0,20	0,00	1227(+38) * AC +
	Erro puro	40,78	20	2,04			$198,3(\pm 3,8) * BC -$
	Total	18256,45	29				231,5(±25,1) * ABC

SQ=Soma quadrática; GL= Graus de liberdade; MQ= Média Quadrática.

 $F_{crítico (0,05; 6,23)} = 2,52 \text{ e } F_{crítico (0,05; 3,20)} = 3,1$ (%R) recuperação; (A) Metanol; (B) Acetonitrila e (C) Água

Tabela 5.10 - Análise de variância do ajuste dos dados experimentais e equações preditas pelo modelo Cúbico especial para o estudo do efeito da proporção do solvente extrator sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) no sedimento.

	Fontes de Variação	SQ	GL	MQ	F _{calc.}	p-Valor	Modelo
CAF	Modelo	7249,43	6	1208,24	304,15	0,00	$-(\%)$ R989(+11) * A \pm
	Resíduos	91,37	23	3,97			98.4(+1.1) * B + 50.3(+1.1) *
	Falta de ajuste	7,64	3	2,55	0,61	0,62	$C + 19,5(\pm 5,6) * AB +$
	Erro puro	83,73	20	4,19			$69,6(\pm 5,6) * AC + 101,9(\pm 5,6) *$
	Total	7340,80	29				BC
	Modelo	6571,90	6	1095,32	27,94	0,00	
	Resíduos	90,04	23	3,92			$(\%)R = 2,5(\pm 0,3) * A +$
CIT	Falta de ajuste	9,51	3	3,17	0,77	0,99	$27,3(\pm 0,3) * B + 128,4(\pm 1,8) *$ $AB + 57.6(\pm 1.8) * BC -$
	Erro puro	80,53	20	4,03			195.9(+11.6) * ABC
	Total	6661,04	29				
	Modelo	2873,00	6	478,83	231,86	0,00	$(\%)R = 21,4(\pm 0,8) * A +$
	Resíduos	47,50	23	2,07			$28,7(\pm0,8) * B + 2,6(\pm0,8) * C +$
VEIN	Falta de ajuste	8,30	3	2,77	1,42	0,98	$66,7(\pm 4,0) * AB + 44,1(\pm 4,0) *$
	Erro puro	39,5	20	1,95			$AC + 40,1(\pm 4,0) * BC -$
	Total	2920,50	29				$171,4(\pm 26,6) * ABC$
	Modelo	11137,06	6	1856,18	1025,86	0,00	$(\%)R = 36,1(\pm 0,8) * A +$
	Resíduos	41,62	23	1,81			$50,4(\pm0,8) * B + 117,0(\pm3,8) *$
FLU	Falta de ajuste	4,45	3	1,48	0,80	0,98	$AB + 105,9(\pm 3,8) * AC -$
	Erro puro	37,17	20	1,86			$108,3(\pm 3,8) * BC -$
	Total	11178,67	29				$134,0(\pm 24,9) * ABC$
	Modelo	10314,30	6	1719,05	186,43	0,00	$(\%)R = 45,8(\pm 1,7) * A +$
	Resíduos	212,08	23	9,22			$52,3(\pm 1,7) * B + 79,6(\pm 8,5) *$
SER	Falta de ajuste	0,96	3	0,32	0,03	0,98	$AB + 140,9(\pm 8,5) * AC +$
	Erro puro	211,11	20	10,56			$60,8(\pm 8,5) * BC -$
	Total	10526,38	29				$172,8(\pm 56,2) * ABC$
	Modelo	4716,82	6	786,14	737,67	0,00	(%)R = 22,0(±0,6) * A +
	Resíduos	24,51	23	1,07			$32,9(\pm 0,6) * B + 90,8(\pm 2,9) *$
AMI	Falta de ajuste	1,25	3	0,42	0,36	0,81	$AB + 77,9(\pm 2,9) * AC +$
	Erro puro	23,26	20	1,16			$20,1(\pm 2,9) * BC -$
	Total	4741,33	29				291,2(<u>+</u> 19,1) * <i>ABC</i>

SQ=Soma quadrática; GL= Graus de liberdade; MQ= Média Quadrática.

 $F_{crítico(0,05; 6,23)} = 2,52 \text{ e } F_{crítico(0,05; 3,20)} = 3,10$

(%R) recuperação; (A) Metanol; (B) Acetonitrila e (C) Água

Para a regressão com modelo cúbico especial, comparando o $F_{crítico (0,05; 6,23)}$ =2,52 com o $F_{calculado}$ de cada fármaco no lodo de esgoto (CAF: $F_{calculado}$ = 79,8; CIT: $F_{calculado}$ = 1604,99; VEN: $F_{calculado}$ =132,31; FLU: $F_{calculado}$ =3388,43; SER: $F_{calculado}$ =3672,65; AMI: $F_{calculado}$ =1650,17) e no sedimento (CAF: $F_{calculado}$ = 304,15; CIT: $F_{calculado}$ = 2787,29; VEN: $F_{calculado}$ =231,86; FLU: $F_{calculado}$ =1025,86; SER: $F_{calculado}$ =186,43; AMI: $F_{calculado}$ =737,67) foi verificado que esta é significativa ($F_{crítico} < F_{calculado}$) para todos os antidepressivos e para a cafeína.

O estudo da falta de ajuste também comprovou que o modelo cúbico especial se ajusta satisfatoriamente aos dados experimentais, pois o valor de $F_{crítico (0,05; 3,20)}$ =3,10 foi maior do que o $F_{calculado}$ para cada analito ($F_{crítico} > F_{calculado}$ e *p*-Valor >0,05). A análise da distribuição de resíduos em torno da reta que indica normalidade confirma o ajuste, pois não foram observados pontos muito distantes. (Figuras 5.6 e 5.7). Tanto a regressão quanto a falta de ajuste foram avaliados no nível de significância de 95%.




Figura 5.6 - Distribuição dos resíduos em torno da reta normal do modelo cúbico especial para o efeito da mistura de solventes sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto

Figura 5.7 - Distribuição dos resíduos em torno da reta normal do modelo cúbico especial para o efeito da mistura de solventes sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em sedimento.

A análise dos efeitos por meio dos gráficos de Pareto (Figura 5.8) indica que os solventes puros metanol (A) e acetonitrila (B) apresentaram coeficientes significativos para a extração de todos analitos no lodo de esgoto. O metanol foi o principal efeito para VEN, FLU, SER e AMI, já a acetonitrila foi mais relevante para CAF e CIT. Dos solventes puros, a água foi não significativa para todos os analitos exceto para a cafeína, o que concorda com a sua elevada solubilidade neste solvente (FERREIRA, 2005; PEELER *et al.*, 2006).







As misturas binárias apresentaram efeito sinérgico para todos os compostos estudados. A mistura acetonitrila e água (BC) foi o principal efeito de interação observado para os antidepressivos. A combinação metanol e acetonitrila (AB) foi mais significativa que BC apenas para a cafeína. A mistura ternária metanol, acetonitrila e água apresentou efeito positivo apenas para a recuperação de sertralina, uma vez que nos demais analitos apresentou comportamento antagônico.

Na figura 5.9 são apresentados os gráficos de Pareto para avaliação do efeito do solvente na recuperação dos analitos em sedimento.



(A) Metanol; (B) Acetonitrila e (C) Água



Dentre os solventes puros, a acetonitrila (B) representou o principal efeito na extração dos antidepressivos (CIT, VEN, FLU, SER e AMI). Para a cafeína o maior efeito foi gerado pelo metanol (A). A água (C) foi significativa apenas na recuperação de cafeína e venlafaxina, uma vez que para os demais compostos apresentou-se abaixo do nível mínimo de significância. Foram observados efeitos sinérgicos em todas as misturas binárias empregadas na extração em sedimento, sendo a de efeito principal a combinação metanol e acetonitrila (AB) para CIT, VEN, FLU e AMI; para CAF o melhor efeito binário foi acetonitrila e água (BC) e para SER metanol e água (AC).

Assim como foi verificado no lodo de esgoto, a interação ternária apresentou efeito significativo para a maioria dos compostos, porém de forma antagônica, desfavorável à extração. A comparação entre os efeitos sobre as recuperações no lodo e no sedimento indica diferenças nos solventes mais significativos em cada matriz, cabendo destacar o metanol e suas combinações para o lodo e a acetonitrila e suas misturas para o sedimento. Os gráficos de contornos, gerados pelo modelo cúbico especial para o Lodo de esgoto (Figura 5.10) reproduzem o comportamento observado nos gráficos de Pareto.



Figura 5.10 - Gráficos de contorno para os efeitos da mistura de solventes sobre as recuperações de Cafeína (CAF) Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) preditas pelo modelo cúbico especial em Iodo de esgoto

A Figura 5.11 apresenta os gráficos de contornos para o modelo cúbico especial nas extrações em sedimento. Para todos os analitos foram observadas regiões de maior recuperação em torno da mistura binária metanol e acetonitrila ($\frac{1}{2}$: $\frac{1}{2}$) (v/v).



Figura 5.11 - Gráficos de contornos para os efeitos da mistura de solventes sobre as recuperações de Cafeína (CAF) Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) preditas pelo modelo cúbico especial em sedimento.

Os antidepressivos estudados e a cafeína têm caráter predominante básico devido à presença de grupos aminos. A presença de anéis e cadeias hidrocarbônicas e átomos de cloro nas estruturas orgânicas conferem caráter hidrofóbico e, portanto, maior solubilidade em solventes orgânicos do que em soluções aquosas. Por outro lado, a presença de grupos polares como hidroxilas, nitrilas, flúor e grupos aminos aumenta a solubilidade desses analitos em solventes orgânicos polares como o metanol e a acetonitrila.

A recuperação foi mais significativa nos ensaios onde havia a presença dos solventes orgânicos na mistura, em relação à água. A acetonitrila contribuiu sinergicamente tanto pura quanto nas misturas binárias, sugerindo afinidade entre este solvente e os analitos, o que possibilitou a dessorção dos antidepressivos e da cafeína da matriz e sua migração para a fase líquida extratora.

As Figuras 5.12 e 5.14 mostram as respostas individuais da função *desirability* (relacionados com cada analito) e o perfil global (multiextração) que indicaram a faixa ótima de trabalho pela superposição das curvas de nível tendo em vista as recuperações máximas de cada componente nas matrizes lodo e sedimento.



Figura 5.12 - Proporção otimizada dos solventes para extração simultânea de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) predita pela função *desirability* para lodo de esgoto.

Usando *desirability* global (sétima linha das figuras 5.12 e 5.14) como resposta verificou-se que há um máximo como ponto crítico. As coordenadas dos pontos são as proporções de componentes que geram a maior resposta para o sistema estudado. Isto pode ser observado nas Figuras 5.13 e 5.15, onde estão representados a superfície de respostas e o gráfico de contornos para o efeito das variáveis sobre a função *desirability* para as extrações em lodo e sedimento, respectivamente.



Figura 5.13 - (a) Superfície de respostas (b) Gráfico de Contornos para composição da fase extratora preditas pelo modelo cúbico especial para extração simultânea em lodo de esgoto com base na função *desirability*.

A otimização para o lodo de esgoto (Figuras 5.12 e 5.13) apresentou função *desirability (di)* igual 0,96, o que é considerado muito satisfatório, uma vez que o valor ideal deve ser 1,0 (CALADO e MONTGOMERY, 2003). Como resposta mais favorável para a composição da fase líquida na extração simultânea na matriz lodo de esgoto, a mistura binária metanol e acetonitrila (AB) na proporção (53:47) (v/v) foi indicada pela ferramenta empregada para a extração mais eficiente dos fármacos considerados. Os percentuais de recuperação previstos foram: 104% para a cafeína (CAF), 96% para o citalopram (CIT), 98% para venlafaxina (VEN), 99% para a fluoxetina (FLU), 107% para a sertralina (SER) e 104% para a amitriptilina (AMI). A condição ótima de extração prevista pelo modelo foi verificada experimentalmente e os valores de recuperação obtidos para todos os fármacos concordaram com os valores estimados: 104% (CAF); 101% (CIT); 102% (VEN); 96% (FLU); 102% (SER) e 95% (AMI).

A otimização do solvente extrator para o sedimento empregando a função *desirability (di)* é representada nas figuras 5.14 e 5.15.



Figura 5.14 - Proporção otimizada dos solventes para extração simultânea de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEM) preditas pela função *desirability* para sedimentos

O valor para a *desirability* global *(di)* foi de 0,97, indicando uma resposta igualmente satisfatória. De modo semelhante ao lodo, a otimização também obteve como solução ótima para o sedimento a mistura binária metanol e acetonitrila (AB) na proporção (45:55) (v/v). Os percentuais de recuperação preditos foram: 103% para a cafeína (CAF), 48% para o citalopram (CIT), 42% para venlafaxina (VEN), 73% para a fluoxetina (FLU), 68% para a sertralina (SER) e 50% para a amitriptilina (AMI). Os valores obtidos no ensaio de validação da condição ótima foram de 99%, 50%; 46%; 74%; 60% e 51%, respectivamente.



Figura 5.15 - (a) Superfície de respostas (b) Gráfico de Contornos para composição da fase extratora preditas pelo modelo cubico especial para extração simultânea em sedimento com base na função *desirability*.

As recuperações para o lodo de esgoto apresentaram percentuais próximos ao nível fortificado indicando que o emprego da proporção de solvente mais adequada fornece valores adequados. Contudo, para o sedimento, foram verificadas recuperações muito baixas apontando a necessidade de otimização de outras variáveis com a finalidade de tornar o procedimento de extração mais eficiente.

5.3.3 Análise estatística dos resultados obtidos a partir do delineamento composto central rotacional (DCCR) 2³ para otimização das variáveis pH, volume de solvente e número de extrações em sedimento e lodo de esgoto

A avaliação do efeito das variáveis pH, volume de solvente e número de extrações foi realizada com o auxílio do delineamento experimental

DCCR 2³ com a finalidade de estabelecer uma condição ótima para extração simultânea dos analitos após definidas as proporções ideais na mistura de solventes. Os ensaios realizados permitiram analisar os resultados com base nas evidências experimentais das regiões estudadas, para melhor compreensão processo de extração mediante a observação dos efeitos de interação, dos coeficientes de regressão e de modelos empíricos. Nas Tabelas 5.11 e 5.12 são apresentadas as análises de variâncias (ANOVA) dos resultados do DCCR considerando a influência dos fatores e a interação entre as variáveis num intervalo de confiança de 95%, bem como o modelo quadrático considerando os coeficientes significativos para as recuperações em lodo de esgoto e sedimento, respectivamente.

Tabela 5.11 - Análise de variância (ANOVA) do ajuste dos dados experimentais e equações preditas pelo modelo quadrático e suas interações para o estudo do efeito das variáveis pH, número de extrações e volume sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) no lodo de esgoto.

,313,6 $(\%)R = -23,7(\pm 12,8) +$ 8 $5,0(\pm 1,4) * A + 40,8(\pm 3,9) * B +$ 12,231,8(\pm 3,9) * C - 0,4 (\pm 0,07) * A^2 -2 $31,8(\pm 3,9) * C - 0,4 (\pm 0,07) * A^2 -$ 2 $37(\pm 0,5) * B^2 - 2,1(\pm 0,5) * C^2 6,0(\pm 0,7) * BC$ 720,7 $(\%)R = 7,6(\pm 1,4) * A +$ 0 $27,7(\pm 3,9) * B + 18,0(\pm 3,9) * C -$ 21,2 $0,3(\pm 0,07) * A^2 - 2,3(\pm 0,5) * B^2 -$ 1 $1,0(\pm 0,5) * C^2 - 0,9(\pm 0,02) * AB 0,9(\pm 0,02) * AC$
8 5,0 (±1,4) * A + 40,8(±3,9) * B + 1 2,2 31,8(±3,9) * C - 0,4 (±0,07) * A^2 - 2 3,7(±0,5) * B^2 - 2,1(±0,5) * C^2 - 6,0(±0,7) * BC 7 20,7 (%)R = 7,6(±1,4) * A + 27,7(±3,9) * B + 18,0(±3,9) * C - 2 1,2 0,3(±0,07) * A^2 - 2,3(±0,5) * B^2 - 1 1,0(±0,5) * C^2 - 0,9(±0,02) * AB - 0,9(±0,02) * AC
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
2 3,7($\pm 0,5$) * $B^2 - 2,1(\pm 0,5) * C^2 - 6,0(\pm 0,7) * BC$ 7 20,7 (%)R = 7,6($\pm 1,4$) * A + 27,7($\pm 3,9$) * B + 18,0($\pm 3,9$) * C - 2 1,2 0,3($\pm 0,07$) * $A^2 - 2,3(\pm 0,5) * B^2 - 1,0(\pm 0,5) * C^2 - 0,9(\pm 0,02) * AB - 0,9(\pm 0,02) * AC$ 7,3 6,1
$6,0(\pm 0,7) * BC$ $7 20,7 (\%)R = 7,6(\pm 1,4) * A + (\%)$
$\begin{array}{ccccccc} ,7 & 20,7 & (\%)R = 7,6(\pm 1,4) * A + \\ 0 & 27,7(\pm 3,9) * B + 18,0(\pm 3,9) * C - \\ 2 & 1,2 & 0,3(\pm 0,07) * A^2 - 2,3(\pm 0,5) * B^2 - \\ 1 & 1,0(\pm 0,5) * C^2 - 0,9(\pm 0,02) * AB - \\ & 0,9(\pm 0,02) * AC \end{array}$
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
,3 6,1
,3 6,1
0 (%)R = $31,3(\pm 13,5) + 25,7(\pm 4,1) *$
8 1,5 $B + 12,0(\pm 4,01) * C - 1,6(\pm 0,5) *$
9 $B^2 - 2,2(\pm 0,7) * BC$
12,2 (%)R = 72,0(±16,7) + 8,4 (±1,9) *
3 $A + 9,4(\pm 5,0) * C - 0,8(\pm 0,1) *$
$,5 1,7 A2 - 2,0(\pm 0,6) * B2 + 1,5(\pm 0,3) *$
3 $AB - 2,3(\pm 0,3) * AC + 3,0(\pm 0,9) *$
BL
$,0$ 20,8 $(\%)R = -73,1(\pm 15,0) +$
4 $11,7 (\pm 1,7) * A + 46,2(\pm 4,6) * B + 41,0(\pm 4,6) * C = 0.5 (\pm 0,1) * 4^{2}$
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
2 $1.0(+0.3) * AB - 1.7(+0.3) * AC - 1.0(+0.3) * AC - 1.0(+0.3) * AB - 1.7(+0.3) * AC - 1.0(+0.3) * AC + 1.0(+0.3) * AC + 1.0(+0.3) * AC + 1.0(+0.3) * AC +$
$4,9(\pm 0,8) * BC$
,3 14,5
6 $(\%)R = 20,1(\pm 13,3) + 25,4(\pm 4,0) *$
$B + 19,7(\pm 4,0) * C - 0,5(\pm 0,1) *$
7 $A^{*} = 2,0(\pm 0,5) * B^{*} = 1,0(\pm 0,5) *$
$L = 2,0(\pm 0,7) * DL$
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$

SQ=Soma quadrática; GL= Graus de liberdade; MQ= Média Quadrática.

*F*_{crítico (0,05; 9,22)} =2,3 e *F*_{crítico (0,05; 5,17)} =2,8

(%R) recuperação; (A) pH; (B) Número de extrações e (C) volume.

Tabela 5.12 - Analise de variância (ANOVA) do ajuste dos dados experimentais e equações preditas pelo modelo quadrático e suas interações para o estudo do efeito das variáveis pH, número de extrações e volume sobre as recuperações de Cafeína

	Fontes de Variação	SQ	GL	MQ	F _{calc.}	Modelo
CAF	Modelo	4015,5	9	446,2	15,4	
	Resíduos	635,7	22	29,0		(%)R = -45,5(±10,8) + 14,6 (±1,2) * A +
	Falta de ajuste	188,9	5	37,8	1,4	$35,6(\pm 3,3) * B + 19,2(\pm 3,3) * C -$
	Erro puro	446,8	17	26,3		$0,9(\pm 0,06) * A^2 - 4,9(\pm 0,4) * B^2 - 22(\pm 0,2) * C^2 - 22(\pm 0,6) * BC$
	Total	4651,2	31			$2,3(\pm 0,3) * C = 2,3(\pm 0,0) * BC$
CIT	Modelo	11399,9	9	1266,7	32,7	(%)R = 52,0(±1,1) + 23,6(±0,8) * B +
	Resíduos	852,7	22	38,8		$10,7(\pm 0,8) * C + 29,9(\pm 1,1) * A^2 +$
	Falta de ajuste	284,2	5	56,8	1,7	$9,2(\pm 0,8) * B^2 - 3,1(\pm 0,8) * C^2 +$
	Erro puro	568,5	17	33,4		$7,0(\pm 1,1) * AB + 2,6(\pm 1,1) * AC -$
	Total	12252,6	31			$5,9(\pm 1,1) * BC$
VEN	Modelo	14072,6	9	1563,6	29,5	$(\%)R = 125,7(\pm 10,6) - 29,1(\pm 1,2) * A -$
	Resíduos	1165,7	22	52,99		$25,6(\pm 3,2) * B + 21,1(\pm 3,2) * C +$
	Falta de ajuste	479,6	5	95,92	2,4	$1,7 (\pm 0,06) * A^2 + 6,7(\pm 0,4) * B^2 -$
	Erro puro	686,1	17	40,4		$1,7(\pm 0,4) * C^2 + 1,1(\pm 0,2) * AB +$
	Total	15238,3	31			$0,7(\pm 0,2) * AC - 3,1(\pm 0,6) * BC$
FLU	Modelo	7482,8	9	831,4	15,9	$(\%)$ R = 71,2(\pm 13,7) - 24,8(\pm 1,5) * A +
	Resíduos	1148,0	22	52,2		$23,9(\pm 4,2) * B + 26,4(\pm 4,2) * C +$
	Falta de ajuste	343,7	5	57,3	1,21	$1,0 (\pm 0,08) * A^2 - 2,1(\pm 0,5) * B^2 -$
	Erro puro	804,3	17	47,3		$2,9(\pm 0,5) * C^2 + 1,7(\pm 0,2) * AB +$
	Total	8630,8	31			$1,5(\pm 0,2) * AC - 5,0(\pm 0,7) * BC$
SER	Modelo	5351,7	9	594,6	8,7	(%)R = 79,4(±17,4) – 23,0 (±1,9) * A +
	Resíduos	1506,6	22	68,5		$19,8(\pm 5,3) * B + 17,8(\pm 5,3) * C +$
	Falta de ajuste	429,8	5	86,0	1,4	$1,2 (\pm 0,1) * A^2 - 2,3 (\pm 0,6) * B^2 -$
	Erro puro	1076,8	17	63,3		$1,6(\pm 0,6) * C^2 + 1,4(\pm 0,3) * AB +$
	Total	6858,3	31			$0,6(\pm 0,3) * AC - 3,8(\pm 0,9) * BC$
AMI	Modelo	10973,3	9	1219,3	23,2	$(\%)R = 118,0(\pm 11,9) - 30,3(\pm 1,3) * A -$
	Resíduos	1156,6	22	52,6		$9,9(\pm 3,6) * B + 22,1(\pm 3,6) * C +$
	Falta de ajuste	307,2	5	61,4	1,2	$1,8(\pm 0,07) * A^2 + 4,0(\pm 0,4) * B^2 -$
	Erro puro	849,4	17	50,0	,	$2,0(\pm 0,4) * C^2 + 1,0(\pm 0,2) * AB +$
	Total	12129,9	31	•		$1,5(\pm 0,2) * AC - 3,9(\pm 0,6) * BC$

(CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) no sedimento.

SQ=Soma quadrática; GL= Graus de liberdade; MQ= Média Quadrática.

*F*_{crítico (0,05; 9,22)} =2,3 e *F*_{crítico (0,05; 5,17)} =2,8

(%R) recuperação; (A) pH; (B) Número de extrações e (C) volume.

Ao comparar o $F_{crítico (0,05; 9,22)} = 2,52$ com o $F_{calculado}$ de cada fármaco no lodo de esgoto (CAF: $F_{calculado} = 13,64$; CIT: $F_{calculado} = 20,7$; VEN: $F_{calculado} = 6,1$; FLU: $F_{calculado} = 12,2$; SER: $F_{calculado} = 20,8$; AMI: $F_{calculado} = 14,5$) e no sedimento (CAF: $F_{calculado} = 15,4$; CIT: $F_{calculado} = 32,7$; VEN: $F_{calculado} = 29,5$; FLU: $F_{calculado} = 15,9$; SER: $F_{calculado} = 8,7$; AMI: $F_{calculado} = 3,2$) foi verificado que a regressão é significativa ($F_{crítico} < F_{calculado} = P-Valor < 0,05$) para todos os antidepressivos e para a cafeína.

O estudo da falta de ajuste também confirmou que os modelos quadráticos e as interações se ajustam satisfatoriamente aos dados experimentais, pois o valor de $F_{crítico}$ (0,05; 5,17) =2,8 foi maior do que o $F_{calculado}$ para todos os compostos estudados ($F_{crítico}$ > $F_{calculado}$). Isto é reforçado através da análise na distribuição dos resíduos em

torno da reta que indica normalidade, uma vez que não foram observados pontos muito distantes (Figuras 5.16 e 5.17). Tanto a regressão quanto a falta de ajuste foram avaliados no nível de significância de 95%.



Figura 5.16 - Distribuição dos resíduos em torno da reta normal de acordo como modelo quadrático do DCCR 2³ sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em Iodo de esgoto.



Figura 5.17 - Distribuição dos resíduos em torno da reta normal de acordo como modelo quadrático do DCCR 2³ sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em sedimento.

A análise dos efeitos lineares e quadráticos das variáveis estudadas, bem como as suas interações sobre as recuperações dos fármacos em estudo pode ser realizada pelo exame dos gráficos de Pareto (Figuras 5.18 e 5.19). A inspeção da Figura 3.18 permite verificar a ocorrência de muitos efeitos negativos para a recuperação de todos os fármacos estudados em lodo de esgoto.



(A) pH, (B) Número de extrações e (C) volume; (L) Linear e (Q) Quadrático

Figura 5.18 - Gráficos de Pareto para os efeitos das variáveis pH, número de extrações e volume sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto

Para a cafeína (CAF) foram significativos os efeitos da interação binária número de extrações e volume de solvente (BC), o número de extrações quadrático (B(Q)), o pH quadrático (A(Q)) o volume de solvente quadrático (C(Q)) e o número de extrações linear (B(L)). Dentre estes efeitos apenas o último foi sinérgico para a recuperação, ou seja, seu aumento conduz a melhores resultados. Os demais, por

apresentarem sinal negativo, conduzem a uma elevação da resposta a medida que são reduzidos.

Para o citalopram (CIT) todos os efeitos lineares e quadráticos foram significativos para a recuperação, bem como as interações binárias, excetuando a combinação do número de extrações e o volume de solvente (BC). Dos termos inseridos no modelo, apenas o número de extrações linear (B(L)) e o volume de solvente linear (C(L)) foram positivos, indicando que o incremento nestas variáveis possibilita uma elevação da recuperação. Os demais efeitos apresentaram comportamento antagônico apontando melhores respostas quando reduzidos.

As recuperações de venlafaxina (VEN) são melhoradas a medida que os efeitos do número de extrações linear (B(L)) e volume de solvente linear (C(L)) são aumentados. Os demais efeitos significativos foram pH linear (A(L)), número de extrações quadrático (B(Q)) e as combinações número de extrações e volume de solvente (BC) e pH com o número de extrações (AB). Todos apresentaram antagonismo reduzindo a resposta a medida que se elevam.

A fluoxetina (FLU) teve como único efeito não significativo o termo quadrático do volume de solvente (C(Q)). Foram sinérgicos apenas o número de extrações linear (B(L)) e a interação pH com o número de extrações (AB). Os demais termos apresentaram-se negativos indicando recuperações inadequadas quando elevados.

Semelhante à fluoxetina, a sertralina (SER) apresentou como efeito de significância inferior aos 5% o volume de solvente linear (C(L)). Dos significativos, todos são desfavoráveis à recuperação deste analito quando elevados, exceto o termo do número de extrações linear (B(L)), o único positivo observado.

Os efeitos que favorecem a extração de amitriptilina (AMI) são semelhantes aos observados para o citalopram, sendo sinérgicos o número de extrações linear (B(L)) e o volume de solvente linear (C(L)). Os demais termos significativos indicam redução na recuperação quando aumentados. Não foram relevantes os efeitos volume de solvente quadrático (C(Q)) e pH com o número de extrações (AB).

Em geral observou-se uma tendência apontando para o número de extrações (B) e para o volume de solvente (C) como principais variáveis, pois ao serem elevadas, há uma maior recuperação dos analitos no lodo de esgoto.



Figura 5.19 - Superfícies de resposta para os efeitos das variáveis pH, número de extrações e volume de acordo como modelo quadrático do DCCR 2³ sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto.

O pH (A) prejudica a resposta quando aumentado. As superfícies de resposta apresentadas na Figura 5.19 corroboram com estas asserções. Para a geração das mesmas, as variáveis não representadas foram fixadas no ponto central (pH=7, número de extrações=3 e volume de solvente=3 mL).

Ao se analisar as superfícies de respostas (Figura 5.19), observou-se um comportamento quadrático no pH (A), onde foi verificado a tendência de que os extremos reduzem o rendimento. As variáveis do número de extrações (B) e volume de solvente (C), conforme discutido anteriormente, apresentaram o comportamento proporcional, sendo que quanto maiores, melhores são as recuperações.

Outra observação pertinente é a de que as regiões com maiores recuperações situaram-se em torno do ponto central para a cafeína e para os demais analitos localizaram-se abaixo deste em relação ao pH e acima para número de extrações e volume de solvente.

A Figura 5.20 apresenta os efeitos das variáveis estudadas sobre a recuperação em sedimento. Para a cafeína (CAF) todos os termos quadráticos e lineares foram significativos, além da interação entre o número de extrações e o volume de solvente (BC). Apresentou influência positiva somente o termo pH linear (A(L)), sugerindo relação direta entre este efeito e a resposta. Os demais prejudicam a recuperação deste composto em sedimento quando elevados.

O único efeito não efetivo para o citalopram (CIT) foi o pH linear (A(L)). Dentre os efeitos cuja significância foi superior ao nível estabelecido, contribuíram de forma positiva o pH quadrático (A(Q)), o número de extrações tanto linear (B(L)) quanto quadrático (B(Q)), o volume de solvente linear (C(L)) e as interações binárias pH com número de extrações (AB) e pH com volume de solvente (AC). Apresentaram efeito antagônico o termo quadrático do volume de solvente (C(Q)) e a combinação entre o número de extrações e o volume de solvente (BC).

As recuperações de venlafaxina (VEN), fluoxetina (FLU) e amitriptilina (AMI) apresentaram todos os efeitos significativos, sendo comumente favoráveis a valores ideais os termos referentes ao pH quadrático (A(Q)), número de extrações linear (B(L)), volume de solvente linear (C(L)), a interação do pH com o número de extrações (AB) e pH com volume de solvente (AC). Os termos número de extrações quadrático (B(Q)) e pH linear (A(L)) foram sinérgicos para venlafaxina (VEN) e amitriptilina (AMI), pois para a fluoxetina (FLU) apresentaram comportamento

antagônico. A combinação número de extrações com volume de solvente (BC) foi positiva apenas para cafeína. Pode-se considerar que as variáveis investigadas possuíram efeito semelhante sobre a recuperação destes três compostos.



Figura 5.20 - Gráficos de Pareto para os efeitos das variáveis pH, número de extrações e volume sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em

sedimento.

A sertralina (SER) apresentou como termos significativos e positivos os efeitos pH quadrático (A(Q)), número de extrações linear (B(L)) e a interação do pH com o número de extrações (AB). Foram antagônicos número de extrações

quadrático (B(Q)), o volume de solvente quadrático (C(Q)) e a interação binária número de extrações com volume de solvente (BC).

A principal diferenciação entre os efeitos observados no lodo em relação ao sedimento é que para este último foi verificado comportamento sinérgico do pH (A) para todos os analitos tanto em termos quadráticos (Q) ou lineares (L).

As superfícies de resposta apresentadas na Figura 5.21 permitem uma análise visual dos efeitos sobre os percentuais de recuperação. As variáveis não representadas foram fixadas no ponto central (pH=7, número de extrações=3 e volume de solvente= 3 mL).

Assim como foi observado na extração em lodo de esgoto, para o sedimento verifica-se um comportamento quadrático no pH (A), porém com redução na recuperação dos antidepressivos para os valores extremos. A interação das variáveis número de extrações (B) e volume de solventes (C) também afeta a resposta, uma vez que são obtidos bons resultados para poucas extrações com maior volume de extrator ou várias extrações empregando menores volumes.

A avaliação geral das informações fornecidas pelo DCCR permitiu verificar que o pH foi a variável de influência específica em cada matriz, pois para o lodo de esgoto observam-se as curvas de maior recuperação em valores ácidos. No sedimento, as regiões de melhor desempenho tendem a valores alcalinos de pH. As demais variáveis apresentaram comportamento semelhante ao fornecerem melhores respostas à medida que são aumentadas em ambas as matrizes.

Estes resultados confirmam que a otimização do valor de pH da fase extratora é crucial para a eficiente extração de compostos ácidos e básicos. O ajuste do pH resulta em uma maior razão de distribuição e garante elevados fatores de enriquecimentos e valores de recuperação dos analitos de interesse (PEDERSEN-BJERGAARD e RASMUSSEN, 2000).

As cargas elétricas que se formam nos grupos funcionais em argilominerais são originadas pela sorção ou dessorção de prótons (íons H⁺) ou de íons hidroxilas (OH⁻) nos grupos funcionais de superfície. Já na matéria orgânica, o principal grupo funcional é o grupo carboxila (-COOH) (SPOSITO, 1989; POLETO *et al.*, 2009).



Figura 5.21 - Superfícies de resposta para os efeitos das variáveis pH, número de extrações e volume de acordo como modelo quadrático do DCCR 2³ sobre as recuperações de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em sedimento.

Ajustes no pH, focando alterações nos equilíbrios envolvendo estas estruturas podem aumentar a eficiência da extração, uma vez que tanto o equilíbrio de dissociação quanto a solubilidade de compostos básicos como os antidepressivos e a cafeína são diretamente afetados pelo pH da matriz onde se encontram.

A preferência por valores ácidos para o lodo de esgoto sugere um mecanismo de protonação da matriz ou dos analitos, favorecendo a transferência destes para a fase extratora. A fase extratora composta por acetonitrila e metanol, ambos solventes orgânicos polares, que solvatam os analitos através de interações dipolo-dipolo e ligação de hidrogênio, promove o aumento na extração (KUURANNE *et al.*, 2003; ESRAFILI *et al.*, 2007).

A tendência observada para a extração em sedimento, de valores alcalinos de pH para o aumento da extração obtida, sugere um mecanismo diferenciado. A ionização de grupos ácidos na matriz causa expansão e repulsão de cargas, resultando na transferência da fase solida para a solução uma vez que os ácidos húmicos do sedimento apresentam maior grau de oxigenação que a matéria orgânica em lodos (DICK *et al.*, 1998; ROSA *et al.*, 2000). Com isso há uma maior abundância de prótons que podem ser neutralizados. Além disso, em pH básico os analitos em estudo encontram-se neutros, na forma de base livre, e consequentemente mais solúveis nos solventes orgânicos usados na extração.

A presença do solvente orgânico age na supressão ou a atenuação das interações hidrofóbicas dos analitos com a matriz, facilitando os procedimentos de extração e influenciando positivamente na recuperação. Logo, tanto o aumento no volume quanto o no número de extrações sequenciais tende a melhorar a resposta (PEDERSEN-BJERGAARD e RASMUSSEN, 2004; KUOSMANEN *et al.*, 2003).

A condição ótima de extração simultânea foi definida pela análise das superfícies de resposta que relacionam as variáveis em estudo e o comportamento da *desirability* global perante a variação dos fatores, tendo em vista a visualização da região de maior *desirability*. As Figuras 5.22 e 5.23 representam a superfície de resposta para a função *desirability* para as recuperações em lodo de esgoto e sedimento, respectivamente.



Figura 5.22 - Superfícies de respostas para otimização das variáveis pH, número de extrações e volume de solvente com base nas recuperações simultâneas de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) com base na função *desirability* para lodo de esgoto.

Para o lodo, a resposta da função é maximizada para valores de pH entre 2 e 6, volume de solvente de 2,5 a 5,5 mL e número de extrações correlacionado ao volume de extrator empregado, sendo a faixa ideal de 2 a 5.



Figura 5.23 - Superfícies de respostas para otimização das variáveis pH, número de extrações e volume de solvente com base nas recuperações simultâneas de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) com base na função *desirability* para sedimentos

No sedimento, as regiões de maior *desirability* estão na faixa de pH que vai de 10 a 14, o volume de solvente 2,0 a 5,5 mL e de 3 a 5 extrações sequenciais.

As superfícies de respostas apresentadas nas Figuras 5.24 e 5.25 concordam com os efeitos preditos pelos modelos quadráticos empregados no ajuste dos dados experimentais.

Após a análise do DCCR, as condições experimentais otimizadas para a obtenção das melhores respostas de recuperação simultânea de cafeína, citalopram, venlafaxina, fluoxetina, sertralina e amitriptilina foram obtidas utilizando a função

desirability de Derringer. O uso desta função teve por objetivo encontrar as condições de operação que garantissem o cumprimento dos critérios para todas as respostas envolvidas e, ao mesmo tempo, proporcionassem a melhor possível na resposta conjunta (DERRINGER e SUICH, 1980; CANDIOTI *et al.*, 2014).

As Figuras 5.24 e 5.25 representam o perfil *desirability* para a otimização dos parâmetros de extração e os valores preditos pela otimização para o lodo de esgoto e o sedimento, respectivamente.



Figura 5.24 - Otimização das variáveis pH, número de extrações e volume de solvente para recuperações simultâneas de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) preditas pela função desirability para lodo de esgoto

O valor de função desirability global (*di*) para a extração simultânea em lodo (Figura 5.24) foi igual a 0,89 o que indica uma resposta satisfatória, por ser próximo a 1,0 (VAN GYSEGHEM *et al.*, 2004).

A condição indicada como mais favorável à obtenção de valores de recuperações elevadas para todos os analitos foi o pH 3,2, volume de 4 mL do solvente extrator e 3 ciclos de extrações. Os percentuais de recuperação preditos foram: 97% para a cafeína (CAF), 113% para o citalopram (CIT), 111% para

Capítulo 5

venlafaxina (VEN), 110% para a fluoxetina (FLU), 113% para a sertralina (SER) e 106% para a amitriptilina (AMI). Os valores obtidos no ensaio de validação da condição ótima foram de 95%, 101%; 98%; 104%; 97% e 93%, respectivamente, o que está em excelente correspondência com os valores preditos pelo modelo.

Na otimização da recuperação em sedimento (Figura 5.24) foram obtidas condições ideais distintas em relação ao lodo de esgoto. A função desirability global (*di*) para a extração simultânea nesta matriz foi de 0,98 e por estar próxima a 1,0 considera-se a resposta muito satisfatória (CALADO e MONTGOMERY, 2003; CANDIOTI *et al.*, 2014).



Figura 5.25 - Otimização das variáveis pH, número de extrações e volume de solvente para recuperações simultâneas de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) preditas pela função desirability para sedimentos

Na Figura 5.25 são verificadas, na sétima linha, as condições otimizadas indicadas pela função *desirability* para o sedimento. O pH ideal foi de 11, o número de extrações foi 4 e o volume de solvente 3 mL. As recuperações preditas para este conjunto de parâmetros foram: 96% para a cafeína (CAF), 99% para o citalopram

(CIT), 103% para venlafaxina (VEN), 100% para a fluoxetina (FLU), 91% para a sertralina (SER) e 102% para a amitriptilina (AMI). A validação da condição ótima ocorreu através de um ensaio de confirmação em duplicata onde foram recuperados 92%, 96%, 90%, 97%, 85% e 94% de cada analito, respectivamente.

5.4 CONCLUSÕES

O planejamento de misturas simplex-centroide mostrou-se adequado no estudo do efeito da proporção entre os solventes metanol, acetonitrila e água na composição da fase extratora, pois o modelo cúbico especial foi significativo ao nível de confiança de 95% para todos os analitos. O delineamento composto central rotacional (DCCR) 2³ para estudo do pH, volume de solvente e número de extrações forneceu, dentro dos níveis estudados, a melhor opção nos valores de recuperação ao nível de significância de 95%, uma vez que, o modelo quadrático ajustou-se satisfatoriamente aos dados tanto para as recuperações em lodo quanto em sedimento.

Com base nas particularidades de cada matriz, a realização dos ensaios baseados em delineamentos experimentais permitiu aferir recuperações distintas num mesmo nível de concentração dos analitos no lodo e sedimento, indicando abordagens diferenciadas nas proporções de solventes, pH, número de etapas e volume adequado para cada um.

Nas otimizações realizadas os valores de recuperação preditos foram semelhantes aos obtidos experimentalmente, indicando que o emprego da função *desirability* foi estatisticamente significativo para a obtenção de condições de trabalho otimizadas.

Os resultados reforçaram a importância dos solventes metanol e acetonitrila no protocolo de extração, além da observação do pH como variável de maior influência quando comparadas as recuperações em lodo e sedimentos, pois afeta diretamente os analitos e grupos ácidos na matriz.

REFERÊNCIAS

AZZOUZ, A.; BALLESTEROS, E. Combined microwave-assisted extraction and continuous solid-phase extraction prior to gas chromatography-mass spectrometry determination of pharmaceuticals, personal care products and hormones in soils, sediments and sludge. **Science of the Total Environment**, v. 419, p. 208-15, 2012.

BANJOO, D. R.; NELSON, P. K. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. **Journal of Chromatography A**, v. 1066, n. 1-2, p. 9-18, 2005.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como Fazer Experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2. Porto Alegre: Editora da UNICAMP, 2003.

BOSSIO, J. P.; HARRY, J.; KINNEY, C. A. Application of ultrasonic assisted extraction of chemically diverse organic compounds from soils and sediments. **Chemosphere**, v. 70, n. 5, p. 858-64, 2008.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro-RJ: E-Papers Serviços Editoriais, 2003.

CANDIOTI, L. V.; DE ZAN, M. M.; CAMARA, M. S.; GOICOECHEA, H. C.. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v. 124, p. 123-38, 2014.

DARWANO, H.; DUY, S. V.; SAUVE, S. A new protocol for the analysis of pharmaceuticals, pesticides, and hormones in sediments and suspended particulate matter from rivers and municipal wastewaters. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 66, n. 4, p. 582-93, 2014.

DEAN, J.R., XIONG, G. Extraction of organic pollutants from environmental matrices: selection of extration technique. **Trends in Analytical Chemistry**, 19, 9, 553-564.2000.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous-optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12 (4), p. 214-219. 1980.

DEVIER, M. H.; LE MENACH, K.; VIGLINO, L.; DI GIOIA, L.; LACHASSAGNE, P.; BUDZINSKI, H. Ultra-trace analysis of hormones, pharmaceutical substances, alkylphenols and phthalates in two French natural mineral waters. **Science of the Total Environment**, v. 443, p. 621-32, 2013.

DICK, D.; GOMES, J.; ROSINHA, P. Caracterização de substâncias húmicas extraídas de solos e de lodo orgânico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, n. 4, p. 603-611, 1998.

DUAN, Y. P.; DAI, C. M.; ZHANG, Y. L.; LING, C. Selective trace enrichment of acidic pharmaceuticals in real water and sediment samples based on solid-phase extraction using multi-templates molecularly imprinted polymers. **Analytica Chimica Acta**, v. 758, p. 93-100, 2013.

ESRAFILI, A.; YAMINI, Y.; SHARIATI, S. Hollow fiber-based liquid phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography for extraction

and determination of some antidepressant drugs in biological fluids. **Analytica Chimica Acta**, v. 604, n. 2, p. 127-33, 2007.

FERREIRA, A. P. Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 6, p. 1884-1892, 2005.

FERREIRA, S. L. C., BRUNS, R. E., SILVA, E. G. P da., SANTOS, W. N. L. dos, QUINTELLA, C. M., DAVID, J. M., ANDRADE, J. B. de, BREITKREITZ, M. C., JARDIM, I. C. S. F. and NETO, B. B. Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems. **Journal of Chromatography A** 1158(1-2): 2-14, 2007.

GIEBULTOWICZ, J.; NALECZ-JAWECKI, G. Occurrence of antidepressant residues in the sewage-impacted Vistula and Utrata rivers and in tap water in Warsaw (Poland). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 104, p. 103-9, 2014.

HAWTHORNE, S. B.; GRABANSKI, C. B.; MARTIN, E.; MILLER, D. J. Comparisons of soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. **Journal of Chromatography A**, v. 892, n. 1-2, p. 421-33, 2000.

KUOSMANEN, K.; HYOTYLAINEN, T.; HARTONEN, K.; JONSSON, J. A.; RIEKKOLA,. Analysis of PAH compounds in soil with on-line coupled pressurised hot water extraction-microporous membrane liquid-liquid extraction-gas chromatography. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 375, n. 3, p. 389-99, 2003.

KUURANNE, T.; KOTIAHO, T.; PEDERSEN-BJERGAARD, S.; EINAR RASMUSSEN, K.; LEINONEN, A.; WESTWOOD, S.; KOSTIAINEN, R. Feasibility of a liquid-phase microextraction sample clean-up and liquid chromatographic/mass spectrometric screening method for selected anabolic steroid glucuronides in biological samples. **Journal of mass spectrometry: JMS**, v. 38, n. 1, p. 16-26, 2003.

LUQUE-GARCÍA, J.L., LUQUE-DE-CASTRO, M.D. Ultrasound: a powerful tool for leaching? .**Trends in Analytical Chemistry**, 22, 1, 41-47. 2003.

MARTINEZ BUENO, M. J.; ULASZEWSKA, M. M.; GOMEZ, M. J.; HERNANDO, M. D.; FERNANDEZ-ALBA, A. R. Simultaneous measurement in mass and mass/mass mode for accurate qualitative and quantitative screening analysis of pharmaceuticals in river water. **Journal of Chromatography A**, v. 1256, p. 80-8, 2012.

MOREIRA, I.; SCHEEL, G. L.; HATUMURA, P. H.; SCARMINIO, I. S. Efeito do solvente na extração de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina em Coffea arabica. **Química Nov**a, v. 37, n. 1, p. 39-43, 2014.

MUTAVDŽIĆ, P. D.; PINUŠIĆ, T.; PERIŠA, M. BABIĆ, S. Optimization of matrix solid-phase dispersion for liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of 12 pharmaceuticals in sediments. **Journal of Chromatography A**, v. 1258, p. 1-15, 2012.

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-phase microextraction and capillary electrophoresis of acidic drugs. **Electrophoresis**, v. 21, n. 3, p. 579-85, 2000.

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-phase microextraction utilising plant oils as intermediate extraction medium--towards elimination of synthetic

organic solvents in sample preparation. Journal of separation science, v. 27, n. 17-18, p. 1511-6, 2004.

PEELER, K. A.; OPSAHL, S. P.; CHANTON, J. P. Tracking Anthropogenic Inputs Using Caffeine, Indicator Bacteria, and Nutrients in Rural Freshwater and Urban Marine Systems. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 24, p. 7616-7622, 2006.

PINO, V., AYALA, J.H, AFONSO, A.M, GONZÁLEZ, V. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments by high-performance liquid chromatography after microwave-assisted extraction with micelar media. **Journal of Chromatography**, 869, 515-522. 2000.

POLETO, C.; MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. The identification of sediment sources in a small urban watershed in southern Brazil: An application of sediment fingerprinting. **Environmental Technology**, v. 30, n. 11, p. 1145-1153, 2009.

RADOVIC, T.; GRUJIC, S.; PETKOVIC, A.; DIMKIC, M.; LAUSEVIC, M. Determination of pharmaceuticals and pesticides in river sediments and corresponding surface and ground water in the Danube River and tributaries in Serbia. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 1, p. 4092, 2015.

RICE, S. L.; MITRA, S. Microwave-assisted solvent extraction of solid matrices and subsequent detection of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) using gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 589, n. 1, p. 125-32, 2007.

RODRIGUES, MARIA I.; IEMMA, ANTONIO F. Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamento. 1. ed. Campinas: Casa do Pão, 2005.

ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; FURLAN, M. Substâncias húmicas de turfa: estudo dos parâmetros que influenciam no processo de extração alcalina. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 472-476, 2000.

SANTOS, M. D. R.; CERQUEIRA, M. R. F.; DE OLIVEIRA, M. A. L.; MATOS, R. C.; MATOS, M. A. C. BoxBehnken design applied to ultrasound-assisted extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in river sediments by gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Methods**, v. 6, n. 6, p. 1650-1656, 2014.

SCHLUSENER, M. P.; HARDENBICKER, P.; NILSON, E.; SCHULZ, M.; VIERGUTZ, C.; TERNES, T. A. Occurrence of venlafaxine, other antidepressants and selected metabolites in the Rhine catchment in the face of climate change. **Environmental pollution**, v. 196, p. 247-56, 2015.

SPOSITO, G. The Chemistry of Soils. Oxford: Oxford University Press, 1989.

SUN, L., LEE, H.K. Microwave-assisted extration behavior of non polar and polar pollutants in soil with analysis by high-performance liquid chromatography. **Journal of Separation Science**, 25, 67-76. 2002.

SUSLICK, K.S., DIDENKO Y., FANG M.M., HYEON, T., KOLBECK, K.J., MCNAMARA III, W.B., MDLELENI, M.M., WONG, M. Acoustic cavitation and its chemical consequences. **Royal Society**, 357, 1751, 335. 1999.

VAN GYSEGHEM, E.; JIMIDAR, M.; SNEYERS, R.; REDLICH, D.; VERHOEVEN, E.; MASSART, D. L.; VANDER HEYDEN, Y. Selection of reversed-phase liquid chromatographic columns with diverse selectivity towards the potential separation of impurities in drugs. **Journal of chromatography**. A, v. 1042, n. 1-2, p. 69-80, 2004.

YOSHIARA, L. Y.; MADEIRA, T. B.; DELAROZA, F.; DA SILVA, J. B.; IDA, E. I. Optimization of soy isoflavone extraction with different solvents using the simplexcentroid mixture design. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, n. 8, p. 978-86, 2012.



CAPÍTULO 6

PESQUISA DE CAFEÍNA E ANTIDEPRESSIVOS COMUMENTE PRESCRITOS EM LODO DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS E SEDIMENTOS DE ÁGUA DOCE



RESUMO

O uso de antidepressivos está amplamente disseminado nos tempos atuais. Com isso, apresentam risco em potencial sobre os ecossistemas pela disposição de esgotos domésticos contendo metabólitos e estruturas inalteradas, mesmo após o processamento em estações de tratamento. Este capítulo propõe um método rápido para determinação simultânea de antidepressivos de uso frequente (citalopram, venlafaxina, fluoxetina, sertralina e amitriptilina) e de cafeína como marcador antrópico, baseado em extração por solvente auxiliada por micro-ondas e CLAE-PDA. O método analítico foi validado e considerado satisfatório para determinação simultânea dos antidepressivos e da cafeína em lodos de esgoto e sedimentos. Não foram verificados interferentes nos tempos de retenção dos padrões em estudo, indicando seletividade, porém o estudo de efeito matriz apontou interferência da matriz do lodo e sedimento na sensibilidade e na exatidão do método analítico, sendo, portanto empregada a calibração por adição padrão. A linearidade foi adequada para a faixa de 50 a 800 ng mL⁻¹ com limites de detecção e quantificação de 3,0 a 20,0 ng mL⁻¹ e 20,0 a 50 ng mL⁻¹ respectivamente. A precisão foi estimada pelo coeficiente de variação (CV) e apresentou valores inferiores a 8%. A exatidão foi avaliada por meio de ensaios com fortificação de amostras de sedimento e lodo em três níveis de concentrações. A faixa de recuperação variou de 60 a 99%. O método foi aplicado em amostras de lodo de esgoto e sedimentos da região do Reservatório de Itaipu. Os resultados confirmam a presença dos analitos no lodo de esgoto e indicam os resíduos de estações de tratamento como uma rota de inserção de micropoluentes no meio ambiente local, uma vez que os antidepressivos também foram encontrados nos sedimentos de rio.

Palavras Chaves: Poluentes emergentes, antidepressivos, Iodo, sedimentos, monitoramento ambiental, Validação Analítica.

ABSTRACT

The use of antidepressants is widespread in modern times. Thus, they present a potential risk for the ecosystems of domestic sewage containing metabolites and structures unchanged even after the processing treatment stations. This paper proposes a fast method for simultaneous determination of frequent use of antidepressants (citalopram, venlafaxine, fluoxetine, sertraline and amitriptyline) and caffeine as anthropic marker, based on solvent extraction assisted by microwave and CLAE-PDA. The analytical method was validated and found satisfactory for the simultaneous determination of antidepressants and caffeine in sewage sludge and sediments. There were checked interfering in the retention times of the standards under study, indicating selectivity, but the matrix effect study showed interference of sludge and sediment matrix in sensitivity and accuracy of the analytical method and is therefore used calibration by standard addition. Linearity was adequate for the range from 50.0 to 800.0 ng mL¹ with limits of detection and quantification of from 3.0 to 20.0 ng mL⁻¹ and 20.0 to 50 ng mL⁻¹ respectively. The accuracy was estimated by the coefficient of variation (CV) is presented below 8%. Accuracy was assessed by testing fortification of sludge and sediment samples at three concentration levels. The recovery range varied from 60 to 99%. The method was applied in sludge samples of sewage and sediments of the Itaipu reservoir region. The results confirm the presence of analytes in sewage sludge and indicate waste treatment plants as a micropollutants insertion route in the local environment, since antidepressants have also been found in river sediments.

Key Words: Emerging Pollutants, antidepressants, sludge, sediment, environmental monitoring, Analytical Validation.

6.1 INTRODUÇÃO

A presença de microcontaminantes do grupo dos antidepressivos e a cafeína vêm sendo investigada em estudos pioneiros realizados em estações de tratamento de esgotos (ETEs) e em lodos destinados a biofertilização (KINNEY *et al.*, 2006; FROEHNER *et al.*, 2010; LAJEUNESSE *et al.*, 2012; MARTÍN *et al.*, 2012; GOLOVKO *et al.*, 2014; GAGO-FERRERO *et al.*, 2015; SUBEDI e KANNAN, 2015). Os inibidores seletivos de recaptura de serotonina (ISRS) compreendem uma das classes mais importantes de antidepressivos, por serem os mais comumente prescritos e utilizados no tratamento contra depressão. Com isso, apresentam maior aporte nas fontes de entrada dos ecossistemas (esgotos e resíduos gerados em ETEs) e possibilidade de efeitos ecotoxicológicos (ZORITA, MARTENSSON e MATHIASSON, 2007; BERGERSEN, HANSSEN e VASSKOG, 2012; COSTA JUNIOR, PLETSCH e TORRES, 2014; GIEBULTOWICZ e NALECZ-JAWECKI, 2014; SCHLUSENER *et al.*, 2015).

As tecnologias atualmente aplicadas nas estações de tratamento de esgotos são baseadas em processos convencionais, voltados à estabilização da matéria orgânica, remoção de nutrientes e desinfecção. Com isso, a degradação efetiva destes novos contaminantes é incerta (SUBEDI *et al.*, 2013). Alguns estudos têm sugerido a remoção de fármacos residuais, incluindo antidepressivos e seus metabolitos, na massa liquida de entrada e saída em sistemas de tratamento biológico (SIM, LEE e OH, 2010; VERLICCHI, AL AUKIDY e ZAMBELLO, 2012).

Contudo, outras pesquisas têm apontado que essa remoção trata-se apenas da transferência dos poluentes para o lodo e sedimentos, não ocorrendo degradação ou tratamento efetivo. A biomassa produzida nos reatores biológicos é comumente destinada à produção de biossólidos, cuja aplicação no solo pode resultar em uma nova rota de transporte para os ecossistemas (FLORES, SALCEDO e FERNÁNDEZ, 2011; NIEMI *et al.*, 2013; PEYSSON e VULLIET, 2013; SUBEDI *et al.*, 2013).

Assim, existe urgência por resultados e avanços científicos nos procedimentos de monitoramento ambiental, em especial no desenvolvimento de competências analíticas, equipamentos e métodos com a sensibilidade necessária à investigação nos diferentes focos de contaminação (BUCHBERGER, 2007; CARBALLA, OMIL e LEMA, 2008; AUFARTOVA *et al.*, 2011).

Os níveis de concentrações em que esses compostos se apresentam e a complexidade matricial são fatores limitantes no processo investigativo. As principais abordagens são baseadas em cromatografia líquida e gasosa com diferentes tipos de detectores (MARTINEZ BUENO *et al.*, 2012; DEVIER *et al.*, 2013).

Este capítulo teve por objetivo a validação e aplicação de uma metodologia rápida para determinação de cinco antidepressivos (amplo uso terapêutico) e da cafeína (como marcador antrópico) em lodo de estações de tratamento de esgoto e sedimento de corpo receptor, utilizando extração com solvente auxiliada por microondas e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector UV por arranjo de diodos. Posteriormente, o método foi aplicado em amostras de lodo e sedimentos provenientes de sistemas de tratamento e rios localizados na região do Reservatório de Itaipu, Brasil, uma importante fonte econômica e de abastecimento, carente de estudos envolvendo poluentes emergentes.

6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

6.2.1 Protocolo de Extração

Triplicatas de cada amostra, secas e peneiradas preparadas conforme descrito no capítulo 4, passaram por microextração auxiliada por micro-ondas e ultrassom. Como solvente extrator para o lodo foi utilizada uma mistura binária metanol e acetonitrila na proporção 53:47 (v/v) com pH ajustado para 3,0 e para os sedimentos a proporção 45:55 (v/v) em pH 11,0. Aproximadamente 5 g de amostras foram inseridos em tubos de ensaio juntamente com 20 mL de solvente extrator. Para o sedimento foram empregados 15 mL.

Estas condições foram definidas previamente por meio de ensaios de recuperação empregando delineamento experimental (Capítulo 5). A homogeneização da mistura ocorreu por agitação em vortex por 30 s. Na sequência, as amostras foram aquecidas em forno micro-ondas durante 20 s na potência 10 W.

Depois eram resfriadas à temperatura ambiente em banho ultrassônico durante 60 s e repetiam-se os procedimentos de agitação e aquecimento por três vezes. Para a separação das fases foi empregada centrifugação por 2 min a 2000 rpm e o extrato foi recolhido em um balão de destilação.

A amostra de lodo foi resubmetida aos procedimentos por mais duas vezes e a de sedimento por mais três vezes (conforme condições ótimas descritas no Capítulo 5), perfazendo um volume final em torno de 60 mL. O volume do extrato foi reduzido por rota-evaporação, a solução filtrada em filtro de seringa 0,22 µm (nylon, Chromafil®) e o volume ajustado a 5 mL com acetonitrila.

6.2.2 Estudo do efeito matriz

Para avaliar o efeito matriz sob a sensibilidade do método analítico foram obtidos extratos das amostras de lodo e sedimentos. Foram preparadas três curvas de calibração na faixa de 50,0 a 800 ng mL⁻¹ com cinco pontos em duplicata, usando na avolumagem de duas delas os extratos de matriz e na terceira o solvente puro acetonitrila. Para comparar os coeficientes angulares obtidos para as matrizes e o solvente, foi aplicado um *teste t* de comparação de médias ao nível de significância de 95%.

6.2.3 Validação

A seletividade foi avaliada pela comparação dos tempos de retenção e espectros UV de analitos nas soluções padrão e nas amostras. A quantificação dos analitos foi realizada por adição de padrão devido à complexidade matricial. Para tal, se fizeram adições de alíquotas diferentes de uma solução de trabalho contendo todos os analitos na concentração de 500 ng mL⁻¹, conforme a tabela 6.1.

A linearidade foi verificada mediante ao preparo de curvas com cinco pontos em triplicatas verdadeiras (n=3) na faixa de 50 a 800 ng mL⁻¹ utilizado o extrato das matrizes e solvente. Para a avaliação da linearidade foi aplicada a análise de

regressão com análise de variância (ANOVA) e teste de falta de ajuste ao nível de 95% de confiança usando software estatístico (Minitab 16.2.2).

Componentes	Adições						
componentes	1	2	3	4	5		
Amostra (μL)	250	250	250	250	250		
Padrão_0,5 µg mL⁻¹ (µL)	0	50	100	150	200		
Solvente (µL)	250	200	150	100	50		

Tabela 6.1 - Dosagens de adição padrão para quantificação dos analitos

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), que são respectivamente a menor concentração de um analito detectada e quantificada em uma amostra considerando precisão e exatidão, foram determinados através do desvio padrão do intercepto (S_a) das curvas de calibração na presença da matriz e do coeficiente angular (*b*). (Eq. 6.1 e Eq. 6.2)

$$LD = \frac{3S_a}{b}$$
 Eq. 6.1

$$LQ = \frac{10S_a}{b}$$
 Eq. 6.2

Para o estudo da exatidão, amostras de aproximadamente 1 g de lodo e sedimentos (n=3) foram adicionadas a tubos de ensaios e fortificadas com alíquotas da solução de trabalho em três níveis de concentração para uma concentração final esperada de 150,0; 300,0 e 600 ng g⁻¹, respectivamente. Após 1h, as amostras foram submetidas ao procedimento de extração e analisadas por CLAE-PDA. A exatidão foi calculada com base nas concentrações previstas e determinadas, sendo expressa em porcentagem (Eq. 6.3).

$$\% R = \frac{Concentração medida - Concentração inicial}{concentração fortificada} \times 100$$
 Eq. 6.3

A precisão do método foi avaliada nos níveis de repetitividade (ou precisão intradia) e precisão intermediária. Para tal, 1 g de amostra seca foi fortificada com a solução de trabalho para que a concentração prevista fosse de 600 ng g⁻¹. Depois de 1h foram processadas segundo o protocolo proposto e as concentrações
determinadas em duas bateladas (n=3) num mesmo dia para a repetitividade. Para a precisão intermediária, foram realizadas mais duas bateladas, no mesmo nível de concentração (n=3), porém alternado o dia, durante 3 dias. A avaliação ocorreu a partir do cálculo de desvio padrão relativo (*RSD*) ou *CV* (Eq. 6.4).

$$CV = \frac{s}{x}.100$$
 Eq. 6.4

6.2.4 Aplicação do método

Na aplicação do método foram usadas amostras de sedimentos de rios, onde são lançados esgotos, e amostras de lodos, provenientes de duas estações de tratamento de esgotos (ETEs), conforme caracterização apresentada no capítulo 4. Uma das ETEs é constituída de lagoas de estabilização que atendem uma população urbana de aproximadamente 12596 habitantes em Santa Helena - PR e a outra ETE opera por reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF) atendendo 37403 habitantes em Medianeira – PR. Ambas ETEs estão localizadas na região do Reservatório de Itaipu. Foram usadas 5,0 g das amostras secas e peneiradas e submetidas ao protocolo de extração descrito anteriormente.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 Efeito matriz

Amostras complexas como sedimentos e lodo de esgoto apresentam influência significativa dos componentes da matriz, dificultando as análises cromatográficas (ZULOAGA *et al.*, 2012; BARBOSA *et al.*, 2014). Na tabela 6.2 são apresentados os parâmetros de calibração obtidos no estudo do efeito matriz.

		Relação*		Teste t**						
	R ²			Coe	Coeficientes angulares			6/6	1/9	6/6
	Lodo	Sedimento	Solvente	Lodo	Sedimento	Solvente	L/3	3/3	13	3/3
CAF	0,99	0,99	0,99	25919	26046	23615	1,1	1,1	7,7	9,4
VEN	0,99	0,99	0,99	22495	22318	16999	1,3	1,3	28,3	24,1
CIT	0,99	0,99	0,99	20623	19261	16984	1,2	1,1	26,1	11,0
FLU	0,95	0,96	0,99	23842	17722	12173	2,0	1,5	42,7	34,2
SER	0,98	0,97	0,99	38318	21939	25116	1,5	0,9	26,4	10,1
AMI	0,99	0,99	0,99	24637	23379	15905	1,6	1,5	35,5	21,8

* razão entre o coeficiente angular da curva em lodo e solvente (L/S) e sedimento e solvente (S/S). ** Valores de $t_{calculado}$ para comparação dos coeficientes angulares médios da curva em lodo e solvente (L/S) e sedimento e solvente (S/S). $t_{(11; 0, 05)} = 1,81$

A simples inspeção da Figura 6.1 revela diferenças entre as áreas dos picos cromatográficos dos analitos quando as soluções foram preparadas em extratos de amostras de lodo, sedimento e em solvente orgânico.

Também, para os antidepressivos e a cafeína foram obtidos diferentes coeficientes angulares e lineares nas curvas preparadas. Nessa comparação, há indícios de que os componentes da matriz contribuem para introduzir erros sistemáticos nos resultados, sendo eles proporcionais e constantes (SILVA e COLLINS, 2011; BARBOSA *et al.*, 2014).

Os valores da razão entre os coeficientes angulares (extrato da matriz e solvente) quando maiores que 1,0 indicam efeito de matriz positivo, ou seja, a sensibilidade analítica para os compostos estudados sofre aumento na presença dos componentes da matriz. Na análise dos antidepressivos e da cafeína por CLAE-PDA a presença das matrizes lodo e sedimento provocou aumento da sensibilidade analítica. A exceção ocorreu na determinação de sertralina em sedimento, pois ao variar a concentração de sertralina na presença da matriz sedimento houve uma variação menor da área do pico se comparado às mesmas medidas na ausência do sedimento.

A confirmação da presença do efeito matriz ocorreu através da aplicação do *teste t* (Tabela 6.2) para a comparação de médias entre o coeficiente angular das curvas de calibração em matriz e em solvente puro. Os valores para $t_{calculado}$ na comparação entre a matriz lodo e o solvente para cafeína, citalopram, venlafaxina, fluoxetina, sertralina e amitriptilina foram 7,7; 28,3; 26,1; 42,7; 26,4; e 35,5 respectivamente.



Figura 6.1 - Curvas de calibração na presença das matrizes lodo de esgoto, sedimento e em solvente. a) Cafeína, b) Citalopram, c) Venlafaxina, d) Fluoxetina, e) Sertralina e f) Amitriptilina.

Para a comparação entre o efeito da matriz sedimentos sobre o solvente foram obtidos valores de $t_{calculado}$ correspondentes a 9,4; 24,1; 11,0; 34,2; 10,1 e 21,8 para os mesmos analitos. Ao nível de significância de 95% e os graus de liberdade iguais a 11 o valor de $t_{crítico}$ corresponde a $t_{(11;0,05)}=1,81$. Todas as comparações foram consideradas estatisticamente diferentes, pois $t_{crítico} < t_{calculado}$. Sendo, portando, aceita a hipótese de que nas duas matrizes investigadas ocorrem efeitos sobre o sinal analítico. Dessa forma, na quantificação dos antidepressivos e da cafeína foi empregada calibração por adição de padrão em cinco pontos em duplicata conforme a Tabela 6.1.

6.3.2 Validação do método CLAE-PDA para determinação simultânea dos antidepressivos e cafeína em sedimentos e lodos de esgoto usando adição padrão

A seletividade do método foi avaliada pela comparação dos cromatogramas obtidos do extrato de sedimentos e lodos e solução padrão em solvente na concentração de 500 ng mL⁻¹ (Figura 6.2). Não foram verificados interferentes nos tempos de retenção dos cinco antidepressivos analisados nos comprimentos de onda selecionados (226, 230, 241 e 274 nm) (Apêndice A).

Paralelamente, foi comparado o perfil de absorção UV dos picos cromatográficos correspondentes aos analitos na solução padrão e nos extratos das amostras. Os mesmos apresentaram similaridades, tanto no formato quanto no comprimento de onda máximo das principais bandas de absorção UV.

Os espectros mostram forte absorção na região de 220-250 nm, indicando a presença de ligações duplas conjugadas, enquanto que a absorção entre 250-290 nm indica a existência de anéis benzênicos ou heterocíclicos aromáticos.



Figura 6.2 - Cromatogramas extraídos a 230 nm: a) extrato de amostra de lodo b) extrato de amostra de sedimento sem os analitos, e c) solução padrão com a mistura dos seis analitos: Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹.

As estruturas dos analitos apresentadas na Tabela 6.3 concordam com o comportamento espectrofotométrico observado. Para a quantificação em máxima sensibilidade para cada analito foram definidos os comprimentos de onda em 245, 240, 231, 225, 228 e 274 nm para a AMI, CIT, FLU, SER, VEN e CAF, respectivamente.

Fármaco	Estrutura	t _r (min)	λ _{max} (nm)
Cafeína (CAF)	$C_8H_{10}N_4O_2$	1,9	274
Amitriptilina (AMI)		11,9	245
Citalopram (CIT)		5,4	240
Fluoxetina (FLU)	$(C_{20}H_{21}FN_{2}O)$	7,8	231
Sertralina (SER)		11,3	211
Venlafaxina (VEN)	$(C_{17}H_{17}Cl_2N)$	6,7	228

 Tabela 6.3 - Estruturas e características dos analitos investigados

No estudo da linearidade verificou-se que a resposta do método na faixa de trabalho utilizada foi adequada para todos os analitos, nas duas matrizes investigadas, com valores de R² de 99,0 a 99,8% (Tabelas 6.4 e 6.5). A regressão para cada curva foi avaliada através da análise de variância (ANOVA) no nível de confiança de 95%, indicando que o modelo linear se ajusta bem aos dados, sendo, portanto estatisticamente significativo.

Lodo de Esgoto										
	Parâmatros da Pagrossão	Validação Linearidade								
	Farametros de Regressão	Regre	essão	Falta de ajuste						
	Equação	F _{calculado}	p-Valor	F _{calculado}	p-Valor					
CAF	ÁREA=2003(±70)+26267(±154)[CAF]	99,9	29050	0,0	0,9	0,5				
CIT	ÁREA=1873(±85)+21838(±188)[CIT]		13562	0,0	4,0	0,1				
VEN	ÁREA=-434(±85)+19851(±187)[VEN]	99,9	11276	0,0	2,5	0,2				
FLU	ÁREA=23660(±112)+26977(±291)[FLU]		8611	0,0	3,0	0,1				
SER	ÁREA=2357(±89)+40832(±218)[SER]		35055	0,0	1,9	0,2				
AMI	ÁREA=2088 (±79)+25277(±177)[AMI]	100,0	20448	0,0	1,3	0,4				
	Sec	dimento								
	Parâmatros da Pagrossão		Validação Linearidade							
	Falametros de Regressão		Regre	essão	Falta de	e ajuste				
	Equação	R ²	F _{calculado}	p-Valor	F calculado	p-Valor				
CAF	ÁREA=1217(±79)+25052(±172)[CAF]	99,9	21105	0,0	3,5	0,1				
CIT	ÁREA=4043(±67)+22101(±147)[CIT]	100,0	22523	0,0	0,3	0,8				

99.9

99,8

99,9

99,9

8207

5198

16394

12585

0,0

0,0

0,0

0,0

Tabela 6.4 - Parâmetros de calibração e análise da linearidade para cafeína e antidepressivos em lodo de esgoto e sedimento.

 $F_{\text{crítico}}$ (1; 10; 0,05) de regressão = 4,97; $F_{\text{crítico}}$ (4; 6; 0,05) de falta de ajuste = 4,53.

ÁREA=1183(±90)+19861(±210)[VEN]

ÁREA=7647(±100)+18379(±255)[FLU]

ÁREA=29593(±83)+26139(±128)[SER]

ÁREA=7239(±101)+24887(±112)[AMI]

VEN

FLU

SER

AMI

As regressões foram consideradas satisfatórias, pois o $F_{calculado}$ para todas as regressões foi maior que o $F_{crítico}$, assim como o *p*-Valor foi menor que 0,05 para todos os analitos. Adicionalmente, o modelo linear não apresentou indícios de falta de ajuste para o nível de confiança de 95%, uma vez que, os valores de $F_{crítico}$ para a falta de ajuste foram maiores do que os de $F_{calculado}$ para cada analito ($F_{crítico}$ > $F_{calculado}$ e *p*-Valor >0,05) (Tabela 6.4).

A capacidade do método em detectar e determinar os antidepressivos e a cafeína nas concentrações de traços (ppb e ppm) foi estimada pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). Para a matriz lodo de esgoto, os valores

0,4

0,2

0,3

0,1

1,2

1,9

1,6

2,6

calculados de LD e LQ variaram de 3 a 10 ng mL⁻¹ e de 20 a 40 ng mL⁻¹, respectivamente. Para o sedimento foram obtidos limites de detecção entre 9 e 20 ng mL⁻¹ e limites de quantificação de 30 a 50 ng mL⁻¹ (Tabela 6.5).

		Lodo de Es	goto		Sedimentos				
	Lim	itos	Precisão		Lim	itos	Precisão		
Analitas	Limites		RP	PI		lites	RP	PI	
Anantos	LD (ng mL ⁻¹)	LQ (ng mL ⁻¹)	CV (%) (n=3)	CV (%) (n=6)	LD (ng mL ⁻¹)	LQ (ng mL ⁻¹)	CV (%) (n=3)	CV (%) (n=6)	
CAF	8,0	30,0	0,5	0,7	9,0	30,0	0,4	1,4	
CIT	10,0	40,0	1,0	5,8	9,0	30,0	3,3	4,1	
VEM	10,0	40,0	6,7	7,4	10,0	50,0	2,2	2,7	
FLU	10,0	40,0	1,7	1,8	20,0	50,0	2,4	2,7	
SER	3,0	20,0	2,6	4,4	10,0	30,0	1,9	6,2	
AMI	10,0	40,0	5,8	6,8	10,0	40,0	4,9	5,8	

Tabela 6.5 - Limites de detecção, quantificação e estimativa da precisão intermediária e da repetitividade para determinação de cafeína e antidepressivos em lodo de esgoto e sedimentos.

LD= Limite de Detecção; LQ= Limite de Quantificação; CV= Coeficiente de variação; RP=Repetitividade e PI=Precisão Intermediária.

Para a maioria dos analitos houve redução nos valores de LD e LQ no sedimento, em relação ao lodo. Os limites de quantificação e detecção estão de acordo com a faixa linear de trabalho, os valores são concordantes com os apresentados em um estudo empregando a mesma técnica CLAE-PDA em esgotos e solos, sendo para o citalopram, venlafaxina, fluoxetina e sertralina correspondentes a 10 e 30 ng mL⁻¹ (FLORES, SALCEDO e FERNÁNDEZ, 2011).

Os antidepressivos fluoxetina, sertralina, citalopram e venlafaxina foram determinados em amostras de plasma humano juntamente com outros sete fármacos por CLAE–PDA e os limites de detecção e quantificação foram de 2,5 e 5,0 ng mL⁻¹ respectivamente, sendo cerca de cinco vezes mais baixos do que aqueles obtidos neste estudo (DUVERNEUIL *et al.*, 2003). A principal diferença observada se deve ao uso da calibração por padrão interno, possibilitando menor interferência matricial na resposta. Para a cafeína, estudos também em plasma sanguíneo obtiveram LD e LQ correspondentes a 20 e 50 ng mL⁻¹ (ALVI e HAMMAMI, 2011), sendo estes similares aos obtidos nesta pesquisa empregando o mesmo sistema de separação e detecção.

Valores aproximados para limite de quantificação (50 ng mL⁻¹) também foram verificados para amitriptilina e fluoxetina na validação de um método rápido

por CLAE-PDA em amostras sanguíneas de pacientes depressivos em tratamento (AYMARD *et al.*, 1997).

O desenvolvimento e validação de metodologia CLAE-PDA para estudo de diversos fármacos, incluindo a fluoxetina, em águas superficiais em um estuário português apresentou limite de detecção corresponde a 234 ng mL⁻¹ e limite de quantificação de 800 ng mL⁻¹, valores aproximadamente dez vezes mais elevados em relação aos aqui obtidos (MADUREIRA *et al.*, 2010).

A sensibilidade verificada neste trabalho corrobora com os resultados reportados em diversas pesquisas empregando CLAE-PDA destacadas anteriormente. Detectores baseados em espectrofotometria UV-vis apresentam desempenho inferior aos de espectrometria de massas, comumente empregados em estudos envolvendo poluentes emergentes, contudo são mais acessíveis e disponíveis. Isto, somado à abundância dos analitos nas águas residuárias possibilita a proposição de metodologias baseadas nestes sistemas de detecção como uma fonte preliminar e rápida de informações.

Os resultados dos testes de precisão foram expressos como coeficiente de variação (CV) e são mostrados na Tabela 6.5. Os valores para a repetitividade variaram de 0,5 a 6,7% para o lodo de esgoto e de 0,4 a 4,9% para os sedimentos. A precisão intermediária foi de 0,7 a 7,4% no lodo e 1,4 a 6,2% no sedimento. Considerando o nível de fortificação testado, com aproximadamente de 10⁻⁴ % em concentração percentual dos analitos, são aceitos coeficientes de variação de até 8% (WOOD, 1999). Assim, os resultados sugerem que o método é preciso.

A exatidão foi avaliada por meio de ensaios com fortificação de amostras de sedimento e lodo de lagoas de estabilização em três níveis de concentrações e determinações por adição padrão.

Na Tabela 6.6 e Figura 6.3 são apresentados valores de recuperação para cada analito com base na concentração fortificada e na concentração obtida empregando o método CLAE–PDA proposto.

Considerando que os níveis de fortificação foram da ordem de 10⁻⁴ % em concentração percentual dos analitos, são adequadas as recuperações de 80 a 110% (AOAC, 2012). Neste estudo, as recuperações variaram na faixa de 60,1 a 99,1% para lodo de esgoto e 80,5 a 98,2% para sedimento.

As exatidões obtidas são superiores às observadas em um estudo empregando CLAE-PDA para determinação de citalopram, venlafaxina, fluoxetina e sertralina em solos, cujos valores de recuperação foram 7,1 a 8,1%; 50,3 a 60,8%; 78,8 a 80,6% e 88,5 a 97,3%, respectivamente (FLORES, SALCEDO e FERNÁNDEZ, 2011).

	Nível de Lodo		0	Sedimento			
Analito	fortificação (ng g ⁻¹)	Média (ng g ⁻¹) (n=3)	Recup. (%) (n=3)	Média (ng g ⁻¹) (n=3)	Recup. (%) (n=3)		
	150,0	142,0	92,2	122,0	80,7		
CAF	300,0	281,0	94,4	292,0	96,7		
	600,0	583,0	96,1	547,0	91,0		
	150,0	144,0	91,8	122,0	83,1		
CIT	300,0	295,0	97,1	271,0	89,2		
	600,0	494,0	82,3	496,0	80,5		
	150,0	140,0	91,8	152,0	98,2		
VEN	300,0	286,0	92,1	294,0	97,1		
	600,0	516,0	85,3	553,0	90,9		
	150,0	145,0	90, 7	152,0	96,9		
FLU	300,0	296,0	97,8	258,0	81,9		
	600,0	583,0	96,2	518,0	86,2		
	150,0	95,0	60,1	147,0	96,2		
SER	300,0	253,0	84,4	278,0	89,8		
	600,0	596,0	99,1	585,0	95,2		
	150,0	148,0	98,8	136,0	83,3		
AMI	300,0	274,0	90,0	253,0	82,6		
	600,0	562,0	92,6	528,0	85,3		

Tabela 6.6 - Valores de recuperação para de cafeína e antidepressivos os ensaios de exatidão empregando sedimentos e lodos de esgotos fortificados em três níveis.

n= Número de replicatas

Para a fluoxetina, estudada juntamente com outros fármacos em águas estuarinas foram obtidas recuperações de 48,7 a 59,7% (MADUREIRA *et al.*, 2010).

Uma pesquisa empregando CLAE–PDA para investigação de antidepressivos em plasma e urina reportou recuperações de 67 a 70% para amitriptilina e 80 a 84% para a fluoxetina (AYMARD *et al.*, 1997). Em um estudo no oeste do Texas (EUA), aplicando CLAE-PDA foi investigada a ocorrência de fármacos em solos agrícolas irrigados com lodo e esgoto, foram obtidas para a cafeína exatidões de 102% no esgoto, 72% no lodo e 91% no solo (KARNJANAPIBOONWONG *et al.*, 2010).

A validação de metodologia empregando extração auxiliada por ultrassom e CLAE-MS/MS na determinação de 148 fármacos e drogas ilícitas em amostras de lodo coletadas em estações de tratamento de esgoto em Aegean Sea (Grécia) obteve recuperações de 102% para cafeína 30% para amitriptilina, 73% para citalopram, 19% para Fluoxetina, 36% para sertralina e 89% para venlafaxina (GAGO-FERRERO *et al.*, 2015).



Figura 6.37- Porcentagens de recuperação de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em três níveis de fortificação. (SER) e Venlafaxina (VEN).

Outro estudo realizado na França, aplicando método de preparo de amostra QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) e CLAE-ATV/MS, para 136 fármacos obteve recuperações de 82 a 91% para a cafeína, 50 a 78% para a fluoxetina, 43 a 101% para a sertralina e 74 a 77% para a amitriptilina (PEYSSON e VULLIET, 2013). Uma pesquisa realizada em Wooster – Ohio (EUA) voltada à determinação de cinco antidepressivos e seus produtos de degradação por CLAE-MS/ESI em biossólidos preparados a partir de lodo de esgoto, destinados à

adubação agrícola apresentou exatidões de 75% para a fluoxetina, 89 % para a venlafaxina e 105% para o citalopram (NIEMI *et al.*, 2013).

Pode-se constatar que as diversas recuperações dos analitos estudados, reportadas na literatura possuem similaridade, sendo recorrente a obtenção de baixas recuperações quando aplicadas multidetecções, mesmo quando aplicadas técnicas mais sensíveis como a espectrometria de massas.

Para a maioria dos analitos estudados foram observadas melhores recuperações no lodo de esgoto. É possível que esta diferença, bem como, as recuperações inferiores verificadas na literatura, seja causada pela complexidade da matriz. A principal implicação é a dificuldade nos procedimentos de extração visando à elevação dos percentuais para os casos de multiextração.

6.3.3 Aplicação do método em amostras de sedimentos e lodos de esgoto da região do Reservatório de Itaipu, Paraná, Brasil

Para demonstrar a aplicação do método foram analisadas amostras de lodos de esgoto coletadas em duas estações de tratamento e sedimentos de rios localizados na região do Reservatório de Itaipu, Paraná, Brasil. Nas Figuras 6.4 e 6.5 são representados exemplos dos cromatogramas para as amostras empregando 5 g de lodo. No Apêndice B são apresentados os cromatogramas para todas as amostras estudadas.



Figura 6.4 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L3

A confirmação da presença do analito foi baseada na equivalência do tempo de retenção, do perfil do espectro UV e do comprimento de onda máximo do pico cromatográfico de cada fármaco nas amostras de calibração por adição de padrão e nas amostras reais sem adição de analito.



Figura 6.5 - Recortes do cromatograma da amostra L3 detectado no comprimento de onda máximo de cada analito a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c)
231 nm para fluoxetina, d) 227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f)
245 nm para a amitriptilina para a amostra L3. Em evidência o espectro de absorção UV do pico cromatográfico em destaque.

As concentrações obtidas para os analitos estudados nas amostras de lodo e sedimento podem ser observadas na Tabela 6.7 e Figura 6.6.

		Lodo () (ng g⁻¹)* n=2)	Se	Sedimento (ng g ⁻¹)* (n=2)			
	L1	L2	L3	L4	S1	S2	S 3	S4
CAF	24±10	130±50	1620±50	320±62	100±10	50±10	30±9	280±23
CIT	40±21	98±52	1180±100	800±160	70±3	50±5	<lq< td=""><td>150±16</td></lq<>	150±16
VEN	128±32	90±16	340±69	620±25	50±3	80±10	50±6	170±25
FLU	100±24	120±30	560±85	620±20	130±10	<lq< td=""><td>90±6</td><td>240±20</td></lq<>	90±6	240±20
SER	160±11	300±52	1400±158	460±12	170±15	<lq< td=""><td><lq< td=""><td><lq< td=""></lq<></td></lq<></td></lq<>	<lq< td=""><td><lq< td=""></lq<></td></lq<>	<lq< td=""></lq<>
AMI	<lq< td=""><td>92±23</td><td>1980±53</td><td>1260±82</td><td><lq< td=""><td><lq< td=""><td><lq< td=""><td>80±8</td></lq<></td></lq<></td></lq<></td></lq<>	92±23	1980±53	1260±82	<lq< td=""><td><lq< td=""><td><lq< td=""><td>80±8</td></lq<></td></lq<></td></lq<>	<lq< td=""><td><lq< td=""><td>80±8</td></lq<></td></lq<>	<lq< td=""><td>80±8</td></lq<>	80±8

Tabela 6.7 - Concentrações dos antidepressivos e cafeína nas amostras de lodo e esgoto.

* Média (±Desvio padrão)

Foram determinados teores de 24 a 1620 ng g⁻¹ de cafeína; 40 a 1180 ng g⁻¹ de citalopram; 90 a 620 ng g⁻¹ de venlafaxina; 100 a 620 ng g⁻¹ de fluoxetina; 160 a 1400 ng g⁻¹ de sertralina e 90 a 1980 ng g⁻¹ de amitriptilina.

Os valores obtidos são coerentes com os observados em um estudo de biossólidos (lodo) em lagoas de estabilização no Canadá, empregando extração em fase sólida e CLAE-MS/MS, cujos valores reportados foram 1030 ng g⁻¹ para o citalopram, 700 ng g⁻¹ para amitriptilina, 830 ng g⁻¹ para a venlafaxina e 90 ng g⁻¹ para fluoxetina (LAJEUNESSE *et al.*, 2012).

A presença de vinte cinco fármacos, incluindo a fluoxetina, foi investigada em amostras de biossólidos provenientes de estações de tratamento de esgotos domésticos nos EUA. O método empregado foi a extração por solventes e CLAE-ESI/MS. Os valores relatados foram 280 ng g⁻¹; 1500 ng g⁻¹; 190 ng g⁻¹ para amostras provenientes de diferentes regiões (KINNEY *et al.*, 2006).

Amitriptilina, fluoxetina e venlafaxina foram determinadas juntamente com outros vinte sete fármacos e drogas ilícitas em um estudo envolvendo a adsorção deste analitos em material sólido particulado de estações de tratamento de esgotos, por extração com solvente pressurizado, extração em fase sólida e CLAE-MS. As concentrações médias obtidas foram 330 ng g⁻¹; 110 ng g⁻¹ e 9 ng g⁻¹, respectivamente (BAKER e KASPRZYK-HORDERN, 2011).

O monitoramento da ocorrência de poluentes emergentes em biossólidos produzidos a partir de lodo de esgoto no distrito de Columbia, EUA, juntamente com o estudo do tempo de meia vida para amitriptilina, sertralina e outros trinta e três compostos analisados por CLAE-ESI/MS revelou concentrações de 280 ng g⁻¹ e 460 ng g⁻¹ para os dois antidepressivos (CHARI e HALDEN, 2012).



Figura 6.6 - Concentrações de antidepressivos e cafeína em lodo de esgoto e sedimentos. Amitriptilina (AMI), Cafeína (CAF), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN).

Por inspeção da Figura 6.6 pode ser verificado que as determinações dos antidepressivos e cafeína em lodo de esgoto foram mais comuns nas amostras L3 e L4. A amostra L4 é constituída de uma alíquota da manta de lodo produzida no interior de um reator anaeróbio do tipo RALF onde ocorre o tratamento do esgoto doméstico da cidade de Medianeira-PR. Trata-se de um material rico em biomassa e sólidos orgânicos onde, possivelmente, ocorre o acúmulo de contaminantes orgânicos menos solúveis.

A amostra L3 corresponde ao mesmo tipo de lodo, porém coletado previamente desidratado nos leitos de secagem. Neste local são dispostos periodicamente os excessos de lodos produzidos no reator durante a operação de desague da estação de tratamento. Com isso, a produção gerada ao longo de meses se concentra ainda mais pela desidratação natural resultando em maiores teores dos analitos em estudo nesta amostra.

As amostras L1 e L2 foram coletadas em uma estação de tratamento de esgotos que opera por um sistema de lagoas de estabilização do tipo australiano, na cidade de Santa Helena-PR. O lodo que compõe a amostra L1 foi retirado da lagoa anaeróbia inicial que recebe o esgoto bruto e a L2 da última unidade do sistema, sendo esta uma lagoa do tipo facultativa. Foi observada maior concentração dos analitos no final deste sistema. Este comportamento pode ser favorecido pela deposição de grande parte da biomassa suspensa gerada nas lagoas anteriores, permitindo o acúmulo no lodo nesta última unidade.

De modo comparativo, foram determinados maiores teores de antidepressivos e cafeína nos lodos provenientes do leito de secagem e reator anaeróbio (RALF) do que nas amostras provenientes das lagoas de estabilização.

A fotodegradação é um dos mecanismos que justifica os dados obtidos, pois pode contribuir para a degradação de fármacos em sistemas de tratamento de esgotos, principalmente quando empregadas lagoas facultativas. Estas unidades se caracterizam por possuírem grandes áreas superficiais com incidência de radiação solar e tempos de retenção hidráulicos em torno de 30 dias (MORENO, 1990).

As moléculas dos microcontaminantes presentes podem ter as ligações excitadas e clivadas diretamente pela radiação UV ou podem ser degradadas por radicais livres provenientes de outras substâncias fotolisadas (GURR e REINHARD, 2006). Apesar da ação destes mecanismos, fármacos residuais e outros compostos emergentes são encontrados nos compartimentos ambientais, sugerindo que os mesmos não são efetivos.

As determinações dos analitos em amostras de sedimentos de rios e do Reservatório de Itaipu, coletadas em regiões que recebem lançamento de esgotos tratados podem ser verificadas na Figura 6.6.

Foram verificadas concentrações de 30 a 20 ng g⁻¹ de cafeína; 50 a 150 ng g⁻¹ de citalopram; 50 a 170 ng g⁻¹ de venlafaxina; 90 a 240 ng g⁻¹ de fluoxetina; 170 ng g⁻¹ de sertralina e 80 ng g⁻¹ de amitriptilina.

Trabalhos voltados ao estudo dos antidepressivos investigados na matriz sedimentos ainda são escassos, principalmente pela complexidade do meio e do trabalho investigativo necessário. Contudo, a determinação de cafeína junto a outros poluentes emergentes já vem ocorrendo. Na região onde as amostras foram coletadas não existem registros de estudos ou publicações referentes a poluentes emergentes.

Um estudo realizado com sedimentos coletados em diferentes locais do Lago Michigan (EUA), investigou trinta produtos farmacêuticos e de higiene pessoal por CLAE-MS/MS, dentre os quais estavam inclusas a cafeína e a fluoxetina. Foram obtidas concentrações de 14 a 30 ng g⁻¹ e 12 a 20 ng g⁻¹ (BLAIR *et al.*, 2013). A multideterminação de oitenta e dois fármacos na Bacia Hidrográfica do Rio Iberian (Espanha), empregando UPLC-MS/MS, obteve valores máximos de 120 ng g⁻¹ de sertralina; 14 ng g⁻¹ para citalopram e 2 ng g⁻¹ para venlafaxina (OSORIO *et al.*, 2016). Nos dois estudos foram observadas medidas semelhantes para a sertralina e fluoxetina quando comparadas aos valores apresentados nesta pesquisa.

A cafeína e outros nove fármacos foram quantificadas por CLAE-MS/MS em sedimentos do Rio Umgemi, Durban City (África do Sul). As concentrações variaram de 87 a 435 ng g⁻¹, sendo estes valores próximos aos verificados em nossa pesquisa (MATONGO *et al.*, 2015).

Nas determinações realizadas em sedimentos, as maiores concentrações e variedades de analitos foram observadas nas amostras S1 e S4. A característica em comum é que ambas provém da região de foz de dois grandes afluentes do Reservatório de Itaipu, indicando aporte de contaminantes orgânicos oriundos de rios menores da região onde são lançados esgotos domésticos clandestinos e póstratados.

A amostra S2 representa o sedimento coletado em uma área dentro do reservatório, distante alguns quilômetros de uma fonte de lançamento contínuo de esgotos tratados. A amostra S3 foi colhida em um manancial de pequeno porte, a cerca de 0,5 km do local de despejo de uma estação de tratamento. Os dados sugerem dispersão dos poluentes remanescentes, com tendência ao acúmulo nos sedimentos em regiões de transição dos ambientes lóticos para lênticos, como verificado nas quantificações realizadas nas amostras S1 e S4.

6.4 CONCLUSÕES

Estudos envolvendo antidepressivos no meio ambiente são de grande importância para que sejam conhecidas suas rotas de dispersão e possíveis efeitos sobre a biota, uma vez que se trata de substâncias psicoativas de elevado consumo humano.

A proposição de métodos rápidos e menos onerosos é decisiva para que o monitoramento seja viável em uma instância preliminar de investigação. Nesse sentido, a metodologia para antidepressivos residuais, baseada em extração por solventes auxiliada por micro-ondas e CLAE-PDA, apresentada nesta pesquisa é uma ferramenta adequada pela simplicidade e disponibilidade.

A validação realizada permitiu considerar que o método é satisfatório e que apresenta concordância com outras pesquisas semelhantes existentes na literatura.

A aplicação em amostras reais de lodo proveniente de duas estações de tratamento de esgotos e nos sedimentos da região do Reservatório de Itaipu, Brasil revelou a presença dos cinco antidepressivos estudados no compartimento sólido, sugerindo uma possível fonte de entrada destes micropoluentes no ecossistema local.

REFERÊNCIAS

ALVI, S. N.; HAMMAMI, M. M. Validated HPLC method for determination of caffeine level in human plasma using synthetic plasma: application to bioavailability studies. **J Chromatography Science**, v. 49, n. 4, p. 292-6, 2011.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. Appendix F - Guidelines for standard method performance requirements. In: (Ed.). 19, 2012. p.16.

AUFARTOVA, J.; MAHUGO-SANTANA, C.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRIGUEZ, J. J.; NOVAKOVA, L.; SOLICH, P. Determination of steroid hormones in biological and environmental samples using green microextraction techniques: An overview. **Analytica Chimica Acta**, v. 704, n. 1-2, p. 33-46, 2011.

AYMARD, G.; LIVI, P.; PHAM, Y. T.; DIQUET, B. Sensitive and rapid method for the simultaneous quantification of five antidepressants with their respective metabolites in plasma using high-performance liquid chromatography with diode-array detection. Journal of chromatography. B, **Biomedical sciences and applications**, v. 700, n. 1-2, p. 183-9, 1997.

BAKER, D. R.; KASPRZYK-HORDERN, B. Multi-residue determination of the sorption of illicit drugs and pharmaceuticals to wastewater suspended particulate

matter using pressurised liquid extraction, solid phase extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography**. A, v. 1218, n. 44, p. 7901-13, 2011.

BARBOSA, É. S.; EVANGELISTA, G. F.; PIMENTA, E. M.; SILVÉRIO, F. O.; PINHO, G. P. D. Optimization and validation of solid-liquid extraction and purification at low temperature of PAHs in sewage sludge. **Química Nova**, v. 37, n. 3, 2014.

BERGERSEN, O.; HANSSEN, K. O.; VASSKOG, T. Anaerobic treatment of sewage sludge containing selective serotonin reuptake inhibitors. **Bioresource technology**, v. 117, p. 325-32, 2012.

BLAIR, B. D.; CRAGO, J. P.; HEDMAN, C. J.; KLAPER, R. D. Pharmaceuticals and personal care products found in the Great Lakes above concentrations of environmental concern. **Chemosphere**, v. 93, n. 9, p. 2116-2123, 2013.

BUCHBERGER, W. W. Novel analytical procedures for screening of drug residues in water, waste water, sediment and sludge. **Analytica Chimica Acta**, v. 593, n. 2, p. 129-39, 2007.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M. Comparison of predicted and measured concentrations of selected pharmaceuticals, fragrances and hormones in Spanish sewage. **Chemosphere**, v. 72, n. 8, p. 1118-23, 2008.

CHARI, B. P.; HALDEN, R. U. Validation of mega composite sampling and nationwide mass inventories for 26 previously unmonitored contaminants in archived biosolids from the U.S National Biosolids Repository. **Water Research**, v. 46, n. 15, p. 4814-24, 2012.

COSTA JUNIOR, I. L.; PLETSCH, A. L.; TORRES, Y. R. Ocorrência de Fármacos Antidepressivos no Meio Ambiente -Revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1408-1431, 2014.

DEVIER, M. H.; LE MENACH, K.; VIGLINO, L.; DI GIOIA, L.; LACHASSAGNE, P.; BUDZINSKI, H. Ultra-trace analysis of hormones, pharmaceutical substances, alkylphenols and phthalates in two French natural mineral waters. **Science the Total Environment**, v. 443, p. 621-32, 2013.

DUVERNEUIL, C.; DE LA GRANDMAISON, G. L.; DE MAZANCOURT, P.; ALVAREZ, J. C. A high-performance liquid chromatography method with photodiodearray UV detection for therapeutic drug monitoring of the nontricyclic antidepressant drugs. **Therapeutic drug monitoring**, v. 25, n. 5, p. 565-73, 2003.

FLORES, J. R.; SALCEDO, A. M. C.; FERNÁNDEZ, L. M. Rapid HPLC Method for Monitoring Relevant Residues of Pharmaceuticals Products in Environmental Samples. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 02, n. 01, p. 18-26, 2011.

FROEHNER, S.; PICCIONI, W.; MACHADO, K. S.; AISSE, M. M. Removal Capacity of Caffeine, Hormones, and Bisphenol by Aerobic and Anaerobic Sewage Treatment. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 216, n. 1-4, p. 463-471, 2010.

GAGO-FERRERO, P.; BOROVA, V.; DASENAKI, M. E.; TAUHOMAIDIS NU, S. Simultaneous determination of 148 pharmaceuticals and illicit drugs in sewage sludge based on ultrasound-assisted extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical and bioanalytical chemistry**, 2015.

GIEBULTOWICZ, J.; NALECZ-JAWECKI, G. Occurrence of antidepressant residues in the sewage-impacted Vistula and Utrata rivers and in tap water in Warsaw (Poland). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 104, p. 103-9, 2014.

GOLOVKO, O.; KUMAR, V.; FEDOROVA, G.; RANDAK, T.; GRABIC, R. Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. **Chemosphere**, v. 111, p. 418-26, 2014.

GURR, C. J.; REINHARD, M. Harnessing natural attenuation of pharmaceuticals and hormones in rivers. **Environmental science & technology**, v. 40, n. 9, p. 2872-6, 2006.

HALLING-SORENSEN, B.; NORS NIELSEN, S.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; HOLTEN LUTZHOFT, H. C.; JORGENSEN, S. E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment--a review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, p. 357-93, 1998.

KARNJANAPIBOONWONG, A.; SUSKI, J. G.; SHAH, A. A.; CAI, Q.; MORSE, A. N.; ANDERSON, T. A. Occurrence of PPCPs at a Wastewater Treatment Plant and in Soil and Groundwater at a Land Application Site. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 216, n. 1-4, p. 257-273, 2010.

KINNEY, C. A.; FURLONG, E. T.; ZAUGG, S. D.; BURKHARD, M. R.; WERNER, S. L.; CAHILL, J. D.; JORGENSEN, G. R. Survey of organic wastewater contaminants in biosolids destined for land application. **Environmental science & technology**, v. 40, n. 23, p. 7207-15, 2006.

LAJEUNESSE, A.; SMYTH, S. A.; BARCLAY, K.; SAUVE, S.; GAGNON, C. Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada. **Water Research**, v. 46, n. 17, p. 5600-12, 2012.

MADUREIRA, T. V.; ROCHA, M. J.; CASS, Q. B.; TIRITAN, M. E. Development and optimization of a HPLC-DAD method for the determination of diverse pharmaceuticals in estuarine surface waters. **Journal of chromatographic science**, v. 48, n. 3, p. 176-82, 2010.

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

MARTINEZ BUENO, M. J.; ULASZEWSKA, M. M.; GOMEZ, M. J.; HERNANDO, M. D.; FERNANDEZ-ALBA, A. R. Simultaneous measurement in mass and mass/mass mode for accurate qualitative and quantitative screening analysis of pharmaceuticals in river water. **Journal of Chromatography A**, v. 1256, p. 80-8, 2012.

MATONGO, S.; BIRUNGI, G.; MOODLEY, B.; NDUNGU, P. Occurrence of selected pharmaceuticals in water and sediment of Umgeni River, KwaZulu-Natal, South Africa. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 13, p. 10298-308, 2015.

MORENO, M. D. A tracer study of the hydraulics of facultative stabilization ponds. **Water Research**, v. 24, n. 8, p. 1025-1030, 1990.

NIEMI, L. M.; STENCEL, K. A.; MURPHY, M. J.; SCHULTZ, M. M. Quantitative determination of antidepressants and their select degradates by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry in biosolids destined for land application. **Analytical Chemistry**, v. 85, n. 15, p. 7279-86, 2013.

OSORIO, V.; LARRAÑAGA, A.; ACEÑA, J.; PÉREZ, S.; BARCELÓ, D. Concentration and risk of pharmaceuticals in freshwater systems are related to the population density and the livestock units in Iberian Rivers. **Science of The Total Environment**, v. 540, p. 267-277, 2016.

PEYSSON, W.; VULLIET, E. Determination of 136 pharmaceuticals and hormones in sewage sludge using quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction followed by analysis with liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry. **Journal of chromatography A**, v. 1290, p. 46-61, 2013.

SCHLUSENER, M. P.; HARDENBICKER, P.; NILSON, E.; SCHULZ, M.; VIERGUTZ, C.; TERNES, T. A. Occurrence of venlafaxine, other antidepressants and selected metabolites in the Rhine catchment in the face of climate change. **Environmental pollution**, v. 196, p. 247-56, 2015.

SILVA, C. G. A. D.; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.

SIM, W. J.; LEE, J. W.; OH, J. E. Occurrence and fate of pharmaceuticals in wastewater treatment plants and rivers in Korea. **Environmental pollution**, v. 158, n. 5, p. 1938-47, 2010.

SUBEDI, B.; KANNAN, K. Occurrence and fate of select psychoactive pharmaceuticals and antihypertensives in two wastewater treatment plants in New York State, USA. **The Science of the total environment**, v. 514, p. 273-80, 2015.

SUBEDI, B.; LEE, S.; MOON, H. B.; KANNAN, K. Psychoactive pharmaceuticals in sludge and their emission from wastewater treatment facilities in Korea. Environmental science & technology, v. 47, n. 23, p. 13321-9, 2013.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment--a review. **The Science of the total environment**, v. 429, p. 123-55, 2012.

WOOD, R. How to validate analytical methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 9-10, p. 624-632, 1999.

ZORITA, S.; MARTENSSON, L.; MATHIASSON, L. Hollow-fibre supported liquid membrane extraction for determination of fluoxetine and norfluoxetine concentration at ultra trace level in sewage samples. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 15, p. 2513-21, 2007.

ZULOAGA, O.; NAVARRO, P.; BIZKARGUENAGA, E.; IPARRAGUIRRE, A.; VALLEJO, A.; OLIVARES, M.; PRIETO, A. Overview of extraction, clean-up and detection techniques for the determination of organic pollutants in sewage sludge: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 736, p. 7-29, 2012.



CAPÍTULO 7 ESTUDO DE DEGRADAÇÃO DE ANTIDEPRESSIVOS RESIDUAIS E CAFEÍNA EMPREGANDO FOTÓLISE DIRETA



RESUMO

Atualmente a presença de produtos farmacêuticos no meio ambiente é um tema que requer atenção, tendo em vista o risco ecotoxicológico sobre a biota. Há necessidade de compreensão dos processos de introdução e transporte desses microcontaminantes, bem como a avaliação de suas persistências nos diferentes compartimentos. As tecnologias convencionais utilizadas em estações de tratamento tanto de água quanto esgoto não são eficientes para remover estes resíduos e os efeitos dessas substâncias não são bem conhecidos. Sendo assim, estudou-se a degradação da cafeína e seis antidepressivos de amplo uso popular (venlafaxina, citalopram, fluoxetina, sertralina e amitriptilina) por fotólise direta. Foram realizados ensaios de degradação empregando um reator de bancada com capacidade para 100 mL equipado com fonte artificial de radiação composta por uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão (254 nm) e insolação natural. As soluções aquosas foram preparadas em água destilada e esgoto tratado. As variáveis pH e concentração inicial estabelecidas nos ensaios foram previamente otimizadas empregando delineamento experimental. As determinações analíticas foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS duplo feixe e CLAE-PDA. Os produtos de degradação foram avaliados de forma qualitativa nos ensaios empregando água e fonte artificial de radiação. Os dados experimentais foram ajustados a modelos cinéticos a fim de obter as taxas de reação e o tempo de meiavida nas condições estudadas. A otimização indicou a concentração de 5 mg L⁻¹ e o pH 4 como mais adequados, sendo estes utilizados em todas as etapas posteriores. Foi observada maior degradação em matrizes complexas como esgoto e águas superficiais, indicando que a persistência depende também de espécies dissolvidas capazes de fazerem parte dos mecanismos de degradação. A cinética que aparentemente descreve a fototransformação dos compostos nas condições estudadas foi a de pseudo-primeira ordem. Os resultados apontam aplicação da fotólise direta como promissora para a degradação dos antidepressivos e cafeína em soluções aquosas contaminadas. O estudo qualitativo dos subprodutos formados no processo artificial em solução aquosa possibilitou confirmar a transformação dos analitos. Contudo, a literatura atual tem indicado a predominância de mecanismos de substituição no composto original em detrimento à clivagem ou mineralização completa, o que não assegura inativação dos microcontaminantes, visto que os compostos formados ainda podem apresentar efeito ecotoxicológico. Os resultados obtidos empregando luz solar sugerem a persistência dos microcontaminantes investigados quando expostos apenas a esta fonte de radiação no ambiente. A incidência de radiação solar varia com as estações do ano e a condição meteorológica, criando cenários específicos em que a possibilidade de fotólise natural é variável ou incerta.

Palavras Chave: Poluentes emergentes; Fármacos; Persistência; Tratamento; Fotodegradação.

ABSTRACT

Presently the presence of pharmaceuticals in the environment is an issue that requires attention, considering the ecotoxicological risk on biota. There is a need to introduction understand the processes of and transportation of these microcontaminants, as well as the evaluation of their persistence in the different compartments. Conventional technologies used in both water and sewage treatment plants are not efficient to remove these wastes and the effects of such substances are not well known. Thus, the degradation of caffeine and six widely used antidepressants (venlafaxine, citalopram, fluoxetine, sertraline and amitriptyline) were studied by direct photolysis. Degradation tests were performed using a 100 mL capacity bench reactor equipped with an artificial radiation source composed of a high pressure mercury vapor lamp (254 nm) and natural insolation. The aqueous solutions were prepared in distilled water and treated sewage. The variables pH and initial concentration established in the tests were previously optimized using experimental design. The analytical determinations were carried out using a UV-VIS dual-beam spectrophotometer and HPLC-PDA. The degradation products were evaluated qualitatively in the tests using water and artificial source of radiation. The experimental data were adjusted to kinetic models in order to obtain the reaction rates and the half-life in the studied conditions. The optimization indicated the concentration of 5 mg L-1 and pH 4 as more suitable, being used in all subsequent stages. Further degradation was observed in complex matrices such as sewage and surface waters, indicating that the persistence also depends on dissolved species capable of being part of the degradation mechanisms. The kinetics that apparently describes the phototransformation of the compounds under the studied conditions was that of pseudo-first order. The results indicate the application of direct photolysis as promising for the degradation of antidepressants and caffeine in contaminated aqueous solutions. The qualitative study of the by-products formed in the artificial process in aqueous solution made it possible to confirm the transformation of the analytes. However, current literature has indicated the predominance of substitution mechanisms in the original compound in detriment of complete cleavage or mineralization, which does not ensure inactivation of microcontaminants, since the compounds formed may still have an ecotoxicological effect. The results obtained using sunlight suggest the persistence of microcontaminants investigated when exposed to this source of radiation in the environment. The incidence of solar radiation varies with the seasons and the meteorological condition, creating specific scenarios in which the possibility of natural photolysis is variable or uncertain.

Keywords: Emerging pollutants; Drugs; Persistence; Treatment; Photodegradation.

7.1 INTRODUÇÃO

O estudo de poluentes emergentes nos ecossistemas ainda é recente, com isso, o conhecimento dos mecanismos envolvidos na sua introdução e os possíveis meios de tratamento ou remediação visando à redução dos impactos ambientais necessitam de maior investigação (COSTA JUNIOR *et al.*, 2014).

A presença dos poluentes emergentes em termos de concentrações efetivas nas diversas matrizes ambientais depende diretamente da eficiência dos processos de tratamentos aplicados às águas residuárias nas estações de tratamento, uma vez que o despejo de esgotos domésticos e industriais nas águas superficiais é apontado como uma das principais rotas de dispersão dos contaminantes emergentes, em especial os fármacos.

Os métodos de tratamento amplamente empregados nas estações de tratamento de esgotos são baseados unicamente em processos convencionais (operações físicas e bioquímicas), voltados à estabilização da matéria orgânica, remoção de nutrientes e desinfecção. Com isso, a degradação efetiva destes novos contaminantes é praticamente inexistente (SUBEDI *et al.*, 2013).

Alguns estudos têm sugerido a remoção de fármacos residuais, incluindo cafeína, antidepressivos e seus metabolitos, no esgoto tratado, mediante a avaliação de parâmetros de entrada e saída em sistemas de tratamento biológico (SIM *et al.*, 2010; VERLICCHI *et al.*, 2012). Contudo, outras pesquisas têm indicado apenas a transferência dos poluentes para o lodo e sedimentos por mecanismos de sorção, não ocorrendo degradação ou tratamento efetivo.

Os principais estudos que discutem a remoção dos fármacos residuais em águas residuárias reportam como tecnologias mais promissoras a ozonização, sorção, radiação UV e oxidação fenton (HORSING *et al.*, 2012; HYLAND *et al.*, 2012; LAJEUNESSE *et al.*, 2013). Contudo, os custos destes recursos são muito elevados, o que implica na necessidade de desenvolver técnicas igualmente eficazes, mas de menor impacto financeiro e de maior acessibilidade.

Alguns sistemas de tratamentos convencionais, baseados em lagoas de estabilização, apresentam como característica uma grande área superficial susceptível a incidência de radiação solar, assim como o método de cura dos

biossólidos produzidos durante o tratamento que ocorre em leito de secagem ao sol. Com isso a radiação UV natural pode ser considerada uma possível fonte de degradação destes fármacos mediante a ocorrência do processo de fotólise.

Estudos recentes têm demonstrado que micropoluentes farmacêuticos são susceptíveis a fotodegradação nos compartimentos. Caso não sejam removidos por outros meios químicos, podem ser expostos a reações fotoquímicas em águas superficiais iluminadas pelo sol na presença de matéria orgânica, oxigênio dissolvido e outras espécies reativas (ANDREOZZI *et al.*, 2003; BOREEN *et al.*, 2003; LAM *et al.*, 2004; LAM *et al.*, 2005).

A maior parte das pesquisas sobre os efeitos da radiação UV buscam elucidação dos mecanismos fotoquímicos envolvidos na persistência e destino dos fármacos no ambiente natural e em pequenas estações solares de pós-tratamento de esgotos domésticos.

O processo de fotólise ou fotodegradação pode ocorrer de maneira direta ou indireta. A forma direta é observada quando os fótons emitidos com a radiação incidente são absorvidos pela molécula do fármaco promovendo a clivagem de ligações químicas. Na forma indireta, algumas moléculas presentes no meio são excitadas pela radiação incidente e, após a quebra das mesmas, um elétron permanece em cada fragmento com a formação de radicais que podem agir na degradação dos microcontaminantes ou no acréscimo de novos grupos funcionais na estrutura original (ANDREOZZI *et al.*, 2003; ALAPI e DOMBI, 2007; KEEN *et al.*, 2014).

Neste capítulo foi proposta a avaliação da fotólise artificial e natural aplicada à degradação de cinco antidepressivos de uso comum e da cafeína em meio aquoso e lodo de estação de tratamento, tendo em vista a susceptibilidade dessas moléculas orgânicas à interação com a radiação ultravioleta e a escassez de informações sobre o destino desses compostos nos compartimentos ambientais.

7.2 MATERIAIS E MÉTODOS

7.2.1 Instrumental

Nos ensaios preliminares e individuais com cada analito foi utilizado um espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 45 de feixe duplo. Os fármacos foram monitorados na faixa 400 a 200nm com resolução de 2 nm. Foram utilizadas cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm. Para os estudos de degradação utilizou-se o instrumental descrito no capítulo 3.

7.2.2 Otimização das condições de fotólise

Foi realizado um planejamento fatorial completo 2² com pontos centrais, utilizando-se o *software STATISTICA* 10.0. Como variáveis independentes (fatores), foram considerados os parâmetros pH e concentração do analito. Os níveis aplicados a cada fator e a codificação dos mesmos são apresentados na Tabela 7.1. A resposta usada na análise estatística foi a porcentagem de remoção dos analitos e seu ajuste ao modelo linear mediante a ANOVA de regressão ao nível de 95% de confiança. Cada experimento foi realizado em duplicata. Para cada reação o reator foi preenchido com 100 mL da solução individual dos analitos e o pH da solução foi ajustado segundo o delineamento experimental previamente definido (Tabela 7.1). Alíquotas dessas soluções foram retiradas nos tempos zero e 100 minutos.

	Fatores (codificação)					
Ensaio	рН	Concentração (mg L ⁻¹)				
	4 (-1)	5 (-1)				
II	4 (-1)	5 (-1)				
111	4 (-1)	25 (+1)				
IV	4 (-1)	25 (+1)				
V	10 (+1)	5 (-1)				
VI	10 (+1)	5 (-1)				
VII	10 (+1)	25 (+1)				
VIII	10 (+1)	25(+1)				
IX	7 (0)	15 (0)				
Х	7 (0)	15 (0)				
XI	7 (0)	15 (0)				
XII	7 (0)	15 (0)				

Tabela 7.1 - Matriz do delineamento composto central 2² para estudo das variáveis pH e concentração sobre a fotólise direta de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN).

A ferramenta estatística utilizada na otimização foi a função *desirability*. Esta consiste em converter primeiro cada resposta y_i em uma função individual *desirability* d_i , que varia de 0 a 1. Nessa função, quanto mais próximo de 1, melhor o ajuste. Assim, as variáveis independentes são escolhidas de modo a maximizar a *desirability* global, definida como a média geométrica de todas as funções individuais d_i (CALADO e MONTGOMERY, 2003).

7.2.3 Experimentos de fotodegradação

Para os experimentos de fotólise artificial foi utilizado um reator em escala laboratorial, operando em sistema batelada, constituído por um béquer com capacidade de 100 mL e um agitador magnético para homogeneizar a solução. O reator foi posicionado no interior de uma caixa de madeira (80 cm x 40 cm x 60 cm) revestida por papel alumínio para aumentar a incidência da radiação UV na solução e equipada com uma fonte de radiação UV (lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio sem o bulbo - 250 W) com pico de emissão em 254 nm fixada na parte superior a cerca de 20 cm de distância da solução (Figura 7.1). A temperatura interior, devido à radiação gerada pela lâmpada, após 20min mantinha-se em torno de 45°C.

Foram preparados 100 mL de soluções individuais dos analitos na concentração e pH otimizados previamente. Após início de operação, foram colhidas alíquotas da solução em oito intervalos durante 60 minutos de monitoramento.



Legenda:

1 - Agitador Magnético.

- 2 Reator.
- 3 Fonte de Radiação UV.
- 4 Revestimento em papel alumínio.

Figura 7.1 - Sistema utilizado para fotólise artificial

Nos experimentos usando a radiação solar foram mantidos o béquer e o agitador e colocados em um local de ampla insolação nos horários de pico de emissão dos raios UV (10 às 16h). Os experimentos foram realizados no mês de julho de 2016 onde taxa de incidência de UV foi de aproximadamente 100 a 125 mW m⁻² (INPE, 2016). Para aumentar a incidência foi adaptado um recipiente em formato de tronco de cone e revestido de papel alumínio (Figura 7.2).



Legenda: 1 - Reator 2 - Revestimento em papel alumínio. 3 - Agitador Magnético.

Figura 7.2 - Sistema utilizado para fotólise natural

Tendo em consideração a menor incidência de radiação solar quando comparada à lâmpada de vapor de mercúrio, nestes ensaios foi mantido um tempo de 360 minutos com a retirada de alíquotas a cada 30 minutos.

A absorbância foi medida imediatamente após a retirada da alíquota na faixa de 200 a 400nm para verificação da remoção, mediante a diminuição da banda máxima. Foram realizados ensaios com os analitos em agua ultrapura e adicionados a esgoto e lodos de estação de tratamento em duplicatas experimentais e as medições em triplicatas analíticas.

Os produtos de degradação foram avaliados pela análise dos espectros UV e cromatogramas CLAE-PDA de alíquotas em solução aquosa empregando fotólise artificial com monitoramento em quatro tempos durante 2 h.

7.2.4 Cinética de Fotodegradação

A degradação de compostos farmacêuticos por radiação UV tem sido reportada na literatura. A fotólise parece ser o principal processo de eliminação no meio ambiente, na qual os compostos em fase aquosa podem ser parcialmente transformados em diferentes subprodutos por irradiação (ISIDORI *et al.*, 2005).

Nesse sentido, a determinação da relação entre a taxa de fotodegradação dos micropoluentes e suas respectivas concentrações (ordem da reação) é uma etapa importante no estudo da cinética dessas reações químicas. Entende-se por ordem da reação a dependência da velocidade da reação com a concentração. Sendo C_0 a concentração inicial do reagente, e *C* a concentração do reagente decorrido um tempo *t* de reação. Se dC/dt obedecer à Equação. 7.1, *n* será a ordem da reação.

$$\frac{dC}{dt} = -k.C^n$$
 Eq. 7.1

Nos casos de n = 0 (reação de ordem zero) e n = 1 (reação de ordem um, ou de primeira ordem), a Equação. 5.1 conduzirá, respectivamente, às Equações 7.2 e 7.3.

$$C = C_0 - k_0 t$$
 Eq. 7.2

$$\ln C = \ln C_0 - k_1 t : C = C_0 e^{-k_1 t}$$
 Eq. 7.3

Em estudos de fotodegradação envolvendo micropoluentes orgânicos, empregados na avaliação da persistência e susceptibilidade à radiação ultravioleta, os modelos representados nas equações 7.2 e 7.3 são comumente aplicados para avaliação cinética (OPPENLNDER, 2002; OPPENLÄNDER, 2003; CARLSON *et al.*, 2015).

Os dados experimentais obtidos nos ensaios de degradação foram ajustados a estes modelos tendo em vista a avaliação de seu decaimento ao longo do tempo de experimento, bem como para determinação do tempo de meia-vida para cada analito segundo as Equações 7.4 e 7.5.

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{C_0}{2K_0}$$
 Eq. 7.4
 $t_{\frac{1}{2}} = \frac{ln2}{K_1}$ Eq. 7.5

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.3.1 Avaliação espectrofotométrica

O comportamento dos espectros de absorção dos antidepressivos e da cafeína em diferentes valores de pH e de concentrações permitiu avaliar a eficiência na fotólise direta e também como o pH pode interferir na degradação dos compostos.

Com exceção da cafeína, cuja banda máxima ocorre entre 270 e 290 nm, os antidepressivos possuem valores máximos na região de 220 a 250 nm. Ambas as faixas compreendem o ultravioleta médio. A Figura 7.3 mostra que a absorção de radiação UV pelos analitos varia com o pH.



Figura 7.3 - Espectros de absorção UV em solução aquosa com concentração de 5 mg L⁻¹. a) Amitriptilina, b) Cafeína, c) Citalopram, d) Fluoxetina, e) Sertralina e f) Venlafaxina.

Foram observados deslocamentos mais acentuados em pH ácido para a amitriptilina, citalopram e cafeína. Possivelmente a protonação que ocorre sobre os átomos de nitrogênio têm influencia direta na disponibilidade eletrônica do grupo amina e propicia a deslocalização de carga em função do momento de dipolo criado pela protonação, o que diminui a energia necessária para transições eletrônicas.

Em geral, as transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ estão associadas a maiores valores de coeficiente de absorção molar que os correspondentes às transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$ e, portanto, maior probabilidade de ocorrer. Essas transições podem acontecer em moléculas contendo átomos com pares de elétrons não-ligantes, tais como nitrogênio e oxigênio, e são responsáveis pelas bandas de maior comprimento de onda do espectro de absorção dos fármacos (PARSONS, 2005).

A interação dos analitos com a radiação UV também foi avaliada pelo cálculo do coeficiente de absorção molar (Tabela 7.2) segundo a Lei de Beer-Lambert (Equação 7.6) através de curvas variando pH e concentração (mol L⁻¹) (Figura 7.4).

$$A_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda}. \ b. \ c$$
 Eq. 7.6

Onde: A_{λ} corresponde a absorbância em um comprimento de onda λ , ε_{λ} a absortividade molar (L mol⁻¹ cm⁻¹), *b* o caminho óptico (cm) e *c* a concentração (mol L⁻¹).

Conforme a Figura 7.4, a absorção dos analitos foi semelhante em todas as condições de pH estudadas. Desprezando-se os valores dos interceptos, uma vez que estão próximos de zero, as equações de reta satisfazem a Lei de Beer-Lambert (Equação 7.6). Com isso, as inclinações correspondem aos coeficientes de absorção molar (ε_{λ}).

Considerando os comprimentos máximos específicos de cada composto, foram verificados maiores coeficientes para o citalopram (CIT) ($\varepsilon_{238}\approx13000 \text{ Lmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) e os menores para cafeína ($\varepsilon_{273}\approx9500 \text{ Lmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Os demais analitos venlafaxina (VEN) ($\varepsilon_{226}\approx10500 \text{ Lmol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$), fluoxetina (FLU) ($\varepsilon_{227}\approx10700 \text{ Lmol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$), sertralina (SER) ($\varepsilon_{225}\approx10500 \text{ Lmol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$), e amitriptilina (AMI) ($\varepsilon_{240}\approx11100 \text{ Lmol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$) apresentaram valores intermediários e semelhantes entre si.

Analito	λ _{max} (nm)	рΗ	Equação	R²
		4	A=10452×[VEN]+0,02	99,9
VEN	226	7	A=10772×[VEN]+0,03	99,9
		10	A=10349×[VEN]-0,02	99,9
		4	A=13844×[CIT]+0,02	99,9
CIT	238	7	A=13234×[CIT]+0,01	99,9
		10	A=12895×[CIT]-0,01	99,9
		4	A=11007×[FLU]+0,02	99,9
FLU	227	7	A=10731×[FLU]+0,03	99,9
		10	A=10652×[FLU]-0,01	99,9
		4	A=10591×[SER]+0,01	99,9
SER	225	7	A=10357×[SER]+0,02	99,9
		10	A=10762×[SER]-0,01	99,9
		4	A=11061×[AMI]+0,02	99,9
AMI	240	7	A=11072×[AMI]+0,04	99,9
		10	A=11278×[AMI]+0,01	99,9
		4	A=9664×[CAF]+0,02	99,9
CAF	273	7	A=9628×[CAF]+0,03	99,9
		10	A=9465×[CAF]+0,01	99,9

Tabela 7.2 - Equações dos ajustes lineares de absorbância (A) em função da concentração de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em diferentes valores de pH.

A faixa de absorção UV verificada experimentalmente e que contém as bandas máximas dos fármacos investigados, encontra-se situada na região UV-C (λ <280nm) do espectro solar.

Esta porção de radiação corresponde apenas a 0,5% da irradiância total que atinge a superfície terrestre e sugere uma baixa capacidade de degradação natural, visto que as altas absorbâncias de fótons nos comprimentos coincidentes com as bandas máximas tendem a levar a maiores taxas de fotodegradação. A utilização de uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão intensifica as emissões na faixa UV-C, pois possui picos em 185, 254 e 264 nm (ZHANG *et al.*, 2012). Dessa forma as possibilidades de degradação são ampliadas.



Figura 7.4 - Absorbâncias dos analitos em solução aquosa no comprimento de onda máximo e diferentes concentrações. a) Venlafaxina, b) Citalopram, c) Fluoxetina, d) Sertralina, e) Amitriptilina e f) Cafeína.

7.3.2 Otimização das condições de fotodegradação empregando delineamento 2² com pontos centrais

A investigação da melhor condição de fotodegradação quanto ao pH e concentração de trabalho para cafeína (CAF), citalopram (CIT), venlafaxina (VEN), fluoxetina (FLU), amitriptilina (AMI) e sertralina (SER), a partir de soluções aquosas, foi realizada em ensaios em duplicata com o auxilio do planejamento 2² com pontos centrais e no tempo de 100 minutos.

A resposta analítica usada nos ensaios de otimização foi a porcentagem de redução na intensidade da banda para cada composto em seu comprimento máximo conforme apresentado na Tabela 7.2. Os percentuais de redução nos valores de

Capítulo 7

absorbâncias obtidos nos experimentos empregando o delineamento 2² com pontos centrais para das degradações dos compostos estudados são apresentados na matriz do planejamento (Tabela 7.3) e na Figura 7.5

Tabela 7.3 - Matriz do delineamento 2² com pontos centrais para estudo das variáveis pH, e concentração sobre a porcentagem de degradação da Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN).

Ensaios	(co	Fatores odificação)	Degradação (%)					
	pH Concentração (mg L⁻¹)		CAF	CIT	VEN	FLU	SER	AMI
I	4 (-1)	5 (-1)	91,91 91,85	26,35 26,11	47,89 45,99	61,30 61,24	22,09 21,95	44,92 44,57
II	4 (-1)	25 (+1)	18,75 18,39	3,24 3,25	55,80 56,16	32,11 32,23	10,79 10,98	16,01 15,69
III	10 (+1)	5 (-1)	60,84 61,15	7,13 6,78	35,26 34,76	50,41 49,75	36,58 36,45	47,91 47,78
IV	10 (+1)	25 (+1)	10,30 10,80	0,00 0,00	21,20 21,20	30,15 35,19	21,93 22,22	14,16 14,22
V	7 (0)	15 (0)	16,22 16,08	8,11 7,91	39,36 38,78	33,78 33,70	15,76 15,68	29,49 29,49
VI	7 (0)	15 (0)	14,20 14,13	5,97 6,00	40,64 39,55	31,80 31,73	15,40 15,42	27,14 28,42



Figura 7.5 - Percentual de degradação da Cafeína (CAF) e dos antidepressivos Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEM) empregando delineamento 2² para otimização da fotólise.

As degradações mais efetivas foram observadas para concentrações de 5 mg L⁻¹. Quanto ao pH, os valores não apresentaram um comportamento padrão, sendo verificadas remoções elevadas nos limites estudados. A cafeína (CAF), o citalopram (CIT), a fluoxetina (FLU), a sertralina (SER) e a amitriptilina (AMI) foram mais fotolisadas nos ensaios I e III. A venlafaxina (VEN), além da condição III também apresentou melhor remoção no experimento II.

A avaliação dos efeitos pH e concentração na interpretação dos resultados obtidos considerou o modelo linear. A aceitação deste ocorreu pela ANOVA de regressão e pelo teste de falta de ajuste ao nível de confiança de 95% (Tabela 7.4).

Tabela 7.4 - Análise de variância do ajuste dos dados experimentais e equações preditas pelo modelo linear para o estudo do efeito da concentração e pH sobre a fotólise de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em solução aquosa

	Fontes de Variação	SQ	GL	MQ	F _{calc.}	Modelo	R²
	Modelo	10676,8	3	3558,9	62,1		
	Resíduos	458,2	8	57,3		$(\%)D = 134,6(\pm 1,3) -$	
CAF	Falta de ajuste	4,2	1	4,2	0,06	$4,4(\pm 0,1) * A - 6,1(\pm 0,2) *$	78
	Erro puro	454,0	7	64,9		$B + 0,2(\pm 0,01) * AB$	
	Total	11135,0	11				
	Modelo	957,9	3	319,3	399,1	$(\%)D = 46,5(\pm 1,3) -$	
	Resíduos	6,1	8	0,8		$1,6(\pm 0,1) * A - 3,8(\pm 0,2) *$	
CIT	Falta de ajuste	2,6	1	2,6	5,3	$B + 0,1(\pm 0,01) * AB$	99
	Erro puro	3,5	7	0,5			
	Total	964,0	11				
	Modelo	1363,4	3	454,5	909,0	$(\%)D = 48,8(\pm 1,2) +$	
	Resíduos	3,9	8	0,5		$1,2(\pm 0,1) * A - 1,0(\pm 0,2) *$	
VEN	Falta de ajuste	0,1	1	0,1	0,2	$B - 0,2(\pm 0,08) * AB$	99
	Erro puro	3,8	7	0,5			
	Total	1367,3	11				
	Modelo	1207,1	3	402,4	9,0	(%)D	
	Resíduos	357,2	8	44,7		$= 84,9(\pm 2,5) - 1,8(\pm 0,1)$	
FLU	Falta de ajuste	16,9	1	16,9	0,3	$*A - 2,4(\pm 0,3) *B$	77
	Erro puro	340,3	7	48,6		$+0,1(\pm0,02)*AB$	
	Total	1564,3	11				
	Modelo	662,1	3	220,7	12,4	$(0/2)D = 122(\pm 0.2)$	
	Resíduos	142,7	8	17,8		$(70)D = 12,2(10,3) = 0.4(+0.01) * 0.4 \pm 0.000$	
SER	Falta de ajuste	42,2	1	42,2	2,9	$0,4(\pm 0,01) * R + 2 6(\pm 0.03) * R - 2 6(\pm 0.03$	82
	Erro puro	100,5	7	14,4		2,0(+0,03) * B = 0.03(+0.002) * AB	
	Total	804,8	11			0,03(±0,002) * AD	
	Modelo	1968,6	3	656,2	345,4		
	Resíduos	14,9	8	1,9		$(\%)D = 48,4(\pm 1,2) -$	
AMI	Falta de ajuste	3,9	1	3,9	2,4	$1,3(\pm 0,1) * A + 0,7(\pm 0,2) *$	99
	Erro puro	11,0	7	1,6		$B - 0,04(\pm 0,008) * AB$	
	Total	1983,5	11				

SQ=Soma quadrática; GL= Graus de liberdade; MQ= Média Quadrática.

 $F_{crítico\ (0,05;\ 3,8)}$ =4,1 e $F_{crítico\ (0,05;\ 1,7)}$ =5,6.

(%D) Degradação; (A) Concentração e (B) pH.

Para a análise da adequabilidade do modelo linear o $F_{calculado}$ de cada fármaco (CAF: $F_{calculado} = 62,1$; CIT: $F_{calculado} = 399,1$; VEN: $F_{calculado} = 909,0$; FLU: $F_{calculado} = 9,0$; SER: $F_{calculado} = 12,4$; AMI: $F_{calculado} = 345,4$) foi comparado com o $F_{crítico} (0,05; 3,8) = 4,1$. Todas as regressões lineais foram consideradas significativas ($F_{crítico} < F_{calculado}$) para todos os antidepressivos e para a cafeína. O estudo da falta de ajuste também indicou que o modelo linear se ajusta satisfatoriamente aos dados experimentais, pois o valor de $F_{crítico} (0,05; 1,7) = 5,6$ foi maior do que o $F_{calculado}$ para cada analito ($F_{crítico} > F_{calculado}$).

A análise dos efeitos e coeficientes dos modelos permitiu considerar que o aumento da concentração (A) e pH (B) individualmente exercem efeitos antagônicos para a fotólise da maioria dos analitos. Contudo, quando combinados (AB) apresentaram sinergismos para alguns compostos.

Usando *desirability* global, como resposta, verificou-se que há um máximo como ponto crítico. As coordenadas desse ponto são as condições de pH e concentração que geram a maior resposta para o sistema estudado, ou seja neste caso a maior porcentagem de fotodegradação. Isto pode ser observado na Figura 7.6, onde estão representados a superfície de respostas e o gráfico de contornos para o efeito das variáveis sobre a função *desirability* para os analitos em solução aquosa.



Figura 7.6 - (a) Superfície de respostas (b) Gráfico de Contornos para otimização das variáveis pH e concentração na degradação de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em solução aquosa com base na função *desirability*.
A otimização para multidegradação (Figura 7.6) apresentou função *desirability* (*di*) global igual 0,7, valor este considerado satisfatório, uma vez que o valor ideal deve ser 1,0 (CALADO e MONTGOMERY, 2003).

A Figura 7.7 também apresenta graficamente o modelo linear de degradação dos fármacos estudados. Foram observadas regiões de maior percentagem de remoção em torno das condições do ensaio I.



Figura 7.7 - Condição otimizada de pH e concentração para Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEM) preditas pela função *desirability*.

Como resposta mais favorável à degradação da maioria dos analitos em solução aquosa foi indicada pela ferramenta de otimização a concentração de 5 mg L⁻¹ e o pH igual a 4. Os percentuais de remoção previstos foram: 82% para a cafeína (CAF), 26% para o citalopram (CIT), 47% para venlafaxina (VEN), 58% para a fluoxetina (FLU), 20% para a sertralina e 44% para a amitriptilina (AMI).

Apesar das concentrações ambientais reportadas serem muito inferiores à 5 mg L⁻¹ é comum o uso de altas concentrações em estudos investigativos exploratórios e preliminares a fim de serem obtidos direcionamentos para posterior investigação considerando a dinâmica na matriz natural.

7.3.3 Estudo de degradação por fotólise direta empregando lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão e luz solar

Definidas as condições experimentais, foram realizados ensaios de degradação nas matrizes água, esgoto doméstico tratado e em lodo de estação de tratamento. Também foram testadas as condições de fotólise artificial utilizando um reator de bancada (Figura 7.8) e natural (Figura 7.9) em cada analito individualmente.

As medidas de degradação foram feitas através de espectroscopia UV-Vis para as soluções aquosas. Para os tratamentos em lodo de esgoto também foi empregada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção por arranjo de diodos (PDA).



Figura 7.8 - Remoção de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em solução aquosa 5 mg L⁻¹ e pH 4 empregando fotólise artificial. a) água, b) esgoto fortificado e c) Lodo úmido.

Os estudos de degradações individuais dos fármacos usando fotólise artificial foram conduzidos no tempo de 60 minutos com medições da absorbância em oito instantes. Na Figura 7.8 são apresentados os perfis de degradação em termos de

porcentagem de remoção com o decorrer do tempo de fotólise para os analitos em solução aquosa, esgoto e lodo úmido. Cada matriz foi fortificada com os analitos na concentração de 5 mg L⁻¹ e o pH foi ajustado em 4.

Foram verificadas maiores remoções dos analitos na presença de esgoto. Em solução aquosa houve maior persistência do citalopram (CIT) com remoções da ordem de 20% e melhor degradação da cafeína (CAF) com cerca de 80% de fotólise. Já no esgoto fortificado, foi verificada a menor remoção para amitriptilina (AMI) (40%) e a maior para a sertralina (SER) (90%).

Possivelmente a carga de componentes presentes na matriz, devido a sua complexidade, contribui para que mecanismos diferenciados de remoção aconteçam. A matéria orgânica dissolvida pode produzir radical hidroxila (HO•), oxigênio singleto (¹O₂), superóxido (O₂⁻), peroxila (ROO•), e radicais fenoxila (CANONICA e FREIBURGHAUS, 2001; BUSCHMANN *et al.*, 2005). Com isso, há um incremento de espécies reativas capazes de atacar os analitos, resultando em maior remoção nessa matriz.

Para o lodo úmido, submetido a tratamento de fotólise, foram obtidas remoções inferiores a 25% para todos os analitos, indicando que a água tem relação direta com os mecanismos de fotodecomposição.

O processo de fotodegradação pode ocorrer de maneira direta ou indireta. A forma direta é observada quando os fótons emitidos com a radiação incidente são absorvidos pela molécula do fármaco promovendo a clivagem de ligações químicas entre os átomos. Na forma indireta, algumas moléculas presentes no meio são excitadas pela radiação incidente e, após a quebra das mesmas, um elétron permanece em cada fragmento com a formação de radicais que podem agir na degradação dos microcontaminantes (KEEN *et al.*, 2014).

O estudo de degradação empregando as mesmas condições também ocorreu através da fotólise solar em substituição da lâmpada. A Figura 7.9 apresenta os percentuais de remoção no tempo para os analitos em solução aquosa, esgoto tratado e lodo.

Os experimentos de degradação solar foram monitorados durante 360 minutos no horário de maior incidência de radiação UV (10:00 às 16:00 h) em local de ampla insolação e sob condições meteorológicas favoráveis. Em todas as

matrizes foram observadas remoções inferiores a 30%, sendo estes valores substancialmente menores que os obtidos para a fotólise artificial durante 60 min.

A fotólise solar, em amostras de esgoto tratado e fortificado, também foi favorecida assim como no processo empregando fonte artificial de radiação UV, reforçando a possibilidade dos componentes desta matriz participar do mecanismo.



Figura 7.9 - Remoção de Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em solução aquosa 5 mg L⁻¹ e pH 4 empregando fotólise solar. a) água, b) esgoto fortificado e c) Lodo úmido.

A cafeína apresentou menor fotodecomposição nos experimentos com luz solar, reforçando sua capacidade de persistir nos compartimentos. Este comportamento concorda com as pesquisas voltadas ao emprego da cafeína como marcador de poluição recente (BUERGE *et al.*, 2003).

Os resultados obtidos indicam a susceptibilidade dos analitos á degradação empregando radiação UV. Com isso, a aplicação de técnicas de tratamento baseadas em formas artificiais dessa radiação pode ser promissora na remoção destes micropoluentes em fase aquosa.

Contudo, os baixos percentuais de remoção observados para a fotólise solar, sugerem persistência da maioria dos fármacos estudados nos ecossistemas. O lodo de esgoto, apesar da elevada umidade aderida, foi pouco afetado pela radiação fornecida nos dois ensaios, apresentando baixas remoções.

7.3.3.1 Estudo dos produtos de degradação em solução aquosa empregando fotólise artificial.

Processos oxidativos baseados em radiação ultravioleta podem ser utilizados como uma barreira eficaz contra micropoluentes (YUAN *et al.*, 2009). A combinação de fotólise UV e a geração de radicais hidroxila (OH•) pode ser aplicada a uma grande variedade de compostos considerados micropoluentes (WOLS e HOFMAN-CARIS, 2012).

A confirmação da fotólise dos analitos nas condições experimentais investigadas foi preliminarmente observada nos espectros UV das soluções ao longo dos tempos, mediante a redução da banda máxima selecionada para o monitoramento e a elevação na intensidade em outros comprimentos de onda (Figura 7.10).

A inspeção da Figura 7.10 mostra a redução nas bandas de 227, 240, 230, 226, 240 e 273 nm para venlafaxina, citalopram, fluoxetina, sertralina, amitriptilina e cafeína respectivamente, sugerindo a degradação. A região espectral observada apresenta aumento de intensidade no tempo para a venlafaxina na região de 280nm, o citalopram em 220nm e a fluoxetina, sertralina e amitriptilina em 260 nm, indicando a formação de produtos de degradação. Para a cafeína não foram identificadas alterações nessa região, o que não exclui a formação de subprodutos, pois esses podem corresponder a espécies não absorventes na região do ultravioleta.

Tendo em vista a possibilidade dos produtos gerados absorverem na mesma região dos analitos e com isso interferirem nas medidas de absorbância por espectrometria UV/Vis convencional, alíquotas foram submetidas a CLAE-PDA para avaliação cromatográfica em modo *scan 3D*. Isto possibilitou a identificação dos analitos e a separação dos possíveis produtos de degradação, além da confirmação da banda máxima de absorção para ambos.



Figura 7.10 - Espectros UV em solução aquosa 5 mg L⁻¹ e pH 4 obtidos na fotólise artificial nos tempos de monitoramento a) Venlafaxina (VEN), b) Citalopram (CIT), c) Fluoxetina (FLU), d) Sertralina (SER), e) Amitriptilina (AMI) e f) Cafeína (CAF).

A figura 7.11 apresenta os cromatogramas referentes ao estudo de degradação da venlafaxina.

No cromatograma extraído em 227 nm (Figura 7.11a), comprimento máximo para a venlafaxina, foi possível observar a redução na área e altura do pico, sugerindo a diminuição de sua concentração, porém sem evidência de outros compostos formados capazes de absorver neste mesmo comprimento. A varredura em modo *scan 3D* mostrou dois picos adicionais, com tempos de retenção entre 2,2 e 2,4 min (Figura 7.11b), com absorção máxima no comprimento de 270 nm, além daquele referente à própria venlafaxina em 5,9 min. As áreas destes picos sofreram aumento nos ensaios realizados no tempo confirmando a formação de produtos de degradação.



Figura 7.11- Cromatogramas obtidos no estudo de degradação da venlafaxina (VEN) em solução aquosa inicial de 5 mg L⁻¹ e pH 4 obtidos para a fotólise artificial nos tempos de monitoramento a) pico do analito no comprimento máximo 227nm. b) picos adicionais dos produtos de degradação em 270 nm.

Estudos com aplicação da fotólise direta para venlafaxina em solução aquosa tem reportado a ocorrência de dois produtos de degradação prioritários. A formação de radicais hidroxilas (HO•) é apontada como a principal rota da reação fotoquímica, pois promove a hidroxilação sequencial no anel aromático (Figura 7.12) sem a quebra da estrutura original (SANTOKE *et al.*, 2012). Estes dois produtos foram isolados em um estudo em aguas superficiais e ultrapura e seus comprimentos máximos de absorção no ultravioleta foram definidos em 272 e 290 nm respectivamente (RÚA-GÓMEZ e PÜTTMANN, 2013). Estes dados correspondem com os observados em nosso estudo de degradação.



Figura 7.12- Principais produtos de degradação descritos por Santoke *et al.* (2012) para venlafaxina (VEN) por fotólise em solução aquosa

Fonte: Adaptado de SANTOKE et al. (2012)

A hidroxilação no anel aumenta a característica hidrofílica da molécula o que é coerente com a posição dos dois picos extras observados na figura 7.11b em relação ao pico do analito original, reforçando a ocorrência de produtos de degradação no experimento realizado. A hidroxila é um substituinte auxocromo onde os elétrons *n* interagem com os elétrons π do anel, estabilizando o orbital antiligante π^* num estado de mais baixa energia conhecido como deslocamento batocrômico. O efeito dessa substituição também é observado no deslocamento da banda máxima dos subprodutos, em relação ao analito original.

Para o citalopram (Figura 7.13), também foi identificada a remoção mediante a redução da área e altura do pico ao longo do tempo, com λ_{max} =241 nm no tempo de 4,8 min.

A ocorrência de produtos de degradação foi confirmada em 245 nm pelo surgimento e elevação da área de dois picos adicionais entre os tempos de corrida referentes a 3,0 a 3,6 min (região em destaque na figura 7.13).



Figura 7.13 - Cromatogramas obtidos no estudo de degradação do citalopram em solução aquosa inicial de 5 mg L⁻¹ e pH 4 obtidos para a fotólise artificial nos tempos de monitoramento e comprimento de 241 nm.

O estudo da fotólise para citalopram, mediante a simulação de luz solar, em diferentes pHs e matrizes aquosas reportou a ocorrência de dois produtos de degradação principais (Figura 7.14) originados por mecanismos de desmetilação e oxigenação do nitrogênio alifático presente na estrutura original do analito (KOSJEK e HEATH, 2010).



Figura 7.14 - Principais produtos de degradação obtidos por Kwon e Armbrust (2005) para Citalopram (CIT) por fotólise em solução aquosa

Fonte: Adaptado de KWON e ARMBRUST (2005)

Os autores relatam também que estes produtos de degradação são semelhantes aos metabolitos excretados pelo organismo humano e por serem mais polares são primeiramente eluídos em sistemas cromatográficos empregando fase reversa (KWON e ARMBRUST, 2005). Isto corrobora com as observações feitas na Figura 7.13 onde os picos adicionais possuem menores tempos de retenção.

A fluoxetina possui banda máxima de absorção em 231 nm. A inspeção da figura 7.15a permite confirmar a sua fotodegradação, pois foi observada a redução no tamanho do pico cromatográfico marcado no tempo de retenção em 8,7 min. Neste comprimento de onda não foram observados picos adicionais que indicassem a ocorrência de produtos de degradação. Entretanto, a varredura em modo *scan 3D* permitiu identificar dois picos extras nos tempos de retenção entre 3,0 e 5,0 mim e com absorbância máxima em 245 nm.



Figura 7.15 - Cromatogramas obtidos no estudo de degradação da Fluoxetina (FLU) em solução aquosa inicial de 5 mg L⁻¹ e pH 4 obtidos para a fotólise artificial nos tempos de monitoramento. a) pico do analito no comprimento máximo 231 nm. b) picos adicionais dos produtos de degradação em 245 nm.

Os subprodutos (Figura 7.15b) foram associados aos picos cromatográficos com tempos entre 3,0 e 5,0 mim. A degradabilidade da fluoxetina empregando radiação UV, estudada em trabalhos pioneiros, tem reportado tanto mecanismos baseados na excitação direta da molécula quanto na interação com radicais hidroxilas (HO•) e oxigênio singleto (¹O₂) (SOUTER e DINNER, 1976; LAM *et al.*, 2005; MAŚLANKA *et al.*, 2013).



Figura 7.16 - Principais produtos de degradação obtidos por Lam, *et al.* (2005) para Fluoxetina (FLU) por fotólise em solução aquosa. Fonte: Adaptado de LAM *et al.* (2005)

Para este composto, o mecanismo mais favorável prevê a fragmentação do analito em dois compostos de cadeia menor (Figura 7.16, ambos mais hidrofílicos que o analito original (LAM *et al.*, 2005; PETROVIC e BARCELÓ, 2007; KOSJEK e HEATH, 2010). A inspeção do cromatograma confirma a influencia do tempo de irradiação sobre a concentração. As áreas dos picos pertencentes aos produtos de degradação fluoxetina aumentam (Figura 7.15b) com um maior período de exposição a radiação UV, enquanto que para a fluoxetina diminui (Figura 7.15a).

O espectro de absorção da sertralina (Figura 7.10d) não exibe uma banda máxima definida como os demais analitos. Seu monitoramento ocorreu no comprimento de 225 nm. Como observado, na Figura 7.17, seu tempo de retenção está em 9,5 min e a degradação foi confirmada pela diminuição do tamanho do pico.

Neste comprimento de onda também foram identificados três picos adicionais entre 2,0 e 3,0 min com baixa intensidade. A sertralina possui menor coeficiente de absorção molar quando comparada aos outros fármacos estudados, com isso os produtos formados tendem a possuir esta mesma característica, justificando a baixa intensidade.



Figura 7.17 - Cromatogramas obtidos no estudo de degradação da sertralina (SER) em solução aquosa inicial de 5 mg L⁻¹ e pH 4 obtidos para a fotólise artificial nos tempos de monitoramento em 225 nm.

A fotodecomposição da sertralina foi avaliada em um estudo realizado em Gdańsk (Polônia), onde foram usadas soluções aquosas preparadas com esgoto tratado pelo sistema de lodos ativados e submetidas à irradiação solar e artificial em pH 3 e 10. Foram identificados quatro subprodutos (Figura 7.18) que, segundo os autores, são produzidos por hidroxilação do anel aromático, descloração, oxidação e desidrogenação do composto original (LAM *et al.*, 2005; PETROVIC e BARCELÓ, 2007; KOSJEK e HEATH, 2010).



Figura 7.18 - Principais produtos de degradação obtidos por Sliwka-Kaszynska e Jakimska (2014) para Sertralina (SER) por fotólise em solução aquosa

Fonte: Adaptado de SLIWKA-KASZYNSKA e JAKIMSKA (2014)

Como observado para venlafaxina e o citalopram, o mecanismo reportado para a sertralina não envolve a clivagem ou fragmentação do esqueleto hidrocarbônico, ocorrendo predominantemente a saída ou substituição de grupos químicos.

A amitriptilina apresentou pico cromatográfico mais intenso com λ_{max} =245 nm no tempo de 10,5 min (Figura 7.19), sendo verificada a diminuição da área com o aumento do tempo de irradiação da solução. A ocorrência de fototransformação foi observada neste mesmo comprimento com identificação de um pico extra em 4,5 min. Sua menor intensidade sugere um produto de degradação com baixa absorbância na região do espectro investigada. Dos fármacos estudados, a amitriptilina é o que apresenta maior hidrofobicidade.



Figura 7.19 - Cromatogramas obtidos no estudo de degradação da amitriptilina (AMI) em solução aquosa inicial de 5 mg L⁻¹ e pH 4 obtidos para a fotólise artificial nos tempos de monitoramento em 245 nm.

A exposição de antidepressivos tricíclicos como a amitriptilina à irradiação ultravioleta tem sido investigada em meio aquoso e em solos (LI *et al.*, 2013). A fototransformação proposta envolve mecanismos de desmetilação e hidroxilação tanto no anel alifático quanto nos anéis aromáticos, gerando dois subprodutos principais (Figura 5.20) (SZÉKELY *et al.*, 2011).

Como observado para a venlafaxina, a hidroxilação aumenta o caráter hidrofílico do composto original e isto justifica a ocorrência do pico referente ao fotoproduto em um tempo menor no cromatograma.



Figura 7.20 - Principais produtos de degradação obtidos por Li *et al.* (2013) para Amitriptilina (AMI) por fotólise em solução aquosa

Fonte: Adaptado de LI et al.(2013)

A ocorrência de cafeína nos compartimentos ambientais, em especial na coluna de água, quando comparada com os antidepressivos, é elevada visto que possui ampla utilização, não apenas na farmacologia. Este comportamento tem contribuído para que este composto seja usado como traçador de poluição, juntamente por possuir um comportamento persistente.

Nas condições experimentais utilizadas neste estudo de fotodegradação a cafeína foi susceptível à radiação ultravioleta, pois houve redução na intensidade do pico cromatográfico em 1,6 min e λ_{max} =274 nm (Figura 7.21) para tempos mais elevados de irradiação. A varredura em modo *Scan 3D* não identificou nenhum pico adicional na faixa de 200 a 400 nm.

Contudo, isto não exclui a formação de subprodutos, pois é possível que estes não absorvam no ultravioleta ou ainda tenham sido rapidamente eludidos nos sistema cromatográfico.

A avaliação da fotodegradação da cafeína em meio aquoso preparada em água residuárias procedente de estação de tratamento de esgoto reportou a importância do radical hidroxilo (OH•) como a principal via de degradação. Outros estudos em água apontam que, além da hidroxilação específica no carbono C8 (Figura 7.22), outros mecanismos podem ocorrer por desmetilações nos nitrogênios N1, N3 e N7 (TELO e VIEIRA, 1997; BUERGE *et al.*, 2003).



Figura 7.21 - Cromatogramas obtidos no estudo de degradação da Cafeína (CAF) em solução aquosa inicial de 5 mg L⁻¹ e pH 4 obtidos para a fotólise artificial nos tempos de monitoramento em 274 nm.



Figura 7.22 - Principais produtos de degradação obtidos por Telo e Vieira (1997) para Cafeína (CAF) por fotólise em solução aquosa Fonte: Adaptado de Telo e Vieira (1997)

O estudo qualitativo dos subprodutos gerados na fotólise dos antidepressivos e da cafeína foi coerente com as observações baseadas na redução das áreas dos picos cromatográficos por CLAE-PDA e nas bandas máximas de absorção por espectroscopia UV-vis.

Além disso, os mecanismos encontrados na literatura atual corroboram com estas observações, uma vez que há predominância de substituições na estrutura original em detrimento à clivagem e estas conferem aos analitos grupos mais polares. Isto reforça a posição dos picos de degradação nas corridas cromatográficas empregando fase reversa.

Entretanto, a sugestão destes produtos parcialmente transformados suscita, possivelmente, a permanência do risco ecotoxicológico, visto que algumas das

estruturas fototransformadas diferem muito pouco do analito original e podem continuar a exercer este efeito mesmo após a exposição a radiação UV artificial como forma de tratamento ou naturalmente nas águas superficiais.

7.3.3.2 Cinética de fotodegradação em solução aquosa e esgoto empregando radiação artificial e luz solar

Para um melhor entendimento do processo de fotodegradação dos antidepressivos estudados e da cafeína em meio aquoso, os dados experimentais foram ajustados aos modelos cinéticos de pseudo-ordem zero e pseudo-primeira ordem comumente reportados para avaliação de micropoluentes (OPPENLÄNDER, 2003; CARLSON *et al.*, 2015). Após os ajustes foram calculados os valores para a constante cinética por meio de regressão não linear às equações 7.2 e 7.3 e o tempo de meia-vida pelas equações 7.4 e 7.5 (Tabela 7.6).

Foram realizados estudos considerando irradiação artificial com lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão e a luz solar natural, bem como as soluções em água pura e esgoto tratado.

Em todos os cenários propostos houve melhor ajuste dos dados experimentais ao modelo de pseudo-primeira ordem, pois os valores de R² variaram de 89 99%, sendo portando superiores do modelo de а aos pseudo-ordem zero (Tabela 7.5). A indicação deste modelo concorda com diversos estudos preliminares empregando fotodegradação de fármacos em meio aquoso (STURINI et al., 2010; LI et al., 2011; KHALEEL et al., 2016). A reação de primeira ordem possui uma taxa de reação diretamente proporcional à concentração do reagente, com isso a fotólise é dependente da concentração inicial do micropoluente.

As constantes cinéticas foram mais elevadas nos ensaios com esgoto e irradiação artificial para todos os analitos (com exceção da cafeína). Este comportamento possui relação direta com a potência radiante da lâmpada, superior à solar nas condições experimentais e também à presença de outras substâncias contidas no esgoto, mesmo após o tratamento, que contribuem para a maior taxa de reação.

	Matriz	Fonte Irradiação	Modelos					
			Pseudo-Ordem Zero			Pseudo-Primeira Ordem		
			K_0 (min ⁻¹)	t _{1/2} (min)	R^2	K_1 (min ⁻¹)	t _{1/2} (min)	R^2
CAF	Água	Artificial	0,0500	45,0	92,0	0,0200	34,7	97,0
		Solar	0,0004	6250,0	69,0	0,0005	1540,0	98,0
	Esgoto	Artificial	0,0060	383,0	88,0	0,0010	693,0	95,0
		Solar	0,0020	1300,0	95,0	0,0004	1786,0	99,0
VEN	Água	Artificial	0,070	36,0	95,0	0,0200	35,0	99,0
		Solar	0,002	1400,0	96,0	0,0003	2310,0	96,0
	Esgoto	Artificial	0,070	29,0	74,0	0,0600	12,0	98,0
		Solar	0,005	580,0	89,0	0,0009	770,0	93,0
CIT	Água	Artificial	0,020	123,0	88,0	0,0030	231,0	92,0
		Solar	0,010	245,0	77,0	0,0004	1733,0	95,0
	Esgoto	Artificial	0,050	50,0	89,0	0,0200	35,0	97,0
		Solar	0,005	500,0	74,0	0,0010	693,0	98,0
FLU	Água	Artificial	0,040	60,0	84,0	0,0100	69,0	98,0
		Solar	0,003	850,0	77,0	0,0006	1155,0	89,0
	Esgoto	Artificial	0,060	78,0	91,0	0,0200	35,0	98,0
		Solar	0,005	500,0	90,0	0,0010	693,0	94,0
SER	Água	Artificial	0,020	124,0	91,0	0,0050	139,0	93,0
		Solar	0,001	2800,0	79,0	0,0003	2310,0	97,0
	Esgoto	Artificial	0,060	28,0	69,0	0,0200	35,0	99,0
		Solar	0,004	575,0	94,0	0,0009	770,0	96,0
AMI	Água	Artificial	0,030	83,0	89,0	0,0060	116	93,0
		Solar	0,001	2550,0	82,0	0,0002	3466,0	98,0
	Esgoto	Artificial	0,040	60,0	93,0	0,0100	69,0	98,0
		Solar	0,005	530,0	94,0	0,0010	693,0	97,0

Tabela 7.5 - Dados cinéticos para a fotólise das soluções dos fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) com concentração inicial de 5 mg L⁻¹ e pH 4

 k_0 =Constante cinética do modelo de Pseudo-ordem zero; k_1 =constante cinética do modelo de Pseudo-Primeira ordem; $t_{1/2}$ = Tempo de meia vida.

Para a avaliação do tempo de meia-vida são consideradas quatro classes, sendo degradações rápidas quando os valores se apresentam entre 0 e 60 min, moderadas de 60 a 300 min, lentas 300 a 1440 min e estáveis acima de 1440 min (BLUM, 2013). Houve predominância de fotodegradações rápidas e moderadas com o emprego da fonte artificial de irradiação, enquanto para a luz solar foram verificadas fototransformações lentas e estáveis o que sugere a permanência desses micropoluentes nos compartimentos ambientais.

A figura 7.23 apresenta o ajuste dos dados experimentais para cafeína aos modelos cinéticos estudados.



Figura 7.23 - Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Pseudo-ordem zero e Pseudo-primeira ordem para a cafeína (CAF). a) Irradiação artificial em água. b) irradiação solar em água. c) Irradiação artificial em esgoto. d) irradiação solar em esgoto.

Para a cafeína foram observados tempos de meia-vida de 34 min na fotólise artificial em água e 1540 min na solar com a mesma matriz. Já em esgoto os valores foram 693 e 1786 min respectivamente para artificial e solar. Os valores sugerem maior persistência deste composto em esgoto e em condições de insolação, o que reitera sua potencialidade como marcador de poluição antropogênica.

Efeito semelhante foi observado em um estudo de fotodegradação da cafeína em presença de ácidos fúlvicos. Foram irradiadas soluções aquosas na concentração de 2 mg L⁻¹ e pH 7 em simulador de luz solar com lâmpada de xenônio de 500 W (λ_{max} =290 nm). As constantes cinéticas obtidas nestas condições variaram de 0,0001 a 0,00015 min⁻¹ e o tempo de meia-vida foi de aproximadamente 9000 min (JACOBS *et al.*, 2012). A fotodegradação da cafeína também foi avaliada em um reator de quartzo com lâmpada imersa de vapor de mercúrio com 50 mW cm⁻² (λ <350 nm) empregando solução do analito à 50 mg L⁻¹. Também foi verificada uma cinética de pseudo-primeira ordem com constante cinética de 0,0004 min⁻¹ e tempo de meia-vida de 1925 min⁻¹ (MARQUES *et al.*, 2013).



Figura 7.24 - Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Pseudoordem zero e Pseudo-primeira ordem para a venlafaxina (VEN). a) Irradiação artificial em água. b) irradiação solar em água. c) Irradiação artificial em esgoto. d) irradiação solar em esgoto.

Os modelos de pseudo-ordem zero e pseudo-primeira ordem ajustados aos dados experimentais para a venlafaxina são apresentados na Figura 7.24. A cinética de pseudo-primeira ordem para a venlafaxina observou tempos de meia-vida de 35 min (k_1 = 0,02 min⁻¹) na fotólise artificial e 2310 min (k_1 = 0,0003 min⁻¹) na solar em água. No esgoto os valores foram 12 min (k_1 = 0,06 min⁻¹) e 770 min (k_1 = 0,0009 min⁻¹) respectivamente para artificial e solar. Dentre os compostos estudados a venlafaxina foi a que apresentou maior degradação em todos os cenários testados.

A avaliação da fotodegradação da venlafaxina em águas superficiais na concentração de 3 μ g L⁻¹ e pH 6,5 por meio de irradiação artificial com lâmpada de vapor de mercúrio de 150 W (λ <290 nm) e luz solar natural também apresentou cinética de pseudo-primeira ordem com valores de k₁ variando de 0,0004 a 0,0002 min⁻¹, respectivamente. A meia-vida observada foi de 1580 min para lâmpada de vapor de mercúrio e 3456 min para irradiação solar (RÚA-GÓMEZ e PÜTTMANN, 2013).

Outro estudo empregando esgoto doméstico sintético enriquecido com 100 mg L⁻¹ de venlafaxina em pH 6,5 aplicou fotodecomposição por luz solar simulada.

No mesmo foi utilizado um reator composto por lâmpadas de xenônio de 500 W imersas e fotólise UV artificial no mesmo reator por lâmpadas de descarga de mercúrio com emissão na região UV-C do espectro. Os autores reportaram uma cinética de pseudo-primeira ordem em ambos os experimentos, com k₁ de 0,0002 min⁻¹ e 0,014 min⁻¹, respectivamente (GIANNAKIS et al., 2016). Considerando a semelhança da matriz testada com o esgoto tratado empregado em nossa pesquisa e as variações no aparato instrumental verifica-se similaridade em termos de ordem de grandeza para os valores de constante cinética em ambos os estudos.

A Figura 7.25 representa o ajuste dos modelos testados aos dados experimentais de degradação do citalopram.

Ao contrário do que foi observado neste estudo, a avaliação da fotólise do citalopram em meio aquoso, realizada em pH 9 e utilizando fonte de radiação com emissão maior que 290 nm para simulação de luz solar obteve tempo de meia-vida de 65 dias (KWON e ARMBRUST, 2005). A banda máxima de absorção deste composto encontra-se na região de 240 nm e, portanto, abaixo da faixa de radiação aplicada, o que justificaria a diferença.



Figura 7.25 - Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Pseudoordem zero e Pseudo-primeira ordem para o citalopram (CIT). a) Irradiação artificial em água. b) irradiação solar em água. c) Irradiação artificial em esgoto. d) irradiação solar em esgoto.

Os modelos de pseudo-ordem zero e pseudo-primeira ordem ajustados para os dados experimentais da fluoxetina são apresentados na Figura 7.26.



Figura 7.26 - Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Pseudoordem zero e Pseudo-primeira ordem para a fluoxetina (FLU). a) Irradiação artificial em água. b) irradiação solar em água. c) Irradiação artificial em esgoto. d) irradiação solar em esgoto.

Para a fluoxetina foram verificados na fotólise artificial valores de k₁ da ordem de 0,01 (t_{1/2}=69 min) para água e 0,02 min⁻¹(t_{1/2}=69 min) em esgoto. No ensaio com insolação natural para as mesmas matrizes foram obtidos 0,0006 min⁻¹ (t_{1/2}=1155 min) e 0,001 min⁻¹ (t_{1/2}=693 min), respectivamente.

A cinética de fotodegradação da fluoxetina em meio aquoso foi estudada em um simulador solar (Chicago, EUA) empregando lâmpada de xenônio com máximo de emissão em 290 nm e potência de 765 W m⁻². Nesse estudo obteve-se um tempo de meia vida 3300 min. A cinética descrita foi a de pseudo-primeira ordem com constante de 0,0002 min⁻¹ (LAM *et al.*, 2005). Apesar das diferenças operacionais, estes valores são da mesma ordem semelhantes aos obtidos em nosso estudo para a condição em água e insolação natural.

A fotodecomposição da fluoxetina foi estudada em água procedente de lago fortificada com 0,03 mg L⁻¹ do analito nos pHs 3, 5 e 9. A solução foi acondicionada

em um reator de quartzo irradiado por uma lâmpada UV imersas com potência de 450 W. O tempo de meia vida observado para o pH 5 foi de 8040 min, o que corresponde a um k_1 de 0,00009 min⁻¹ (LAUER e ROSS, 2005). Possivelmente os valores inferiores se devem à menor concentração inicial do analito e ao tipo de lâmpada.

A Figura 7.27 apresenta os dados obtidos no estudo cinético para a sertralina e o ajuste aos modelos testados.



Figura 7.27- Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Pseudo-ordem zero e Pseudo-primeira ordem para a sertralina (SER). a) Irradiação artificial em água. b) irradiação solar em água. c) Irradiação artificial em esgoto. d) irradiação solar em esgoto.

Os tempos de meia vida calculados para a sertralina em água, com exposição às fontes de Radiação UV artificial e natural foram de 139 min (k_1 = 0,005 min⁻¹) e 2310 min (k_1 = 0,0003 min⁻¹). No esgoto tratado e fortificado, os valores foram menores, 35 min (k_1 = 0,02 min⁻¹) e 770 min (k_1 = 0,009 min⁻¹), respectivamente. A cinética observada para a sertralina foi semelhante à observada para o citalopram.

Estudos cinéticos de fotodegradação da sertralina em concentração de 1 mg L⁻¹ foram realizados sob radiação solar simulada usando lâmpada de xenônio e sob

radiação solar natural. Foram testadas oito amostras diferentes: esgoto bruto e tratado, de água de abastecimento tratada e não tratada, água de rio, metanol, água ultrapura em pH 3 e 10. Nesta pesquisa também foi verificada maior degradação no esgoto em relação à água de rio e de abastecimento. Considerando o tempo de meia vida, para o esgoto tratado e água em pH 3 expostos à fotólise solar, os valores reportados foram de 7056 min (k_1 = 0,0009 min⁻¹) e 9936 min (k_1 = 0,0007 min⁻¹) (SLIWKA-KASZYNSKA e JAKIMSKA, 2014).

Um reator fotoquímico comercial Model 400S® (Photochemical Reactors Ltd.), composto por lâmpada imersa e refrigeração, foi utilizado no estudo de degradação da sertralina 0,045 mg L⁻¹ em solução aquosa. Foram verificados tempo de meia vida de 693 min e constante cinética de 0,001 min⁻¹ (BRCAR, 2015). A principal diferença observada se deve à baixa concentração inicial empregada e à refrigeração do reator, pois ambos são variáveis que afetam a velocidade reacional.

Os modelos de pseudo-ordem zero e pseudo-primeira ordem ajustados aos dados experimentais para a amitriptilina são apresentados na Figura 7.28.



Figura 7.28 - Ajuste dos dados experimentais aos modelos cinéticos de Pseudoordem zero e Pseudo-primeira ordem para a amitriptilina (AMI). a) Irradiação artificial em água. b) irradiação solar em água. c) Irradiação artificial em esgoto. b) irradiação solar em esgoto.

Para a amitriptilina, a meia vida obtida no processo de fotólise artificial em água foi de 116 min (k_1 = 0,006 min⁻¹) e natural de 3466 min (k_1 = 0,002 min⁻¹). Em esgoto foram de 69 min (k_1 = 0,01 min⁻¹) e de 693 min (k_1 = 0,001 min⁻¹), respectivamente. Este analito foi o que apresentou maior persistência em água quando empregada a luz solar.

O salicilato de metila, 2-fenóxietanol e amitriptilina em meio aquoso foram submetidos a processos oxidativos com radiação ultravioleta individual e combinada com outros agentes químicos. Para a amitriptilina (0,28 mg L⁻¹), no ensaio empregando fotólise direta em reator de vidro termostatizado e acoplado a lâmpada de vapor de mercúrio de baixa pressão de 15 W com emissão monocromática em 254 nm, foram reportadas constantes cinéticas de pseudo-primeira ordem em água ultrapura (k₁= 0,086 min⁻¹), água de reservatório (k₁= 0,046 min⁻¹), esgoto bruto (k₁= 0,088 min⁻¹) e esgoto tratado (k₁= 0,068 min⁻¹) (BENITEZ et al., 2016).

Embora a literatura atual não apresente valores para as constantes cinéticas e meia vida, em condições idênticas às testadas no nosso estudo, foram observadas algumas semelhanças em termos de ordem de grandeza para a maioria dos analitos estudados. O efeito de componentes da matriz aquosa sobre o aumento da taxa de reação também foi reportado, confirmando que a composição das águas naturais e esgotos tem efeito sobre a fotodecomposição dos micropoluentes investigados.

7.4 CONCLUSÕES

O presente trabalho mostra a viabilidade da aplicação da fotólise direta para a degradação dos antidepressivos e cafeína em soluções aquosas contaminadas, no domínio das condições experimentais estudadas. O planejamento experimental empregado permitiu avaliar as diferentes condições experimentais, em termos da concentração inicial e pH inicial, para degradar estes poluentes por fonte artificial de radiação.

Foi observada maior degradação em matrizes complexas como esgoto e águas superficiais, indicando que a persistência depende também de espécies dissolvidas capazes de fazerem parte dos mecanismos de degradação. O estudo qualitativo dos subprodutos possivelmente formados no processo artificial em solução aquosa possibilitou confirmar a transformação dos analitos mediante ao surgimento de picos adicionais na análise cromatográfica por CLAE-PDA. Em termos gerais, a literatura atual tem indicado a predominância de mecanismos de degradação dos fármacos estudados através de reações de oxidação, hidroxilação e perda de substituintes ligados ao esqueleto hidrocarbônico (desmetilação, descloração, etc.). Nestas transformações não se observa clivagem ou mineralização completa do esqueleto hidrocarbônico principal dos fármacos em estudo, o que não assegura a inativação dos microcontaminantes, visto que os compostos formados ainda podem apresentar efeito ecotoxicológico.

Os resultados obtidos empregando luz solar sugerem a persistência dos microcontaminantes investigados quando expostos apenas a esta fonte de radiação no ambiente. A incidência de radiação solar varia com as estações do ano e a condição meteorológica, criando cenários específicos em que a possibilidade de fotólise natural é variável ou incerta.

A cinética de degradação observada foi condizente com o modelo de pseudoprimeira ordem e a determinação dos tempos de meia vida apresentou semelhanças com alguns estudos pioneiros já realizados, apesar da dificuldade de comparação quanto à variação das condições experimentais.

REFERÊNCIAS

ALAPI, T.; DOMBI, A. Comparative study of the UV and UV/VUV-induced photolysis of phenol in aqueous solution. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 188, n. 2-3, p. 409-418, 2007.

ANDREOZZI, R.; RAFFAELE, M.; NICKLAS, P. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. **Chemosphere**, v. 50, n. 10, p. 1319-1330, 2003.

BENITEZ, F. J.; REAL, F. J.; ACERO, J. L.; CASAS, F. Degradation of Amitriptyline Hydrochloride, Methyl Salicylate and 2-Phenoxyethanol in Water Systems by the Combination UV/Cl2. International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering, v. 10, n. 8, p. 1044-1048, 2016.

BLUM, K. Phototransformation of pharmaceuticals in the environment: Multivariate modeling and experimental determination of photolysis half-lives (Master)

Umeå

University

(http://umu.divaportal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A632013&dswid=7516). 2013. Acesso em 15 nov 2016.

BOREEN, A. L.; ARNOLD, W. A.; MCNEILL, K. Photodegradation of pharmaceuticals in the aquatic environment: A review. **Aquatic Sciences - Research Across Boundaries**, v. 65, n. 4, p. 320-341, 2003.

BRCAR, T. **Preučevanje kinetike fotorazgradnje sertralina v vodi**. Magistrska Naloga (Master). Fakulteta Za Farmacijo, Univerza v Ljubljani Ljubljana. 2015

BUSCHMANN, J.; CANONICA, S.; LINDAUER, U.; HUG, S. J.; SIGG, L. Photoirradiation of Dissolved Humic Acid Induces Arsenic(III) Oxidation. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 24, p. 9541-9546, 2005.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro-RJ: E-Papers Serviços Editoriais, 2003.

CANONICA, S.; FREIBURGHAUS, M. Electron-Rich Phenols for Probing the Photochemical Reactivity of Freshwaters. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 4, p. 690-695, 2001.

CARLSON, J. C.; STEFAN, M. I.; PARNIS, J. M.; METCALFE, C. D. Direct UV photolysis of selected pharmaceuticals, personal care products and endocrine disruptors in aqueous solution. **Water Research**, v. 84, p. 350-361, 2015.

COSTA JUNIOR, I. L.; PLETSCH, A. L.; TORRES, Y. R. Occurrence of Antidepressant Drugs in the Environment - A Review. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, 2014.

GIANNAKIS, S.; HENDAOUI, I.; JOVIC, M.; GRANDJEAN, D.; FELIPPE DE ALENCASTRO, L.; GIRAULT, H.; PULGARIN, C. Solar photo-Fenton and UV/H2O2 processes against the antidepressant Venlafaxine in urban wastewaters and human urine. Intermediates formation and biodegradability assessment. **Chemical Engineering Journal**, 2016.

HORSING, M.; KOSJEK, T.; ANDERSEN, H. R.; HEATH, E.; LEDIN, A. Fate of citalopram during water treatment with O3, CIO2, UV and Fenton oxidation. **Chemosphere**, v. 89, n. 2, p. 129-35, 2012.

HYLAND, K. C.; DICKENSON, E. R.; DREWES, J. E.; HIGGINS, C. P. Sorption of ionized and neutral emerging trace organic compounds onto activated sludge from different wastewater treatment configurations. **Water Resear**ch, v. 46, n. 6, p. 1958-68, 2012.

INPE. **Divisão de satélites e Sistemas Ambientais**. Índice ultravioleta. em: < http://pyata.cptec.inpe.br/uv/>. Acesso em: 16 jun 2016.

ISIDORI, M.; LAVORGNA, M.; NARDELLI, A.; PASCARELLA, L.; PARRELLA, A. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. **Science of The Total Environment**, v. 346, n. 1-3, p. 87-98, 2005.

JACOBS, L. E.; WEAVERS, L. K.; HOUTZ, E. F.; CHIN, Y.-P. Photosensitized degradation of caffeine: Role of fulvic acids and nitrate. **Chemosphere**, v. 86, n. 2, p. 124-129, 2012.

KEEN, O. S.; MCKAY, G.; MEZYK, S. P.; LINDEN, K. G.; ROSARIO-ORTIZ, F. L. Identifying the factors that influence the reactivity of effluent organic matter with hydroxyl radicals. **Water Research**, v. 50, p. 408-419, 2014.

KHALEEL, N. D. H.; MAHMOUD, W. M. M.; OLSSON, O.; KÜMMERER, K. UVphotodegradation of desipramine: Impact of concentration, pH and temperature on formation of products including their biodegradability and toxicity. **Science of The Total Environment**, v. 566-567, p. 826-840, 2016.

KOSJEK, T.; HEATH, E. Tools for evaluating selective serotonin re-uptake inhibitor residues as environmental contaminants. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 8, p. 832-847, 2010.

KWON, J.-W.; ARMBRUST, K. L. Degradation of Citalopram by Simulated Sunlight. **Environmental Toxicology and Chemist**ry, v. 24, n. 7, p. 1618, 2005.

LAJEUNESSE, A.; BLAIS, M.; BARBEAU, B.; SAUVE, S.; GAGNON, C. Ozone oxidation of antidepressants in wastewater -Treatment evaluation and characterization of new by-products by LC-QToFMS. **Chemistry Central Journal**, v. 7, n. 1, p. 15, 2013.

LAJEUNESSE, A.; GAGNON, C.; GAGNE, F.; LOUIS, S.; CEJKA, P.; SAUVE, S. Distribution of antidepressants and their metabolites in brook trout exposed to municipal wastewaters before and after ozone treatment - Evidence of biological effects. **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p. 564-571, 2011.

LAM, M. W.; YOUNG, C. J.; BRAIN, R. A.; JOHNSON, D. J.; HANSON, M. A.; WILSON, C. J.; RICHARDS, S. M.; SOLOMON, K. R.; MABURY, S. A. Aquatic Persistence of Eight Pharmaceuticals in a Microcosm Study. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 1431, 2004.

LAM, M. W.; YOUNG, C. J.; MABURY, S. A. Aqueous Photochemical Reaction Kinetics and Transformations of Fluoxetine. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 2, p. 513-522, 2005.

LAUER, E.; ROSS, M. Photodecomposition of Fluoxetine. Pharmaceuticals and **Personal Care Products in Surface Water**. Collegeville, Minnesota.: The College of Saint Benedict/Saint John's University 2005.

LI, H.; SUMARAH, M. W.; TOPP, E. Persistence of the tricyclic antidepressant drugs amitriptyline and nortriptyline in agriculture soils. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 32, n. 3, p. 509-516, 2013.

LI, Y.; NIU, J.; WANG, W. Photolysis of Enrofloxacin in aqueous systems under simulated sunlight irradiation: Kinetics, mechanism and toxicity of photolysis products. **Chemosphere**, v. 85, n. 5, p. 892-897, 2011.

MARQUES, R. R. N.; SAMPAIO, M. J.; CARRAPIÇO, P. M.; SILVA, C. G.; MORALES-TORRES, S.; DRAŽIĆ, G.; FARIA, J. L.; SILVA, A. M. T. Photocatalytic degradation of caffeine: Developing solutions for emerging pollutants. **Catalysis Today**, v. 209, p. 108-115, 2013.

MAŚLANKA, A.; HUBICKA, U.; KRZEK, J.; WALCZAK, M.; IZWORSKI, G. Determination of fluoxetine in the presence of photodegradation products appearing during UVA irradiation in a solid phase by chromatographic-densitometric method, kinetics and identification of photoproducts. **Acta Chromatographica**, v. 25, n. 3, p. 465-481, 2013.

OPPENLÄNDER, T. Photochemical Purification of Water and Air: Advanced Oxidation Processes (AOPs)-Principles, Reaction Mechanisms, Reactor Concepts. John Wiley & Sons, 2003.

PARSONS, S. Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment. London: IWA Publishing, 2005.

PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. LC-MS for identifying photodegradation products of pharmaceuticals in the environment. **TrAC Trends in Analytical Chemist**ry, v. 26, n. 6, p. 486-493, 2007.

RÚA-GÓMEZ, P. C.; PÜTTMANN, W. Degradation of lidocaine, tramadol, venlafaxine and the metabolites O-desmethyltramadol and O-desmethylvenlafaxine in surface waters. **Chemosphere**, v. 90, n. 6, p. 1952-1959, 2013.

SANTOKE, H.; SONG, W.; COOPER, W. J.; PEAKE, B. M. Advanced oxidation treatment and photochemical fate of selected antidepressant pharmaceuticals in solutions of Suwannee River humic acid. **Journal of Hazardous Materials**, v. 217-218, p. 382-390, 2012.

SIM, W. J.; LEE, J. W.; OH, J. E. Occurrence and fate of pharmaceuticals in wastewater treatment plants and rivers in Korea. **Environmental pollution**, v. 158, n. 5, p. 1938-47, 2010.

SLIWKA-KASZYNSKA, M.; JAKIMSKA, A. Environmental Fate of Two Psychiatric Drugs, Diazepam and Sertraline: Phototransformation and Investigation of their Photoproducts in Natural Waters. **Journal of Chromatography & Separation Techniques**, v. 05, n. 06, 2014.

SOUTER, R. W.; DINNER, A. GLC determination of degradation of two related amine uptake inhibitors. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 3, p. 457-9, 1976.

STURINI, M.; SPELTINI, A.; MARASCHI, F.; PROFUMO, A.; PRETALI, L.; FASANI, E.; ALBINI, A. Photochemical Degradation of Marbofloxacin and Enrofloxacin in Natural Waters. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 4564-4569, 2010.

SUBEDI, B.; LEE, S.; MOON, H. B.; KANNAN, K. Psychoactive pharmaceuticals in sludge and their emission from wastewater treatment facilities in Korea. **Environmental science & technology**, v. 47, n. 23, p. 13321-9, 2013.

SZÉKELY, P.; GYÉRESI, Á.; HANCU, G.; ESZTER, L. Z.; SZENDE, V. Identification of the Photodegradation Products of the Tricyclic Antidepressant Drugs Clomipramine and Doxepine. **Acta Medica Marisiensis**, v. 57, n. 6, 2011.

TELO, J. P.; VIEIRA, A. J. S. C. Mechanism of free radical oxidation of caffeine in aqueous solution. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions** 2, n. 9, p. 1755-1758, 1997;

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment--a review. **The Science of the total environment**, v. 429, p. 123-55, 2012.

WOLS, B. A.; HOFMAN-CARIS, C. H. M. Review of photochemical reaction constants of organic micropollutants required for UV advanced oxidation processes in water. **Water Rese**arch, v. 46, n. 9, p. 2815-2827, 2012.

YUAN, F.; HU, C.; HU, X.; QU, J.; YANG, M. Degradation of selected pharmaceuticals in aqueous solution with UV and UV/H2O2. **Water Research**, v. 43, n. 6, p. 1766-1774, 2009..

ZHANG, Q.; LI, C.; LI, T. Rapid Photocatalytic Degradation of Methylene Blue under High Photon Flux UV Irradiation: Characteristics and Comparison with Routine Low Photon Flux. **International Journal of Photoenergy**, v. 2012, p. 1-7, 2012.





CAPÍTULO 8 ESTUDO DE SORÇÃO E DESSORCAO DE ANTIDEPRESSIVOS RESIDUAIS E CAFEÍNA EM SEDIMENTOS DE ÁGUA DOCE E LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO



RESUMO

A interação dos microcontaminantes com o compartimento sólido é um fator importante quando se considera seu destino nos ecossistemas. A extensão da sorção de um composto orgânico em um meio depende da estrutura e das propriedades físico-químicas de ambos, e como consequência o tipo de interação estabelecida. Nesta pesquisa foi investigada a sorção e dessorção da cafeína e dos antidepressivos venlafaxina, citalopram, fluoxetina, sertralina e amitriptilina em sedimentos de água doce e lodos de estação de tratamento de esgoto. A caracterização das matrizes foi realizada por gravimetria, pela determinação do PCZ e por espectroscopia infravermelho. Os experimentos de sorção e dessorção foram conduzidos pelo método em bateladas empregando 1 g de sólido e 5 mL de fase aquosa em tubos tipo falcon com agitação em mesa orbital a 250 rpm e temperatura de 25°C. As determinações foram realizadas por espectrofotometria no ultravioleta e por CLAE-PDA. Os dados experimentais foram ajustados a modelos cinéticos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem com o intuito de determinar o tempo de equilíbrio. A sorção e a dessorção foram estudadas por meio do ajuste às isotermas linear e de Freundlich. A partição foi avaliada pelos coeficientes k_d, k_{oc} e pelo cálculo do percentual de dessorção. A composição das matrizes revelou predominância de frações orgânicas, porém de natureza húmica para o sedimento e biomoléculas alifáticas para o lodo. A presença de silte e argila no sedimento demonstrou ser importante para o processo de sorção quando comparado à estrutura flocosa e coloidal do lodo. A determinação do PCZ foi coerente com a natureza físico-química das matrizes estudadas e reforçou a importância do pH do meio e do pKa dos analitos para o processo de sorção. O estudo cinético indicou comportamento de pseudo-primeira ordem. A interpretação da sorção pela isoterma de Freundlich mostrou-se satisfatória para todos os analitos e matrizes. A avaliação das constantes do modelo e dos coeficientes k_d e k_{oc} foi coerente com outros estudos e indicou concordância entre a hidrofobicidade dos fármacos e a sua afinidade pelas matrizes sólidas. A dessorção também apresentou correlação adequada com o modelo de Freundlich. A histerese observada foi justificada com base no comportamento do sedimento e do lodo e dos mecanismos envolvidos no processo. Os elevados percentuais obtidos para a dessorção sugerem mobilidade dos analitos, sendo esta mais intensa no lodo do que no sedimento, visto que existem particularidades de composição em cada matriz e, portanto, mecanismos diferenciados em termos de energia e afinidade com as substâncias estudadas.

Palavras Chave: Poluentes emergentes; Fármacos; Persistência; Partição; Mobilidade; Sorção.

ABSTRACT

The interaction of microcontaminants with the solid compartment is an important factor when considering your destination ecosystems. The extent of sorption of an organic compound in a medium depends on the structure and physicochemical properties of both and consequently the type of interaction established. This research investigated the sorption and desorption of caffeine and the antidepressant venlafaxine, citalopram, fluoxetine, sertraline and amitriptyline in freshwater sediments and sludge of sewage treatment plant. The characterization of the arrays was performed gravimetrically by determining the PZC and infrared spectroscopy. The sorption and desorption experiments were conducted by the method in batch using 1 g of solid and 5 mL of aqueous phase in falcon tubes with shaking in orbital table at 250 rpm and 25 °C. The determinations were performed by ultraviolet spectrophotometry and by HPLC-PDA. The experimental data were fit to the kinetic model pseudo-first and pseudo-second order for to determine the equilibrium time. The sorption and desorption were studied by adjusting the linear isotherm and Freundlich. The partition was evaluated by k_d coefficients k_{oc} and by calculating the percentage of desorption. The composition of the matrix revealed predominance of organic fractions, but the humic nature to sediment and biomolecules aliphatic for the sludge. The presence of silt and clay sediment demonstrated to be important for sorption when compared to flaky structure and colloidal sludge. The determination of the PZC was consistent with the physical and chemical nature of the matrices studied and reinforced the importance of the pH of the medium and the pKa of the analytes to the process of sorption. The kinetic study indicated behavior of pseudo-first order. The interpretation of sorption by Freundlich isotherm was satisfactory for all analytes and matrices. The evaluation of the model constants and coefficients k_d and k_{oc} was consistent with other studies and indicated correlation between hydrophobicity of drugs and their affinity for solids. Desorption also showed adequate correlation with the model of Freundlich. The hysteresis observed was justified based on sediment behavior and the mud and the mechanisms involved. The high percentages obtained for the desorption suggest mobility of analytes, this being more intense in the sludge than in the pellet, as there are compositional characteristics in each array, and therefore different mechanisms in terms of energy and affinity to the substances studied.

Keywords: Emerging Pollutants; drugs; Persistence; partition; Mobility; Sorption

8.1 INTRODUÇÃO

A interação dos contaminantes orgânicos com o material particulado (lodo e sedimentos) é um fator importante para a avaliação de sua distribuição e persistência ambiental. Os principais mecanismos reportados envolvem o transporte entre as fases, biodegradabilidade e biodisponibilidade. Todos estes processos são altamente dependentes do aporte dessas substâncias no compartimento sólido (PIGNATELLO e XING, 1996; HUANG *et al.*, 2003; WARREN *et al.*, 2003).

A interação de contaminantes orgânicos por sorção nos sedimentos e lodos está relacionada com a sua estrutura molecular, estado de ionização, pH, solubilidade em água, grupos funcionais presentes e o coeficiente de partição (k_d) (DOUCETTE, 2000). Ambientes ricos em material argiloso, por exemplo, tem maior afinidade por micropoluentes catiônicos em comparação aos que não possuem cargas (não ionizados). O teor de matéria orgânica também influencia os mecanismos de sorção propiciando outras interações não diretamente associadas à carga (GAO e PEDERSEN, 2005). Em geral, quanto mais hidrofóbico um composto, maior será sua tendência em acumular-se na fase sólida, e uma substância mais hidrofílica, tende a ficar na fase aquosa (TOLLS, 2001; JONES *et al.*, 2005).

A sorção compreende o processo de adsorção superficial baseado nas características de hidrofobicidade e o processo de absorção quando ocorre a difusão para o interior da matriz sólida devido a aspectos de porosidade e incorporação à estrutura. A sorção pode ser reversível ou irreversível em dependência do tipo de interação do analito com a matriz (interação intermolecular ou ligação química) (PIGNATELLO e XING, 1996; WARREN *et al.*, 2003; SVAHN e BJÖRKLUND, 2015).

A difusão de micropoluentes na matriz sólida do compartimento pode ocorrer em dias ou até meses. Nesse processo, a força da sorção e a irreversibilidade podem variar ao longo do tempo (LESAN e BHANDARI, 2003). A irreversibilidade do processo de sorção pode ser estimada por estudos de dessorção, onde uma solução livre do contaminante é adicionada a uma matriz que já contenha o composto de interesse. A dessorção tem influência direta sobre a qualidade ambiental frente à ocorrência de poluentes emergentes, pois governa processos de redução da biodisponibilidade e, por conseguinte, a toxicidade (CORNELISSEN *et al.,* 2005; SERPIL, 2013).

Uma das principais rotas de introdução de fármacos residuais nos ecossistemas é o esgoto doméstico. Isto se deve ao fato de que uma grande parte das drogas utilizadas na medicina são parcialmente excretadas do organismo inalteradas ou na forma de metabólitos (KOLPIN *et al.*, 2002; JONES *et al.*, 2010). Nos sistemas de tratamento convencionais podem ocorrer algumas partições, pois a biomassa produzida pela atividade microbiológica e os sólidos presentes são compostos de matéria orgânica rica em componentes hidrofóbicos. Esta característica pode favorecer a sorção de alguns contaminantes, diminuindo sua concentração na fase aquosa (JONES *et al.*, 2005). O monitoramento, quando realizado apenas nesta fase, pode levar a uma falsa constatação da remoção, além disso, a disposição do lodo é comumente realizada em solos, servindo à adubação (MORLEY *et al.*, 2006). Uma vez no solo há possibilidades de ocorrerem dessorções e serem geradas novas rotas de inserção no meio ambiente.

Estudos de sorção para micropoluentes em lodo de esgoto têm relacionado o coeficiente de distribuição (k_d) a dois mecanismos principais. A absorção, baseada em interações hidrofóbicas de grupos alifáticos e aromáticos de um composto com a membrana celular lipofílica dos microrganismos e as frações lipídicas do lodo. Na adsorção há interações eletrostáticas de grupos químicos carregados positivamente com a carga negativa da superfície da biomassa, associada à tendência de uma substância a ser ionizada ou dissociada em fase aquosa (TERNES *et al.*, 2004; BITTENCOURT *et al.*, 2016).

A interação de microcontaminantes em lodos nos sistemas de tratamento é composta de duas reações dominantes, sendo sorção da fase líquida para a fase sólida e a dessorção. O equilíbrio da sorção é alcançado quando as taxas das duas reações são iguais. Porém, não existem dados disponíveis para estimar as taxas de sorção e dessorção. Mas, uma vez que na maioria dos casos relativos a tratamento de esgotos a difusão é mais rápida quando comparada com o tempo de retenção hidráulica ou com a remoção biológica da maioria dos compostos, o equilíbrio pode ser assumido para o particionamento sólido – líquido (WANG e GRADY, 1995; TERNES *et al.*, 2004; JOSS *et al.*, 2005).

Além disso, a elevada quantidade de partículas coloidais pode contribuir para um mecanismo diferenciado com uma sorção mais rápida, porém menos estável (Figura 8.1) (BARRET *et al.*, 2011).



Figura 8.1 - Representação da interação de micropoluentes nas frações sorvidas em coloides, nos flocos e incorporada na biomassa.

A parcela de resíduos com comportamento hidrofílico nas condições de pH e composição do esgoto, bem como o residual menos hidrofóbico particionado na fase aquosa são direcionadas para corpos hídricos após deixarem as estações de tratamento. Depois do despejo e incorporação nas águas superficiais, estes microcontaminantes estão disponíveis para interagirem com o sedimento de fundo ou em suspensão. Os principais mecanismos envolvidos nessa interação compreendem a troca iônica, adsorção superficial em constituintes minerais, a formação de complexos com íons metálicos e ligações de hidrogênio (TOLLS, 2001; BOXALL *et al.*, 2002).

A Figura 8.2 representa os processos de sorção na matriz sedimento, onde o microcontaminante pode interagir tanto superficialmente com as frações minerais e orgânicas recentes, quanto sofrer difusão para o interior dos poros ou ser ocluso na matéria vítrea.

Fonte: Adaptado de KEIDING e NIELSEN (1997) e BARRET et al. (2011)





Fonte: Adaptado de D'AGOSTINHO e FLUES, 2006.

Neste estudo foram avaliadas as características dos processos de sorção e dessorção de cinco antidepressivos de uso comum e da cafeína em meio aquoso em sedimento de água doce e em lodo de estação de tratamento, tendo em vista a escassez de informações referentes ao comportamento desses analítos nessas matrizes.

8.2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes, padrões e soluções empregados no estudo de sorção e dessorção apresentaram características e preparo descritas no capítulo 3, assim como os lodos e sedimentos investigados foram caracterizados no capítulo 4 quanto a suas propriedades físico-químicas de modo quantitativo e qualitativo.

Nos ensaios preliminares e individuais com cada analito foi utilizado um espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 45 de feixe duplo. Os fármacos foram monitorados na faixa 400 a 200nm com resolução de 2 nm. Foram utilizadas cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm. Para os estudos de sorção e dessorção foi utilizado o método cromatográfico CLAE-PDA com aplicação das condições descritas no capítulo 3.
8.2.1 Determinação do ponto de carga zero (PCZ)

A determinação do potencial zeta ou ponto de carga zero (PCZ) ocorreu por potenciometria. Amostras compostas de 0,5 g de sedimento em tubos tipo *falcon* com 50 mL de solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹ tiveram seu pH ajustado previamente a diferentes valores (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) mediante adição de HCl ou NaOH 1,0 mol L⁻¹. Os frascos vedados com filme plástico foram mantidos sob agitação constante (120 rpm) em agitador orbital à 25°C. O pH foi medido e monitorado a intervalos de 1 hora até obtenção de valores constantes.

Por conveniência, a agitação foi mantida por 24 h para garantir o equilíbrio das soluções. A variação nos valores de pH finais e inicial foram plotados em função dos valores pH inicial. O ponto de carga zero foi indicado graficamente.

8.2.2 Ensaios de sorção e dessorção em sedimento e lodo de esgoto

A abordagem comumente empregada em estudos de sorção baseia-se na aplicação do método em bateladas. Alíquotas da matriz sólida foram expostas aos compostos orgânicos de interesse em solução, sob agitação e por um determinado período (geralmente 24 h). Com base na redução da concentração na fase líquida é possível avaliar a afinidade do analito pela fase sólida (USEPA, 1998; OECD, 2000).

Os experimentos foram realizados em batelada utilizando incubadora com agitação orbital em ensaios individuais para cada analito. Triplicatas contendo 1 g de sedimento, acrescidos de 5 mL da solução aquosa contendo o compostos estudados foram inseridos em tubos *falcon* e agitados a 250 rpm na temperatura de 25°C. A fim de ajustar as condições do meio em termos de força iônica e espécies químicas comumente presentes, nos estudos em sedimento foram utilizadas fases aquosas compostas por CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (OECD, 2000). Para o estudo de sorção em lodo foi empregado um tampão fosfato com pH 6 a 8 composto por KH₂PO₄, K₂HPO₄ e Na₂HPO₄ devido à predominância dos íons potássio e sódio existentes no esgoto (BERTHOD et al., 2014).

A separação da matriz sólida da fase aquosa ocorreu por meio de centrifugação a 2000 RMP, seguida da filtração em membrana de *nylon* 0,22 μm. As determinações foram realizadas por CLAE-PDA e Espectroscopia UV-Vis.

8.2.2.1 Cinética de sorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto

O estudo do tempo de equilíbrio ocorreu em ensaios cinéticos considerando a concentração inicial de 10 mg L⁻¹. A concentração do fármaco em solução foi medida nos tempos de 0, 1, 2, 4, 8, 16 e 24 h.

A quantidade dos analitos sorvida no lodo e sedimento (q(t)), expressa em μ g g⁻¹, em um instante de tempo *t*, foi calculada pela Equação 8.1.

$$q(t) = \frac{V(C_0 - C_t)}{m}$$
Eq.8.1

Em que *V* é o volume da solução em mL, C_0 é a concentração inicial da solução µg mL⁻¹, C(t) é a concentração da solução em um instante de tempo *t* em µg mL⁻¹ e *m* é a massa em grama de lodo ou sedimento secos.

O tempo e a concentração dos fármacos no equilíbrio (q_e) foram determinados por inspeção do gráfico tempo *versus* q(t), considerando o instante em que a remoção apresentou comportamento constante.

Os dados cinéticos de equilíbrio foram ajustados aos modelos de pseudoprimeira ordem proposto por Lagergren (1989) representado pela Equação 8.2 e de pseudo-segunda ordem proposto por Ho e McKay (1999) descrito na Equação 8.3 (HO e MCKAY, 1998a; YUH-SHAN, 2004).

$$q(t) = q_e(1 - e^{-k_1 t})$$
 Eq. 8.2

$$q(t) = \frac{(q_e)^2 k_2 t}{(q_e k_2 t) + 1}$$
 Eq. 8.3

Onde $q_e e q(t)$ são as capacidades de adsorção de equilíbrio e no tempo, respectivamente, em $\mu g g^{-1}$; *t* é o tempo em h; k_1 (h⁻¹) e k_2 (g μg^{-1} h⁻¹) são as

constantes correspondentes aos modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem, respectivamente. Os parâmetros dos modelos foram obtidos a partir de regressão não linear. A avaliação dos mesmos ocorreu por meio inspeção dos valores de R².

8.2.2.2 Estudo do equilíbrio de sorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto

No ensaio de sorção foram preparadas bateladas em triplicata com dez concentrações na faixa de 3 a 21 mg L⁻¹. Após o equilíbrio de 24 horas foram feitas as medidas de concentração na fase aquosa.

Para descrever o equilíbrio de sorção os dados experimentais foram ajustados à modelos de isotermas de sorção. Estes modelos indicam a forma como o lodo ou sedimento efetivamente sorve os analitos da solução. Eles expressam a relação entre a quantidade que é adsorvida por unidade de massa sólida e a concentração em solução no equilíbrio a uma determinada temperatura constante.

O modelo de sorção mais simples é o da isoterma linear (Equação 8.4). Ela indica que a quantidade adsorvida é proporcional à concentração na solução, não havendo um máximo (NAM *et al.*, 2014).

$$q_e = k_s C_e$$
 Eq. 8.4

Onde q_e está relacionada com a capacidade de adsorção do material em estudo sendo expressa em $\mu g g^{-1}$, C_e concentração na solução em $\mu g L^{-1}$ e k_s o coeficiente de partição em mL g^{-1} .

Estudos de sorção nos solos e sedimentos utilizam comumente a isoterma de Freundlich para descrever o processo (OECD, 2000) (Equação 8.5). A constante k_{F} é indicativa da extensão da adsorção e a constante *n* do grau de heterogeneidade da superfície entre a solução e concentração (YU *et al.*, 2008; NAM *et al.*, 2014). Quando *n* se iguala a 1, a isoterma de Freundlich assume a forma linear.

$$q_e = k_F C_e^{\frac{1}{n}}$$
 Eq. 8.5

Os parâmetros dos modelos foram obtidos a partir de regressão não linear e o ajuste avaliado por meio dos valores de R².

8.2.2.3 Determinação dos coeficientes de sorção

Uma forma de avaliar o comportamento de sorção e de mobilidade dos microcontaminantes em compartimentos como solos e sedimentos é através do coeficiente de distribuição (k_d) e do coeficiente de partição correlacionado à quantidade de matéria orgânica (k_{oc}) (OECD, 2000; KWON e ARMBRUST, 2008). Foi realizado um ensaio com cinco bateladas em triplicatas na faixa de 5 a 25 mg L⁻¹ para obtenção do coeficiente de distribuição k_d , entre a fase sólida e a solução. Este foi calculado pela Equação 8.6.

$$k_d = \frac{q_e}{c_e}$$
 Eq. 8.6

Onde q_e é quantidade adsorvida no equilíbrio em $\mu g g^{-1}$, C_e concentração na solução em $\mu g L^{-1}$ e k_d o coeficiente de distribuição em mL g^{-1} .

A relação entre k_d e o teor de matéria orgânica no lodo e no sedimento é expressa em termos de k_{oc} e foi obtida pela Equação 8.7 (OECD, 2000; KWON e ARMBRUST, 2008).

$$k_{oc} = k_d . \frac{100}{\% CO}$$
 Eq. 8.7

Sendo k_d o coeficiente de distribuição em mL g⁻¹ e %OC a quantidade de carbono orgânico presente na matriz sólida.

8.2.2.4 Avaliação da dessorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto

A dessorção dos fármacos foi avaliada na sequência ao estudo de sorção. Amostras de sedimento ou lodo, depois de centrifugadas, foram adicionadas a 5 mL de solução aquosa sem os analitos e mantidas sob a mesma condição de agitação e temperatura durante 24h. A quantidade dessorvida foi determinada de acordo com a Equação 8.8.

$$q_d = \frac{VC_d}{m}$$
 Eq. 8.8

Em que q_d é a quantidade dessorvida em μ g g⁻¹, *V* é o volume da solução sem os analitos mL, C_d é a concentração na fase aquosa μ g mL⁻¹ e m é a massa de lodo ou sedimento seca em g.

A dessorção também foi avaliada em termos de isotermas, com ajuste dos dados experimentais à Equação 6.5. Foi verificado o grau de histerese (h), calculado pela Equação 8.9. O h é uma forma quantitativa de relacionar as isotermas de adsorção e dessorção pela diferença entre estas duas isotermas experimentais (CELIS e KOSKINEN, 1999).

$$h = \frac{n_s}{n_d}$$
 Eq. 8.9

Em que n_s é a constante da isoterma de Freundlich para a sorção e n_d a mesma constante obtida para a dessorção.

O percentual de dessorção (%D) considerando o tempo de equilíbrio de 24 horas e as diferentes concentrações testadas foi calculado pela Equação 8.10.

$$\%D = \frac{q_d}{q_e} \times 100$$
 Eq. 8.10

Em que q_d é a quantidade dessorvida em µg g⁻¹ e q_e a quantidade sorvida em µg g⁻¹.

8.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

8.3.1 Ponto de carga zero (PCZ)

Os processos de sorção são fortemente dependentes do pH. Este afeta a carga superficial da matriz sorvente, bem como o grau de ionização dos compostos presentes na fase aquosa. O ponto de carga zero é um parâmetro que indica o valor de pH no qual um determinado sólido apresenta carga igual a zero em sua superfície. Este parâmetro é importante porque permite prever a carga na superfície em função do pH (SPARKS, 1995).

Os valores de PCZ obtidos para o sedimento e o lodo utilizados nos ensaios de sorção são apresentados na Figura 8.3.



Figura 8.3 - Ponto de carga zero para as amostras de sedimento e lodo usadas nos ensaios de sorção/dessorção

A inspeção da Figura 8.3 indica que os valores do pH no ponto de carga zero são de aproximadamente 4,6 para o sedimento e 4,0 para o lodo de esgoto. Abaixo desses valores há tendência das matrizes apresentarem carga superficial positiva favorecendo a adsorção de ânions e acima deste valor a superfície está carregada negativamente, favorecendo a adsorção de cátions.

O valor do PCZ obtido para o sedimento é semelhante ao da caulinita (4,0 a 4,6) (SPOSITO, 1989; SPARKS, 1995), um argilomineral abundante neste compartimento, indicando predominância da fração argila.

Minerais e compostos orgânicos que compõem o lodo e sedimento podem apresentar nas suas superfícies cargas negativas e positivas, que podem ser permanentes e/ou dependentes do pH. Estas cargas se formam nos grupos funcionais de superfície e são originadas pela sorção ou dessorção de prótons (íons H⁺) ou de íons hidroxil (OH⁻) pelos grupos funcionais de superfície. Na matéria orgânica, o principal grupo funcional é o grupo carboxila (-COOH) (SPOSITO, 1989).

Considerando o pH em torno de 7 para as soluções de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ usadas nos ensaios com sedimentos e de 6 a 8 do tampão fosfato empregado nos estudos do lodo de esgoto, pode-se assumir que a carga das matrizes encontravase acima do PCZ, e, portanto há predominância de sitos carregados negativamente, favorável a sorção dos micropoluentes em sua forma protonada (catiônica).

Além da característica superficial do sólido a ionização dos analitos contribui para a sorção. Todos os compostos estudados possuem pka maior que 9,4, sugerindo que, em meios onde o pH for menor que este valor, há ocorrência de protonação formando espécies catiônicas que possivelmente, são adsorvidas nas matrizes estudadas (AL-KHAZRAJY e BOXALL, 2016).

Sabe-se também que mecanismo de sorção pode estar relacionado com o teor de carbono orgânico nos lodos, solos ou sedimento. Assim, os compostos ionizáveis podem apresentar mecanismos mistos de sorção, tais como troca iônica, interação com grupos nas superfícies de argilominerais, complexação e ligação de hidrogênio, além das interações hidrofóbicas (TOLLS, 2001).

8.3.2 Cinética de sorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto

A cinética de muitos processos de sorção de micropoluentes em meio aquoso tem sido investigada nos últimos anos. Há predomínio de cinéticas baseadas nos modelos de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem (KWON e ARMBRUST, 2006; YAMAMOTO *et al.*, 2009; HYLAND *et al.*, 2012; LI e ZHANG, 2012). Para estes dois modelos assume-se que no equilíbrio a partição entre a fase líquida e a matriz sólida, em qualquer tempo, é a força motriz do processo de sorção (HO e MCKAY, 1998b).

Os experimentos de sorção realizados em batelada foram conduzidos individualmente com cada analito. Na Tabela 8.1 são apresentados os parâmetros referentes aos ajustes dos dados experimentais aos modelos cinéticos investigados.

A avaliação dos modelos testados no estudo cinético revelou que a equação de pseudo-primeira ordem forneceu os melhores ajustes dos dados experimentais, para todas as combinações dos analitos e matrizes investigadas considerando os valores de R² (0,96 a 0,99) (Tabela 8.1).

		Modelos						
	Motria	Pseudo-Primeira Ordem			Pseudo-Segunda Ordem			
Watriz		<i>q</i> ℯ (µg g⁻¹)	<i>k</i> ₁ (µg g⁻¹)	R ²	<i>q</i> e (µg g⁻¹)	<i>k</i> ₂ (g µg⁻¹ h⁻¹)	R ²	
CAF	Sedimento	18,48	0,41	0,99	24,55	0,02	0,98	
	Lodo	15,43	0,46	0,99	17,90	0,03	0,96	
VEN	Sedimento	54,67	0,26	0,99	66,93	0,004	0,97	
	Lodo	40,17	0,21	0,99	50,34	0,004	0,98	
CIT	Sedimento	47,23	0,32	0,99	54,35	0,007	0,99	
	Lodo	36,77	0,64	0,97	41,41	0,02	0,96	
FLU	Sedimento	43,57	0,40	0,99	51,44	0,01	0,99	
	Lodo	48,99	0,50	0,99	53,67	0,002	0,98	
SER	Sedimento	48,60	0,88	0,99	51,43	0,003	0,98	
	Lodo	49,27	1,04	0,99	51,24	0,05	0,98	
AMI	Sedimento	46,73	0,08	0,99	50,85	0,02	0,98	
	Lodo	47,51	0,78	0,99	50,79	0,02	0,99	

Tabela 8.1- Dados cinéticos para a sorção dos fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) com concentração inicial de 10 mg L⁻¹ em lodo de esgoto e sedimentos.

 q_e = capacidade de adsorção de equilíbrio; k_1 = constante cinética do modelo de pseudo-Primeira ordem e k_2 = constante cinética do modelo de pseudo-segunda ordem.

Para este tipo de cinética, o mecanismo sugere que a velocidade de adsorção foi dependente da concentração dos analitos adsorvidos nas matrizes e da concentração destes em solução (LI e ZHANG, 2012). Além disso, o mecanismo é baseado na capacidade sortiva do sólido tendo em vista os sítios disponíveis para interação.

Na Figura 8.4 são apresentados dados experimentais e ajustes para o estudo cinético de sorção da cafeína.



Figura 8.4 - Dados experimentais e ajuste dos modelos de pseudo-primeira e pseudosegunda ordem para cinética de sorção da cafeína à temperatura de 25°C e concentração inicial de 10 mg L⁻¹. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto

Nas duas matrizes, a inspeção dos gráficos indica que o equilíbrio de sorção é atingido após 8 horas, sendo as quantidades máximas (q_e) previstas pelo modelo de pseudo-primeira ordem correspondentes a 18,48 e 15,43 µg g⁻¹ para o sedimento e o lodo, respectivamente.

Comportamento semelhante foi observado para a venlafaxina (Figura 8.5) em lodo de esgoto, onde também foi atingido o equilíbrio no tempo próximo a 8 horas. Para o sedimento, os dados experimentais ainda indicam elevação no intervalo estudado, sugerindo um maior tempo necessário para estabelecimento do equilíbrio.



Figura 8.5 - Dados experimentais e ajuste dos modelos de pseudo-primeira e pseudosegunda ordem para cinética de sorção da venlafaxina à temperatura de 25°C e concentração inicial de 10 mg L⁻¹. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto

As quantidades máximas de venlafaxina sorvidas previstas pelo modelo cinético de pseudo-primeira ordem foram de 54,67 μ g g⁻¹ no sedimento e 40,17 μ g g⁻¹ no lodo de esgoto.

Para o citalopram, conforme inspeção da Figura 8.6, foram observadas semelhanças nos tempos de equilíbrio no lodo e sedimento, sendo este atingido depois de 4h. A quantidade máxima adsorvida no tempo (q_e) predita para o citalopram foi de 47,23 µg g⁻¹ no sedimento e 36,77 µg g⁻¹ no lodo de esgoto.



Figura 8.6- Dados experimentais e ajuste dos modelos de pseudo-primeira e pseudosegunda ordem para cinética de sorção do citalopram à temperatura de 25°C e concentração inicial de 10 mg L⁻¹. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto

Na Figura 8.7, são apresentados os dados experimentais e o ajuste dos mesmos para a fluoxetina.



Figura 8.7 - Dados experimentais e ajuste dos modelos de pseudo-primeira e pseudosegunda ordem para cinética de sorção da fluoxetina à temperatura de 25°C e concentração inicial de 10 mg L⁻¹. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto

Nas duas matrizes ocorreu o estabelecimento do equilíbrio após o tempo de 6 horas e a capacidade máxima de sorção no tempo predita pelo modelo de pseudoprimeira ordem para a fluoxetina foi de 43,57 μ g g⁻¹ no sedimento e 48,99 μ g g⁻¹ no lodo de esgoto. Diferentemente do observado para a cafeína, venlafaxina e para o citalopram observou-se maior interação da fluoxetina com o lodo de esgoto quando comparado à matriz sedimento.

O ajuste dos dados obtidos no ensaio cinético para a sertralina é apresentado na Figura 8.8 e para a amitriptilina na Figura 8.9.



Figura 8.8 - Dados experimentais e ajuste dos modelos de pseudo-primeira e pseudosegunda ordem para cinética de sorção da sertralina à temperatura de 25°C e concentração inicial de 10 mg L⁻¹. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto



Figura 8.9 - Dados experimentais e ajuste dos modelos de pseudo-primeira e pseudosegunda ordem para cinética de sorção da amitriptilina à temperatura de 25°C e concentração inicial de 10 mg L⁻¹. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto

Foram observadas semelhanças no comportamento cinético dos dois analitos em ambas as matrizes, visto que as quantidades máximas sorvidas previstas (sertralina: 48,60 μ g g⁻¹ e 49,27 μ g g⁻¹ e amitriptilina: 46,73 μ g g⁻¹ e 47,51 μ g g⁻¹ em sedimento e lodo, respectivamente) foram as mais próximas dentre os analitos investigados, sugerindo afinidade da sertralina e da amitriptilina tanto para o sedimento quanto para o lodo. Os tempos de equilíbrios observados foram de aproximadamente 4 horas, sendo também os menores obtidos.

Na literatura atual não foram encontrados trabalhos de natureza semelhante, com enfoque cinético, empregando os mesmos analitos e matrizes sólidas. Entretanto, alguns estudos com fármacos em sedimentos e lodos em estações de tratamento já têm sido reportados (TOLLS, 2001; KWON e ARMBRUST, 2006; YAMAMOTO *et al.*, 2009).

Um estudo de sorção, empregando os fármacos psicoativos carbamazepina, oxazepam e codeína em sedimentos procedentes de dois locais distintos, apresentou tempos de equilíbrios (cerca de 6 horas) durante o estudo cinético usando metodologia em bateladas semelhantes aos observados em nosso estudo com antidepressivos (STEIN *et al.*, 2008).

O comportamento cinético de sorção observado em nossa pesquisa indica preferência dos analitos mais polares pelo sedimento e dos menos polares pelo lodo de esgoto.

Para melhor entendimento desta dinâmica de interação foram realizados estudos de isotermas de sorção à temperatura ambiente. Apesar dos testes cinéticos sugerirem estabelecimento do equilibro anterior às 24h, a maioria dos guias internacionais utilizados na área de sorção em solos e sedimento recomenda o emprego deste tempo para fins de normalização (USEPA, 1998; OECD, 2000).

8.3.3 Estudo do equilíbrio de sorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto

Várias pesquisas têm avaliado a capacidade de adsorção de micropoluentes em matrizes artificiais como carvão ativado, usando isotermas de adsorção (KIBBEY *et al.*, 2007; KRAJIŠNIK *et al.*, 2011). A principal forma de interpretação utilizada considera o emprego dos coeficientes de sorção k_s e k_F utilizando os modelos linear e de Freundlich para compostos tanto hidrofóbicos quanto hidrofílicos (NAM et al., 2014).

A extensão da sorção de microcontaminantes em matrizes ambientais naturais ainda é pouco explorada, consistindo-se em uma lacuna a ser preenchida. Nesse sentido, os mesmos pressupostos de interpretação do fenômeno de sorção em sólidos artificiais, como carvão ativado e biossorventes foram adotados neste estudo.

Na Tabela 8.2 são apresentados os coeficientes de partição dos analitos investigados preditos pelos modelos de isoterma linear e de Freundlich. Os gráficos dos ajustes são apresentados no Apêndice C.

Considerando os valores de R² (0,91 a 0,99) o comportamento de adsorção de todos os analitos tanto na matriz sedimento, quanto no lodo de esgoto foi melhor descrito pela isoterma de Freundlich. Esta considera o sólido heterogêneo e a distribuição exponencial para caracterizar os vários tipos de sítios de adsorção, com diferentes energias adsortivas. Teoricamente é possível interpretar a isoterma em termos de adsorção em superfícies energeticamente heterogêneas (RIDDER *et al.*, 2010).

		Isotermas					
	Matriz	Linear					
	Wathz	k _s (mL g⁻¹)	R ²	n	k _F ((mL g⁻¹)¹/ʰ)	R ²	
CAF	Sedimento	4,95	0,88	0,67	1,84	0,96	
	Lodo	3,21	0,88	0,59	0,66	0,96	
	Sedimento	6,42	0,55	2,35	0,81	0,99	
VEIN	Lodo	7,48	0,87	0,72	3,77	0,92	
CIT	Sedimento	5,20	0,90	2,28	4,18	0,91	
GIT	Lodo	2,50	0,91	0,69	0,87	0,97	
FLU	Sedimento	4,26	0,90	1,35	7,53	0,96	
	Lodo	3,35	0,40	2,11	11,37	0,92	
SER	Sedimento	8,81	0,72	1,87	10,88	0,98	
	Lodo	3,59	0,75	1,50	7,62	0,93	
A N #1	Sedimento	6,00	0,93	0,75	3,12	0,96	
AIVII	Lodo	9,77	0,89	0,66	4,24	0,97	

Tabela 8.2 - Parâmetros de sorção dos fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto e sedimentos.

 $k_{s=}$ coeficiente de distribuição, *n* e k_F= constantes de Freundlich.

Os parâmetros empíricos desse modelo (Equação 8.5) são constantes que dependem de diversos fatores experimentais tais como temperatura, área superficial do adsorvente e do sistema particular a ser estudado. Essas constantes se relacionam com a distribuição dos sítios ativos e a capacidade de adsorção do adsorvente (KARNJANAPIBOONWONG *et al.*, 2010; MROZIK e STEFAŃSKA, 2014).

Quanto maior o valor de 1/*n* na modelagem da isoterma de Freundlich, mais forte é a interação entre o adsorvente e o adsorbato. Na maioria dos ajustes de realizados esta relação foi um valor menor que 1, caracterizando adsorção como favorável (GHIACI *et al.*, 2004; FEBRIANTO *et al.*, 2009).

Na ausência de evidências consistentes sobre a natureza dos mecanismos de sorção, os coeficientes k_F e n fornecidos pela equação de Freundlich são considerados os melhores parâmetros descritivos (BUCHTER et al., 1989). O comportamento do coeficiente n quando tende a 1 iguala a isoterma de Freundlich ao modelo linear do coeficiente de distribuição. No entanto, as variações nos valores de n (Tabela 8.2) sugerem que os analitos foram sorvidos sob diferentes níveis de energia (OECD, 2000).

Os menores valores de n (n<1) observados foram para a cafeína e para amitriptilina tanto em sedimento quanto em lodo de esgoto. A fluoxetina e a sertralina apresentaram comportamento oposto, onde os valores foram superiores a 1 nas duas matrizes. A venlafaxina e o citalopram apresentaram n>1 para sedimentos e n<1 para lodos.

Os desvios na linearidade, identificados por valores de *n* diferentes de 1, possivelmente, descreveram situações em que os sítios mais ativos da superfície sólida no lodo e no sedimento tornaram-se ocupados, dificultando a adsorção adicional, ou à mesma taxa, dos fármacos em solução (BUCHTER et al., 1989).

A comparação das capacidades de sorção dos analitos no lodo e sedimento, considerando a isoterma de Freundlich, ocorreu pela avaliação dos valores de k_F (Figura 8.10).

A inspeção da Figura 8.10 permite considerar que houve concordância entre a hidrofobicidade (log K_{ow} Tabela 3.1, capítulo 3) dos analitos e a sua afinidade tanto com lodo e com sedimento, visto que os maiores valores de k_F são reportados para fluoxetina, sertralina e amitriptilina. A cafeína, a venlafaxina e o citalopram apresentaram menores valores, sugerindo preferência pela fase aquosa. Foi verificada maior sorção no sedimento para a maioria dos analitos, exceto para a venlafaxina e fluoxetina onde k_F foi maior no lodo de esgoto.



Figura 8.10- Constantes de Freundlich (k_F) para sorção dos fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto e sedimentos.

Um estudo de sorção envolvendo quatro fármacos em sedimento de rio e solos agrícolas na China apresentou ajuste satisfatório à isoterma de Freundlich (R²>0,98). Foram obtidos para a cafeína valores de k_F variando de 3,13 a 6,60 mL g⁻¹, *n* na faixa de 0,67 a 0,81 e k_d da ordem de 3,17 a 5,78 mL g⁻¹. As constantes foram da mesma ordem de grandeza da observadas na Tabela 8.2, indicando comportamento semelhante (ZHANG *et al.*, 2013).

A avaliação da sorção de acetominofeno, propanol, cafeína e acebutolol realizada com sedimentos de água doce no Taiwan obteve para a isoterma de Freundlich k_F de 360 mL g⁻¹, *n* igual a 0,72 e R² de 0,97 para a cafeína. A principal diferença se deve ao tempo de equilíbrio de duas semanas adotado pelos autores, o que possivelmente elevou a quantidade de analito sorvido na matriz (LIN *et al.*, 2010).

Um estudo de sorção em lodo de esgoto compreendendo setenta e cinco fármacos diferentes foi realizado na Dinamarca. Os modelos empregados foram o linear, o de Freundlich e de Langmuir. Para a amitriptilina, citalopram, fluoxetina e sertralina os autores reportaram os respectivos valores: k_F de 3,1, 0,97, 2,7 e 4,1 mL g⁻¹; *n* de 0,96, 1,1, 0,83 e 0,72 e R² de 0,98, 0,76, 0,99, 0,99 (HÖRSING *et al.*, 2011). Nesta pesquisa, tendo em vista o amplo rol de analitos, foi concluído que as variáveis pH do meio, pKa das substâncias e a hidrofobicidade estão diretamente relacionadas com a capacidade de sorção.

Nos EUA, cinco antidepressivos da classe dos inibidores de recaptura de serotonina foram investigados quanto à solubilidade, partição octanol-água e sorção em dois tipos de sedimentos e três tipos de solos. Os parâmetros de Freundlich obtidos para citalopram, fluoxetina e sertralina foram respectivamente: k_F de 2,1 a 2,4, 8,6 a 8,8 e 7,6 a 13,0 mL g⁻¹; *n* de 1,12 a 1,30, 1,2 a 1,64 e 0,93 a 1,14. O estudo concluiu que a capacidade de sorção dos antidepressivos varia com o tipo de solo e sedimento, e que os teores de matéria orgânica afetam positivamente a sorção dos analitos, onde o mecanismo de troca catiônica é o mais provável, visto que os analitos são básicos e estarão na forma catiônica nos pHs encontrados nos compartimentos naturais (KWON e ARMBRUST, 2008).

A amitriptilina, cafeína, citalopram e sertralina, juntamente com outros cinquenta fármacos foram estudados em solos enriquecidos com lodo de esgoto curado e no lodo bruto na Irlanda, mediante ao desenvolvimento de metodologia analítica e avaliação da sorção no solo e no lodo. Para estes analitos foram obtidos k_F de 2,1 a 6,1, 1,2 a 1,4, 2,2 a 2,4 e 2,1 a 2,9 mL g⁻¹; *n* de 0,9 a 3,3, 0,8 a 1,1, 0,6 a 0,7 e 0,69 a 0,63, respectivamente. Os autores apontam que trinta e três analitos (onde estão inclusos amitriptilina, sertralina e citalopram) dos cinquenta e quatro investigados exibiram forte afinidade tanto pela matriz do solo quanto pelo lodo. Contudo, ressaltam que devido à complexidade matricial as correlações estabelecidas podem não ser suficientes para o pleno entendimento da interação dos micropoluentes com o compartimento investigado (BARRON *et al.*, 2009).

Os valores obtidos para a cafeína e os antidepressivos investigados são evidências que apontam para o particionamento desses analitos nas matrizes investigadas e corroboram com dados obtidos em pesquisas semelhantes.

8.3.3.1 Coeficientes de distribuição dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto

A avaliação da sorção de microcontaminantes em solos, sedimentos e biossólidos como o lodo está fortemente relacionada como a quantidade de material orgânico. Os valores de k_{oc} são normalmente determinados com base nos valores de k_d e corrigidos pela fração orgânica do solo (Equação 8.7) (EPA, 1996). Compostos

que possuem log k_{oc} entre 3,5 e 4,4 apresentam forte tendência para sorção (EPA, 2012).

Para substâncias com um log k_{oc} > 3,5 há uma maior afinidade por solos e lodos. O k_{oc} está correlacionado com o coeficiente de partição octanol-água, k_{ow} . Poluentes com altos valores de k_{oc} são tipicamente pouco solúveis na água e são preferencialmente sorvidos, significando que moléculas com esta característica apresentam menor probabilidade de serem carreadas ou dissolvidas no escoamento superficial, embora isto ocorra quando aderidas a sedimentos (JOHNSON *et al.*, 2005).

Na Tabela 8.3 são apresentados os valores de log k_d e log k_{oc} obtidos no domínio das condições experimentais para os analitos e matrizes sólidas estudadas. No Apêndice D são apresentados os gráficos utilizados na determinação de k_d .

	Matriz	<i>k</i> ⊿ (mL g⁻¹)	Log k _d	<i>k_{oc}</i> (mL g⁻¹)	Log k _{oc}
CAE	Sedimento	5,0	0,7	76,9	1,9
CAF	Lodo	3,3	0,5	45,2	1,7
	Sedimento	9,1	1,0	140,0	2,1
VEIN	Lodo	7,3	0,9	100,0	2,0
CIT	Sedimento	29,4	1,5	452,3	2,7
GH	Lodo	2,6	0,4	35,6	1,6
	Sedimento	5,2	0,7	80,0	1,9
FLU	Lodo	4,6	0,7	63,0	1,8
QED	Sedimento	9,6	1,0	147,7	2,2
SER	Lodo	3,4	0,5	46,6	1,7
A N / I	Sedimento	10,3	1,0	158,5	2,2
AIVII	Lodo	5,9	0,8	80,8	1,9

Tabela 8.3 - Coeficientes de distribuição, log k_d e log k_{oc} para os fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto e sedimentos.

K_d= coeficiente de distribuição *e* k_{oc}= coeficiente de distribuição normalizado pela matéria orgânica

Todos os valores de *Log* k_{oc} foram inferiores à 3,5 indicando que os analitos não apresentam forte tendência a sorção. Entretanto, existe um grau de partição que regula seu comportamento e está associado a possibilidade de mobilidade e distribuição entre as fases. A literatura atual não dispõe de valores referências do *Log* k_{oc} para fármacos nos compartimentos ambientais; portanto a avaliação aqui utilizada foi a destinada para estudo de sorção para HPAs e pesticidas em solos e sedimentos. Estas duas categorias de contaminantes possuem características

hidrofóbicas bastante superiores aos fármacos e com isso uma forte sorção (JOHNSON *et al.*, 2005).

Dos compostos estudados em sedimento, a ordem de afinidade verificada foi CIT> AMI> SER> VEN> FLU> CAF, sendo os valores de *Log k*_{oc} 2,7, 2,3, 2,2, 2,1, 1,9, 1,9, respectivamente. Para o lodo de esgoto observou-se VEN> AMI> FLU> SER> CAF> CIT, com *Log k*_{oc} 2,0, 1,9, 1,8, 1,7, 1,7 1,6. Apesar do lodo possuir maior conteúdo orgânico (Tabela 4.2, capítulo 4) que o sedimento, este apresentou maior afinidade com os fármacos estudados. Possivelmente a presença de argilominerais contribuiu positivamente aumentando a interação desta matriz com os analitos.

Comportamento semelhante foi obtido para amitriptilina, cafeína, citalopram e citalopram em solos e no lodo bruto na Irlanda, onde os valores de *Log* k_{oc} foram 3,56 e 3,53, 2,84 e 1,66 e 3,84 e 2,96, respectivamente (BARRON *et al.*, 2009).

A sorção da cafeína e outros cinco fármacos foi avaliada em lodos procedentes de duas estações de tratamento no Canadá. Foram reportados $Log k_d$ na faixa de 0,8 a 0,9 mL g⁻¹ e $Log k_{oc}$ de 1,0 a 1,2, sendo estes semelhantes aos obtidos em nosso estudo (MORISSETTE *et al.*, 2015).

O potencial de sorção para amitriptilina e outros trinta e três fármacos foi avaliado em dois tipos de biossólidos (primário e secundário) obtidos em sistemas de tratamento de esgotos por lodos ativados no EUA. O valor de *Log k_{oc}* obtido foi de 3,78 a 4,06, sendo, portanto, superior ao obtido nosso estudo (STEVENS-GARMON *et al.*, 2011).

Comportamento semelhante foi observado na determinação da capacidade de sorção de trinta compostos incluindo hormônios e diversas classes de medicamentos em lodo biológico de estação de tratamento de esgotos que reportou *Log k*_d da ordem de 2,5 a 3,7 para amitriptilina e 2,9 a 3,3 para a fluoxetina (BITTENCOURT *et al.*, 2016). O lodo biológico fresco colhido diretamente no tanque de tratamento apresenta elevada quantidade de biomassa e, portanto alto teor de matéria orgânica, com isso, a sorção é mais favorecida, concordando com maiores valores obtidos pelos autores em ambas as pesquisas.

Na Inglaterra, o comportamento sortivo da amitriptilina e outros quatro fármacos foi verificado em sedimentos de água doce. Os valores de *Log* k_d e *Log* k_{oc} calculados foram de 2,2 e 3,45 respectivamente. Segundo os autores, o principal

mecanismo responsável pela sorção da amitriptilina são as interações hidrofóbicas e a partição. Estas, com dependência direta do teor de carbono orgânico (AL-KHAZRAJY e BOXALL, 2016).

O efeito de diferentes tipos de lodo de esgoto (primário, secundário e estabilizado) foi reportado em um estudo de partição para fármacos baseado em dados disponíveis na literatura atual. Para a cafeína, sertralina e amitriptilina foram observados os respectivos $Log k_d 1,14, 3,27 e 3,02$ no lodo estabilizado (BERTHOD *et al.*, 2016). Esta fração corresponde ao lodo utilizado em nosso estudo e os dados apresentam semelhança entre si (Tabela 8.3). Os autores confirmam que o maior potencial de sorção ocorre no lodo secundário ou biológico em relação ao lodo primário e ao estabilizado, corroborando com a possibilidade de interação membrana celular lipofílica dos microrganismos e as frações lipídicas do lodo (TERNES et al., 2004; BITTENCOURT *et al.*, 2016).

Diante desses fatos, os dados obtidos experimentalmente em nossa pesquisa e aqueles disponíveis na literatura indicam a possibilidade desses fármacos estarem presentes nos lodos produzidos nos sistemas de tratamento de esgoto e/ou serem acumulando nos sedimentos.

Apesar da menor sorção verificada no lodo, o efeito da concentração mais elevada desses fármacos nas águas residuárias e o tempo de retenção hidráulico das unidades de tratamento podem favorecer o acúmulo. Nos sedimentos, por sua vez, há tendência de acumulo da fração que permanece no esgoto após deixar as estações de tratamento e que chega diluída pelas aguas superficiais neste compartimento.

8.3.4 Estudo de dessorção dos antidepressivos residuais e cafeína em sedimento e lodo de esgoto

Estudos de dessorção tem por finalidade avaliar a capacidade de mobilidade de microcontaminantes sorvidos na matriz sólida mediante a sua exposição à uma fase aquosa isenta dos mesmos. Este processo envolve mecanismos reversos à sorção, pois há a ação de forças, baseadas na afinidade dos analitos pelo solvente não saturado, capazes de romper a interação com o lodo e sedimento. Tendo em vista as implicações ecotoxicológicas, estudos de dessorção são fundamentais para a compreensão da dinâmica de aporte e transporte dos micropoluentes emergentes nos compartimentos. O emprego da isoterma de Freundlich para a dessorção expressa a relação entre a quantidade de analitos remanescentes no lodo e sedimento após o processo de dessorção em uma temperatura constante e tempo definido.

Os dados obtidos para o estudo de dessorção são apresentados na Tabela 8.4. No Apêndice E são apresentados os gráficos de ajustes aos dados experimentais da isoterma de Freundlich para a dessorção.

A isoterma de dessorção representa a relação entre a quantidade de analito ainda presente na matriz, após o processo de dessorção, e a quantidade liberada para a solução sem os mesmos, após o equilíbrio a uma temperatura estabelecida.

		Isoterm		П				
	Matriz	<i>k_{Fd}</i> (mL g⁻¹)	n _d	R²	h	(%)		
CAF	Sedimento	5,65	0,75	0,95	0,89	39,27		
	Lodo	3,87	1,67	0,97	0,35	63,26		
VE	Sedimento	21,13	3,37	0,96	0,70	34,42		
Ν	Lodo	0,23	0,49	0,98	1,47	60,93		
CIT	Sedimento	82,62	2,68	0,97	0,85	5,58		
	Lodo	0,63	0,61	0,96	1,13	64,49		
FLU	Sedimento	0,64	0,62	0,97	2,18	26,81		
	Lodo	1,52	0,66	0,91	2,04	63,62		
SE	Sedimento	12,89	1,33	0,96	1,41	33,68		
R	Lodo	5,92	2,34	0,92	0,64	42,07		
AMI	Sedimento	32,58	1,54	0,96	0,49	14,61		
	Lodo	1,94	0,66	0,93	1,10	33,66		

Tabela 8.4 - Parâmetros de dessorção dos fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em lodo de esgoto e sedimentos.

 k_{Fd} e n_s = constantes de Freundlich para dessorção, h= índice de histerese e D= percentual de dessorção

Quando a constante de Freundlich para dessorção (k_{Fd}) é maior que seu respectivo k_F de sorção indica que o mecanismo de dessorção envolve maior energia que na sorção . Verificou-se que para os maiores valores k_{Fd} , houve menor capacidade dessortiva, significando que os mecanismos atuantes nos processos sortivos são distintos para as matrizes e que sua compreensão não depende somente dos coeficientes de adsorção, mas da forma como cada analito interage na superfície adsorvente, sendo importante também a consideração do índice de histerese. Nos sedimentos foram verificados valores de $k_{Fd} > k_F$ (Tabelas 8.2 e 8.4) para todos os analitos, exceto para a fluoxetina. No lodo de esgoto apenas a venlafaxina apresentou menor valor para a dessorção.

O índice de histerese (*h*) representa uma não singularidade entre a sorção e dessorção, uma vez que estabelece uma relação entre o grau de linearidade dos dois processos. Em linhas gerais, a histerese é atribuída a artifícios do método aplicado, transformações químicas ou biológicas no analito, ocorrência de frações irreversíveis e impossibilidade de estabelecimento do equilíbrio. Quanto maior este índice menor será a dessorção, visto que o processo apresenta tendência à irreversibilidade (SEYBOLD e MERSIE, 1996).

Entretanto, a sorção na matéria coloidal também pode levar à histerese, uma vez que a decantação reduz este efeito durante o estudo da dessorção pelo método em bateladas, havendo menos analito na fase aquosa (PIGNATELLO e XING, 1996). Isto pode explicar os valores de *h*>1 observados para VEN, CIT, FLU e AMI no lodo e FLU e SER no sedimento, onde mesmo com a histerese apresentada foi observada significativa dessorção (Tabela 8.4).

Na Figura 8.11 são apresentados os percentuais de dessorção calculados para cada fármaco e matrizes investigadas.



Figura 8.11 - Percentuais de dessorção dos fármacos Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN) em Iodo de esgoto e sedimentos.

A dessorção foi mais intensa no lodo de esgoto do que nos sedimentos. Na primeira matriz foram observados percentuais de 64% para o citalopram, 63% para a fluoxetina e cafeína, 60% para a venlafaxina, 42% para sertralina e 33% para amitriptilina. Na segunda matriz houve o maior valor de 39% para a cafeína, seguido da venlafaxina com 34%, sertralina com 33%, fluoxetina 27%, amitriptilina 14% e citalopram 6%.

Pode se considerar que tanto no lodo quanto no sedimento a dessorção concorda com o caráter hidrofóbico dos analitos (Tabela 4.2, capítulo 4), exceto para o citalopram, cuja sorção mostrou-se intensa na segunda matriz.

A menor dessorção no sedimento pode ser explicada pela interação com os minerais existentes neste compartimento (caulinita e óxidos de Fe e Al) que atuam de forma específica, com elevada força de ligação, dificultando o processo de dessorção (STIPIČEVIĆ *et al.*, 2009).

A dessorção de estrona, 17β -estradiol, estriol, 17α -etinilestradiol, triclosan e cafeína foi estudada em solos com diferentes teores de silte argila e areia nos EUA. Para cafeína foram verificados percentuais de dessorção de 0,69 a 15%, sendo maior a dessorção em solos arenosos, o que indica elevada afinidade por minerais como silte e argila (KARNJANAPIBOONWONG *et al.*, 2010).

Um estudo de mobilidade da cafeína em sedimentos suspensos e decantados foi realizado no Canadá, mediante a verificação da cinética e equilíbrio tanto de sorção quanto dessorção. Para o tempo de equilíbrio de 24 horas foi verificada uma dessorção de 25 a 30% nas duas frações de sedimentos estudadas (HAJJ-MOHAMAD *et al.*, 2016). Estes valores são semelhantes ao percentual obtido em nossa pesquisa.

Na literatura atual não foram encontrados informações sobre os processos dessortivos de antidepressivos em lodos de esgoto e sedimentos. A escassa pesquisa disponível encontra-se pautada apenas nos estudos de sorção e na biodegradação destes analitos.

A baixa hidrofobicidade dos analitos quando comparada com outras categorias de substâncias, como os HPA e pesticidas ($Log k_{ow}>4$) que tem maior aporte na fase sólida, é outra característica que explica a elevada dessorção verificada.

A dessorção observada no lodo pode ser facilitada pela existência de um sistema coloidal (rico em material lipofílico e matéria orgânica dissolvida) entre a partícula flocosa e a fase aquosa (BARRET *et al.*, 2010; BARRET *et al.*, 2011) conforme apresentado na Figura 8.1. Diante destes fatos, o mecanismo dominante está associado às interações hidrofóbicas, e estas possuem menor intensidade que as aquelas baseadas em cargas, que ocorrem em minerais de frações finas como a argila existente no sedimento. O silte e a argila têm uma área superficial mais elevada, que favorece a sorção, quando comparados a fração de areia fina. Quando a quantidade de matéria orgânica do sedimento for baixa, a argila e silte são os principias responsáveis pela sorção (GAO *et al.*, 1998). Isto corrobora com diferença de sorção e dessorção encontradas para o sedimento e lodos utilizados em nosso estudo, visto que o lodo de esgoto não conta com os componentes minerais presentes no sedimento.

Apesar da mobilidade verificada para dessorção dos analitos nos domínios experimentais investigados a sorção nos lodos é certamente uma forma importante de transporte de microcontaminantes, pois estão em contato direto com a carga bruta de substâncias que adentram no sistema de tratamento e ali permanecem por elevados tempos de contato, propiciando o acúmulo. A facilidade de dessorção no lodo reforça a preocupação quanto à disposição dos biolodos no solo, configurando-se como uma rota propicia para contaminação desse compartimento. Por outro lado, a maior sorção no sedimento indica que o remanescente da carga de microcontaminantes, seja pela afinidade pela fase líquida ou dessorção do lodo, que chega ao ecossistema aquático, tende a persistir e acumular-se na fração sólida, com potencial de dessorção e assim expor a biota.

8.4 CONCLUSÕES

O estudo da sorção e dessorção dos antidepressivos residuais e da cafeína no lodo e sedimento possibilitou avaliar a interação destes microcontaminantes com estes compartimentos. A composição físico-química apresentada pelas duas matrizes revelou predominância de frações orgânicas, porém de natureza húmica para o sedimento e biomoléculas alifáticas para o lodo, conforme destacado na espectroscopia por infravermelho. Entretanto, o incremento do sedimento com uma textura rica em silte e argila demonstrou-se importante para o processo de sorção quando comparado à estrutura flocosa e coloidal do lodo.

A determinação do ponto de carga zero (PCZ) foi coerente com a natureza físico-química das matrizes estudadas e reforçou a importância do pH do meio e do pKa dos analitos para o processo de sorção.

O estudo cinético da sorção indicou o estabelecimento das condições de equilíbrio moderadamente rápidas nos tempos de 4 a 8 horas. A interpretação da sorção pela isoterma de Freundlich mostrou-se satisfatória, apresentando ajuste adequado para todos os analitos e matrizes. A avaliação das constantes do modelo e dos coeficientes k_d e k_{oc} foi coerente com outros estudos e indicou concordância entre a hidrofobicidade dos fármacos e a sua afinidade tanto com lodo e com sedimento.

A verificação do potencial de dessorção também apresentou correlação adequada com o modelo de Freundlich. A histerese observada foi justificada com base no comportamento do sedimento e do lodo e dos mecanismos envolvidos no processo de sorção e dessorção. Os elevados percentuais obtidos para a dessorção sugerem mobilidade dos analitos, sendo esta mais intensa no lodo do que no sedimento, visto que existem particularidades de composição em cada matriz e, portanto, mecanismos diferenciados em termos de energia e afinidade com as substâncias estudadas.

Pode-se considerar que no âmbito global as informações obtidas reforçam a preocupação ecotoxicológica dos resíduos farmacológicos no meio ambiente, pois foram confirmados processos de retenção por sorção tanto no lodo quanto no sedimento, bem como a partição preferencial de alguns analitos pela fase aquosa.

Devido à complexidade de procedimentos relacionados com o descarte de efluentes gerados nas estações de tratamento nos corpos hídricos, bem como a disposição do lodo no solo e considerando o domino das condições experimentais empregadas neste estudo, confirmam-se estas rotas como possíveis meios de transporte e acúmulo dos micropoluentes investigados.

REFERÊNCIAS

AL-KHAZRAJY, O. S. A.; BOXALL, A. B. A. Impacts of compound properties and sediment characteristics on the sorption behaviour of pharmaceuticals in aquatic systems. **Journal of Hazardous Materials**, v. 317, p. 198-209, 2016.

BARRET, M.; CARRÈRE, H.; PATAU, M.; PATUREAU, D. Kinetics and reversibility of micropollutant sorption in sludge. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 10, p. 2770, 2011.

BARRET, M.; CARRÈRE, H. L. N.; LATRILLE, E.; WISNIEWSKI, C.; PATUREAU, D. Micropollutant and Sludge Characterization for Modeling Sorption Equilibria. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 3, p. 1100-1106, 2010.

BARRON, L.; PURCELL, M.; HAVEL, J.; THOMAS, K.; TOBIN, J.; B., P. Occurrence and Fate of Pharmaceuticals and Personal Care Products within Sewage Sludge and Sludge-Enriched Soils. **Environmental Protection Agency**. Wexford. Ireland. 2009

BERTHOD, L.; ROBERTS, G.; SHARPE, A.; WHITLEY, D. C.; GREENWOOD, R.; MILLS, G. A. Effect of sewage sludge type on the partitioning behaviour of pharmaceuticals: a meta-analysis. **Environmental Science: Water Research & Technology**., v. 2, n. 1, p. 154-163, 2016.

BERTHOD, L.; ROBERTS, G.; WHITLEY, D. C.; SHARPE, A.; MILLS, G. A. A solidphase extraction method for rapidly determining the adsorption coefficient of pharmaceuticals in sewage sludge. **Water Research**, v. 67, p. 292-298, 2014.

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

BOXALL, A. B. A.; BLACKWELL, P.; CAVALLO, R.; KAY, P.; TOLLS, J. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. **Toxicology Letters**, v. 131, n. 1-2, p. 19-28, 2002.

BUCHTER, B.; DAVIDOFF, B.; AMACHER, M. C.; HINZ, C.; ISKANDAR, I. K.; SELIM, H. M. Correlation of Freundlich Kd And n retention parameters with soils and elements. **Soil Science**, v. 148, n. 5, p. 370-379, 1989.

CELIS, R.; KOSKINEN, W. C. Characterization of Pesticide Desorption from Soil by the Isotopic Exchange Technique. **Soil Science Society of America Journal**, v. 63, n. 6, p. 1659, 1999.

CORNELISSEN, G.; GUSTAFSSON, O.; BUCHELI, T. D.; JONKER, M. T.; KOELMANS, A. A.; VAN NOORT, P. C. Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerogen in sediments and soils: mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 18, p. 6881-95, 2005.

D'AGOSTINHO, A.; FLUES, M. Determinação do coeficiente de distribuição (Kd) de benzo(a)pireno em solo por isotermas de sorção. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 657-661, 2006.

DOUCETTE, W. J. Soil and sediment sorption coefficients. In: BOETHLING, R. S. e MACKAY, D. (Ed.). Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals: Environmental and Health Sciences. Boca Raton: CRC Press, 2000.

EPA, U. S. E. P. A. **Soil Screening Guingance: Technical Backgroud Document**. Washington, DC 2046: Office of Solid Waste and Emergency Response.. EPA/540/R95/128: 168 p. 1996.

EPA, U. S. E. P. A. **Sustainable Futures/P2 Framework Manual**. Whashingtion, DC: Office of Chemical Safety and Pollution Prevention (7403M). EPA-748-B12-001 2012.

FEBRIANTO, J.; KOSASIH, A. N.; SUNARSO, J.; JU, Y.-H.; INDRASWATI, N.; ISMADJI, S. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, n. 2-3, p. 616-645, 2009.

GAO, J.; PEDERSEN, J. A. Adsorption of Sulfonamide Antimicrobial Agents to Clay Minerals. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 24, p. 9509-9516, 2005.

GAO, J. P.; MAGUHN, J.; SPITZAUER, P.; KETTRUP, A. Sorption of pesticides in the sediment of the Teufelsweiher pond (Southern Germany) I:Equilibrium assessments, effect of organic carbon content and pH. **Water Research**, v. 32, n. 5, p. 1662-1672, 1998.

GHIACI, M.; ABBASPUR, A.; KIA, R.; SEYEDEYN-AZAD, F. Equilibrium isotherm studies for the sorption of benzene, toluene, and phenol onto organo-zeolites and as-synthesized MCM-41. **Separation and Purification Technology**, v. 40, n. 3, p. 217-229, 2004.

HAJJ-MOHAMAD, M.; DARWANO, H.; DUY, S. V.; SAUVÉ, S.; PRÉVOST, M.; ARP, H. P. H.; DORNER, S. The distribution dynamics and desorption behaviour of mobile pharmaceuticals and caffeine to combined sewer sediments. **Water Research**, 2016.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Kinetic Models for the Sorption of Dye from Aqueous Solution by Wood. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 76, n. 2, p. 183-191, 1998a.

HO, Y. S.; MCKAY, G. The kinetics of sorption of basic dyes from aqueous solution by sphagnum moss peat. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 76, n. 4, p. 822-827, 1998b.

HÖRSING, M.; LEDIN, A.; GRABIC, R.; FICK, J.; TYSKLIND, M.; JANSEN, J. L. C.; ANDERSEN, H. R. Determination of sorption of seventy-five pharmaceuticals in sewage sludge. **Water Research**, v. 45, n. 15, p. 4470-4482, 2011.

HUANG, W.; PENG, P. A.; YU, Z.; FU, J. Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments. **Applied Geochemistry**, v. 18, n. 7, p. 955-972, 2003.

HYLAND, K. C.; DICKENSON, E. R. V.; DREWES, J. E.; HIGGINS, C. P. Sorption of ionized and neutral emerging trace organic compounds onto activated sludge from different wastewater treatment configurations. **Water Research**, v. 46, n. 6, p. 1958-1968, 2012.

JOHNSON, D. J.; SANDERSON, H.; BRAIN, R. A.; WILSON, C. J.; BESTARI, K. T.; SOLOMON, K. R. Exposure assessment and microcosm fate of selected selective

serotonin reuptake inhibitors. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 42, n. 3, p. 313-323, 2005.

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Partitioning Behavior of Five Pharmaceutical Compounds to Activated Sludge and River Sediment. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 50, n. 3, p. 297-305, 2005.

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Human Pharmaceuticals in the Aquatic Environment a Review. **Environmental Technology**, v. 22, n. 12, p. 1383-1394, 2010.

JOSS, A.; KELLER, E.; ALDER, A. C.; GÖBEL, A.; MCARDELL, C. S.; TERNES, T.; SIEGRIST, H. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. **Water Research**, v. 39, n. 14, p. 3139-3152, 2005.

KARNJANAPIBOONWONG, A.; MORSE, A. N.; MAUL, J. D.; ANDERSON, T. A. Sorption of estrogens, triclosan, and caffeine in a sandy loam and a silt loam soil. **Journal of Soils and Sediments**, v. 10, n. 7, p. 1300-1307,2010.

KEIDING, K.; NIELSEN, P. H. Desorption of organic macromolecules from activated sludge: Effect of ionic composition. Water **Research**, v. 31, n. 7, p. 1665-1672, 1997.

KIBBEY, T. C. G.; PARUCHURI, R.; SABATINI, D. A.; CHEN, L. Adsorption of Beta Blockers to Environmental Surfaces. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 15, p. 5349-5356, 2007.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999–2000: A National Reconnaissance. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 6, p. 1202-1211, 2002.

KRAJIŠNIK, D.; DAKOVIĆ, A.; MILOJEVIĆ, M.; MALENOVIĆ, A.; KRAGOVIĆ, M.; BOGDANOVIĆ, D. B.; DONDUR, V.; MILIĆ, J. Properties of diclofenac sodium sorption onto natural zeolite modified with cetylpyridinium chloride. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 83, n. 1, p. 165-172, 2011.

KWON, J.-W.; ARMBRUST, K. L. Aqueous Solubility, n-Octanol–Water Partition Coefficient, and Sorption of Five Selective Serotonin Reuptake Inhibitors to Sediments and Soils. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 81, n. 2, p. 128-135, 2008.

KWON, J. W.; ARMBRUST, K. L. Laboratory persistence and fate of fluoxetine in aquatic environments. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 25, n. 10, p. 2561-8, 2006.

LESAN, H. M.; BHANDARI, A. Atrazine sorption on surface soils: time-dependent phase distribution and apparent desorption hysteresis. **Water Research**, v. 37, n. 7, p. 1644-1654, 2003.

LIN, A. Y. C.; LIN, C. A.; TUNG, H.-H.; CHARY, N. S. Potential for biodegradation and sorption of acetaminophen, caffeine, propranolol and acebutolol in lab-scale aqueous environments. **Journal of Hazardous Materials**, v. 183, n. 1-3, p. 242-250, 2010.

MORISSETTE, M. F.; VO DUY, S.; ARP, H. P. H.; SAUVÉ, S. Sorption and desorption of diverse contaminants of varying polarity in wastewater sludge with and

without alum. Environmental Science: Processes & Impacts, v. 17, n. 3, p. 674-682, 2015.

MORLEY, M. C.; SNOW, D. D.; CECRLE, C.; DENNING, P.; MILLER, L. Emerging Chemicals and Analytical Methods. **Water Environment Research**, v. 78, n. 10, p. 1017-1053, 2006.

MROZIK, W.; STEFAŃSKA, J. Adsorption and biodegradation of antidiabetic pharmaceuticals in soils. **Chemosphere**, v. 95, p. 281-288, 2014.

NAM, S.-W.; CHOI, D.-J.; KIM, S.-K.; HER, N.; ZOH, K.-D. Adsorption characteristics of selected hydrophilic and hydrophobic micropollutants in water using activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v. 270, p. 144-152, 2014.

OECD. **OECD guidelines for the testing of chemicals**. Test No. 106: adorption - desorption using a batch equilibrium method. Paris, France.: OECD Publishing. 2000.

PIGNATELLO, J. J.; XING, B. Mechanisms of Slow Sorption of Organic Chemicals to Natural Particles. **Environmental Science & Technology**, v. 30, n. 1, p. 1-11, 1996.

RIDDER, D. J.; VILLACORTE, L.; VERLIEFDE, A. R. D.; VERBERK, J. Q. J. C.; HEIJMAN, S. G. J.; AMY, G. L.; VAN DIJK, J. C. Modeling equilibrium adsorption of organic micropollutants onto activated carbon. **Water Research**, v. 44, n. 10, p. 3077-3086, 2010.

SERPIL, S. A review of occurrence of pharmaceuticals in sediments. African Journal of Biotechnology, v. 12, n. 29, p. 4539-4541, 2013.

SEYBOLD, C. A.; MERSIE, W. Adsorption and Desorption of Atrazine, Deethylatrazine, Deisopropylatrazine, Hydroxyatrazine, and Metolachlor in Two Soils from Virginia. **Journal of Environment Quality**, v. 25, n. 6, p. 1179, 1996

SPARKS, D. L. **Environmental Soil Chemistry**. San Diego, California: : Academic Press, Inc., 1995. 267.

SPOSITO, G. The Chemistry of Soils. Oxford: Oxford University Press, 1989.

STEIN, K.; RAMIL, M.; FINK, G.; SANDER, M.; TERNES, T. A. Analysis and Sorption of Psychoactive Drugs onto Sediment. Environmental Science & Technology, v. 42, n. 17, p. 6415-6423, 2008.

STEVENS-GARMON, J.; DREWES, J. E.; KHAN, S. J.; MCDONALD, J. A.; DICKENSON, E. R. V. Sorption of emerging trace organic compounds onto wastewater sludge solids. **Water Research**, v. 45, n. 11, p. 3417-3426, 2011.

STIPIČEVIĆ, S.; FINGLER, S.; DREVENKAR, V. Effect of Organic and Mineral Soil Fractions on Sorption Behaviour of Chlorophenol and Triazine Micropollutants. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 60, n. 1, 2009.

SVAHN, O.; BJÖRKLUND, E. Describing sorption of pharmaceuticals to lake and river sediments, and sewage sludge from UNESCO Biosphere Reserve Kristianstads Vattenrike by chromatographic asymmetry factors and recovery measurements. **Journal of Chromatography A**, v. 1415, p. 73-82, 2015.

TERNES, T. A.; HERRMANN, N.; BONERZ, M.; KNACKER, T.; SIEGRIST, H.; JOSS, A. A rapid method to measure the solid–water distribution coefficient (Kd) for

pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge. **Water Research**, v. 38, n. 19, p. 4075-4084, 2004.

TOLLS, J. Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 17, p. 3397-3406, 2001.

USEPA. Fate, transport and transformation test guidelines. **Sediment and soil** adsorption/desorption isotherms. Washington, D.C., U.S: Environmental Protection Agency. EPA-712-C-98-048. 1998.

WANG, X.; GRADY, C. P. L. Effects of biosorption and dissolution on the biodegradation of di-n-butyl phthalate. **Water Environment Research**, v. 67, n. 5, p. 863-871, 1995.

YAMAMOTO, H.; NAKAMURA, Y.; MORIGUCHI, S.; NAKAMURA, Y.; HONDA, Y.; TAMURA, I.; HIRATA, Y.; HAYASHI, A.; SEKIZAWA, J. Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. **Water Research**, v. 43, n. 2, p. 351-362, 2009

YU, Z.; PELDSZUS, S.; HUCK, P. M. Adsorption characteristics of selected pharmaceuticals and an endocrine disrupting compound—Naproxen, carbamazepine and nonylphenol—on activated carbon. **Water Research**, v. 42, n. 12, p. 2873-2882, 2008.

YUH-SHAN, H. Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions. **Scientometrics**, v. 59, n. 1, p. 171-177, 2004.

ZHANG, T.; WU, B.; SUN, N.; YE, Y.; CHEN, H. Sorption and degradation of wastewater-associated pharmaceuticals and personal care products in agricultural soils and sediment. **Water Science & Technology**, v. 68, n. 5, p. 991, 2013.

CONCLUSÃO GERAL

A classe dos fármacos psicoativos, onde estão inclusos os antidepressivos, veem sendo alvo de estudos iniciais conforme foi apresentado no Capítulo 1. A ocorrência desses medicamentos residuais é reportada em diversos compartimentos como os sedimentos, lodos de esgoto, águas superficiais, etc. Assim, existe a necessidade de elucidação dos meios de dispersão e das interações tanto com os componentes bióticos quanto os abióticos nos ecossistemas. Para que isto seja alcançado, faz-se necessário a intensificação do trabalho analítico, visando o desenvolvimento de métodos de extração efetivos e de rápida aplicação.

Os estudos têm indicado possibilidade de efeitos crônicos, com riscos inerentes aos organismos aquáticos. Somado a isto, o presente estudo aponta dificuldades no monitoramento individual, visto que existe um número elevado de compostos inseridos como exógenos no meio ambiente. A inserção de marcadores antropogênicos, detalhada no Capítulo 2, foi sugerida como uma ferramenta complementar capaz de auxiliar nos estudos de monitoramento. A cafeína, avaliada em nossa pesquisa, mostrou-se relevante como marcador químico para fármacos, devido ao seu amplo consumo e uso associado a medicamentos e, portanto, capaz de indicar a ocorrência de micropoluentes farmacológicos.

O método de extração, proposto no Capítulo 5, foi considerado satisfatório, pois, demonstrou-se estatisticamente efetivo na separação dos analitos nas matrizes estudadas. As ferramentas quimiométricas empregadas nesta etapa foram de grande contribuição para a otimização do protocolo proposto, resultando em uma rotina baseada em extração líquido-líquido, auxiliada por ultrassom e micro-ondas, adequada para a investigação dos antidepressivos residuais e da cafeína no lodo de esgoto e sedimentos de água doce.

A validação, apresentada no Capítulo 6, foi adequada, tendo em vista a aceitabilidade dos parâmetros de mérito verificados (seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e quantificação) com base nos critérios de avaliação adotados e no confronto com dados da literatura atual. A aplicação em amostras reais procedentes da região do Reservatório de Itaipu indicou ocorrência dos analitos no ecossistema estudado. As determinações de cafeína e antidepressivos residuais foram coerentes com o grau de poluição dos pontos

amostrados, sendo verificadas maiores concentrações nos lodos de estação de tratamento quando comparados aos sedimentos.

A susceptibilidade da venlafaxina, citalopram, fluoxetina, sertralina, amitriptilina e da cafeína ao processo de fotólise, avaliada no Capítulo 7, indicou persistência dessas substâncias na fase aquosa. Foi verificada uma cinética lenta de pseudo-primeira ordem mesmo para irradiações com fonte artificial. A exposição do lodo úmido a radiação UV mostrou-se ineficaz para a remoção desses micropoluentes, indicando a possibilidade desta matriz transportá-los para outros compartimentos como o solo, por exemplo. Os estudos em fase aquosa apontaram um incremento na taxa de degradação no esgoto associado à complexidade dessa matriz. O estudo qualitativo dos produtos de degradação associado a dados da literatura permitiu considerar que há predominância de mecanismos de substituição na estrutura dos analitos, em detrimento à mineralização completa.

O estudo de sorção, apresentado no Capítulo 8, indicou preferência dos analitos pelo sedimento, possivelmente justificado pelas interações mais efetivas como a fração mineral presente nesta matriz. No lodo de esgoto há predominância de matéria orgânica de característica flocosa e coloidal, também capaz de sorver micropoluentes, porém com menor intensidade (Capítulo 4). Estas observações corroboram com os maiores percentuais de recuperação verificadas para o sedimento durante a otimização do método de extração (Capítulo 5). Apesar disso, foram determinados maiores teores dos fármacos estudados nas amostras de lodo (Capítulo 6), o que leva-nos a considerar o fato do esgoto apresentar concentrações mais elevadas desses microcontaminantes e o tempo de contato estabelecido entre o mesmo e os biossólidos nas unidades de tratamento, como propiciadores ao acúmulo. Os elevados percentuais de dessorção obtidos indicaram fragilidades no equilíbrio de partição e sugerem mobilidade dos analitos nos compartimentos, sendo mais intensa no lodo o que reforça a diferença de afinidade entre os compostos e as matrizes estudadas.

Por fim, pode-se considerar que o isolamento dos analitos é possível com a aplicação de métodos convencionais de extração empregando solventes e rotinas adequadas. A quantificação pode ser realizada por meio de técnicas menos sofisticadas como a cromatografia líquida acoplada à detecção no ultravioleta e a calibração por adição de padrão para redução do efeito de matriz. Os antidepressivos e a cafeína residuais apresentaram comportamento persistente a 245

processos naturais como a fótolise e apresentam tendências ao acúmulo no compartimento sólido, com mobilidade em potencial, dependente das condições ambientais, como o pH e composição matricial por exemplo. Devido a estas características podem ser detectados nos lodos de estações de tratamento de esgotos e sedimento, e apresentam possibilidade de exposição à biota nos ecossistemas aquáticos.

APÊNDICE A CROMATOGRAMAS USADOS NA AVALIAÇÃO DA SELETIVIDADE DO MÉTODO



Figura A.1 - Cromatogramas completos da solução padrão com a mistura dos seis analitos, extrato de amostra de lodo (b) e extrato de amostra de sedimento sem os analito (c): Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹, extraídos em 226 nm.



Figura A.2 - Cromatogramas completos da solução padrão com a mistura dos seis analitos, extrato de amostra de lodo (b) e extrato de amostra de sedimento sem os analito (c): Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹, extraídos em 230 nm.



Figura A.3 - Cromatogramas completos da solução padrão com a mistura dos seis analitos, extrato de amostra de lodo (b) e extrato de amostra de sedimento sem os analito (c): Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹, extraídos em 241 nm.


Figura A.4 -Cromatogramas completos da solução padrão com a mistura dos seis analitos, extrato de amostra de lodo (b) e extrato de amostra de sedimento sem os analito (c): Cafeína (CAF), Amitriptilina (AMI), Citalopram (CIT), Fluoxetina (FLU), Sertralina (SER) e Venlafaxina (VEN), na concentração de 500 ng mL⁻¹, extraídos em 274 nm.

APÊNDICE B CROMATOGRAMAS OBTIDOS NA APLICAÇÃO DO MÉTODO NAS AMOSTRAS DE LODO E SEDIMENTO



Figura B.1 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L1



Figura B.2 - Recortes do cromatograma de 13 min na região de cada analito e no comprimento máximo para a amostra L1. a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c) 231 nm para fluoxetina, d)227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f) 245 nm para a amitriptilina.



Figura B.3 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L2



Figura B.4 - Recortes do cromatograma de 13 min na região de cada analito e no comprimento máximo para a amostra L2. a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c) 231 nm para fluoxetina, d)227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f) 245 nm para a amitriptilina.



Figura B.5 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L3



Figura B.6 - Recortes do cromatograma de 13 min na região de cada analito e no comprimento máximo para a amostra L3. a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c) 231 nm para fluoxetina, d)227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f) 245 nm para a amitriptilina.



Figura B.7 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra L4



Figura B.8 - Recortes do cromatograma de 13 min na região de cada analito e no comprimento máximo para a amostra L4. a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c) 231 nm para fluoxetina, d)227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f) 245 nm para a amitriptilina.



Figura B.9 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra S1



Figura B.10 - Recortes do cromatograma de 13 min na região de cada analito e no comprimento máximo para a amostra S1. a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c) 231 nm para fluoxetina, d)227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f) 245 nm para a amitriptilina.



Figura B.11 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra S2



Figura B.12 - Recortes do cromatograma de 13 min na região de cada analito e no comprimento máximo para a amostra S2. a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c) 231 nm para fluoxetina, d)227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f) 245 nm para a amitriptilina.



Figura B.13 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra S3



Figura B.14 - Recortes do cromatograma de 13 min na região de cada analito e no comprimento máximo para a amostra S3. a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c) 231 nm para fluoxetina, d)227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f) 245 nm para a amitriptilina.



Figura B.15 - Cromatograma completo extraído em 230 nm para a amostra S4



Figura B.16 - Recortes do cromatograma de 13 min na região de cada analito e no comprimento máximo para a amostra S4. a) 274 nm para cafeína, b) 241 nm para citalopram, c) 231 nm para fluoxetina, d)227 nm para a venlafaxina, e) 225 nm para a sertralina e f) 245 nm para a amitriptilina.

APÊNDICE C AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS AOS MODELOS DE ISOTERMA DE ADSORÇÃO



Figura C.1 - Dados experimentais e ajuste aos modelos linear e de Freundlich de sorção da cafeína à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura C.2 - Dados experimentais e ajuste aos modelos linear e de Freundlich de sorção da Venlafaxina à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura C.3 - Dados experimentais e ajuste aos modelos linear e de Freundlich de sorção do citalopram à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura C.4 - Dados experimentais e ajuste aos modelos linear e de Freundlich de sorção da fluoxetina à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura C.5 - Dados experimentais e ajuste aos modelos linear e de Freundlich de sorção da sertralina à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura C.6 - Dados experimentais e ajuste aos modelos linear e de Freundlich de sorção da amitriptilina à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.

APÊNDICE D CURVAS PARA OBTEÇÃO DO COEFICIENTE DE DISTRIBUIÇÃO (Kd) EXPERIMENTAL



Figura D.1 - Coeficientes de distribuição (kd) em sedimento a) Cafeína (CAF), b) Venlafaxina (VEN), c) Citalopram (CIT), d) Fluoxetina (FLU), e)Sertralina (SER) e f) Amitriptilina (AMI) à 25°C.



Figura D.2- Coeficientes de distribuição (k_d) em lodo de esgoto a) Cafeína (CAF), b) Venlafaxina (VEN), c) Citalopram (CIT), d) Fluoxetina (FLU), e)Sertralina (SER) e f) Amitriptilina (AMI) à 25°C.

APÊNDICE E

AJUSTE NÃO LINEAR DOS DADOS EXPERIMENTAIS À ISOTERMA DE FREUNDLICH PARA A DESSORÇÃO DOS ANALITOS



Figura E.1 - Dados experimentais e ajuste ao modelo de Freundlich para dessorção da cafeína à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura E.2 - Dados experimentais e ajuste ao modelo de Freundlich para dessorção da Venlafaxina à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura E.3 - Dados experimentais e ajuste ao modelo de Freundlich para dessorção do citalopram à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura E.4 - Dados experimentais e ajuste ao modelo de Freundlich para dessorção da fluoxetina à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura E.5- Dados experimentais e ajuste ao modelo de Freundlich para dessorção da sertralina à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.



Figura E.6 - Dados experimentais e ajuste ao modelo de Freundlich para dessorção da amitriptilina à temperatura de 25°C. a) Sedimento e b) Lodo de esgoto.