

Raquel Cardoso de Souza

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE AMOXICILINA E
CEFALEXINA DA URINA HUMANA POR OXIDAÇÃO
AVANÇADA (H₂O₂/UV) COM VISTAS AO SANEAMENTO
ECOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Engenharia Ambiental da
Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito parcial
para obtenção do Grau de Mestre
em Engenharia Ambiental.

Orientador: Luiz Sérgio Philippi
Co-orientadora: Claudia Regina dos Santos

Florianópolis
março/2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Souza, Raquel Cardoso de

AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE AMOXICILINA E CEFALEXINA
DA URINA HUMANA POR OXIDAÇÃO AVANÇADA (H₂O₂/UV) COM VISTAS AO
SANEAMENTO ECOLÓGICO / Raquel Cardoso de Souza ;

orientador, Luiz Sérgio Philippi ; co-orientadora, Claudia
Regina Dos Santos. - Florianópolis, SC, 2013.

113 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Ambiental.

Inclui referências

1. Engenharia Ambiental. 2. Saneamento sustentável e
descentralizado. I. Philippi, Luiz Sérgio. II. Dos Santos,
Claudia Regina. III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.
IV. Título.

INSERIR FOLHA DE APROVAÇÃO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e pela capacidade de sonhar.

A meus pais (Paulo e Neusa) por me incentivarem a sonhar e principalmente por me ensinarem que ter os pés no chão não limita os sonhos, mas dá suporte para que eles possam se concretizar.

A meu irmão (Marcelo), por ser um exemplo de que os sonhos se realizam com esforço e a minha irmã (Izabel) por ser minha amiga e companheira mesmo quando meus sonhos não se tornavam realidade.

Agradeço a UFSC, PPGEA, CAPES e CNPQ pelo suporte institucional e financeiro.

Aos professores que compuseram a banca examinadora. Muito obrigada.

A meus orientadores professores Philippi e Claudia por terem aceitado me orientar não apenas intelectualmente, me ensinando muito além dos livros.

A toda equipe do GESAD em especial a Dra. Maria Elisa pela amizade, companheirismo, ideias e todo o apoio que foi dedicado a mim. A técnica Tuti e as bolsistas Gabriela B. Soares, Gabriella C.e Soethe e a Vanessa Laura, por terem trabalhado comigo no decorrer destes dois anos. Aos demais componentes da equipe, minha eterna gratidão, amizade e respeito.

As professoras Silvia, Ailse e Rosa Cristina (ensino fundamental), ao professor Paulo, a orientadora educacional Maria Lucia, a sargento Rosilene (ensino médio), as professoras Claudia, Eliana, Patrícia e Alcibia (Biba) (graduação em farmácia análises clínicas) e ao professor Philippi (pós-graduação) por acreditarem no meu potencial e por me incentivarem a buscar dos meus sonhos.

Quero agradecer aos meus amigos. Pessoas especiais com quem dividi meus sonhos, meus anseios, meus medos, meus sorrisos e choro. Alguns presentes desde a minha infância, outros foram se achegando ao longo da vida. Não cito nomes, pois vocês sabem muito bem quem são. Obrigada.

Os sonhos são o começo de tudo.

*“Menor que meu sonho não posso ser”
Lindolf Bell*

RESUMO

A urina humana contém nutrientes (N:P:K) e devido a isto tem sido apontada pelo saneamento ecológico como uma alternativa aos fertilizantes convencionais. Entretanto outras substâncias, principalmente os fármacos, podem estar presentes. A maioria dos fármacos é excretada via urina, metabolizados ou na sua forma inalterada. Os antibióticos quando adentram ao meio ambiente podem causar problemas como a resistência microbiana. A AMX e CFX são antibióticos amplamente dispensados no sul do Brasil, além disso, apresentam baixa disponibilidade plasmática, ou seja, são excretados pela urina na forma inalterada. O objetivo deste trabalho é avaliar a remoção de AMX e CFX da urina humana pelo processo de oxidação avançada (H_2O_2/UV) e a presença dos nutrientes na urina antes e após o POA. Dois tipos de urina foram avaliadas neste trabalho, armazenada (pH 9,33) e fresca (pH 5,83) bem como cinco diferentes concentrações de H_2O_2 (14,5 29,0; 58,0; 464,0; 928,0 $mg.L^{-1}$). O tempo de detenção no fotoreator foi igual a 60 min. As concentrações de AMX e CFX foram determinadas a partir de CLAE acoplada a UV. As maiores eficiências de remoção da AMX foram obtidas para as concentrações de 928,0 (77,97%) e 464,0 $mg.L^{-1}$ (52,25%) de H_2O_2 em urina armazenada (pH 9,33). Para a CFX não houve diferenças significativas entre as remoções alcançadas em urina armazenada (pH 9,33) e fresca (5,83). Não foram observadas perdas expressivas dos nutrientes nem da matéria orgânica durante o POA por H_2O_2/UV . Foram realizados ensaios para avaliar a degradação da AMX e CFX em água destilada utilizando às duas maiores concentrações de H_2O_2 . Foram obtidas eficiências próximas a 100% para a concentração de 928,0 $mg.L^{-1}$ sendo os valores de k 0,0009 s^{-1} para AMX e 0,0016 s^{-1} para CFX.

Palavras chave: POA H_2O_2/UV , urina, amoxicilina, cefalexina, saneamento ecológico.

ABSTRACT

New researches in environmental sanitation suggests that human urine is an alternative to substitute conventional fertilizers, due to the fact that it contains nutrients (N:P:K). However, most of drugs are excreted in urine, as metabolites or on its unchanged form. Antibiotics, when present in the Environment, can cause problems, such as microbial resistance. Amoxicillin (AMX) and Cephalexin (CFX) are examples of these drugs, widely used across the globe. In addition, over 80% of the administered dose may be excreted in the urine on its unchanged form. This study evaluated the removal of AMX and CFX from human urine by advanced oxidation process POA ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$), and the presence of nutrients in urine before and after POA. Two types of urine were evaluated in this study, stored (pH 9.33) and fresh (pH 5.83), as well as five different concentrations of H_2O_2 (14.5, 29.0, 58.0, 464.0, 928.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Detention time was equal to 60 min. Concentrations of AMX and CFX were determined by HPLC coupled with UV. The higher removal efficiencies of AMX were obtained in concentrations of 928.0 (77.97%) and 464.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (52.25%) of H_2O_2 in stored urine (pH 9.33). For CFX, it was detected no significant differences between the removals achieved in stored (pH 9.33) and fresh urine (5.83). There were no significant nutrient losses and organic matter during POA by $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. Assays were performed to evaluate the degradation of AMX and CFX in distilled water for testing the two highest concentrations of H_2O_2 used in the first experiment. Efficiencies were obtained near 100% for the concentration of 928.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ with k values of 0.0009 s^{-1} for AMX and 0.0016 s^{-1} for CFX.

Key words: POA $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, urine, amoxicillin, cephalexin, ecological sanitation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Configuração do banheiro segregador	29
Figura 2. Representação esquemática de uma célula bacteriana genérica.	34
Figura 3. Parede celular Gram-negativa (a) e Gram-positiva (b).	35
Figura 4. Estrutura química da penicilina e anel β -lactâmico.	36
Figura 5. Diagrama esquemático de uma camada única de peptidoglicano de uma célula bacteriana, mostrando o local de ação dos antibióticos β -lactâmicos.	36
Figura 6. Estrutura química da amoxicilina, fórmula molecular, peso molecular (PM) e PKa.	37
Figura 7. Estrutura química da cefalexina, fórmula molecular, peso molecular (PM) e Pka.	37
Figura 8. Classificação da radiação eletromagnética na faixa de comprimento de onda (λ) de 0 a 1200 nm com bandas específicas, nomes e interação entre as moléculas.	41
Figura 9. Radiação monocromática UV de λ 253,7 nm gera pela LP.	43
Figura 10. Reações fotoinduzidas.	44
Figura 11. Representação de uma reação de oxidação fotoiniciada.	44
Figura 12. Reações de fotooxigenação.	45
Figura 13. Representação esquemática das de oxidação fotoiniciada na presença de oxidantes auxiliares e nomenclatura correspondente.	46

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

Figura 14. Técnica de POAs fotoinduzidos.	47
Figura 15. Mecanismo da reação em cadeia da decomposição fotoinduzida do peróxido de hidrogênio em água pura de acordo com Haber e Weiss.	48
Figura 16. Produtos de degradação da AMX e CFX gerados pela fotólise da AMX e CFX por lâmpada <i>laser</i> .	51
Figura 17. Compostos derivados da hidrólise da AMX.	51
Figura 18. Degradação da AMX em água destilada por degradação foto-Fenton utilizando diferentes espécies de ferro.	52
Figura 19. Vaso segregador (esquerda) e tanques de armazenamento (direita).	56
Figura 20. Reator <i>STERILIGHT</i> modelo SSM-24.	57
Figura 21. Fluxograma das etapas realizadas no ensaio com luz UV.	58
Figura 22. Fluxograma das etapas realizadas no ensaio com H ₂ O ₂ /UV.	58
Figura 23. Configuração de coleta da urina do reator.	59
Figura 24. Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência.	62
Figura 25. Branco de urina com PI (3).	69
Figura 26. Perfil cromatográfico do método validado. 1=AMX, 2=CFX e 3=PI (AMP).	69
Figura 27. Remoção de AMX e CFX por UV em urina armazenada e fresca.	72

LISTA DE FIGURAS (Continuação)

- Figuras 28. Remoção da Amoxicilina em urina armazenada e urina fresca nas cinco diferentes concentrações de H_2O_2 avaliadas. **81**
- Figuras 29. Remoção da Cefalexina em urina armazenada e urina fresca nas cinco diferentes concentrações de H_2O_2 avaliadas. **82**
- Figura 30. Eficiências de remoção da AMX em urina armazenada (pH 9,33) e urina fresca obtidas a partir das concentrações de $14,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de H_2O_2 ; 29 mg.L^{-1} de H_2O_2 ; 58 mg.L^{-1} de H_2O_2 ; 464 mg.L^{-1} de H_2O_2 e 928 mg.L^{-1} de H_2O_2 . **86**
- Figura 31. Eficiências de remoção da CFX em urina armazenada (pH 9,33) e urina fresca obtidas a partir das concentrações de $14,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de H_2O_2 ; 29 mg.L^{-1} de H_2O_2 ; 58 mg.L^{-1} de H_2O_2 ; 464 mg.L^{-1} de H_2O_2 e 928 mg.L^{-1} de H_2O_2 . **87**
- Figura 32. Diagrama especiação de carbono nos diferentes pHs. **89**
- Figura 33. k versus concentração de peróxido de hidrogênio para AMX em urina armazenada (pH 9,33) e fresca pH (5,83). **92**
- Figura 34. k versus concentração de peróxido de hidrogênio para CFX em urina armazenada (pH 9,33) e fresca pH (5,83). **92**
- Figura 35. Perfil cromatográfico da remoção de AMX (1) e CFX (2) utilizando 928 mg.L^{-1} de H_2O_2 nos tempos de coleta, 3 = PI (AMP). **94**
- Figura 36. Perfil cromatográfico da remoção de AMX (1) e CFX (2) utilizando 464 mg.L^{-1} de H_2O_2 nos tempos de coleta: A = T0 min; B = T15 min; C = T45 min; D = T60 min. 3 = PI (AMP). **95**
- Figura 37. A = $\ln [AMX]/[AMX_0]$ versus tempo para obtenção dos valores de k da remoção de AMX em água nas concentrações de 464 e 928 de H_2O_2 ; B= $\ln [CFX]/[CFX_0]$ versus tempo para **98**

obtenção Gráfico para obtenção dos valores de k da remoção de CFX em água nas concentrações de 464 e 928 de H_2O_2 .

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Volume, nutrientes e coliformes fecais presentes no esgoto bruto, águas cinzas, urina e fezes.	28
Tabela 2. Caracterização da urina fresca: nutrientes, volume e localização geográfica.	30
Tabela 3. Classes farmacológicas encontradas em diferentes matrizes ambientais e suas respectivas unidades de detecção e quantificação.	33
Tabela 4. POAs aplicados para a remoção de antibióticos e matriz.	39
Tabela 5. Potencial de Redução (Eh) dos oxidantes mais comumente utilizados.	47
Tabela 6. Fórmula molecular e características da fotoquímica do H ₂ O ₂	49
Tabela 7. Volumes das urina, CFX, AMX, H ₂ O ₂ e água adicionadas ao reator.	59
Tabela 8. Parâmetros realizados na urina e metodologia aplicada.	60
Tabela 9. Média, DP e CV da concentração de CFX após as etapas de tratamento	67
Tabela 10. Condições cromatográficas referência e condições cromatográficas otimizadas.	68
Tabela 11. Resultados obtidos na validação do método para determinação da AMX e CFX em urina	70
Tabela 12. Caracterização da urina armazenada e fresca	71
Tabela 13. Remoção da AMX e CFX sob efeito apenas da	72

radiação UV

LISTA DE TABELAS (continuação)

Tabela 14. Concentrações de AMX obtidas ao logo dos tempos de coleta nos ensaios com 14,5; 29,0 e 58,0 mg.L ⁻¹ de H ₂ O ₂ em urina armazenada	74
Tabela 15. Concentrações de AMX obtidas ao logo dos tempos de coleta nos ensaios com 14,5; 29,0 e 58,0 mg.L ⁻¹ de H ₂ O ₂ em urina fresca.	75
Tabela 16. Concentrações de AMX obtidas ao logo dos tempos de coleta nos ensaios com 464,0 e 928,0 mg.L ⁻¹ de H ₂ O ₂ em urina armazenada e fresca	76
Tabela 17. Concentrações de CFX obtidas ao logo dos tempos de coleta nos ensaios com 14,5; 29,0 e 58,0 mg.L ⁻¹ de H ₂ O ₂ em urina armazenada.	78
Tabela 18. Concentrações de CFX obtidas ao logo dos tempos de coleta nos ensaios com 14,5; 29,0 e 58,0 mg.L ⁻¹ de H ₂ O ₂ em urina fresca.	79
Tabela 19. Concentrações de CFX obtidas ao logo do tempo de coleta nos ensaios com 464,0 e 928,0 mg.L ⁻¹ de H ₂ O ₂ em urina armazenada e fresca.	80
Tabela 20. Equação de reta e coeficiente de correlação da remoção de AMX em urina armazenada/fresca em cinco concentrações de H ₂ O ₂ .	82
Tabela 21. Equação de reta e coeficiente de correlação da remoção de CFX em urina armazenada/fresca em cinco concentrações de H ₂ O ₂ .	83
Tabela 22. Eficiências obtidas para a remoção de AMX e CFX em urina armazenada e fresca.	83
Tabela 23. Eficiência de remoção da AMX e CFX obtidas em diferentes matrizes e tipos de tratamento.	84

LISTA DE TABELAS (continuação)

- Tabela 24. Valores de k para AMX e CFX nas cinco concentrações de H_2O_2 para urina armazenada e fresca. **91**
- Tabela 25. Nutrientes presentes na urina antes e depois de submetidas ao POA por H_2O_2/UV . **93**
- Tabela 26. Concentrações de AMX e CFX obtidas durante o POA por H_2O_2/UV em soluções aquosas contem os respectivos antibióticos. **96**

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

AMP	Ampicilina
AMX	Amoxicilina
CFX	Cefalexina
CG	Cromatografia Gasosa
CL	Cromatografia Líquida
CLAE	Cromatografia Líquida de alta eficiência
CV	Coefficiente de Variação
DAD/PDA	Detector e Arranjo de Fotodiodo
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DP	Desvio Padrão
DQO _t	Demanda Química de Oxigênio total (mg.L ⁻¹)
DS	Diluição Simples
Eh	Potencial de Redução
EPAGRI	Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FE	Fase Estacionária
FM	Fase Móvel
IV	Infra Vermelho
K	Constante Cinética
LD	Limite de Detecção
LP	Lâmpada de Mercúrio de Baixa Pressão
LQ	Limite de Quantificação
MIN	Minuto
MS	Espectrômetro de Massas
N-NH ₄ ⁺	Nitrogênio Amoniacal (mg.L ⁻¹)
N-TOTAL	Nitrogênio Total (mg.L ⁻¹)
Ph	Potencial Hidrogeniônico
PI	Padrão Interno
Pka	Constante de acidez
POA	Processo Oxidativo Avançado
POP	Poluente Organico Persistente
P-PO ₃ -2	Fósforo Ortofosfato (mg.L ⁻¹)
P-TOTAL	Fósforo Total (mg.L ⁻¹)
RNA	Ácido Ribonucleico
S	Segundo

Tr	Tempo de Retenção
Trr	Tempo de Retenção Relativa
UV	Luz Ultravioleta
λ	Comprimento de Onda
λ_{max}	Comprimento de Onda Máximo
ϵ_{λ}	Absortividade Molar
Φ_p	Fluxo de Fótons

SUMÁRIO

1. Introdução	23
2. Objetivo geral	25
2.1 Objetivos específicos	25
3. Revisão bibliográfica	27
3.1 Saneamento sustentável (ecológico)	27
3.2 Biotransformação de fármacos	30
3.3 Fármacos e matrizes ambientais	31
3.4 Antibióticos β -lactâmicos e resistência microbiana	34
3.4.1 Antibióticos β -lactâmicos	36
3.5 Principais técnicas empregadas para remoção de fármacos de matrizes ambientais	38
3.6 Processos oxidativos avançados	40
3.6.1 Lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (LP)	42
3.6.2 Processos fotoquímicos	43
3.6.2.1 Oxidação fotoiniciada	45
3.7 Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)	47
3.8 Produtos de degradação da AMX e CFX decorrentes do tratamento por POA	50
3.9 Técnicas analíticas de detecção e quantificação de fármacos de matrizes ambientais	53

4. Metodologia	55
4.1 Experimento POA por H ₂ O ₂ /UV	55
4.1.1 Preparo das soluções utilizadas no experimento	55
4.1.2 Materiais, vidrarias e reagentes	55
4.1.3 Obtenção das amostras de urina	55
4.1.4 Reator	56
4.1.4.1 Ensaio com UV	57
4.1.4.2 Ensaio com H ₂ O ₂ /UV	58
4.1.4.3. Avaliação dos dados – análises estatísticas	60
4.1.5 Determinação DQO; N-NH ₄ ⁺ P-PO ₄ ³⁻	60
4.1.6 Determinação de AMX e CFX	60
4.1.7 Avaliação perfil de degradação de AMX e CFX em água	61
4.2 Otimização e validação do método cromatográfico	61
4.2.1 Preparo das soluções	61
4.2.1.1 Solução mãe de amoxicilina (AMX), cefalexina (CFX) e ampicilina (AMP)	61
4.2.1.2 Solução estoque de AMX e CFX	61
4.2.1.3 Solução trabalho de AMX, CFX e AMP	61
4.2.2 Equipamento, acessórios e vidrarias	62
4.2.3 Reagentes e solventes	63
4.2.4 Padrões analíticos	63

4.2.5 Método	63
4.2.5 Otimização do método analítico	63
4.2.6 Otimização das condições cromatográficas	64
4.2.7 Validação do método analítico para determinação da AMX e CFX	65
5. Resultados e discussões	67
5.1 Otimização e validação do método cromatográfico	67
5.1.1 Otimização do método analítico	67
5.1.2 Otimização das condições cromatográficas	67
5.1.2 Validação do método cromatográfico	70
5.2 Resultados caracterização da urina armazenada e fresca	71
5.3 Ensaio com radiação UV em urina armazenada e fresca	72
5.4 Ensaio com radiação H ₂ O ₂ /UV	73
5.5 Determinação DQO; N-NH ₄ ⁺ P-PO ₄ ³⁻	93
5.6 Avaliação do perfil de degradação de AMX e CFX EM água	94
6. Conclusões e recomendações	101
Referências bibliográficas	105

1. INTRODUÇÃO

A urina humana é rica em nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio. Entretanto, todos os dias esses nutrientes são desperdiçados. Isto, porque nos sistemas de saneamento convencionais (composto de coleta, transporte, tratamento e disposição final) a urina e as fezes são transportadas para seu posterior tratamento em estações de esgoto. Para isso são gastas elevadas quantias de água, energia e dinheiro. Atualmente este modelo de único saneamento vem sendo questionado e uma nova maneira de lidar com as excretas vem sendo proposta. Neste contexto insere-se o saneamento sustentável.

O Saneamento sustentável (saneamento ecológico) tem como objetivo apresentar uma nova filosofia na gestão das excretas e águas residuais. Modificando o fluxo dos nutrientes de linear para circular, propondo uma abordagem de integração entre todos os aspectos do saneamento: dejetos humanos, resíduos sólidos e águas de drenagem, além de propor uma abordagem integrada com a agricultura (SCHÖNNING, 2004). Isto porque as excretas são ricas em nutrientes essenciais ao solo. Para que seja possível separar as fezes da urina faz necessário o uso de um banheiro segregador, ou seja, que possibilite a separação dos excretas.

A urina diferentemente das fezes é pobre em patógenos (WINKER, 2009), contudo é através dela que o organismo excreta diversas substâncias, dentre elas os fármacos.

Os fármacos são amplamente consumidos nas diferentes partes do globo. Infelizmente não existe um medicamento ideal, ou seja, que todo o princípio ativo contido nele atue no tecido alvo sem que parte precise ser biotransformado e/ou excretado. A maioria dos medicamentos são excretados pela urina ainda na forma ativa. O impacto destas substâncias no meio ambiente tem sido o foco de alguns trabalhos. Contudo, no caso dos antibióticos sabe-se que sua presença deles no meio ambiente pode levar à resistência microbiana. Tal fato possui relevância, pois a resistência microbiana a antibióticos é um problema de saúde pública que requer atenção. Portanto, tendo em vista os riscos associados à presença de antibióticos no meio ambiente é de suma importância à remoção destes e de outros fármacos, da urina, de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e Estações de Tratamento de Águas (ETAs) (LANGFORD, 2008); (PIECHA, 2010). Dentre os antibióticos que requerem atenção dada a sua ampla utilização estão a amoxicilina (AMX) e cefalexina (CFX).

Existem inúmeras maneiras de remover os antibióticos da urina, entretanto os Processos Oxidativos Avançados (POAs) não só modificam a estrutura química, mas eliminam os antibióticos mineralizando-os a gás carbônico e água. *Melo et al, 2009*, listaram os principais POAs aplicados a degradação da AMX, e entre eles está a oxidação avançada por peróxido de hidrogênio e luz ultravioleta (H_2O_2/UV). Este processo oxidativo é bastante simples se comparado a outros POAs, pois não gera resíduo final além de não requerer outros compostos como catalisadores da reação.

Estudos que busquem avaliar as características da urina quando submetida ao POA são escassos principalmente no que se refere à perda ou não dos nutrientes.

Para avaliar a remoção de AMX e CFX pelo POA faz-se necessário o emprego de técnicas analíticas capazes de identificar e quantificar os analitos de interesse. Dentre as ferramentas instrumentais disponíveis e mais utilizadas na identificação e quantificação de fármacos está a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

A remoção da AMX e CFX da urina humana *in loco* é uma alternativa para se minimizar os impactos decorrentes da presença destes no meio ambiente, além de facilitar o tratamento, pois os volumes são bem menores do que se eles fossem removidos de uma ETE assim como os custos. Todavia, pouco se sabe a respeito dos POAs aplicados a remoção de AMX e CFX em urina. Por isso estudos que busquem avaliar a remoção destes dois antibióticos da urina humana são importantes. Principalmente no que se refere à eficiência do processo bem como a permanência dos nutrientes após o POA, uma vez que a recirculação dos mesmos é um dos princípios do saneamento sustentável.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar a remoção de amoxicilina e cefalexina da urina humana pelo processo de oxidação avançada com peróxido de hidrogênio e luz ultravioleta e a presença dos nutrientes antes e após o processo oxidativo avançado (POA).

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a remoção de amoxicilina e cefalexina por POA em urina armazenada e fresca frente a cinco diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio;
- Analisar a presença dos nutrientes antes e após a submissão ao POA nas diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio avaliadas;
- Otimizar e validar um método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para a análise de amoxicilina e cefalexina em urina humana;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SANEAMENTO SUSTENTÁVEL (ECOLÓGICO)

A nomenclatura saneamento sustentável, saneamento focado em recursos ou saneamento ecológico (originado do inglês *ecological sanitation*) surgiu recentemente, entretanto, o conceito acompanha o homem desde seus primórdios. O ser humano sempre lidou com as excretas de modo natural, e na sua maioria elas eram enterradas. Entretanto, com o surgimento das cidades, as excretas se tornaram um problema devido principalmente à transmissão de doenças. Atrelado à necessidade de remover as excretas das cidades, estava o fato de que na cultura ocidental a água tem um papel de limpeza, de “purificação”. Sendo assim a água passou a ser utilizada como veículo de transporte das excretas.

Deste modo surgiu a lógica do saneamento convencional, “a tecnologia do fim de tubo”, na qual grandes volumes de esgoto são gerados, necessitando de grandes estações de tratamento de esgoto, bem como de tecnologias mais eficientes e “caras” para remoção da matéria orgânica e de nutrientes (COHIN, 2007).

Esta lógica passou a ser pensada e estudada. Entretanto, a preocupação com o meio ambiente, a falta de água potável, o esgotamento de fontes não renováveis como fósforo e potássio e a crise dos alimentos fez com que novos conceitos de saneamento fossem propostos. Dentre estes, apresenta-se o saneamento sustentável.

Enquanto o sistema convencional incorpora uma visão centralizadora e de ‘fim de tubo’, tendo a água potável como meio de transporte, o saneamento sustentável busca segregar, reciclar (nutrientes e água), reduzir o consumo de água, além de ter uma característica descentralizada e focada no tratamento *in loco* do esgoto sanitário. Além do mais, as excretas são vistas como nutrientes, logo, não podem ser perdidas ou desperdiçadas. Portanto, dentro dos conceitos desta lógica propõe-se: fechamento do ciclo, ou seja, reciclagem de nutrientes, menor consumo de água, desenvolvimento de tecnologias de baixo custo entre outros (SCHÖNNING, 2004).

Para melhor aproveitamento dos nutrientes e remoção dos patógenos presentes no esgoto faz-se necessário separá-lo. O esgoto pode ser dividido basicamente em: urina, fezes e águas cinza. A tabela 1 apresenta o volume total de esgoto gerado por habitante/ano bem como

as quantidades de nutrientes e Coliformes fecais presentes nestas três frações.

Tabela1. Volume, nutrientes e coliformes fecais presentes no esgoto bruto, águas cinzas, urina e fezes.

	Total	Águas cinzas	Urina	Fezes
Volume (L/hab.ano)	25.000-100.000	25.000-100.000	500	50
Nutrientes				
Nitrogênio	4,5 Kg/hab.ano	3%	87%	10%
Fósforo	0,75 Kg/hab.ano	10%	50%	40%
Potássio	1,8 Kg/hab.ano	34%	54%	12%
Coliformes fecais	-	$10^4 - 10^6$ / 100mL	0	$10^7 - 10^9$ / 100mL

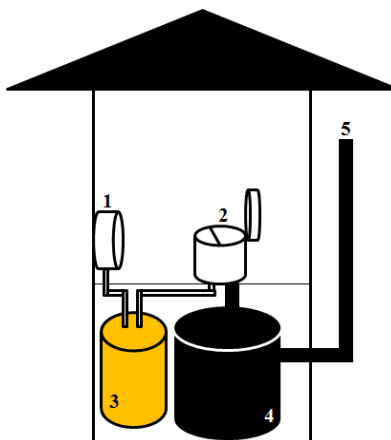
Fonte: SANDEC, 2008.

Ao se verificar a tabela 1, percebe-se que os nutrientes presentes no esgoto são em sua maioria oriundos da urina e das fezes, embora seus volumes representem uma pequena parcela do volume total do esgoto produzido por habitante/ano.

Frente à necessidade de separar os três componentes do esgoto algumas tecnologias vêm sendo propostas. Primeiramente esta ação volta-se a necessidade de reduzir o consumo de água e a separação da urina das fezes para que um tratamento adequado seja aplicado.

Dentre as tecnologias desenvolvidas está o banheiro seco segregador. Este banheiro não utiliza água como veículo de transporte para as excretas e propicia a separação da urina/fezes através de vasos sanitários segregadores. Para que isso seja possível ele tem uma configuração diferente dos banheiros comuns (figura 1 configuração banheiro seco segregador).

Figura 1. Configuração do banheiro segregador.



Legenda: 1 = mictório; 2 = vaso sanitário segregador, 3 = tanque de armazenamento urina; 4 = tanque armazenamento das fezes; 5 = sistema de exaustão das fezes.

Uma vez separada a urina das fezes, faz-se necessário tratá-las de acordo com as suas necessidades. Alguns pesquisadores tem se dedicado a determinar qual o melhor aditivo para o tratamento e desinfecção das fezes (MAGRI et al, 2011, REBOLÇAS et al, 2011). Sendo os mais comuns, cinzas, palha e serragem. Entretanto o tipo de aditivo adicionado caracteriza o tipo de tratamento. Por exemplo, se for adicionado cinzas, o tratamento será por desidratação, enquanto que a adição de palha ou serragem sugere o tratamento por compostagem.

No que se refere à urina ela é pobre em microrganismos, se comparada às fezes, e o que pode vir a ser encontrado é decorrente de um estado patológico do indivíduo que faz uso do banheiro segregador ou de contaminação fecal (SCHÖNNING, 2004). Por isso, as pesquisas realizadas no sentido de tratá-la estão focadas em sua maioria na estabilização/recuperação de nutrientes e na redução do volume final.

Fisiologicamente a urina humana é definida como uma solução composta basicamente por água, sais minerais e nutrientes. Isto porque ela se forma nos rins cuja função é realizar a eliminação de produtos finais do metabolismo orgânico (uréia, creatinina e ácido úrico) bem como o controle da concentração da água e de outros constituintes dos

fluidos corpóreos como sódio, potássio, cloro, bicarbonatos e fosfatos (GUYTON, 2006).

A composição da urina pode variar de acordo com os hábitos alimentares de cada indivíduo. A caracterização da urina humana pode ser realizada em termos nutricionais, de matéria orgânica, volume, sexo, idade, condição social, localização geográfica, etc. Na tabela 2 verificam-se alguns trabalhos que caracterizaram a urina humana em termos de nutrientes e volume bem como os países em que as pesquisas foram realizadas.

Tabela 2. Caracterização da urina fresca: nutrientes, volume e localização geográfica.

Urina Humana g/hab.d (fresca)				País	Referência
N-total	P-total	Potássio	Volume (L)		
11,5	0,50	---	1,249	Brasil	Bazzarella, 2006
10,2	0,50	2,30	1,325	Brasil	Zancheta, 2007
10,7	0,45	2,8	1,460	Brasil	Rios, 2007
7,3	0,7	1,7	1,500	Suécia	Schönning, 2004
3,8	0,40	1,5	1,500	Quênia	Schönning, 2004

Observando-se a tabela 2 fica evidente que a principal característica da urina humana é a sua elevada quantidade de nutrientes. Estes mesmos nutrientes são essenciais ao solo, portanto a urina se tratada adequadamente pode vir a ser utilizada como fertilizante natural. Estudos específicos tem se destinado a verificar a capacidade e a possibilidade de se utilizar a urina humana como fertilizante (AKPAN-IDIOK, UDO, BRAIDE, 2012; KARAK E BHATTACHARYYA, 2011; PRADHAN, HOLOPAINEN, TANSK, 2009).

Entretanto, o fato da urina ser um produto de excreção do metabolismo humano suscita uma preocupação no que se refere à presença de fármacos ou de produtos decorrentes da sua biotransformação.

3.2 BIOTRANSFORMAÇÃO DE FÁRMACOS

Os fármacos possuem efeito farmacológico se atingem uma concentração adequada no tecido-alvo. Para tal, passam por quatro estágios farmacocinéticos: absorção, distribuição, biotransformação e excreção.

- a) Absorção: é a passagem de uma substância do local de sua administração para a corrente sanguínea;
- b) Distribuição: é a disseminação do fármaco por todo o organismo, uma vez que a concentração ideal foi atingida;
- c) Biotransformação: conversão enzimática de uma substância química em outra;
- d) Excreção: remoção do fármaco quimicamente intacto ou seus metabólitos polares, do organismo.

As substâncias apolares (lipofílicas) não são facilmente eliminadas pelos rins, sendo metabolizadas no fígado, pelo sistema do citocromo P450 (CYP) tornando-se então substâncias mais polares e passíveis de serem excretadas via urina. Há casos em que os produtos de biotransformação são tóxicos, como por exemplo, o paracetamol e a ciclofosfamida. Portanto, o fato do fármaco ter passado pelo processo de biotransformação não garante a sua inativação, podendo o produto biotransformado se tornar mais ativo e/ou tóxico que o próprio fármaco (RANG *et al.*, 2004).

Alguns fármacos apresentam baixa biodisponibilidade plasmática, ou seja, apenas uma quantidade muito pequena da dose administrada se liga as proteínas plasmáticas, sendo assim parte do fármaco administrado é excretado inalterado. Um exemplo desses fármacos são os antibióticos, amoxicilina (AMX) e cefalexina (CFX), ambos são excretados inalterados na urina acima de 80% da dose administrada (GOODMAN, GILMAN, BRUNTON, 2010).

3.3 FÁRMACOS E MATRIZES AMBIENTAIS

Tendo em vista que a principal via de excreção dos fármacos é urina, pesquisadores tem se preocupado com a presença destes em estações de tratamento de esgoto e água. A maioria dos estudos busca identificar e quantificar as principais classes farmacológicas. A tabela 3 apresenta as principais classes farmacológicas detectadas e quantificadas em diferentes matrizes ambientais, bem como suas respectivas unidades de detecção e quantificação.

Inúmeros são os fármacos encontrados em estações de tratamento de água e esgoto, em águas superficiais e subterrâneas, entretanto pouco se sabe a respeito dos efeitos toxicológicos sobre os seres humanos e demais animais. O que se tem conhecimento é que nos compartimentos

ambientais alguns fármacos podem ser totalmente degradados, outros parcialmente ou não degradados, sendo necessários mais estudos. Contudo, os antibióticos tem sido foco de inúmeros trabalhos, dado ao fato que a presença destes no meio ambiente pode promover a seleção de bactérias, estimulando assim a resistência antimicrobiana (HUANG et al, 2012).

Inúmeras são as classes de antibióticos utilizados na terapêutica, sendo os β -lactâmicos uma das mais importantes. Os antibióticos amoxicilina (AMX) e cefalexina (CFX) pertencem a esta classe e estão entre os mais dispensados nas unidades de saúde no sul do país (RAUBER; FELTRIN; PIOVEZAN, 2009; MENEZES; DOMINGUES; BAISCH, 2009; TAVARES; ABRANTES, 2007; BERCQUÓ, 2004; COLOMBO et al., 2004).

Tabela 3. Classes farmacológicas encontradas em diferentes matrizes ambientais e suas respectivas unidades de detecção e quantificação.

Classe farmacológica	Unidade	Matriz ambiental	Referências
Antibióticos, antiinflamatorios, antiepiléticos	$\mu\text{g.L}^{-1}$	Efluente hospitalar, de indústria farmacêutica, de fazendas de gado e doméstico.	Sim et al, 2011
Antibiótico e antidepressivo	ng.g^{-1}	Lodo de ETE.	Lahti e Oikari, 2011
Antilipídêmicos, antiinflamatorioa e metabólitos	$\mu\text{g.L}^{-1}$	Efluente doméstico e águas naturais	Stumpf et al, 1999*
Antibióticos, antiinflamatorios, analgésicos, antiepiléticos	$\mu\text{g.L}^{-1}$ e ng.L^{-1}	Águas superficiais	Hordern, Dinsdale, Guwy, 2008.
Antibióticos, antihipertensivos, antiinflamatorios, antiepiléticos	ng.L^{-1}	Estações tratamento de esgoto e corpos d'água receptores	Aukidy et al, 2012
Antibióticos, antihipertensivos, antiinflamatorios, antiepiléticos e antineoplasicos	ng.L^{-1}	Águas superficiais	Serna,Petrović, Barceló, 2012
Antibióticos, antidepressivos, analgésicos, hormônios	ng.L^{-1}	Esgoto bruto e tratado e águas superficiais	Hedgespeth et al, 2012
Antibióticos, antiinflamatorios, analgésicos, antitérmico antiepiléticos e hormônios	ng.L^{-1}	Estação de tratamento de esgoto	Li, Zheng, Kelly, 2013.
Antibióticos, antihipertensivos, e antiepiléticos	ng.L^{-1}	Águas superficiais, subterrâneas e potável	Jongh et al, 2012

*= Primeiro estudo realizado no Brasil, que detectou fármacos em matrizes ambientais.

3.4 ANTIBIÓTICOS β -LACTÂMICOS E RESISTÊNCIA MICROBIANA

Tradicionalmente os antibióticos são definidos como substâncias com propriedades bactericidas ou bacteriostáticas (HOMEM & SANTOS, 2011). Os antibióticos atuam basicamente nas vias bioquímicas envolvidas na formação e manutenção da célula bacteriana. Existem três classes gerais de reações nas quais os antibióticos podem atuar:

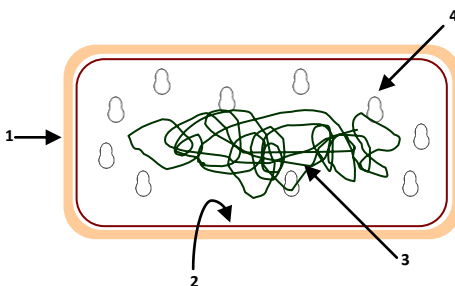
Reações de classe I: São aquelas em que a célula bacteriana utiliza glicose ou alguma outra fonte de carbono como alternativa para a produção de energia (ATP) e de compostos de carbono simples;

Reações de classe II: a bactéria utiliza a energia (ATP) para síntese: aminoácidos, nucleotídeos, fosfolipídeos, aminoaçucars e fatores de crescimento;

Reações de classe III: são reações de organização das pequenas moléculas em macromoléculas – proteínas, RNA, DNA, polissacarídeos e peptidoglicano.

Os antibióticos β -lactâmicos atuam sobre as reações de classe III, mais especificamente na síntese de peptoglicanos. A figura 2 representa um esquema de uma célula bactéria genérica.

Figura 2. Representação esquemática de uma célula bacteriana genérica; 1= Parede celular; 2= Membrana plasmática; 3= DNA (cromossomo); 4= Ribossomos



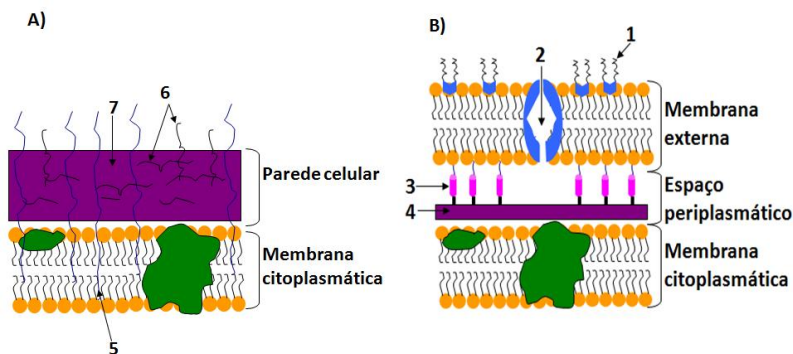
Fonte: RANG et al., 2004.

As bactérias são seres procariontes que contem uma parede celular composta por peptidoglicanos. A função da parede celular consiste em sustentar a membrana plasmática subjacente. Elas podem ser classificadas em Gram-negativas (Gram-) e Gram-positivas

(Gram+), sendo essa classificação baseada na capacidade da bactéria se corar ou não pelo método de Gram.

A parede celular dos microrganismos Gram - é uma estrutura relativamente simples, de 15 – 50 nm de espessura. Consiste de cerca de 50% de peptidoglicanos, 40% - 45% de polímeros ácidos e 5% – 10% de proteínas e polissacarídeos (ver figura 3A). A parede celular dos Gram + (ver figura 3B) é mais complexa. A partir da membrana plasmática, de dentro para fora, consiste nos seguintes componentes: i) um espaço periplasmático, que contém enzimas e outros componentes; uma camada de peptidoclicano de 2 nm de espessura, que forma 5% da massa da parede celular, frequentemente ligada a moléculas de lipoproteína que se projetam para fora; ii) uma membrana externa, que consiste numa dupla camada de lipídeos, semelhante, em alguns aspectos, à membrana plasmática; contém moléculas de proteínas e, em sua face interna, apresenta lipoproteínas ligadas ao peptidoglicano; iii) polissacarídeos complexos, que representam importantes componentes da superfície externa, esses polissacarídeos diferem nas diferentes cepas de bactérias e constituem os principais determinantes de antigenicidade do microorganismo. Existem algumas proteínas na membrana externa que formam canais de transmembranas repletos de água, denominados “porinas”, através dos quais os antibióticos hidrofílicos podem deslocar-se livremente (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Figura 3. Parede celular Gram-negativa (a) e Gram-positiva (b); 1= Lipopolissacarídeo; 2=Poros; 3= lipoproteína; 4= Peptidoglicano (mureína); 5= Ácido Lipoteicóico; 6= Ácido teicóico; 7= Peptidoglicano (mureína)

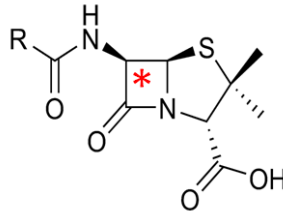


Fonte: (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

3.4.1 Antibióticos β -lactâmicos

Os antibióticos β -lactâmicos são assim denominados devido à presença do anel β -lactâmico. A figura 4 apresenta a estrutura química da penicilina, o anel está indicado com um asterisco. A penicilina foi o primeiro antibiótico β -lactâmico isolado do fungo *penicillium*.

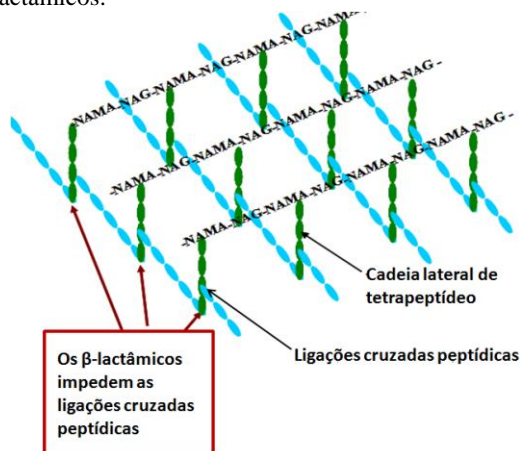
Figura 4. Estrutura química da penicilina e anel β -lactâmico.



Fonte: TOXNET, 2013.

Todos os antibióticos β -lactâmicos interferem na síntese do peptidoglicano da parede celular bacteriana. Uma vez, fixadas ao sítio de ligação na bactéria estes antibióticos inibem a enzima de transpeptidação que forma as ligações cruzadas das cadeias peptídicas ligadas ao arcabouço do peptidoglicano (figura 5).

Figura 5. Diagrama esquemático de uma camada única de peptidoglicano de uma célula bacteriana, mostrando o local de ação dos antibióticos β -lactâmicos.

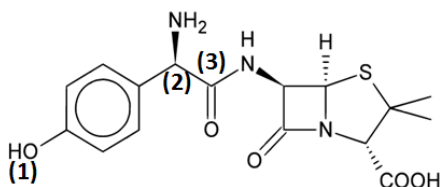


Fonte: RANG et al., 2004.

• Amoxicilina

A AMX (α -amino-p-hidroxibenzilpenicilina) é absorvida via oral, sendo um ácido estável e ativo contra bactérias Gram + e Gram -, pode ser combinada ao ácido clavulânico para superar a resistência das bactérias portadoras da enzima β -lactamase (RANG et al., 2004).

Figura 6. Estrutura química da amoxicilina, fórmula molecular, peso molecular (PM) e PKa



$C_{16}H_{19}N_3O_5S$, PM= 365.41g, pKa1 = 2.4, pKa2= 7,4, e pKa3 = 9,6

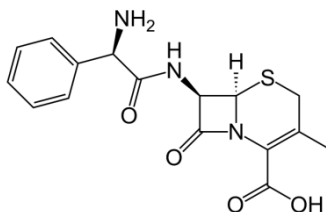
Fonte: TOXNET, 2013.

O grupamento eletrofílico (OH), indicado pelo número 1, ligado à cadeia lateral aminada (2) diminui a densidade eletrônica da carboníla (3) o que torna a AMX um fármaco ácido resistente (CAIAFF *et al*, 2002).

• Cefalexina

A CFX é uma cefalosporina de primeira geração pertencente ao grupo dos antibióticos β -lactâmicos, derivados das penicilinas ver figura 7 (EL-SHABOURY, et al., 2007; FILHO *et al*, 2007).

Figura 7. Estrutura química da cefalexina, fórmula molecular, peso molecular (PM) e Pka.



(C₁₆H₁₇N₃O₄S), PM = 347.39, pKa1 = 2.5 e pKa2 = 7.3

Fonte: TOXNET, 2013.

A CFX, bem como as demais cefalosporinas, são susceptíveis a ataques núcleo e eletrofílicos, por tratar-se de um sal hidrossolúvel de caráter anfótero (DODD; BUFFLE; GUNTEN, 2006).

3.5 PRINCIPAIS TÉCNICAS EMPREGADAS PARA REMOÇÃO DE FÁRMACOS DE MATRIZES AMBIENTAIS

A preocupação com a remoção dos fármacos de matrizes ambientais, principalmente das estações de tratamento de esgoto e água, tem levado ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de técnicas capazes de removê-los. Alguns trabalhos têm pesquisado a remoção dos fármacos por técnicas físicas principalmente reatores de membrana e adsorção por carvão ativado, outras buscam as técnicas fotoquímicas como ozonização (O₃)/UV ou ozonização associada a peróxido de hidrogênio O₃/H₂O₂/UV, foto-Feton, H₂O₂/UV, fotocatalise com TiO₂/UV-VIS. Na tabela 4 visualizam-se alguns trabalhos que aplicaram POAs para remoção de antibióticos de diferentes matrizes.

Tabela 4. POAs aplicados para a remoção dos antibióticos e matriz.

Antibióticos	POA	Matriz	Referência
Ciprofloxacino e Moxifloxacino	Degradação fotocatalítica induzida por UV-A e UV-C e fotocatalise TiO ₂ /UV	Água	Doorslaer et al, 2011
Amoxicilina	Ozonização (O ₃ /UV)	Água	Andreozzi et al, 2005
Amoxicilina	foto-Fenton	Água	Trovó et al, 2011
Amoxicilina	Fotolise UV, H ₂ O ₂ /UV e O ₃ /UV	Água	Jung et al, 2012
Amoxicilina, ampicilina, cicloxacilina	Fotocatalise por UV/H ₂ O ₂ /TiO ₂	Água	Elmolla e Chaudhuri ^b , 2010
Amoxicilina, ampicilina, cicloxacilina	foto-Fenton (H ₂ O ₂ /Fe ²⁺) seguido por reator em batelada sequencial (RBS)	Esgoto	Elmolla e Chaudhuri, 2011
Cefalexina	eletro-Fenton	Esgoto	Estrada, Li, Wang, 2012
Amoxicilina	foto-Fenton	Solução aquosa	Ayodele, Auta, Nor, 2012
Cefalexina	O ₃ /UV	Esgoto	Dodd, Rbuffle, Ursvongunten, 2006
Amoxicilina	O ₃ /UV	Água deionizada	Andreozzi et al, 2005

3.6 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS

Este item da revisão bibliográfica foi escrito a partir do estudo de capítulos dos livros *Photochemical Purification of Water and Air – Advanced Oxidation Processes (AOPs): Principles, Reaction mechanisms; Reactor concepts* (OPPENLÄNDER, 2003) e *Physicochemical Treatment Processes* (WANG, HUNG, SHAMMAS, 2005).

Os processos fotoquímicos em sua maioria são chamados de processos oxidativos avançados (POAs) e seus mecanismos de reação são basicamente uma imitação de processos naturais fotoiniciados em águas superficiais que estão expostas a luz do sol ou na atmosfera terrestre.

O processo baseia-se na formação de uma espécie reativa de oxigênio, radical hidroxil. O radical hidroxil é um poderoso oxidante,

possui tempo de vida curto, altamente reativo, não seletivo, pode ser produzido facilmente, é encontrado amplamente na natureza, possui caráter eletrofílico e quando associado ao substrato apropriado sua cinética é controlada podendo exibir constantes de velocidades de segunda ordem.

A adaptação desse processo natural para uma dimensão técnica requer uma produção suficiente do chamado radical hidroxil “livre”, a partir de precursores adequados.

Diversas tecnologias tem buscado mimetizar os processos fotoquímicos naturais entre elas estão: processos catalíticos, oxidação eletroquímica, irradiação de raio-X, entre outros. Alguns destes trabalhos têm se dedicado a estudar a geração do radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$).

Os POAs têm sido amplamente estudados, pois podem ser aplicados ao tratamento de esgoto para o reuso, tratamento de efluentes farmacêuticos e indústrias, principalmente têxtil, produção de água ultrapura, remediação de água subterrânea, degradação de explosivos tóxicos, laboratórios químicos, entre outros.

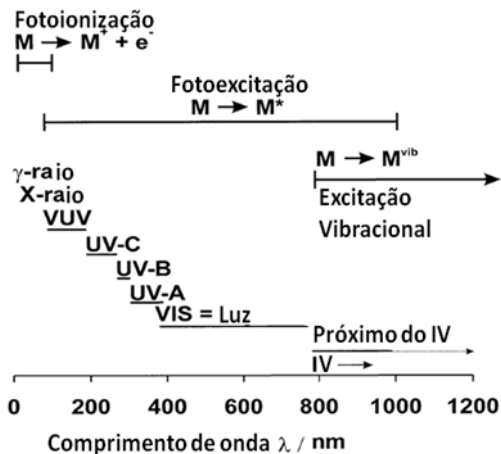
Uma parcela muito grande das pesquisas atuais tem se dedicado a estudar a aplicação dos POAs na remoção dos poluentes orgânicos persistentes (POPs). Estes compostos são perigosos devido a sua bioacumulação nos compartimentos ambientais e ao risco que envolve a saúde humana. Os fármacos não estão classificados diretamente como POPs, contudo eles compõem um grupo de compostos chamados de micropoluentes ambientais.

Os POAs podem receber diferentes nomenclaturas (peroxidação, oxidação com peróxido de hidrogênio e luz ultravioleta – $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, oxidação fotoinduzida por UV, etc), no entanto para empregar-se a nomenclatura correta faz-se necessário compreender os processos fotoquímicos. Os processos fotoquímicos são reações decorrentes da excitação eletrônica das moléculas pela influência da radiação ultravioleta e luz visível (UV/VIS).

A radiação eletromagnética comporta-se como onda e partícula (princípio da dualidade da radiação eletromagnética) e pode ser descrita como um fluxo de fótons a uma velocidade constante, em linha reta através do espaço.

O espectro eletromagnético possui cinco bandas fotoquimicamente ativas – UV-Vácuo (VUV), UV-C, UV-B, UV-A e Visível (Vis) – cuja faixa de comprimento de onda (λ) varia de 0 a 1200 nm (Figura 8). Esta divisão baseia-se no fenômeno causal decorrente da incidência de cada banda sobre determinados compostos, ou seja, efeitos físicos, biológicos e medicinais.

Figura 8. Classificação da radiação eletromagnética na faixa de comprimento de onda (λ) de 0 a 1200 nm com bandas específicas, nomes e interação entre as moléculas.



Legenda: M= molécula; M*= molécula excitada; M^{vib} = molécula excitada vibracionalmente; M⁺ = molécula ionizada.

Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

A importância da luz VUV para os POAs deve-se a sua capacidade de ser eficientemente absorvida pela água na fase líquida ou gasosa, levando a homólise da molécula de água com formação de H₂ e OH⁻ (radicais hidroxila). Devido a este fato o processo oxidativo com VUV leva à mineralização dos poluentes orgânicos presentes na água.

A radiação UV-C quando absorvida por constituintes celulares pode causar mutações e morte celular. Portanto esta banda neste comprimento de onda é conhecida como germicida. Sendo utilizada em processos de desinfecção UV para inativar bactérias, vírus e outros microrganismos.

A radiação UV-A e UV-B ao atingir a superfície da terra pode causar queimaduras solares, câncer e bronzeamento.

A faixa do visível é biologicamente ativa na fotossíntese, além de ser absorvida por corantes, fármacos e muitos outros fotossensibilizadores.

Os fótons com comprimento de onda (λ) superiores a 1000 nm apresentam uma energia tão pequena que são incapazes de elevar o estado eletrônico de átomos ou moléculas. Portanto a absorção da

radiação eletromagnética na região do infravermelho (IV) excita as moléculas vibracionalmente.

Os átomos que compõe as moléculas poliatômicas comportam-se como centro de massas e adquirem movimento vibracional por absorção do IV, gerando diferentes níveis de vibração. Desempenhando assim, um dos processos mais importantes dentro da fotofísica, o acoplamento vibrônico. Isto porque a excitação das moléculas vibracionalmente faz com que cada estado eletrônico da molécula interaja com os níveis vibracionais.

Para a aplicação dos POAs faz-se necessário utilizar fontes luminosas que sejam capazes de gerar a radiação eletromagnética nos comprimentos de onda (λ) desejados. Para isso utilizam-se diversos tipos de lâmpadas.

A eleição da fonte luminosa adequada determina em grande parte a eficácia do processo. Entretanto, devem-se considerar aspectos econômicos e técnicos. Destacando-se três:

1º) A fonte de radiação deve emitir radiação no comprimento de onda absorvido pelo reagente (oxidante), ou seja, o espectro de emissão da luz deve corresponder ao espectro de absorção do reagente em uma extensão máxima.

2º) A entrada da energia elétrica em uma fonte radiante determina a energia radiante da luz dentro de um comprimento de onda especificado, sendo este um critério importante na avaliação da qualidade da lâmpada. A energia radiante difere consideravelmente da energia elétrica da entrada, isto porque a maior parte da energia elétrica de uma lâmpada é dissipada na forma de calor ou como o comprimento de onda desejado, durante o funcionamento da fonte de radiação.

3º) Geometria: A geometria da lâmpada depende da concepção do reator mas podem ser (cilíndricas, planares ou em formas especiais).

As lâmpadas mais comuns utilizadas em POAs são divididas em duas categorias. As que emitem espectros linha (*laser*, lâmpadas de arco de mercúrio) e aquelas que emitem espectros contínuos (ex. lâmpadas de arco de xenônio).

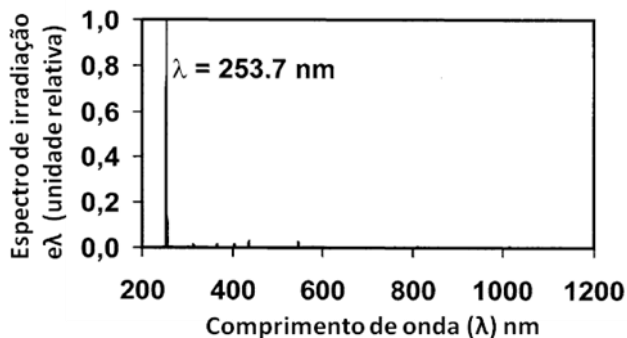
As lâmpadas de arco de mercúrio podem ser de média e baixa pressão, no entanto o foco deste trabalho são as lâmpadas de baixa pressão.

3.6.1 Lâmpadas de mercúrio de baixa pressão (LP)

As lâmpadas de mercúrio de baixa pressão são as mais comuns, sendo amplamente utilizadas no campo da desinfecção UV. As LPs são

excelentes conversores de energia elétrica em energia radiante (eficiência entre 40 – 60%), geralmente possuem uma saída de UV-C na faixa de 30 – 50W e geram uma radiação monocromática UV de comprimento de onda (λ) 253,7 nm usualmente referenciada como 254 nm. Na figura 9 visualiza-se o espectro de irradiação da LP.

Figura 9. Radiação monocromática UV de λ 253,7 nm gera pela LP.



Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

3.6.2 Processos fotoquímicos

Os processos fotoquímicos podem ser classificados em três categorias: fotoxidação, fotoredução e fotodegradação direta. No entanto apenas a fotoxidação será abordada nesta revisão.

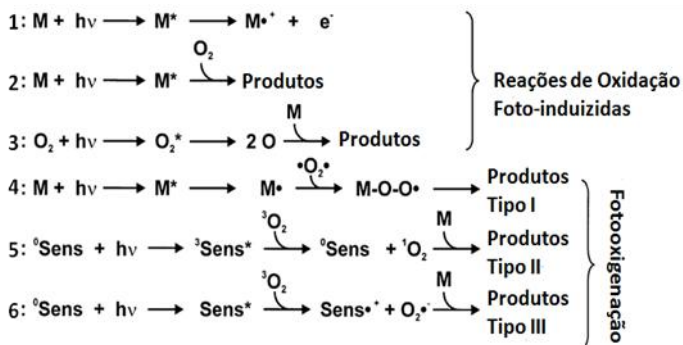
As reações de fotoxidação podem ser do tipo fotoinduzida, fotoiniciada e fotoxigenação.

a) Oxidação fotoinduzida

Em geral as reações de oxidação fotoinduzidas incluem: a fotoionização das moléculas M induzidas pela absorção da radiação eletromagnética (figura 10 – reação 1), as reações da substância M com oxigênio sobre a influência da radiação UV/VIS (reação 2), neste caso a fotoxidação é induzida pela excitação eletrônica do substrato M. Estas reações implicam principalmente na transferência de elétrons do estado excitado (M^*) para o estado fundamental do oxigênio molecular (figura 10 – reações 4 a 6). Outra reação classificada como fotoinduzida é

aquela em que o VUV inicia a fotoquímica do oxigênio molecular via átomos de oxigênio intermediários (figura 10 – reação 3).

Figura 10. Reações fotoinduzidas

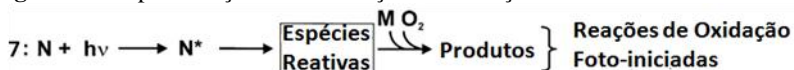


Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

b) Oxidação fotoiniciada

Nesta reação de oxidação nem o substrato M ou a molécula de O_2 estão eletronicamente excitadas (figura 11 – reação 7). M reage com uma espécie transiente e reativa (normalmente um radical) que é formado a partir de uma molécula precursora excitada eletronicamente N^* . Os POAs são baseados neste tipo de fotoxidação, sendo N um oxidante auxiliar (a-Ox) tal como: peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e/ou ozônio (O_3). No caso do VUV a água é excitada eletronicamente em si mesma.

Figura 11. Representação de uma reação de oxidação fotoiniciada.

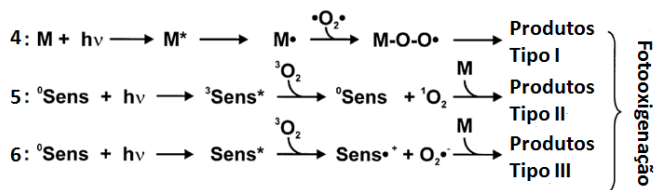


Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

c) Reações de Fotooxigenação

As reações de fotoxigenação na sua maioria são complexas, pois ocorre uma competição entre os diferentes caminhos da reação levando a formação de diferentes produtos (figura 12 – reação 4 a 6).

Figura 12. Reações de fotooxigenação.



Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

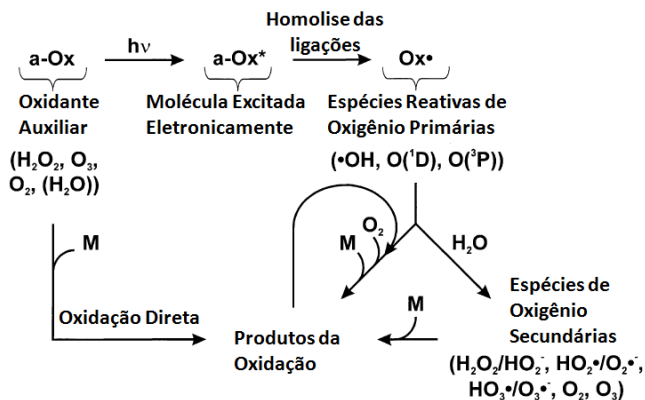
Os produtos do tipo I são formados por reações produzidas fotoquimicamente de radicais com o oxigênio molecular no estado fundamental (O_2) através de radicais intermediários ($M-O-O\cdot$) peroxil. Suas estruturas moleculares são normalmente diferentes do tipo II obtidos pela sensibilização fotooxidativa via oxigênio molecular singleto (1O_2). O oxigênio molecular singleto tem caráter eletrofílico e suas reações específicas diferem do oxigênio molecular tripleto (3O_2).

Produtos de fotooxidação do tipo III são produzidos por reações de radicais superóxidos ($O_2^{\cdot-}$) com uma molécula de substrato adequada M . A reatividade do radical superóxido é caracterizado pela sua basicidade, propriedades de oxidação/redução e propriedades nucleofílicas.

3.6.2.1 Oxidação fotoiniciada

A figura 13 apresenta a situação ideal de uma reação foto-iniciada, que é a base para os POAs, a qual ocorre na presença de um oxidante auxiliar, ex. H_2O_2 e O_3 . O oxidante auxiliar (a-OX) que contém átomos de oxigênio absorve a radiação eletromagnética com a formação de uma molécula eletronicamente excitada (a-OX*). Em seguida, ocorre uma cisão homolítica das ligações, levando a formação de espécies reativas de oxigênio primárias ($Ox\cdot$), sendo principalmente o radical hidroxil, átomos de oxigênio no seu estado fundamental $O(^3P)$ ou estado excitado $O(^1D)$.

Figura 13. Representação esquemática das de oxidação fotoiniciada na presença de oxidantes auxiliares e nomenclatura correspondente.



Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

A reação imediata com os substratos moleculares M na presença predominante do oxigênio inicia uma série de reações complexas. Em água e ar, as espécies reativas de oxigênio primárias podem ser transformadas pelo radical, por transferência de elétrons ou por reações ácido/base para espécies secundárias, as quais são capazes de oxidar os substratos moleculares. Além disso, reações que envolvem o radical hidroxil com íons carbonatos e bicarbonatos levam a formação eficiente dos ânions, os quais são denominados oxidantes terciários seletivos. A química da reação que envolve os oxidantes auxiliares é complicada, pois estes são capazes de oxidar os contaminantes por oxidação direta decorrente do seu potencial de redução. Na tabela 5 é possível visualizar o potencial de redução dos oxidantes mais comumente utilizados.

Tabela 5. Potencial de Redução (Eh) dos oxidantes mais comumente utilizados

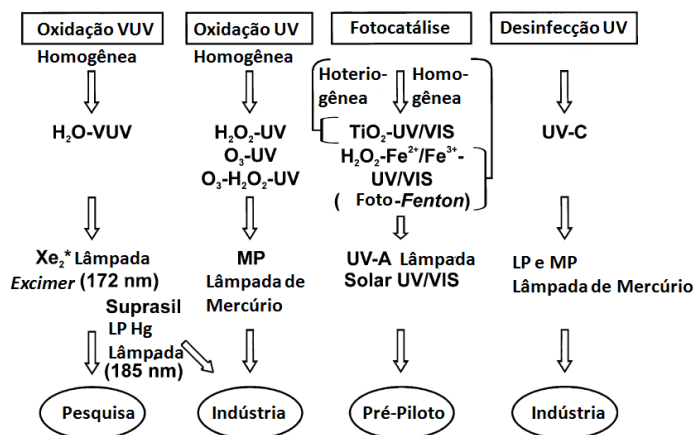
Oxidante	Eh (V)
F ⁻	3,0
O ₃	2,1
OH ⁻	2,8
H ₂ O ₂	1,77
KMnO ₄	1,70
ClO ₂	1,5
Cl ₂	1,4

Fonte: Adaptado JARDIM E CANELA, 2004.

Os produtos gerados durante o processo de oxidação são introduzidos a novos ciclos de oxidação até que todos os átomos de carbono orgânico presentes sejam mineralizados (convertidos a dióxido de carbono e água).

Dentre os POAs fotoinduzidos estão: oxidação VUV, oxidação UV, fotocatalise e desinfecção UV. A figura 14 apresenta as técnicas bem como o tipo de fonte de radiação utilizada e área de aplicação.

Figura 14. Técnica de POAs fotoinduzidos.



Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

3.7 PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H_2O_2)

a) Propriedades Físico-químicas

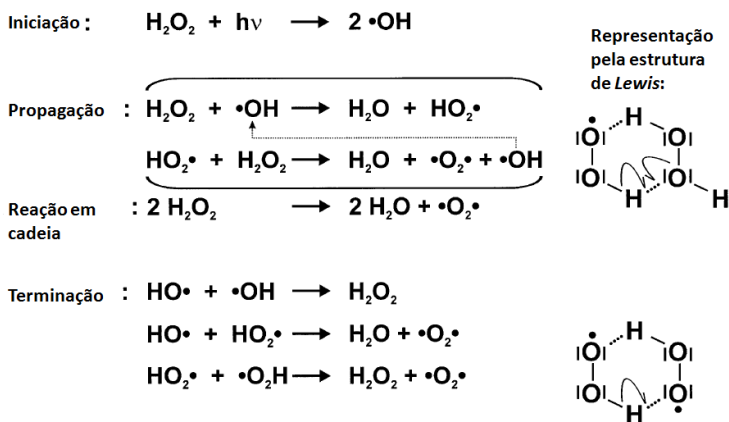
O H_2O_2 é um composto amplamente encontrado em águas naturais. Na forma comercial apresenta-se como solução aquosa de fácil manipulação. Isto porque na forma pura, ele se decompõe facilmente devido a sua alta capacidade oxidante. O H_2O_2 puro apresenta-se como um líquido azul pálido, xaroposo com ponto de ebulição de $152,1\text{ }^\circ\text{C}$ e ponto de congelamento $-0,89\text{ }^\circ\text{C}$.

A solução aquosa de H_2O_2 é utilizada em processos de branqueamento, síntese química, tratamento de água e esgoto por POA.

b) Fotoquímica

O efeito da radiação eletromagnética sobre a decomposição do H_2O_2 pode ser explicada pelo mecanismo de *Haber-Weiss* (ver figura 15).

Figura 15: Mecanismo da reação em cadeia da decomposição fotoinduzida do peróxido de hidrogênio em água pura de acordo com Haber e Weiss.



Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

Este mecanismo de reação em cadeia sugere que radicais hidroxil são formados pela cisão homolítica da ligação central HO-OH, iniciando um ciclo de propagação, formando água e oxigênio molecular. Sugere-se que existam cinco intermediários diferentes entre o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxil ($\text{H}_2\text{O}_2 \dots \text{HO}\cdot$).

Dentre os intermediários, um apresenta-se na forma de complexo hidrogênio-ligado, composto por seis membros (peróxido de hidrogênio e os radicais hidroperoxil na fase líquida, $\text{HOO}\cdot \dots \text{H}_2\text{O}_2$). Este complexo se reorganiza por um elétron se desloca para produzir como produto final água, oxigênio molecular e um radical hidroxila. Este último entra novamente no ciclo de propagação levando às reações de terminação mais prováveis que incluem: recombinação radical-radical (dois radicais hidroxil geram H_2O_2), a reação de um grupamento hidroxila com um radical hidroperoxil levando a formação de água e oxigênio e por fim a

formação de H_2O_2 e O_2 por desprotonação de radicais hidroperoxil. . A tabela 6 apresenta a fórmula molecular e as características de absorção dos principais produtos envolvidos na fotoquímica do H_2O_2 .

Tabela 6. Fórmula molecular e características da fotoquímica do H_2O_2 .

Compostos	Fórmula molecular	Características de absorção λ e $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$, $\epsilon_{\lambda}/\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$	Referências
Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	$\lambda = 295 - 299$: $\epsilon_{\lambda} = 0,88$ $\lambda = 254$: $\epsilon_{\lambda} = 19,6$ $\lambda = 254$: $\epsilon_{\lambda} = 18,7$ $\lambda = 250 - 254$: $\epsilon_{\lambda} = 19,02$ $\lambda = 200 - 204$: $\epsilon_{\lambda} = 179,21$	Bolton, 1999 Glaze et al, 1987 Weeks e Matheson, 1956 Bolton, 1999 Bolton, 1999
Íons hidroperoxido	HO_2^-	$\lambda = 253,7$: $\epsilon_{\lambda} = 240$	Legrini et al, 1993
Radical hidroperoxil	HO_2^{\cdot}	$\lambda = 220$: $\sigma = 3,4 \times 10^{-18}$ $\lambda_{\text{max}} = 225$: $\epsilon_{\lambda} = 1050$	Crowley et al, 1991 Lightfoot et al, 1992
Radical hidroxil	HO^{\cdot}	$\lambda_{\text{max}} \sim 225$; $\lambda = 188$: $\epsilon_{\lambda} = 540$	Buxton et al, 1988
Radical ânion superóxido	$\text{O}_2^{\cdot-}$	$\lambda_{\text{max}} = 245$: $\epsilon_{\lambda} = 2350$	Bolton and Cater, 1994

Fonte: OPPENLÄNDER, 2003.

A degradação fotoquímica do H_2O_2 está associada à variação das condições do potencial hidrogeniônico (pH). Sob condição alcalina o peróxido de hidrogênio sofre desprotonação ocorrendo um equilíbrio entre as espécies H_2O_2 e HO_2^- . Esta última espécie possui um coeficiente de absorção maior que o H_2O_2 (ver tabela 6), deste modo, as espécies competem pela radiação UV. A dissociação fotoquímica destas espécies leva à formação dos radicais $^{\cdot}\text{OH}$ e $\text{O}_2^{\cdot-}$.

A influência do pH sobre a decomposição fotoinduzida do H_2O_2 depende ainda da influência da absorção do fluxo de fótons (Φ_p). Em condições alcalinas pode ocorrer o efeito inibitório sobre o $r(-\text{H}_2\text{O}_2)$, isto em situações de baixa absorção de fluxo de fótons e baixa concentração de H_2O_2 . Por outro lado, sob elevado fluxo de fótons o pH não influencia o $r(-\text{H}_2\text{O}_2)$. Em pH alcalino pode ocorrer ainda, o efeito

“scavenging”, ou seja o sequestro do radical $\cdot\text{OH}$ pelo sistema carbonato/bicarbonato.

3.8 PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DA AMX E CFX DECORRENTES DO TRATAMENTO POR POA.

Quando matrizes contendo AMX e CFX são submetidas a um processo oxidativo avançado, como por exemplo, o $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, alguns subprodutos podem ser gerados. Entretanto a formação de subprodutos tóxicos está relacionada à efetividade do processo.

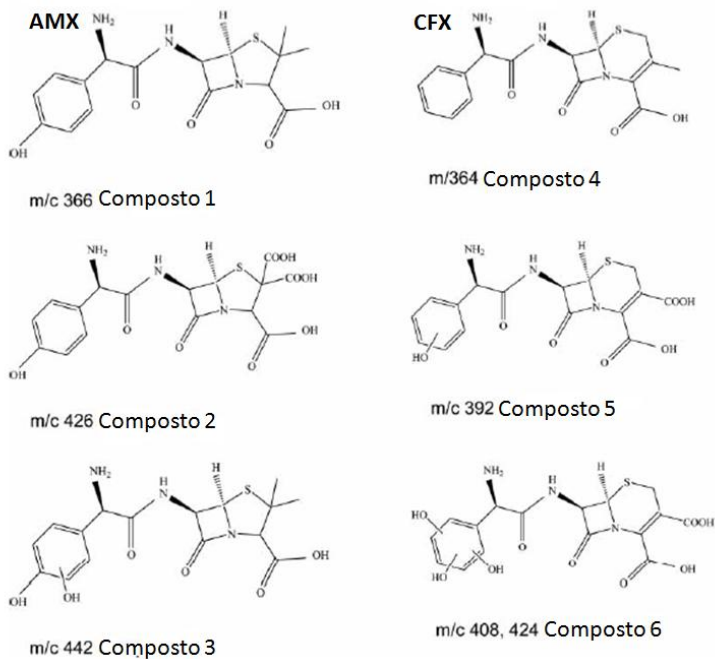
Em termos da formação de subprodutos tóxicos a dose do H_2O_2 é um fator muito relevante. *Gonzalez, Sans e Esplugas, 2007* observaram a oxidação do antibiótico sulfametoxazol pelo processo de fotocatalise (foto-Fenton), e constataram que em concentrações mais baixas de H_2O_2 havia a formação de intermediários mais tóxicos do que quando foi utilizado H_2O_2 em concentrações mais elevadas. Isto porque o emprego de quantidades ineficientes de H_2O_2 leva a degradação parcial dos compostos.

Na revisão bibliográfica realizado por *Melo et al, 2009* a respeito dos processos oxidativos avançados, os autores afirmam que é importante identificar a rota de degradação dos subprodutos bem como a sua toxicidade e destino no meio ambiente. Entretanto, para que tais investigações possam ser realizadas faz-se necessário o uso de técnicas que possibilitem a identificação dos compostos como a cromatografia-gasosa/líquida acoplada a espectrômetro de massa (CG-MS e LC-MS).

Além do mais, é importante que se conheça a rota de degradação de cada fármaco. Contudo os subprodutos gerados podem variar de acordo com o método de remoção utilizado, ou seja, do caminho da reação.

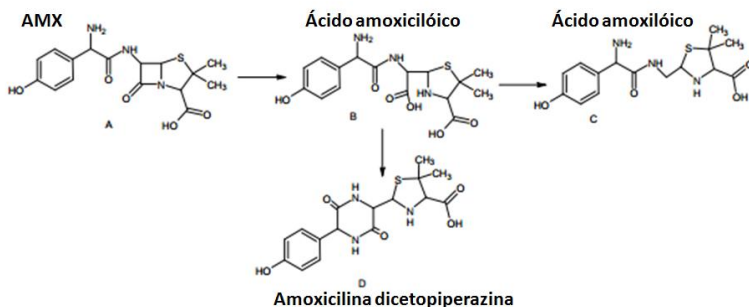
No trabalho realizado por *Reynoso et al, 2012*, são avaliados os aspectos mecânicos e cinéticos da fotodegradação da AMX e CFX utilizando uma fonte luminosa do tipo *laser*, cujo comprimento de onda (λ) é de 300 – 2000nm. Na figura 16 verificam-se os produtos de degradação decorrentes da fotólise da AMX e CFX.

Figura 16. Produtos de degradação da AMX e CFX gerados pela fotólise da AMX e CFX por lâmpada *laser*.



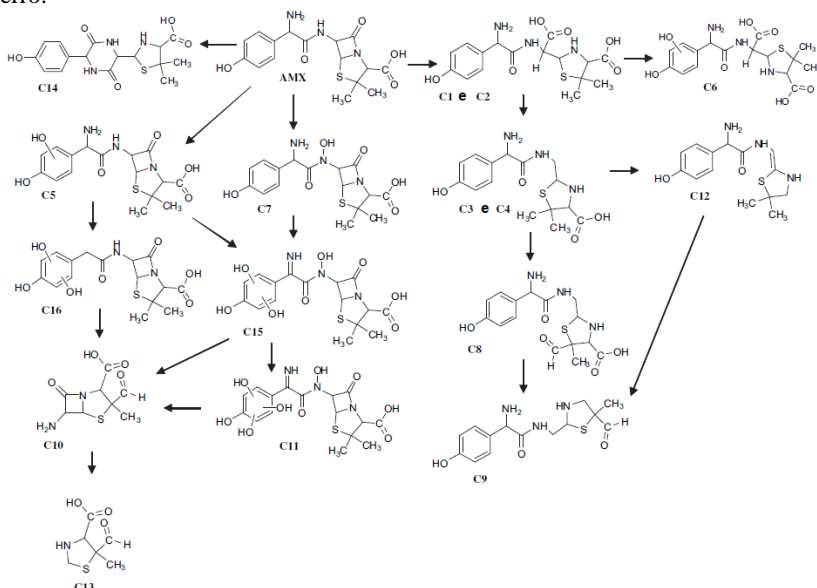
A figura 17 apresenta os produtos de degradação da AMX decorrentes de um processo de hidrólise, levando a formação do ácido amoxicilóico que por sua vez gera o ácido amoxicilóico e a amoxicilina dicetopiperazina (FREITAS, 2008).

Figura 17. Compostos derivados da hidrólise da AMX.



Na figura 18 visualiza-se a formação de 14 subprodutos decorrentes do processo foto-Fenton. Este estudo foi realizado por *Trovó et al*, em 2011 e teve como um de seus objetivos estudar a identificação do produtos intermediários gerados durante o processo através da cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massas *time-of-flight*.

Figura 18. Degradação da AMX em água destilada por degradação foto-Fenton utilizando diferentes espécies de ferro.



Ao se observar as figuras 16,17 e 18 percebe-se a formação de diferentes subprodutos obtidos a partir da degradação da mesma molécula (AMX), porém por mecanismos de reação (técnicas) diferentes. Deste modo, verifica-se que o tratamento empregado influencia na formação dos subprodutos. Portanto, a quantificação e identificação destes compostos, necessitam de técnicas mais apuradas como a cromatografia líquida e/ou gasosa acoplada a espectrômetro de massas. Esse tipo de detector é capaz de fornecer a composição elementar das amostras, bem como sua estrutura molecular, composição quali e quantitativa de misturas complexas, proporções isotópicas de átomos e amostras.

3.9 TÉCNICAS ANALÍTICAS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS DE MATRIZES AMBIENTAIS.

As técnicas analíticas utilizadas na detecção de fármacos em matrizes ambientais são baseadas em técnicas da química analítica. Destacando-se a cromatografia acoplada a diferentes detectores.

A cromatografia, do grego “chrom” (cor) e “graphe” (escrever), é um método de separação que se associou a um detector e ao uso de padrões analíticos torna-se também um método de identificação e quantificação. Originalmente um dos primeiros ensaios cromatográficos foi realizado pelo botânico russo *Tswett*, em 1906. Ele realizou a separação de componentes presentes em extratos de plantas e gema de ovo. Para isso utilizou uma coluna de vidro recheada com vários sólidos de pequeno tamanho (Fase Estacionária - FE) e éter de petróleo (Fase Móvel - FM).

Mais tarde, na década de 30 do mesmo século *Kuhn* e *Lederer* aperfeiçoaram a cromatografia em coluna, porém desta vez, não apenas separaram as xantofilas da gema do ovo, mas também as identificaram. Para isso foi utilizada uma coluna recheada com carbonato de cálcio em pó (FE) e éter de petróleo (FM). Dando início a era moderna da cromatografia (COLLINS; BRAGA, 2006).

A partir dos experimentos iniciais a técnica foi aperfeiçoada e novas FEs foram sendo desenvolvidas (variando-se o estado físico, tamanho das partículas, e características químicas – principalmente polaridade). Além disso, a variação do estado físico da FM levou a diferenciação da cromatografia entre líquida e gasosa.

Os detectores são componentes essenciais no desenvolvimento e aperfeiçoamento desta técnica sendo divididos entre destrutivos e não-destrutivos, ou seja, aqueles que destroem ou não o analito de interesse. Os principais detectores são: detector por Luz Ultravioleta (UV), Detector de Arranjo de Fotodiodos (DAD ou PDA), por fluorescência, índice de refração (todos estes do tipo não destrutivo), entre outros e de ionização de chama, fotometria de chama, detector de espectrômetro de massas, etc (estes últimos do tipo destrutivos).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a UV é uma técnica amplamente utilizada em diversas áreas da ciência, isto por se trata de uma técnica chamada de “universal”, ou seja, pode ser utilizada para separar e identificar uma variedade de substâncias.

A CLAE faz uso de colunas (metálicas) recheadas por partículas muito pequenas. Para que a FM seja eluída através da coluna faz-se necessário o uso de bombas de alta pressão, o que confere

elevadas pressões bem como um aumento na velocidade do fluxo de fase móvel.

4. METODOLOGIA

4.1 EXPERIMENTO POA por H_2O_2/UV

4.1.1 Preparo das soluções utilizadas no experimento

As soluções mães dos dois antibióticos foram preparadas a partir de cápsulas de medicamentos genéricos de 500 mg, adquiridos em farmácias comerciais. Primeiramente retirou-se o conteúdo das cápsulas de AMX ou CFX, transferiu-se para um balão volumétrico de 500 mL e completou-se com água MilliQ, afim de que a concentração de ambas as soluções fosse de 2 g.L^{-1} .

Na sequência colocou-se o balão em banho de ultrassom para a solubilização de todas as partículas presentes na solução. Estas soluções foram comparadas com padrões de AMX e CFX (2 g.L^{-1}), afim de se determinar a concentração real de cada antibiótico na solução utilizada. Sendo assim a concentração da solução de AMX foi igual a $1,53 \text{ g.L}^{-1}$ e de CFX a $0,72 \text{ g.L}^{-1}$.

4.1.2 Materiais, vidrarias e reagentes

- Balão volumétrico 2L
- Pipeta automática
- Béquer
- Bomba a vácuo
- Filtro $0,8\mu\text{L}$
- Funil
- Peróxido de hidrogênio 30% (Vetec ®)

4.1.3 Obtenção das amostras de Urina

• Urina Armazenada

A urina armazenada foi obtida de um banheiro seco segregador localizado no Centro de Treinamento da Empresa de Pesquisa e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), em Florianópolis. O banheiro não utiliza descarga sanitária convencional, sendo a urina tratada por armazenamento/estabilização e as fezes por desidratação. Este banheiro possui um vaso sanitário segregador e mictórios (figura

19). Para armazenar a urina e as fezes utilizam-se bombonas de 60L e 100L respectivamente.

A urina foi armazenada a temperatura ambiente e ao livre (ver Figura 19) desde outubro de 2010. Antes de serem submetidas ao tratamento por POA elas foram avaliadas por CLAE (ver item 4.2), no que se refere as presença de AMX e CFX.

Figura 19. Vaso segregador (esquerda) e tanques de armazenamento da urina (direita).



- Urina Fresca

A urina fresca foi obtida de indivíduos que não utilizavam nenhum dos antibióticos pesquisados. A coleta da urina foi realizada em até 24H antes da análise, nos diferentes dias de análise. (n=5 pessoas).

Ambas as urinas (armazenada e fresca) foram caracterizadas considerando-se o pH, DQO_t (mg.L⁻¹), sólidos suspensos (mg.L⁻¹), nitrogênio amoniacal (mg.L⁻¹), fósforo ortofosfato (mg.L⁻¹), cor 465 nm (PT-Co) e alcalinidade.

4.1.4 Reator

Utilizou-se um reator de fluxo pistão, do tipo *STERILIGHT* modelo SSM-24. O reator é cilíndrico, contém uma lâmpada a vapor de mercúrio de baixa pressão (25W e 9000H de vida útil) cujo comprimento de onda emitido é de 254 nm, a mesma está recoberta por

um tubo de quartzo. O volume do reator quando utilizado em batelada é de 1,1 L. A figura 20 apresenta o reator.

Figura 20. Reator *STERILIGHT* modelo SSM-24

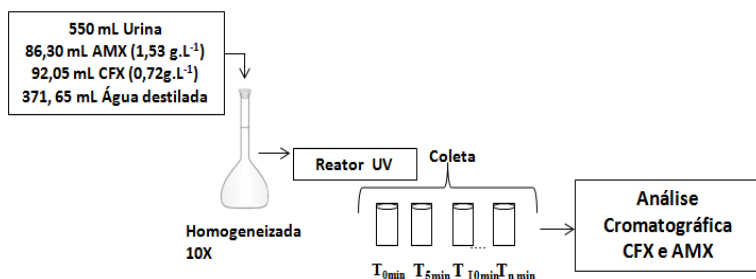


4.1.4.1 Ensaio com UV

O ensaio com UV foi realizado para observar se há degradação de AMX e CFX decorrente apenas da incidência da luz UV. Inicialmente 550 mL de urina foram transferidos para um balão volumétrico de 2000 mL (o balão volumétrico foi utilizado apenas como recipiente de mistura), na sequência adicionou-se 86,30 mL de solução mãe de AMX, 92,05 mL de solução mãe de CFX e completou-se o volume com água destilada para 1100 mL.

A concentração obtida para ambos os fármacos dentro do reator foi de $120 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para AMX e $60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ para CFX. O ensaio teve duração de 60 minutos e 13 amostras ($T_0 = 0$ minutos; $T_1 = 5$ min; $T_2 = 10$ min; $T_3 = 15$ min; $T_4 = 20$ min; $T_5 = 25$ min; $T_6 = 30$ min; $T_7 = 35$ min; $T_8 = 40$ min; $T_9 = 45$ min; $T_{10} = 50$ min; $T_{11} = 55$ min; e $T_{12} = 60$ min) foram coletadas de 5 minutos em 5 minutos. Neste ensaio foram determinadas apenas as concentrações de AMX e CFX (ver item 4.2). O teste foi realizado primeiramente com urina armazenada e repetido, substituindo-se a mesma por urina fresca.

Figura 21. Fluxograma das etapas realizadas no ensaio com luz UV. 92,02 e CFX (2g.L) mL de CFX

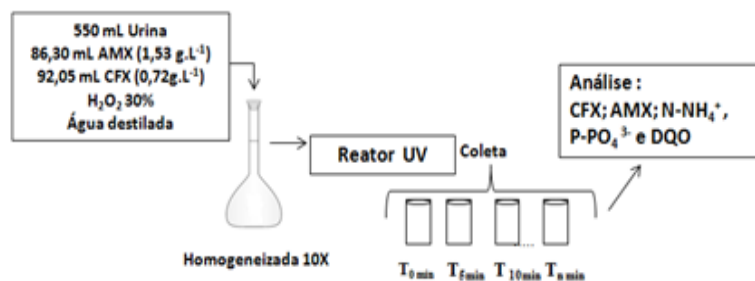


4.1.4.2 Ensaio com H₂O₂/UV

Para este ensaio procedeu-se do mesmo modo que no item 4.1.4.1, exceto pela adição do peróxido de hidrogênio, Ver figura 22.

Cada ensaio teve duração de 60 min, 13 amostras de urina foram coletadas nos tempos (T₀ = 0 minutos; T₁ = 5 min; T₂ = 10 min; T₃ = 15 min; T₄ = 20 min; T₅ = 25 min; T₆ = 30 min; T₇ = 35 min; T₈ = 40 min; T₉ = 45 min; T₁₀ = 50 min; T₁₁ = 55 min; e T₁₂ = 60 min). Os ensaios foram repetidos cinco vezes para as três menores concentrações de H₂O₂ (58,0; 29,0; 14,5 mg.L⁻¹) e três vezes para as duas maiores concentrações de H₂O₂ (928,0 e 464,0 mg.L⁻¹). Aliquotou-se um volume de 80 mL no ponto T₀ e T₁₂ e de 5 mL para os demais.

Figura 22. Fluxograma das etapas realizadas no ensaio com H₂O₂/UV.



Os volumes de peróxido de hidrogênio e água variaram de acordo com as concentrações de H_2O_2 utilizadas em casa ensaio. A tabela 7 apresenta os volumes de H_2O_2 e água para cada uma das concentrações avaliadas no experimento ($14,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $29,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $58,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, $464,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $928,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

Tabela 7. Volumes de urina, CFX, AMX, H_2O_2 e água, adicionados ao reator.

Conc. final de H_2O_2 (mg.L ⁻¹)	Volumes (mL)					
	Urina	CFX	AMX	H_2O_2	água	final
14,5	550	92,05	86,30	0,054	371,596	1100
29,0	550	92,05	86,30	0,108	371,542	1100
58,0	550	92,05	86,30	0,216	371,434	1100
464,0	550	92,05	86,30	1,728	369,922	1100
928,0	550	92,05	86,30	3,456	368,194	1100

Nas figuras 23 visualiza-se a configuração da coleta de urina em cada tempo.

Figura 23. Configuração de coleta da urina do reator.

A)



B)



Em todas as amostras foram analisadas as concentrações dos fármacos (AMX e CFX) por CLAE (ver item 4.2); e nas amostras T_0 e T_{12} foram analisadas ainda a demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio amoniacal ($N-NH_4^+$) e fósforo ortofosfato ($P-PO_4^{3-}$).

4.1.4.3. Avaliação dos dados – análises estatísticas

Os resultados obtidos para as concentrações de AMX e CFX nas amostras de urina antes e após o POA foram expressos por meio de média, desvio padrão, e limite inferior e superior. Sendo realizado ainda:

- Análise de variância (ANOVA *one way* – Statistica 7.0) entre as concentrações de AMX e CFX resultantes do POA (13 pontos) e as diferentes concentrações de H₂O₂ testadas (cinco concentrações);
- Teste de distribuição normal e tendência da amostra ao longo do tempo de análise;

4.1.5 Determinação DQO; N-NH₄⁺ P-PO₄³⁻

Na tabela 8 observam-se os parâmetros avaliados, o tipo de matriz analisada e a metodologia empregada.

Tabela 8. Parâmetros realizados na urina e metodologia aplicada.

Parâmetro	Matriz	Metodologia
DQO total (mg.L ⁻¹)	Urina	Digestão em refluxo fechado – método colorimétrico – Standard Methods 5220D (APHA, 1998). Leitura em espectrofotômetro HACH®
Fósforo ortofosfato (mg.L ⁻¹)	Urina	Método do ácido Vanadomolybdato (APHA, 1998). Leitura em espectrofotômetro HACH®
Nitrogênio amoniacal (mg.L ⁻¹)	Urina	Método colorimétrico de Nessler (VOGEL, 1981). Leitura em espectrofotômetro HACH®

4.1.6 Determinação de AMX e CFX

Para a determinação da AMX e CFX otimizou-se e validou-se o método cromatográfico proposto por por *Samanidou, Hapeshi, Papadoyannis, 2003*. A otimização e validação do método cromatográfico é apresentado no item 4.2 deste trabalho.

4.1.7 Avaliação perfil de degradação de AMX e CFX em água

Para avaliar o perfil de degradação da AMX e CFX o ensaio foi o mesmo que o realizado no *item 4.1.4.2* exceto pelo fato de que o volume de urina foi substituído por água destilada. Testou-se apenas as concentrações de 464,0 e 948,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂. Para cada T aliqotado realizou-se a análise cromatográfica com o intuito de observar o perfil de cada cromatograma bem como a degradação de cada antibiótico.

4.2 OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO

4.2.1 Preparo das soluções

4.2.1.1 Solução mãe de amoxicilina (AMX), cefalexina (CFX) e ampicilina (AMP)

Pesou-se 20 mg de cada padrão AMX, CFX e AMP, transferiu-se para um balão de 10 mL e completou-se o volume com água MilliQ, afim de que a concentração final de 2 g.L⁻¹ fosse atingida. Os padrões foram armazenados no freezer -20°C por 4 meses. A AMP foi utilizada como Padrão Interno (PI) do método.

4.2.1.2 Solução estoque de AMX e CFX

- AMX 400 µg. mL⁻¹: Transferiu-se 1000 µL da solução mãe para um balão de 5mL, em seguida completou-se o volume com água MilliQ.
- CFX 200 µg. mL⁻¹: Transferiu-se 500µL da solução mãe para um balão de 5mL, em seguida completou-se o volume com água MilliQ.

Todas as soluções foram armazenadas em *freezer* a temperatura de -20°C por 2 meses.

4.2.1.3 Solução trabalho de AMX, CFX e AMP

As soluções de trabalho foram preparadas nos dias das análises.

- AMX 200 µg. mL⁻¹: Utilizou-se 750 µL de solução estoque de AMX, 375 µL de água ultra pura e 375 µL de urina armazenada.
- CFX 100 µg. mL⁻¹: Foram utilizados 500 µL de solução estoque de CFX, 250 µL de água ultra pura e 250 µL de urina armazenada.

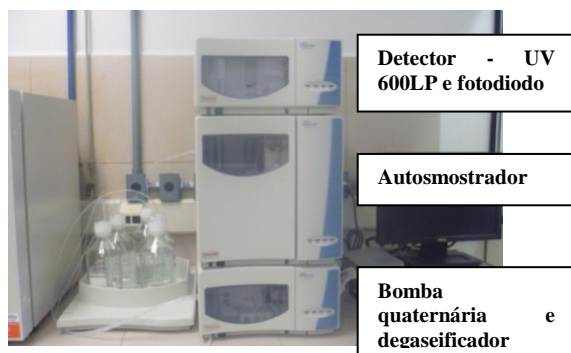
- AMP $8 \mu\text{g. mL}^{-1}$: Em um balão de 100 mL adicionou-se $400 \mu\text{L}$ de solução mãe de AMP e em seguida completou-se o volume com água MilliQ previamente filtrada.

Todas as concentrações utilizadas para a validação do método cromatográfico foram preparadas a partir das soluções de trabalho.

4.2.2 Equipamento, acessórios e vidrarias

- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência da *Thermo Fisher Scientific* (figura 24) composto por:

Figura 24. Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência



- Bomba quaternária e degaseificador (*Thermo Fisher Scientific*®);

- Detectores - UV 600LP e fotodiodo (*Thermo Fisher Scientific*®);

- Autoamostrador (*Thermo Fisher Scientific*®);

- *Software ChromQuest 5.0* (2008)

- Coluna: ACE® C18 (250 x 4,6 mm; $5 \mu\text{m}$)

- Pré-Coluna: ACE® (21 x 4,6; $5 \mu\text{m}$);

- Membrana de filtração de Nylon ($47 \text{mm} \times 0,22 \mu\text{m}$) (Aprolab)

- Balança (Mettler toled®)

- Pagômetro (WTW®);

- Ultrassom (MaxClean®)

- Bomba de vácuo (Millipore®);

- Vial - 2mL transparente graduado com septo duplo PTFE/Silicone e tampa de rosca (Aprolab);

- Purificador de água (MilliQ®)
- Balões volumétricos e béquers;
- Micropipetas (Brand®) e ponteiras.

4.2.3 Reagentes e solventes

- Metanol Grau HPLC Tedia Brasil® (Rio de Janeiro/ Brasil);
- Ácido Acético Glacial PA Vetec® (Duque de Caxias/Brasil);
- Acetato de sódio trihidratado Vetec® (Duque de Caxias/Brasil);

4.2.4 Padrões analíticos

- Amoxicillin A8523 Sigma-Aldrich® (Alemanha)
- Cefalexin Vetranal 33985 Sigma-Aldrich® (Alemanha)
- Ampicillin Sigma-Aldrich® (Alemanha)

4.2.5 Método

4.2.5.1 Otimização do método analítico

• Padronização do método analítico para determinação de AMX e CFX

Para a determinação de AMX e CFX foi utilizado o método cromatográfico segundo proposto por *Samanidou, Hapeshi, Papadoyannis, 2003*. A análise foi implementada utilizando-se inicialmente soluções aquosas dos padrões de AMX e CFX em diferentes concentrações. Afim de que se conhecer às condições cromatográficas, uma vez otimizado o método em água o mesmo foi padronizado para urina armazenada de banheiro seco segregador.

• Preparo da urina

Para o preparo da urina (“tratamento”/“limpeza”) foram avaliados extração líquido-líquido e diluição simples precedida ou não por etapas de pré-tratamento. Após alguns testes primordiais a extração líquido-líquido foi considerada inviável e direcionaram-se os testes para a diluição simples (DS). Para a avaliação da DS procederam-se ensaios apenas com DS e testes em que a DS era precedida apenas por precipitação de proteínas ou acidificação seguida de aquecimento e

precipitação de proteínas. Tais procedimentos foram conduzidos em urina armazenada e água MilliQ para fins de comparação. Para eleição do preparo da amostra optou-se por reforçar a urina armazenada e água MilliQ apenas com CFX na concentração de 100 mg.L^{-1} .

- I. **Diluição simples:** As amostra de urina/água previamente fortificadas com padrão de CFX foram diluídas com água Milli-Q (1:100), previamente filtrada em membrana de nylon (47 mm x 0,22 μm), em tubo *falcon* para um volume final de 2,5 mL. Sendo que 1,250 mL deste volume é referente à solução de padrão interno (4 mg.L^{-1}) e 1,175 mL a água Milli-Q e 25 μL de urina/água..
- II. **Precipitação de proteínas seguida de diluição simples:** A precipitação de proteínas foi realizada aliquotando-se 1 mL da urina/água, previamente fortificadas com padrão de CFX, em tubos *falcon*. Na sequência acrescentou-se 75 μL de metanol e agitou-se em agitador automático por 30 segundos. Após, as amostras foram transferidas para uma centrífuga e centrifugadas a 3900 rpm por 25 min (ALEKSÍC, 2008), em seguida 25 μL do sobrenadante foi utilizado na diluição conforme o procedimento descrito acima.
- III. **Acidificação, aquecimento e precipitação seguida de diluição:** Transferiu-se 1 mL das amostras de urina/água reforçadas com padrão de CFX para um tubo *falcon*, na sequência acidificou-se as mesmas com ácido nítrico ultra puro até pH próximo de 4 (para verificar o pH foram utilizadas tiras indicadoras de pH). Em seguida, elas foram colocadas em banho Maria a 30°C por 5 min e então centrifugadas a 5000 rpm por 5 minutos. Após, 25 μL do sobrenadante foi diluído conforme o procedimento de diluição simples.

4.2.6 Otimização das condições cromatográficas

Com o intuito de avaliar em uma mesma análise cromatográfica AMX, CFX e PI o método foi otimizado para proporcionar a separação cromatográfica dos dois antibióticos β -lactâmicos sendo estabelecidas as seguintes condições:

- Coluna C18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m);
- Pré-coluna C18 (21 x 4,6; 5 μ m);
- Fluxo: 1,0 mL.min⁻¹ ;
- Fase móvel: Metanol: Tampão Acetato 10mM (22:78 v/v)
- Volume de injeção: 25 μ L
- Comprimento de onda detector UV: 265 nm;
- Tempo de análise: 22 min;

4.2.7 Validação do método analítico para determinação da AMX e CFX

Os parâmetros avaliados foram: limite de detecção e quantificação, precisão inter e intra-dias e linearidade. Os parâmetros descritos acima não são aplicados a AMP, uma vez que a mesma foi considerada o Padrão Interno deste método.

• Limite de Detecção e de Quantificação

O limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para cada antibiótico (AMX e CFX) foi determinado experimentalmente.

Procedeu-se conforme o item 4.2.5 e avaliaram-se concentrações de 50; 25; 10 e 5 μ g.mL⁻¹ para AMX e 2,5; 1,0; 0,50 e 0,25 μ g.mL⁻¹ para CFX.

O limite de detecção eleito foi a menor concentração com sinal diferente de zero e coeficiente de variação menor que 20%. (n=20), enquanto que o limite de quantificação do método foi a menor concentração medida com coeficiente de variação menor ou igual a 10%. As análises foram realizadas em quintuplicata para cada ponto avaliado (n = 20).

• Precisão interdia e intradia

As urinas enriquecidas nas concentrações de 50; 110 e 200 μ g.mL⁻¹ de AMX e 1,0, 10 e 50 μ g.mL⁻¹ de CFX, foram analisadas para avaliação da precisão do método. A urina foi preparada e analisada em um dia para se determinar a precisão intra-dia (n=15), e em três dias diferentes para se obter a precisão interdias (n=45). O procedimento foi realizado em quintuplicata para as concentrações avaliadas em cada dia de análise.

- Linearidade

Para se verificar a faixa de linearidade do método preparou-se a urina, a fim de que as concentrações de 200, 170, 140, 110, 80 e 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para AMX e 50, 25, 10, 5, e 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, para CFX, fossem atingidas. O procedimento foi realizado em quintuplicata para as concentrações avaliadas (n=20).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO

5.1.1 Otimização do método analítico

- **Preparo urina**

Os resultados obtidos para os testes I, II e III estão expressos na tabela 9 a seguir.

Tabela 9. Média, DP e CV da concentração da CFX após as etapas de tratamento.

Tratamento empregado	Concentração da CFX em urina (mg.L ⁻¹)		
	Média	DP*	CV %**
I ¹	100,85	4,54	4,5
II ²	88,55	3,72	4,2
III ³	88,11	5,20	5,9
	Concentração da CFX em água (mg.L ⁻¹)		
I ¹	100,74	4,94	4,9
II ²	92,79	0,0093	0,01
III ³	95,16	3,52	3,7

¹ = Diluição simples (DS); ² = Precipitação de proteínas seguida de DS; ³ = Acidificação, aquecimento e precipitação de proteínas seguidas de DS; * = Desvio Padrão; ** = Coeficiente de Variação.

Esleceu-se como preparo da amostra a diluição simples (1:100), segundo o proposto por *Samanidou, Hapeshi, Papadoyannis, 2003*. Tendo em vistas os resultados alcançados tanto em urina armazenada quanto em água.

5.1.2 Otimização das condições cromatográficas

A otimização das condições cromatográficas teve por objetivo reproduzir e adequar o método referência às condições do laboratório no qual as análises foram realizadas. Buscou-se ainda, adaptar o método a detecção e quantificação da AMX e AMP (PI), além da CFX já detectada e quantificada no método proposto. A tabela 10 apresenta as

condições cromatográficas realizadas por *Samanidou, Hapeshi, Papadoyannis, 2003* e as condições otimizadas neste trabalho.

Tabela 10. Condições cromatográficas referência e condições cromatográficas otimizadas.

Condições propostas por <i>Samanidou, Hapeshi, Papadoyannis, 2003</i>	Condições cromatográficas otimizadas neste trabalho.
Coluna C18 (250 x 4,6 mm; 5µm) Spherisorb ®ODS-2	Coluna C18 (250 x 4,6 mm; 5µm) ACE®
Pré-coluna C18 (21 x 4,6; 5 µm);	Pré-coluna C18 (21 x 4,6; 5 µm);
Fluxo: 1,2 mL.min ⁻¹ ;	Fluxo: 1,0 mL.min ⁻¹ ;
Fase móvel: Metanol: Tampão Acetato ¹ (22:78 v/v) pH 4	Fase móvel: Metanol: Tampão Acetato 10mM (22:78 v/v) pH 3,8
Volume de injeção: 20 µL	Volume de injeção: 25 µL
Comprimento de onda detector UV: 265 nm;	Comprimento de onda detector UV: 265 nm;
Padrão Interno (PI): Hidroclorotiazida	Padrão Interno (PI): Ampicilina (AMP)
Tempo de retenção: CFX= 6,682 min PI=2,973 min	Tempo de retenção relativo ² : AMX = 4,0536 ± 0,002min CFX= 1,2140 ± 0,03 min
Tempo de análise: não relatado	Tempo de análise: 22 min

¹= Os autores não relatam a concentração do tampão acetato utilizada;

²= Tempo de retenção relativo (tempo de retenção do PI/tempo de retenção da AMX ou CFX).

As modificações nos parâmetros fluxo e preparo da FM ocorrem com o intuito de aumentar o tempo de vida útil da coluna cromatográfica bem como do cromatógrafo. O volume injetado é diferente, pois o *loop* do cromatógrafo é de 25 µL. O PI também foi modificado, pelo fato da AMP tratar-se de um antibiótico β-lactâmico enquanto que a hidroclorotiazida é um antihipertensivo. Neste trabalho o tempo de retenção é expresso em termos de tempo de retenção relativo (TRR).

Na figura 25 e 26 observa-se o perfil cromatográfico do método otimizado e validado em urina humana armazenada. Na primeira

visualiza-se o branco de urina acrescido de AMP (PI) e na segunda identificam-se os picos de AMX, CFX e PI em urina, segundo as condições cromatográficas estabelecidas.

Figura 25. Branco de urina com PI (3)

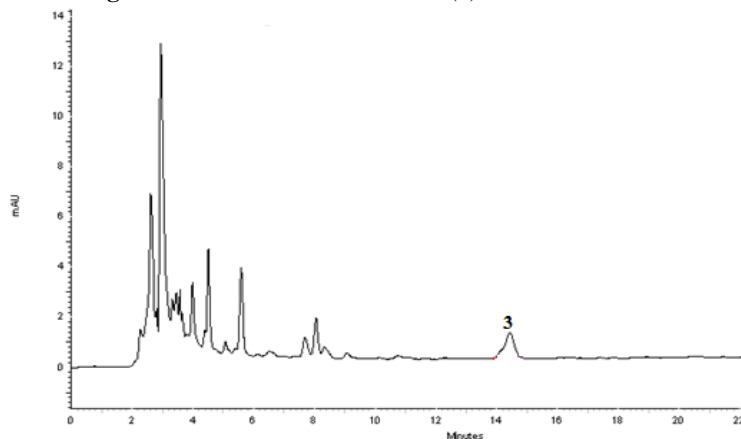
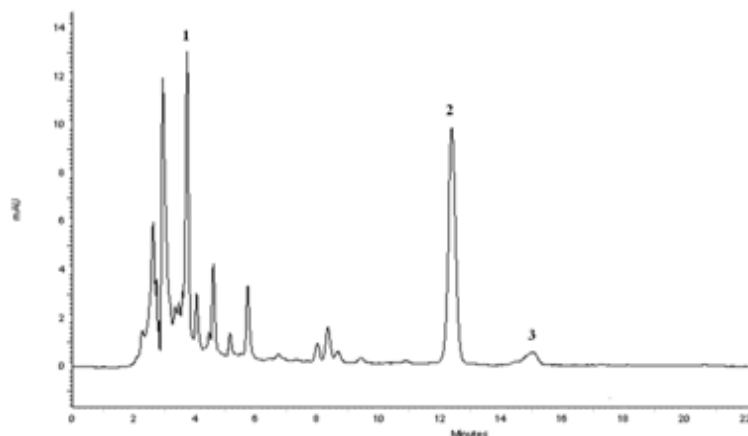


Figura 26. Perfil cromatográfico do método validado. 1=AMX, 2=CFX e 3=PI (AMP).



Observando-se as figuras é possível perceber que os analitos de interesse apresentam boa separação e seus picos aparentam boa simetria. Além disso, embora o tempo de análise seja de 22 min este método

mostrou-se adequado a para a identificação e quantificação da AMX e CFX.

5.1.3 Validação do método cromatográfico

Os resultados dos parâmetros da validação estão expressos na tabela 11.

Tabela 11. Resultados obtidos na validação do método para determinação da AMX e CFX em urina.

Parâmetro	Unidade	Resultado	
		Amoxicilina	Cefalexina
Limite de detecção	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	25	0,5
Limite de quantificação	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	50	1,0
Linearidade	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	50-200	1,0-50
Regressão Linear	r^2	0,9960	0,9998
Precisão intra/interdias			
50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ – 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	CV%*	4,03/7,52	3,14/3,74
110 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ – 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	CV%*	4,90/18,5	4,03/5,00
200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ – 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	CV%*	4,8/6,3	3,24/3,54

r^2 = Coeficiente de correlação

CV%*: o CV% foi determinado após serem realizadas series de cinco repetições para cada uma das concentrações avaliadas.

O método demonstrou-se mais sensível para CFX do que para AMX, uma vez que os limites de detecção e quantificação foram menores (cerca 50X), entretanto tais resultados não comprometem as análises. O método apresenta boa linearidade ficando dentro do valor preconizado, $r^2 > 0,99$ (BRASIL, 2003).

Buscou-se avaliar a repetibilidade e a reprodutibilidade do método. Estas duas medidas representam os dois extremos de medidas de precisão, que podem ser obtidos. A repetibilidade (menor precisão esperada) dá a ideia do tipo de variabilidade esperada quando um método é realizado por um único analista, no mesmo equipamento, durante um curto espaço de tempo. A reprodutibilidade é a maior medida de precisão encontrada, sendo conhecida como "precisão

intermediária” (*EURACHEM, 1998*). A precisão é normalmente expressa em termos de desvio padrão relativo (coeficiente de variação). Os valores de precisão intra/interdias obtidos para este método foram $\leq 5\%$ para a precisão intradias e $\leq 20\%$ para precisão interdias. Tais resultados expressam a boa repetibilidade e reprodutibilidade do método.

5.2 RESULTADOS CARACTERIZAÇÃO DA URINA ARMAZENADA E FRESCA

Os resultados dos parâmetros de caracterização da urina armazenada e fresca estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12. Caracterização da urina armazenada e fresca

Parâmetros	Urina Armazenada	Urina fresca
pH	9,33	5,83
DQO (mg.L ⁻¹)	11000	9210,00
Sólidos suspensos (mg.L ⁻¹)	689,5	435,0
N-amoniaco (mg.L ⁻¹)	5767,5	1050,0
P-ortofosfato (mg.L ⁻¹)	641,3	355,0
Cor 465 nm (Pt-Co)	1030,0	110,0
Alcalinidade (mg.L ⁻¹)	3184	1087

Estes parâmetros de caracterização foram importantes para se verificar as diferenças físico-químicas decorrentes do processo de armazenamento da urina, bem como para se avaliar o POA adotado neste trabalho.

Durante o armazenamento da urina ocorreu a sua estabilização. Sendo esta, fruto de diversos processos espontâneos como a hidrólise da ureia, precipitação e volatilização de alguns compostos. O N-amoniaco aumenta no decorrer do processo de armazenamento devido à degradação da ureia pela enzima uréase. A degradação da ureia favorece o aumento do pH (*KARAKA e BHATTACHARYY, 2011*). O aumento do pH tem um papel significativo pois é em função desta variação que os testes do POA se delinearão. A determinação da diferença entre a cor da urina armazenada e fresca, assim como os sólidos suspensos são fatores preponderantes no que se referem à capacidade da radiação UV em clivar as ligações químicas das moléculas.

5.3 ENSAIO COM RADIAÇÃO UV EM URINA ARMAZENADA E FRESCA

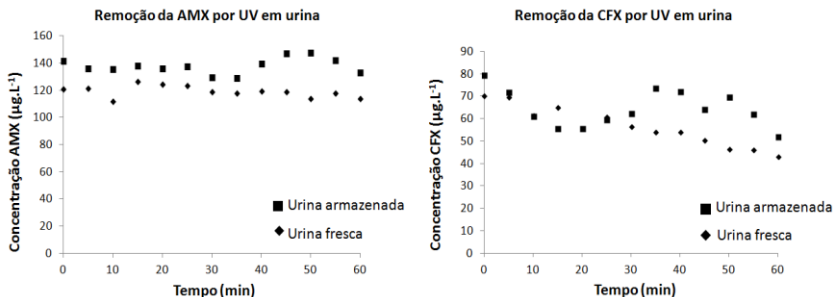
Os resultados do ensaio de remoção dos antibióticos apenas pela incidência da radiação UV estão expressos na tabela 13.

Tabela 13. Remoção da AMX e CFX sob efeito da radiação UV.

Tempo de coleta (min)	Concentração AMX $\mu\text{g.mL}^{-1}$		Concentração CFX $\mu\text{g.mL}^{-1}$	
	Urina armazenada	Urina fresca	Urina armazenada	Urina fresca
0	141,56	120,51	79,68	70,37
5	135,86	121,42	72,04	69,75
10	135,54	118,83	61,17	61,35
15	137,94	126,24	55,8	65,11
20	135,72	124,34	55,67	63,25
25	137,46	123,31	59,80	60,70
30	129,38	118,81	62,30	56,40
35	128,82	117,88	73,87	53,90
40	139,44	119,07	72,17	54,01
45	146,76	118,62	64,12	50,45
50	147,42	113,95	69,82	46,33
55	141,68	117,54	62,13	46,23
60	132,96	110,51	52,00	43,14

Na figura 27 observa-se o perfil de degradação da AMX e CFX em urina ao longo do tempo de detenção (60 min).

Figura 27. Remoção de AMX e CFX por UV em urina armazenada e fresca.



A eficiência de remoção de cada antibiótico foi determinada através das concentrações iniciais (T_0 min) e finais (T_{60} min) obtidas ao longo do processo de fotólise. A equação para o cálculo da eficiência de remoção está apresentada a seguir:

$$E\% = (C_i - C_f) / C_i * 100 \quad Eq.(1)$$

Deste modo, tem-se que a eficiência de remoção da AMX em urina armazenada é igual a 6,08% enquanto que em urina fresca é 8,3%. Para a CFX os valores foram de 34,74% em urina armazenada e 38,70% em urina fresca.

Em termos de eficiência de remoção a urina fresca apresentou a maior eficiência de remoção. Tal fato possivelmente está relacionado às diferenças entre as urinas, decorrentes do processo de armazenamento, como cor e sólidos suspensos.

5.4 ENSAIO COM H_2O_2/UV

Todas as concentrações obtidas durante o ensaio ($T_0 = 0$ minutos; $T_1 = 5$ min; $T_2 = 10$ min; $T_3 = 15$ min; $T_4 = 20$ min; $T_5 = 25$ min; $T_6 = 30$ min; $T_7 = 35$ min; $T_8 = 40$ min; $T_9 = 45$ min; $T_{10} = 50$ min; $T_{11} = 55$ min; e $T_{12} = 60$ min) de remoção de AMX e CFX em urina armazenada e fresca, nas cinco concentrações de peróxido de hidrogênio (14,5; 29,0; 58,0; 464,0; 928,0 $mg.L^{-1}$) estão expressas nas tabelas 14, 15 e 16 para AMX e nas tabelas 17, 18 e 19 para CFX. Os resultados estão expressos através de média, desvio padrão e coeficiente de variação (CV%), sendo aceito os resultados cujo CV estejam abaixo de 20%.

Tabela 14. Concentrações de AMX obtidas ao logo dos tempos de coleta nos ensaios com 14,5; 29,0 e 58,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ em urina armazenada

Tempo (min)	Remoção da AMX em urina Armazenda (pH 9,33)								
	Concentração de H ₂ O ₂ 14,5 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 29,0 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 58,0 mg.L ⁻¹		
	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%
0	146,42	10,41	7,11	128,56	16,75	13,02	177,09	18,09	10,21
5	142,21	9,62	6,76	126,19	14,08	11,16	159,8	22,03	13,79
10	136,42	14,31	10,49	114,44	8,94	7,81	154,37	2,12	1,38
15	142,55	8,06	5,65	113,4	6,15	5,42	135,83	9,12	6,71
20	134,84	16,25	12,05	107,84	3,84	3,57	134,93	16,24	12,03
25	138,74	7,27	5,24	111,18	2,35	2,12	130,00	7,68	5,91
30	126,00	7,68	6,10	112,72	25,24	22,39	141,19	17,67	12,51
35	124,11	6,11	4,93	111,09	4,02	3,61	131,6	18,73	14,23
40	128,53	12,77	9,39	112,75	14,84	13,17	124,16	5,36	4,32
45	126,48	7,91	6,25	106,16	15,62	14,72	132,05	3,67	2,79
50	128,29	3,89	3,03	105,16	13,59	12,93	130,93	7,28	5,56
55	122,02	12,32	10,1	102,73	10,69	10,46	124,54	16,66	13,38
60	107,55	1,22	1,13	92,69	6,33	6,83	124,98	4,66	3,72

Observação: Média, desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (CV) foram obtidos a partir de 5 séries de repetições de cada ensaio nas concentrações de H₂O₂ avaliadas.

Tabela 15. Concentrações de AMX obtidas ao longo dos tempos de coleta nos ensaios com 14,5; 29,0 e 58,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ em urina fresca.

Tempo (min)	Remoção da AMX em urina Fresca (pH 5,83)								
	Concentração de H ₂ O ₂ 14,5 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 29,0 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 58,0 mg.L ⁻¹		
	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%
0	111,95	5,58	4,98	155,11	9,03	5,83	149,42	10,41	7,11
5	111,27	4,4	3,96	153,61	20,1	13,08	142,21	9,62	6,76
10	111,82	6,23	5,58	156,38	9	5,75	136,42	14,31	10,49
15	110,16	1,89	1,72	153,2	4,45	2,9	142,55	8,06	5,65
20	103,24	5,48	5,31	150,86	6	3,98	134,84	16,25	12,05
25	103,49	2,77	2,68	140,55	0,32	0,23	138,74	7,27	5,24
30	105,4	6,84	6,49	140,47	3,06	2,18	126	7,68	6,1
35	104,01	9,49	9,12	137,23	4	2,91	124,11	6,11	4,93
40	102,62	9,91	9,65	138,33	15,75	11,38	128,53	12,77	9,39
45	102,8	2,2	2,14	136,86	13,1	9,57	126,48	7,91	6,25
50	96,63	1,81	1,87	136,5	12,91	9,46	128,29	3,89	3,03
55	101,37	1,69	1,67	137,67	11,81	8,58	122,02	12,32	10,1
60	99,66	8,85	8,88	135,37	3,08	6,71	107,55	1,22	1,13

Observação: Média, desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (CV) foram obtidos a partir de 5 séries de repetições de cada ensaio nas concentrações de H₂O₂ avaliadas.

Tabela 16. Concentrações de AMX obtidas ao logo dos tempos de coleta nos ensaios com 464,0 e 928,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ em urina armazenada e fresca.

Tempo (min)	Remoção da AMX em urina Armazenada (pH 9,33)					
	Concentração de H ₂ O ₂ 464,0 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 928,0 mg.L ⁻¹		
	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%
0	117,7	4,26	0,036	132,28	18,77	0,14
5	112,06	21,22	0,19	121,22	11,84	0,098
10	109,37	11,8	0,11	120,88	25,93	0,21
15	108,59	4,98	0,05	116,85	20,23	0,17
20	107,8	27,69	0,26	109,25	13,02	0,12
25	87,99	1,02	0,012	92,52	4,76	0,05
30	84,78	12,69	0,15	81,64	0,12	0,001
35	78,13	12,3	0,16	79,91	5,78	0,07
40	75,98	2,1	0,03	77,08	1,02	0,01
45	72,9	1,58	0,02	56,84	11,04	0,19
50	68,14	0,77	0,01	55,16	7,73	0,14
55	60,29	7,44	0,12	50,64	8,24	0,16
60	56,2	2,58	0,05	29,14	1,61	0,06
Remoção da AMX em urina Fresca (pH 5,83)						
0	99,32	12,93	13,21	119,58	7,98	6,68
5	94,6	5,33	5,63	109,9	3,64	3,31
10	94,26	8,56	9,09	98,33	12,07	12,28
15	98,33	9,59	9,75	82,66	9,92	12
20	90,93	6,84	7,52	89,5	12,7	14,19
25	86,07	6,42	7,47	90,9	2,4	2,63
30	84	14,92	17,76	84,9	0,24	0,28
35	66,02	8,77	13,28	85,59	0,64	0,75
40	61,35	2,09	3,4	76,1	3,3	4,34
45	62,1	0,92	1,49	72,05	2,81	3,9
50	59,62	6,61	11,01	69,49	0,66	0,96
55	57,82	4,077	7,04	69,51	2,85	4,1
60	52,38	5,28	10,81	65,13	7,89	12,11

Observação: Média, desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (CV), obtidos a partir de três séries de repetições de cada ensaio nas concentrações de H₂O₂ avaliadas.

As médias das concentrações de AMX para cada ensaio nas diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio em urina armazenada e fresca foram submetidas ao tratamento estatístico.

Através desta análise foi possível perceber que não há diferença estatística entre se tratar a urina armazenada e fresca reforçada com AMX para as concentrações de 928,0 e 464,0 mg.L⁻¹ de peróxido ($p = 0,90665$ e $p=0,22910$) Para as demais concentrações 58,0; 29,0 e 14,5 mg.L⁻¹ de H₂O₂ percebeu-se que há diferença ($p = 0,00001$ e $p = 0,00002$) estatística quando se utiliza estas concentrações.

Tabela 17. Concentrações de CFX obtidas ao longo dos tempos de coleta nos ensaios com 14,5; 29,0 e 58,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ em urina armazenada.

Tempo (min)	Remoção da CFX em urina Armazenada (pH 9,33)								
	Concentração de H ₂ O ₂ 14,5 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 29,0 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 58,0 mg.L ⁻¹		
	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%
0	78,56	8,08	10,29	62,51	1,62	2,59	55,59	9,44	16,99
5	79,94	5,63	7,04	65,87	11	16,68	48,76	6,77	13,90
10	73,28	10,38	14,18	55,97	3,08	5,50	39,14	8,20	20,95
15	73,91	10,70	14,48	54,19	3,74	6,41	39,45	6,94	17,61
20	69,44	9,59	13,81	49,56	5,11	10,31	41,30	8,12	19,67
25	66,42	11,95	18,00	47,55	3,96	8,34	40,40	5,33	13,19
30	73,31	8,99	12,26	46,75	3,42	7,33	37,37	6,38	17,06
35	69,49	8,71	12,53	43,89	3,05	6,96	31,32	1,66	5,30
40	53,08	7,08	13,34	42,82	3,97	9,27	33,17	5,07	15,28
45	54,33	6,17	11,36	39,67	6,12	15,43	36,27	4,52	12,45
50	45,02	3,85	8,55	37,95	4,35	11,48	29,15	2,91	9,98
55	44,66	8,23	18,43	34,29	3,67	9,53	30,25	4,57	15,09
60	38,05	6,14	16,14	27,96	3,12	11,16	23,31	3,58	15,39

Observação: Média, desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (CV) foram obtidos a partir de 5 séries de repetições de cada ensaio nas concentrações de H₂O₂ avaliadas.

Tabela 18. Concentrações de AMX obtidas ao logo dos tempos de coleta nos ensaios com 14,5; 29,0 e 58,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ em urina fresca.

Tempo (min)	Remoção da CFX em urina Fresca (pH 5,83)								
	Concentração de H ₂ O ₂ 14,5 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 29,0 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 58,0 mg.L ⁻¹		
	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%
0	79,86	3,35	4,20	89,86	9,31	9,25	86,78	10,9	12,56
5	78,39	3,21	4,10	86,22	5,07	5,88	79,94	5,63	7,04
10	77,02	5,68	7,38	84,05	5,91	7,03	73,28	10,39	14,18
15	76,97	4,74	6,16	83,48	5,19	6,22	73,91	10,70	14,48
20	69,10	4,65	6,73	80,5	6,73	8,36	69,44	9,59	13,81
25	67,01	4,02	6,00	72,99	3,32	4,55	66,42	11,95	18,00
30	65,8	4,53	6,88	71,89	4,92	6,85	73,31	8,99	12,26
35	62,27	10,75	17,26	65,12	1,88	2,89	69,49	8,71	12,53
40	60,96	5,93	973	64,65	3,23	5,00	53,08	7,08	13,34
45	59,77	1,99	3,34	64,25	2,80	4,36	54,33	6,17	11,36
50	58,12	1,89	3,26	63,63	2,70	4,24	45,02	3,85	8,55
55	58,44	3,02	5,16	61,56	7,07	11,48	44,66	8,23	18,43
60	53,73	4,62	8,6	60,98	7,51	12,31	38,05	6,14	16,14

Observação: Média, desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (CV) foram obtidos a partir de 5 séries de repetições de cada ensaio nas concentrações de H₂O₂ avaliadas.

Tabela 19. Concentrações de CFX obtidas ao logo do tempo de coleta nos ensaios com 464,0 e 928,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ em urina armazenada e fresca.

Tempo (min)	Remoção da CFX em urina armazenada (pH 9,33)					
	Concentração de H ₂ O ₂ 464 mg.L ⁻¹			Concentração de H ₂ O ₂ 928,0 mg.L ⁻¹		
	Média	DP	CV%	Média	DP	CV%
0	54,65	3,70	6,76	69,71	4,25	6,10
5	53,60	5,70	10,64	69,93	13,87	19,83
10	57,33	10,32	18,01	62,4	4,49	7,20
15	55,98	10,07	18,00	57,53	7,73	13,44
20	50,16	0,06	0,12	53,20	9,00	16,92
25	41,69	6,71	16,1	55,07	5,55	10,08
30	40,09	3,58	8,93	40,55	3,86	9,52
35	28,20	4,80	17,03	34,96	4,24	12,14
40	29,52	2,93	9,94	33,85	5,29	15,65
45	24,57	0,99	4,04	34,45	4,76	13,84
50	16,11	0,06	0,37	32,68	2,89	8,83
55	14,95	1,62	10,85	32,86	5,97	18,16
60	14,63	1,32	8,99	17,08	0,47	2,74
Remoção da CFX em urina Fresca(pH 5,83)						
0	81,10	2,29	3,56	71,64	4,41	5,90
5	77,62	5,64	7,27	67,66	4,21	6,22
10	72,84	1,26	1,73	57,56	5,61	9,75
15	75,00	0,06	0,08	52,61	0,62	1,18
20	69,20	4,16	6,02	49,18	4,18	8,49
25	52,41	4,48	8,54	46,35	2,60	5,65
30	45,78	8,55	18,68	44,58	0,91	2,05
35	40,05	1,80	4,50	40,96	0,95	2,32
40	35,80	3,68	10,28	34,76	1,36	3,93
45	33,36	2,42	7,24	32,56	0,89	2,73
50	27,67	2,1	7,60	28,8	2,53	8,81
55	25,71	0,12	0,47	27,28	2,37	8,68
60	25,58	0,52	2,04	15,43	2,14	13,89

Observação: Média, desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (CV) foram obtidos a partir de três séries de repetições de cada ensaio nas concentrações de H₂O₂ avaliadas.

As médias das concentrações de CFX para cada ensaio nas diferentes concentrações de H_2O_2 em urina armazenada e fresca foram tratadas estatisticamente.

Quando a análise estatística foi realizada em urina armazenada reforçada com CFX percebeu-se que para as quatro maiores concentrações de peróxido de hidrogênio (928,0 e 464,0 58,0 e 29,0 mg.L^{-1}) utilizadas não houve diferença estatística ($p=0,20014$).

Ao se analisar a urina fresca constatou-se que não há diferenças entre se utilizar as três maiores concentrações de peróxido de hidrogênio (928,0 e 464,0 58,0 mg.L^{-1}) ($p=0,22439$) e para as 2 menores concentrações (14,5 e 29,0 mg.L^{-1}) avaliadas também não existem diferenças entre si ($p=0,1185$). Entretanto utilizar uma das três maiores concentrações é diferente de se utilizar as duas menores concentrações neste tipo de tratamento empregado.

Uma vez determinada as concentrações de AMX e CFX nos ensaios realizados, plotou-se um gráfico de remoção da AMX e CFX ao longo do tempo do experimento (60 min). Na Figura 28 visualiza-se o perfil de remoção da AMX em urina armazenada e fresca. Na figura 29 vê-se a degradação da CFX também em urina armazenada e fresca.

Figura 28. Remoção da Amoxicilina em urina armazenada e urina fresca nas cinco diferentes concentrações de H_2O_2 avaliadas.

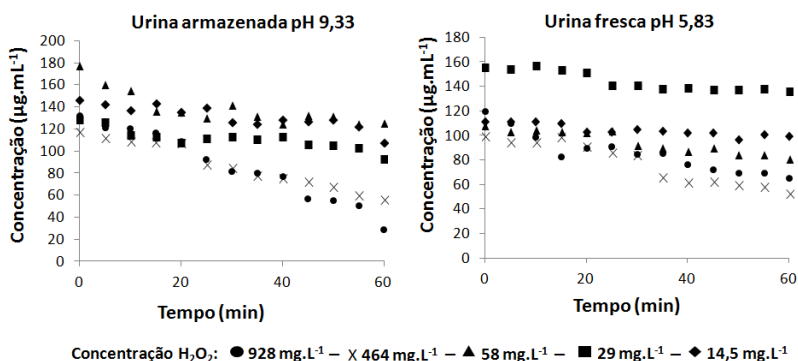
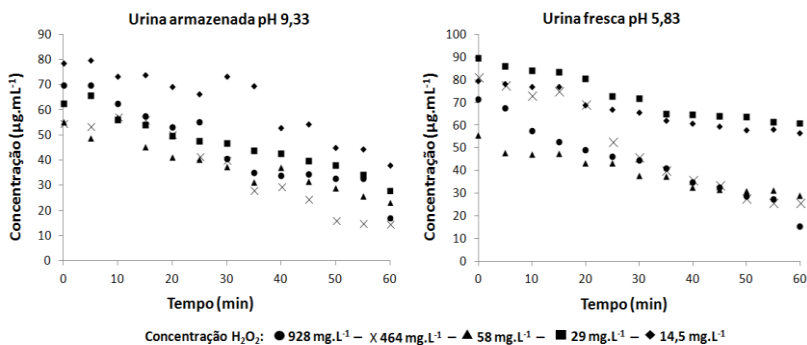


Figura 29. Remoção da Cefalexina em urina armazenada e urina fresca nas cinco diferentes concentrações de H_2O_2 avaliadas.



Através dos gráficos foi possível determinar as equações de reta e os coeficientes de correlação para cada uma das concentrações utilizadas. A tabela 20 e na tabela 21 são apresentadas as equações de reta e os respectivos coeficientes de correlação.

Tabela 20. Equação de reta e coeficiente de correlação da remoção de AMX em urina armazenada/fresca em cinco concentrações de H_2O_2 .

Conc. H_2O_2 mg.L ⁻¹	Remoção AMX em urina armazenada (pH 9,33)		Remoção AMX em urina fresca (pH 5,83)	
	Equação de Reta	r^2	Equação de Reta	r^2
14,5	$y = -0,2273x + 111,77$	0,8117	$y = -0,4859x + 145,67$	0,803
29,0	$y = -0,3902x + 155,72$	0,8397	$y = -0,4194x + 123,73$	0,7742
58,0	$y = -0,4673x + 111,23$	0,8843	$y = -0,6747x + 158,82$	0,685
464,0	$y = -0,8703x + 103,56$	0,9198	$y = -1,0696x + 119,78$	0,9665
928,0	$y = -0,778x + 109$	0,8685	$y = -1,6391x + 135,59$	0,9739

Tabela 21. Equação de reta e coeficiente de correlação da remoção de CFX em urina armazenada/fresca em cinco concentrações de H₂O₂.

Conc. H ₂ O ₂ mg.L ⁻¹	Remoção CFX em urina armazenada (pH 9,33)		Remoção CFX em urina fresca (pH 5,83)	
	Equação de Reta	r ²	Equação de Reta	r ²
14,5	y = -0,822x + 70,374	0,9349	y = -0,8226x + 68,476	0,9724
29,0	y = -0,8212x + 61,672	0,9364	y = -1,0741x + 83,155	0,9509
58,0	y = -0,3968x + 49,248	0,828	y = -0,4212x + 52,445	0,9456
464,0	y = -0,5472x + 63,262	0,958	y = -0,5225x + 88,69	0,9412
928,0	y = -0,6823x + 83,507	0,8785	y = -0,4262x + 79,729	0,9465

Uma vez conhecidos as equações de reta e coeficiente de correlação, determinou-se a eficiência de remoção de cada um dos antibióticos em urina fresca e armazenada.

As eficiências de remoção alcançadas para AMX e CFX em diferentes concentrações de H₂O₂ para a urina armazenada e fresca estão expressas na tabela 22. Para o cálculo da eficiência de remoção utilizou-se a equação 1, já exibida anteriormente.

Tabela 22. Eficiências obtidas para a remoção de AMX e CFX em urina armazenada e fresca.

Conc. H ₂ O ₂ mg.L ⁻¹	Eficiência de remoção AMX %		Eficiência de remoção CFX %	
	Urina armazenada	Urina fresca	Urina armazenada	Urina fresca
14,5	26,54	10,98	51,57	29,19
29,0	27,90	12,74	55,27	32,14
58,0	29,43	28,02	58,07	47,9
464,0	52,25	47,26	73,22	68,46
928,0	77,97	45,53	75,49	78,46

Alguns trabalhos tem se destinado a avaliar a remoção de AMX e CFX em diferentes matrizes e por diferentes técnicas. Entretanto a comparação com eles fica comprometida, pois pesquisas que avaliem a remoção de AMX e CFX da matriz urina são escassos. Na tabela 23 buscou-se comparar as eficiências de remoções atingidas neste trabalho para a remoção dos dois antibióticos com outras pesquisas.

Tabela 23. Eficiência de remoção da AMX e CFX obtidas em diferentes matrizes e tipos de tratamento.

ATB	Eficiência de remoção	Matriz	Tipo de tratamento	Condições do tratamento	Referência
AMX e CFX	77,95% ¹ e 45,53% ² para AMX; 78,46% ¹ e 75,49% ² para CFX	Urina armazenada e fresca	H ₂ O ₂ /UV	Concentração AMX: 120 mg.L ⁻¹ ; Concentração CFX: 60 mg.L ⁻¹ ; Concentração H ₂ O ₂ : 928 mg.L ⁻¹ Duração tto: 60 min	Este trabalho
AMX	97.87%	Solução aquosa	foto-Fenton	Duração tto: 20 min; Dose H ₂ O ₂ : 48,62 ppm; Dose AMX: 40 ppm Dose catalizador: 2,24g	AYODELE, AUTA, NOR, 2012
CFX	20% , 40% , 65% e 100% p/ as respectivas doses de O ₃ testadas	Esgoto	O ₃ /UV	Dose de solução O ₃ : 0,5; 1,0; 1,5; 3,0; 5,0 mg.L ⁻¹	DODD, RBUFFLE, URSVONGUNTEN, 2006
AMX e CFX	90% para AMX e 95,3% para CFX	Esgoto	Biológico	2 reatores anaeróbios seguidos por 4 reatores aeróbios; Concentração inicial AMX: 0,50±0,46µg.L ⁻¹ ; Concentração inicial CFX: 0,64±0,32 µg.L ⁻¹	DENG <i>et al</i> , 2012
AMX	100%	Esgoto doméstico	foto-Fenton	A eficiência está atrelada ao aumento da concentração de H ₂ O ₂ Concentração de de AMX 42mg.L ⁻¹	TROVÓ <i>et al</i> , 2008.
AMX	100%	Água deionizada	O ₃ /UV	Concentração AMX: 5X 10 ⁻⁴ M; Dose de O ₃ : 1,6X10 ⁻⁴ M; pH: 2,5e7,2	ANDREOZZI <i>et al</i> , 2005

Legenda: ¹=Urina armazenada; ²= Urina fresca

As eficiências de remoção atingidas nos estudos compiladas na tabela 23 foram maiores do que as obtidas no presente trabalho, entretanto para dois deles a matriz avaliada é água. Neste estudo serão expressos ainda, os resultados das eficiências de remoção atingidas quando se submeteu amostras de água reforçadas com AMX e CFX ao POA por H_2O_2/UV .

Os demais trabalhos listados na tabela 22 avaliam a matriz esgoto (matriz tão complexa quanto urina), porém eles utilizam técnicas mais dispendiosas se comparadas ao POA por H_2O_2/UV .

Uma vez determinada a eficiência de remoção para a AMX e CFX pode-se correlacionar as concentrações de H_2O_2 avaliadas nos diferentes ensaios com as eficiências obtidas. A figura 30 e 31 apresenta a correlação destes dois parâmetros.

Figura 30. Eficiências de remoção da AMX em urina armazenada (pH 9,33) e urina fresca obtidas a partir das concentrações de $14,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de H_2O_2 ; $29,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de H_2O_2 ; $58,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de H_2O_2 ; $464,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de H_2O_2 e $928,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de H_2O_2 ;

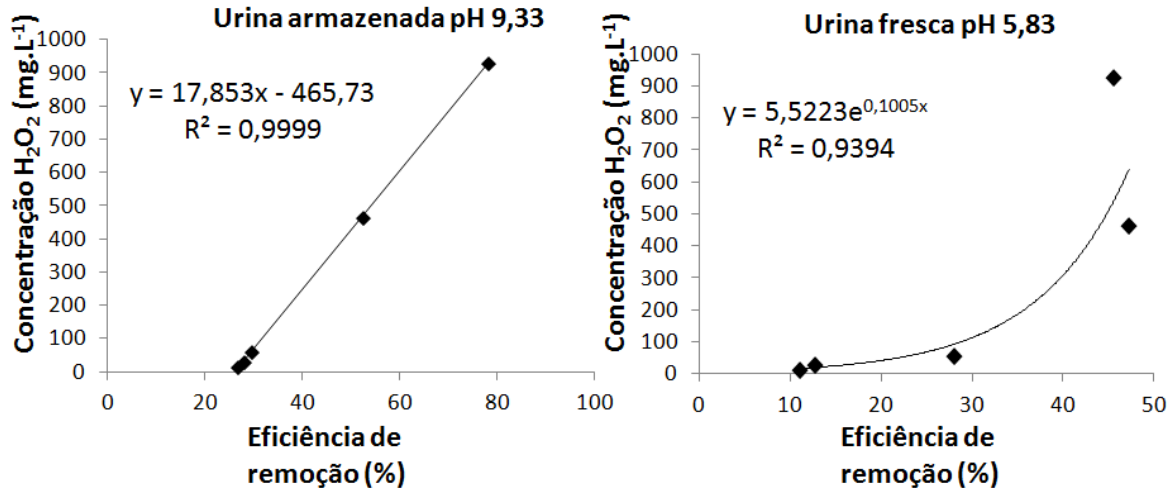
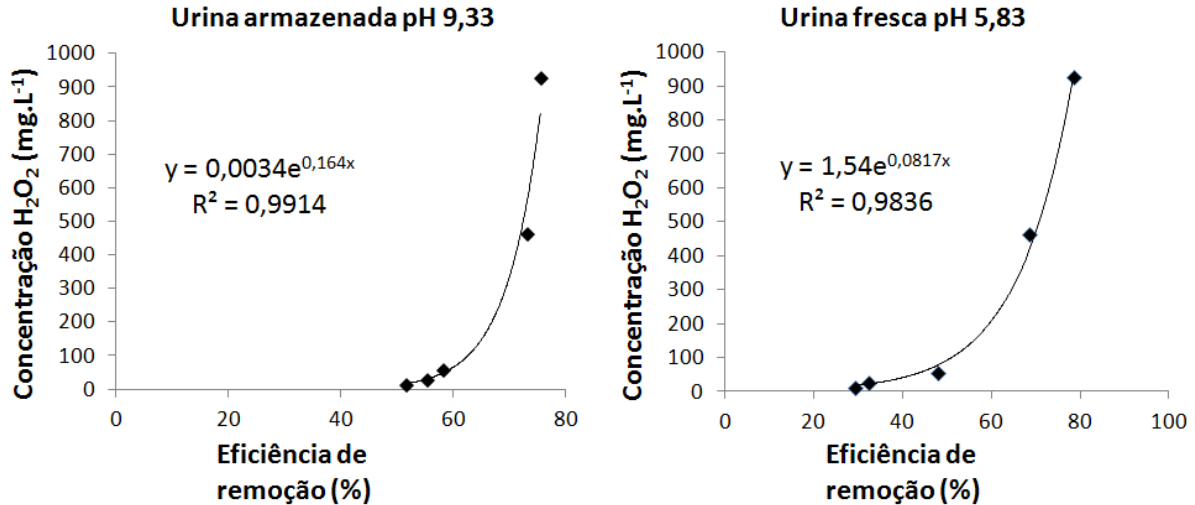


Figura 31. Eficiências de remoção da CFX em urina armazenada (pH 9,33) e urina fresca obtidas a partir das concentrações de 14,5 mg.L⁻¹ de H₂O₂; 29,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂; 58,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂; 464,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ e 928,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂.



Observando-se os gráficos e suas equações de reta percebe-se excelente correlação para ambos os antibióticos. Deste modo pode-se estimar a concentração de peróxido de hidrogênio necessária para alcançar uma eficiência de remoção igual a 100%. A concentração de H_2O_2 estimada para uma eficiência de remoção de 100% em urina armazenada e fresca é de $1,32 \text{ g.L}^{-1}$ e $200,5 \text{ g.L}^{-1}$ para AMX e de $45,07 \text{ g.L}^{-1}$ e $5,44 \text{ g.L}^{-1}$ para CFX.

Analisando-se o perfil do gráfico obtido pela eficiência versus tempo, nota-se que o POA por H_2O_2/UV em urina é mais eficiente quando se utiliza baixas concentrações de peróxido de hidrogênio levando-se em consideração as concentrações de AMX ($120 \mu\text{g.L}^{-1}$) e CFX ($60 \mu\text{g.L}^{-1}$) utilizadas nos ensaios.

Os parâmetros que determinam a eficiência dos POAs são: estrutura do composto orgânico, a concentração de peróxido de hidrogênio e dos catalisadores, o comprimento de onda e a intensidade da radiação UV, o pH da solução inicial e o tempo de contato da reação (SEGNEANU et al. 2013).

À medida que as concentrações de peróxido são aumentadas a eficiência de remoção não acompanha o aumento da mesma forma, exceto para a AMX em urina armazenada, que obteve um gráfico linear. Segundo, Reynoso et al, 2012, a AMX possui um grupamento fenólico na sua estrutura (ver figura 8), portanto a sua remoção é altamente dependente do grau de ionização do grupamento $-OH$. A proporção kr/kt (kr = constante cinética decorrente da interação física entre as moléculas e kt = constante cinética obtida da interação química) indica que em pH alcalino a degradação química é mais eficiente em comparação com menores pHs. Isto porque com base no equilíbrio ácido-base da AMX ($pKa_1 = 2,4$, $pKa_2 = 7,4$ e $pKa_3 = 9,6$) em pH próximo de 10 mais da metade das moléculas de AMX apresentam $-OH$ ionizados. Como o pH da urina armazenada é 9,33 as moléculas de AMX provavelmente se encontram nesta configuração.

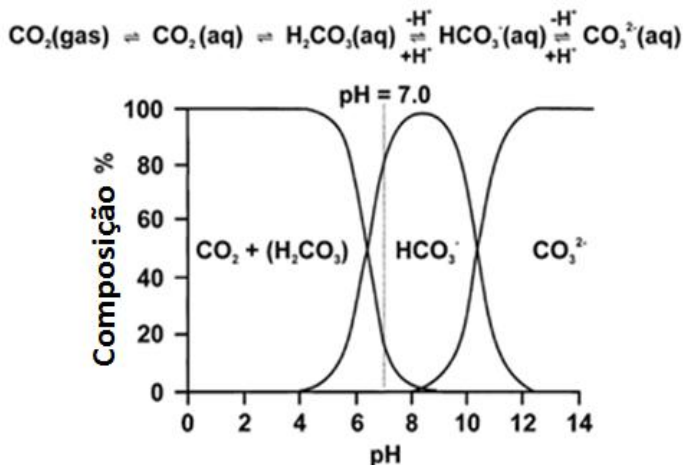
Para as demais correlações os gráficos foram exponenciais. Deste modo, quando se estima as concentrações de H_2O_2 necessárias para que a eficiência de 100% seja atingida tem-se um valor elevado para remoção da AMX em urina fresca e para CFX em urina armazenada/fresca, tais valores podem inviabilizar o processo.

Isto pode estar ocorrendo porque a urina é uma solução rica em íons e à medida que se eleva a concentração do peróxido de hidrogênio se evidencia o efeito “*scavenging*”, ou seja, o sequestro do radical $\cdot OH$ principalmente pelo sistema carbonato/bicarbonato. Os radicais hidroxil

não são seletivos, reagindo com diferentes compostos. A quantidade de radicais hidroxil formados no decorrer do POA é um fator limitante (WOLS e CARIS, 2012).

A figura 32 ilustra a especiação das formas do carbono nos diferentes pHs.

Figura 32. Diagrama especiação de carbono nos diferentes pHs.



Através da figura 33 é possível perceber as espécies de carbono dominantes no pH da urina armazenada (9,33) e fresca (5,83).

Devido às elevadas concentrações necessárias para que a eficiência de 100% fosse atingida seria importante estimar uma quantidade mínima desses antibióticos que poderiam adentrar ao meio ambiente, sem que problemas relacionados à resistência microbiana fossem observados.

Para isso seria importante estimar quais concentrações de AMX e CFX podem influenciar o mecanismo de resistência. O estudo realizado por Oberlé *et al*, 2012, buscou relacionar a presença (concentração) de antibióticos, dentre eles a AMX e CFX, em diferentes pontos de análise (entrada e saída da ETE do hospital e ao longo de um rio ao noroeste da França) com a resistência microbiana a estes antibióticos. Para isto foi avaliada a resistência microbiana em amostras que continham bactérias *E.coli* isoladas dos mesmos pontos de análise. O estudo comprovou que a resistência microbiana aos antibióticos foi maior nos pontos de amostragem em que as concentrações dos antibióticos foram mais elevadas.

Huang et al, 2011, buscou identificar se bactérias heterótrofas presentes no efluente de uma ETE na China eram resistentes a penicilina, ampicilina, cefalotin e cloranfenicol (antibióticos pertencentes a classe de β -lactâmicos assim como AMX e CFX). Para isso utilizou um o índice de relação IC_{50}/MIC (IC_{50} = concentração de antibiótico necessária para inibir 50% do total de bactérias heterotróficas em comparação com o valor da maior concentração inibitória mínima de um grupo de agentes patogênicos de acordo com um antibiótico específico, tal como definido pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*). Os valores obtidos foram >2 , >1 , >1 , e 1.08, para penicilina, ampicilina, cefalotin e cloranfenicol. Os resultados deste trabalho revelam um nível elevado de bactérias heterotróficas encontradas em efluentes que são resistentes a esses cinco antibióticos.

Cunningham and e Shinlin, 2010, comprovaram pela primeira vez que níveis de AMX $< 100 \text{ mg.L}^{-1}$ poderiam induzir a tolerância das bactérias aos íons de prata, conferindo assim resistência a elas.

Tais estudos evidenciam a necessidade de se identificar e quantificar uma faixa de concentração limítrofe entre a “indução” e “não – indução” dos mecanismos de resistência para os antibióticos levando-se em consideração ainda, as características genéticas de cada microorganismos.

As maiores eficiências de remoção a para a AMX foram alcançadas quando se utilizou as concentrações mais elevadas de H_2O_2 (928 e 464 mg.L^{-1}) em urina armazenada, sendo a média das eficiências 65,1% .

Quando se analisa as eficiências obtidas para a CFX percebe-se que não há uma diferença significativa entre as remoções alcançadas tanto em pH básico e ácido. Tal fato se deve provavelmente porque a CFX trata-se de um fármaco de caráter anfótero, comporta-se como base ou ácido. A reatividade da CFX em $\text{pH} < 7$ (urina fresca) parece estar associada a oxidação de suas duplas ligações ou ao tioéter (ver figura 7). Em $\text{pH} > 7$ a reatividade provavelmente é regida pela amina primária ($\text{pKa } 7,3$) (DODD; BUFFLE; GUNTEN, 2006). Neste caso torna-se complicado estimar qual é o melhor pH para remoção da CFX sendo necessários outros tipos de correlação.

Uma maneira de se estimar o melhor pH é correlacionar a constante cinética (k) com as concentrações de peróxido de hidrogênio utilizadas em urina armazenada (pH 9,33) e fresca (pH 5,83).

A constante cinética foi calculada para ambos os antibióticos a partir de um modelo cinético de pseudo-primeira ordem dado pela equação:

$$-\ln [X]/[X_0] = k.t \quad \text{Eq. (2)}$$

Sendo, $[X]$ = concentração final de AMX ou CFX (após os 60 min de tratamento); $[X_0]$ = concentração de AMX ou CFX quantificada antes do POA; k = constante cinética e t = tempo.

A tabela 24, expressa os valores de k para a AMX e CFX obtidos nos diferentes ensaios.

Tabela 24. Valores de k para AMX e CFX nas cinco concentrações de H_2O_2 para urina armazenada e fresca.

Conc. H_2O_2 $mg.L^{-1}$	k AMX ($segundo^{-1}$)		k (CFX ($segundo^{-1}$))	
	Urina armazenada	Urina fresca	Urina armazenada	Urina fresca
14,5	$5,00 \times 10^{-5}$	$3,33 \times 10^{-5}$	$2,23 \times 10^{-4}$	$1,15 \times 10^{-4}$
29,0	$6,83 \times 10^{-5}$	$5,00 \times 10^{-5}$	$1,70 \times 10^{-4}$	$1,13 \times 10^{-4}$
58,0	$7,50 \times 10^{-5}$	$8,17 \times 10^{-5}$	$2,22 \times 10^{-4}$	$1,18 \times 10^{-4}$
464,0	$2,00 \times 10^{-4}$	$2,35 \times 10^{-5}$	$4,62 \times 10^{-4}$	$3,55 \times 10^{-4}$
928,0	$2,93 \times 10^{-4}$	$1,67 \times 10^{-5}$	$4,02 \times 10^{-4}$	$2,92 \times 10^{-4}$

Através dos dados da tabela 24 fez-se a correlação das constantes cinéticas (k) com as cinco diferentes concentrações testes, em urina armazenada e fresca. As figuras 33 e 34 expõem os gráficos bem como as referidas equações de reta e r^2 , para AMX e CFX.

Figura 33. k versus concentração de peróxido de hidrogênio para AMX em urina armazenada (pH 9,33) e fresca pH (5,83).

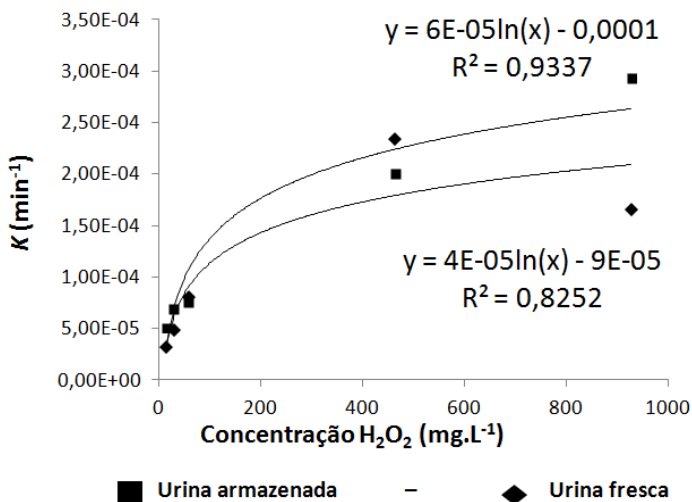
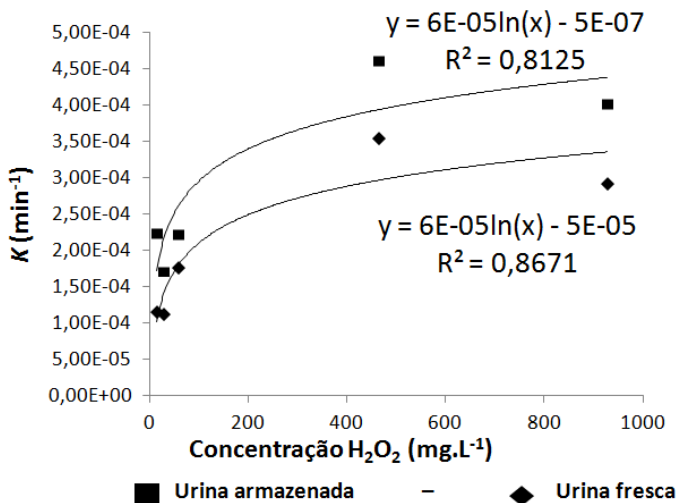


Figura 34. k versus concentração de peróxido de hidrogênio para CFX em urina armazenada (pH 9,33) e fresca pH (5,83).



Observando-se os gráficos e suas respectivas equações de reta percebe-se que urina armazenada (pH 9,33) possui melhor correlação 0,9337 do que urina fresca 0,8252, já para a CFX a urina fresca obteve o melhor correlação 0,8671 enquanto que para urina armazenada foi de 0,8125.

Deste modo percebe-se que o pH alcalino é melhor na remoção de AMX e o pH ácido para remoção da CFX, entretanto para este ultimo antibiótico o pH da urina (armazenada e fresca) não parece ser um fator limitante no POA por H_2O_2/UV .

5.5 DETERMINAÇÃO DQO; $N-NH_4^+$ $P-PO_4^{3-}$

O H_2O_2 por se tratar de um oxidante não seletivo pode promover a oxidação de outros compostos presentes na urina, como a matéria orgânica, por exemplo. Devido a elevada quantidade de nutrientes encontrados na urina fez-se necessário pesquisar a influencia do POA sobre a oxidação do N:P e DQO. Os resultados então expressos na tabela 25.

Tabela 25. Nutrientes presentes na urina antes e depois de submetidas ao POA por H_2O_2/UV

Urina armazenada (pH 9,33)						
Concentração H_2O_2	$N-NH_4^+$ (mg.L ⁻¹)		$P-PO_4^{3-}$ (mg.L ⁻¹)		DQO(mg.L ⁻¹)	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
14,5 µg.mL ⁻¹	6556	6813	562	561	15500	14466
29,0 µg.mL ⁻¹	6622	6816	597	573	12300	12000
58,0 µg.mL ⁻¹	6261	6346	595	579	13340	13050
464,0 µg.mL ⁻¹	6333	6012	646	587	12367	12000
928,0 µg.mL ⁻¹	5505	5401	515	508	13110	12860
Urina fresca (pH 5,83)						
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
14,5 µg.mL ⁻¹	1252	1269	290	305	8625	8500
29,0 µg.mL ⁻¹	1230	1255	248	303	7833	6625
58,0 µg.mL ⁻¹	1039	1034	334	370	6900	6300
464,0 µg.mL ⁻¹	2199	1896	501	468	6067	5867
928,0 µg.mL ⁻¹	2272	2138	558	474	6750	6588

O foco desta tabela é demonstrar que o POA não remove os nutrientes presentes da urina após o POA. Sendo assim, não há perdas

de nutrientes que inviabilizem o POA aplicado a remoção de AMX e CFX da urina humana, tendo em vista o saneamento sustentável.

5.6 AVALIAÇÃO DO PERFIL DE DEGRADAÇÃO DE AMX E CFX EM ÁGUA

O perfil de degradação da AMX e CFX em água é apresentado na figura 35 e 36.

Figura 35. Perfil cromatográfico da remoção de AMX (1) e CFX (2) utilizando 928 mg.L^{-1} de H_2O_2 nos tempos de coleta: A = T0 min; B = T15 min; C = T30 min; D = T45 min; E = T60 min. 3 = PI (AMP).

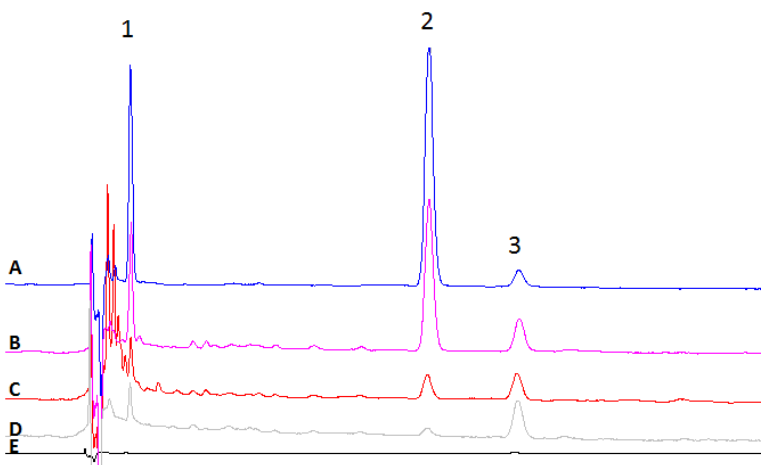
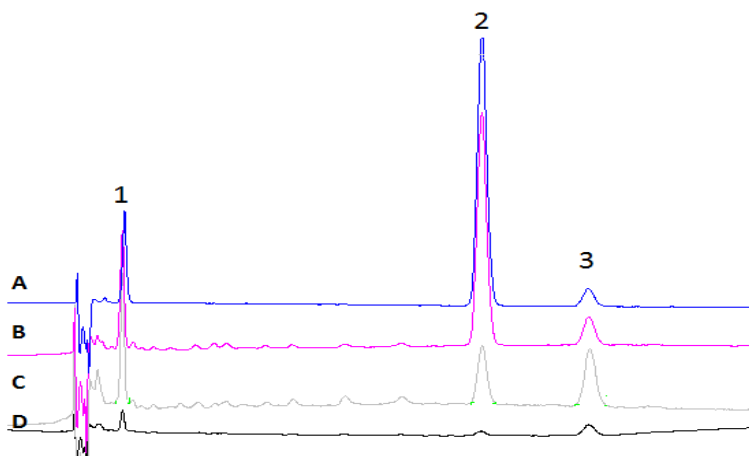


Figura 36. Perfil cromatográfico da remoção de AMX (1) e CFX (2) utilizando 464 mg.L⁻¹ de H₂O₂ nos tempos de coleta: A = T0 min; B = T15 min; C = T45 min; D = T60 min. 3 = PI (AMP).



Nas figuras acima, nota-se que a AMX e CFX foram removidas ao longo do tempo de permanência no reator, alcançando eficiências elevadas para ambos os fármacos, em água e para as duas concentrações de H₂O₂ avaliadas neste ensaio.

Além do mais, para estas condições cromatográficas, não foi observado presença de picos “fantasmas” ao longo da análise, ou seja, a presença de picos cromatográficos que não existiam no início do POA (T0 = 0 min), o que é um indicativo de que as doses de peróxido de hidrogênio utilizadas, 928 mg.L⁻¹ e 464 mg.L⁻¹, são eficazes na remoção dos antibióticos.

Jung et al, 2012, realizaram um ensaio no qual avaliaram a remoção da amoxicilina de soluções aquosas por UV-C e H₂O₂/UV. Neste trabalho entre outras coisas os autores pesquisaram os produtos de degradação decorrentes de ambos os processos. Utilizaram doses de H₂O₂ de 0; 0,4; 2; 3; 4; 5 e 10 mM H₂O₂. Os autores comprovaram através da técnica de cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massas híbrido do tipo *ion trap-time-of flight*, que na concentração mais elevada (10 mM) de peróxido de hidrogênio não foram observados produtos de degradação. Tal achado indica que as doses utilizadas no

presente trabalho 928,0 e 464,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ (equivalentes a 27,30 mM e 13,65 mM respectivamente) foram adequadas a remoção da AMX.

Neste experimento avaliou-se ainda a eficiência de remoção dos dois antibióticos ao longo da sua permanência dentro do reator. As concentrações obtidas estão apresentadas na tabela 26.

Tabela 26. Concentrações de AMX e CFX obtidas durante o POA por H₂O₂/UV em soluções aquosas contem os respectivos antibióticos.

Tempo (min)	Concentração AMX µg.mL ⁻¹		Concentração CFX µg.mL ⁻¹	
	464,0 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂	928,0 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂	464,0 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂	928,0 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂
0	123,58	105,87	72,72	69,36
5	95,53	59,57	62,33	65,02
10	96,48	31,66	45,40	32,45
15	95,2	28,93	39,23	21,8
20	95,51	20,37	39,10	11,6
25	66,68	19,99	18,37	8,57
30	67,9	9,93	14,28	4,48
35	55,05	11,00	9,83	2,24
40	52,3	8,40	7,17	1,31
45	46,28	7,54	4,33	0,82
50	47,4	5,64	3,76	0,59
55	39,04	4,47	2,31	0,59
60	35,15	2,97	1,70	0,34

Uma vez determinadas as concentrações de AMX e CFX ao longo do tratamento calcularam-se as eficiências de remoção para cada fármaco nas duas diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio testadas em água. As eficiências (ver equação 1) alcançadas para AMX foram de 97% e 72% de remoção quando utilizadas as concentrações de 928,0 e 464,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂. Para a CFX os valores foram de 99,51% e 97,66% de eficiência de remoção as respectivas concentrações de H₂O₂ testadas.

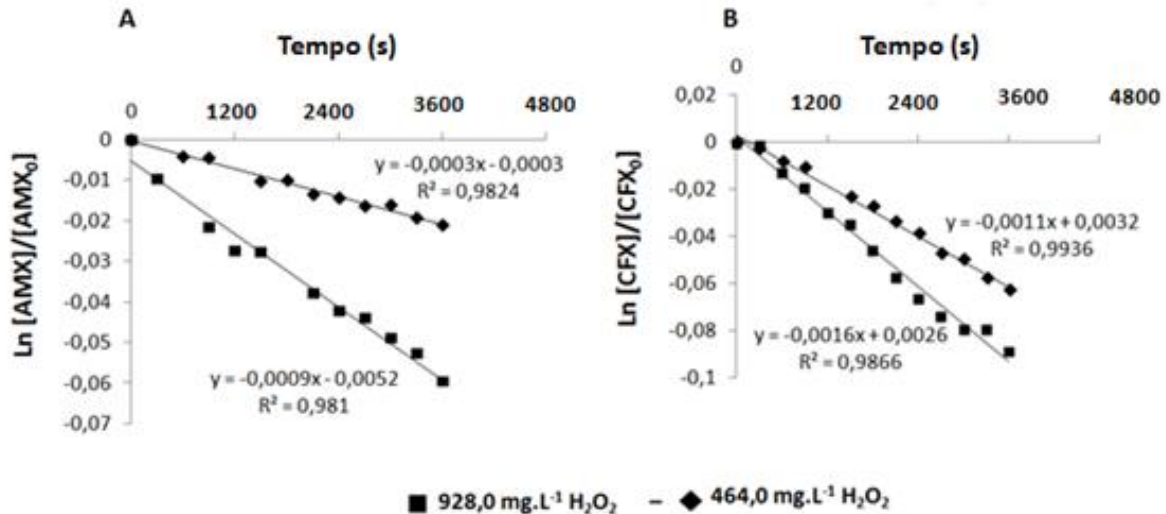
Tais dados se comparados com as eficiências apresentadas na tabela 23 demonstram que o POA por H₂O₂/UV é excelente para a remoção de AMX e CFX de água.

As eficiências foram calculas, embora o método cromatográfico tenha sido validado para a urina, ele foi excelente para a detecção dos fármacos em água. Mesmo que os valores de concentração de AMX e

CFX estejam abaixo do limite de detecção e quantificação para o método validado em urina estes valores foram considerados válidos, devido a existência de picos cromatográficos nos tempos de retenção da AMX e CFX quando avalio-se concentrações menores que o LD e LQ do método.

A figura 37 apresenta os gráficos de $\ln[AMX]/[AMX_0]$ versus tempo e $\ln[CFX]/[CFX_0]$ versus tempo. Através desta relação puderam-se extrair as constantes cinéticas obtidas para AMX e CFX em água nas duas diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio avaliadas.

Figura 37. A = $\text{Ln} [\text{AMX}]/[\text{AMX}_0]$ versus tempo para obtenção dos valores de k da remoção de AMX em água nas concentrações de 464 e 928 de H_2O_2 ; B= $\text{Ln} [\text{CFX}]/[\text{CFX}_0]$ versus tempo para obtenção Gráfico para obtenção dos valores de k da remoção de CFX em água nas concentrações de 464,0 e 928,0 de H_2O_2 .



Os valores de k obtidos para remoção da AMX em água nas concentrações de 928,0 e 464,0 mg.L⁻¹ de H₂O₂ são respectivamente: $k=0,0009\text{ s}^{-1}$ (0,054 min⁻¹) e $k=0,0003\text{ s}^{-1}$ (0,026 min⁻¹). As constantes cinéticas para a CFX nestas mesmas concentrações de peróxido de hidrogênio foram 0,0016 s⁻¹ (0,0956 min⁻¹) e 0,0011 s⁻¹ (0,0645 min⁻¹).

No trabalho realizado por *Elmolla e Chaudhuri b, 2010*, eles avaliaram a remoção de AMX e mais dois antibióticos β-lactâmicos, através da degradação fotocatalítica por UV/H₂O₂/TiO₂ em soluções aquosas. O valor de k para remoção de AMX foi igual a 0,007 min⁻¹. Em outro trabalho, também de 2010, os mesmos autores obtiveram a constante cinética para AMX, igual a 0,018 min⁻¹ utilizando um modelo cinético de pseudo-primeira ordem assim como no primeiro estudo mencionado acima. Porém, neste trabalho utilizou-se o POA com óxido de zinco acoplado a luz ultravioleta (ZnO/ UV) (ELMOLLA E CHAUDHURI A, 2010).

Su et al, 2012, avaliaram a degradação da AMX em soluções aquosas usando radicais sulfatos sob irradiação de ultrassom, para isso eles utilizaram o oxone (2KHSO₅.KHSO₄.K₂SO₄) como fonte dos radicais sulfatos. O tempo de detenção da solução no reator foi de 60 min e o volume do mesmo era de 50 mL, o valor de k para a temperatura de 24°C e 40°C foram de 3,24 X 10⁻² min⁻¹ e 3,93 X10⁻² min⁻¹.

As constantes cinéticas alcançadas neste ensaio evidenciam que o POA por H₂O₂/UV nas condições apresentadas neste estudo é aplicável quando empregado para a remoção de AMX e CFX em água destilada reforçada com o fármaco.

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A avaliação da remoção da AMX e CFX da urina humana, bem como da presença de nutrientes antes e após o Processo Oxidativo Avançado (POA) por $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ frente a cinco diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio foi realizada e obtiveram-se as seguintes conclusões:

- O POA por $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ demonstrou-se adequado para a remoção de AMX e CFX da urina humana;
- Das cinco concentrações de peróxido de hidrogênio avaliadas, as concentrações de 928,0 e 464,0 mg.L^{-1} apresentaram as maiores eficiências de remoção para AMX tanto em urina fresca quanto em urina armazenada;
- Na urina armazenada (pH 9,33) obtiveram-se as melhores eficiências de remoção para a AMX.
- A remoção da CFX em urina armazenada e fresca atingiu boas eficiências, no entanto a utilização da urina fresca (pH 5,83) é ligeiramente melhor para a remoção da CFX do que a urina armazenada (pH 9,33).
- Para a remoção da CFX o pH da urina não parece ser um fator limitante do POA, pois a CFX trata-se de uma molécula de carácter anfótero.
- O aumento da concentração do peróxido de hidrogênio foi linear ao aumento da eficiência de remoção apenas para a AMX em urina armazenada.
- As características físico-químicas da urina (armazenada e fresca) influenciam o POA, principalmente os parâmetros: cor, sólidos suspensos e alcalinidade.
- Não foi observada perda N:P, nem da matéria orgânica decorrente do POA que inviabilize o emprego da mesma tendo em vista o saneamento sustentável.
- O POA por $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ também mostrou-se adequado a remoção de AMX e CFX em água.
- As eficiências de remoção para AMX e CFX em água atingiram valores próximos de 100% para a maior concentração de peróxido de hidrogênio teste (928,0 mg.L^{-1}).

- As condições cromatográficas utilizadas foram adequadas à quantificação e detecção de AMX e CFX em urina.

Recomendações

A avaliação do POA por H_2O_2/UV para a remoção de AMX e CFX da urina humana com vistas ao saneamento ecológico demonstrou ser uma ferramenta promissora para remoção dos mesmos. Entretanto alguns parâmetros podem ser aperfeiçoados para a melhora do processo. Desta forma recomenda-se o sequenciamento da pesquisa científica nos seguintes temas:

- Maiores eficiências de remoção podem ser atingidas quando se faz uso de fontes luminosas mais específicas, sendo assim podem ser realizadas pesquisas com *laser*, lâmpadas de arco de mercúrio de média pressão e lâmpadas de arco de xenônio.
- A configuração do POA por H_2O_2/UV também pode ser aperfeiçoada para que maiores eficiências sejam atingidas. Sendo assim, sugerem-se testes que avaliem a recirculação da urina dentro do reator objetivando que a maior quantidade de urina seja exposta a radiação UV assim como o aumento do tempo de detenção.
- É necessária a compreensão dos mecanismos fotoquímicos que envolvam a degradação da AMX e CFX pelo POA por H_2O_2/UV , para isso recomenda-se a continuação de estudos nesta área.
- Recomenda-se a realização de ensaios toxicológicos para avaliar a urina no que se refere a presença de subprodutos tóxicos decorrentes da degradação da AMX e CFX.
- O POA por H_2O_2/UV demonstrou-se adequado a remoção de AMX e CFX, entretanto estudos que busquem avaliar a perda da atividade antibacteriana dos antibióticos após o tratamento são importantes no que refere a problemática da resistência antimicrobiana.
- Estudos econômicos que levem em consideração os custos com: operação e manutenção do reator, bem como a efetividade do processo no que se refere a dose de H_2O_2 utilizada e energia consumida são fatores importantes para se determinar a eficiência do processo.

- A luz solar é fonte de radiação UV, sendo assim testes com radiação solar tornam-se uma alternativa mais econômica do que o uso de fonte luminosa artificial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKPAN-IDIOKA, A. U.; UDOB, I.A.; BRAIDE, E. I. The use of human urine as an organic fertilizer in the production of okra (*Abelmoschus esculentus*) in South Eastern Nigeria. *Resources. Conservation and Recycling*. n.62, p.14– 20, 2012.

ANDREOZZI, R.; CANTERINO, M.; MAROTTA, R.; PAXEUS, N. Antibiotic removal from wastewaters: The ozonation of amoxicillin. *Journal of Hazardous Materials*. n.122, p. 243–250, 2005.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução** RDC nº 899, de 29 de maio de 2003

APHA – American Public Health Association. Standard methods for the xamination of water and wastewater (1998). 19. ed. Washington: APHA

AUKIDY, M. AL.; VERLICCHI, P.; JELIC, A.; PETROVIC, M.; BARCELÒ, D. Monitoring release of pharmaceutical compounds: Occurrence and environmental risk assessment of two WWTP effluents and their receiving bodies in thePo Valley, Italy. *Science of the Total Environment* . n. 438, p.15–25, 2012.

AYODELE, O. B.; AUTA, H. S.; NOR, N. MD. Artificial Neural Networks, Optimization and Kinetic Modeling of Amoxicillin Degradation in Photo-Fenton Process Using Aluminum Pillared Montmorillonite-Supported Ferrioxalate Catalyst. *Ind. Eng. Chem.* n. 51, p. 16311–16319, 2012.

BAZZARELLA, B.B.; DIAS, G.B.; BASTOS, F.P.; WIGNER, P.L.; GONÇALVES, R.F. Caracterização quali- quantitativa da urina humana com vistas ao aproveitamento agrícola. 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2006.

BERQUÓ, L.S.; BARROS, A.J.D.; LIMA, R.C.; A.D. Utilização de medicamentos para tratamento de infecções respiratórias na comunidade Use of drugs to treat respiratory tract infections in the community. *Rev Saúde Publica*. v.38, n.3, p.358-642, 2004.

CAIAFFA, M.; OLIVEIRA, D.L.; PINHEIRO, V. A.; GUERRA, M.O.; PINHO, J.J.R.G. Estudo biofarmacotécnico de cápsulas de amoxicilina. Análise comparativa de produtos industrializados e magistrais. Cinética de dissolução. *Revista Lecta, Bragança Paulista*. v. 20, n. 1, p. 77-90, 2002.

COLOMBO, D.; HELENA, E.T.S.; AGOSTINHO, A.C.M.G.; DIDJURGEIT, J.S.M.A. Padrão de Prescrição de Medicamentos nas Unidades de Programa de Saúde da Família de Blumenau. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v.40, n.4, 2004.

COHIM, E. e KIPERSTOK, A. Sistemas de esgotamento sanitário: conhecer o passado para moldar o futuro. 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2007. Acesso em: 15/05/2010. Disponível em: <http://www.saneamento.poli.ufrrj.br/documentos/24CBES/II-163.pdf>

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. **Fundamentos De Cromatografia**. 1ª Ed. UNICAMP, 2006.

CUNNINGHAMAND, J.H.; LIN, S.L.. Fate of Amoxicillin in Mixed-Culture Bioreactors and Its Effects on Microbial Growth and Resistance to Silver Ions. *Environ. Sci. Technol.* n.44, p.1827–1832. 2010.

DENG, Y.; ZHANG, Y.; GAO, Y.; LI, D.; LIU, R.; LIU, M.; ZHANG, H.; HU, BO.; YU, T.; YANG, MIN. Microbial Community Compositional Analysis for Series Reactors. Treating High Level Antibiotic Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* n. 46, p. 795–801, 2012.

DODD, M.C.; BUFFLE, M.O.; GUNTEN, U.VO. Oxidation of antibacterial Molecules by Aqueous Ozone: Moiety-Specific Reaction Kinetics and Application to Ozone-Based Wastewater Treatment. *Environ. Sci. Technol.* n.40, p.1969-1977, 2006.

DOORSLAER, X.V.; DEMEESTERE, K.F.; HEYNDERICKX, P.M.; ANGENHOVE, H.V.; DEWULFUV, J. A and UV-C induced photolytic and photocatalytic degradation of aqueous ciprofloxacin and moxifloxacin: Reaction kinetics and role of adsorption. *Applied Catalysis B: Environmental*. n.101, p. 540–547, 2011.

ELMOLLA, E.S; CHAUDHURI, M. Combined photo-Fenton–SBR process for antibiotic wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*. n.192, p.1418– 1426, 2011.

ELMOLLA, E.S; CHAUDHURI ^a, M. Degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution by the UV/ZnO photocatalytic process. *Journal of Hazardous Materials*. n.173, p.445–449, 2010.

ELMOLLA, E.S.; CHAUDHURI ^b, M. Photocatalytic degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution using UV/TiO₂ and UV/H₂O₂/TiO₂ photocatalysis. *Desalination*. n. 252, p. 46–52, 2010.

EL-SHABOURY, S.R.; SALEH. G.A.; MOHAMED, F.A.; RAGEH, A.H. Analysis of cephalosporin antibiotics. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. n. 45, p. 1–19, 2007.

ESTRADA, A.L.; LI, Y.Y.; WANG, A. Biodegradability enhancement of wastewater containing cefalexin by means of the electro-Fenton oxidation process. *Journal of Hazardous Materials*. n. 227– 228, p.41–48, 2012.

EURACHEM. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.1.ed. 1998

FREITAS, A.A.R. Desenvolvimento e validação de uma metodologia analítica para a detecção e quantificação da Amoxicilina em músculo, por LC-MS/MS. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Química. Universidade Técnica de Lisboa, 2008.

FILHO, R. W. R.; BARREIRO, J. C.; VIEIRA, E. M.; CASS, Q. B. Fármacos, ETes e Corpos Hídricos. Ambiente e Água. *Journal of Applied Science*. v.2, n. 003, p. 54-61, 2007.

GONZALEZ, O.; SANS, CARME.; ESPLUGAS, S. Sulfamethoxazole abatement by photo-Fenton Toxicity, inhibition and iodegradability assessment of intermediates. *Journal of Hazardous Materials*. n.146, p 459–464, 2007.

GOODMAN, L.S.; GILMAN, A.G.; BRUNTON, L.L. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11 ed. Porto Alegre: AMGH, 2010.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia medica**. 11. ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2006. p.1115.

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

HOMEM, V.; SANTOS, L Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices-A review. *Journal of Environmental Management*. V. 92. P. 2304-2347, 2011.

HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A.J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water research*. n. 42, p. 3498 – 3518, 2008.

HUANG, J.J.; HU, H.Y.; LU, S.QI.; LI, Y.; TANG.; F.; LU, YUN.; WEI B. Monitoring and evaluation of antibiotic-resistant bacteria at a municipal wastewater treatment plant in China. *Environment International*. n. 42, p. 31–36, 2012.

JARDIM; W.F.; CANELA, M.R. Fundamentos da oxidação química no tratamento de efluentes e remediação de solos. Caderno temático. UNICAMP. V.01, 2004.

JONGH, C. M.; KOUIJ, P. J.F.; VOOGT, PIM.; LAAK, T.L. Screening and human health risk assessment of pharmaceuticals and their transformation products in Dutch surface waters and drinking water. *Science of the Total Environment*. n. 427-428, p. 70–77, 2012.

JUNG, Y.J.; KIM, W.G.; YOON, Y.; KANG, J.W.; HONG, Y.M.; KIM H.W. Removal of amoxicillin by UV and UV/H₂O₂ processes. *Science of the Total Environment*. n. 420, p. 160–167, 2012.

KARAKA, T. e BHATTACHARYYA, P. Human urine as a source of alternative natural fertilizer in agriculture: A flight of fancy or an achievable reality Resources. *Conservation and Recycling*. n.55, p. 400-408, 2011.

KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment International*. n. 35, p.402-417, 2009.

LAHTI, M.; OIKARI, A. Pharmaceuticals in settleable particulate material in urban and non-urban waters. *Chemosphere*. n.85, p. 826-831, 2011.

LANGFORD, K. H. e THOMAS, K.V. Determination of pharmaceutical compounds in hospital effluents and their contribution to wastewater treatment works. *Environment International*. n.35,p.766-770, 2009 Lin et al, 2008.

LI , X.; ZHENG , W.; KELLY, W. R. Occurrence and removal of pharmaceutical and hormone contaminants in rural wastewater treatment lagoons. *Science of the Total Environment*. n. 445-446, p. 22-28, 2013.

MAGRI, M.E.; FRANCISCO, J.G.Z.; SOUZA, R.C.; PHILIPPI, S.P. Avaliação do processo de desidratção das fezes humanas para implementaçõ de banheiro seco segregador. 26º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2011.

MELO, S.A.S.; TROVÓ, A.G.; BAUTITZ, I.R.; NOGUEIRA, R.F.P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Quim. Nova*, v. 32, n. 1, p.188-197, 2009.

MENEZES, A.P.S.; DOMINGUES, M.R.; BAISCH, A.L.M. Compreensão das prescrições pediátricas de antimicrobianos em Unidades de Saúde em um município do sul do Brasil. *Rev Bras Epidemiol*, v.12, n.3, p. 478-89, 2009.

OBERLÉ, K.; CAPDEVILLE, M. J.; BERTHE, T.; BUDZINSKI, H.; PETIT F. Evidence for a Complex Relationship between Antibiotics and Antibiotic Resistant Escherichia Coli: From Medical Center Patients to a

Receiving Environment. *Environ. Sci. Technol.* n. 46, p.1859–1868, 2012.

OPPENLÄNDER, T. **Photochemical Purification of Water and Air.** GmbH & Co. KGaA, WeinheimWILEY-VCH, 2003.

PIECHA, M.; SARAKHA, M.; TREBSE, P.; KOCAR, DRAGO. Stability studies of cholesterol lowering statin drugs in aqueous samples using HPLC and LC–MS. *Environ Chem Let.* n. 8, p. 185–191, 2010.

PINA, D.V.; FERNANDES, E. Fertilizantes: uma visão global sintética. BNDES Setorial, Rio de Janeiro, n. 24, p. 97-138, set. 2006.

PRADHAN, S. K.; HOLOPAINEN, J.K.; HEINONEN-TANSKI, H. J. Stored Human Urine Supplemented with Wood Ash as Fertilizer in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Cultivation and Its Impacts on Fruit Yield and Quality. *Agric. Food Chem.* n. 57, p. 7612–7617, 2009.

RANG,H.P; DALE, M. M; RITTER, J,M; MOORES, PK. **Farmacologia.** 5. Ed. Rio de Janeiro (RJ) ELSEVIER, 2033/2004i, 904p.

RAUBER, C.; FELTRIN, M.R.; PIOVEZAN, A.P. Evaluation of antibiotics dispensing profile in Tubarão, Santa Catarina, Brazil. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v.45, n.4, 2009.

REBOUÇAS, T.C.; LIMOEIRO, K.S.; FONTANA, G. H.; REBOUÇAS, C. C.; GONÇALVES, R.F. Estabilização de fezes humanas através de compostagem em regime de batelada. *Revista AIDIS.* V. 4, n. 2, p. 57 – 67, 2011.

REYNOSO, E.; NESCI, A.; ALLEGRETTI, P.; CRIADO, S.; BIASUTTI, M.A. Kinetic and mechanistic aspects of sensitized photodegradation of β -lactam antibiotics: Microbiological implications. *Redox Report*, v. 17, n. 6, p. 275-283, 2012.

RIOS, E.C.S.V.; FREITA, L.T.R.; ZANCHETA, P.G.; COSTA, A.N. e FRANCI, R. Utilização de águas amarelas como fertilizante natural no cultivo agrícola. 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2007. Acesso em: 08/10/2010. Disponível em: <http://www.saneamento.poli.ufrj.br/documentos/24CBES/II-440>.

SAMANIDOU, V.F.; HAPESHI, E.A.; PAPADOYANNIS, I.N. Rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic determination of four cephalosporin antibiotics in pharmaceuticals and body fluids. *Journal of Chromatography B*, n.788 , p. 147–158, 2003.

SANDEC. Department of Water and Sanitation in Developing Countries. Sanitation Systems & Technologies, Sandec Training Tool 1.0 – Module 4. 2008. Acesso em: 07/01/2013. Disponível em: http://www.sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/EAWAG_SANNDEC%20Sanitation%20Systems%20&%20Technologies_0.pdf

SCHÖNNING.; STENSTRÖM, T.A. Guidelines on the Safe Use of Urine and Faeces in Ecological Sanitation Systems. EcoSanRes Programme and Stockholm Environmente Institute, Estocolmo, Suécia. 2004.

SEGNEANU, A.E.; ORBECI, C.; LAZAU, C.; SFIRLOAGA, P.; VLAZAN, P.; BANDAS, C.; GROZESCU, I. National Institute for Research and development in Electrochemistry and Condensed Matter – INCEM Timisoara, Romania. Waste Water Treatment Methods. 4º CAPITULO. Acesso em 21/02/2012. Disponível em: http://cdn.intechopen.com/pdfs/41958/InTechWaste_water_treatment_methods.pdf

SERNA , R. L.; PETROVIĆ , M.; BARCELÓ, D. Occurrence and distribution of multi-class pharmaceuticals and their active metabolites and transformation products in the Ebro River basin (NE Spain). *Science of the Total Environment*. n. 440, p. 280–289, 2012.

SIM , W.J.; LEE , J.W.; LEE, E.S; SHIN , S.K.; HWANG , S.R; OH, J.E. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. *Chemosphere*. n. 82, p. 179–186, 2011.

STUMPF, A.M.C.U.; TERNESA, T.A.; WILKENA, R.; RODRIGUES, S.V.; BAUMANN, W. The Science of the Total Environment Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *The Science of the Total Environment*. N.225, p.135-141, 1999.

SU, S.; GUO, W.; YI, C.; LENG, Y.; MA, Z. Degradation of amoxicillin in aqueous solution using sulphate radicals under ultrasound irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*. n.19, p. 469–474, 2012.

TAVARES, N.U.L.; BERTOLDI, A.D.; MUCCILLO-BAISCH, A.L. Prescrição de antimicrobianos em unidades de saúde da família no Sul do Brasil. *Cad. Saúde Pública*. Rio de Janeiro, v.24, n.8, p. 1791-1800, 2008.

TOXNET. Toxicology Data Network. U.S. National Library of Medicine. Acesso em: 30/01/2013. Disponível em: <http://toxnet.nlm.nih.gov/>

TRABULSI, L.R; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5 ed. São Paulo (SP): Atheneu, 2008. 760p.

TROVÓ, A.G.; NOGUEIRA, R.F.P.; AGÜERA, A.; ALBA, A.R. F.; MALATO, S. Degradation of the antibiotic amoxicillin by photo-Fenton process e Chemical and toxicological assessment. *Water research*. n.45, p. 1394 – 1402, 2011.

VOGEL, A.I. **Análise inorgânica quantitativa**. 4. ed. Rio de Janeiro (RJ): Ed. Guanabara, 1981. 690p.

WANG, L.K. N.C. PEREIRA, AND Y.T. HUNG . **Handbook of Environmental Engineering**, Volume 3. Physicochemical Treatment Processes, Humana Press, New Jersey, 2005. p.35-95.

WINKER, M.; VINNERÅS, B.; MUSKOLU, A.; ARNOLD, U and CLEMENS, J. Fertiliser products from new sanitation systems: Their potential values and risks. *Bioresource Technology*. n. 100, p. 4090–4096, 2009. Acesso em: 27/04/2010. Disponível em: www.elsevier.com/locate/biortech.

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 Research*. n.46, p. 2815 – 2827, 2012.

ZANCHETA, P.G.; REBOUÇAS, C. C.; SANTOS, T. O. e GONÇALVES, R.F. Caracterização quali-quantitativa da urina humana

de diferentes faixas etárias objetivando o seu reuso como fertilizante agrícola natural. 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2007.