

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO EM QUÍMICA  
DE MINAS GERAIS

BIANCA VELOSO GOULART

**Remoção de bisfenol A por fotocatalise heterogênea e avaliação  
ecotoxicológica pós-tratamento**

ITAJUBÁ  
2018

BIANCA VELOSO GOULART

**Remoção de bisfenol A por fotocatalise heterogênea e avaliação ecotoxicológica pós-tratamento**

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Química.

Área de concentração: Química  
Orientador: Prof. Dr. Sandro José de Andrade  
Coorientadora: Profa. Dra. Márcia Matiko Kondo

ITAJUBÁ  
2018

Bianca Veloso Goulart

**REMOÇÃO DE BISFENOL A POR FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA E  
AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA PÓS-TRATAMENTO**

Dissertação de mestrado submetida à Universidade Federal de Itajubá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em 20 de fevereiro de 2018

-----  
Prof. Dr. Sandro José de Andrade – UNIFEI (Orientador)

-----  
Prof. Dr. Flávio Soares Silva – UNIFEI (Examinador)

-----  
Profa. Dra. Cassiana Carolina Montagner Raimundo – UNICAMP (Examinador)

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço a Deus pela sabedoria e saúde que me fizeram superar todos os desafios.*

*Agradeço aos meus pais, Salete e Mauri, que sempre estiveram ao meu lado me ensinando que com honestidade, amor e persistência tudo podemos alcançar!*

*Durante essa caminhada tive o privilégio de conhecer pessoas maravilhosas que posso chamar de amigos! Larissa, Patrícia, Úrsula e Alessandra representam todos que estiveram comigo durante essa jornada, alegrando meus dias e me auxiliando sempre!*

*Ao meu orientador Prof. Dr. Sandro Andrade pela oportunidade, amizade, pelos conselhos e por tudo que me ensinou!*

*A minha coorientadora Prof. Dra. Márcia Kondo que abriu os caminhos para a minha trajetória e sempre me acolheu e me auxiliou durante esses anos na UNIFEI.*

*A todos os professores que contribuíram para minha formação e aos funcionários do CEQUAM, em especial aos amigos Willians, Haroldo e Adriana.*

*Aos técnicos dos Laboratórios de Química, Tarciso, Rodrigo e Glauber, pelo auxílio e disposição sempre que necessário!*

*Agradeço também a bióloga Elaine e a Profa Dra. Ana Lúcia Fonseca.*

*Aos Professores Dr. Flávio S. Silva e Dra. Cassiana C. Montagner Raimundo pela disponibilidade e a todos que colaboraram para que mais uma etapa fosse concluída!*

## RESUMO

Os contaminantes emergentes englobam uma diversidade de compostos presentes no ambiente em concentração traço ( $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$ ) e que não são regulamentados quanto sua presença em diferentes tipos de matrizes. Como os tratamentos convencionais empregados nas estações de tratamento de esgoto (ETE) e de água (ETA) não removem completamente tais compostos, diversos tratamentos alternativos vêm sendo desenvolvidos a fim de removê-los com maior eficiência. Este trabalho propõe a degradação do contaminante emergente bisfenol A (BFA) por Processo Oxidativo Avançado (POA), especificamente, a fotocatalise heterogênea utilizando o semicondutor  $\text{TiO}_2$ . Os POA consistem na geração de radicais hidroxilas altamente reativos que oxidam compostos orgânicos convertendo-os total ou parcialmente, em  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  e íons inorgânicos. Nos estudos empregou-se radiação UV artificial (lâmpada de vapor de Hg 125 W e  $\lambda_{\text{max}}$  365 nm) e solar. O monitoramento da degradação foi realizado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector FLD (detector por fluorescência) e DAD (detector com arranjos de diodos), validando-se o método analítico de acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). A validação do método foi realizada avaliando-se os parâmetros: seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão, exatidão e robustez. Os resultados indicaram que o BFA ( $C_{\text{inicial}}$   $800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) foi completamente removido (concentrações inferiores ao LQ) após 45 minutos de tratamento empregando  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$ , aeração constante sob irradiação UV artificial nas condições de pH avaliadas (5,3 e 8,5). O emprego de radiação solar como fonte de energia mostrou-se eficiente, removendo o BFA após 60 minutos de irradiação em pH sem ajuste e 8,5. A avaliação ecotoxicológica indicou que as amostras pós-tratamento não apresentaram toxicidade aguda ao microcrustáceo *Daphnia similis* e que os ensaios de toxicidade crônica com a alga *Raphidocelis subcapitata* mostraram que apesar das interferências na taxa de crescimento da biomassa algal, não houve diferenças significativas (95% de confiança) em relação ao controle.

**Palavras-chave:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, contaminantes emergentes, bisfenol A, Processos Oxidativos Avançados, ensaios ecotoxicológicos.

## ABSTRACT

Emergent contaminants comprise a diversity of compounds present in the environment in trace concentrations (from  $\mu\text{g L}^{-1}$  to  $\text{ng L}^{-1}$ ) and are not regulated when their presence in different types of matrices. As the conventional treatments employed in sewage (STP) and water (WTP) treatment plants do not remove completely such compounds, so several alternative treatments have been studied to remove these substances with greater efficiency. This work proposes the destruction of the emerging contaminant bisphenol A (BPA) by Advanced Oxidative Process (AOP), specifically heterogeneous photocatalysis using  $\text{TiO}_2$  as the semiconductor. AOP consist of the generation of highly reactive hydroxyl radicals that oxidize organic compounds, by converting them totally or partially into  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  and inorganic ions. The experiments were carried out using artificial UV radiation (Hg 125 W and  $\lambda_{\text{max}}$  365 nm vapor lamp) and solar. Degradation monitoring was performed by high performance liquid chromatography (HPLC) with FLD detector (Fluorescence Detector) and DAD (Diode Array Detector), and validation was carried out according to the standards given by ANVISA (National Health Surveillance Agency). Method validation was performed by evaluating the parameters: selectivity, linearity, detection limit (LOD), quantification limit (LOQ), precision, accuracy and robustness. The results indicated that BPA ( $C_{\text{inicial}}$   $800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) was completely removed (values below the LOQ) after 45 minutes of treatment using  $10 \text{ mg L}^{-1}$  of  $\text{TiO}_2$ , constant aeration under artificial UV irradiation at different pH conditions evaluated (5.3 e 8.5). Solar radiation as an energy source proved to be efficient, removing BPA after 60 minutes of irradiation at pH without adjustment and 8.5. Ecotoxicological evaluation indicated that the post-treatment samples did not show acute toxicity to *Daphnia similis* and the chronic toxicity tests using the alga *Raphidocelis subcapitata* showed that, despite the interferences in the algal biomass growth rate, there were no significant differences (95% confidence interval) in relation to the control.

**Keywords:** High performance liquid chromatography, emerging contaminants, bisphenol A, Advanced Oxidative Processes, ecotoxicological assays.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Rotas de diferentes contaminantes emergentes no ambiente .....	21
Figura 2 - Estrutura molecular do xenoestrogênio BFA, fármaco ibuprofeno, hormônio natural E2 e do sintético EE2 .....	24
Figura 3 - Sistema endócrino humano .....	25
Figura 4 - Ação hormonal nos receptores (a) hormônio natural, (b) efeito agonista e (c) efeito antagonista.....	26
Figura 5 – Estrutura molecular do BFA .....	26
Figura 6 - Síntese do BFA catalisada em meio ácido.....	27
Figura 7 - Mecanismo de fotoativação de um semicondutor .....	31
Figura 8 - Cadeia da casualidade de contaminantes e efeitos sobre a biosfera .....	33
Figura 9 – Microalga <i>Raphidocelis subcapitata</i> .....	35
Figura 10 - Microcrustáceo <i>Daphnia similis</i> .....	35
Figura 11 - Cromatógrafo Líquido empregado nas análises (Agilent 1260 Infinity) ...	39
Figura 12 - Sistema utilizado no processo de degradação com radiação UV artificial, agitação e aeração constante .....	43
Figura 13 - Sistema empregado no processo de degradação utilizando radiação solar .....	44
Figura 14 - Sistema empregado no processo de fotólise direta utilizando UV artificial .....	45
Figura 15 - Culturas de fêmeas adultas de <i>Daphnia similis</i> .....	46
Figura 16 - Esquema empregado no ensaio com <i>Daphnia similis</i> .....	47
Figura 17 - Esquema empregado no ensaio crônico com <i>R. subcapitata</i> (a) no início do teste, (b) após 48 horas de exposição e (c) ao fim do teste .....	50
Figura 18 - Espectro de absorção bidimensional da solução 800 µg L <sup>-1</sup> BFA .....	52
Figura 19 - Espectro de absorção tridimensional da solução 800 µg L <sup>-1</sup> BFA .....	52
Figura 20 - Cromatograma da solução BFA 800 µg L <sup>-1</sup> e do branco ACN/H <sub>2</sub> O 60:40 (v/v) empregando detector DAD λ = 220 nm .....	53

Figura 21 - Cromatograma da solução BFA 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ e do branco ACN/H <sub>2</sub> O 60:40 (v/v) empregando detector DAD $\lambda = 228 \text{ nm}$ .....	54
Figura 22 - Cromatograma da solução BFA 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ e do branco ACN/H <sub>2</sub> O 60:40 (v/v) empregando detector DAD $\lambda = 280 \text{ nm}$ .....	54
Figura 23 – Cromatograma da solução BFA 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ e do branco ACN/H <sub>2</sub> O 60:40 (v/v) empregando detector FLD.....	55
Figura 24 - Curva analítica para BFA empregando o detector DAD (220 nm) .....	56
Figura 25 - Curva analítica para BFA empregando o detector DAD (228 nm) .....	56
Figura 26 - Curva analítica para BFA empregando o detector DAD (280 nm) .....	57
Figura 27 - Curva analítica para BFA empregando o detector FLD .....	57
Figura 28 - Cromatograma da solução BFA 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para determinação do LD pelo método sinal-ruído (detector DAD $\lambda = 220 \text{ nm}$ ) .....	59
Figura 29 - Cromatograma da solução BFA 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para determinação do LD pelo método sinal-ruído (detector DAD $\lambda = 228 \text{ nm}$ ) .....	59
Figura 30 - Cromatograma da solução BFA 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para determinação do LD pelo método sinal-ruído (detector DAD $\lambda = 280 \text{ nm}$ ) .....	60
Figura 31 - Cromatograma da solução BFA 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para determinação do LD pelo método sinal-ruído (detector FLD).....	60
Figura 32 - Cromatograma da solução BFA 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para determinação do LQ pelo método sinal-ruído (detector DAD $\lambda = 220 \text{ nm}$ ) .....	61
Figura 33 - Cromatograma da solução BFA 25,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para determinação do LQ pelo método sinal-ruído (detector DAD $\lambda = 228 \text{ nm}$ ) .....	61
Figura 34 - Cromatograma da solução BFA 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para determinação do LQ pelo método sinal-ruído (detector DAD $\lambda = 280 \text{ nm}$ ) .....	62
Figura 35 - Cromatograma da solução BFA 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para determinação do LQ pelo método sinal-ruído (detector FLD).....	62
Figura 36 - Comparação da degradação do BFA (Cinicial 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) nos estudos controle em diferentes condições de pH .....	68
Figura 37 - Comparação da remoção de BFA (Cinicial 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando o sistema TiO <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> /UV artificial em pH sem ajuste .....	69



Figura 38 - Comparação da remoção de BFA (Cinicial 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando o sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial em pH 8,5. ....	70
Figura 39 – Cromatogramas das soluções após o processo de fotocatalise heterogênea empregando 10 $\text{mg L}^{-1}$ de $\text{TiO}_2$ , aeração e radiação UV artificial em pH sem ajuste .....	71
Figura 40 – Cromatogramas das soluções após o processo de fotocatalise heterogênea empregando 10 $\text{mg L}^{-1}$ de $\text{TiO}_2$ , aeração e radiação UV artificial em pH 8,5 .....	72
Figura 41 – Cromatogramas das soluções de BFA no início do processo de fotocatalise heterogênea em pH 5,3 (0 min) e após 15 minutos de irradiação UV artificial .....	74
Figura 42 – Cromatogramas das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea em pH 5,3 após 15 minutos e 30 minutos de irradiação UV artificial .....	75
Figura 43 – Cromatogramas das soluções de BFA no início do processo de fotocatalise heterogênea em pH 8,5 (0 min) e após 15 minutos de irradiação UV artificial .....	76
Figura 44 – Cromatogramas das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea em pH 8,5 após 15 minutos e 30 minutos de irradiação UV artificial .....	77
Figura 45 – Proposta de mecanismo de formação dos intermediários de degradação do BFA .....	78
Figura 46 – Proposta de mecanismo de formação dos intermediários de degradação do BFA .....	79
Figura 47 - Comparação da remoção de BFA (Cinicial 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando o sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial em diferentes condições de pH .....	80
Figura 48 - Estrutura molecular do BFA neutro e aniônico, respectivamente .....	80
Figura 49 - Formas ionizáveis do BFA com variação do pH .....	81
Figura 50 - Comparação da remoção de BFA (Cinicial 800 $\mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando 10 $\text{mg L}^{-1}$ de $\text{TiO}_2$ e radiação solar em diferentes condições de pH .....	82

Figura 51 - Comparação da eficiência do processo de fotocatalise heterogênea empregando 10 mg L <sup>-1</sup> de TiO <sub>2</sub> e radiação UV artificial e solar.....	83
Figura 52 - Cromatograma da solução de BFA (Cinicial 800 µg L <sup>-1</sup> ) em água de nascente e do branco empregando detector FLD .....	84
Figura 53 - Comparação da eficiência do processo de fotocatalise heterogênea empregando 10 mg L <sup>-1</sup> de TiO <sub>2</sub> , aeração constante e radiação UV artificial .....	85
Figura 54 – Cromatograma das soluções de BFA no início do processo de fotocatalise heterogênea em água de nascente (0 min) e após 15 minutos de irradiação UV artificial .....	86
Figura 55 – Cromatograma das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea em água de nascente após 15 minutos e 30 minutos de irradiação UV artificial .....	86
Figura 56 – Cromatograma das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea em água de nascente após 30 minutos e 45 minutos de irradiação UV artificial .....	87
Figura 57 – Cromatograma das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea em água de nascente após 45 minutos e 60 minutos de irradiação UV artificial .....	87
Figura 58 - Diagrama de distribuição de espécies do H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> à 25°C .....	88
Figura 59 - Curva dose-resposta após 48 h exposição de <i>D. similis</i> ao BFA.....	90
Figura 60 - Inibição de crescimento da microalga <i>R. subcapitata</i> após 72 h de exposição as amostras submetidas a fotocatalise heterogênea e ao controle reacional.....	91

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tratamento de esgoto por regiões do Brasil .....	19
Tabela 2 - Faixa de concentração média de diferentes contaminantes emergentes detectados no meio ambiente. ....	22
Tabela 3 - Eficiência de remoção de contaminantes emergentes em ETE .....	23
Tabela 4 - Propriedades físicas e químicas do BFA.....	27
Tabela 5 - Classificação dos Processo Oxidativos Avançados .....	30
Tabela 6 - Condições cromatográficas para a determinação do BFA .....	40
Tabela 7 - Soluções para preparo do meio L. C. Oligo .....	48
Tabela 8 - Volume das soluções para preparo do meio L. C. Oligo .....	49
Tabela 9 - Tempo de retenção do BFA nos detectores DAD e FLD.....	55
Tabela 10 - Parâmetros da linearidade empregando os detectores DAD e FLD.....	58
Tabela 11 - Coeficientes angular das curvas analíticas para BFA empregando detecção por DAD e FLD .....	58
Tabela 12 - Limites de detecção e quantificação obtidos pelo método sinal-ruído....	63
Tabela 13 - Limites de detecção obtidos pelos parâmetros da curva analítica .....	63
Tabela 14 - Fator de recuperação média de BFA e CV% para avaliação da exatidão do método .....	64
Tabela 15 - Resultados obtidos após os ensaios de repetitividade e precisão intermediária.....	65
Tabela 16 - Recuperação média (%) e coeficiente de variação (%) após a análise cromatográfica com variações pré-definidas.....	66
Tabela 17 - Estabilidade do BFA após 10 semanas de estudo .....	67
Tabela 18 - Parâmetros físicos e químicos monitorados no início e ao fim do ensaio de toxicidade aguda com <i>D. similis</i> .....	89

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas  
ANA - Agência Nacional das Águas  
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
BFA - Bisfenol A  
CE - Contaminantes Emergentes  
CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo.  
CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência  
CRM - *Certified Reference Material* (Material de Referência Certificado)  
CV - Coeficiente de variação  
DAD - *Diode Array Detector* (Detector com Arranjo de Diodos)  
E1 - Estrona  
E2 - 17 $\beta$ -Estradiol  
EE2 - 17 $\alpha$ -etinilestradiol  
ETA - Estação de tratamento de água  
ETE - Estação de tratamento de esgoto  
FLD - *Fluorescence Detector* (Detector por Fluorescência)  
FM - Fase móvel  
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
IE - Interferente endócrino  
IES - ionização por "electrospray"  
IQA - Índice de qualidade das águas  
LD - Limite de detecção  
LQ - Limite de quantificação  
POA - Processos Oxidativos Avançados  
RAFA - Reator anaeróbio de fluxo ascendente  
RMN - Ressonância Magnética Nuclear  
SNIS - Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento  
TOC - Carbono Orgânico Total  
USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>1.1 Objetivos</b> .....	17
<b>1.1.1 Objetivo geral</b> .....	17
<b>1.1.2 Objetivos Específicos</b> .....	17
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
<b>2.1 Recurso hídrico brasileiro</b> .....	18
<b>2.2 Contaminantes emergentes</b> .....	19
<b>2.2.1 Interferentes endócrinos</b> .....	23
<b>2.2.1.1 Bisfenol A</b> .....	26
<b>2.3 Processos Oxidativos Avançados</b> .....	29
<b>2.3.1 Fotocatálise Heterogênea</b> .....	30
<b>2.4 Ecotoxicologia</b> .....	33
<b>2.4.1 Microalga <i>Raphidocelis subcapitata</i></b> .....	34
<b>2.4.2 Microcrustáceo <i>Daphnia similis</i></b> .....	35
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	37
<b>3.1 Reagentes e materiais</b> .....	37
<b>3.2 Equipamentos</b> .....	37
<b>3.3 Metodologia</b> .....	38
<b>3.3.1 Preparo da solução estoque e solução trabalho de bisfenol A</b> .....	38
<b>3.3.2 Validação do método analítico</b> .....	38
<b>3.3.2.1 Seletividade</b> .....	40
<b>3.3.2.2 Linearidade</b> .....	40
<b>3.3.2.3 Sensibilidade</b> .....	40
<b>3.3.2.4 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)</b> .....	41
<b>3.3.2.5 Exatidão</b> .....	41
<b>3.3.2.6 Precisão</b> .....	41
<b>3.3.2.7 Robustez</b> .....	42
<b>3.3.3 Estudo da estabilidade do BFA em solução aquosa</b> .....	42
<b>3.3.4 Ensaio de degradação do BFA</b> .....	42
<b>3.3.4.1 Estudo da degradação do BFA empregando fotocatalise heterogênea - TiO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>/UV artificial</b> .....	42

3.3.4.2 Estudo da degradação do BFA empregando fotocatalise heterogênea e radiação solar .....	43
3.3.5 Estudos controle .....	44
3.3.5.1 Avaliação da adsorção do BFA na superfície do catalisador (TiO <sub>2</sub> ) .....	45
3.3.5.2 Avaliação da degradação do BFA sob aeração constante .....	45
3.3.5.3 Processo de fotólise direta empregando radiação UV artificial .....	45
3.3.5.4 Processo de fotólise direta empregando radiação solar .....	46
3.3.6 Ensaios ecotoxicológicos .....	46
3.3.6.1 Avaliação da toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> .....	46
3.3.6.2 Ensaio de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para determinação do CE <sub>50</sub> .....	47
3.3.6.3 Ensaio de toxicidade crônica com <i>Raphidocelis subcapitata</i> .....	47
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	52
4.1 Validação do método analítico .....	52
4.1.1 Seletividade .....	52
4.1.2 Linearidade .....	55
4.1.3 Sensibilidade .....	58
4.1.4 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) .....	58
4.1.5 Exatidão .....	63
4.1.6 Precisão .....	64
4.1.7 Robustez .....	65
4.2 Estudo da degradação natural do BFA .....	66
4.3 Estudo controle .....	67
4.4 Estudos de fotodegradação do BFA.....	69
4.4.1 Estudo da degradação de BFA empregando o semicondutor TiO <sub>2</sub> e radiação UV artificial.....	69
4.4.2 Efeitos do pH inicial na eficiência de remoção do BFA.....	79
4.4.3 Estudo da degradação do BFA empregando o semicondutor TiO <sub>2</sub> e radiação solar.....	81
4.4.4 Comparação da eficiência de degradação empregando radiação UV artificial e solar .....	83
4.4.5 Efeito da matriz na remoção do BFA.....	84
4.5 Ensaios ecotoxicológicos .....	89
4.5.1 Teste de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> .....	89

<b>4.5.2 Teste de toxicidade crônica com <i>Raphidocelis subcapitata</i> .....</b>	<b>91</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>93</b>
<b>6. PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>94</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>95</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os contaminantes emergentes englobam uma diversidade de compostos presentes no ambiente em concentração traço ( $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$ ) e que não são regulamentados quanto sua presença em diferentes tipos de matrizes (GAVRILESCU et al., 2015; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017; PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2015). Dentre estes, tem-se uma classe de substâncias que interferem no funcionamento natural do sistema endócrino resultando em efeitos negativos à saúde humana e animal (BRIEÑO-ENRÍQUEZ; LARRIBA; DEL MAZO, 2016). Pode-se destacar: alterações no sistema reprodutivo de mamíferos, aves e répteis; feminização de peixes machos e diminuição da eclosão de ovos de tartarugas; em humanos, tais substâncias modificam o sistema endócrino podendo causar diminuição da produção de espermatozoides, aumento do índice de câncer de próstata e testículo, entre outros (BILA; DEZOTTI, 2007; BOLONG et al., 2009; SIFAKIS et al., 2017).

Diversas substâncias são classificadas como interferentes endócrinos, destacando-se os hormônios sintéticos  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) e levonorgestrel, os fármacos paracetamol, ibuprofeno e os xenoestrogênios dietilftalato e bisfenol A (BFA). Além disso, os hormônios naturais (estrone (E1),  $17\beta$ -estradiol (E2) e estriol, por exemplo) e os fitoestrogênios também podem causar distúrbios no sistema endócrino de espécies expostas a tais compostos (GHISELLI, 2006; GHISELLI; JARDIM, 2007).

O BFA [2,2-bis(4-hidroxifenil)propano] é um composto orgânico sintético com ampla aplicação industrial capaz de causar alterações no sistema endócrino humano e animal (HUANG et al., 2012). Estima-se que a produção mundial de BFA excedeu 5,4 milhões de toneladas no ano de 2015, sendo empregado principalmente como monômero na fabricação de plásticos policarbonatos (70% da produção), na produção de resinas epóxi (20%), adesivos, tubulações, retardantes de chama, entre outros (ASTER, 2014; BILA; DEZOTTI, 2007; ELADAK et al., 2015; KONIECZNA; RUTKOWSKA; RACHOŃ, 2015; LINTELMANN et al., 2003).

Devido às suas características físico-químicas ( $\log K_{OW}$  3,64, pressão de vapor (25°C)  $5,32 \times 10^{-6}$  Pa, solubilidade em água  $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) o BFA pode particionar-se entre a água, ar, solos, sedimentos e componentes da biota, sendo que o transporte desse composto no ambiente aquático é o principal meio de



distribuição entre as matrizes ambientais (LINTELMANN et al., 2003). Como os tratamentos convencionais empregados nas estações de tratamento de esgoto (ETE) e água (ETA) não removem completamente tais compostos, a ingestão diária de água potável pode ser uma relevante fonte de contaminantes emergentes, incluindo o BFA (BILA; DEZOTTI, 2007; GHISELLI; JARDIM, 2007; JARDIM et al., 2012). Assim, tem-se que diversos tratamentos alternativos vêm sendo estudados a fim de remover tais substâncias com maior eficiência.

Dentre estes, pode-se citar os Processos Oxidativos Avançados (POA). Tais processos envolvem a formação de radicais altamente reativos ( $\bullet\text{OH}$ ) e de elevado poder oxidante ( $E^\circ = 2,8 \text{ V}$ ) que convertem compostos orgânicos, total ou parcialmente, em dióxido de carbono, água e íons inorgânicos, processo denominado de mineralização (KONDO et al., 2014; TEIXEIRA; JARDIM, 2004). O processo de fotocatalise heterogênea é um dos POA que vem apresentando elevada eficiência na remoção de contaminantes e envolve a ativação de um semicondutor com energia intermediária de *bandgap* (geralmente  $\text{TiO}_2$ ). Nesse, a absorção de fótons com energia superior à energia do *bandgap* permite a excitação de um elétron da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC), criando-se uma lacuna ( $h^+$ ) na banda de valência que resulta na formação dos radicais hidroxilas (DENG; ZHAO, 2015; KONDO; JARDIM, 1991; NOGUEIRA; JARDIM, 1997).

Apesar das diversas vantagens do uso dos POA na remoção de diversos contaminantes emergentes, deve-se atentar para possíveis efeitos ecotoxicológicos dos subprodutos de degradação, caso o composto removido não seja completamente mineralizado. Tem-se que a formação de subprodutos menos biodegradáveis e/ou mais tóxicos do que o composto precursor pode resultar em efeitos negativos ao meio ambiente (BRAZ et al., 2014; CANDIDO et al., 2016; MAGALHÃES; FERRÃO, 2008; RIBEIRO et al., 2015). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do processo de fotocatalise heterogênea ( $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ) na remoção de bisfenol A e investigar os possíveis efeitos tóxicos das amostras pós-tratamento empregando testes com organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos (microalga *Raphidocelis subcapitata* e microcrustáceo *Daphnia similis*).

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo geral**

Avaliar a eficiência do processo de fotocatalise heterogênea na remoção de bisfenol A em matriz aquosa e investigar os possíveis efeitos tóxicos das amostras pós-tratamento empregando testes com organismos aquáticos.

### **1.1.2 Objetivos Específicos**

- Otimizar e validar o método analítico empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) de acordo com os parâmetros de validação determinados pela ANVISA (seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão, exatidão e robustez).
- Estudar as melhores condições de degradação do bisfenol A empregando o semicondutor TiO<sub>2</sub>, radiação UV artificial e solar.
- Avaliar, em ensaios laboratoriais, o potencial de ecotoxicidade após o tratamento empregando organismos de diferentes níveis tróficos: a microalga *Raphidocelis subcapitata* e o microcrustáceo *Daphnia similis*.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Recurso hídrico brasileiro**

A água é um recurso natural vital para todas as espécies e para os diferentes ecossistemas do planeta. Além disso, é de fundamental importância para as atividades que geram produtos e serviços que permitem a manutenção do desenvolvimento social e econômico mundial (WOLKMER; PIMMEL, 2013). Do recurso hídrico disponível na Terra, tem-se que 97,5% são de água salgada e 2,5% de água doce; deste último, apenas 0,3% estão em mananciais superficiais (GRASSI, 2001).

O Brasil detém aproximadamente 12% da reserva de água doce mundial, sendo que grande parte desse recurso estão no Rio Amazonas e em mananciais de águas subterrâneas (BRASIL, 2017a; GRASSI, 2001; VILLAR, 2016). Destes, 68% são destinados à agricultura, 14% às atividades industriais e apenas 8% ao abastecimento da população (FOLEGATTI et al., 2010). Devido a fatores geográficos e sua extensão territorial, há uma significativa diversificação climática em todo território brasileiro (REBOUÇAS, 2003). Deste modo, a disponibilidade de água doce não é proporcional à distribuição populacional no país (BRASIL, 2017; CIRILO, 2015).

A escassez de água é um problema relatado em diversos municípios brasileiros. Dentre os motivos citados, pode-se destacar a estiagem, o mau uso da água e o crescente processo de urbanização. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população urbana no Brasil passou de 55% para 84% desde 1970 (CIRILO, 2015). Assim, a demanda necessária para abastecimento público aumentou com o crescimento populacional.

Um agravante ao problema de escassez em vários municípios brasileiros relaciona-se a qualidade da água que pode ser consumida pela população. No Brasil, em média, 43% da população possui seu esgoto coletado e tratado, cerca de 18% têm seu esgoto coletado e não tratado, e 27% não possuem atendimento de coleta nem de tratamento (BRASIL, 2017a). Dessa forma, há um despejo de grande quantidade de esgoto bruto aos corpos d'água do país e uma preocupação sobre a qualidade da água destinada para consumo (CONFALONIERI et al., 2010). A Tabela 1 apresenta a porcentagem de tratamento do esgoto gerado por região no Brasil.

Tabela 1 - Tratamento de esgoto por regiões do Brasil

<b>Regiões do Brasil</b>	<b>Esgoto tratado (%)</b>
Norte	16,42
Nordeste	32,11
Sudeste	47,39
Sul	41,43
Centro-Oeste	50,22

Fonte: Adaptado de SNIS (2015)

Além da quantidade de água disponível ao consumo e as atividades humanas, a qualidade deste recurso é de fundamental importância. No Brasil a portaria de Consolidação Nº 5 estabelece os procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água e seu padrão de potabilidade (BRASIL, 2017b). Além disso, o Índice de Qualidade das Águas (IQA) estipula parâmetros que são utilizados como indicadores de qualidade desse recurso. Porém, o IQA não considera parâmetros relacionados à presença de metais pesados, compostos orgânicos persistentes, pesticidas, entre outras substâncias nocivas (BRASIL, 2017a).

Em 2015 avaliou-se que 83,3% dos brasileiros são atendidos com abastecimento de água tratada (TRATA BRASIL, 2015). Os processos de tratamento de esgotos visam remover os poluentes e o método a ser empregado está relacionado com as características biológicas, físicas e químicas do mesmo. Dentre os tratamentos convencionais empregados nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) pode-se citar o reator anaeróbio de fluxo ascendente (RAFA), lagoa facultativa e lagoa anaeróbia (SABESP, 2017a). Já os tratamentos empregados nas Estações de Tratamento de Água (ETA) envolvem várias etapas: pré-cloração, pré-alcalinização, coagulação, floculação, decantação, filtração, desinfecção, fluoretação (SABESP, 2017b).

## **2.2 Contaminantes emergentes**

A contaminação dos corpos aquáticos por produtos químicos sintéticos vem ocorrendo desde a década de 1940 (GHISELLI; JARDIM, 2007), relacionado ao aumento da produção mundial de tais compostos, que passou de 1 milhão para 400 milhões de toneladas por ano, dos anos de 1930 a 2000 (WWF Global, 2010).

Atualmente, diversos problemas ambientais vêm sendo relacionados à

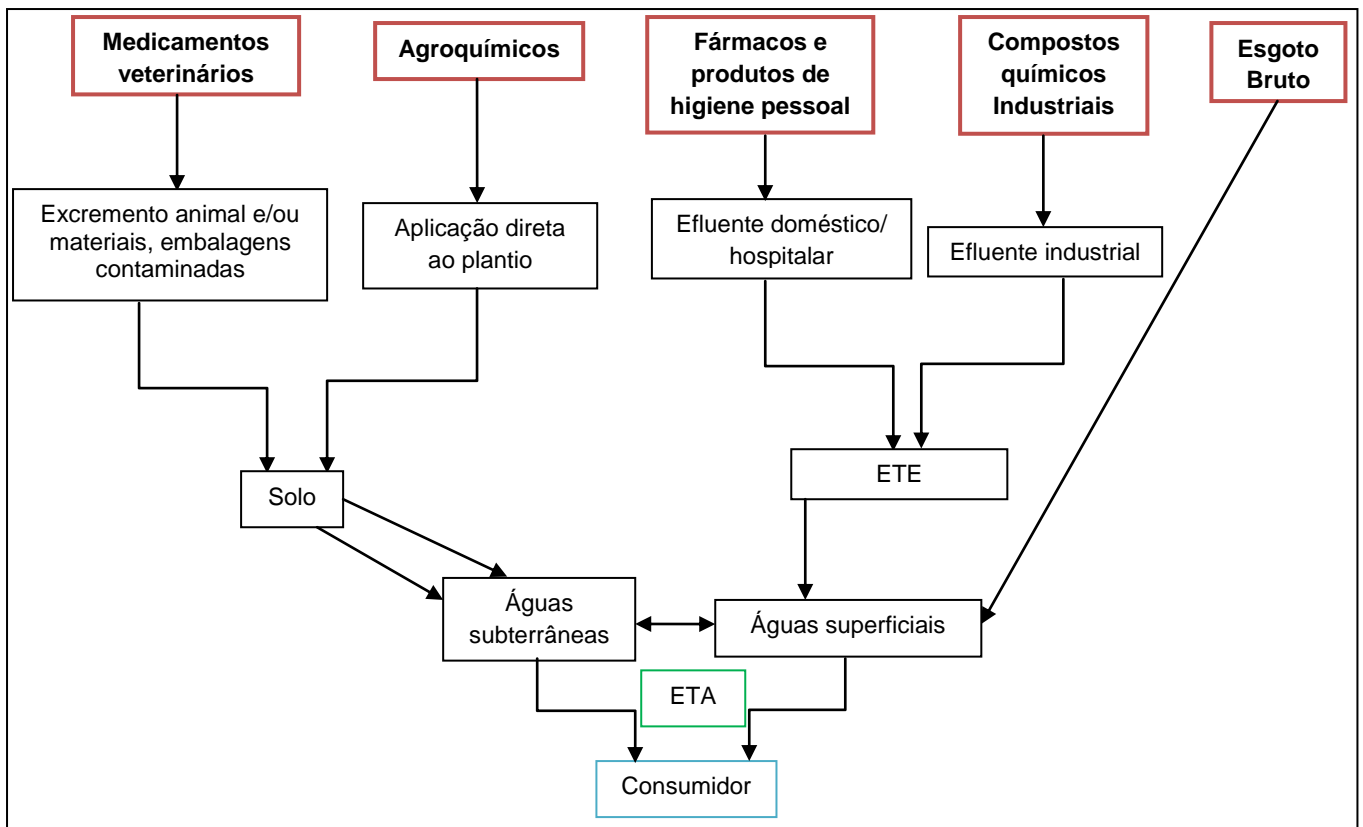
presença de substâncias que mesmo em concentração traço (concentrações extremamente baixas -  $\mu\text{g L}^{-1}$  a  $\text{ng L}^{-1}$ ) podem interferir diretamente no sistema em que estão introduzidas; sendo classificados como micropoluentes. Algumas destas substâncias são denominadas contaminantes emergentes já que não há uma legislação vigente que estipule limites sobre sua presença no meio ambiente (GHISELLI; JARDIM, 2007; REIS FILHO; DE ARAÚJO; VIEIRA, 2006; RODRIGUEZ-NARVAEZ et al., 2017).

Os contaminantes emergentes englobam uma diversidade de compostos presentes no ambiente e que não são regulamentados quanto sua presença em diferentes tipos de matrizes (GAVRILESCU et al.; 2015; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017; PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2015). Tais substâncias são de origem antropogênica ou de origem natural (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). Dentre estas, pode-se citar os fármacos, hormônios esteroides, produtos de higiene pessoal, compostos industriais e agroquímicos (LUO et al., 2014; RIBEIRO et al., 2015).

As principais formas de contaminação ambiental por tais substâncias estão associadas a duas fontes: pontuais e difusas. As fontes pontuais relacionam-se à contaminação direta dos corpos aquáticos por efluentes industriais, esgoto doméstico, enchentes, etc. Já as fontes difusas associa-se a contaminação não pontual, podendo-se citar a deposição atmosférica, escoamentos superficiais, lixiviação dos produtos finais, entre outros (GHISELLI; JARDIM, 2007). Os contaminantes emergentes podem apresentar mobilidade e persistência em diferentes matrizes ambientais: solo, água, ar e sedimentos. A presença destes pode causar danos ao meio ambiente e a saúde humana e animal, porém, seus efeitos ecotoxicológicos e efeitos relacionados à exposição contínua a tais substâncias ainda são pouco conhecidos (ARCHER, 2017; GAVRILESCU et al., 2015).

A Figura 1 apresenta as principais rotas de contaminação de diversas classes de substâncias classificadas como contaminantes emergentes.

Figura 1 - Rotas de diferentes contaminantes emergentes no ambiente



Fonte: Adaptado de TIJANI; FATOBA; PETRIK, 2013.

Com os avanços das técnicas analíticas, como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa (CG) e espectrometria de massas (EM), um grande número de contaminantes emergentes podem ser detectados e quantificados em diferentes tipos de matrizes ambientais (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017). Dentre estes contaminantes pode-se citar os fármacos, pesticidas, fungicidas, plastificantes, retardantes de chama, produtos de higiene pessoal, entre outros (GAVRILESCU et al., 2015; PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B., 2015). A Tabela 2 apresenta as concentrações médias de alguns micropoluentes detectados em diversas matrizes aquosas.

Tabela 2 – Faixa de concentração média de diferentes contaminantes emergentes detectados no meio ambiente.

Substância	Classe	Concentração (ng L <sup>-1</sup> )	Condição	Local
Ibuprofeno	Anestésico e anti-inflamatório	220 – 3600	Efluente (ETE)	América do Norte
		0 - 34	Água doce	
Diclofenaco	Anestésico e anti-inflamatório	460 – 3600	Efluente (ETE)	Europa
		21 - 41	Água doce	
Atenolol	Beta-bloqueadores	1720	Efluente (ETE)	Europa
		314	Água doce	
17 $\alpha$ -etinilestradiol	Hormônio sintético	0,20 - 047	Efluente (ETE)	Reino Unido
Amoxicilina	Antibacteriano	31	Efluente (ETE)	Reino Unido
		<2,5 - 245	Água superficial	
Bisfenol A	Plastificante	2,8 - 39860	Água superficial	Brasil
		160 - 3610	Água doce (torneira)	Brasil

Fonte: Adaptado de GAVRILESCU et al., 2015; LUO et al., 2014; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017; PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2015; SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010.

A ingestão diária de água potável contaminada também apresenta uma relevante fonte de exposição aos contaminantes emergentes, já que alguns compostos não são totalmente removidos ou degradados pelos tratamentos convencionais empregados nas estações de tratamento de esgoto (ETE) e água (ETA) (GHISELLI; JARDIM, 2007; BILA; DEZOTTI, 2007). No Brasil, aproximadamente 99% das ETE empregam tratamentos convencionais (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017) como o tratamento primário, que objetiva à separação da matéria poluente da água por processos físicos e químicos e um tratamento secundário que emprega microorganismos para a remoção da matéria orgânica dissolvida e em suspensão (RIVERA-UTRILLA et al., 2013). Na Tabela 3 seguem apresentadas as eficiências de remoção de diversos contaminantes emergentes após o tratamento em ETE.

Tabela 3 - Eficiência de remoção de contaminantes emergentes em ETE

Substância	Processo de tratamento	Eficiência de remoção (ETE) (%)
Ibuprofeno	Tratamento primário + lodo ativado modificado + desinfecção UV	60 - 90
Diclofenaco	Tratamento primário + lodo ativado modificado + desinfecção UV	10 – 60
Doxiciclina	Sedimentação primária/ tratamento secundário (lodo ativado)/ tratamento terciário	35,4
Atenolol	Tanque de grãos + sedimentação primária + bioreator + clarificadores	47,1
Triclosan	Tanque de grãos + sedimentação primária + bioreator + clarificadores	99,8
Bisfenol A	Tratamento primário + biofiltros/lodo ativado	80

Fonte: Adaptado de DEBLONDE; COSSU-LEGUILLE; HERTEMANN, 2011; MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017; WANG; WANG, 2016.

### 2.2.1 Interferentes endócrinos

Dentre os contaminantes emergentes tem-se uma classe de substâncias que interferem no funcionamento natural do sistema endócrino resultando em efeitos negativos à saúde humana e animal (BRIENO-ENRÍQUEZ; LARRIBA; DEL MAZO, 2016). Estes são denominados interferentes endócrinos (IE) e são definidos como substâncias exógenas que modificam o sistema endócrino dos seres vivos, interferindo nas funções hormonais que são responsáveis pela manutenção, reprodução e desenvolvimento do organismo (DEL MAZO et al., 2013; REIS FILHO; DE ARAÚJO; VIEIRA, 2006; SIFAKIS et al., 2017).

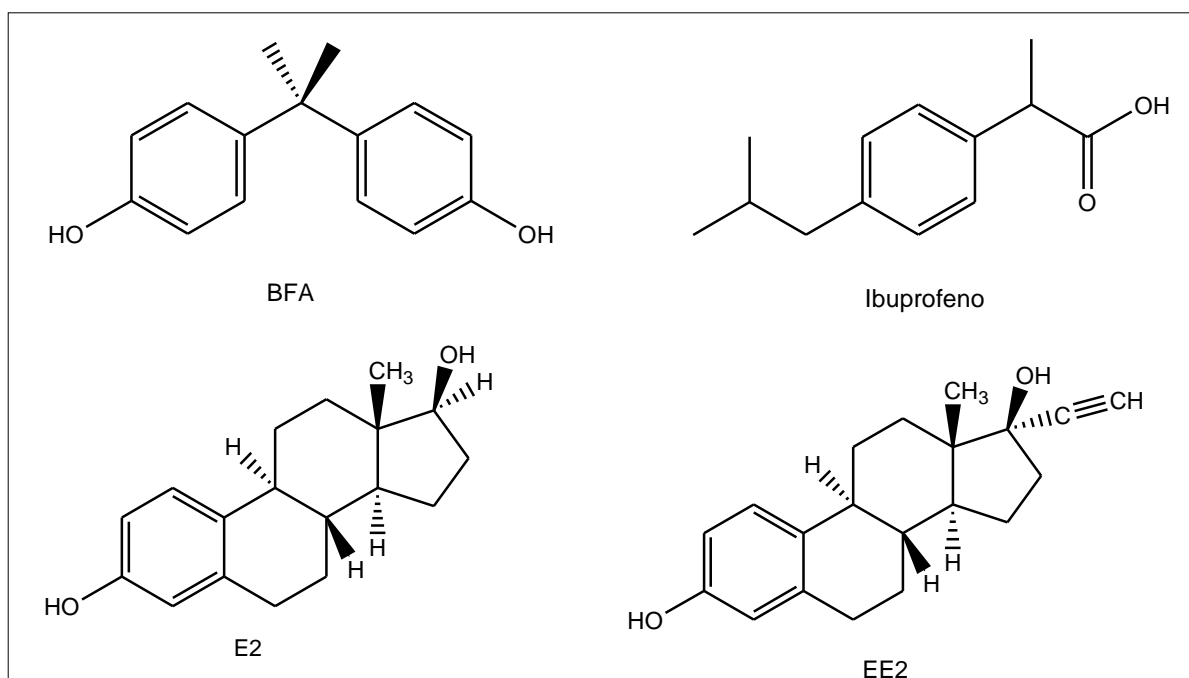
Devido à exposição a tais compostos, há relatados vários problemas tanto para a espécie humana quanto para a animal. Os primeiros indícios de tais efeitos foram observados entre os anos 1940 a 1970, em que foram evidenciados problemas no sistema reprodutivo de filhas de mulheres que fizeram uso de dietilestilbestrol (DES) (BILA; DEZOTTI, 2007). Além disso, nos anos de 1980, machos de aves coloniais da Região dos Grandes Lagos (EUA - Canadá) começaram a apresentar características femininas após a exposição a agroquímicos (REIS FILHO; DE ARAÚJO; VIEIRA, 2006).



Atualmente, diversos problemas têm sido associados à presença destas substâncias no meio ambiente: alterações no sistema reprodutivo de mamíferos, aves e répteis; feminização de peixes machos e diminuição da eclosão de ovos de tartarugas; em humanos, tais substâncias modificam o sistema endócrino podendo causar diminuição da produção de espermatozoides, aumento do índice de câncer de próstata e testículo em homens; em mulheres, tem-se que o aumento do índice de câncer de mama, endometriose, problemas de fertilidade também estão associados à exposição aos IE (BILA; DEZOTTI, 2007; BOLONG et al., 2009; SIFAKIS et al., 2017).

Dentre as substâncias classificadas como interferentes endócrinos, pode-se citar os hormônios sintéticos 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) e levonorgestrel, os fármacos paracetamol, ibuprofeno e os xenoestrogênios dietilftalato e BFA. Além disso, os hormônios naturais (estrone (E1), 17 $\beta$ -Estradiol (E2) e estriol, por exemplo) e os fitoestrogênios também podem causar distúrbios no sistema endócrino de espécies expostas a tais compostos (GHISELLI, 2006; GHISELLI; JARDIM, 2007). A Figura 2 apresenta a estrutura molecular de algumas substâncias classificadas como IE.

Figura 2 - Estrutura molecular do xenoestrogênio BFA, fármaco ibuprofeno, hormônio natural E2 e do sintético EE2

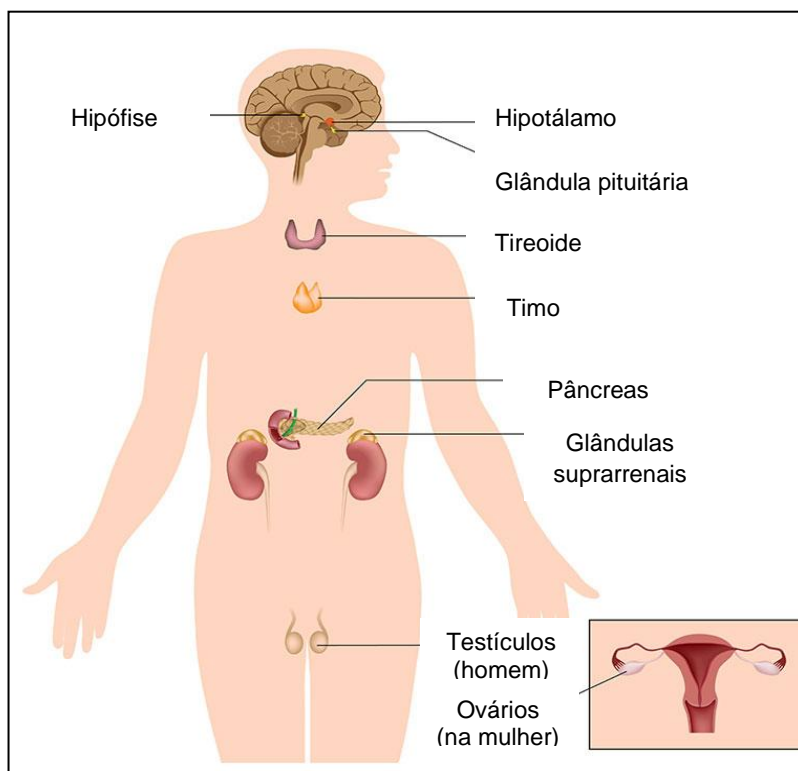


Fonte: Próprio autor (ChemDraw).

O sistema endócrino humano é constituído de diversas glândulas que produzem hormônios naturais para a manutenção de atividades importantes no

corpo humano (Figura 3) (GHISELLI; JARDIM, 2007). Esse grupo de substâncias podem causar efeitos agonistas e antagonistas, quanto ao comportamento de ação via receptores hormonais, interferindo no funcionamento natural do sistema endócrino humano e animal (SIFAKIS et al., 2017).

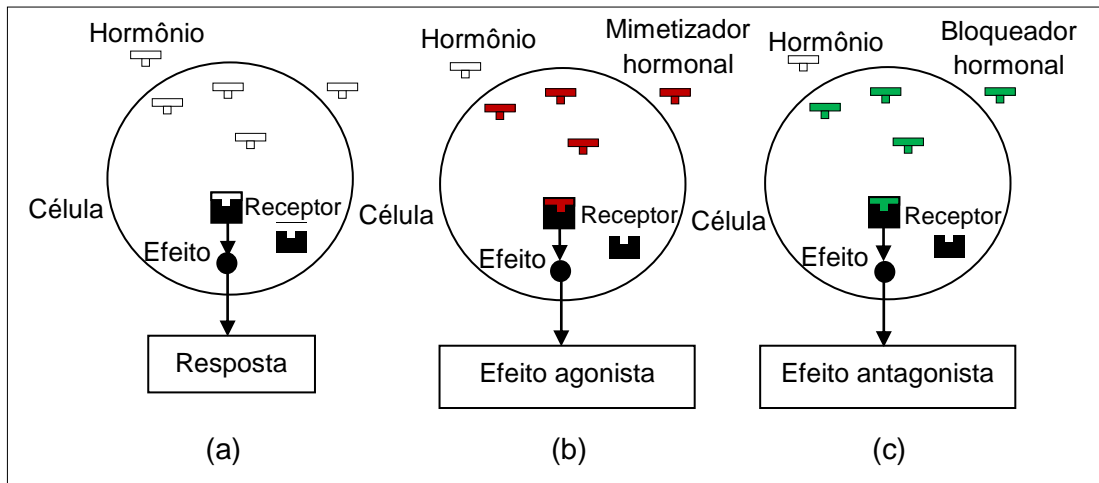
Figura 3 - Sistema endócrino humano



Fonte: Google imagens.

Quando os IE se ligam ao receptor de estrógenos bloqueando a ação do ligante natural, estas atuam de forma antagônica; porém, se ao ligarem ao receptor hormonal induzirem alguma resposta, tem-se um efeito agonista, mimetizando a ação do hormônio natural (BILA; DEZOTTI, 2007; BRIENO-ENRÍQUEZ; LARRIBA; DEL MAZO, 2016; GHISELLI; JARDIM, 2007; SIFAKIS et al., 2017). A Figura 4 exemplifica as interferências endócrinas mencionadas.

Figura 4 - Ação hormonal nos receptores (a) hormônio natural, (b) efeito agonista e (c) efeito antagonista.



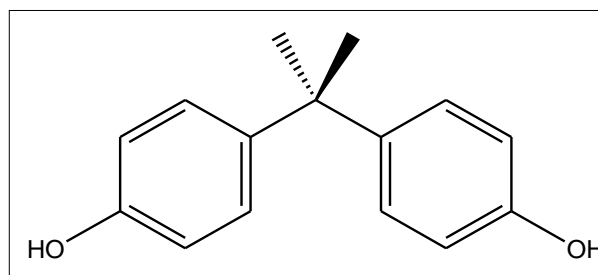
Fonte: Adaptado de GHISELLI; JARDIM, 2007.

Diversos estudos associam problemas à saúde humana à exposição aos IE. Segundo Mnif et al. (2011), um elevado percentual de mulheres com câncer de mama apresentou maior exposição a áreas contaminadas com pesticidas. Além disso, estudos realizados com homens indicaram que problemas na qualidade e produção de espermatozoides estão associados ao aumento do nível de BFA na urina (SIFAKIS et al., 2017). Porém, não estão bem elucidados os efeitos à saúde humana a exposição crônica as diversas substâncias classificadas como IE, necessitando-se assim, de estudos mais específicos sobre a presença de tais substâncias e danos à saúde humana e animal.

### 2.2.1.1 Bisfenol A

O bisfenol A (BFA) [2,2-bis(4-hidroxifenil)propano] (Figura 5) é um composto orgânico sintético com ampla aplicação industrial capaz de causar alterações no sistema endócrino humano e animal (HUANG et al., 2012).

Figura 5 – Estrutura molecular do BFA



Fonte: Próprio autor (*chemdraw*).

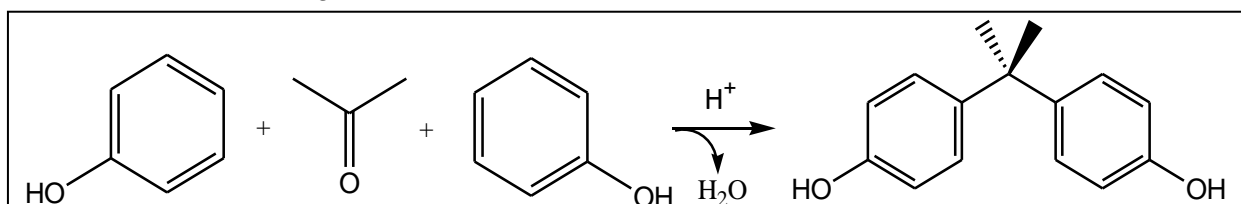
A Tabela 4 apresenta as principais propriedades físicas e químicas deste composto.

<b>Fórmula Molecular</b>	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
<b>Massa Molar</b>	228,29 g mol <sup>-1</sup>
<b>pKa</b>	10,29
<b>Solubilidade em água (25 °C)</b>	200 mg L <sup>-1</sup>
<b>log K<sub>ow</sub></b>	3,64

Fonte: Adaptado de MICHALOWICZ, 2014; LINTELMANN et al., 2003.

O BFA foi sintetizado pela primeira vez em 1891 por Alexander P. Dianin utilizando fenol e acetona em presença de ácido clorídrico (BERNARDO et al., 2015) (Figura 6).

Figura 6 - Síntese do BFA catalisada em meio ácido



Fonte: BERNARDO et al., 2015.

Na década de 1930, Dodds e colaboradores detectaram a atividade estrogênica do BFA, porém, como o estrógeno dietilestilbestrol apresentou maior potencial estrogênico, o BFA não foi utilizado como hormônio (ALONSO-MAGDALENA; QUESADA; NADAL, 2015). Em 1950, observou-se que o BFA poderia ser utilizado como monômero para a obtenção de plásticos policarbonatos com boas características, e desde então, esse composto é produzido em larga escala e utilizado em várias vertentes industriais. Estima-se que a produção mundial de BFA excedeu 5,4 milhões de toneladas no ano 2015, sendo empregado principalmente como monômero na fabricação de plásticos policarbonatos (70% da produção), na produção de resinas epóxi (20%), adesivos, tubulações, retardantes de chama, entre outros (ASTER, 2014; BILA; DEZOTTI, 2007; ELADAK et al., 2015; LINTELMANN et al., 2003).

Como já citado, as principais formas de contaminação ambiental por tais substâncias relaciona-se as fontes pontuais e difusas (GHISELLI; JARDIM, 2007; BILA; DEZOTTI, 2007). Segundo Montagner, Vidal e Acayaba (2017) estudos

relataram a presença de BFA em diversas matrizes aquáticas: esgoto bruto (55,7 – 308,8 ng L<sup>-1</sup>), esgoto tratado (220 – 5310 ng L<sup>-1</sup>) e água de abastecimento público (160 – 3610 ng L<sup>-1</sup>). Já a exposição humana ao BFA pode ocorrer por via ocupacional, ambiental ou pela alimentação, como por exemplo, ingestão de alimentos contaminados durante seu processamento ou embalagem (FARRÉ et al., 2008). A ingestão de alimentos enlatados em embalagens de resinas epóxi ou policarbonatos são consideráveis fontes de BFA. Um estudo realizado com 75 voluntários que consumiram uma porção de sopa enlatada por cinco dias indicou que houve aumento de 1200% na concentração de BFA na urina comparado a concentração após o consumo de alimentos frescos pelos mesmos. A exposição humana ao BFA também pode ocorrer por fontes não alimentares, como por exemplo, pela inalação de poeira doméstica, contato com papel térmico ou devido seu uso em material odontológico (GEENS et al., 2012).

Em uma pesquisa realizada nos EUA, mais de 90% das amostras de urina dos participantes apresentaram concentrações mensuráveis de BFA, indicando a exposição frequente ao mesmo (DOERGE et al., 2010). A exposição alimentar diária de humanos ao BFA é estimada entre 0,48 a 1,6 µg kg<sup>-1</sup> de peso corporal por dia. Após a ingestão, mais de 95% do BFA é absorvido pelo trato gastrointestinal e é rapidamente metabolizado em bisfenol A-glicuronídeo, um metabólito mais solúvel que pode ser excretado pela urina (DEKANT; VÖLKE, 2008). Porém, têm-se diversos estudos evidenciando sua atividade estrogênica mesmo presente em baixas concentrações (SANTANGELI et al., 2017).

O BFA apresenta atividade estrogênica ligando-se a sítios receptores hormonais, como por exemplo, a sítios receptores da tireoide e a receptores estrogênicos α e β. Alguns estudos realizados em roedores machos indicaram que a exposição a determinadas concentrações de BFA resultaram na diminuição da produção de espermatozoides e diminuição de níveis de testosterona (MÍNGUEZ-ALARCON; HOUSER; GASKINS, 2016; SANTANGELI et al., 2017). Segundo Castro-Correia e Fontoura (2015), estudos indicaram que a administração de BFA em roedores durante a gestação resultou aos descendentes uma puberdade precoce.

Em humanos, há associação da exposição ao BFA (maior concentração no plasma e na urina) a diversas anomalias que resultaram na diminuição da fertilidade

(SIFAKIS et al., 2017). Castro-Correia e Fontoura (2015) citaram estudos realizados em mulheres com síndrome do ovário policístico que apresentaram níveis de BFA no plasma superiores ao de um grupo sem o mesmo diagnóstico. Além disso, um estudo realizado por Huo e colaboradores (2015) indicou uma relação entre o aumento do risco de recém-nascidos com baixo peso corporal a presença de níveis mais elevados de BFA na urina das mães comparado a um controle (HUO et al., 2015).

A Agência de Proteção ambiental dos EUA (USEPA) delimita uma ingestão diária tolerável de BFA em  $50 \mu\text{g kg}^{-1}$  de peso corporal por dia (SIFAKIS et al., 2017). Em 2011, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a partir da Resolução- RDC Nº 41 e a União Europeia (EU) proibiu o uso de BFA na produção de mamadeiras destinadas à alimentação de lactentes (BRASIL, 2011; EU, 2011). Além disso, nesta mesma resolução também tem-se estabelecido o limite de migração específica de BFA para  $0,6 \text{ mg Kg}^{-1}$  da amostra (BRASIL, 2011; PEREZ, 2012).

Como os tratamentos convencionais empregados nas ETE e ETA não removem completamente diversos contaminantes emergentes e estudos indicam os efeitos negativos do BFA à saúde humana e animal, tratamentos alternativos vêm sendo estudados a fim de remover tais substâncias com maior eficiência (RIVERA-UTRILLA et al., 2013; RODRIGUEZ-NARVAEZ et al., 2017).

### **2.3 Processos Oxidativos Avançados**

Os Processos Oxidativos Avançados (POA) envolvem a formação de radicais ( $\text{HO}^\bullet$ ,  $\text{O}_2^{\bullet-}$ ,  $\text{HO}_2^\bullet$ ) que convertem compostos orgânicos complexos, total ou parcialmente, em dióxido de carbono, água e íons inorgânicos (processo denominado de mineralização). Tem-se, porém, que o radical hidroxila ( $\text{HO}^\bullet$ ) é a espécie mais reativa, já que apresenta elevado poder oxidante ( $E^\circ = 2,8 \text{ V}$ ) (KONDO et al., 2014; NOGUEIRA et al., 2007; TEIXEIRA; JARDIM, 2004; WANG et al., 2009).

Os POA são processos eficazes para o tratamento de contaminantes, pois são capazes de mineralizar totalmente os poluentes orgânicos transformando-os em produtos menos nocivos ao meio ambiente (KONDO et al., 2014). Além disso, é um processo viável, já que envolve técnicas que necessitam de poucas exigências operacionais que podem ser realizados à pressão e temperatura ambiente (DEZOTTI, 2008; SANZ et al., 2002).

Os POA são classificados em sistemas homogêneos e heterogêneos, considerando-se as fases que constituem o mesmo. Nos processos homogêneos têm-se apenas uma única fase e a oxidação dos compostos em solução é resultado de reações químicas entre os reagentes para a geração dos radicais e das interações destes com o substrato; já nos sistemas heterogêneos emprega-se semicondutores suportados em uma superfície sólida (em metais, por exemplo) ou em suspensão aquosa (RIBEIRO et al., 2015), sendo um processo interfacial. A Tabela 5 apresenta alguns POA e sua respectiva classificação.

Tabela 5 - Classificação dos Processo Oxidativos Avançados

	Com irradiação	Com irradiação	
	O <sub>2</sub> /UV	TiO <sub>2</sub> /UV	
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	TiO <sub>2</sub> /O <sub>2</sub> /UV	
	Ultra-som (US)	TiO <sub>2</sub> / H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	
<b>Sistemas homogêneos</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe <sup>2+</sup> /UV	ZnO/UV	<b>Sistemas heterogêneos</b>
	O <sub>3</sub> / H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV		
	<b>Sem irradiação</b>	<b>Sem irradiação</b>	
	O <sub>3</sub> / H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Eletro-Fenton	
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe <sup>2+</sup> (Fenton)	Fenton-like	
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Fe <sup>3+</sup>	heterogêneo	
	( <i>Fenton-like</i> )	(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Fe <sup>3+</sup> ) suportado em um sólido	

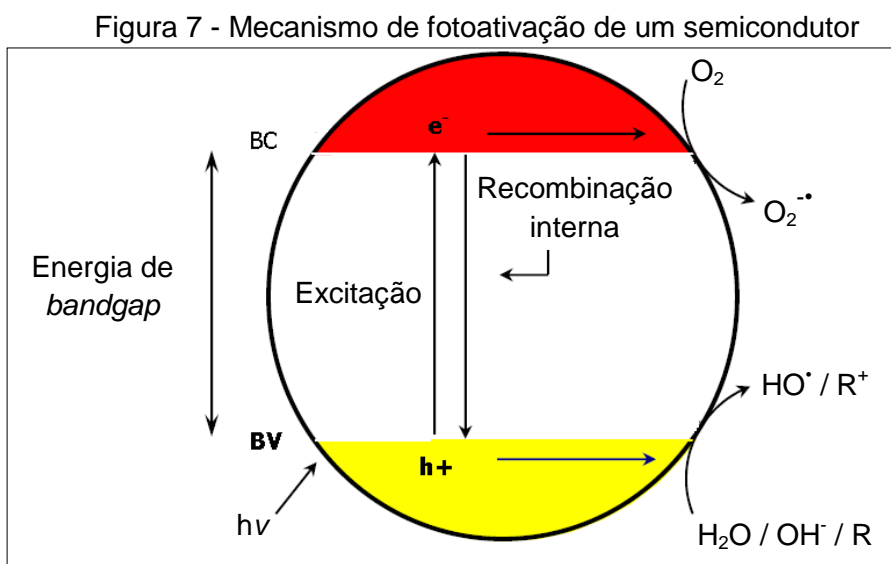
Fonte: Adaptado de RIBEIRO et al., 2015.

Esses processos podem ser utilizados para o tratamento de solos, de ar, de água ou de efluentes (NOGUEIRA et al., 2007; SANTOS; KONDO, 2006). Os POA podem ser empregados na remoção de diversos contaminantes emergentes (RIBEIRO et al., 2015; RIVERA-UTRILLA et al., 2013). Tijani, Fatoba e Petrik (2013) citam a aplicabilidade de diferentes POA na remoção de fármacos e interferentes endócrinos com base em dados da literatura, indicando que tais processos apresentam eficiência na degradação de tais substâncias.

### 2.3.1 Fotocatálise Heterogênea

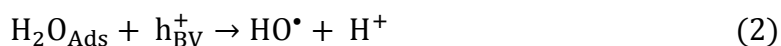
O processo de fotocatálise heterogênea é um dos POA que vem apresentando elevada eficiência na remoção de contaminantes e envolve a ativação de um semicondutor com energia intermediária de *bandgap*. Neste, a absorção de

fótons com energia superior à energia do bandgap permite a excitação de um elétron da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC), criando-se uma lacuna ( $h^+$ ) na banda de valência que resulta na formação dos radicais hidroxilas altamente reativos (Figura 7) (DENG; ZHAO, 2015; KONDO; JARDIM, 1991; NOGUEIRA; JARDIM, 1997).



Fonte: Adaptado de TEIXEIRA; JARDIM, 2004.

A absorção de fótons com energia superior à energia de *bandgap* resulta na excitação de um elétron para a banda de condução criando-se um par elétron/lacuna ( $e^-/h^+$ ) (Eq. 1), estes podem migrar para a superfície do semicondutor ou sofrer processo de recombinação. Se ocorrer a migração, a lacuna  $h^+$  gerada oxida moléculas de água adsorvidas à superfície do semicondutor resultando na geração dos radicais hidroxilas (Eq. 2). Além disso, moléculas do substrato adsorvidas podem reagir diretamente com a lacuna  $h^+$ . Na superfície da banda de condução o oxigênio dissolvido captura o elétron resultando na formação de radicais superóxidos, que possuem menor potencial de redução, mas também são capazes de oxidar compostos orgânicos (Eq. 3) (TEIXEIRA; JARDIM, 2004; RIBEIRO et al., 2015).





Além das moléculas de água, íons hidróxidos adsorvidos a superfície do catalisador também podem ser convertidos a radicais hidroxilas de acordo com a Eq. 4 (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).



Devido às suas estruturas eletrônicas, diversos semicondutores podem ser utilizados no processo de fotocatalise heterogênea, dentre eles pode-se citar  $\text{TiO}_2$ , CdS, ZnO e  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ . Estes podem estar imobilizados em superfícies sólidas (metais, por exemplo) ou podem ser empregados em suspensão aquosa (NOGUEIRA; JARDIM, 1997).

Um dos semicondutores mais empregados no processo de fotocatalise heterogênea é o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ), pois apresenta elevada fotoatividade, estabilidade química em uma ampla faixa de pH e não toxicidade. Outra vantagem da utilização do semicondutor  $\text{TiO}_2$  deve-se ao valor de sua energia de *bandgap* (3,2 eV), que corresponde a irradiação UV com comprimento de onda menor que 385 nm, o que possibilita a aplicação da fotocatalise empregando-se luz solar como fonte de energia (NOGUEIRA; JARDIM, 1997). Pode-se encontrar o  $\text{TiO}_2$  em três formas alotrópicas: anatase, rutilo e brookita, sendo a forma anatase mais fotoativa (MONTAGNER; PASCHOALINO; JARDIM, 2005).

A eficiência de um catalisador empregado no processo de fotocatalise heterogênea relaciona-se a diversos fatores: a natureza do catalisador, sua concentração, área superficial, entre outros. O  $\text{TiO}_2$  na estrutura cristalina anatase apresenta maior vantagem frente as estruturas rutilo e brookita, já que a forma anatase apresenta elevada capacidade de fotoabsorver o oxigênio reduzindo a recombinação elétron/lacuna ( $e^-/h^+$ ) (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). Além disso, outros fatores podem interferir no processo de fotocatalise heterogênea: concentração do contaminante orgânico, pH da solução, temperatura e características da radiação (YASMINA et al., 2014).

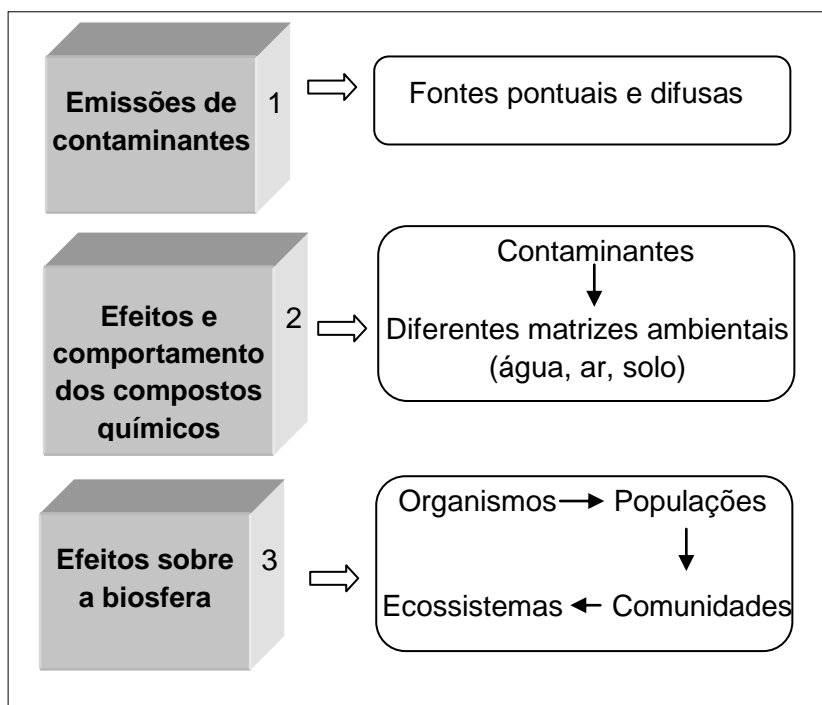
Apesar das diversas vantagens do uso dos POA na remoção de diversos contaminantes emergentes, deve-se atentar para possíveis efeitos ecotoxicológicos dos subprodutos de degradação, caso o composto removido não seja completamente mineralizado. A formação de compostos menos biodegradáveis e/ou mais tóxicos do que a molécula precursora pode resultar em efeitos negativos

ao meio ambiente. Assim, a realização de bioensaios se torna uma ferramenta útil para avaliação ecotoxicológica a tal exposição (Ribeiro et al. 2015).

## 2.4 Ecotoxicologia

A ecotoxicologia é uma ciência que permite prever os efeitos de determinadas substâncias (sintéticas ou naturais) a organismos, populações e comunidades após sucessivos eventos (Figura 8) (COSTA et al., 2008; RÉGO DA SILVA, POMPÊO, PAIVA, 2015).

Figura 8 - Cadeia da casualidade de contaminantes e efeitos sobre a biosfera



Fonte: Adaptado de COSTA et al., 2008.

Os dados toxicológicos podem indicar a nocividade de determinadas substâncias para respectivos organismos a partir de ensaios que avaliam a contaminação ambiental de determinadas amostras. Esses testes empregam organismos indicadores como *Daphnia similis*, *Raphidocelis subcapitata* e *Danio rerio*, que podem apresentar alguma modificação morfológica, fisiológica ou comportamental após sua exposição à substância potencialmente nociva (BRAZ et al., 2014; CANDIDO et al., 2016; MAGALHÃES; FERRÃO, 2008).

Os testes ecotoxicológicos são realizados com base em protocolos padronizados e devem ser determinados considerando-se a representatividade da

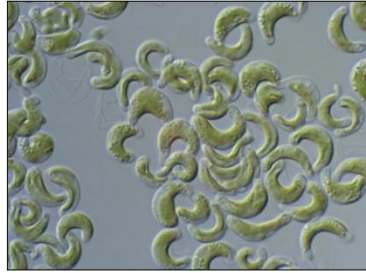
espécie no ecossistema aquático em estudo, sua abundância, entre outros fatores (MAGALHÃES; FERRÃO, 2008). Além disso, pode avaliar a toxicidade aguda (exposição acentuada em um curto período de tempo) ou crônica (exposição a menores concentrações do contaminante, porém em um maior período de tempo) do organismo frente à substância potencialmente nociva (GHISELLI; JARDIM, 2007; MAGALHÃES; FERRÃO, 2008). Os valores numéricos de toxicidade aguda e crônica podem ser expressos em termos de diversos parâmetros (dose letal média - DL<sub>50</sub>, concentração letal média - CL<sub>50</sub> e concentração efetiva média - CE<sub>50</sub>, por exemplo). A CE<sub>50</sub> corresponde a concentração da amostra (geralmente expressa em mg L<sup>-1</sup>) que pode resultar em efeito agudo (imobilidade) a 50% dos organismos teste após 24 ou 48 horas de exposição (COSTA et al., 2008).

No Brasil a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) são agências que elaboram as respectivas normas técnicas para avaliação ecotoxicológica empregando-se diferentes bioindicadores (RÊGO DA SILVA, POMPEO, PAIVA, 2015). Além disso, recomenda-se que a avaliação ecotoxicológica seja realizada com organismos de diferentes níveis tróficos, já que os bioindicadores apresentam sensibilidade distinta para o mesmo contaminante (COSTA et al., 2008).

#### **2.4.1 Microalga *Raphidocelis subcapitata***

O emprego de algas como bioindicador fornece dados importantes, já que estas são produtores primários e situam-se na base da cadeia alimentar. Assim, qualquer modificação em suas dinâmicas podem interferir nos níveis tróficos superiores. A microalga unicelular de água doce *R. subcapitata* é amplamente empregada em ensaios de toxicidade crônica pois apresenta rápido crescimento e sensibilidade a alterações do meio (COSTA et al., 2008). A Figura 9 apresenta a disposição das células da microalga *R. subcapitata* observadas ao microscópio óptico na Câmara de Neubauer.

Figura 9 – Microalga *Raphidocelis subcapitata*



Fonte: Google imagens.

O efeito observado ao fim do período de exposição pré-estabelecido (72 ou 96 horas) relaciona-se a interferência no crescimento algáceo na presença do potencial contaminante e sob condições normais de cultivo (controle) (COSTA et al., 2008).

#### 2.4.2 Microcrustáceo *Daphnia similis*

Os crustáceos são organismos de água doce da ordem *Cladocera* que são amplamente distribuídos em corpos d'água atuando como consumidores primários e como fontes de alimentos para peixes (COSTA et al., 2008). O microcrustáceo *Daphnia similis* possui comprimento máximo de 3,5 mm e se alimenta de material orgânico particulado em suspensão (Figura 10) (ABNT, 2016).

Figura 10 - Microcrustáceo *Daphnia similis*



Fonte: Google imagens.

Tais organismos apresentam um ciclo de vida relativamente curto, são cultivadas em laboratório com fácil manutenção, possuem reprodução por partenogêneses e apresentam sensibilidades a diversos contaminantes aquáticos (COSTA et al., 2008). O microcrustáceo *Daphnia similis* podem ser empregado em ensaios agudos (48 horas de duração) em que avalia-se o número de organismos imobilizados após a exposição ao contaminante, ou em testes de toxicidade crônica

(21 dias) em que avalia-se parâmetros como taxa de natalidade dos organismos utilizados (RÊGO DA SILVA; POMPÊO; PAIVA, 2015).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Reagentes e materiais

- Acetonitrila grau HPLC – Dinâmica
- Ácido Clorídrico 1,0 mol L<sup>-1</sup> - Chemco
- Água ultrapura – sistema Millipore Milli-Q
- Água de nascente – Comunidade Sol de Deus, Itajubá - MG
- Bisfenol A (C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>) (≥99,0%) - Sigma-Aldrich
- Dióxido de titânio – Degussa P25
- Frascos âmbar
- Hidróxido de sódio 1,0 mol L<sup>-1</sup> - Dinâmica
- Membrana de éster de celulose – 0,45 µm de porosidade e 0,47 mm de diâmetro – Química Moderna
- Membrana de fibra de vidro – Maqcherey-Nagel
- Meio L. C. Oligo
- Papel de filtro Quanta – Maqcherey-Nagel
- Seringa de vidro BD Yale

#### 3.2 Equipamentos

- Aerador – VigoAr 60
- Agitador magnético – Modelo NI 1108 - Nova Instruments
- Autoclave vertical – Modelo 415 - Fanem
- Balança analítica – Shimadzu (ATX-224)
- Banho ultrassônico – Tecnal TE-0581
- Bomba a vácuo – Modelo TE-0581 - Tecnal
- Câmara de Fluxo laminar vertical – Modelo 960/4 - Filterflux
- Centrífuga – Modelo Heraeus Megafuge 16R – Thermo Fisher
- CLAE – Modelo 1260 Infinity series - Agilent
- Coluna cromatográfica – Modelo ZORBAX SB – C8/ Rapid Resolution HT (150 mm x 3,0 mm, 1,8 µm)
- Condutivímetro – Alfa Mare
- Fotoreator - Intral AS. Indústria de Materiais Elétricos
- Micropipeta – LABMAT

- Lâmpada a vapor de Hg 125 W – GE Iluminação do Brasil Comércio de lâmpadas LTDA
- Luxímetro Digital – Modelo: Wm 1850 - Icel
- pHmetro – Modelo B747 - Micronal
- Radiômetro – Modelo: MPA 2100 – Solar Light
- Oxímetro – Modelo: Termianal Level 3 – WIW Inolab

### **3.3 Metodologia**

#### **3.3.1 Preparo da solução estoque e solução trabalho de bisfenol A**

Preparou-se a solução padrão estoque empregando-se 100 mg de BFA (Sigma Aldrich, 99,0%) avolumando-o com acetronitrila em balão volumétrico de 100 mL, obtendo-se uma concentração final de 1000 mg L<sup>-1</sup>. A solução padrão trabalho I (10 mg L<sup>-1</sup>) foi preparada a partir da diluição de 1,0 mL da solução estoque em uma mistura acetonitrila/água (60:40 v/v), avolumando-a em um balão volumétrico de 100 mL. Preparou-se também uma solução trabalho II (1000 mg L<sup>-1</sup>) empregando-se 100 mg do padrão de BFA Sigma Aldrich, avolumando-o em balão volumétrico de 100 mL com uma mistura acetonitrila/água (60:40 v/v).

Além das soluções descritas, preparou-se uma solução de BFA (1000 mg L<sup>-1</sup>) a partir do padrão Sigma Aldrich avolumando-o em uma mistura água de nascente/acetonitrila (85:15 v/v) (Solução trabalho III). Empregou-se tal proporção de solventes, para utilização nos ensaios ecotoxicológicos.

As soluções foram armazenadas em frasco âmbar e mantidas sob refrigeração.

#### **3.3.2 Validação do método analítico**

Para a quantificação do analito utilizou-se a técnica Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), equipamento Agilent 1260 Infinity equipado com coluna ZORBAX SB – C8/ Rapid Resolution HT (comprimento de 150 mm, diâmetro de 3,0 mm e partículas de 1,8 µm), detector Fluorescência (FLD) e Arranjo de Diodo (DAD) (Figura 11).

Figura 11 - Cromatógrafo Líquido empregado nas análises (Agilent 1260 Infinity)



Fonte: Próprio autor.

A otimização do método analítico foi realizada baseando-se em Aristiawan et al. (2015) e Ballesteros-Gómez et al. (2009) (Tabela 6). A validação foi realizada de acordo com os parâmetros estipulados pela ANVISA (BRITO et al., 2002; RIBANI et al., 2004). O método foi validado avaliando-se os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade e faixa de aplicação, sensibilidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão, precisão e robustez. O tratamento estatístico dos dados foi feito empregando-se o *software* OriginPro 7.0.



Tabela 6 - Condições cromatográficas para a determinação do BFA

<b>Fase móvel</b>	40% Água deionizada 60% Acetonitrila	Aristiawan et al. (2015)
<b>Temperatura da coluna</b>	45,0 ± 1,0°C	Adaptado de Ballesteros-Gómez et al. (2009)
<b>Vazão fase móvel</b>	0,20 mL min <sup>-1</sup>	Adaptado de Aristiawan et al. (2015)
<b>Tempo de corrida</b>	10 minutos	Adaptado de Aristiawan et al. (2015)
<b>Volume de injeção</b>	10 µL	Aristiawan et al. (2015)
<b>Sistema de detecção</b>	FLD (Detector de Fluorescência) $\lambda_{\text{excitação}}$ : 275 nm $\lambda_{\text{emissão}}$ : 300 nm  UV/DAD (220 nm/ 228 nm/ 280 nm)	Adaptado de Aristiawan et al. (2015) e Ballesteros-Gómez et al. (2009)

Fonte: Próprio autor

### 3.3.2.1 Seletividade

Avaliou-se a seletividade do método analítico comparando-se a matriz isenta do analito (branco), que consistia em uma mistura acetonitrila/água 60:40 (v/v), com a matriz fortificada com o BFA (800 µg L<sup>-1</sup>) (RIBANI et al., 2004).

### 3.3.2.2 Linearidade

A linearidade foi avaliada pelo método matemático de regressão linear após a análise da curva analítica preparada a partir da diluição da solução trabalho I em acetonitrila/água (60:40 v/v). As soluções de diferentes concentrações de BFA (5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 100; 200; 300; 400; 500; 600; 700; 800; 900; 1000 µg L<sup>-1</sup>) foram preparadas em triplicata e analisadas por CLAE.

### 3.3.2.3 Sensibilidade

A partir da comparação dos coeficientes angulares da curva analítica determinou-se qual detector apresentou maior sensibilidade na quantificação do BFA nas condições em estudo.

### 3.3.2.4 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Determinou-se o LD e LQ a partir do método sinal-ruído comparando-se os sinais analíticos da solução de BFA em baixas concentrações e do branco (mistura acetonitrila/água 60:40 (v/v)). Considerou-se a relação sinal-ruído na proporção de 3:1 e 10:1 para o LD e LQ, respectivamente. Os sinais analíticos foram medidos com o auxílio de uma régua. A fim de comparação, determinou-se também o LD e o LQ com base nos parâmetros da curva analítica de acordo com as equações 5 e 6, respectivamente (RIBANI et al., 2004).

$$LD = 3,3x \frac{S}{S} \quad (5)$$

$$LQ = 10 x \frac{S}{S} \quad (6)$$

Em que  $s$  é desvio padrão do coeficiente linear da equação da reta e  $S$  é o coeficiente angular da curva analítica.

### 3.3.2.5 Exatidão

Devido à impossibilidade do uso do Material de Referência Certificado (MRC) de água contaminada com o BFA, a exatidão do método foi avaliada empregando-se ensaios de recuperação. Preparou-se, em triplicata, três soluções em água ultrapura fortificadas em três níveis de concentração (300; 500 e 700  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) a partir da diluição da solução trabalho I. Estas foram analisadas por CLAE e comparou-se o fator de recuperação (R) (Eq. 7) das soluções com os valores estabelecidos pela literatura (BRITO et al., 2002).

$$R (\%) = \frac{\text{Média do valor obtido}}{\text{Média do valor adicionado}} \times 100 \quad (7)$$

### 3.3.2.6 Precisão

A precisão foi avaliada com base em ensaios de repetitividade e de precisão intermediária. Com o objetivo de determinar a repetitividade, preparou-se 10 soluções de BFA de concentração 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  em acetonitrila/água ultrapura (60:40 v/v) e as mesmas foram analisadas por CLAE. Calculou-se o coeficiente de variação (CV (%)) e comparou-se com os valores estipulados pela literatura (RIBANI et al., 2004).

Determinou-se a precisão intermediária preparando-se 10 soluções de BFA concentração  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  em acetonitrila/água ultrapura (60:40 v/v) analisando-as por CLAE. Estas soluções foram preparadas inicialmente pelo Analista 1. Em dias diferentes, outras 10 soluções de BFA concentração  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  foram preparadas e analisadas nas mesmas condições descritas, porém pelo Analista 2.

Calculou-se o fator de recuperação (R) e os resultados foram avaliados pelo teste F e pelo teste t, em um nível de 95% de confiança.

### **3.3.2.7 Robustez**

Determinou-se a robustez do método analítico empregando-se três soluções de BFA ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparadas pela diluição da solução trabalho I em uma mistura acetonitrila/água (60:40 v/v). As soluções foram analisadas variando-se  $\pm 5,0\%$  as seguintes condições cromatográficas: composição da fase móvel, vazão da fase móvel, volume de injeção e temperatura da coluna. Os valores de recuperação (%) foram comparados com o estabelecido pela literatura (BRITO et al., 2002).

### **3.3.3 Estudo da estabilidade do BFA em solução aquosa**

Preparou-se uma solução de BFA ( $800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em água ultrapura Milli-Q pela diluição da solução trabalho II para avaliação periódica da degradação natural. A solução foi armazenada em frasco âmbar, revestida por papel alumínio à temperatura ambiente por um período de 10 semanas. Retirou-se alíquotas semanalmente para análise por CLAE.

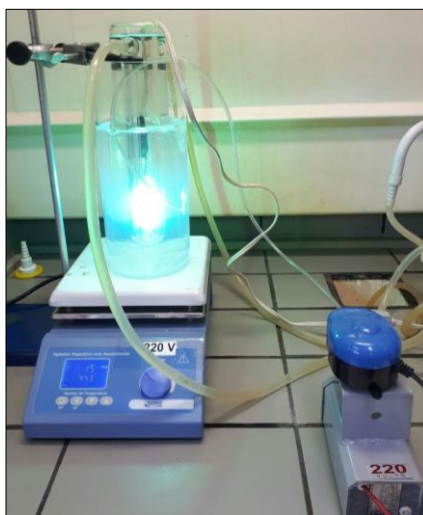
### **3.3.4 Ensaios de degradação do BFA**

#### **3.3.4.1 Estudo da degradação do BFA empregando fotocatalise heterogênea - $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial**

A degradação do BFA foi realizada empregando-se um reator de dupla jaqueta (borossilicato) com 1,5 cm de espessura e 27 cm de altura. Uma lâmpada a vapor de mercúrio de 125 W de potência e  $\lambda_{\text{max}}$  365 nm foi inserida no interior do reator por meio de um tubo, e em seguida, o conjunto foi introduzido ao recipiente de vidro (2 litros) contendo 1,0 L da solução de BFA ( $C_{\text{inicial}} 800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada a partir da diluição da solução trabalho II em água ultrapura (Figura 12) (KONDO; JARDIM, 1991).

Realizou-se os ensaios em pH sem ajuste (5,3) e em pH 8,5, sendo que o ajuste do pH foi realizado empregando-se soluções de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> e HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Manteve-se a lâmpada acesa por 5 minutos antes do início do processo de degradação. A solução foi irradiada por 1 hora, sob agitação (600 rpm), aeração constante (proveniente de uma bomba de aquário - 60 mL min<sup>-1</sup>) e temperatura ambiente, retirando-se alíquotas em intervalos de tempo pré-determinados (0, 15, 30, 45 e 60 min). Em seguida, as amostras foram filtradas em membrana de mistura de ésteres (0,45 µm de porosidade) e armazenadas para posterior análise cromatográfica. O processo de fotocatalise heterogênea foi otimizado como descrito, empregando-se diferentes concentrações do semicondutor TiO<sub>2</sub> (1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10 mg L<sup>-1</sup>).

Figura 12 - Sistema utilizado no processo de degradação com radiação UV artificial, agitação e aeração constante



Fonte: Próprio autor.

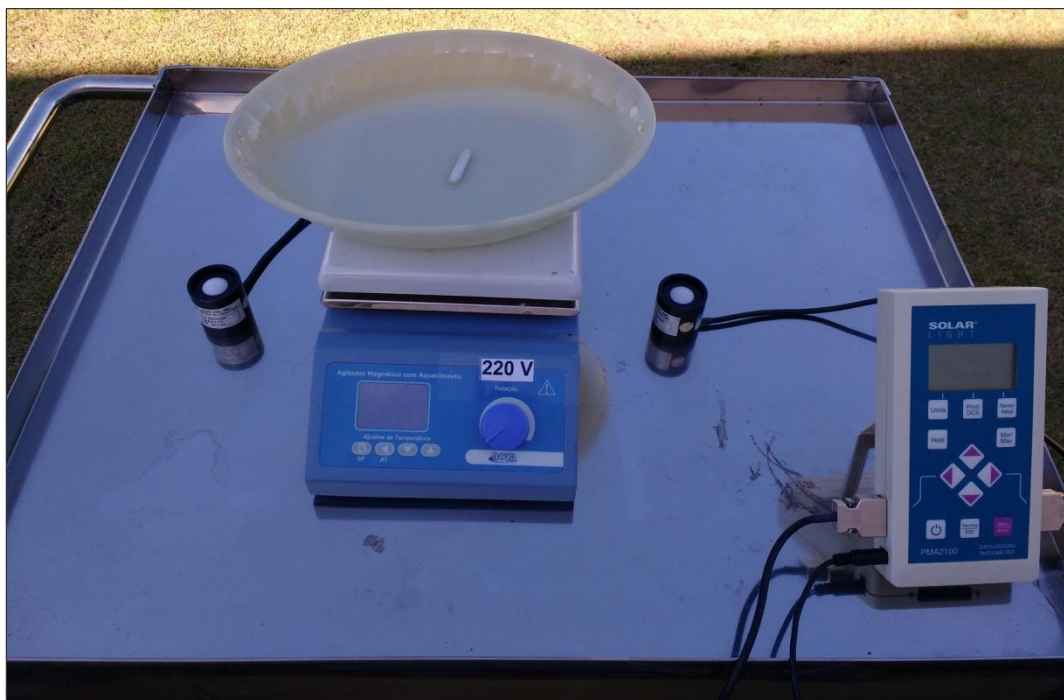
#### **3.3.4.2 Estudo da degradação do BFA empregando fotocatalise heterogênea e radiação solar**

Após a determinação da condição otimizada do sistema TiO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>/UV artificial, estudou-se o processo de fotocatalise heterogênea utilizando radiação solar como fonte de energia.

Adicionou-se 1,0 L da solução de BFA (C<sub>inicial</sub> 800 µg L<sup>-1</sup>) preparada a partir da diluição da solução trabalho II em água ultrapura a um recipiente de vidro (2 litros, 30 x 23 cm e 2,8 de altura da solução). Realizou-se os ensaios em pH sem ajuste e em pH 8,5 (o ajuste do pH foi realizado empregando-se soluções de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> e HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>) empregando-se a massa otimizada de TiO<sub>2</sub>. O estudo

foi realizado na cidade de Itajubá - MG (latitude de 22° 24' 45", longitude 45° 26' 58", a 850 metros acima do nível do mar), no mês de julho e sob condições de céu claro (Figura 13).

Figura 13 - Sistema empregado no processo de degradação utilizando radiação solar



Fonte: Próprio autor.

A solução foi irradiada por 1 hora, sob agitação constante (300 rpm), retirando-se alíquotas (5,0 mL) em intervalos de tempo pré-determinados (0, 15, 30, 45 e 60 min). Em seguida, as amostras foram filtradas em membrana de mistura de ésteres (0,45  $\mu\text{m}$  de porosidade) e armazenadas para posterior análise cromatográfica.

Os ensaios foram realizados entre o período das 11:00 h às 14:00 h. Além disso, empregou-se um radiômetro com sensor na região UVA (320 a 400 nm) para a quantificação da radiação acumulada durante o processo de degradação.

### 3.3.5 Estudos controle

Realizou-se também estudos controle a fim de avaliar a eficiência dos parâmetros utilizados no processo de fotodegradação isoladamente.

### 3.3.5.1 Avaliação da adsorção do BFA na superfície do catalisador (TiO<sub>2</sub>)

Com o objetivo de avaliar a eficiência do emprego isolado do catalisador TiO<sub>2</sub>, realizou-se um procedimento similar ao descrito no item 3.3.4.1, porém sem a presença da irradiação UV artificial e sem aeração constante. O estudo controle foi realizado empregando-se a massa otimizada do catalisador pelo período de 1 hora.

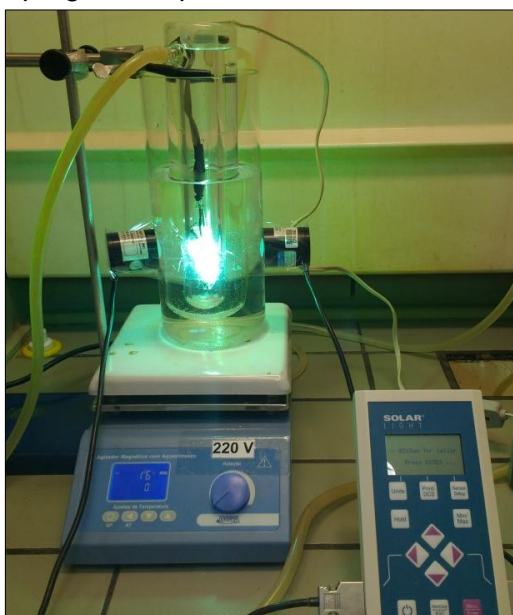
### 3.3.5.2 Avaliação da degradação do BFA sob aeração constante

Adicionou-se 1,0 L da solução de BFA ( $C_{\text{inicial}} = 800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) preparada a partir da diluição da solução trabalho II em água ultrapura ao recipiente de vidro (2,0 L) e manteve-se sob aeração constante (proveniente de uma bomba de aquário -  $60 \text{ mL min}^{-1}$ ) durante o período de 1 hora. Retirou-se alíquotas (5,0 mL) em intervalos de tempo pré-determinados (0, 15, 30, 45 e 60 min). Em seguida, as amostras foram filtradas em membrana de mistura de ésteres ( $0,45 \mu\text{m}$  de porosidade) e armazenadas para posterior análise cromatográfica.

### 3.3.5.3 Processo de fotólise direta empregando radiação UV artificial

Realizou-se um procedimento similar ao descrito no item 3.3.4.1, porém não empregou-se o catalisador TiO<sub>2</sub>. A solução foi irradiada por um período de 1 hora e quantificou-se a radiação acumulada proveniente da lâmpada de vapor de Hg (Figura 14)

Figura 14 - Sistema empregado no processo de fotólise direta utilizando UV artificial



Fonte: Próprio autor.

### 3.3.5.4 Processo de fotólise direta empregando radiação solar

Realizou-se o procedimento descrito no item 3.3.4.2, porém não utilizou-se a massa otimizada do catalisador  $\text{TiO}_2$ . A solução de BFA ( $C_{\text{inicial}} 800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) foi irradiada por 1 hora e quantificou-se a radiação acumulada durante o processo.

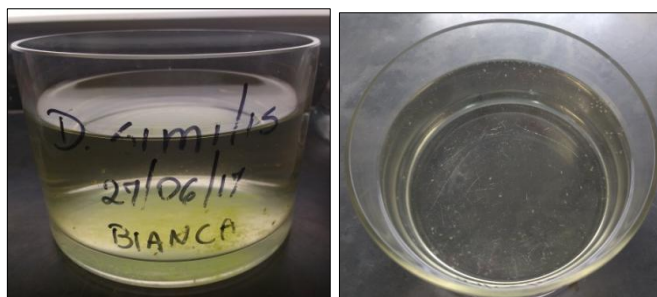
### 3.3.6 Ensaio ecotoxicológicos

#### 3.3.6.1 Avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia similis*

Os testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia similis* foram realizados de acordo com a Norma NBR 12713/2016.

Para o ensaio de toxicidade aguda empregou-se fêmeas ovadas proveniente de uma cultura de organismos adultos que foram incubados por um período de 3 semanas no Laboratório de Limnologia da Universidade Federal de Itajubá-MG (Figura 15).

Figura 15 - Culturas de fêmeas adultas de *Daphnia similis*



Fonte: Próprio autor

As fêmeas ovadas foram retiradas da cultura de organismos adultos e colocadas em cubas contendo 1,0 L de água de nascente, alimentadas com 10 mL da microalga *Raphidocelis subcaptata* ( $10^5 \text{ cel mL}^{-1}$ ), suplementos a base de ração de peixe (0,2 mL por organismo) e 125  $\mu\text{L}$  de fonte de carbono. A nova cultura foi levada para a incubadora a 22,0°C com fotoperíodo controlado (12 h claro/12 h escuro) e neonatos de 6 a 24 horas provenientes desta cultura foram utilizados nos ensaios de ecotoxicidade.

Os testes foram realizados com as alíquotas retiradas após o processo de fotocatalise empregando-se a condição otimizada do sistema  $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$  artificial. Entretanto, a solução de BFA submetida ao processo foi preparada em água de nascente proveniente da Comunidade Sol de Deus – Itajubá, MG a partir da diluição da solução trabalho III. A utilização de água de nascente deve-se ao fato que esta

possui nutrientes necessários para a sobrevivência dos bioindicadores. Além destas, realizou-se um ensaio com o controle reacional, empregando amostras após o processo de fotocatalise heterogênea sem a presença de BFA.

Os testes foram realizados em quadruplicata empregando-se 10,0 mL da respectiva solução a ser avaliada e 5 organismos. Além do controle reacional, realizou-se o ensaio empregando-se somente água de nascente. Empregou-se béqueres de 50 mL para a realização dos testes.

Os testes foram realizados em sistema estático e os organismos foram mantidos sem alimentação. Os mesmos foram incubados a  $22,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$  e protegidos de luz (Figura 16). Realizou-se a contagem dos organismos imobilizados após 24 h e 48 h de exposição.

Figura 16 - Esquema empregado no ensaio com *Daphnia similis*



Fonte: Próprio autor.

Realizou-se o monitoramento dos parâmetros físicos e químicos das soluções no início do teste e após 48 h de exposição, tais como condutividade, pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura.

### **3.3.6.2 Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* para determinação do $\text{CE}_{50}$**

Realizou-se um ensaio de toxicidade aguda como descrito no Item 3.3.6.1, porém empregando-se soluções de BFA em diferentes concentrações (3,0; 5,0; 8,0; 10,0 e  $12,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), preparadas pela diluição da solução trabalho III em água de nascente. O resultado foi determinado empregando-se o *software* Jspear.

### **3.3.6.3 Ensaio de toxicidade crônica com *Raphidocelis subcapitata***

Os testes de toxicidade crônica com a microalga *R. subcapitata* foram realizados de acordo com a Norma NBR 12648/2011.



Inicialmente todos os materiais empregados no ensaio foram autoclavados a 120°C por 15 minutos, assim como o meio de cultura L.C. Oligo utilizado como meio do crescimento algal. Na Tabela 7 seguem apresentados os reagentes empregados para o preparo do meio L. C Oligo.

Tabela 7 - Soluções para preparo do meio L. C. Oligo

<b>Solução</b>	<b>Reagente</b>	<b>Quantidade (mg)</b>	<b>Preparo</b>
1	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	4000	Dissolver e diluir a 100,0 mL com água de nascente
2	KNO <sub>3</sub>	10000	Dissolver e diluir a 100,0 mL com água de nascente
3	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3000	Dissolver e diluir a 100,0 mL com água de nascente
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4000	Dissolver e diluir a 100,0 mL com água de nascente
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	30	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> .4H <sub>2</sub> O	60	
	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	60	
5	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	60	Dissolver e diluir a 1000,0 mL com água de nascente
	Mn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	60	
	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	60	
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	60	
	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> FeO <sub>7</sub> .5H <sub>2</sub> O	1625	
6	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	625	Dissolver e diluir a 1000,0 mL com água de nascente
	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	625	
7	NaHCO <sub>3</sub>	15000	Dissolver e diluir a 1000,0 mL com água de nascente

Fonte: NBR 12648/2011

Após o preparo das soluções descritas na Tabela 7, adicionou-se os respectivos volumes como descrito na Tabela 8 para preparo de 1,0 L do meio L. C Oligo.

Tabela 8 - Volume das soluções para preparo do meio L. C. Oligo

<b>Solução</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>Volume (mL)</b>	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5	1,0

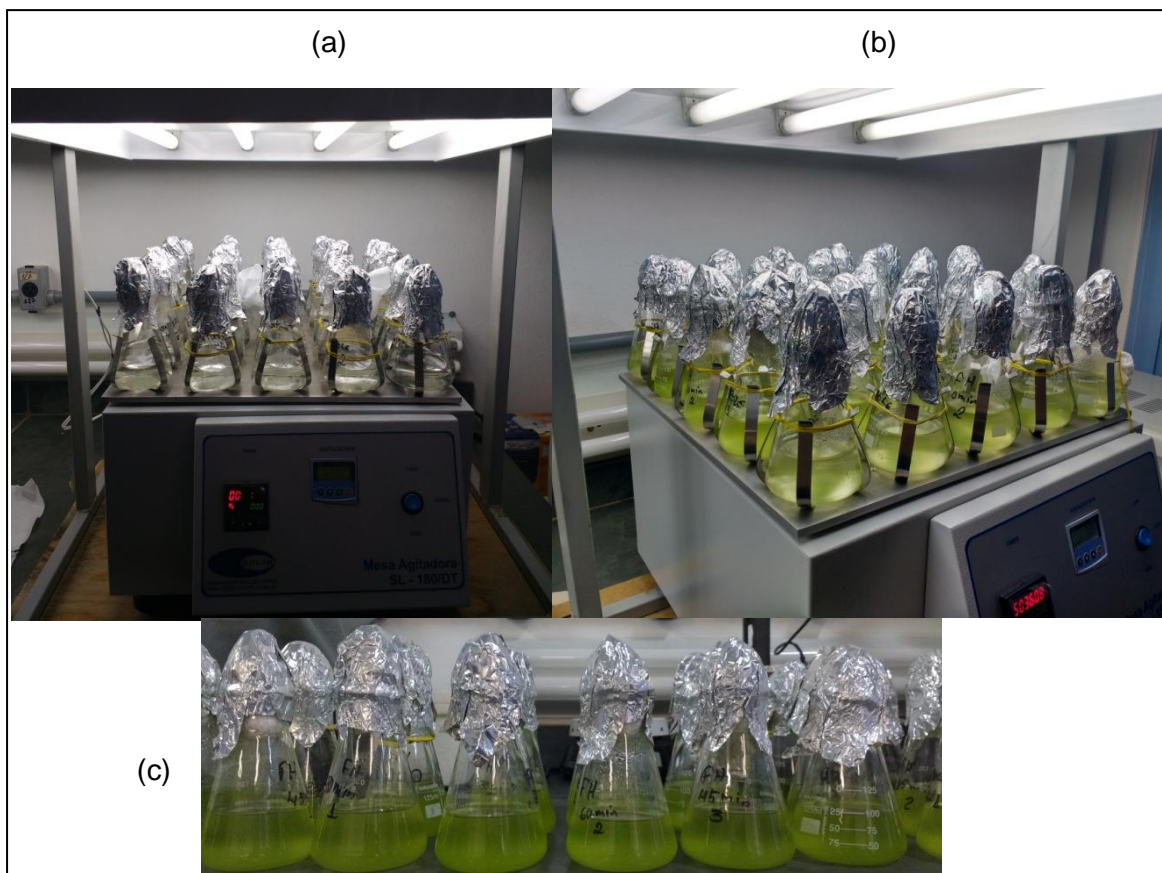
Fonte: NBR 12648/2011

Para o preparo do inóculo algal empregou-se uma amostra de cultura líquida de alga e após o inóculo ( $10^5$  cel mL<sup>-1</sup>) a mesma foi mantida em crescimento exponencial 7 dias antes do ensaio, sob determinadas condições de temperatura, luminosidade e aeração constante. Após a fase de crescimento exponencial realizou-se a reconcentração do inóculo a fim de se obter uma solução algal de concentração ideal para a inoculação das soluções testes e determinou-se sua concentração pela contagem celular na câmara de Neubauer empregando-se um microscópio óptico (Eq. 8).

$$Biomassa\ de\ algas\ (cel\ mL^{-1}) = \frac{número\ de\ algas\ contadas}{64} \times 1,6 \times 10^5 \quad (8)$$

Após a contagem realizou-se o inóculo das soluções testes em triplicata empregando-se Erlenmeyer de 125 mL. Assim, adicionou-se 0,215 mL do concentrado algal a 100,0 mL das respectivas soluções (94,0 mL do meio L. C Oligo e 6,0 mL das soluções submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea com e sem BFA), perfazendo uma concentração inicial de  $10^5$  cel mL<sup>-1</sup>. Preparou-se também, amostras controle, adicionando-se 0,215 mL do concentrado algal a 100,0 mL do meio L. C Oligo. A inoculação foi realizada na câmara de fluxo laminar para evitar possíveis contaminações. Em seguida, as soluções testes foram mantidas por 72 h, à temperatura de  $23,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ , sob intensidade luminosa superior a 4500 lux e agitação constante de 120 rpm (Figura 17).

Figura 17 - Esquema empregado no ensaio crônico com *R. subcapitata* (a) no início do teste, (b) após 48 horas de exposição e (c) ao fim do teste



Fonte: Próprio autor.

Os Erlenmeyers foram aleatorizados diariamente e após 72 h de exposição retirou-se 5,0 mL das soluções testes adicionando-se as mesmas 3 gotas de lugol (5%) para inibir o aumento ou decaimento celular. A contagem do crescimento algáceo final foi realizado empregando-se a câmara de Neubauer e microscópio óptico, obtendo-se a porcentagem de inibição (%I) (Eq. 9) e a biomassa algácea final (Eq. 8).

$$\%I = \frac{M_c - M_a}{M_c} \times 100 \quad (9)$$

Em que %I corresponde à porcentagem de inibição do crescimento algáceo,  $M_a$  a média do número de células das soluções testes e  $M_c$  a média do número de células do controle.

O teste foi validado já que a biomassa final do controle foi 16 vezes superior à biomassa inicial. Além disso, o coeficiente de variação (CV%) da biomassa

algácea entre as réplicas do controle foi de 8,6% (< 20% como recomendado pela norma).

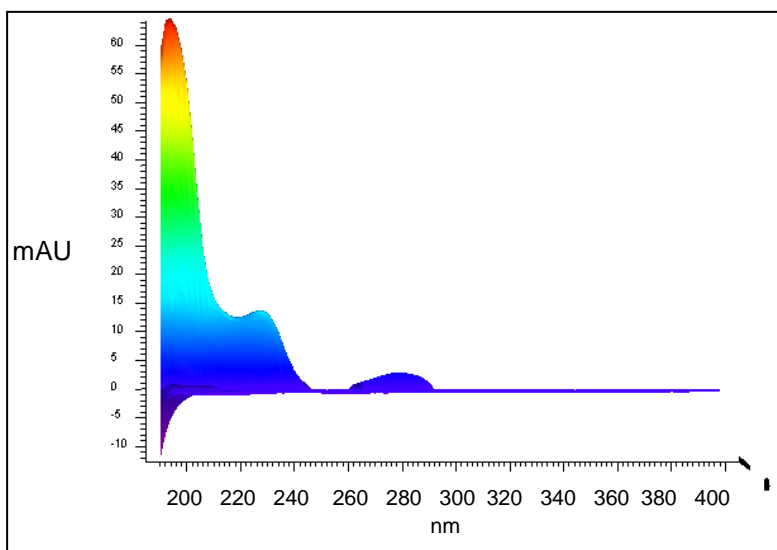
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Validação do método analítico

#### 4.1.1 Seletividade

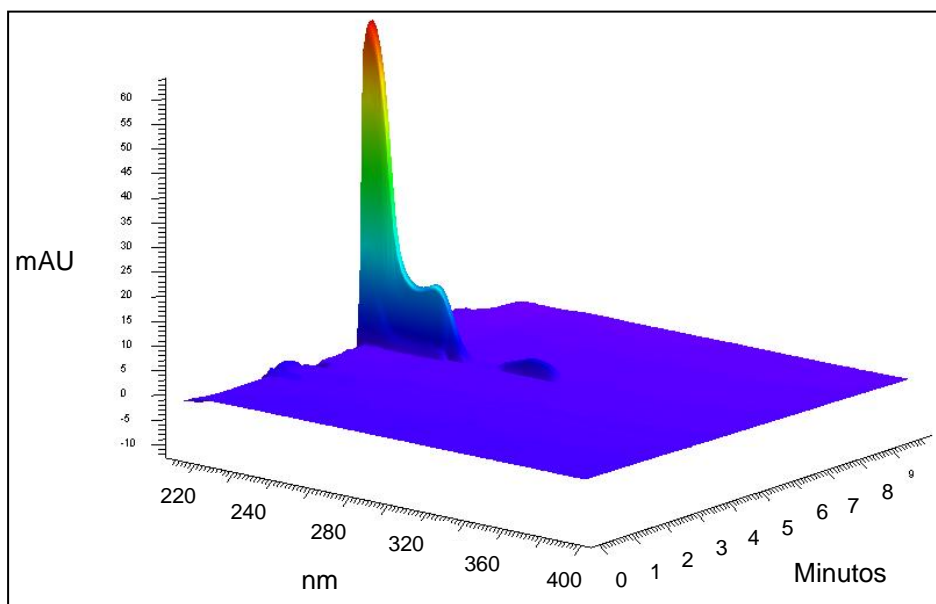
As Figuras 18 e 19 apresentam, respectivamente, os espectros de absorção bidimensionais e tridimensionais de uma solução de  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  de BFA preparada em 60:40 v/v acetonitrila/água.

Figura 18 - Espectro de absorção bidimensional da solução  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  BFA



Fonte: Próprio autor.

Figura 19 - Espectro de absorção tridimensional da solução  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  BFA

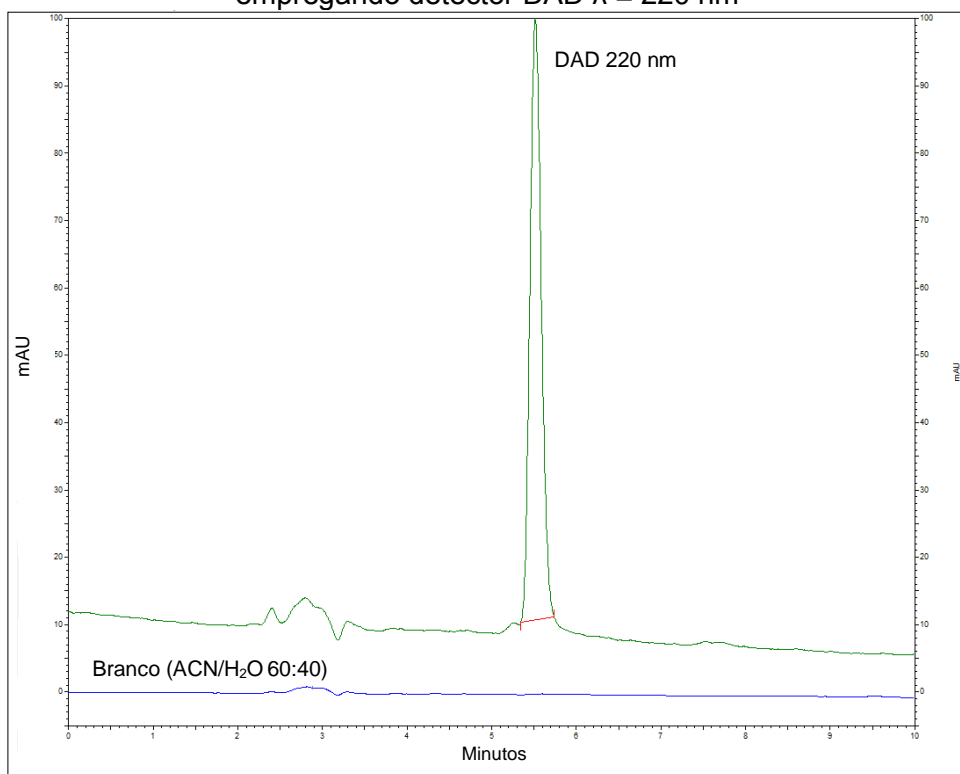


Fonte: Próprio autor.

Observou-se que em aproximadamente 220, 230 e 280 nm houve uma absorção considerável do BFA ( $\approx 5,5$  min) e com menores interferências de outras substâncias, assim optou-se por tais comprimentos de onda na análise UV/DAD.

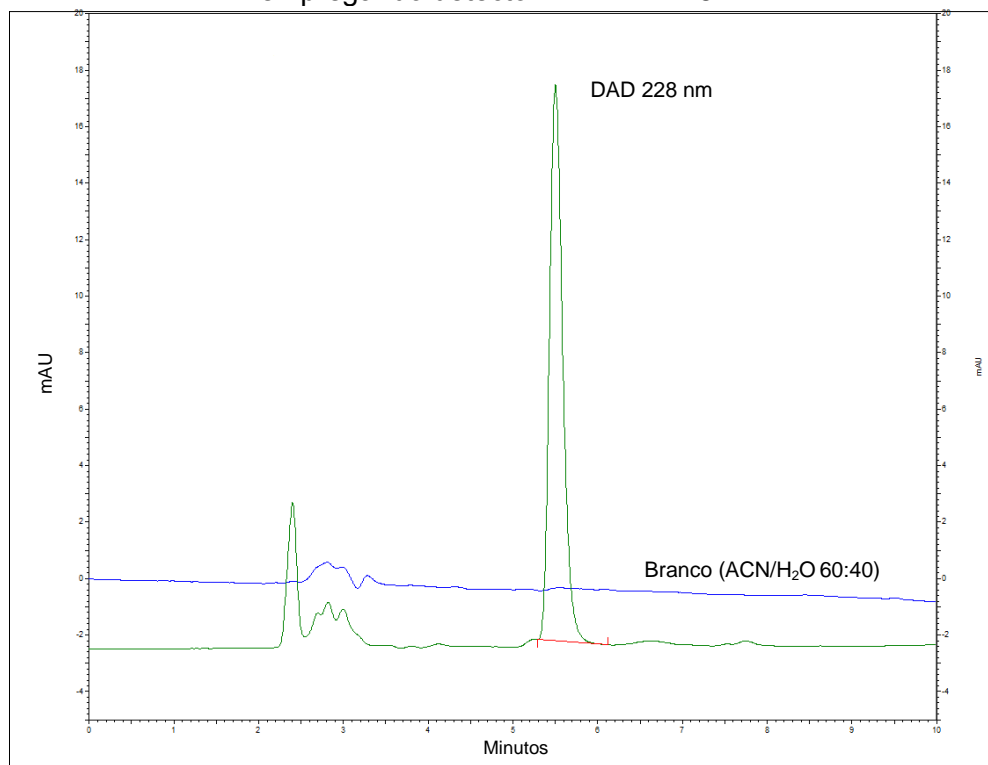
As Figuras 20, 21, 22 e 23 apresentam, respectivamente, os cromatogramas sobrepostos após as análises por CLAE empregando-se o detector DAD nos comprimentos de onda: 220 nm, 228 nm e 280 nm e o detector FLD  $\lambda_{\text{Excitação}}$  275 nm e  $\lambda_{\text{Emissão}}$  300 nm.

Figura 20 - Cromatograma da solução BFA  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  e do branco ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  60:40 (v/v) empregando detector DAD  $\lambda = 220$  nm



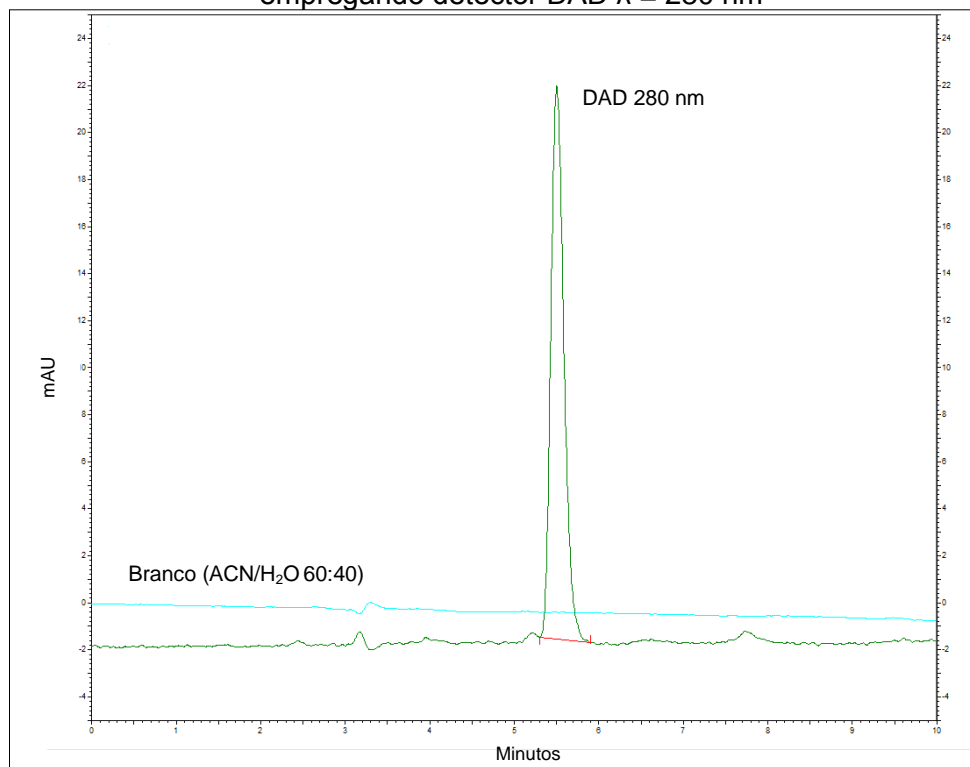
Fonte: Próprio autor.

Figura 21 - Cromatograma da solução BFA  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  e do branco ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  60:40 (v/v) empregando detector DAD  $\lambda = 228 \text{ nm}$



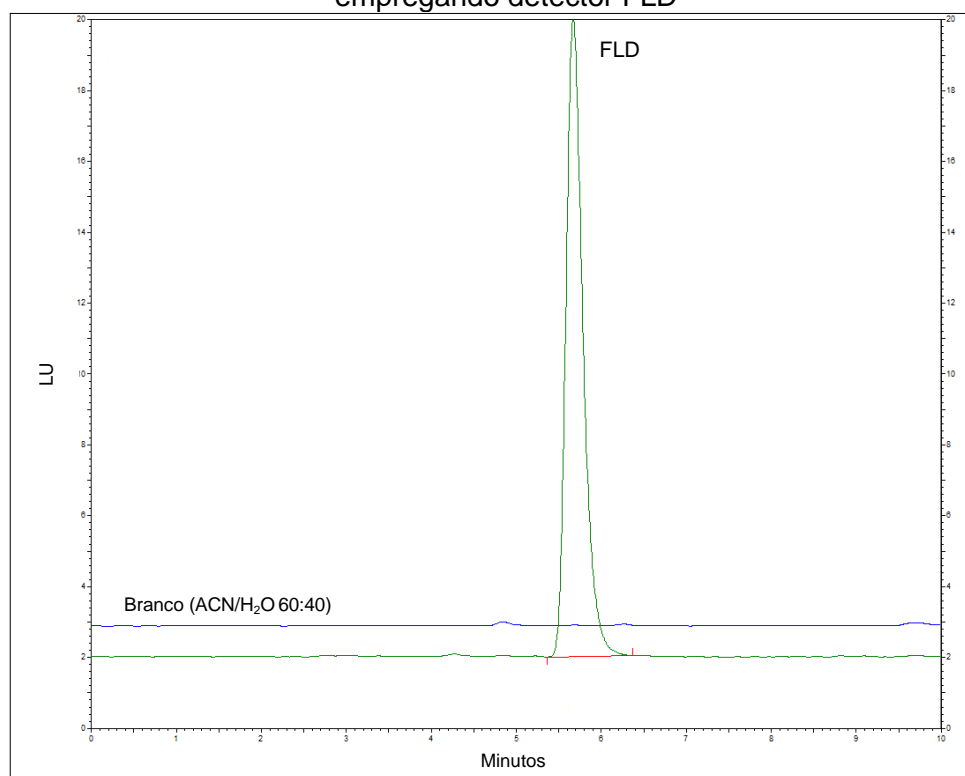
Fonte: Próprio autor.

Figura 22 - Cromatograma da solução BFA  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  e do branco ACN/ $\text{H}_2\text{O}$  60:40 (v/v) empregando detector DAD  $\lambda = 280 \text{ nm}$



Fonte: Próprio autor.

Figura 23 – Cromatograma da solução BFA 800 µg L<sup>-1</sup> e do branco ACN/H<sub>2</sub>O 60:40 (v/v) empregando detector FLD



Fonte: Próprio autor

Pode-se observar que não houve coeluição de interferentes no tempo de retenção do BFA empregando os detectores DAD e FLD nos diferentes  $\lambda$  avaliados. Assim, tem-se que o método apresentou seletividade na determinação do analito em estudo. Na Tabela 9 seguem os tempos de retenção do BFA empregando-se os detectores DAD e FLD.

Tabela 9 - Tempo de retenção do BFA nos detectores DAD e FLD

Concentração BFA (µg L <sup>-1</sup> )	Tempo de retenção detector DAD (min)		Tempo de retenção detector FLD (min)	
800,0	$\lambda$ - 220 nm	5,50	$\lambda_{\text{Excitação}}$ 275 nm $\lambda_{\text{Emissão}}$ 300 nm	5,67
	$\lambda$ - 228 nm	5,50		
	$\lambda$ - 280 nm	5,50		

Fonte: Próprio autor.

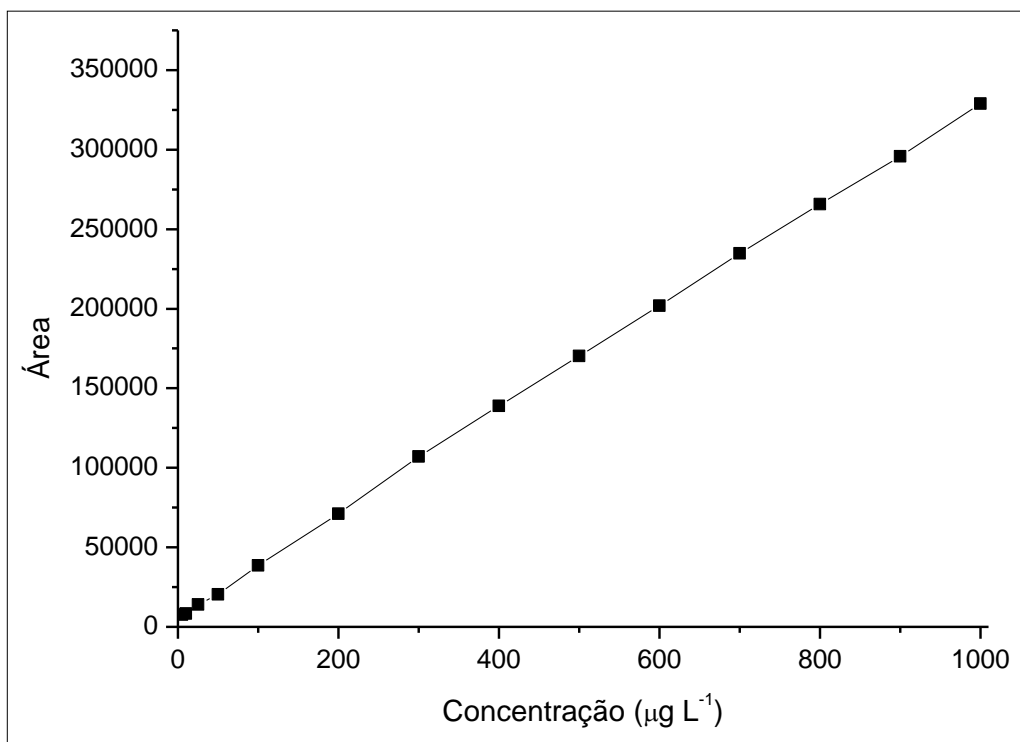
#### 4.1.2 Linearidade

Após a análise das soluções de diferentes concentrações de BFA e regressão linear dos dados obteve-se as curvas analíticas empregando-se os



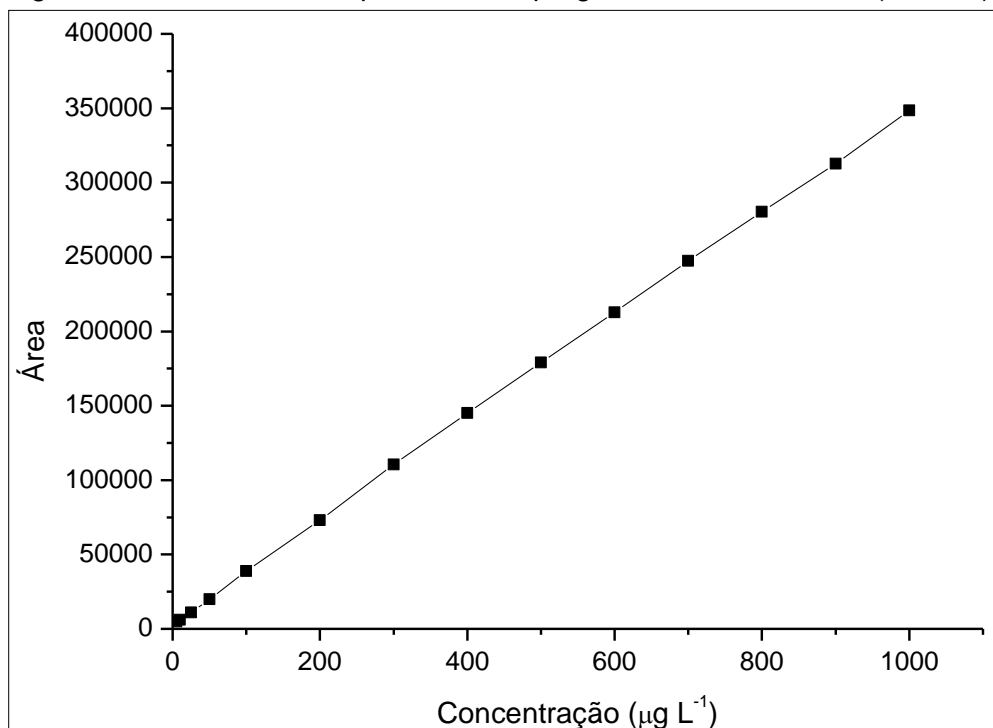
detectores DAD (220; 228 e 280 nm) e FLD ( $\lambda_{\text{Excitação}}$  275 nm e  $\lambda_{\text{Emissão}}$  300 nm) (Figura 24, 25, 26 e 27, respectivamente).

Figura 24 - Curva analítica para BFA empregando o detector DAD (220 nm)



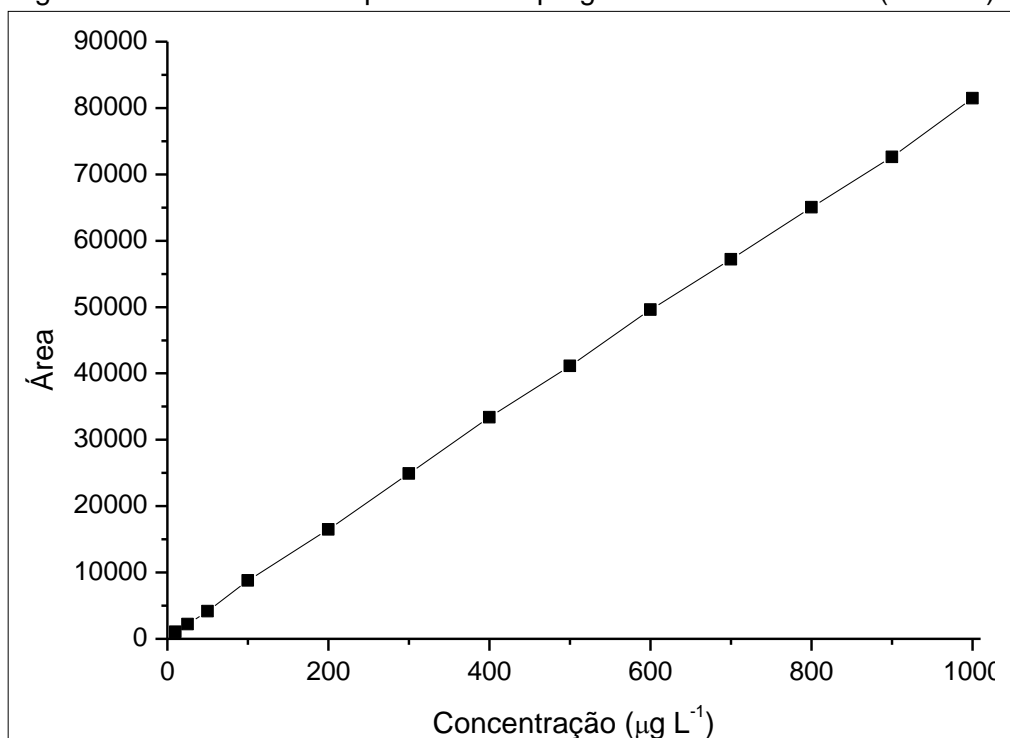
Fonte: Próprio autor.

Figura 25 - Curva analítica para BFA empregando o detector DAD (228 nm)



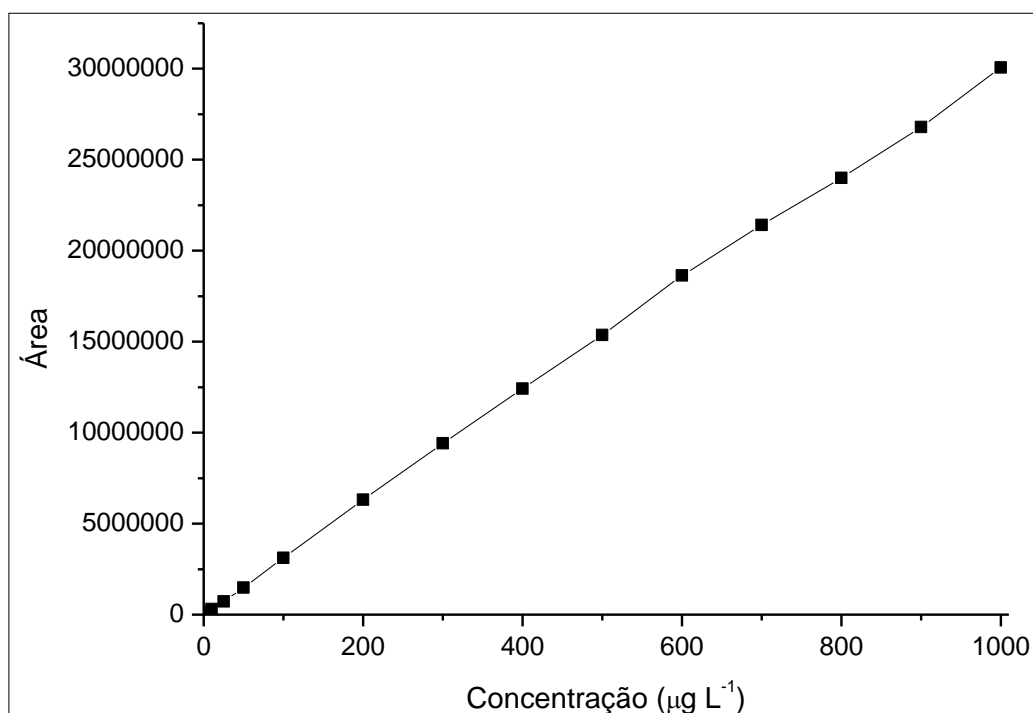
Fonte: Próprio autor.

Figura 26 - Curva analítica para BFA empregando o detector DAD (280 nm)



Fonte: Próprio autor.

Figura 27 - Curva analítica para BFA empregando o detector FLD



Fonte: Próprio autor.

Realizou-se o ajuste linear e obteve-se a equação da reta e o coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) para ambos os detectores (Tabela 10).

Tabela 10 - Parâmetros da linearidade empregando os detectores DAD e FLD

Detector	Equação da reta	r <sup>2</sup>	Faixa linear (µg L <sup>-1</sup> )
DAD/220 nm	y = 324,2x + 6532,8	0,9997	5,0 – 1000
DAD/228 nm	y = 346,0x + 3992,1	0,9999	5,0 - 1000
DAD/280 nm	y = 80,9x + 443,1	0,9990	10,0 - 1000
FLD	y = 30070,0x + 148179,8	0,9997	5,0 - 1000

Fonte: Próprio autor.

O método avaliado mostrou-se linear empregando-se ambos os detectores em diferentes comprimentos de onda, pois o r<sup>2</sup> foi superior a 0,999 indicando uma correlação fortíssima entre os dados ajustados (BRITO et al., 2002).

#### 4.1.3 Sensibilidade

Com base nos resultados apresentados na Tabela 11, verificou-se que o detector FLD apresentou maior sensibilidade na determinação do analito, já que o coeficiente angular da curva analítica empregando-se o respectivo detector foi maior comparado aos obtidos empregando-se o detector DAD. O detector DAD no comprimento de onda 280 nm foi o menos sensível dentre as condições avaliadas.

Tabela 11 - Coeficientes angular das curvas analíticas para BFA empregando detecção por DAD e FLD

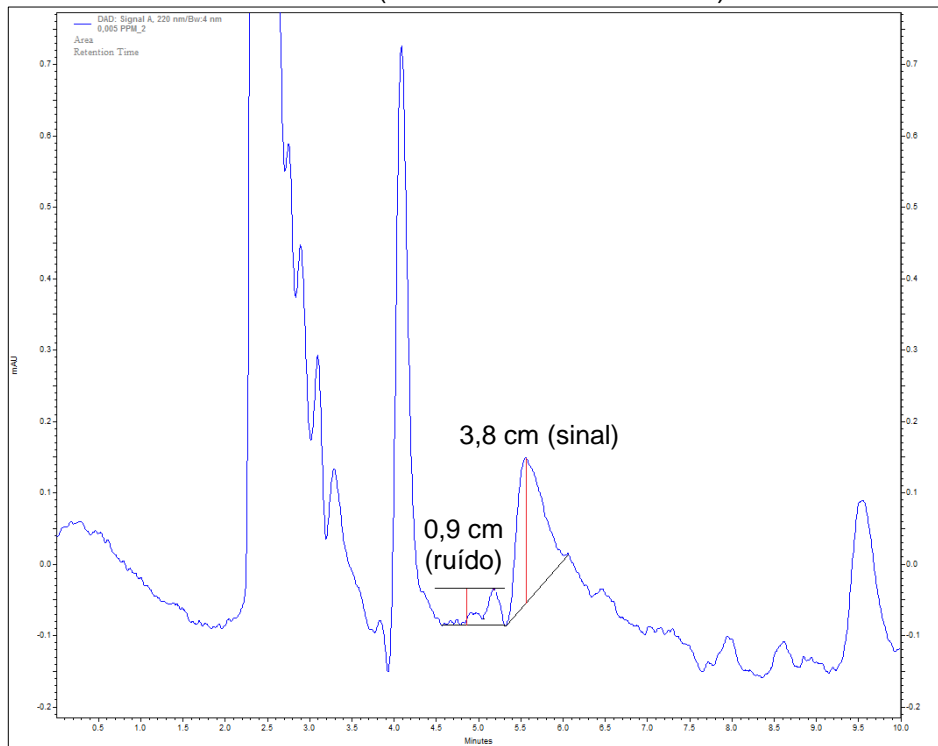
Detector	Coeficiente angular
DAD/220 nm	324,2
DAD/228 nm	346,0
DAD/280 nm	80,9
FLD	30070,0

Fonte: Próprio autor.

#### 4.1.4 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

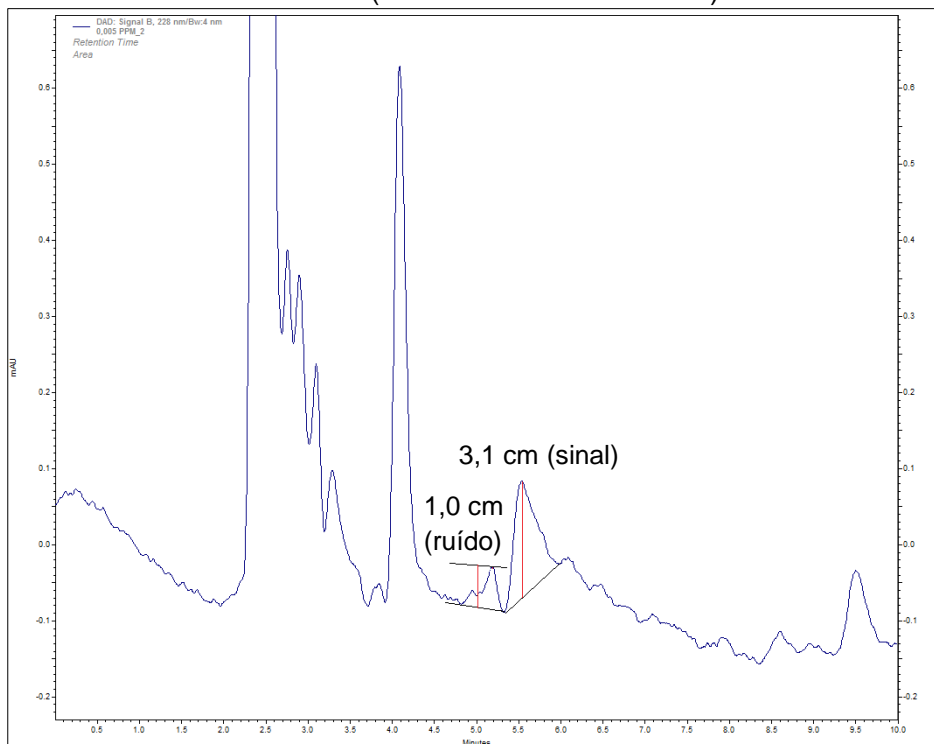
Após a comparação dos sinais das soluções com baixas concentrações de BFA determinou-se o limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) empregando-se o método sinal-ruído como apresentado nos cromatogramas (Figuras 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34 e 35), considerando-se a relação mínima sinal/ruído 3:1 e 10:1, respectivamente.

Figura 28 - Cromatograma da solução BFA 5,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para determinação do LD pelo método sinal-ruído (detector DAD  $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



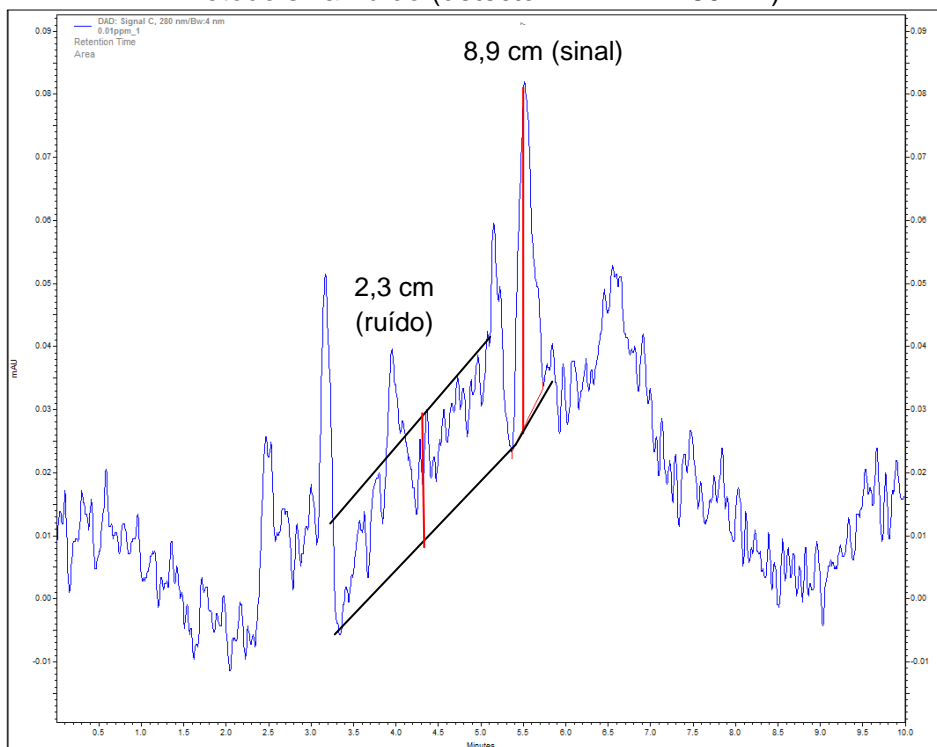
Fonte: Próprio autor.

Figura 29 - Cromatograma da solução BFA 5,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para determinação do LD pelo método sinal-ruído (detector DAD  $\lambda = 228 \text{ nm}$ )



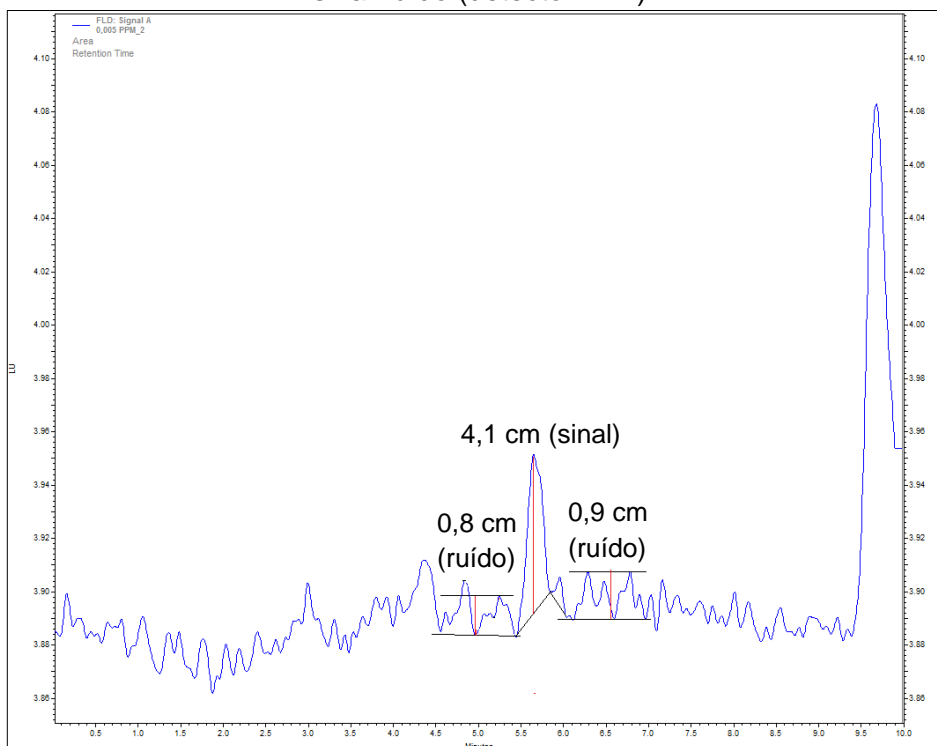
Fonte: Próprio autor.

Figura 30 - Cromatograma da solução BFA 10,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para determinação do LD pelo método sinal-ruído (detector DAD  $\lambda = 280 \text{ nm}$ )



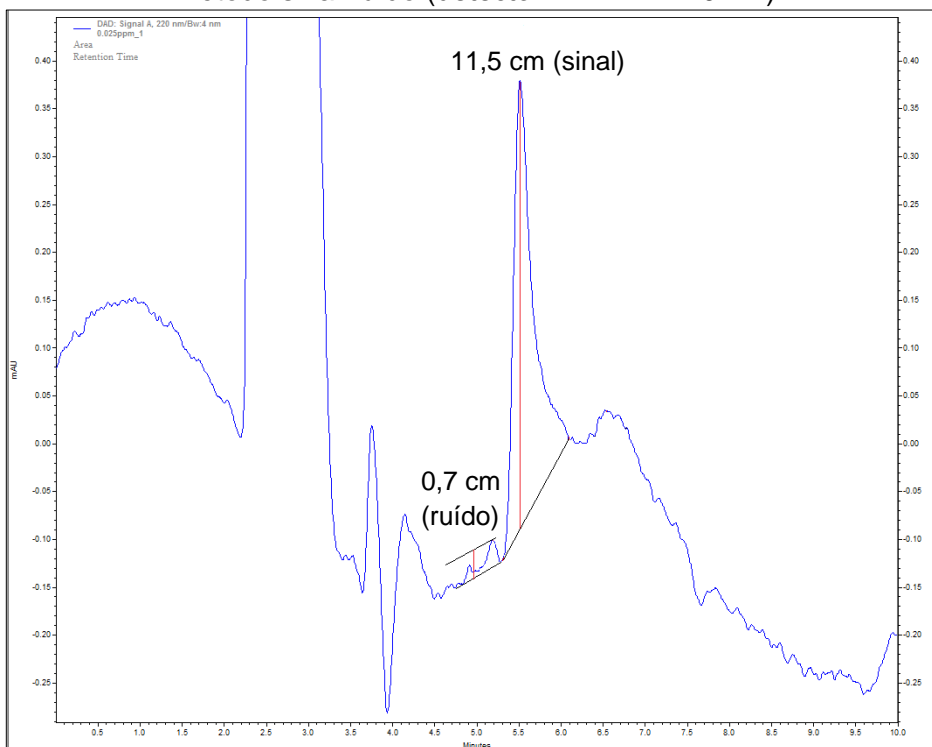
Fonte: Próprio autor.

Figura 31 - Cromatograma da solução BFA 5,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para determinação do LD pelo método sinal-ruído (detector FLD)



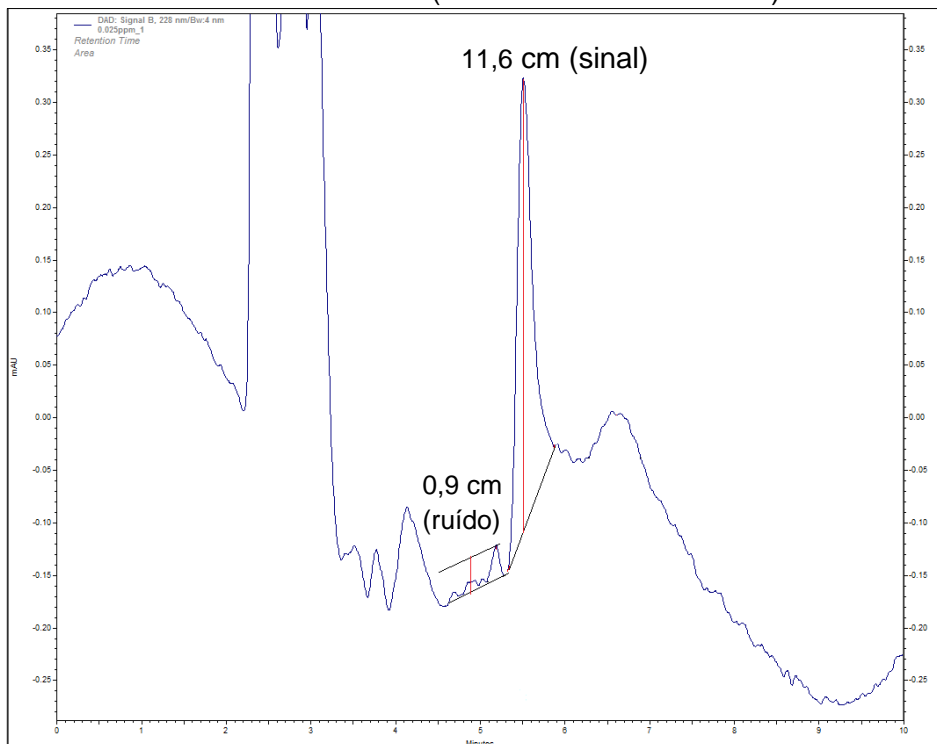
Fonte: Próprio autor.

Figura 32 - Cromatograma da solução BFA 25,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para determinação do LQ pelo método sinal-ruído (detector DAD  $\lambda = 220 \text{ nm}$ )



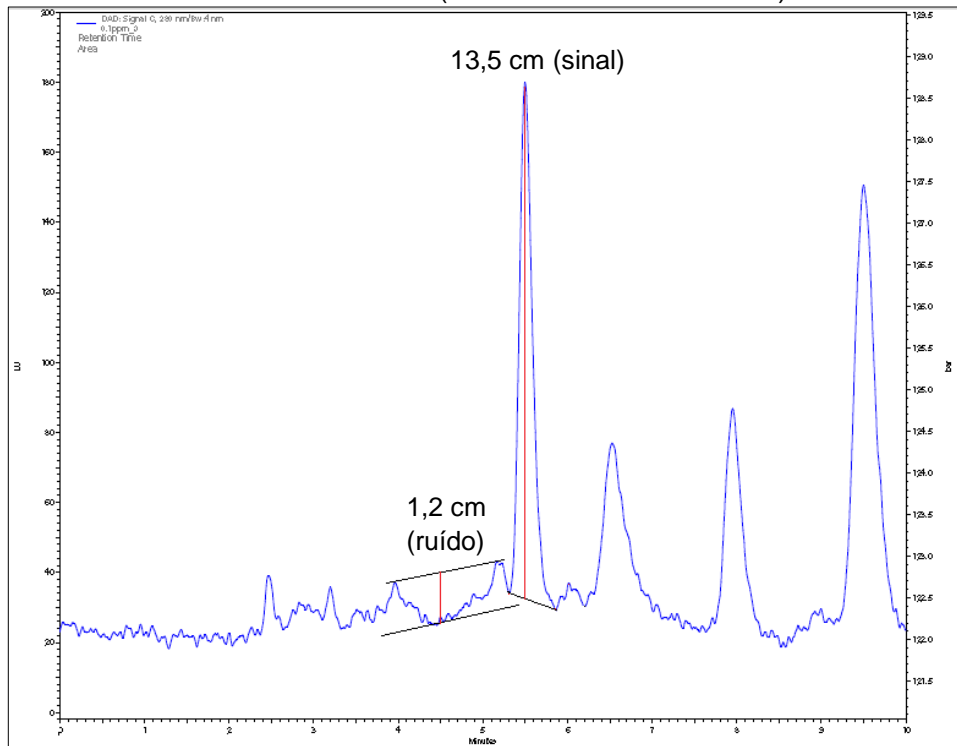
Fonte: Próprio autor.

Figura 33 - Cromatograma da solução BFA 25,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para determinação do LQ pelo método sinal-ruído (detector DAD  $\lambda = 228 \text{ nm}$ )



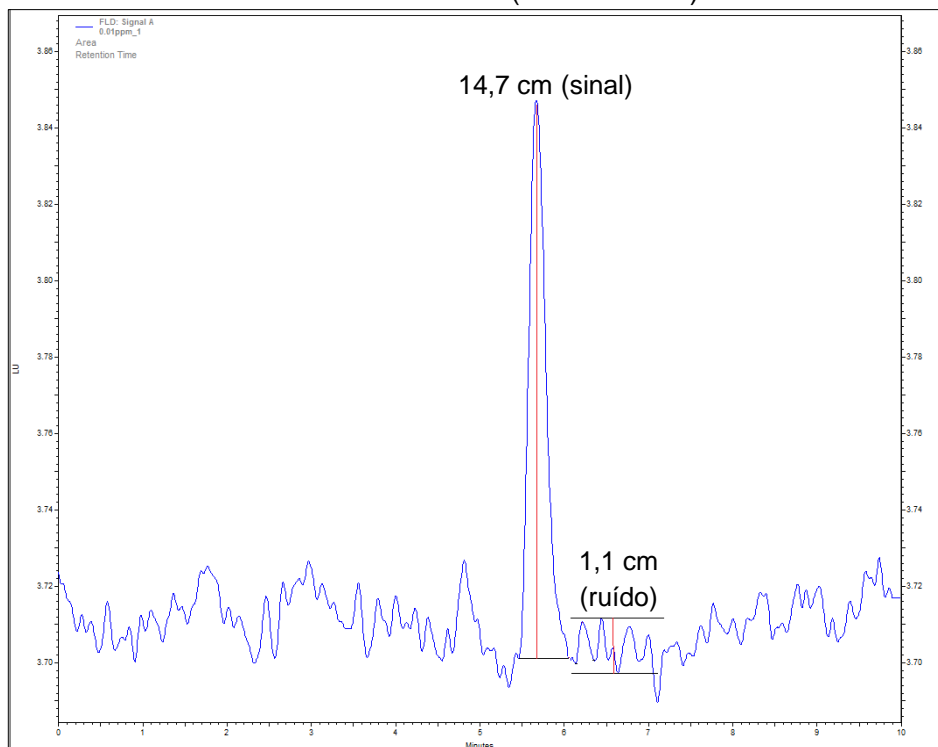
Fonte: Próprio autor.

Figura 34 - Cromatograma da solução BFA 100,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para determinação do LQ pelo método sinal-ruído (detector DAD  $\lambda = 280 \text{ nm}$ )



Fonte: Próprio autor.

Figura 35 - Cromatograma da solução BFA 10,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para determinação do LQ pelo método sinal-ruído (detector FLD)



Fonte: Próprio autor.

Na Tabela 12 seguem os valores obtidos após a análise do sinal-ruído apresentados nos cromatogramas.

Tabela 12 - Limites de detecção e quantificação obtidos pelo método sinal-ruído

<b>Detectores</b>	<b>Limite de detecção (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Limite de quantificação (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
DAD 220 nm	5,0	25,0
DAD 228 nm	5,0	25,0
DAD 280 nm	10,0	100,0
FLD	5,0	10,0

Fonte: Próprio autor.

A fim de comparação, calculou-se o LD e o LQ com base nos parâmetros da curva analítica (Eq. 5 e 6, respectivamente). Os valores seguem apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 - Limites de detecção obtidos pelos parâmetros da curva analítica

<b>Detectores</b>	<b>Limite de detecção (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Limite de quantificação (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
DAD 220 nm	9,0	27,3
DAD 228 nm	4,2	12,7
DAD 280 nm	6,6	19,9
FLD	3,6	11,0

Fonte: Próprio autor.

Os dois métodos apresentaram diferentes valores de LD e LQ em determinados comprimentos de onda, como por exemplo, em 280 nm. Deste modo, optou-se pelos valores obtidos pelo método sinal-ruído já que as concentrações indicadas pelos parâmetros da curva analítica estavam abaixo destes.

#### 4.1.5 Exatidão

Após a análise das amostras fortificadas com BFA realizou-se o tratamento dos dados e determinou-se a porcentagem de recuperação e o CV% das respectivas concentrações pré-estabelecidas (Tabela 14).



Tabela 14 - Fator de recuperação média de BFA e CV% para avaliação da exatidão do método

Detector	Concentração Adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Concentração determinada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Recuperação média (%)	CV%
<b>DAD/ 220 nm</b>	300	285,9	95,29%	4,88
	500	493,2	98,64%	2,55
	700	695,9	99,42%	0,68
<b>DAD/ 228 nm</b>	300	290,8	96,93%	4,53
	500	497,8	99,56%	1,95
	700	698,6	99,80%	0,73
<b>DAD/ 280 nm</b>	300	288,1	96,04%	2,24
	500	502,9	100,57%	0,48
	700	702,4	100,34%	0,79
<b>FLD</b>	300	298,5	99,49%	0,89
	500	509,4	101,89%	0,63
	700	703,9	100,56%	0,59

Fonte: Próprio autor.

O fator de recuperação médio das soluções fortificadas com BFA se encontra na faixa indicada pela literatura em função da concentração do analito em solução (40 – 120%) (RIBANI et al., 2004). O índice de recuperação médio está entre 95,29 e 101,89%. O coeficiente de variação manteve-se entre 0,48 e 4,88%, inferior ao limite estipulado pela literatura para análise de traços (20%) (RIBANI et al., 2004). Assim, o método apresentou exatidão na quantificação do analito nas condições estudadas.

#### 4.1.6 Precisão

Avaliou-se a repetitividade do método pela concordância entre os resultados de recuperação efetuadas por um mesmo analista, sob as mesmas condições experimentais (RIBANI et al., 2004). Os resultados após o tratamento dos dados seguem apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 - Resultados obtidos após os ensaios de repetitividade e precisão intermediária

	DAD			FLD
	220 nm	228 nm	280 nm	275/300 nm
<b>R média %</b>				
<b>Analista 1 (n=10)</b>	98,90	98,02	96,50	96,58
<b>R média %</b>				
<b>Analista 2 (n=10)</b>	99,12	99,66	97,06	96,66
<b>CV (%) Analista 1</b>	2,53%	2,47%	2,34%	2,52%
<b>CV (%) Analista 2</b>	3,72%	3,68%	2,57%	3,01%
<b>F</b> (Calculado)	2,16	2,28	1,22	1,43
<b>F</b> (Tabelado 5%)	3,18	3,18	3,18	3,18
<b>t</b> (Calculado)	0,16	1,18	0,52	0,07
<b>t</b> (Tabelado 5%)	2,10	2,10	2,10	2,10

Fonte: Próprio autor.

Os valores de CV (%) encontram-se entre 2,47 a 3,72% (< 20%). Assim, com base nos ensaios de repetitividade o método foi considerado preciso (RIBANI et al., 2004; BRITO et al., 2002).

Os ensaios de precisão intermediária realizados por diferentes analistas em dias distintos indicaram que o método é preciso já que os valores de F e t calculados foram inferiores aos tabelados (Tabela 15). Assim, em um intervalo de 95% de confiança o teste F indicou que não há diferença significativa entre as variâncias e o teste t indicou que não há diferença significativa entre as médias.

#### 4.1.7 Robustez

A fim de avaliar a sensibilidade do método frente a variações de alguns parâmetros cromatográficos realizou-se sucessivas análises de uma solução de BFA 500 µg L<sup>-1</sup> empregando-se o método com as respectivas alterações (± 5%). Os resultados seguem apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 - Recuperação média (%) e coeficiente de variação (%) após a análise cromatográfica com variações pré-definidas

Condição cromatográfica alterada	Detector			
	DAD 220 nm	DAD 228 nm	DAD 280 nm	FLD
<b>Recuperação média (%) e coeficiente de variação (%)</b>				
<b>FM - 57% ACN/ 43% H<sub>2</sub>O</b>	143,40 – 0,14	116,13 – 0,04	106,70 – 1,50	94,07 – 0,22
<b>FM - 63% ACN/ 37% H<sub>2</sub>O</b>	140,24 – 1,21	114,73 – 0,27	109,51 – 0,44	104,62 – 0,34
<b>Vazão da FM: 0,19 mL min<sup>-1</sup></b>	107,00 – 1,00	106,88 – 0,72	107,43 – 0,25	105,35 – 0,15
<b>Vazão da FM: 0,21 mL min<sup>-1</sup></b>	152,29 – 1,58	124,08 – 1,94	102,74 – 1,93	97,56 – 0,81
<b>Volume de injeção: 9,5 µL</b>	136,62 – 0,62	110,64 – 0,55	100,39 – 0,93	97,33 – 0,60
<b>Volume de injeção: 10,5 µL</b>	151,46 – 0,72	122,85 – 0,68	111,68 – 0,71	107,61 – 0,62
<b>Temperatura da coluna: 42,8°C</b>	144,77 – 0,27	116,12 – 0,10	107,04 – 0,37	99,76 – 0,68
<b>Temperatura da coluna: 47,3°C</b>	143,70 – 0,27	115,99 – 0,15	105,49 – 0,86	99,84 – 1,01

Fonte: Próprio autor.

Com base nos resultados obtidos, pode-se verificar que os valores de recuperação do analito empregando-se os detectores DAD (280 nm) e FLD ( $\lambda_{\text{Excitação}}$  275 nm e  $\lambda_{\text{Emissão}}$  300 nm) estão entre 94,07 e 111,7%, apresentando CV (%) entre 0,22 e 1,93%, inferior a 20% como indicado por Brito et al. (2002). Já os valores de recuperação empregando-se o detector DAD nos comprimentos de onda 220 e 228 nm, estão na faixa de 106,88 a 152,29% com CV (%) inferiores a 20%. Tem-se que a região de detecção 220 e 228 nm é uma região crítica que pode sofrer interferências de impurezas ou de determinados solventes.

Os resultados obtidos (exceto para detecção por DAD em 220 e 228 nm) indicaram que as condições estudadas apresentaram CV (%) inferiores a 2% e obteve-se índices de recuperação entre 40 a 120%. Assim, tem-se que o método pode ser considerado robusto frente às variações experimentais estudadas empregando-se os detectores DAD (em 280 nm) e FLD ( $\lambda_{\text{Excitação}}$  275 nm e  $\lambda_{\text{Emissão}}$  300 nm).

#### 4.2 Estudo da degradação natural do BFA

Os resultados após a análise semanal da solução de BFA 800 µg L<sup>-1</sup> armazenadas sob condições específicas (protegidos de luz à temperatura ambiente) seguem apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 - Estabilidade do BFA após 10 semanas de estudo

<b>Período de avaliação</b>	<b>Concentração determinada (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
Semana 1	762,5	95,31
Semana 2	787,7	98,47
Semana 3	801,8	100,22
Semana 4	767,8	95,98
Semana 5	735,5	91,94
Semana 6	704,6	88,07
Semana 7	792,4	99,05
Semana 8	732,6	91,57
Semana 9	723,5	90,44
Semana 10	723,5	90,44

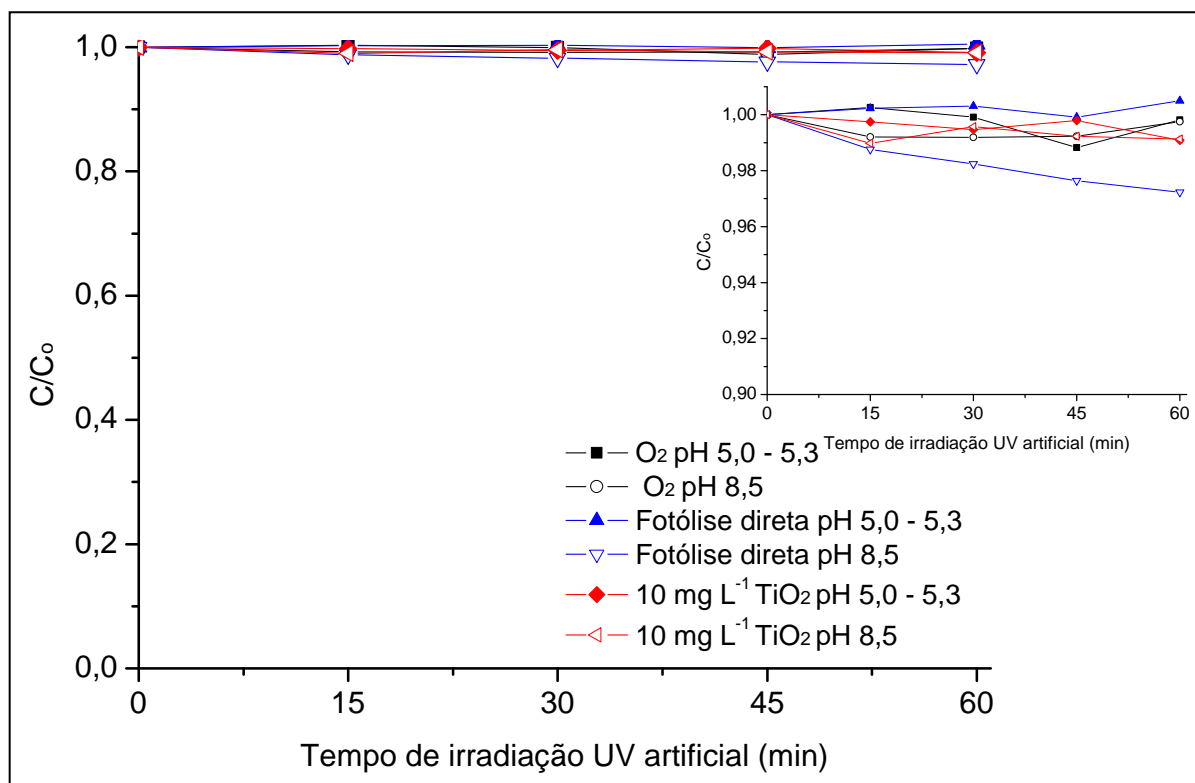
Fonte: Próprio autor.

A avaliação semanal da solução de BFA  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  apresentou recuperação média entre 88,0 e 101% no período em análise. Segundo Corrales et al. (2015), o tempo de meia vida do BFA em ambiente natural é de 38 dias, porém deve-se considerar que nestas condições podem ocorrer processos de fotólise, degradação biológica e bioacumulação da molécula em questão. Contudo, pode-se assumir que não houve degradação natural do analito nas condições em estudo já que houve estabilidade em solução.

### 4.3 Estudo controle

O emprego isolado do semicondutor  $\text{TiO}_2$  sem irradiação, da radiação UV artificial (fotólise direta) e da presença de  $\text{O}_2$  não apresentaram eficiência na remoção do BFA após os estudos realizados. Os resultados obtidos seguem apresentados na Figura 36.

Figura 36 - Comparação da degradação do BFA (Cinicial  $800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) nos estudos controle em diferentes condições de pH



Fonte: Próprio autor.

Os resultados indicaram que não houve adsorção do BFA na superfície do  $\text{TiO}_2$  após uma hora de exposição e que a aeração constante também não foi eficiente na remoção do analito, já que a degradação do BFA foi inferior a 1,0% em ambos os casos. O processo de fotólise direta ( $55,2 \text{ J cm}^{-2}$ ) em pH 8,5 apresentou remoção inferior a 3,0% após uma hora de irradiação. Já em pH sem ajuste ( $\approx 5,3$ ) não houve remoção significativa do analito em solução.

Estudos realizados por Kuo, Wu e Lin (2010) relataram a remoção de BFA ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 4,0) empregando isoladamente o semicondutor  $\text{TiO}_2$ , obtendo uma remoção após 120 minutos de reação de 7%. Os resultados obtidos no presente trabalho corroboram com da Silva et al. (2014), em que o emprego isolado de  $120 \text{ mg L}^{-1}$  do semicondutor  $\text{TiO}_2$  (99% anatase) não apresentou remoção significativa do BFA ( $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) após 120 minutos de reação.

Os resultados após o processo de fotólise direta são similares aos obtidos por Repousi et al. (2017). Tais autores estudaram a remoção do BFA ( $260 \mu\text{g L}^{-1}$  em solução de ácido húmico  $20 \text{ mg L}^{-1}$ ) empregando uma lâmpada de xenônio/ozônio de 100 W de potência e concluíram que não houve degradação do analito em

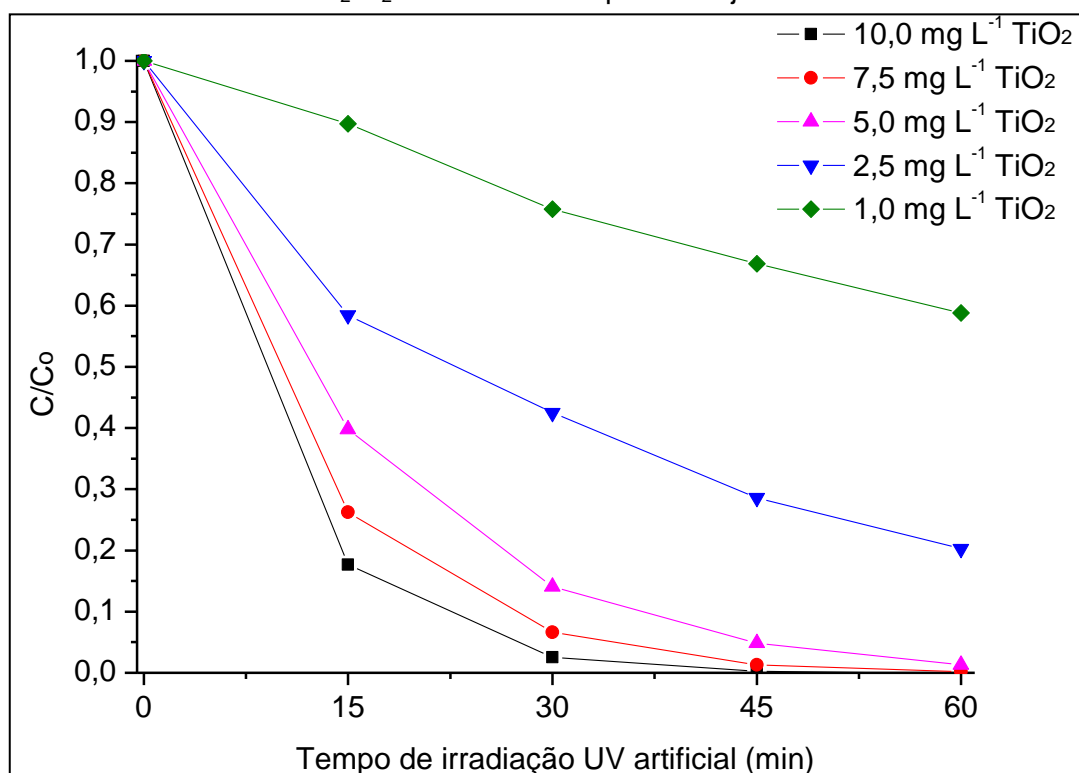
solução após 45 minutos de irradiação. Wang et al. (2007) estudaram a fotodegradação do BFA ( $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 7,0) sob irradiação UV artificial ( $\lambda \geq 365 \text{ nm}$ ) e relataram uma remoção de 5,95% após 160 minutos de reação. Já Erjavec et al. (2016) estudaram a remoção BFA ( $C_{\text{inicial}} 10,0 \text{ mg L}^{-1}$  em água ultrapura) utilizando radiação UV artificial ( $\lambda_{\text{max}} 365 \text{ nm}$ ) e relataram a remoção de 14% do analito após 200 minutos de irradiação. A maior remoção do BFA nestes estudos pode estar relacionada ao maior tempo de exposição à radiação UV artificial (120 e 200 min, respectivamente).

#### 4.4 Estudos de fotodegradação do BFA

##### 4.4.1 Estudo da degradação de BFA empregando o semicondutor $\text{TiO}_2$ e radiação UV artificial

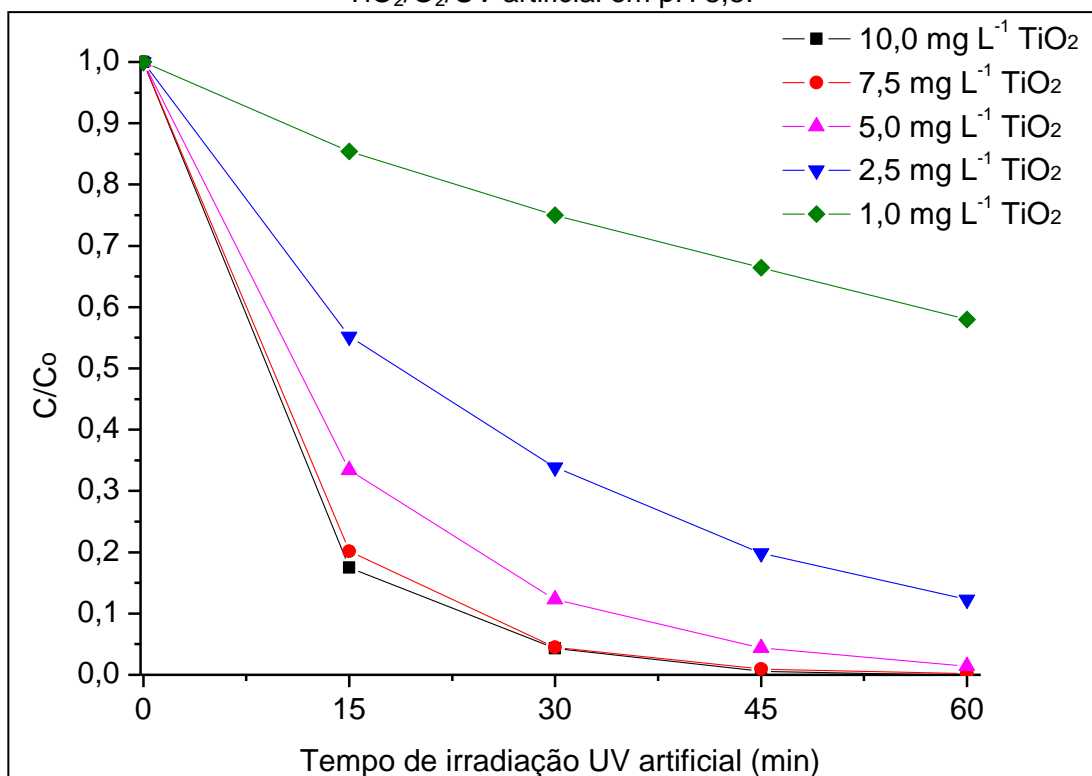
Os resultados obtidos após o processo de fotocatalise heterogênea empregando diferentes concentrações do catalisador  $\text{TiO}_2$  (1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e  $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) em pH sem ajuste (5,0 – 5,3) e em pH 8,5 seguem apresentados na Figuras 37 e 38, respectivamente.

Figura 37 - Comparação da remoção de BFA ( $C_{\text{inicial}} 800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando o sistema  $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$  artificial em pH sem ajuste.



Fonte: Próprio autor.

Figura 38 - Comparação da remoção de BFA (Cinicial  $800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando o sistema  $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$  artificial em pH 8,5.

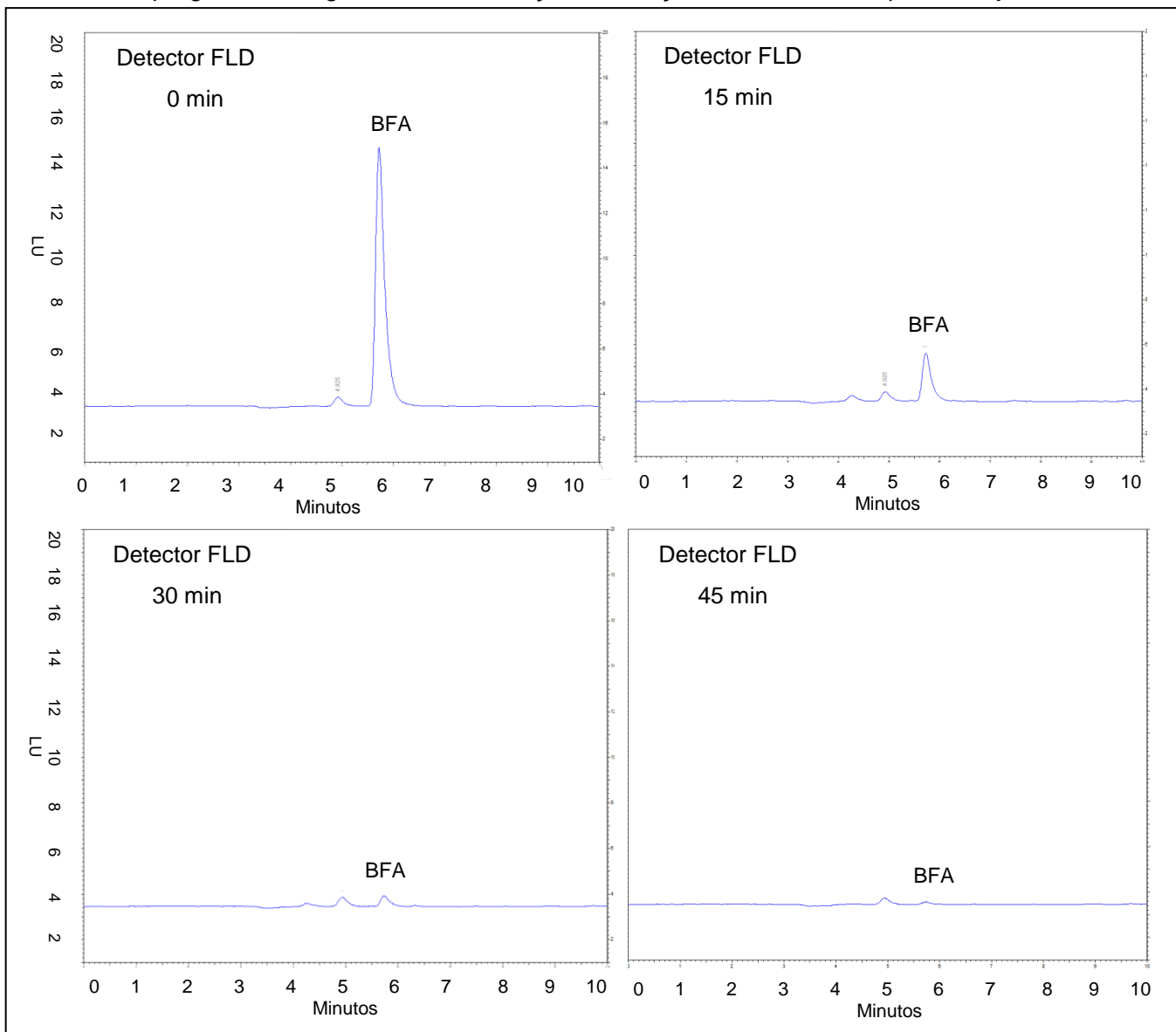


Fonte: Próprio autor.

Com base nos resultados, pode-se observar que o emprego do sistema  $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$  artificial apresentou eficiência na remoção do BFA nas condições em estudo. Verificou-se que as concentrações  $10 \text{ mg L}^{-1}$  e  $7,5 \text{ mg L}^{-1}$  do catalisador removeu praticamente todo o analito em 45 minutos de reação em ambas as condições de pH avaliadas, já que a concentração de BFA nestas alíquotas foram inferior ao LQ do método analítico utilizado. Para a concentração  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$  a remoção do BFA foi superior à 98% após uma hora de reação. Empregando-se concentrações mais baixas do catalisador ( $2,5 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) obteve-se remoção de aproximadamente, 80 e 40% do analito após uma hora de reação em pH 5,0 – 5,3 e 88 e 40% em pH 8,5, respectivamente.

As Figuras 39 e 40, respectivamente, apresentam os cromatogramas das amostras submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea após diferentes tempos de irradiação UV artificial nas condições de pH avaliadas (5,3 e 8,5).

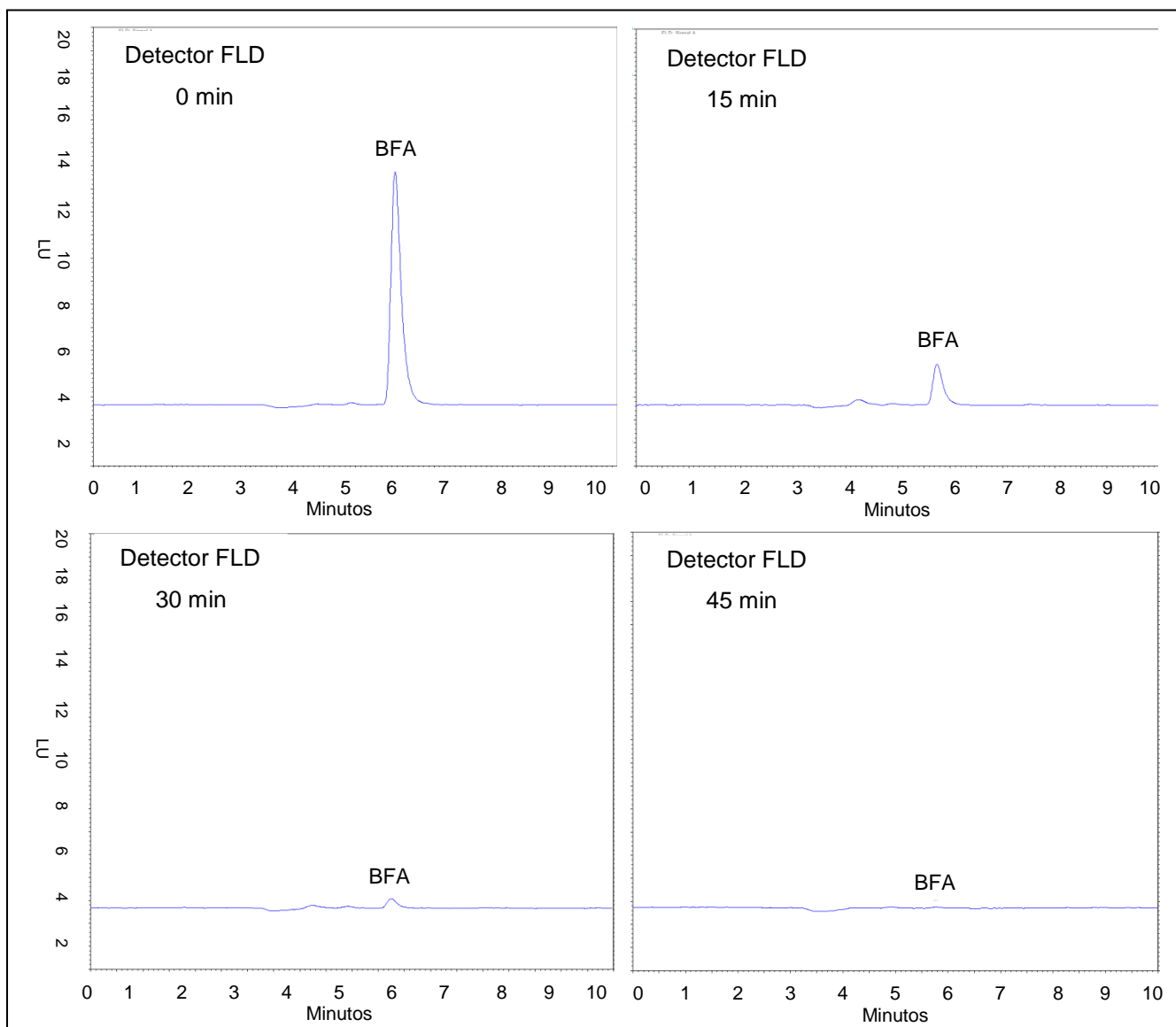
Figura 39 – Cromatogramas das soluções após o processo de fotocatalise heterogênea empregando  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$ , aeração e radiação UV artificial em pH sem ajuste



Fonte: Próprio autor.



Figura 40 – Cromatogramas das soluções após o processo de fotocatalise heterogênea empregando  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$ , aeração e radiação UV artificial em pH 8,5



Fonte: Próprio autor

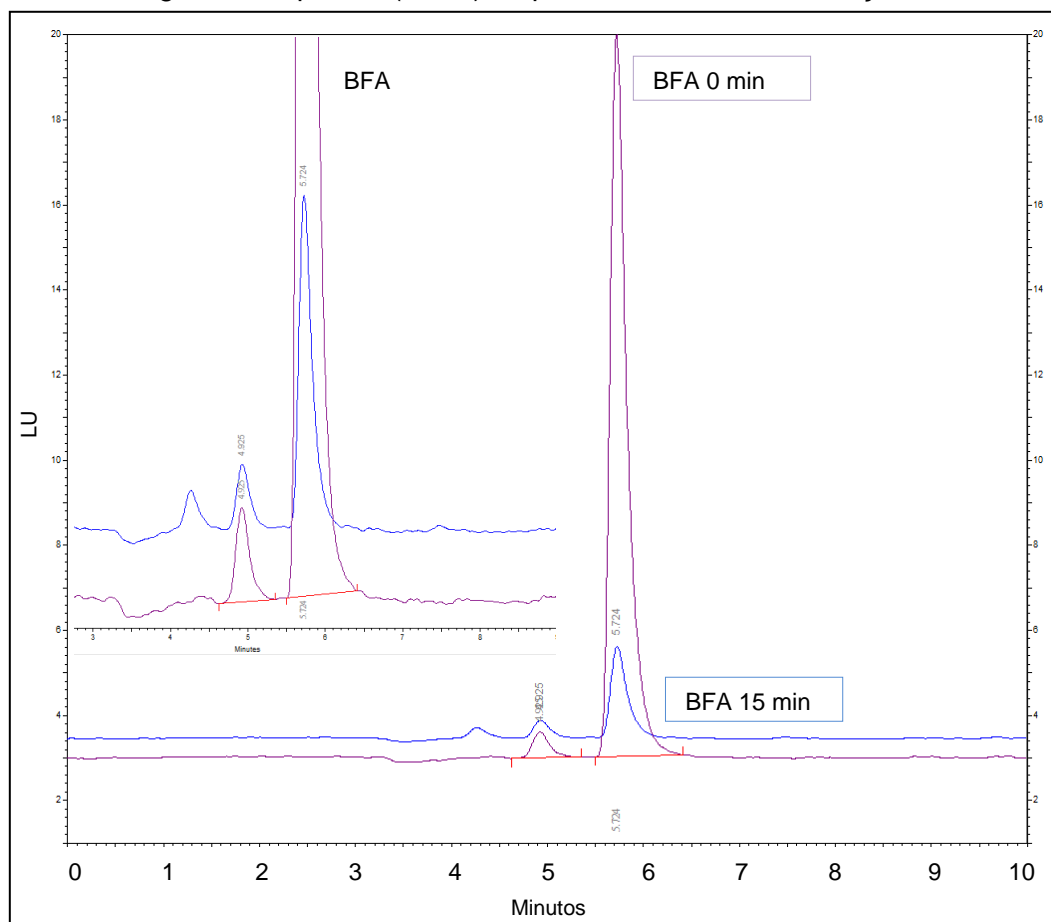
Observou-se uma diminuição da área do pico correspondente ao BFA no decorrer do processo, indicando a diminuição da concentração do mesmo em solução.

A maior eficiência de remoção do BFA ao empregar-se maiores concentrações do catalisador  $\text{TiO}_2$  relaciona-se a geração de mais radicais hidroxilas que reagem com as moléculas de BFA, promovendo sua oxidação e remoção. Isso deve-se a maior área superficial e conseqüentemente o maior número de sítios ativos do semiconductor (KANEKO et al. 2004; TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

Segundo Tsai et al. (2009), o emprego do sistema  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  apresentou eficiência na remoção do BFA (>99,0% após 1 h de irradiação), porém empregando-se  $0,5 \text{ g L}^{-1}$  do catalisador. O emprego da concentração elevada pode estar associado ao fato de que a solução inicial de BFA em estudo apresentava concentração de  $10,0 \text{ mg L}^{-1}$  e que segundo os autores, o aumento da concentração inicial de BFA limita a adsorção aos sítios do semicondutor e diminui a eficiência da degradação. Abo, Kummer e Merkel (2016) relataram a remoção de BFA em solução aquosa ( $25,0 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 5,8) empregando diferentes semicondutores; os autores observaram a remoção de 98,1% do analito após 1 hora de irradiação empregando 0,1% (m/m) de  $\text{TiO}_2$  e 0,5 mM de hipoclorito de sódio. Tem-se, portanto, que os resultados obtidos neste estudo apresentaram maior remoção do BFA empregando-se menores concentrações de  $\text{TiO}_2$  no mesmo período de irradiação dos trabalhos mencionados.

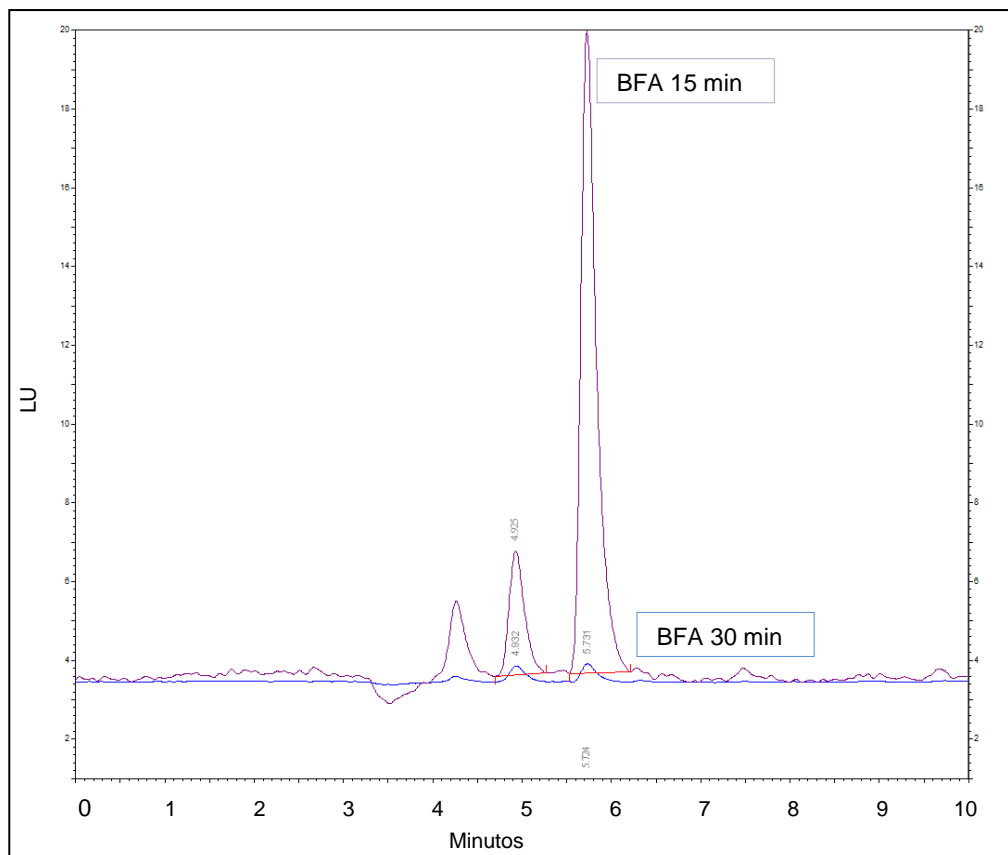
Embora neste estudo o BFA tenha sido completamente removido da solução após 45 minutos de irradiação empregando  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$ , não avaliou-se se o processo de fotocatalise resultou na completa mineralização do mesmo já que os ensaios de determinação do carbono orgânico total (TOC) não foram realizados devido a problemas operacionais. Assim, não pode-se prever se houve a conversão total do BFA em  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  ou se subprodutos de degradação foram formados. Porém, pode-se observar nas Figuras 41, 42, 43, e 44 que durante o processo de fotocatalise ( $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$ , aeração e radiação UV artificial), ocorreu o aparecimento de picos em tempos de eluição distintos do BFA, o que pode estar associado à formação de intermediários de degradação durante o processo.

Figura 41 – Cromatogramas das soluções de BFA no início do processo de fotocatalise heterogênea em pH 5,3 (0 min) e após 15 minutos de irradiação UV artificial



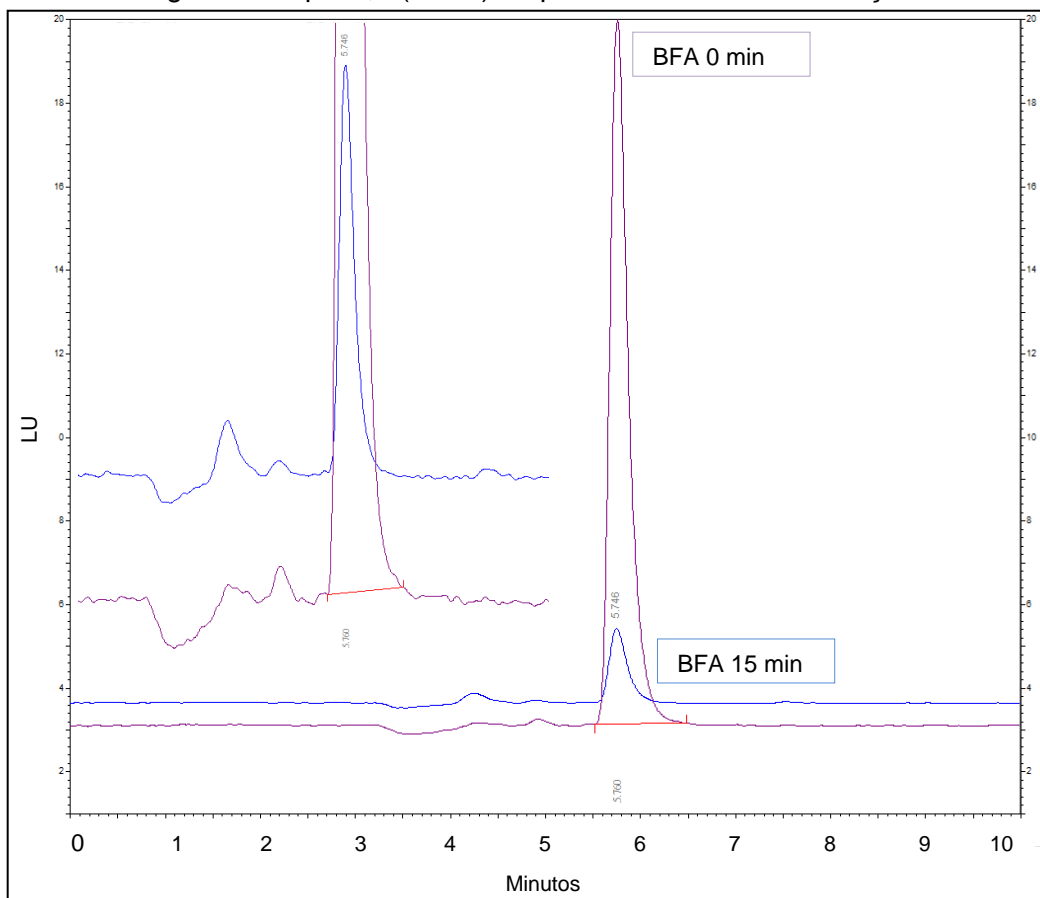
Fonte: Próprio autor.

Figura 42 – Cromatogramas das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea em pH 5,3 após 15 minutos e 30 minutos de irradiação UV artificial



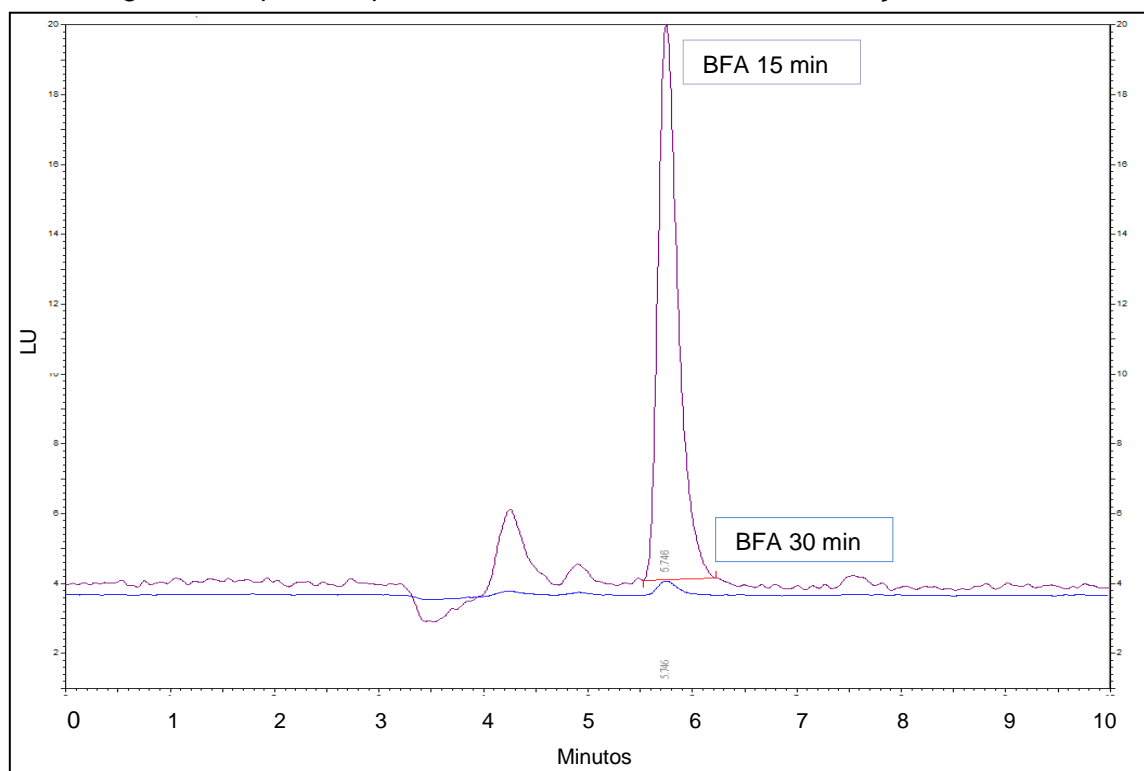
Fonte: Próprio autor.

Figura 43 – Cromatogramas das soluções de BFA no início do processo de fotocatalise heterogênea em pH 8,5 (0 min) e após 15 minutos de irradiação UV artificial



Fonte: Próprio autor

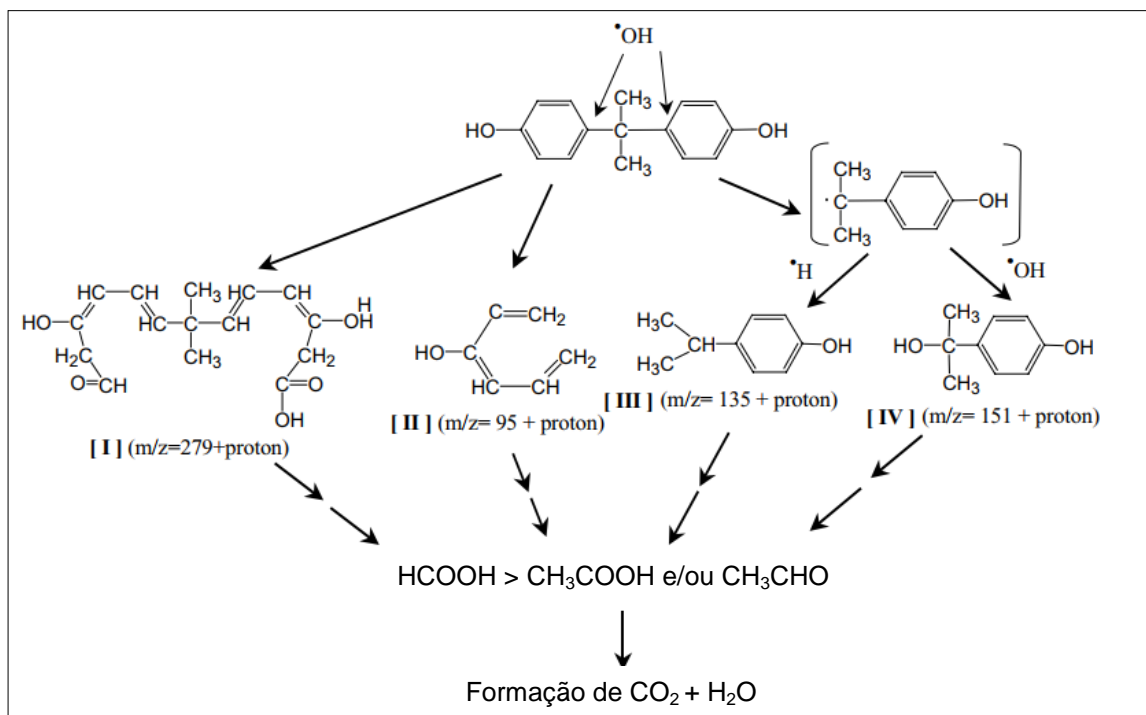
Figura 44 – Cromatogramas das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea em pH 8,5 após 15 minutos e 30 minutos de irradiação UV artificial



Fonte: Próprio autor.

Watanabe et al. (2003) estudaram a remoção do BFA em solução aquosa ( $C_{\text{inicial}} 22,8 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 4,4) empregando  $2,0 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$  em suspensão. Tais autores utilizaram uma lâmpada de Hg de 75 W e  $\lambda_{\text{max}}$  de 360 nm. Os autores observaram que a absorção UV do BFA (225 nm) diminui com o tempo de irradiação e desaparece após 2 horas de reação. Após 5 horas de irradiação houve a mineralização de 90% do BFA, quantificada por análise de TOC. Os produtos de degradação foram identificados por análise de RMN e por espectrometria de massas com ionização por eletronspray (ESI). O mecanismo de degradação proposto segue apresentado na Figura 45.

Figura 45 – Proposta de mecanismo de formação dos intermediários de degradação do BFA

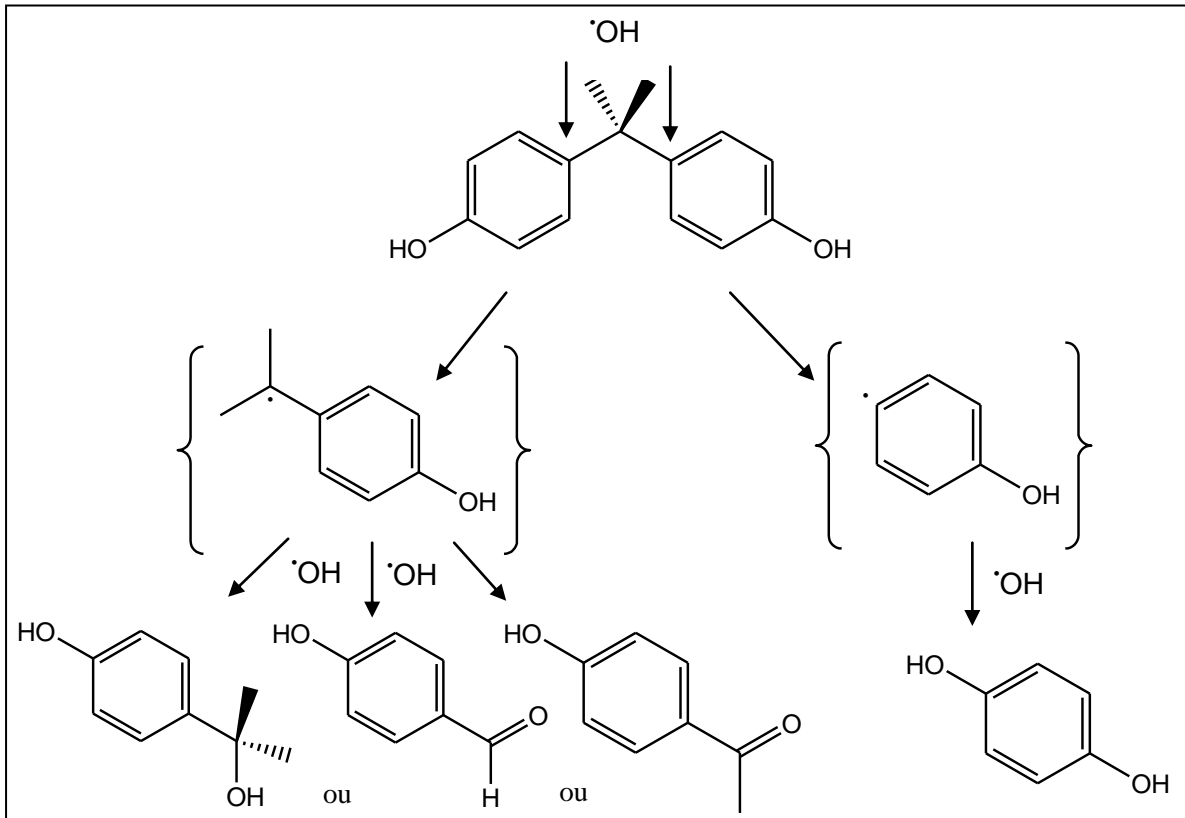


Fonte: Adaptado de WATANABE et al., 2003.

Segundo os autores, houve a formação de vários fragmentos durante o período de irradiação UV artificial. Os fragmentos de  $m/z$  igual a 279, 135 e 95 foram detectados depois de 15, 30 e 60 minutos de irradiação. Já o fragmento de  $m/z$  igual 151 foi observado após 30 e 60 minutos de irradiação. Ao fim do processo, a formação de  $\text{CO}_2$  ocorreu devido à oxidação de ácidos carboxílicos e aldeído (WATANABE et al., 2003).

Tsai et al. (2009) identificaram os intermediários de degradação do BFA ( $20 \text{ mg L}^{-1}$ , pH 7,0) empregando-se  $5,0 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$  após 30 de irradiação UV artificial ( $\lambda = 365 \text{ nm}$ ). A caracterização foi realizada por CG-EM para identificação do ácido acético. Para a identificação da p-hidroquinina ( $\text{HO-C}_6\text{H}_4\text{OH}$ ) e p-hidroxiacetofenona ( $\text{COCH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ ) comparou-se os resultados obtidos por CLAE com os dos respectivos padrões analíticos. A Figura 46 apresenta o mecanismo de degradação proposto pelos autores.

Figura 46 – Proposta de mecanismo de formação dos intermediários de degradação do BFA



Fonte: Adaptado de TSAI et al., 2009.

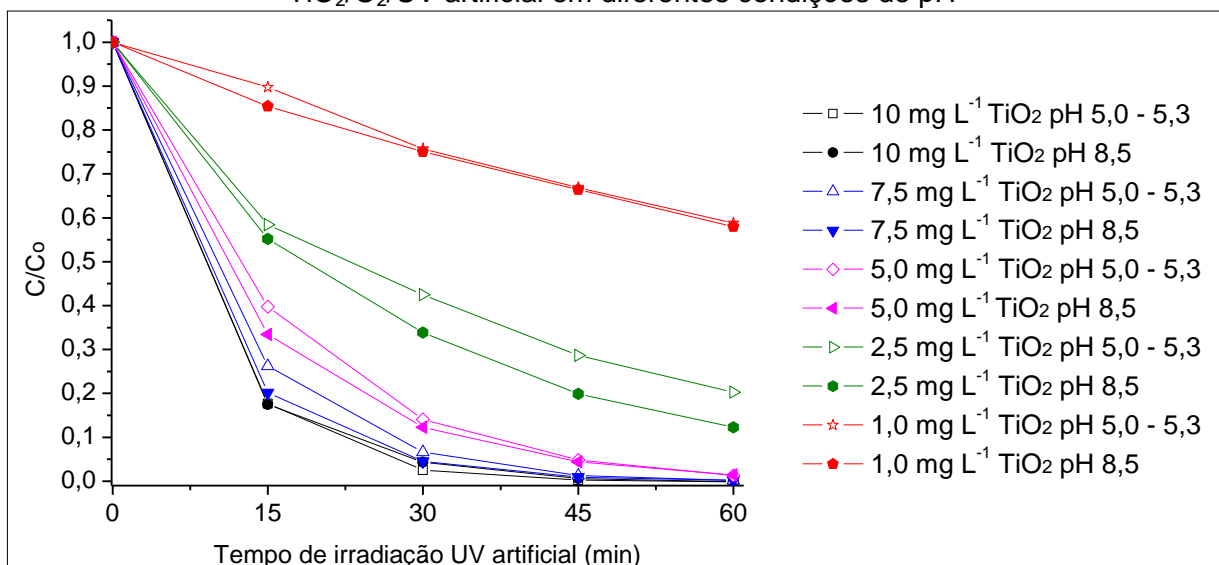
Segundo os autores durante a fotodegradação ocorre a abertura do anel dos intermediários aromáticos resultando na formação de ácidos alifáticos não identificados e de ácido acético (TSAI et al., 2009).

#### 4.4.2 Efeitos do pH inicial na eficiência de remoção do BFA

Observou-se após os estudos de degradação que não houve diferença significativa na remoção do BFA nas diferentes condições de pH em estudo (Figura 47).



Figura 47 - Comparação da remoção de BFA (Cinicial  $800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando o sistema  $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$  artificial em diferentes condições de pH

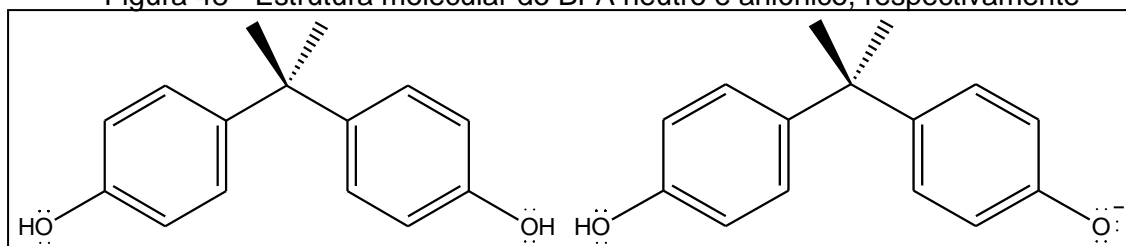


Fonte: Próprio autor.

Tsai et al. (2009) investigaram o efeito do pH na remoção de BFA em solução aquosa ( $20,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) empregando-se  $0,5 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$  (Degussa AG Co). Os autores observaram que o máximo de degradação do analito ocorreu em uma ampla faixa de pH (5 a 9) e que houve uma menor eficiência de remoção com o aumento do pH (9 a 11).

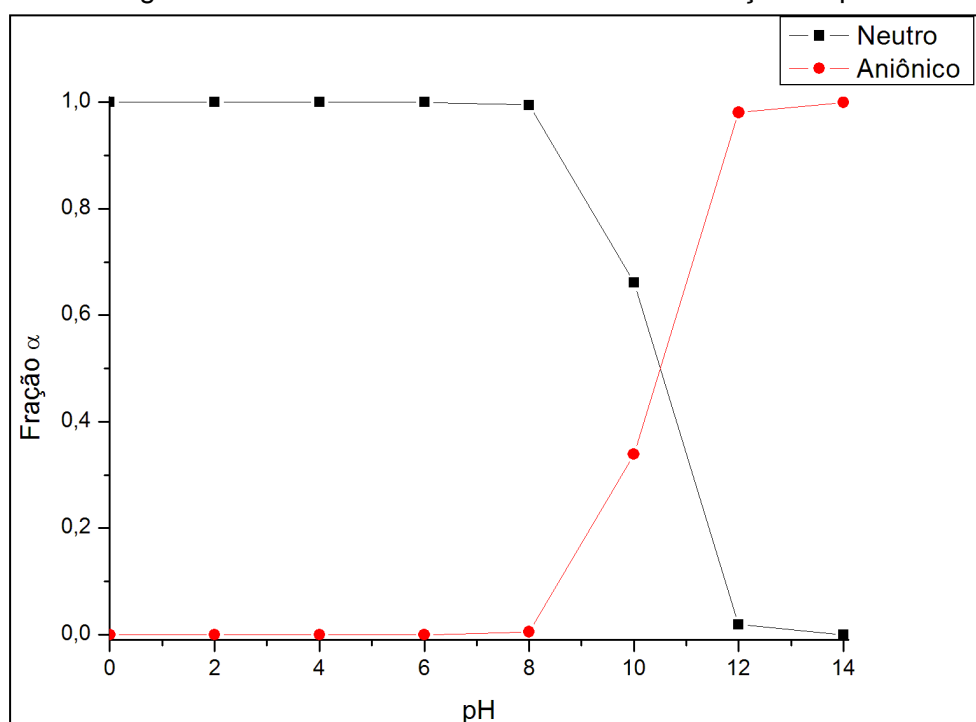
O efeito do pH na eficiência de degradação do BFA deve-se a ionização da molécula em pH básico e as diferentes cargas na superfície do catalisador (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). O BFA é um composto orgânico ionizável (CORRALES et al., 2015) (Figura 48), apresentando-se 100% em sua forma neutra em pH 5,0 e 20% em sua forma aniônica em pH 8,5 (Figura 49).

Figura 48 - Estrutura molecular do BFA neutro e aniônico, respectivamente



Fonte: Próprio autor software ChemDraw.

Figura 49 - Formas ionizáveis do BFA com variação do pH



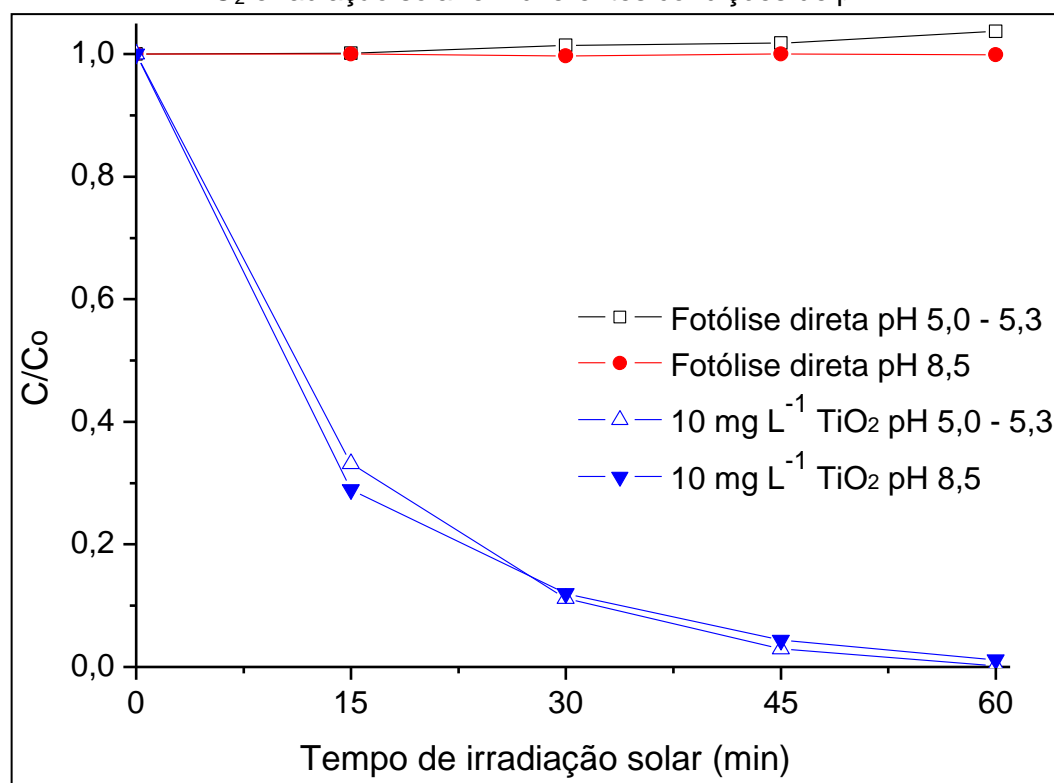
Fonte: Adaptado de LINTELMANN et al., 2003.

As partículas do semicondutor  $\text{TiO}_2$  apresentam o ponto de carga zero (pcz)  $\text{pH}_{\text{zpc}}$  igual a 6, inferindo que em  $\text{pH} > 6$  as partículas estão carregadas negativamente (KANECO et al., 2004). Assim, como o processo de fotocatalise é interfacial, pode ocorrer redução da “adsorção” das moléculas de BFA à superfície do catalisador em  $\text{pH} 8,5$  devido às forças de repulsão eletrostáticas, implicando na redução da eficiência do processo de degradação (TSAI et al., 2009). Porém, observou-se experimentalmente, que não houve diferença significativa na remoção de BFA nas diferentes condições de  $\text{pH}$  em estudo. Segundo Kaneco et al. (2004), em  $\text{pH}$  básico tem-se a geração de mais radicais hidroxilas devido à maior concentração de íons hidróxidos em solução, o que possivelmente resultou na eficiência da degradação apesar da menor “adsorção” das moléculas de BFA à superfície do  $\text{TiO}_2$ .

#### 4.4.3 Estudo da degradação do BFA empregando o semicondutor $\text{TiO}_2$ e radiação solar

Os resultados após os processos de fotólise direta e fotocatalise heterogênea empregando radiação solar seguem apresentados na Figura 50.

Figura 50 - Comparação da remoção de BFA (Cinicial  $800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$  e radiação solar em diferentes condições de pH



Fonte: Próprio autor.

O processo de fotólise direta não apresentou eficiência na remoção do BFA após 1 hora de irradiação em ambas as condições de pH avaliadas (radiação acumulada em pH sem ajuste e 8,5, respectivamente:  $10,6$  e  $12,3 \text{ J cm}^{-2}$ ). O emprego da massa otimizada do semicondutor  $\text{TiO}_2$  ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) resultou na completa remoção do analito em 60 minutos de irradiação em pH sem ajuste (radiação acumulada:  $11,4 \text{ J cm}^{-2}$ ) e em pH 8,5 (radiação acumulada:  $9,45 \text{ J cm}^{-2}$ ).

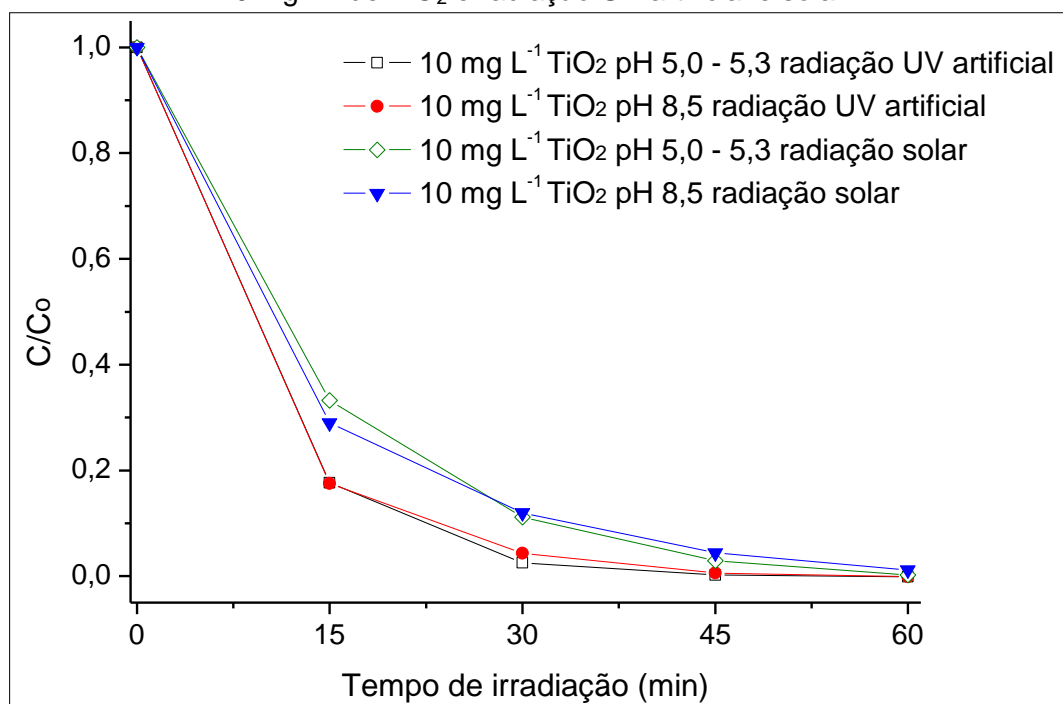
Os resultados obtidos corroboram com Kaneco et al. (2004) que estudaram a remoção de BFA ( $100 \text{ mg L}^{-1}$  em água ultrapura, pH 6,0) empregando  $\text{TiO}_2$  e radiação UV solar. Os autores relataram que o processo de fotólise direta não apresentou eficiência na remoção do BFA após 60 minutos de irradiação. Já o processo de fotocatalise empregando  $10 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$  removeu cerca de 60% do analito após uma hora de irradiação solar. Tem-se que os resultados apresentados por Kaneco et al. (2004) apresentou menor porcentagem de remoção empregando uma concentração mais elevada do semicondutor. Isso pode estar associado à concentração inicial da solução de BFA utilizada nos ensaios de degradação. Os autores relataram o efeito da concentração inicial do analito na eficiência do

processo, e concluíram que a eficiência da degradação diminuiu gradualmente com o aumento da concentração inicial da solução de BFA.

#### 4.4.4 Comparação da eficiência de degradação empregando radiação UV artificial e solar

Investigou-se o emprego da radiação solar como fonte de energia para ativação do semicondutor  $\text{TiO}_2$  obtendo-se eficiência na remoção do BFA nas condições em estudo. A Figura 51 apresenta o comparativo do processo de fotocatalise heterogênea empregando radiação UV artificial e solar em função do tempo de exposição à respectiva radiação.

Figura 51 - Comparação da eficiência do processo de fotocatalise heterogênea empregando  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$  e radiação UV artificial e solar



Fonte: Próprio autor.

O processo empregando radiação UV artificial apresentou remoção completa do analito em solução após 45 minutos de irradiação em ambas as condições de pH avaliadas. Já o processo empregando radiação solar removeu completamente o BFA após 60 minutos de irradiação em pH sem ajuste e em pH 8,5.

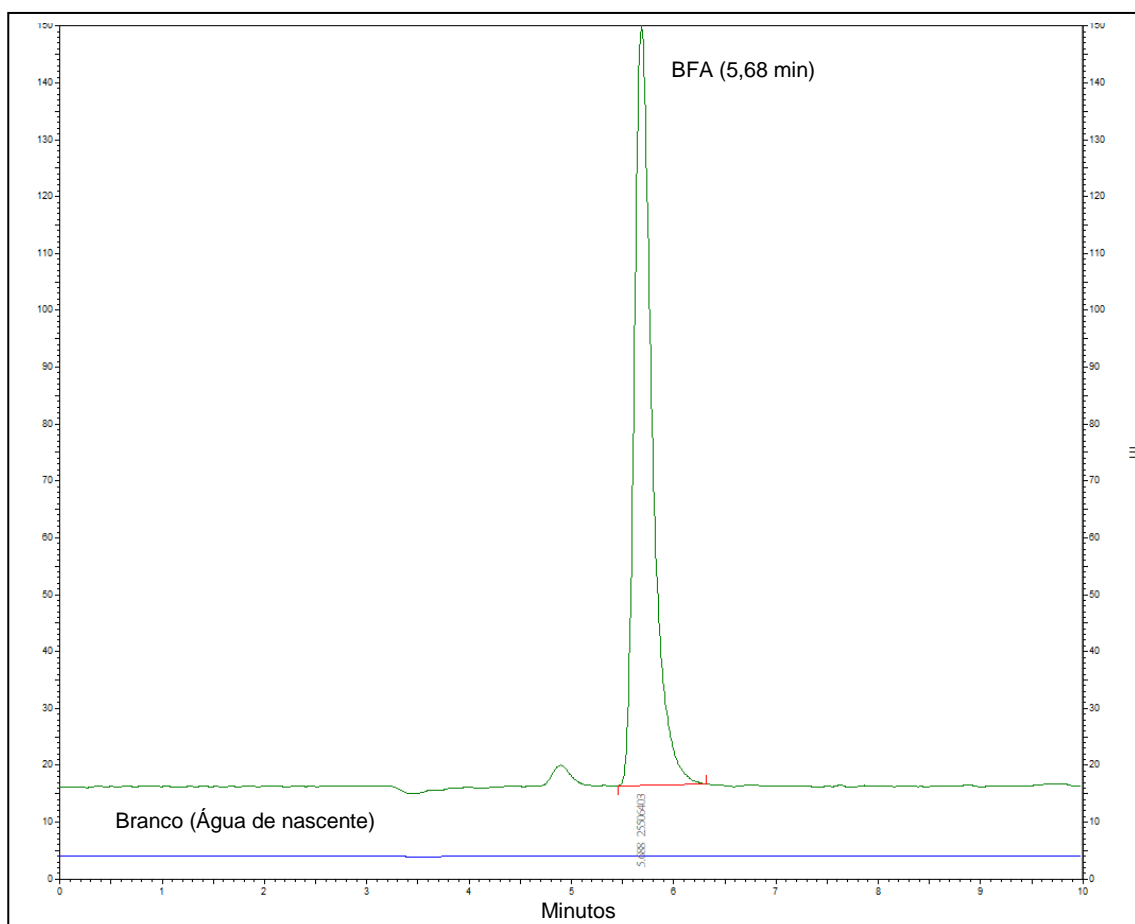
Segundo Ribeiro et al. (2015), o processo de fotocatalise heterogênea pode ser aplicado empregando-se radiação solar, o que deixaria o processo mais sustentável e viável economicamente. A remoção do BFA em solução em um menor período de tempo empregando-se radiação UV artificial pode estar relacionada ao

fato de que apenas 3% do espectro solar ao nível do mar corresponde ao comprimento de onda necessário para ativação do semicondutor  $\text{TiO}_2$  ( $\lambda$  de até 385 nm) (NOGUEIRA; JARDIM, 1997). Porém, neste estudo, o BFA foi removido completamente empregando-se tanto radiação UV artificial quanto radiação solar.

#### 4.4.5 Efeito da matriz na remoção do BFA

Avaliou-se a seletividade do método analítico frente à mudança de matriz. Após a análise de uma solução de BFA  $800 \mu\text{g L}^{-1}$  preparada em água de nascente e da matriz isenta do analito (água de nascente), obteve-se o cromatograma apresentado na Figura 52.

Figura 52 - Cromatograma da solução de BFA (Cinicial  $800 \mu\text{g L}^{-1}$ ) em água de nascente e do branco empregando detector FLD

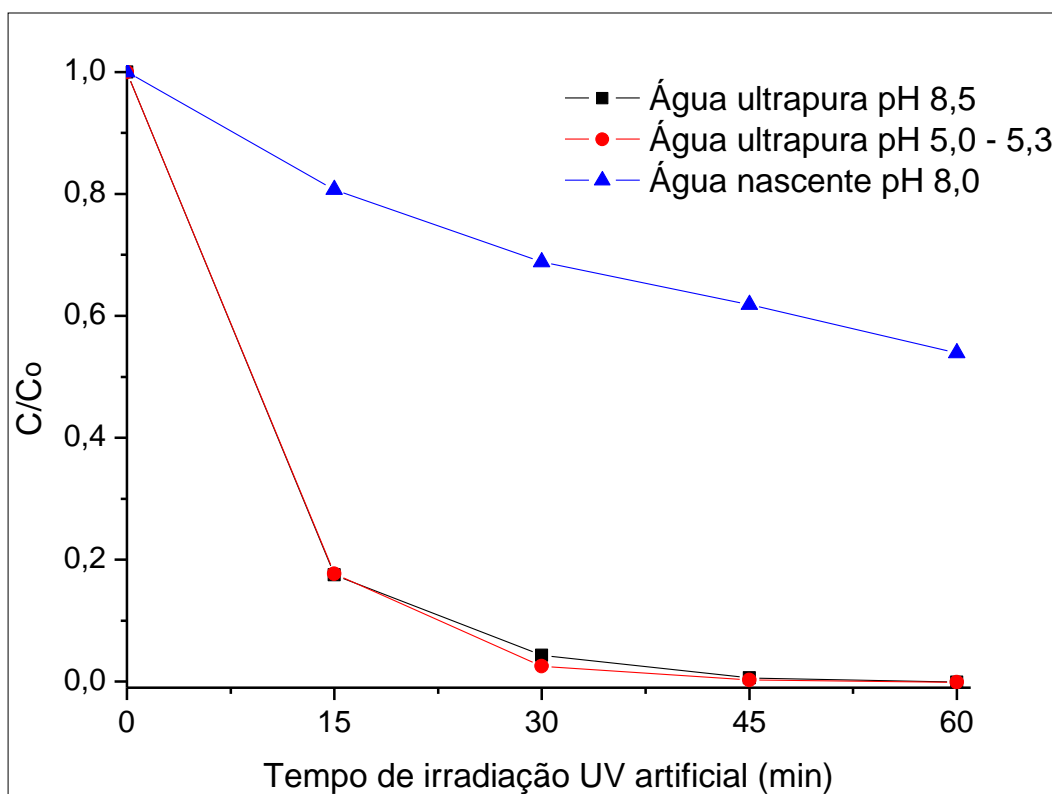


Fonte: Próprio autor

Observou-se que não houve interferência na determinação do BFA na matriz água de nascente, já que não ocorreu coeluição no tempo de retenção do analito em estudo (5,68 minutos).

Com base nos resultados apresentados anteriormente tem-se que o processo de fotocatalise heterogênea apresentou eficiência na remoção do BFA em água ultrapura nas condições estudadas. Avaliou-se também a eficiência da degradação em água de nascente empregando-se a concentração otimizada do semiconductor  $\text{TiO}_2$  ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ). A Figura 53 apresenta a comparação da eficiência de remoção após o processo em água de nascente e em água ultrapura.

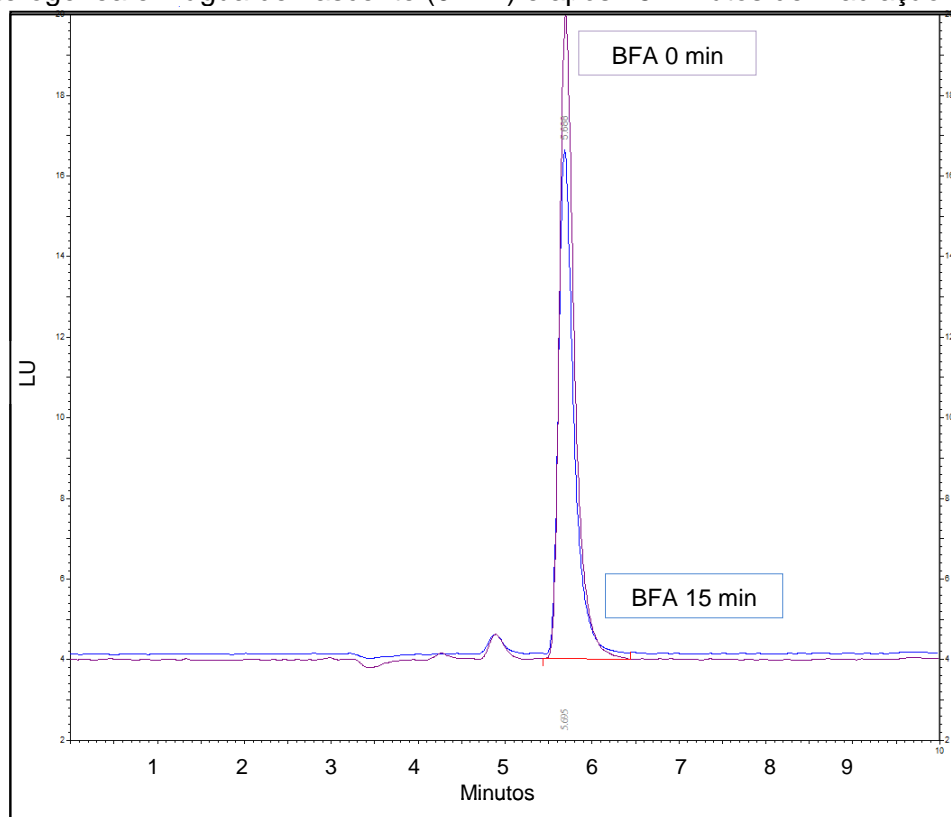
Figura 53 - Comparação da eficiência do processo de fotocatalise heterogênea empregando  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$ , aeração constante e radiação UV artificial



Fonte: Próprio autor.

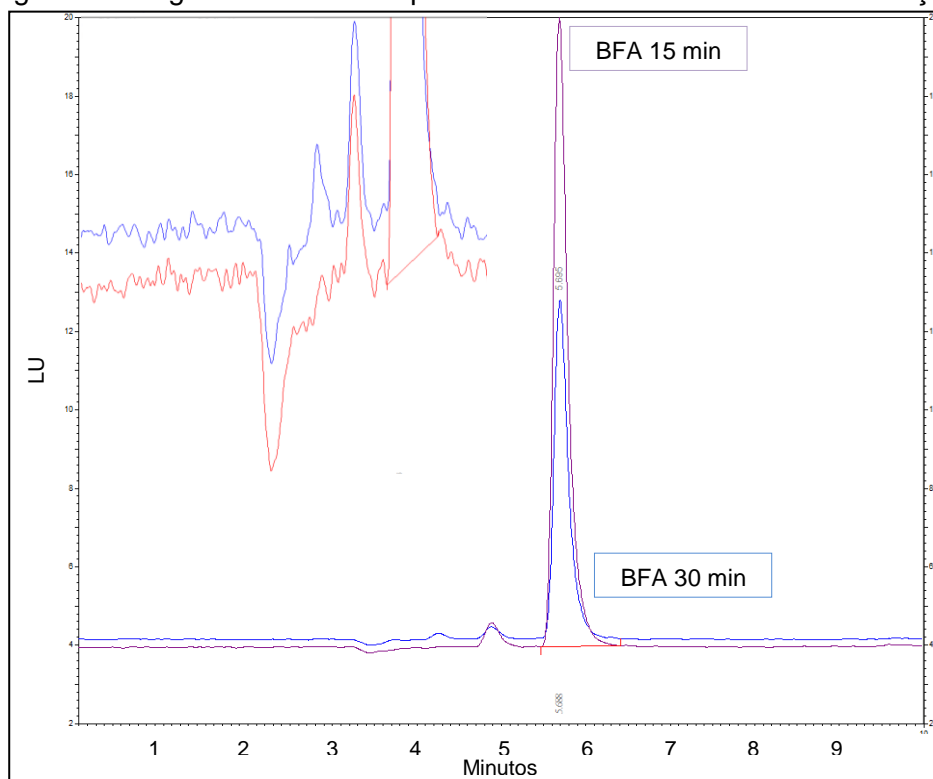
O processo de fotocatalise heterogênea em água ultrapura removeu completamente o BFA em 45 minutos de irradiação em pH 5,3 e 8,5. Já o processo em água de nascente removeu aproximadamente 46% do BFA após 60 minutos de reação em pH sem ajuste ( $\approx 8,0$ ). As Figuras 54, 55, 56 e 57 apresentam, respectivamente, os cromatogramas no decorrer do processo de degradação.

Figura 54 – Cromatograma das soluções de BFA no início do processo de fotocatalise heterogenea em água de nascente (0 min) e após 15 minutos de irradiação UV artificial



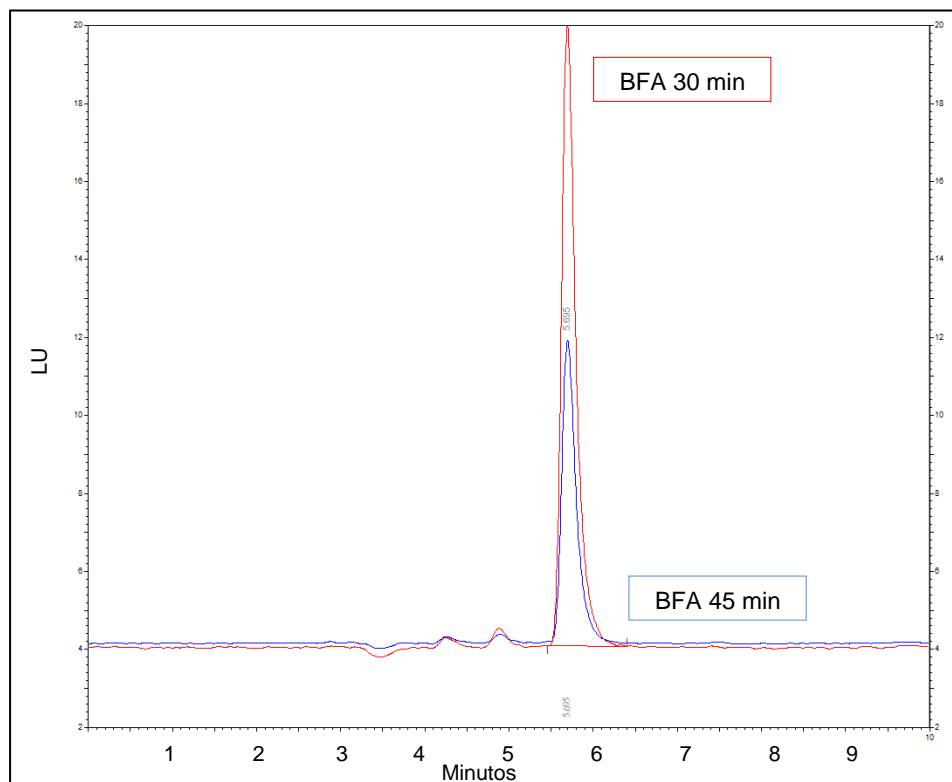
Fonte: Próprio autor

Figura 55 – Cromatograma das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogenea em água de nascente após 15 minutos e 30 minutos de irradiação UV artificial



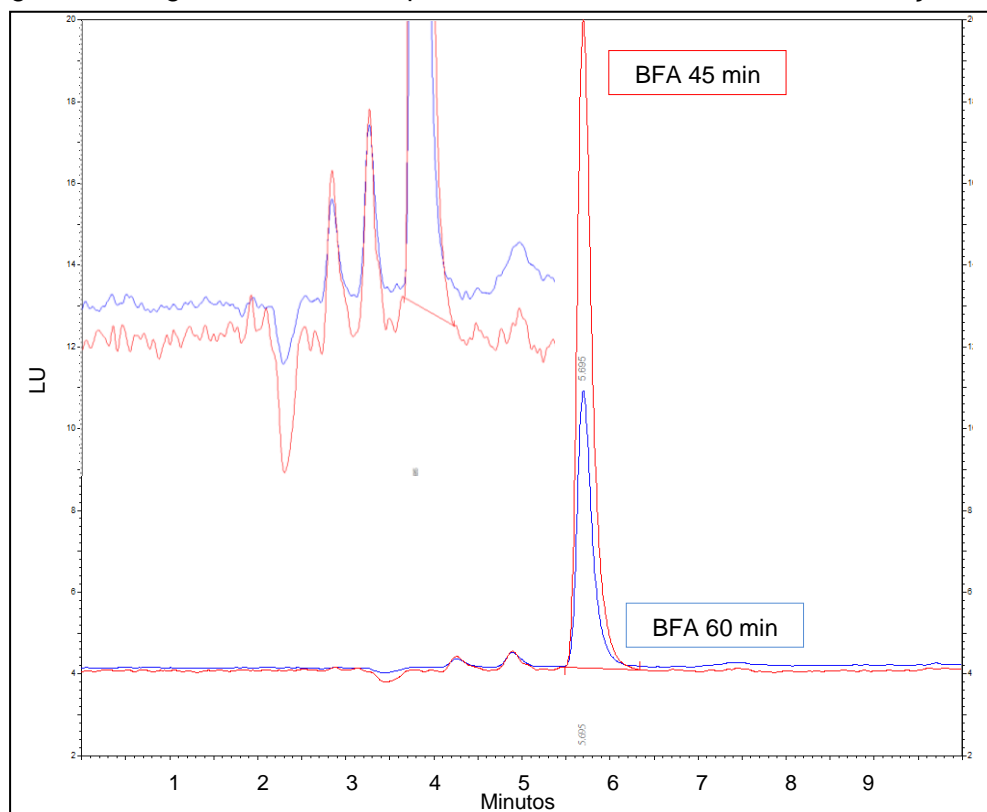
Fonte: Próprio autor.

Figura 56 – Cromatograma das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogenea em água de nascente após 30 minutos e 45 minutos de irradiação UV artificial



Fonte: Próprio autor.

Figura 57 – Cromatograma das soluções de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogenea em água de nascente após 45 minutos e 60 minutos de irradiação UV artificial

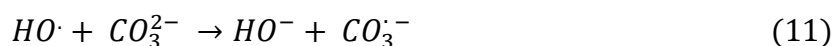
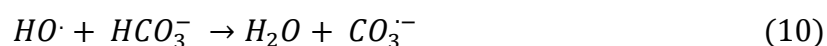


Fonte: Próprio autor.



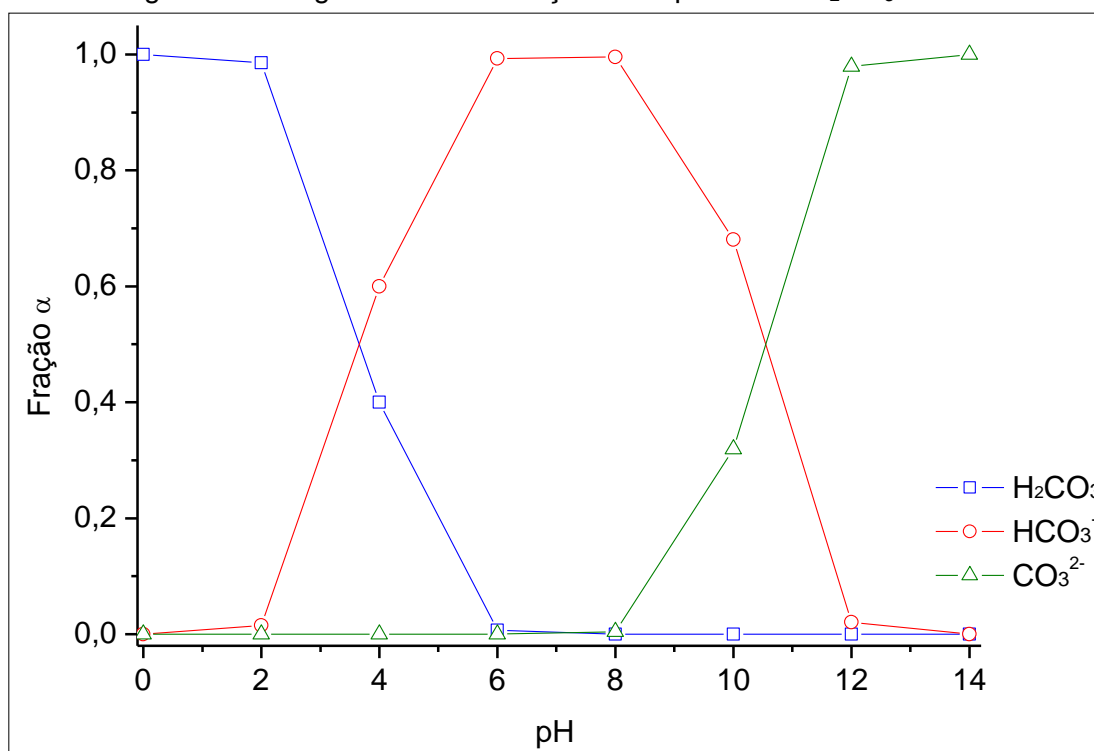
Pode-se observar o aparecimento de picos em tempos de retenção distintos do BFA inferindo que possíveis subprodutos se formaram durante o processo.

A menor eficiência na degradação do BFA em água de nascente deve-se a presença de íons e compostos orgânicos ausentes na água ultrapura. Segundo Teixeira e Jardim (2004), algumas substâncias ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ ) podem reduzir a taxa de fotomineralização (20-70%) devido à adsorção de tais íons aos sítios oxidantes do semicondutor. Além disso, a presença de espécies como  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{CO}_3^{2-}$  podem reduzir a eficiência do processo, já que tais íons reagem com o radical hidroxila competindo com o substrato orgânico (Eq. 10 e 11) (LEGRINI; OLIVEROS; BRAUN,1993).



O pH da água de nascente empregada nos estudos é cerca 8,0. Assim, como observado na Figura 58, esta pode conter teores de  $\text{HCO}_3^-$  que pelo sequestro do radical hidroxila interferiu na eficiência do processo de fotocatalise heterogênea.

Figura 58 - Diagrama de distribuição de espécies do  $\text{H}_2\text{CO}_3$  à 25°C



Fonte: Software OriginPro 7.0.

## 4.5 Ensaios ecotoxicológicos

### 4.5.1 Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*

Realizou-se ensaios com organismos aquáticos (*Daphnia similis*) para a avaliação da toxicidade das amostras submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea e para determinação da CE<sub>50</sub>. Na Tabela 18 seguem apresentados os parâmetros monitorados no início e ao fim dos ensaios (pH, condutividade ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ), Oxigênio dissolvido (OD  $\text{mg L}^{-1}$ ) e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )).

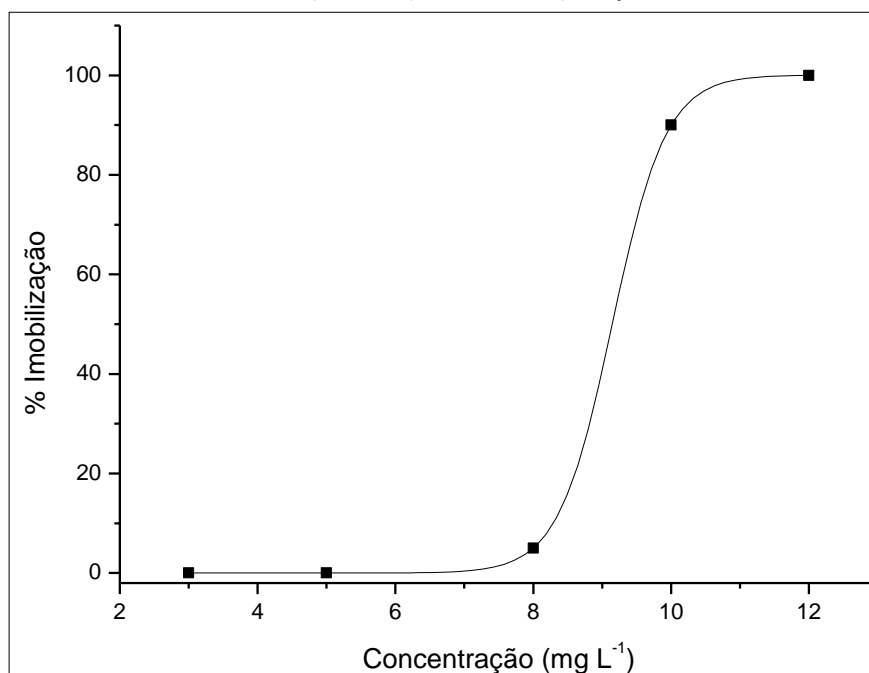
Tabela 18 - Parâmetros físicos e químicos monitorados no início e ao fim do ensaio de toxicidade aguda com *D. similis*

Amostra		pH	Condutividade ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	OD ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )
Água de nascente	Início	8,21	75,8	7,53	23,0
	Final	8,86	88,2	7,59	23,6
Controle reacional (0 min)	Início	7,94	67,7	9,05	22,4
	Final	8,64	82,1	7,64	22,9
Controle reacional (30 min)	Início	7,54	71,3	8,57	22,5
	Final	8,54	80,4	7,62	23,0
Controle reacional (60 min)	Início	7,34	73,3	8,69	22,6
	Final	8,47	85,8	7,65	23,3
Fotocatálise heterogênea (0 min)	Início	7,58	73,8	8,51	22,9
	Final	8,53	84,8	7,70	22,9
Fotocatálise heterogênea (30 min)	Início	7,59	73,0	8,22	22,7
	Final	8,50	83,4	7,66	23,0
Fotocatálise heterogênea (60 min)	Início	7,50	73,6	8,56	22,8
	Final	8,44	83,6	7,66	22,9
CE <sub>50</sub> 3,0 $\text{mg L}^{-1}$	Início	7,25	73,9	7,72	23,1
	Final	8,31	87,6	7,60	23,3
CE <sub>50</sub> 8,0 $\text{mg L}^{-1}$	Início	7,36	71,6	7,76	23,0
	Final	8,33	83,4	7,57	23,3
CE <sub>50</sub> 12,0 $\text{mg L}^{-1}$	Início	7,57	72,3	7,77	23,0
	Final	8,22	87,1	7,53	23,2

Fonte: Próprio autor.

Após 48 h de exposição determinou-se a toxicidade aguda do BFA para *Daphnia similis* em relação ao CE<sub>50</sub>, obtendo-se o valor de 8,97 mg L<sup>-1</sup> (Figura 59). Jeong et al. (2013) determinaram a CE<sub>50</sub> do BFA para *Daphnia magna* após 48 h de exposição encontrando um valor de 10,4 mg L<sup>-1</sup>, já Tisler et al. (2016) encontraram um valor de 7,3 mg L<sup>-1</sup> para o mesmo parâmetro.

Figura 59 - Curva dose-resposta após 48 h exposição de *D. similis* ao BFA



Fonte: Próprio autor.

Os resultados indicaram que não houve efeito de toxicidade aguda para os organismos após a exposição (24 e 48 h) ao controle reacional e as amostras de BFA submetidas ao processo de fotocatalise heterogênea. Tal resultado pode estar associado ao fato de que as soluções submetidas ao processo de degradação apresentavam concentrações inferiores ao CE<sub>50</sub> e que o processo de degradação não gerou subprodutos tóxicos para tais bioindicadores nas condições avaliadas.

Erjavec et al. (2016) avaliaram a toxicidade aguda para *Daphnia magna* à exposição a soluções de BFA no início e após o processo de fotocatalise heterogênea empregando TiO<sub>2</sub> suportado em fibra de vidro. Tais autores relataram taxa de imobilização dos organismos superior a 30% após 24 h de exposição à solução inicial de BFA (10,0 mg L<sup>-1</sup>), e observaram que as soluções submetidas ao POA apresentaram índices de toxicidade inferiores a solução inicial. Tal fato deve-se

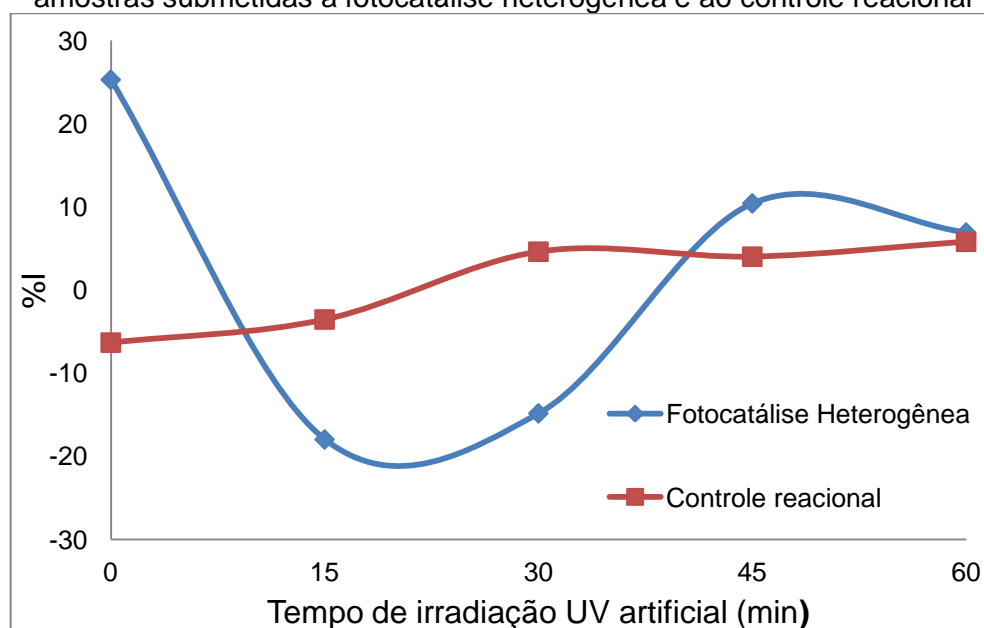
a redução gradativa da concentração de BFA em relação ao tempo de irradiação durante o processo de fotocatalise heterogênea.

Jeong et al. (2013) observaram que o BFA pode apresentar toxicidade crônica a *Daphnia magna* interferindo na taxa de reprodução de tais organismos após um período maior de exposição (21 dias). Tais autores avaliaram o efeito crônico para *D. magna* à exposição a soluções de BFA em diferentes concentrações (1,97 – 10,0 mg L<sup>-1</sup>) e observaram que houve redução do número de neonatos por organismos adultos a partir de 6,67 mg L<sup>-1</sup> de BFA em relação ao controle. Porém, no presente trabalho a não imobilização dos organismos após o processo de fotocatalise heterogênea indicou que as amostras tratadas não apresentaram toxicidade aguda ao bioindicador *Daphnias similis* nas condições em estudo.

#### 4.5.2 Teste de toxicidade crônica com *Raphidocelis subcapitata*

Os ensaios de toxicidade crônica com a microalga *R. subcapitata* após 72 h de exposição foram expressos em % de inibição do crescimento (Eq. 9) obtido pela contagem celular na câmara de Neubauer. Os resultados seguem apresentados na Figura 60.

Figura 60 - Inibição de crescimento da microalga *R. subcapitata* após 72 h de exposição a amostras submetidas a fotocatalise heterogênea e ao controle reacional



Fonte: Próprio autor.

As amostras retiradas no início do processo de fotocatalise heterogênea (800 µg L<sup>-1</sup> de BFA) resultaram na inibição do crescimento algal de aproximadamente 25% comparado ao controle. Após 15 e 30 min de irradiação UV artificial houve um resultado inverso, observando um crescimento da biomassa algal de 18 e 15%, respectivamente. Porém, tal tendência não se manteve e as amostras retiradas em 45 e 60 min de irradiação inibiram o crescimento da biomassa algal cerca 10 e 7%.

Apesar da contagem celular indicar que houve inibição e estímulo do crescimento da biomassa algal em determinadas amostras do processo de degradação, as análises estatísticas (one way ANOVA) mostraram que não houve diferenças significativas (95% de confiança) entre os valores de biomassa algal do controle e das amostras retiradas no início (0 min) e ao fim do processo de degradação (60 min) após 72 h de exposição. Além disso, aplicou-se o mesmo teste e verificou-se que não houve diferença significativa entre os valores de biomassa algal do controle e das amostras retiradas no início e ao fim do controle reacional após o mesmo ensaio.

Resultados similares foram obtidos por Candido et al. (2016) na avaliação da toxicidade crônica das soluções de ibuprofeno após o processo de fotocatalise heterogênea (TiO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>/UV artificial) para *R. subcapitata*. Os autores observaram que as amostras retiradas no início do processo (1,0 mg L<sup>-1</sup> de ibuprofeno) resultaram na inibição de crescimento algal de cerca de 20%; já as alíquotas retiradas após 5 e 10 min resultaram no aumento de 10% na biomassa algal. Porém, após 45 min do processo de degradação houve novamente inibição do crescimento algal (41%) e após 120 min de irradiação não observou-se efeito tóxico. Entretanto, as análises estatísticas indicaram que não houve diferenças significativas entre os resultados de Chl-a após 96 h de exposição.

Pode-se associar a tendência dos resultados obtidos no ensaio crônico neste trabalho a possibilidade de formação de subprodutos de degradação que interferiram no crescimento da biomassa algal da espécie *R. subcapitata*. Porém, a extrapolação dos dados obtidos em condições laboratoriais é limitada já que em ambientes naturais pode haver efeito sinérgico das diferentes substâncias exógenas presentes. Assim, estudos mais detalhados são necessários para a predição dos efeitos nocivos da presença do xenoestrogênio BFA no meio ambiente.

## 5. CONCLUSÃO

O método analítico empregado foi validado de acordo com os parâmetros estipulados pela ANVISA e o detector FLD mostrou-se mais adequado para determinação de BFA.

O POA estudado foi eficiente na remoção do BFA em água ultrapura empregando-se baixas concentrações do semicondutor  $\text{TiO}_2$  ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) e radiação UV artificial e solar. Entretanto, não determinou-se o teor de mineralização do BFA após os ensaios de degradação. Ao realizar-se a fotocatalise heterogênea em água de nascente observou-se remoção inferior (46%), indicando que a mudança de matriz pode interferir na eficiência do processo.

A  $\text{CE}_{50}$  do BFA para o microcrustáceo *Daphnia similis* foi de  $8,97 \text{ mg L}^{-1}$ . Os testes ecotoxicológicos mostraram que as amostras submetidas ao tratamento otimizado não apresentaram efeitos agudos e crônicos para os bioindicadores *Daphnia similis* e *Raphidocelis subcapitata*, respectivamente.

## **6. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Diante dos resultados obtidos, há a necessidade de investigar a eficiência dos POA em matrizes reais (esgoto e águas superficiais, por exemplo) para remoção do BFA e de outros contaminantes emergentes. Além disso, a identificação de possíveis subprodutos de degradação e a realização de ensaios ecotoxicológicos em diferentes níveis tróficos e na presença de outros contaminantes são de fundamental importância para a avaliação do risco ambiental associado à ocorrência de tais substâncias.

## REFERÊNCIAS

- ABO, R.; KUMMER, N.; MERKEL, B. Optimized photodegradation of Bisphenol A in water using ZnO, TiO<sub>2</sub> and SnO<sub>2</sub> photocatalysts under UV radiation as a decontamination procedure. **Drinking Water Engineering and Science**, v.9, p. 27-35, 2016.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR12648/2011) – Ecotoxicologia Aquática, toxicidade crônica – Testes com algas verdes (*Chlorophyceae*), 2011.
- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas (NBR12713/2016) – Ecotoxicologia Aquática, toxicidade aguda – Testes *Daphnia spp* (*Cladocera*, *Crustacea*), 2016.
- ALONSO-MAGDALENA, P.; QUESADA, I.; NADAL, A. Prenatal Exposure to BPA and Offspring Outcomes: The Diabesogenic Behavior of BPA. **Dose-Response: An International Journal**, p. 1-8, 2015.
- ARCHER, E.; PETRIE, B.; KASPRZYK-HORDERN, B.; WOLFAARDT, G. M. The fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), endocrine disrupting contaminants (EDCs), metabolites and illicit drugs in a WWTW and environmental waters. **Chemosphere**, v. 174, p. 437-446, 2017.
- ARISTIAWAN, Y.; RUBIO, S.; PÉREZ-BENDITO, D. Analytical Method Development for Bisphenol A in Tuna by using High Performance Liquid Chromatography-UV. **Procedia Chemistry**, v.16, p. 202-208, 2015.
- ASTER. Global BPA Production to Exceed 5.4 Mln Tonnes by 2015, According to In-demand Report by Merchant Research & Consulting, 2014. Disponível em: <<http://www.prweb.com/releases/2014/04/prweb11761146.htm>>. Acesso em: 25 maio 2017.
- BALLESTEROS-GÓMEZ, A.; ARYANA, N.; PUTRI, D.; STYARINI, D. Analytical methods for the determination of bisphenol A in food. **Journal of Chromatography A**, v.1216, p. 449-469, 2009.
- BERNARDO, P. E. M.; NAVAS, S. A.; MURATA, L. T. F.; ALCÂNTARA, M. R. S. Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade – Uma Revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 4, p.1-11, 2015.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 26, p. 523, 2007.
- BOLONG, N.; ISMAIL, A.F.; SALIM, M.R.; MATSUURA, T. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. **Desalination**, v. 239, p. 229-246, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. RESOLUÇÃO - RDC Nº 41, DE 16 DE SETEMBRO DE 2011. Dispõe sobre a proibição de uso de bisfenol A em mamadeiras destinadas a alimentação de lactentes e dá outras providências. Disponível em:



<[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0041\\_16\\_09\\_2011.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0041_16_09_2011.html)>. Acesso em: 27 ago. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017b. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005\\_03\\_10\\_2017.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html)>. Acesso em: 04 mar. 2018.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Agência Nacional de Águas (ANA). Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil: 2017a. Disponível em: <[http://www.snirh.gov.br/portal/snirh/centrais-de-conteudos/conjuntura-dos-recursos-hidricos/conjuntura2017\\_digital.pdf](http://www.snirh.gov.br/portal/snirh/centrais-de-conteudos/conjuntura-dos-recursos-hidricos/conjuntura2017_digital.pdf)>. Acesso em: 04 jan. 2018.

BRAZ, F.S.; SILVA, M.R.A.; SILVA, F.S.; ANDRADE, S.J.; FONSECA, A.L.; KONDO, M.M. Photocatalytic Degradation of Ibuprofen Using TiO<sub>2</sub> and Ecotoxicological Assessment of Degradation Intermediates against *Daphnia similis*. **Journal of Environmental Protection**, v.5, p. 620-626, 2014.

BRIEÑO-ENRÍQUEZ, M. A.; LARRIBA, E.; DEL MAZO, J. Endocrine disrupters, microRNAs, and primordial germ cells: a dangerous cocktail. **Fertility and Sterility**, v. 106, p. 871-879, 2016.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P.; POLESE, L.; SANTOS, T. C. R.; RIBEIRO, M.L. Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de Análise de resíduos de pesticidas mediante ensaios de Recuperação. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.12, p.155-168, 2002.

CANDIDO, J. P. ANDRADE, S. J.; FONSECA, A. L.; SILVA, F. S.; SILVA, M. R. A.; KONDO, M.M. Ibuprofen removal by heterogeneous photocatalysis and ecotoxicological evaluation of the treated solutions. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, p.19911-19920, 2016.

CASTRO-CORREIA, C.; FONTOURA, M. A influência da exposição ambiental a disruptores endócrinos no crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 10, p.186-192, 2015.

CIRILO, J. A. Crise hídrica: desafios e superação. **Revista USP**, São Paulo, v.106, p. 45-58, 2015.

CONFALONIERI, U.; HELLER, L.; AZEVEDO, S. ÁGUAS E SAÚDE: ASPECTOS GLOBAIS E NACIONAIS. BICUDO, C.E.DE M.; TUNDISI, J.G.; SCHEUENSTUHL, M.C.B. Águas do Brasil: análises estratégicas. Barnsley Scheuenstuhl – São Paulo, Instituto de Botânica, 2010. Disponível em: <<https://www.abc.org.br/IMG/pdf/doc-6820.pdf>>. Acesso em: 27 de ago. 2017.

CORRALES, J.; KRISTOFKO, L. A.; STEELE, W. B.; YATES, B. S.; BREED, C. S.; WILLIAMS, E. S.; BROOKS, B. W. Global Assessment of Bisphenol A in the Environment. **Dose-Response: An International Journal**, p.1-29, 2015.

COSTA, C.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R. ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n 7, p.1820-1830, 2008.

DA SILVA, J. C. C.; TEODORO, J. A. R.; AFONSO, R. J. C. F.; AQUINO, S. F.; AUGUST, R. Photodegradation of bisphenol A in aqueous medium: Monitoring and identification of by-products by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 28, p. 987-994, 2014.

DEBLONDE, T.; COSSU-LEGUILLE, C.; HARTEMANN, P. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 214, p. 442-448, 2011.

DEKANT, W.; VÖLKEL, W. Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: Methods, results and assessment of environmental exposures. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.228, p.114-134, 2008.

DEL MAZO, J.; BRIEÑO-ENRÍQUEZ, M. A.; GARCÍA-LÓPEZ, J.; LÓPEZ-FERNÁNDEZ, L. A.; DE FELICI, M. Endocrine disruptors, gene deregulation and male germ cell tumors. **The International Journal of Developmental Biology**, v. 57, p. 225-239, 2013

DENG, Y.; ZHAO, R. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater. **Water Pollution**, v.1, p.167-176, 2015.

DEZOTTI, M. Processos e técnicas para o controle ambiental de efluentes líquidos. E-papers Serviços Editoriais Ltda, 2008.

DOERGE, D. R.; TWADDLE, N. C.; VANLANDINGHAM, M.; FISHER, J. W. Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult Sprague-Dawley rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.247, p.158-165, 2010.

ELADAK, S.; GRISIN, T.; MOISON, D.; GUERQUIN, MJ.; N'TUMBA-BYN, T.; POZZI-GAUDIN, S.; BENACHI, A.; LIVERA, G.; ROUILLER-FABRE, V.; HABERT, R. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. **Fertility and Sterility**, v.103, p.11-21, 2015.

ERJAVEC, B.; HUDOKLIN, P.; PERC, K.; TISLER, T.; DOLENC, M. S.; PINTAR, A. Glass fiber-supported TiO<sub>2</sub> photocatalyst: Efficient mineralization and removal of toxicity/estrogenicity of bisphenol A and its analogs. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.183, p.149-158, 2016.

European Union (EU). COMMISSION DIRECTIVE 2011/8/EU. Amending Directive 2002/72/EC as regards the restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles. Disponível em: <eur-lex.europa.eu/legal content/EN/TXT/?uri=CELEX:32011L0008>. Acesso em: 27 ago. 2017.

FARRÉ, M. L.; PÉREZ, S.; KANTIANI, L.; BARCELÓ, D. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, 2008.

FOLEGATTI, M. V.; ROMÁN, R. M. S.; COELHO, R. D.; FRIZZONE, J. A. “Gestão dos Recursos Hídricos e Agricultura Irrigada no Brasil”, In C. E. M. Bicudo; J. G. Tundisi; M. C. B. Scheuenstuhl (orgs.). *Águas do Brasil: Análises Estratégicas*. São Paulo, Academia Brasileira de Ciências e Instituto de Botânica, 2010, p.15-24.

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

GEENS, T.; AERTS, D.; BERTHOT, C.; BOURGUIGNON, J-P.; GOEYENS, L.; LECOMTE, P.; MAGHUIN-ROGISTER, G.; PIRONNET, A-M.; PUSSEMIER, L.; SCIPPO, M-L.; LOCO, J. V.; COVACI, A. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 3725-3740, 2012.

GHISELLI, G. Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na Região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP). Universidade Estadual de Campinas, 182 p. (Tese Doutorado), Campinas, 2006.

GHISELLI, G.; JARDIM, F.W. Interferentes Endócrinos no Ambiente. **Química Nova**, v.30, n.3, p. 695-706, 2007.

GRASSI, M. T. As águas do planeta Terra. **Química Nova na Escola**, São Paulo, maio 2001. (Edição especial).

HUANG, Y. Q.; WONG, C.K.; ZHENG, J.S.; BOUWMAN, H.; BARRA, R.; WAHLSTRÖM, B.; NERETIN, L.; WONG, MH. Bisphenol A (BPA) in China: A review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. **Environment International**, v. 42, p. 91-99, 2012.

HUO, W.; XIA, W.; WAN, Y.; ZHANG, B.; ZHOU, A.; ZHANG, Y.; HUANG, K.; ZHU, Y.; WU, C.; PENG, Y.; JIANG, M.; HU, J.; CHANG, H.; XU, B.; LI, Y.; XU, S.; LI, Y.; XU, S. Maternal urinary bisphenol A levels and infant low birth weight: A nested case–control study of the Health Baby Cohort in China. **Environment International**, v. 85, p. 96-103, 2015.

JARDIM, W. F.; MONTAGNER, C. C.; PESCARA, I. C.; UMBUZEIRO, G. A.; BERGAMASCO, A. M. D. D.; ELDRIDGE, M. L.; SODRÉ, F. F. An integrated approach to evaluate emerging contaminants in drinking water. **Separation and Purification Technology**, v. 84, p. 3-8, 2012.

JEONG, S. W.; LEE, S. M.; YUM, S. S.; IGUCHI, T.; SEO, Y. R. Genomic expression responses toward bisphenol-A toxicity in *Daphnia magna* in terms of reproductive activity. **Molecular & Cellular Toxicology**, v.9, p.149-158, 2013.

KANECO, S.; MOHAMMAD, A. R.; SUZUKI, T.; KATSUMATA, H.; OHTA, K. Optimization of solar photocatalytic degradation conditions of bisphenol A in water using titanium dioxide. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v.163, p. 419-424, 2004.

- KONDO, M. M.; MORAES, R.G.M.; ANDRADE, S.J.; SILVA, M.R.A. Processos fenton e foto-fenton no tratamento de águas residuárias dos frutos do cafeeiro. **Coffe Science**, v. 9, p. 506-515, 2014.
- KONDO, M. M.; JARDIM, W. F. Photodegradation of chloroform and urea using Agloaded titanium dioxide as catalyst. **Water Research**, v. 25, n.7, p. 823-827, 1991.
- KONIECZNA, A.; RUTKOWSKA, A.; RACHOŃ, D. Health risk of exposure to bisphenol A (BPA). **Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny**, v. 66, p. 5-11, 2015.
- KUO, C.; WU, C.; LIN, H. Photocatalytic degradation of bisphenol A in a visible light/TiO<sub>2</sub> system. **Desalination**, v.256, p.37-42, 2010.
- LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, M. Photochemical Processes for Water Treatment. **Chemical Reviews**, v. 93, p. 671-698, 1993.
- LINTELMANN, J.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; SHORE, L.; WENZEL, A. Endocrine disruptors in the environment. **Pure & Applied Chemistry**, v. 75, p. 631-681, 2003.
- LUO, Y.; GUO, W. NGO, H. H.; NGHIEM, L. D.; HAI, F. I.; ZHANG, J.; LIANG, S.; WANG, X. C. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of The Total Environment*, v. 473-474, p. 619-641, 2014.
- MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. L. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, p. 355-381, 2008.
- MICHALOWICZ, J. Bisphenol A – Sources, toxicity and biotransformation. **Environmental Toxicology and pharmacology**, v.37, p. 738-758, 2014.
- MNIF, W.; HASSINE, A. I. H.; BOUAZIZ, A.; BARTEGI, A.; THOMAS, O.; ROIG, B. Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, p. 2265-2303, 2011.
- MÍNGUEZ-ALARCÓN, L.; HAUSER, R.; GASKINS, A. J.; Effects of bisphenol A on male and couple reproductive health: a review. **Fertility and Sterility**, v. 106, p. 864-870, 2016.
- MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v.40, p.1094-1110, 2017.
- MONTAGNER, C. C.; PASCHOALINO, M.; JARDIM, W. Aplicação da fotocatalise heterogênea na desinfecção de água e ar. (Caderno Temático Vol. IV). 17 p. Campinas: Unicamp. LQA, 2005.
- NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. A Fotocatalise Heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, v. 21, p. 69-72, 1997.

NOGUEIRA, R. F. P.; TROVÓ, A.G.; SILVA, M.R.A; VILLA, R.D. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. **Química Nova**, v. 30, p. 400-408, 2007.

PEREZ, M. A. F. O. Bisfenol A e as legislações para contato com alimento. Boletim de tecnologia e desenvolvimento de embalagens, Vol. 24 – Nº 2, 2012. Disponível em: < [http://www.cetea.ital.sp.gov.br/informativo/v24n2/v24n2\\_artigo2.pdf](http://www.cetea.ital.sp.gov.br/informativo/v24n2/v24n2_artigo2.pdf)> Acesso em: 02 de set. 2016.

PETRIE, B., BARDEN, R., KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**, v. 72, p. 3-27, 2015.

REBOUÇAS, A. DA C. Água no Brasil: abundância, desperdício e escassez. BAHIA ANÁLISE& DADOS Salvador, v. 13, n. ESPECIAL, p. 341-345, 2003. Disponível em: <<https://goo.gl/JhYBjt>>. Acesso em: 27 ago. 2017.

RÊGO DA SILVA, D. C. V.; POMPÊO, M.; PAIVA, T. C. B. A ecotoxicologia no contexto atual no Brasil. In: POMPÊO, M; MOSCHINI-CARLOS, V. ; NISHIMURA, P. Y ; SILVA, S. C ; DOVAL, J. C. L. Ecologia de reservatórios e interfaces. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015. Capítulo 22. Disponível em: <[http://ecologia.ib.usp.br/reservatorios/PDF/Cap.\\_22\\_Ecotoxicologia.pdf](http://ecologia.ib.usp.br/reservatorios/PDF/Cap._22_Ecotoxicologia.pdf)>. Acesso em: 27 ago. 2017.

REIS FILHO, R. W.; DE ARAÚJO, J. C.; VIEIRA, E. M. Hormônios sexuais estrógenos: Contaminantes bioativos. **Química Nova**, v. 29, p. 817-822, 2006.

REPOUSI, V.; PETALA, A.; FRONTISTIS, Z.; ANTONOPOULOU, M.; KONSTANTINOU, I.; KONDARIDES, D. I.; MANTZAVINOS, D. Photocatalytic degradation of bisphenol A over Rh/TiO<sub>2</sub> suspensions in different water matrices. **Catalysis Today**, v. 284, p. 59-66, 2017.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n.5, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, A. R.; NUNES, O. C.; PEREIRA, M. F. P.; SILVA, A. M. T. An overview on the advanced oxidation processes applied for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. **Environment International**, v. 75, p. 33-51, 2015.

RIVERA-UTRILLA, J.; SÁNCHEZ-POLOA, M.; FERRO-GARCÍA, M. A.; PRADOS-JOYA, G.; OCAMPO-PÉREZAB, R. Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. **Chemosphere**, v. 93, p. 1268-1287, 2013.

RODRIGUEZ-NARVAEZ, O. M.; PERALTA-HERNANDEZ, J. M.; GOONETILLEKE, A.; BANDALA, E. R. Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 323, p. 361–380, 2017.

RODRIGUEZ-NARVAEZ, O. M.; PERALTA-HERNANDEZ, J. M.; GOONETILLEKE, A.; BANDALA, E. Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 323, p. 361-380, 2017.

SABESP - Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Tipos de Tratamento. Disponível em:

<<http://site.sabesp.com.br/site/interna/Default.aspx?secaold=61>>. Acesso em: 27 ago. 2017a.

SABESP - Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. Tratamento de água. Disponível em:

<<http://site.sabesp.com.br/site/interna/Default.aspx?secaold=61>>. Disponível em: 27 ago. 2017b.

SANTANGELI, S.; MARADONNA, F.; OLIVOTTO, I.; PICCINETTI, C. C.; GIOACCHINI, G.; CARNEVALI, O. Effects of BPA on female reproductive function: The involvement of epigenetic mechanism. **General and Comparative Endocrinology**, v. 245, p.122-126, 2017.

SANTOS, V. C.; KONDO, M. M. Imobilização de TiO<sub>2</sub> em concreto: fotodegradação de clorofórmio e fenol. **Química Nova**, v. 29, p. 251-255, 2006.

SANZ, J.; LOMBRANA, J. I.; MA de LUIS, A.; ORTUETA, F.; VARONA, F.; Analysis of the efficiency of three Advanced Oxidation Process on the generation of hydroxyl radicals in the treatment of phenol. Universidad del País Vasco (UPV/EHU), 15th International Congress of Chemical and Process Engineering, 2002.

SIFAKIS, S.; ANDROUTSOPOULOS, V. P.; TSATSAKISC, A. M.; SPANDIDOS, D. A. Human exposure to endocrine disrupting chemicals: effects on the male and female reproductive systems. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 51, p. 56-70, 2017.

SNIS - Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (2015). Diagnóstico dos serviços de Água e esgoto – 2015. Disponível em:

<[http://wp.ufpel.edu.br/hugoguedes/files/2013/10/Diagnostico\\_AE2015.pdf](http://wp.ufpel.edu.br/hugoguedes/files/2013/10/Diagnostico_AE2015.pdf)>. Acesso em: 27 ago. 2017.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Occurrence of Emerging Contaminants in Brazilian Drinking Waters: A Sewage-To-Tap Issue. **Water Air Soil Pollution**, v. 206, p. 57-67, 2010.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. Processos Oxidativos Avançados - Conceitos Teóricos. (Caderno Temático Vol. III). 83 p. Campinas: Unicamp. LQA, 2004.

TIJANI, J. O.; FATOBA, O. O.; PETRIK, L. F. A Review of Pharmaceuticals and Endocrine-Disrupting Compounds: Sources, Effects, Removal, and Detections. **Water Air Soil Pollution**, v.224, p.1770, 2013.

TISLER, T.; KREL, A.; GERZELJ, U.; ERJAVEC, B.; DOLENC, M. S.; PINTAR, A. Hazard identification and risk characterization of bisphenols A, F and AF to aquatic organisms. **Environmental Pollution**, v. 212, p. 472-479, 2016.

TRATA BRASIL – Saneamento é saúde. Situação Saneamento no Brasil, 2015. Disponível em: <http://www.tratabrasil.org.br/saneamento-no-brasil>>. Acesso em: 27 ago. 2017.

TSAI, W.; LEE, M.; SU, M.; CHANG, Y. Photodegradation of bisphenol-A in a batch TiO<sub>2</sub> suspension reactor. **Journal of Hazardous Materials**, v.168, p.269-275, 2009.

VILLAR, P. C.; As águas subterrâneas e o direito à água em um contexto de crise. **Ambiente & Sociedade**, n. 1, p. 83-102, 2016.

WANG, R.; REN, D.; XIA, S.; ZHANG, Y.; ZHAO, J. Photocatalytic degradation of Bisphenol A (BPA) using immobilized TiO<sub>2</sub> and UV illumination in a horizontal circulating bed photocatalytic reactor (HCBPR). **Journal of Hazardous Materials**, v.169, p. 926-932, 2009.

WANG, J.; WANG, S. Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 182, p. 620-640, 2016.

WANG, B.; WU, F.; LI, P.; DENG, N. Uv-light induced photodegradation of bisphenol a in water: kinetics and influencing factors. **Reaction Kinetics and Catalysis Letters**, v. 92, p.3-9, 2007.

WATANABE, N.; HORIKOSHI, S.; KAWABE, H.; YASUO, S.; ZHAO, J.; HIDAKA, H. Photodegradation mechanism for bisphenol A at the TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O interfaces. **Chemosphere**, v. 52, p. 851–859, 2003.

WOLKMER, M. F. S; PIMMEL, N. F.. Política Nacional de Recursos Hídricos: governança da água e cidadania ambiental. Sequência (UFSC), v. 67, p. 165-198, 2013.

WWF Global. Toxic Chemicals, 2010. Disponível em: <[http://wwf.panda.org/about\\_our\\_earth/teacher\\_resources/webfieldtrips/toxics/](http://wwf.panda.org/about_our_earth/teacher_resources/webfieldtrips/toxics/)>. Acesso em: 27 ago. 2017.

YASMINA, M.; MOURAD,K.; MOHAMMED, S. H.; KHAOULA, C. Treatment heterogeneous photocatalysis; Factors influencing the photocatalytic degradation by TiO<sub>2</sub>. **Energy Procedia**, v. 50, p. 559 -566, 2014.