

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS

PATRÍCIA MARALYNE LOPES LISBOA FAGUNDES

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DO ALBENDAZOL E SULFÓXIDO DE
ALBENDAZOL EM LATOSSOLO VERMELHO AMARELO E REMOÇÃO DOS
FÁRMACOS POR FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA EM SOLUÇÃO AQUOSA**

ITAJUBÁ
2018

PATRÍCIA MARALYNE LOPES LISBOA FAGUNDES

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DO ALBENDAZOL E SULFÓXIDO DE
ALBENDAZOL EM LATOSSOLO VERMELHO AMARELO E REMOÇÃO DOS
FÁRMACOS POR FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA EM SOLUÇÃO AQUOSA**

**Dissertação submetida ao Programa de Pós-
Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos
como parte dos requisitos para obtenção do título
de mestre em Ciências em Meio Ambiente e
Recursos Hídricos.**

**Área de concentração: Diagnóstico, Monitoramento
e Gestão Ambiental.**

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Matiko Kondo

Coorientador: Prof. Dr. Sandro José de Andrade

ITAJUBÁ

2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter cuidado de todos os meus caminhos, traçado oportunidades que jamais esperava acontecerem em minha vida!

Aos meus pais, Luicy e Eduardo, por terem me ensinado princípios que me guiam todos meus dias!

Ao meu marido, Danilo, pelo apoio e paciência, a minha filha Ana Lyvia por ter compreendido minhas distâncias me dando força para continuar sendo a razão de todas minhas lutas!

À profa. Márcia Kondo por toda confiança depositada, paciência, compreensão e pelos seus ensinamentos, contribuindo por esta etapa importante de minha vida!

Ao prof. Sandro por todo apoio, compreensão, ensinamentos apoiando e contribuindo sempre para realização deste trabalho!

Neste caminho encontramos muitas barreiras, porém pude contar com grandes anjos que Deus enviou para compartilhar meus dias, agradeço minhas amigas Bianca, Úrsula, Larissa (“as meninas do laboratório”), Alessandra, Mábele, Rúbia, Ana Carolina, Simone e ao meu amigo Wesley!

Aos professores, Flávio, Milady, Rogério, Vanessa e Ana Lucia que durante este trabalho estiveram presentes contribuindo com seus ensinamentos!

Aos funcionários do CEQUAM e do Laboratório de Química, em especial aos amigos Willians, Aroldo, Adriana, Tarcísio, Glauber e Rodrigo, pelo carinho e dedicação!

À amiga Bióloga Elaine que me auxiliou nos ensaios ecotoxicológicos compartilhando sempre seus conhecimentos!

À profa. Katiucia pela atenção e dedicação nos auxiliando nos ensaios de fitotoxicidade!

À profa. Dra. Anne Hélène e a profa. Maria Inês Alvarenga por contribuir para que este trabalho pudesse ser concluído!

Agradeço também, a CAPES pela bolsa de estudos e a UNIFEI pela oportunidade de fazer este curso!

RESUMO

Os medicamentos veterinários (MVs) fazem parte dos grupos dos contaminantes emergentes, uma vez que não possuem legislação quanto à presença destes contaminantes em matrizes ambientais como água, solo e sedimento. O conhecimento do destino no ambiente e o potencial ecotoxicológico a organismos não alvos dos MVs ainda são escassos. Os MVs podem ser eliminados por vias de excreção (fezes e urina) de animais, descarte inadequado de embalagens, aplicações de estrume em terras agrícolas e acesso dos animais aos recursos hídricos. No solo os MVs podem sofrer processos de sorção, lixiviação, escoamento superficial, resultando na contaminação do mesmo e dos recursos hídricos. O presente trabalho propõe avaliar o comportamento do albendazol (ABZ) e seu metabólito sulfóxido de albendazol (ABZSO) no horizonte A do Latossolo Vermelho Amarelo de Minas Gerais (MG) bem como sua remoção em soluções aquosas por um dos Processos Oxidativos Avançados (POAs), a fotocatalise heterogênea. Os estudos de sorção dos fármacos revelaram que estes são adsorvidos ao solo tendo um K_f , em pH sem ajuste, para o ABZ e ABZSO de $41.783 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $125 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente, em pH 3 os valores de K_f para o ABZ e ABZSO de $473 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $598 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente. O processo é reversível em pH 3 onde tem-se o processo da histerese de 0,848 e 0,773 para o ABZ e ABZSO, respectivamente. Para a remoção dos fármacos em solução aquosa, foi empregado 10 mg L^{-1} de TiO_2 , uma lâmpada vapor de Hg de 125 W e λ_{max} 365 nm e um reator de borossilicato. Os estudos resultaram em uma remoção total do ABZ em 30 minutos e para o ABZSO de 38% em 60 minutos de reação. A avaliação ecotoxicológica com os organismos *Daphnia similis* e *Raphidocelis subcapitata* demonstraram redução na toxicidade ao final do processo. A avaliação de fitotoxicidade em sementes de alface e feijão indicou que a presença dos fármacos influenciou no percentual de germinação das sementes assim como no comprimento da radícula.

Palavras-chave: Albendazol, sulfóxido de albendazol, sorção, Processos Oxidativos Avançados.

ABSTRACT

Veterinary Medicaments (VMs) are part of the group of the emerging contaminants, since they can be found in environmental matrices such as water, soil and sediment, and their fate in the environment and its ecotoxicological potential are unknown to non-target organisms. VMs can be eliminated by animal excretion, inappropriate discharge of packages, use of manure as fertilizer and access of the cattle to the aqueous sources. In the soil, the VMs can undergo processes as sorption, leaching and run off which can cause soil and water resources contaminations. The present work studied the Albendazole (ABZ) and its metabolite albendazole sulfoxide (ABZSO) behavior in the A horizon of the latosol red-yellow of Minas Gerais (MG), as well as its removal in aqueous solutions by Advanced Oxidative Processes (AOPs), especially by heterogeneous photocatalysis. The sorption studies of the drugs revealed that they are adsorbed to the soil having a K_f , at unadjusted pH, for ABZ and ABZSO of $41.783 \mu\text{g kg}^{-1}$ and $125 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectively, at pH 3, the K_f values for the ABZ and ABZSO of $473 \mu\text{g kg}^{-1}$ and 598mg kg^{-1} , respectively. The process is to revert to pH 3 where the hysteresis process is 0.848 and 0.773 for ABZ and ABZSO, respectively. For the study of removal of the drugs it was employed 10mg L^{-1} of TiO_2 , a Hg lamp of 125 W, λ_{max} of 365 nm and a borosilicate reactor. It was observed total removal of ABZ in 30 minutes and 38% removal of ABZSO in 60 minutes of reaction. The ecotoxicological evaluation using *Daphnia similis* and *Raphidocelis subcapitata* demonstrated reduction in toxicity at the end of 60 minutes of irradiation. An evaluation of phytotoxicity in lettuce and bean seeds influenced the percentage of seed germination as well as at the root diameter.

Keywords: Albendazole, albendazole sulfoxide, sorption, Advanced Oxidative Processes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Crescimento do mercado farmacêutico veterinário segundo as classes terapêuticas.....	18
Figura 2: Possíveis rotas de contaminação do ambiente pelos medicamentos veterinários.....	20
Figura 3: Estrutura Química do Albendazol(a) e Sulfóxido de Albendazol (b).....	31
Figura 4: Formas ionizáveis do ABZ (a) e ABZSO (b) com variação do pH.....	31
Figura 5: Ativação do semicondutor	38
Figura 6: Cromatógrafo Líquido modelo Infinity 1260 da Agilent Technologies.....	43
Figura 7: Mesa agitadora para realização dos ensaios de sorção dos analitos	47
Figura 8: Sistema empregado no processo de degradação com radiação UV artificial.....	50
Figura 9: Esquema montado para a realização do processo de fotocatalise heterogênea empregando radiação solar.....	52
Figura 10: Esquema empregado no ensaio crônico com <i>R.subcapitata</i> (a) início (b) final do experimento	55
Figura 11: Cromatograma solução ABZ e ABZSO 900 µg L ⁻¹ sobreposto ao branco ACN:H ₂ O (50:50) pelo detector FLD λ _{emissão} 280 nm- λ _{exc} 320 nm	58
Figura 12: Cromatograma solução ABZ e ABZSO 900 µg L ⁻¹ sobreposto ao branco ACN:H ₂ O (50:50) pelo detector DAD λ- 292 nm.....	59
Figura 13: Análise espectral da solução ABZ e ABZSO 900 µg L ⁻¹ seus respectivos tempos de eluição	60
Figura 14: Curva analítica do ABZ pelo detector DAD em λ-292 nm-Faixa linear..... 5 - 1000 µg L ⁻¹	61
Figura 15: Curva analítica do ABZSO pelo detector DAD em λ-292 nm -Faixa linear... 5 - 1000 µg L ⁻¹	61
Figura 16: Curva analítica ABZ pelo detector FLD em λ-290-320 nm -Faixa linear	62
5 - 1000 µg L ⁻¹	62
Figura 17: Curva analítica ABZSO pelo detector FLD em λ-290-320 nm -Faixa linear . 5 - 1000 µg L ⁻¹	62
Figura 18: Cromatograma referente ao ABZ na concentração de 5,0 µg L ⁻¹ para aferição do LD pelo detector DAD-292 nm.....	64
Figura 19: Cromatograma referente ao ABZSO na concentração de 5,0 µg L ⁻¹ para aferição do LD pelo detector DAD-292 nm.....	64
Figura 20: Cromatograma referente ao ABZ na concentração de 5,0 µg L ⁻¹ para	

aferição do LD pelo detector FLD-290-320nm	65
Figura 21: Cromatograma referente ao ABZSO na concentração de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LD pelo detector FLD-290-320nm	65
Figura 22: Cromatograma referente ao ABZ e ABZSO na concentração de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LQ pelo detector DAD-292 nm	66
Figura 23: Cromatograma referente ao ABZ e ABZSO na concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LQ pelo detector FLD-292 nm	66
Figura 24: Estabilidade do ABZ e ABZSO na concentração de 900 $\mu\text{g L}^{-1}$ tubos de Falcon e na solução extratora CaCl_2 0,01 mol L^{-1} detectadas pelo DAD-292 nm.....	72
Figura 25: Adsorção média do ABZ e ABZSO no horizonte A em função da variação da razão solo/solução (m/V).....	73
Figura 26: Cromatograma dos extratos brancos do solo (CaCl_2 0,01 mol L^{-1} e solo) e o obtido da solução de ABZ e ABZSO (3 mg L^{-1}) no solo detectados por DAD- λ -292 nm	74
Figura 27: Isotermas de adsorção do ABZ em pH sem ajuste (SA) ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir.....	75
Figura 28: Isotermas de adsorção do ABZSO em pH sem ajuste ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir.....	76
Figura 29: Isotermas de adsorção do ABZ em pH 3 ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir	78
Figura 30: Isotermas de adsorção do ABZSO em pH 3 ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich	79
Figura 31: Isotermas de dessorção do ABZ em pH sem ajuste, ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir	80
Figura 32: Isotermas de dessorção do ABZSO em pH sem ajuste ajustado aos modelos (a) linear, (b) Freundlich e (c) Langmuir.....	81
Figura 33: Isotermas de dessorção do ABZ em pH 3, ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir	82
Figura 34: Isotermas de dessorção do ABZSO em pH 3, ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich	83
Figura 35: Sementes de feijão expostas aos fármacos ABZ e ABZSO: a- Controle com água destilada; b- controle negativo com ACN:DMSO, (90:10 v:v); c- 0,12 mg L^{-1} ; d- 12 mg L^{-1} ;e- 120 mg L^{-1} ;f- 600 mg L^{-1}	87
Figura 36: Imagens ao final do experimento da exposição de sementes de alface aos	

fármacos ABZ e ABZSO: (a) Controle com água destilada (b) controle negativo com ACN:DMSO, 90:10 v:v (c) 0,12 mg L ⁻¹ dos fármacos (d) 12 mg L ⁻¹ dos fármacos(e) 120 mg L ⁻¹ dos fármacos (f) 600 mg L ⁻¹ dos fármacos.....	88
Figura 37: Imagens ao final do experimento da exposição no solo de sementes de feijão aos fármacos ABZ e ABZSO: (a) Controle com água destilada (b) controle negativo com ACN: DMSO, 90:10 v:v (c) 0,12 mg L ⁻¹ (d) 12 mg L ⁻¹ (e) 120 mg L ⁻¹ e (f) 600 mg L ⁻¹ dos fármacos.....	91
Figura 38: Remoção simultânea do ABZ e ABZSO (900 µg L ⁻¹) empregando o sistema TiO ₂ /O ₂ /UV artificial em pH 8,5 com variações de concentração do TiO ₂	92
Figura 39: Emprego da solução individual de ABZ (900 µg L ⁻¹) utilizando o sistema TiO ₂ /O ₂ /UV artificial em pH 8,5 e formação de ABZSO.....	94
Figura 40: Sobreposição do cromatograma inicial da solução de ABZ (900 µg L ⁻¹) aos cromatogramas de 15 e 30 minutos após o início da reação	95
Figura 41: Remoção simultânea do ABZ e ABZSO (900 µg L ⁻¹) empregando o sistema TiO ₂ /O ₂ /UV artificial em pH 8,5 em 120 minutos de reação	97
Figura 42: Remoção simultânea do ABZ e ABZSO (900 µg L ⁻¹)empregando o sistema TiO ₂ /O ₂ /UV solar em pH 8,5 com concentração 10,0 mg L ⁻¹ TiO ₂	98
Figura 43: Estudos controles com os fármacos simultâneos ABZ e ABZSO	99
(900 µg L ⁻¹) em pH 8,5	99
Figura 44: Cromatograma referente a detecção do ABZ e ABZSO (900 µg L ⁻¹) em água de nascente e branco detectados por DAD-λ-292 nm.....	101
Figura 45: Remoção simultânea do ABZ e ABZSO (900 µg L ⁻¹) empregando o sistema TiO ₂ /O ₂ /UV artificial, pH sem ajuste com concentração 10,0 mg L ⁻¹ TiO ₂ em água de nascente.....	102
Figura 46: Porcentagem de imobilização de organismos <i>Daphnia simillis</i> após 24 e 48 horas de exposição a amostras dos tempos coletados durante o processo de fotocatalise heterogênea TiO ₂ /O ₂ /UV artificial.....	103
Figura 47: Porcentagem de imobilização dos organismos <i>Daphnia simillis</i> a concentrações de ABZ 0,009 a 0,9 mg L ⁻¹ para determinação da CE ₅₀	105
Figura 48: Porcentagem de imobilização de organismos <i>Raphidocelis subcapitata</i> em 72 horas de exposição a amostras dos tempos coletados durante o processo de fotocatalise heterogênea TiO ₂ /O ₂ /UV artificial.....	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Modo gradiente empregado na corrida cromatográfica para determinação do ABZ e ABZSO	44
Tabela 2: Soluções para preparo do meio de cultura L.C. Oligo	56
Tabela 3: Tempo de retenção do ABZ e ABZSO nos detectores DAD e FLD.....	60
Tabela 4: Equação da reta para o ABZ e ABZSO e seus respectivos coeficientes de correlação linear (R^2).....	63
Tabela 5: Obtenção do LD e LQ pelo método sinal/ ruído	67
Tabela 6: Obtenção do Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) pelos parâmetros da curva analítica	67
Tabela 8: Avaliação dos parâmetros de precisão: repetitividade e precisão intermediária.....	69
Tabela 9: Avaliação da recuperação média (%) frente a ± 5 % variações nas condições cromatograficas.....	70
Tabela 10: Propriedades físicas e químicas do horizonte A do Latossolo Vermelho-Amarelo.....	71
Tabela 11: Coeficientes lineares obtidos pelas equações da reta (R^2) e constantes de ajuste ao modelo de	
Freundlich ($K_f \cdot mg^{1-1/n} L^{1/n} kg^{-1}$ e $1/n$) de Langmuir ($L \cdot Kg^{-1}$) e modelo Linear.....	
($L \cdot Kg$) para isotermas de adsorção em pH sem ajuste	77
Tabela 12: Coeficientes lineares obtidos pelas equações da reta (R^2) e constantes de ajuste ao modelo de Freundlich ($K_f \cdot mg^{1-1/n} L^{1/n} kg^{-1}$ e $1/n$) para isotermas de adsorção em pH 3.....	79
Tabela 13: Coeficientes lineares obtidos pelas equações da reta (R^2) e constantes de ajuste ao modelo de Freundlich ($K_f \cdot mg^{1-1/n} L^{1/n} kg^{-1}$ e $1/n$) para isotermas de dessorção em pH sem ajuste	81
Tabela 14: Coeficientes lineares obtidos pelas equações da reta (R^2) e constantes de ajuste ao modelo de Freundlich ($K_f \cdot mg^{1-1/n} L^{1/n} kg^{-1}$ e $1/n$) para isotermas de dessorção em pH 3	83
Tabela 15: Parâmetros estatísticos do percentual de germinação (%) crescimento da raiz (cm) para as sementes de Alface e Feijão avaliados após exposição a diferentes concentrações de ABZ e ABZSO	85
Tabela 16: Parâmetros estatísticos do percentual de germinação (%) e crescimento da raiz (cm) para as sementes de Feijão no solo avaliados após exposição a	

diferentes concentrações de ABZ e ABZSO	90
Tabela 17: Propriedades físicas e químicas monitoradas nos ensaios ecotoxicológicos agudo com organismos <i>Daphnia simillis</i>	103
Tabela 18: Propriedades físicas e químicas monitoradas nos ensaios ecotoxicológicos agudo para exposição com organismos <i>Daphnia simillis</i> ao ABZ.	105

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABZ: Albendazol
ABZSO: Sulfóxido de Albendazol
ACN: Acetonitrila
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BZD: Benzimidazóis
CE: Comissão Européia
CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CPV: Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários
CV: Coeficiente de variação
DAD: *Diode Array Detector* (Detector com Arranjo de Diodos)
DMSO: Dimetilsulfóxido
EC₅₀: Valores de concentração efetiva
FLD: *Fluorescence Detector* (Detector por Fluorescência)
FM: Fase móvel
IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kd: Constante de distribuição
Kf: Constante de sorção/ dessorção de Freundlich
Kow: Coeficiente de partição octanol- água
LD: Limite de detecção
LQ: Limite de quantificação
MAPA: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MVs: Medicamentos veterinários
OECD: Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico
PEC: Concentração previsível no solo
PNEC: Concentração prevista sem efeito
POA: Processos Oxidativos Avançados
RCR: Relação de caracterização de risco
SINDAN: Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal
VICH: Comitê Veterinário de Harmonização
CVMP: *Committee for Medicinal Products for Veterinary*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVO	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3. REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1 Produção e consumo de medicamentos veterinários na pecuária.....	18
3.2 Exposição do meio ambiente aos medicamentos veterinários (MVs).....	19
3.3 Aspectos regulatórios envolvendo o consumo de MVs	21
3.4 Estudos de adsorção e dessorção dos fármacos no solo.....	21
3.4.1 Modelo de Freundlich.....	27
3.4.2 Modelo de Langmuir	28
3.5 Uso de anti-helmínticos na produção animal.....	29
3.5.1 Albendazol e Sulfóxido de Albendazol	30
3.6 Composição e propriedades do solo	32
3.7 Fitotoxicidade.....	34
3.8 Processos Oxidativos Avançados (POAs)	35
3.8.1 Fotocatálise Heterogênea	37
3.9 Ensaio ecotoxicológicos	39
4. Materiais e métodos	40
4.1 Reagentes	40
4.1.2 Equipamentos.....	41
4.2.1 Preparo de Soluções	42
4.2.2 Validações do método analítico	42
4.3 Seletividade	44
4.4 Linearidade	44
4.5 Limite de detecção e (LD) limite de quantificação (LQ)	44
4.6 Exatidão.....	45
4.7 Precisão.....	45

4.8 Robustez	46
4.9 Método de estudo para análise do comportamento do ABZ e do ABZSO no solo	46
4.9.1 Avaliação da estabilidade do ABZ e ABZSO em solução de CaCl_2 0,01 mol L ⁻¹	46
4.9.2 Otimização da razão solução/solono estudo de adsorção.....	46
4.9.3 Estudos das isothermas de adsorção e dessorção do ABZ e ABZSO para o horizonte A	47
4.10 Avaliação da fitotoxicidade.....	48
4.10.1 Avaliação da fitotoxicidade em sementes de alface (<i>Lactuca sativavar.capitata</i>) e feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>): ensaios em placa de Petri	48
4.10.2 Avaliação da fitotoxicidade em sementes de feijão: Ensaios no solo	49
4.11 Estudo de remoção do ABZ e ABZSO em solução aquosa.....	49
4.11.1 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO por fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO_2/O_2 sob luz UV artificial.....	49
4.11.2 Avaliação da remoção do ABZ por fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO_2/O_2 em luz UV artificial	51
4.11.3 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO por fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO_2 sob luz UV solar	51
4.11.4 Experimentos controle	52
4.12 Ensaios ecotoxicológicos com <i>Daphnia simillis</i> e microalga <i>Raphidocelis subcapitata</i>	52
4.12.1 Avaliação da toxicidade aguda com <i>Daphnia simillis</i>	53
4.12.2 Avaliação da toxicidade aguda com <i>Daphnia simillis</i> para determinação da CE_{50} para o ABZ e para o ABZSO	53
4.12.3 Toxicidade crônica com <i>Raphidocelis subcapitata</i>	54
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1 Validação da metodologia analítica.....	58
5.1.1 Seletividade	58
5.1.2 Linearidade	60
5.1.3 Limite de detecção(LD) e limite de quantificação (LQ)	63

5.1.4 Exatidão.....	67
5.1.5 Precisão.....	68
5.1.6 Robustez.....	69
5.2 Característica e propriedade físicas e químicas do solo em estudo	70
5.2.1 Estudos preliminares para avaliação do comportamento dos fármacos no solo.	71
5.2.2 Avaliação da estabilidade do ABZ e ABZSO em solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.	71
5.2.3 Otimização da razão solução/solono estudo de adsorção.....	72
5.2.4 Determinação do ABZ e ABZSO no extrato do solo e avaliação do efeito matriz na quantificação dos fármacos	73
5.2.5 Estudos das isotermas de adsorção e dessorção do ABZ e ABZSO para o horizonte A	74
5.3 Avaliação da fitotoxicidade.....	84
5.3.1 Avaliação da fitotoxicidade em sementes de alface (<i>Lactuca sativa var. capitata</i>) e feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>): Ensaios em placa de Petri	85
5.3.2 Avaliação da fitotoxicidade feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>): Ensaios no solo	89
5.4 Estudo de remoção do ABZ e ABZSO em solução aquosa.....	92
5.4.1 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO_2/O_2 sob luz UV artificial.....	92
5.4.2 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO_2 sob luz UV solar	97
5.4.3 Experimentos controle	99
5.4.4 Determinação do ABZ e ABZSO em água de nascente e avaliação do efeito matriz na quantificação dos fármacos por análises por CLAE-DAD- λ -292 nm	100
5.4.5 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO fotocatalise heterogênea com o emprego de $\text{TiO}_2/\text{O}_2/$ UV artificial em água de nascente	101
5.5 Ensaios ecotoxicológicos com <i>Daphnia simillis</i>	102
5.5.1 Avaliação da toxicidade aguda com <i>Daphnia simillis</i> para determinação da CE_{50} para o ABZ	104
5.5.2 Toxicidade crônica com <i>Raphidocelis subcapitata</i>	106
6. CONCLUSÃO	108
7. PERSPECTIVAS FUTURAS	109

8. REFERÊNCIAS.....	110
----------------------------	------------

1. INTRODUÇÃO

O crescimento populacional foi acompanhado pelo desenvolvimento na produção animal, para garantir tal produção intensificou-se o uso de MVs (OLIVEIRA et al., 2009). O uso indiscriminado destes e seus efeitos nos ecossistemas aquáticos e terrestres vêm desencadeando diversos estudos que buscam determinar o risco ambiental destes contaminantes (BOXALL, 2004; GAO et al., 2013; MARCIOCHA et al., 2013).

Os medicamentos veterinários (MVs) compõem os grupos dos contaminantes emergentes, não sendo controlados por programas nacionais ou internacionais, não tendo conhecimento do seu real destino no ambiente e seus respectivos potenciais ecotoxicológicos (HORVAT et al., 2012). De acordo com Zhao et al. (2016) os MVs são parcialmente metabolizados no organismo animal podendo ser eliminado em uma taxa 30 a 90% em sua forma ativa ou como metabólitos ativos.

Segundo Mckellar e Jackson (2004), os anti-helmínticos tiveram nos anos de 1960 e 1980 um reconhecimento de sua eficácia e segurança apreciável, contribuindo para o crescimento da produtividade animal, sendo até hoje muito utilizado. O Albendazol (ABZ) é um anti-helmíntico da classe dos benzimidazóis (BZD), que mantém a eficácia e segurança desta classe. São amplamente utilizados na medicina humana e veterinária como medicamento original. Na medicina veterinária o uso de seu metabólito sulfóxido de albendazol (ABZSO) é comum uma vez que este mantém as características do medicamento original (PRCHAL et al., 2016; HORVAT et al., 2012). São escassos os dados na literatura sobre o potencial de degradação e o impacto destes ao meio ambiente.

Os MVs podem ser introduzidos em matrizes como solo e ambientes aquáticos, seguindo rotas no ambiente após serem eliminados por vias de excreção (fezes e urina) de animais, descarte inadequado de embalagens, aplicações de estrume em terras agrícolas e acesso dos animais aos recursos hídricos (BOXALL, 2004; GAO et al., 2013).

A exposição constante do ambiente aos resíduos de MVs ocorre por diversas causas, práticas comuns como dispersão de estrumes contaminados ou a presença direta de animais tratados, exposição da aquicultura, águas subterrâneas e superficiais ou inalação pelos animais a poeiras provenientes de instalações de

criações intensivas de gado (KOSCHORRECK; KOCH; RONNEFAHRT, 2002; BOXALL, 2004; BOXALL et al., 2006; BEYNON, 2012). Os impactos ambientais dos resíduos de MVs são pouco conhecidos, porém o seu conhecimento resultará em grandes benefícios ao meio ambiente.

Os estudos destinados à avaliação do comportamento destes contaminantes no solo são muito importantes, uma vez que o destino nesta matriz, considerando a relação entre as propriedades físicas do solo e do fármaco, pode ser sugerido durante a avaliação do risco ambiental (DORETTO; PERUCHI; RATH, 2014). Por outro lado, os MVs podem ser absorvidos pelas plantas, podendo estas remover estes contaminantes realizando a metabolização por ação enzimática e transformando-os em metabólitos, porém estes podem ter efeitos tóxicos menores ou maiores em relação ao fármaco original que podem afetar o desenvolvimento e fisiologia destas espécies ou ficarem disponíveis para o consumo, como fonte alimentar a outros animais (PODLIPNÁ et al., 2013; STUHLÍKOVÁ et al., 2016).

O desenvolvimento de processos que sejam eficientes na remoção destes contaminantes nos recursos hídricos vem sendo investigados a fim de se obter mais eficiência em relação aos processos empregados em tratamentos convencionais (DEWIL et al., 2017; PASCHOAL et al., 2008), considerando a estabilidade e resistência a mineralização destes contaminantes necessitando de tratamentos mais reativos e eficientes (TOKODE et al., 2016). Neste contexto, o processo de fotocatalise heterogênea é um dos Processos Oxidativos Avançados (POAs), que consiste na aplicação de um semicondutor inorgânico como TiO_2 , ZnO ou CdS , ativado por uma energia superior a energia de *bandgap*, região compreendida entre a banda de valência (BV) e banda de condução (BC) levando os elétrons a migrarem da BV para BC, formando radicais oxidantes pela interação entre as moléculas da água e de oxigênio e o par elétron/lacuna (KONDO; JARDIM, 1991; ZIOLLI; JARDIM, 1998).

Os ensaios ecotoxicológicos podem ser uma boa ferramenta para monitoramento dos POAs, pela avaliação da toxicidade antes e depois dos ensaios avaliando a redução da toxicidade ou efeitos toxicológicos gerados pela formação de subprodutos durante o processo (RIZZO et al., 2009; MAGALHÃES, FERRÃO, 2008). Diante disto o presente trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento do ABZ e seu metabólito (ABZSO) no solo, avaliando processos de adsorção e

dessorção nesta matriz. Também avaliar o processo de degradação desses medicamentos por fotocatalise heterogênea empregando o sistema TiO₂/UV em soluções aquosas.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Analisar o comportamento do albendazol e sulfóxido de albendazol no horizonte A do Latossolo Vermelho Amarelo de Minas Gerais bem como investigar possível remoção destes fármacos em solução aquosa, empregando processos de fotocatalise heterogênea com TiO₂ e radiação UV artificial e solar.

2.2 Objetivos específicos

- Validar uma metodologia em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação e quantificação do albendazol e sulfóxido de albendazol.
- Realizar estudos de sorção dos fármacos no horizonte A do Latossolo Vermelho Amarelo de MG;
- Estudar a fitotoxicidade dos fármacos na germinação de sementes de alface e feijão;
- Avaliar a remoção dos fármacos em solução aquosa empregando o processo de fotocatalise heterogênea utilizando TiO₂ e radiação UV artificial e solar;
- Verificar o potencial toxicológico dos fármacos após ser submetido ao processo de fotocatalise heterogênea, utilizando como organismos testes o microcrustáceo *Daphnia similis* e a microalga *Raphidocelis subcapitata*.

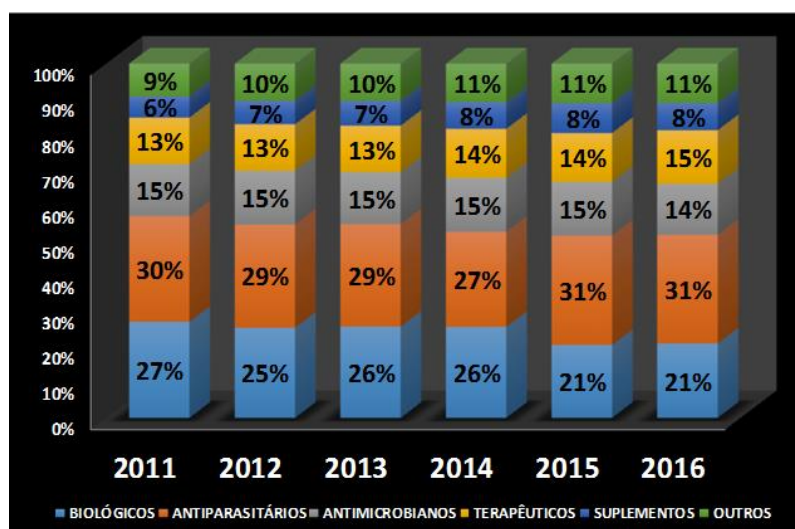
3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Produção e consumo de medicamentos veterinários na pecuária

O crescimento populacional mundial foi acompanhado pelo desenvolvimento do sistema agropecuário. Métodos eficazes para manutenção da produtividade animal em larga escala são amplamente empregados e dentre esses métodos encontram-se o uso dos MVs (MARCIOCHA et al., 2013). Para o agronegócio brasileiro, a produção animal é uma das atividades com maior representação no mercado econômico. O uso de MVs se faz necessário para manutenção da produtividade e competitividade do setor (REGITANO; LEAL, 2010), sendo responsáveis pela manutenção da saúde animal. Apesar dos MVs terem grande importância na saúde animal, sua eliminação para o meio ambiente deve ser considerada, podendo apresentar atividade sobre animais e microorganismos não alvo (BOXALL, 2004).

Segundo dados do Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal (SINDAN, 2016), o mercado farmacêutico veterinário brasileiro apresentou um crescimento de 5 bilhões de reais em 2016, sendo 80% destinado a animais de produção (ruminantes, aves e suínos). Os medicamentos da classe dos antiparasitários representam cerca de 30% desse mercado, desde 2011 representam a classe de MVs com maior produção (Figura 1).

Figura 1: Crescimento do mercado farmacêutico veterinário segundo as classes terapêuticas



Fonte: Sindan (2016).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil deteve, em 2015, um efetivo de bovinos de 215,2 milhões de cabeças, com um aumento de 1,3% em relação à produção de 2014, ocupando a posição de maior exportador de carne bovina (IBGE, 2016). Este é um setor promissor para a economia brasileira com grande crescimento em sua produção, superando a crise política e econômica (NASCIMENTO; FILHO; DIAS, 2016) e contribuindo para o crescimento do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro. Em 2015, a exportação representou cerca de 23% do PIB, sendo um dos únicos setores com crescimento significativo se comparado aos demais setores da economia (RATH et al., 2016).

3.2 Exposição do meio ambiente aos medicamentos veterinários (MVs)

Os MVs compõem as classes dos compostos denominados contaminantes emergentes (CE) e não estão incluídos no monitoramento ambiental quanto ao destino e aos riscos que possam apresentar aos ecossistemas aquáticos e terrestres (HORVAT et al., 2012; MARCIOCHA et al., 2013).

A preocupação com o uso indiscriminado dos MVs e seus efeitos nos ecossistemas aquáticos e terrestres vem desencadeando diversos estudos em relação aos riscos que estes possam apresentar no ambiente (BOXALL, 2004; GAO et al., 2013; MARCIOCHA et al., 2013). Estudos recentes quantificaram a presença destas substâncias a concentrações traços, em vários tipos de amostras, tais como em excretas de animais, lagoas de tratamento de resíduos de origem animal, solos, águas superficiais, subterrâneas e sedimento (REGITANO; LEAL, 2010; HORVAT et al., 2012). Vários estudos buscam determinar as rotas dos fármacos no organismo animal, porém são raros os estudos que tratam sobre o destino destes medicamentos no ambiente após serem eliminados por fezes ou urina (HORVAT et al., 2012).

A taxa de eliminação do fármaco dependerá de fatores como a via de administração (tópica, oral ou injetável), sistemas de produção (intensivo, semi-intensivo e extensivo), tipo de substância, da dosagem, da espécie e da idade do animal (EMA, 2016). Os MVs são pouco metabolizados no organismo animal com uma taxa de eliminação de aproximadamente 30 a 90% sob sua forma ativa ou como metabólitos ativos (ZHAO et al., 2016).

No ambiente os fármacos estão sujeitos a processos como a biodegradação, degradação química ou fotodegradação. Esses processos contribuem para sua

eliminação no meio, porém esta degradação é limitada pelas propriedades físicas e químicas do composto e do meio, coeficiente de partição da substância (K_{ow}), sua concentração e as condições climáticas locais (REGITANO; LEAL, 2010; HORVAT et al., 2012). Esses fármacos podem seguir diversas rotas no ambiente, como observado na Figura 2.

Figura 2: Possíveis rotas de contaminação do ambiente pelos medicamentos veterinários



Fonte: Adaptado Boxall et al., (2003).

O aumento da produção animal intensificou o uso destes medicamentos, potencializando a entrada destes compostos no ambiente pelo uso indiscriminado ou pela má gestão de seus resíduos. Os MVs podem ser classificados em parasiticidas, antibióticos, antifúngicos, hormônios e promotores de crescimento (OLIVEIRA et al., 2009).

Os anti-helmínticos pertencem à classe dos parasiticidas. Esses, ao serem eliminados pelas fezes e urina, são dispersos no ambiente através de uma prática agrícola comum, que consiste no armazenamento e posterior espalhamento do esterco no solo, ou espalhamento direto. A contaminação ambiental por estes fármacos não se limita ao solo e aos estercos provenientes de animais tratados, podendo atingir também as águas superficiais. Esta contaminação pode ocorrer de forma direta, devido ao acesso de animais a essas ou por processos indiretos como:

infiltração, lixiviação aos corpos d'água, descarte inadequado de medicamentos e embalagens, uso direto de medicamentos na aquicultura ou por meio da limpeza do equipamento utilizado na fabricação dos fármacos. Para determinar os riscos ambientais do fármaco deve-se ater a questões como uso, dose, rota, frequência de administração e vias de excreção. (BOXALL, 2004; KOSCHORRECK; KOCH; RONNEFAHRT, 2002; BEYNON, 2012). A exposição de parasitas a concentrações sub-letais destes anti-helmínticos no solo e esterco pode levar ao desenvolvimento de cepas mais resistentes. Assim sendo estes MVs possuem elevado risco ambiental. No entanto, as pesquisas referentes ao potencial da contaminação ambiental por anti-helmínticos e seus efeitos tóxicos aos ecossistemas aquáticos e terrestres ainda são escassas (GAO et al., 2013). Os anti-helmínticos são popularmente utilizados sendo incontestável sua eficácia no tratamento de parasitoses. Em 2014 na República Checa, foram vendidos cerca de 1.244 kg destes fármacos, porém por serem amplamente utilizados podem representar grandes riscos ao ambiente por sua eliminação no meio (STUHLÍKOVÁ et al., 2016).

3.3 Aspectos regulatórios envolvendo o consumo de MVs

No Brasil a regulamentação dos medicamentos veterinários é realizada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o órgão legal responsável pela fiscalização é a Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários (CPV), que deve garantir a fiscalização, o comércio e o uso de produtos desta classe (CASELANI, 2014).

Existem normas estabelecidas para o monitoramento dos resíduos de MVs em produtos de origem animal. A fiscalização é realizada pelo programa de monitoramento destes resíduos, o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos de Origem Animal (Panvet). Um dos parâmetros fiscalizado é o Limite Máximo de Resíduos (LMR), que se caracteriza pela concentração máxima de resíduos resultante da utilização de um medicamento veterinário (expresso em mg kg^{-1} , mg L^{-1} , $\mu\text{g kg}^{-1}$ ou $\mu\text{g L}^{-1}$ de alimento) que pode ser aceito, considerando uma concentração que não provoque risco a saúde humana (ANVISA, 2009).

As avaliações do impacto ambiental pelos resíduos de MVs são pouco conhecidas, porém o seu conhecimento resultará em grandes benefícios ao meio

ambiente. No Brasil as legislações atuais sobre o controle de resíduos de medicamentos se limitam apenas aos resíduos presentes em produtos de origem animal. Em outros países, há um amadurecimento sobre a avaliação ambiental por estes contaminantes.

Para a Comissão Européia, a regulamentação da fabricação e distribuição de medicamentos veterinários é estabelecida pela DIRECTIVA 2004/28/CE, que prevê a proteção do meio ambiente e da saúde animal (MONTFORTS, 2006). As DIRECTIVAS sobre os resíduos ativos eram determinadas por um *Committe for Medicinal Products for Veterinary* (CVMP), nas quais se avaliavam o impacto ambiental (EMA, 2016).

Segundo Boxall et al. (2003) os Estados Unidos da América (EUA) têm como órgão fiscalizador a Food and Drug Administration (FDA) que desde os anos 1980 já vem aplicando testes ecotoxicológicos na avaliação de risco dos MVs para o meio ambiente (HORVAT et al., 2012). Sendo o estudo da nova droga realizado em quatro fases: a) formulação do problema (levantamento de informações) b) obtenção informações de dados (meios físicos, químicos ou biológicos, bem como o comportamento no ambiente) c) análise de dados (determinação do ambiente a ser exposto) e d) caracterização do risco (estimativa do risco) (BOXALL et al., 2003).

A exigência por uma avaliação da segurança ambiental em relação aos MVs, passaram a serem estabelecidas pela VICH, pela DIRECTIVA 92/18/EC através da elaboração de Estudos de Avaliação de Impactos Ambientais por produtos veterinários (EIAs) (EMA, 2016). Estas normativas são inclusas nas DIRECTIVAS 2001/82 e 2004/2 e empregadas para autorização da comercialização dos MVs. Avaliando os efeitos nocivos que os MVs podem representar ao ambiente e identificando medidas mitigatórias que possam reduzir os riscos ambientais (BOXALL, 2004; HORVAT et al., 2012; EMA, 2016).

Em 1996 foi criado o comitê de Cooperação Internacional de Harmonização dos Requisitos Técnicos para o Registro de Medicamentos Veterinários (VICH), composto pela UE, Japão e EUA. O VICH objetiva a realização de uma avaliação do risco ambiental pela exposição de medicamentos ao meio ambiente visando a proteção dos ecossistemas, saúde animal, consumidores e profissionais (MONTFORTS, 2006; PEREIRA et al., 2012).

De acordo com DIRECTIVA 92/18/EC a avaliação ambiental passa por duas

FASES, a primeira FASE se caracteriza avaliação da extensão da exposição ambiental excretada para pastagem, o tipo de substância ativa considerando a espécie alvo e as propriedades físicas e químicas do MVs bem como sua degradabilidade no ambiente (EMA, 2016). A segunda FASE deve-se considerar os efeitos do produto nos ecossistemas (destino e comportamento no solo, água e esterco), esta é dividida em duas etapas; na ETAPA 1 ocorre o detalhamento do destino e os possíveis efeitos do fármaco e seus metabólitos, devendo considerar as rotas e quantidades inseridas destes produtos no ambiente, devendo se ater a dosagem, via de aplicação, tipo de animais alvo e forma de excreção; se nesta etapa for verificado algum risco ambiental então passa-se para a ETAPA 2 que envolve o estudo dos ecossistemas susceptíveis a serem afetados, avaliando o comportamento dos MVs e sua presença e concentração no esterco, corpos hídricos, solo, estudos de biodegradação e grau de hidrofiliidade, para caracterização de uma maior possibilidade em serem carreados aos corpos hídricos (EMA, 2016). Na FASE 1 a avaliação utiliza uma árvore decisória, produtos compostos por substâncias naturais, utilizadas em animais que não são destinados a produção e medicamentos com uma metabolização alta, sendo sua eliminação menos de 5% não passam pela fase 2 (BOXALL, 2004). O grau de exposição ambiental é determinado na primeira fase (FASE 1) através da determinação da PEC (concentração prevista no solo) (PEREIRA et al., 2012; EMA, 2016). Que ocorre de acordo com a equação 1.

$$PEC = \frac{D*ad*BW*P*170*Fh}{1500*1000*0,05*Ny*H} * 1000 \quad (1)$$

Onde:

PEC solo inicial = Concentração previsível no solo [μgKg^{-1}];

D = Dose diária da substância ativa [$\text{mg Kgbw}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$];

Ad = Número de dias de tratamento [d];

BW = Massa (peso) corporal dos animais [Kg];

P = Taxa de rotatividade de animais por local e por ano [$\text{lugar}^{-1} \text{ano}^{-1}$];

170 = Limite de azoto por espalhamento na União Européia [kg N ha^{-1}];

Fh = Fração do grupo tratado [valor entre 0 e 1];

1500 = Densidade do solo seco [kg m^{-3}];

10000 = Área de 1 hectare [m^2ha^{-1}];

0.05 = Profundidade de penetração no solo [m];

N_y = azoto produzido em um ano por lugar [$\text{kg N lugar}^{-1}\text{ano}^{-1}$];

H = Fator de habitação ou 1 para os animais alojados durante todo o ano ou 0,5 para animais alojados por apenas 6 meses;

1000 = Fator de conversão [$1000 \mu\text{g mg}^{-1}$];

Fonte: EMA (2016).

Com o valor da PEC na FASE 1 é possível estimar a concentração depositada no solo, considerando os casos mais extremos como o maior número de animais, dose mais alta e sem degradação no ambiente (KOSCHORRECK; KOCH; RONNEFAHRT, 2002).

Segundo Koschorreck; Koch e Ronnefahrt (2002), foram estabelecidos limites de concentração para tomada de decisão de acordo com os valores obtidos pela PEC no solo não devendo exceder: $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ (chorume), $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ (solo), $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (águas subterrâneas), $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ (estrupe), para instalações aquícolas o limite de eliminação para o ambiente é $1 \mu\text{g L}^{-1}$. Se o limite for ultrapassado passa-se então para a FASE 2 (EMA, 2016).

Pela natureza inseticida todos os endoparasitas, assim como ectoparasitas, destinados a produção ou animais de pastagem avançam para FASE 2 independentes da concentração na FASE 1, dando atenção especial a fauna do estrume (BOXALL, 2004).

A tomada de decisão estabelece passos que estão descritos na árvore de decisão (Anexo I), buscando concluir se o MVs apresenta risco do uso podendo ser autorizado ou prosseguir para FASE 2 para que seja qualificado e quantificado o risco (BOXALL et al., 2004).

De acordo com Ema (2016), o objetivo da FASE 2 é estabelecer o potencial tóxico do medicamento para os ecossistemas aquáticos e terrestres levando em consideração os sistemas de produção que contribuem com a eliminação de medicamentos no ambiente: a) aquicultura; b) animais em sistema de produção intensiva; c) animais a pasto.

A FASE 1 consiste em uma avaliação dos riscos ambientais mais detalhada

frente a exposição no ambiente levando em consideração fatores como: a) tempo de degradação; b) propriedades físicas e químicas da substância; c) influência da luz, pH, umidade; d) farmacodinâmica da substância; e) bioacumulação para substâncias lipofílicas (PEREIRA et al., 2012; EMA, 2016).

De acordo com Boxall (2004), as espécies avaliadas na FASE 2 são: aves, mamíferos, algas, minhocas, artrópodes, plantas e microrganismos para o compartimento terrestre e para os aquáticos são utilizado ensaios com algas (produtores primários); *Daphnia* (consumidores primários); peixes (consumidores secundários); e outras espécies (por exemplo, decompositores).

Segundo Montforts (2004) a partir dos valores da PEC e PNEC (concentração prevista sem efeito) pode se determinar a caracterização do risco (indicada pela Eq. 2), realizadas na FASE 1, para cada compartimento ou ecossistema ou espécie avaliada, sendo calculada a relação de caracterização de risco RCR (Relação de caracterização de risco).

$$RCR = \frac{PEC}{PNEC} \quad (2)$$

Fonte: MONTFORTS (2004).

Se o RCR do composto for inferior a 1, indicando um risco aceitável, não será necessário testes adicionais, porém se o resultado for maior que 1 passará para o FASE 2 para refinar a avaliação, para uma melhor caracterização do perigo, deve-se realizar mais estudos sobre o destino e os efeitos do medicamento considerando todos processos que influenciam a concentração no ambiente tais como fotólise, biodegradação (mineralização e biotransformação), além de poder refinar a análise de toxicidade a curto prazo prevendo seus efeitos a um período maior (toxicidade crônica) (MONTFORTS, 2004; PEREIRA et al., 2012).

Ao final da FASE 2 deverá se ter conclusões sólidas sobre o risco de exposição do ambiente. Se considerado significativo à autorização da fabricação do medicamento deverá vir associada medidas mitigatórias que venham atenuar estes riscos potenciais para o ambiente (BOXALL, 2004). As etapas da FASE 2 estão descritas no Anexo I.

3.4 Estudos de adsorção e dessorção dos fármacos no solo

Nos últimos anos inúmeras pesquisas vêm contribuindo para a determinação

da relação da contaminação do solo por produtos farmacêuticos e seu comportamento no mesmo. Os estudos de sorção dos contaminantes no solo devem ser realizados de acordo com o guia da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico-OECD 106 (OECD, 2000).

O estudo da adsorção de fármacos é muito importante, uma vez que o destino destes contaminantes na matriz pode ser sugerida durante a avaliação de risco ambiental. Para tanto, deve-se considerar as propriedades físicas e químicas do solo, tais como pH, percentual de matéria orgânica (%MO), capacidade de troca catiônica (CTC), tipo de argila e as propriedades do fármaco, como estrutura, tamanho, forma, solubilidade em água e hidrofobicidade (DORETTO; PERUCHI; RATH, 2014).

A determinação da mobilidade dos fármacos veterinários na matriz de solo pode inferir informações sobre o potencial do fármaco em se lixiviar, podendo atingir águas subterrâneas, sofrer processo de escoamento superficial alcançando águas superficiais ou até mesmo de serem transportados por partículas sólidas, levando a exposição de organismos aquáticos e terrestres a estes contaminantes (TOLLS, 2001).

No estudo de adsorção devem ser empregadas cinco ou mais concentrações do fármaco, adicionadas a proporção do solo/solução pré-determinado no estudo. Os testes devem alcançar o equilíbrio e a massa adsorvida por unidade de massa de solo em função da concentração remanescente no equilíbrio é traçada (OECD, 2000). Para a avaliação dos processos de sorção que ocorrem entre a fase aquosa e a fase sólida (sorvente- solo ou sedimento), utiliza-se o coeficiente de sorção K_d , que relaciona a concentração do contaminante na fase sólida (C_s) e a concentração no equilíbrio na fase aquosa (C_{aq}) (Eq. 3). Quando são empregadas várias concentrações é possível a construção das isotermas de sorção (TOLLS, 2001).

$$K_d = \frac{C_s}{C_{aq}} \quad (\text{L kg}^{-1}) \quad (\text{Eq. 3})$$

Existem inúmeros modelos que descrevem os processos de sorção nas superfícies do solo. Alguns destes modelos estão representados nas seções seguintes.

3.4.1 Modelo de Freundlich

O modelo de isoterma de adsorção de Freundlich foi empregado pela primeira vez para descrever a adsorção entre a fase gasosa e fase sólida, amplamente utilizada na química ambiental do solo (SPARKS, 2003). O modelo considera a adsorção em múltiplas camadas, não considerando uma superfície uniforme, e descrevendo bem a adsorção dentro de um limite de concentração entre materiais porosos e o meio líquido, assim como a adsorção iônica (MELLO et al., 2011). Segundo Sparks (2003), uma das principais desvantagens do modelo é não poder prever a concentração máxima de adsorção. As Equações 4 e 5 descrevem o modelo de Freundlich em sua forma exponencial e linearizada, respectivamente.

$$C_s = K_f C_{aq}^{1/n} \quad (\text{Eq.4})$$

$$\log q = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_{aq} \quad (\text{Eq.5})$$

Onde:

C_s - concentração do adsorvato no solo (mg kg^{-1})

K_f – constante de sorção/ dessorção de Freundlich

C_{aq} – concentração do adsorvato no equilíbrio (mg L^{-1})

$1/n$ – expoente de Freundlich

De acordo com Oliveira Jr. e Regitano (2009), a K_f está relacionada com a capacidade de adsorção do adsorvente e substrato, que pode ser subdividida em adsorção baixa, média, grande e elevada: K_f ($\text{mg}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1}$) 0- 24; 25- 49; 50- 149; > 159, respectivamente.

Para avaliar se a adsorção é reversível ou irreversível é realizado o estudo da dessorção, representando um importante resultado para avaliação da mobilidade do fármaco no solo. A construção das isotermas de dessorção é estabelecida a partir da quantidade do fármaco remanescente adsorvido ao solo em função da concentração do mesmo na solução após o equilíbrio. (OECD,2000)

Segundo Oliveira Jr. e Regitano (2009), o processo pode ser avaliado segundo o grau de reversibilidade da adsorção, onde as isotermas de adsorção e dessorção não se equivalem, retornando parte das moléculas para a solução, fenômeno conhecido como histerese (Eq. 6), podendo ter influência das

modificações do adsorbato ou superfície do adsorvente ou por insuficiência no tempo de equilíbrio.

$$H = \frac{\frac{1}{ndes}}{\frac{1}{nads}} \quad (\text{Eq.6})$$

3.4.2 Modelo de Langmuir

Um modelo amplamente utilizado para descrição do processo de sorção é o modelo de Langmuir, aplicado inicialmente para descrever a adsorção de um gás, e desde 1957 passou a ser utilizado para determinar o comportamento de contaminantes no solo (SPARKS, 2003). O modelo pressupõe uma adsorção em uma superfície homogênea considerando um número de sítios adsorventes limitados, onde a adsorção é limitada independente da concentração do material adsorvido (SPARKS, 2003; MELLO et al., 2011). As Equações 7 e 8 descrevem o modelo de Langmuir e seu modelo linearizado (PAVLOVIĆ et al., 2017), respectivamente.

$$C_s = \frac{bCaqQ_{max}}{1+bCaq} \quad (\text{Eq.7})$$

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{b} + \frac{1}{bQ_{max}Caq} \quad (\text{Eq.8})$$

Sendo:

C_s - quantidade adsorvida por massa de adsorvente (mg Kg^{-1})

b – valor máximo de adsorbato sobre a superfície sólida (mg kg^{-1})

Caq – concentração no equilíbrio (mg L^{-1})

q_{max} ou K_L – constante de Langmuir (L kg^{-1})

São muitos os estudos que visam o entendimento do comportamento de MVs no ambiente. Diversos estudos são realizados em escala laboratorial eclaramente há uma série de lacunas entre os dados obtidos e o impacto real ao ambiente, porém estas pesquisas auxiliam a previsão do comportamento do fármaco no ambiente (BOXALL, 2004). São vários os estudos descrevendo o comportamento de antibióticos no solo (LIGUORO et al., 2007; ZHANG et al., 2009; GONG et al., 2012; BIAIK-BIELINSKA et al., 2012; SITTIG et al., 2014; CHUNG et al., 2017;

OLIVEIRA NETO; ARENAS; FOSTIER, 2017). Sendo que diversos trabalhos relatam o potencial de sorção dos anti-helmínticos no solo, porém a avaliação do comportamento destes fármacos é importante uma vez que estes também representam riscos ao ambiente. Os dados experimentais ainda são limitados para avaliar o destino no solo e na água (KIM; LEE; KWON, 2010). Pavlović et al. (2017) estudaram a avaliação da sorção do ABZ em solos e sedimentos e Kim; Lee e Kwon (2010) avaliaram a sorção dos anti-helmínticos Albendazol (ABZ), Tiabendazol (TBZ) e Flubendazol (FLBZ) em particulados de matéria orgânica e lodo de esgoto.

3.5 Uso de anti-helmínticos na produção animal

O uso de anti-helmíntico na produção de bovinos é bastante expressivo uma vez que os acometimentos por parasitas reduzem a produtividade do animal causando prejuízos na produção de leite, reprodução, ganho de peso corpóreo dos animais, além de aumentarem a susceptibilidade a outras doenças, portanto, o controle de parasitas é essencial para este setor (BEYNON, 2012; RATH et al., 2016). Para Lespine et al. (2012) os parasitas compreendem helmintos da família dos nematóides, trematóides, cetóides, acanthocephala que são capazes de alterar o bem-estar animal podendo causar sua morte. Segundo Rath et al. (2016) sem o controle dos parasitas seria estimado um prejuízo na bovinocultura mundial de US\$ 13,96 bilhões.

Desde o início do século XXI pesquisas são desenvolvidas pela busca de um anti-helmíntico com alta eficácia e com baixos efeitos toxicológicos ao hospedeiro. O primeiro anti-helmíntico descoberto foi a Afenotiazina destinada ao uso em bovinos e eqüinos. Em 1961, uma grande evolução com a descoberta do Tiabendazol possibilitou novas pesquisas no desenvolvimento de anti-helmínticos cada vez mais eficientes (LANUSSE; PRICHARD, 1993).

Os benzimidazóis (BZD) compreendem uma classe bastante disponível atualmente tanto para uso veterinário quanto para humano. Esses são utilizados há mais de cinquenta anos mantendo sua eficácia e eficiência na prevenção e controle de parasitas (LESPINE et al., 2012; LANUSSE; PRICHARD, 1993). Para animais de produção, os anti-helmínticos comumente utilizados são o albendazol, tiabendazol, oxibendazol e fenbendazol, apesar de apresentarem efeitos embriotóxicos (LANUSSE; PRICHARD, 1993).

O destaque à família dos BZD se dá por sua eficácia, sua alta atividade e

por se apresentarem relativamente seguro ao hospedeiro, sendo frequentemente utilizados na agricultura, aquicultura e usos veterinários (LIMA, 2013).

Poucos trabalhos relatam o impacto dos produtos farmacêuticos e sua fabricação sobre o ambiente (MARCIOCHA et al., 2013). A literatura apresenta publicações sobre a presença do albendazol em tecidos ou plasmas, como descrito por Gokbulut; Akar e Mckellar, (2006) e preocupações com resíduos em produto de origem animal (PRCHAL et al., 2016). Porém poucos trabalhos relatam o estudo sobre a determinação destes medicamentos na água, no solo e em plantas (MARCIOCHA et al., 2013). Estudos para determinação do comportamento dos anti-helmínticos no ambiente e o risco ecológico devem ser investigados uma vez que se apresentam bastante resistentes a biodegradação (SIM et al., 2013).

3.5.1 Albendazol e Sulfóxido de Albendazol

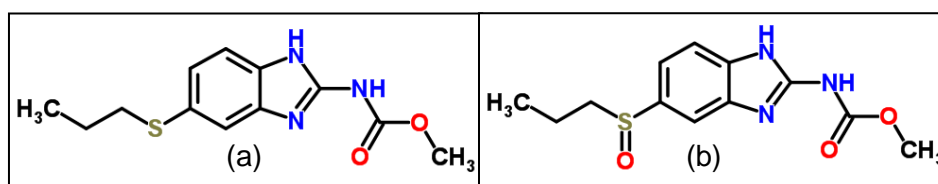
O Albendazol (ABZ), de fórmula molecular $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ (Figura 3a), é um dos representantes da família dos BZD caracterizado por seu amplo espectro. Este medicamento atinge uma grande variedade de parasitas desde nematóides, trematóides, cestóides e protozoários, por ação na inibição energética e polimerização da tubulina nos microtúbulos do parasita (CAPECE; ARZO; ADELL, 2002; CARLSSON et al., 2011; LIOU; CHEN, 2017). É mundialmente empregado em diversos mamíferos por apresentar baixa toxicidade e alta eficácia (PRCHAL et al., 2016; MARCIOCHA et al., 2013). No entanto, não são recomendados para animais no primeiro trimestre de gestação devido aos efeitos embriotóxicos (CAPECE; ARZO; ADELL, 2002; LIOU; CHEN, 2017). Estudos relatam um aumento na reabsorção fetal, má formações e perda de peso em embriões de ratos, coelhos e ovelhas (CARLSSON et al., 2011).

Caracterizado pela sua baixa solubilidade em água e na maioria dos solventes orgânicos, o ABZ tem seu comportamento alterado no organismo e apresenta limitações em sua forma comercial (DAYAN, 2003; LANUSSE; PRICHARD, 1993). Com a administração oral do ABZ o organismo tem uma taxa de absorção de apenas 50% para bovinos, sendo convertido durante o metabolismo por uma oxidação de primeira passagem a seu metabólito sulfóxido de albendazol (ABZSO), de fórmula molecular $C_{12}H_{15}N_3O_3S$ (Figura 3b). Esta conversão ocorre no fígado por ação da enzima P-450, sendo este metabólito considerado com atividade semelhante ao fármaco original (DAYAN, 2003). O ABZSO é posteriormente

metabolizado a sulfona de albendazol (ABZSO₂) não apresentando atividades do fármaco original (CARLSSON et al., 2011).

Segundo Marciocha et al. (2013), a eliminação do ABZ pode chegar até 50% para o ambiente sendo eliminado nas fezes e urina. A presença de conjugados dos metabólitos aumenta sua polaridade e a excreção urinaria é facilitada (LANUSSE; PRICHARD, 1993; CARLSSON et al., 2011). Os fármacos em estudo possuem um Kow (coeficiente de partição) de 1,27 para ambos os fármacos (ABZ, ABZSO) (CHEMISPIDER, 1998). A estrutura química e a capacidade de ionização de acordo com a variação do pH seguem descritas nas Figuras 3 e 4.

Figura 3: Estrutura Química do Albendazol(a) e Sulfóxido de Albendazol (b)



Fonte: ChemSpider (1998).

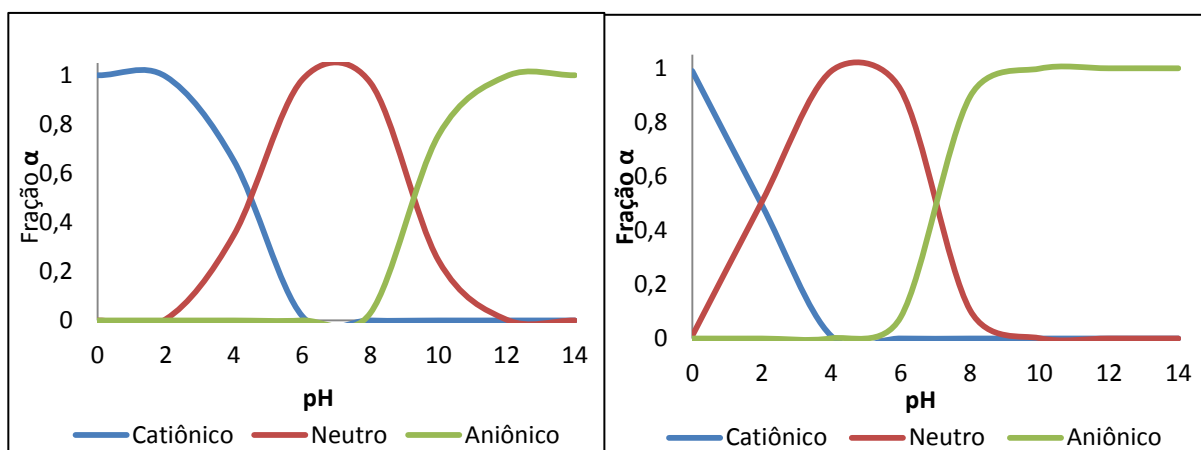


Figura 4: Formas ionizáveis do ABZ (a) e ABZSO (b) com variação do pH.

(a)

(b)

Fonte: próprio autor.

O ABZ é uma molécula anfótera com pKa₁ de aproximadamente 4,27 e pKa₂ de 9,51, para o ABZSO é estimado um pKa₁ de aproximadamente 1,99 e pKa₂ 7,07(DRUGBANK, 2011).

Segundo Liou e Chen (2017), pode-se inferir que o valor de Kow elevados

para o ABZ demonstra uma tendência do fármaco em se acumular em solos e sedimentos, mas estes fármacos podem chegar aos recursos hídricos, como pode-se observar na Figura 4, estas moléculas possuem formas ionizáveis segundo a variação do pH do meio, podendo estas moléculas aumentar suas polaridades e assim serem carregadas aos corpos d'água. Sim et al. (2013) realizaram extração em fase sólida (SPE) para detecção de oito classe de anti-helmínticos, dentre eles o ABZ que foi encontrado em concentração de $3,75 \mu\text{g L}^{-1}$ em estações de tratamento de resíduos humano, $0,011 \mu\text{g L}^{-1}$ em águas de rio, $0,891 \mu\text{g L}^{-1}$ nas estações de tratamento de esgoto e $0,656 \mu\text{g L}^{-1}$ para águas residuais hospitalares na região da Coréia.

Gros; Rodríguez-Mozaz e Barceló (2012) também realizaram o monitoramento de 81 fármacos em estações de tratamento de águas, coletadas na região da Espanha, entre estes fármacos três são pertencentes a classe dos anti-helmínticos sendo quantificado 17 ng L^{-1} de ABZ.

3.6 Composição e propriedades do solo

O solo é composto por sua fração mineral e orgânica e estas exercem grande influência nos fenômenos físicos e químicos que possam ocorrer na matriz. A compreensão das cargas elétricas e dos processos físicos e químicos que ocorrem nos constituintes da fração orgânica e mineral do solo são imprescindíveis para a determinação do comportamento de compostos orgânicos e inorgânicos na matriz (MOTA et al., 2007; ALLEONI; MELLO; ROCHA, 2009). A fração mineral é composta pelas frações areia, silte e argila, como produtos dos processos de intemperismo, sendo a fração areia e a fração argila consideradas mais estáveis em solos tropicais, onde predominam as argilas oxídicas (hematita, goetita e gipsita) e a caulinita; o quartzo predomina na fração areia. No entanto considerando a fração coloidal como um todo, em condições de intemperismo ativo possam por varias transformações com a produção de cargas elétricas que podem ser dependentes do pH do solo ou resultantes de substituição isomórficas entre ions destes componentes (SPARKS, 2003; MOTA et al., 2007).

Os argilominerais correspondem as partículas menores que $2\mu\text{m}$, possuem capacidade de trocar íons por apresentarem em suas superfícies cargas negativas, expressando elevada capacidade de troca catiônica, a intensidade desta troca será relacionada com as concentrações de íons trocáveis e adsorvidos, dimensão,

natureza e do grau de hidratação do mineral (MELLO et al., 2011). Os minerais secundários mais comuns são os aluminossilicatos (caulinita e montmorilonita) e óxidos (gibbsita, goethita e hematita) (SPARKS, 2003). A maior área específica dos argilomineais, bem como o seu potencial de expansão quando em contato com o meio aquoso, favorece o processo de adsorção de cátions e/ou de ânions (ALLEONI; MELLO; ROCHA, 2009; MELLO et al., 2011).

Os minerais são formados pelas disposições de lâminas tetraédricas (compostas por sílica) e folhas octaédricas (compostas por alumínio). A lâmina tetraédrica ao se ligar em uma lâmina octaédrica resulta em minerais de argila 1:1. Quando duas lâminas tetraédricas se unem a uma lâmina octaédrica tem-se minerais 2:1, que apresentam características expansivas quando hidratadas (SPARKS, 2003).

Alleoni, Mello e Rocha, (2009) também classificam os constituintes minerais por grupos com carga permanente ou carga variável (dependente do pH e da força iônica do meio). As cargas permanentes são geradas por substituições isomórficas nas áreas superficiais dos minerais, são independentes do pH da solução e do mineral, são mais expressivas nos minerais secundários como os argilosos silicatados do tipo 2:1. (FONTES; CAMARGO; SPOSITO, 2001). As substituições podem ocorrer entre átomos de tamanho semelhantes presentes nas folhas octaédricas (com a substituição do alumínio por Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} ou Cu^{2+}) e tetraédricas (substituição do silício por alumínio) (SPARKS, 2003). Sendo as cargas positivas ou negativas dependentes da substituição de um elemento de maior e/ou menor valência em relação ao outro íon, os minerais que possuem cargas mais expressivas são os argilosos silicatados do tipo 2:1 (FONTES; CAMARGO; SPOSITO, 2001).

As cargas variáveis, também chamadas dependentes do pH, tem como característica a determinação da carga líquida pelo íon adsorvido na superfície dos colóides do solo. Os íons H^+ e OH^- são considerados determinantes de potencial, pois definem a carga do solo. Dentre os minerais com estas características tem-se a caulinita, goethita, hematita e gibbsita (FONTES; CAMARGO; SPOSITO, 2001).

Tanto nos compostos orgânicos quanto nas argilas oxídicas as cargas variáveis são dadas pela dissociação de grupos funcionais (carboxílicos, fenólicos e alcoólicos) e pelo grau de protonação e desprotonação (os quais são determinados

pela atividade dos íons H^+). Em pH ácido ocorre a protonação dos grupamentos e em pH básico tem-se aumento de pH ocorrendo a desprotonação (ALLEONI; MELLO; ROCHA, 2009).

A matéria orgânica apresenta esta carga dependente do pH do meio, em pH superior a 3 essa é carregada negativamente a medida em que o pH aumenta a sua carga negativa também aumenta devido a desprotonação ou dissociação dos grupos H^+ (SPARKS, 2003). Como a matéria orgânica possui diversos grupos funcionais que participam de reações no solo estas permitem uma série de interações com compostos orgânicos na matriz. DICK, NOVOTNY, DIECKOW (2009), descrevem a interação da matéria orgânica com compostos de origem antropogênica resultando tanto em sua imobilização como na possibilidade do transporte ao longo perfil e encostas dos solos.

Segundo o Embrapa (2006) o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos os solos se dividem em 12 classes, dentre elas os Latossolos correspondem a grande parte do território nacional e são amplamente utilizados pelo setor agropecuário (plantio e criação de animais). São solos com alto grau de intemperismo, com predomínio de argilominerais 1:1 e óxidos de Fe (goethita e hematita), Al (gibbsita) e em pequenas quantidades presentes mica e vermiculita, em abundância se encontra a caulinita. Estes solos respondem por grandes reações pela grande diversidade de tamanho de partículas, substituição isomórficas e grau de intemperismo. São solos com grande profundidade, estáveis, porosos e de alta permeabilidade, entretanto possuem baixa capacidade de troca catiônica e elevada adsorção de ânions (ALLEONI; MELLO; ROCHA, 2009).

3.7 Fitotoxicidade

A exposição constante do ambiente aos resíduos de MVs ocorre por diversas causas, entre elas dispersão de estrumes contaminados ou a presença direta de animais tratados, exposição da aquicultura, águas subterrâneas e superficiais ou até mesmo a inalação de animais a poeiras provenientes de instalações de criações intensivas de gado (BOXALL et al., 2006). Estes resíduos quando acabam em terras cultiváveis podem tornar-se disponíveis às plantas, podendo ou não afetar seu crescimento e desenvolvimento, dependendo do fármaco, da dosagem deste fármaco, da sua cinética de sorção ao solo, e de sua bioacumulação e mobilidade (JJEMBA, 2002). As plantas também podem absorver

águas contaminadas por evapotranspiração e/ ou fotossíntese ou serem expostas pela utilização de água contaminada oriunda de irrigação. Os efeitos desta contaminação para as plantas envolvem interrupções bioquímicas e fisiológicas, comprometendo seu desenvolvimento (BÁRTÍKOVÁ, PODLIPNÁ, SKÁLOVÁ, 2016).

As plantas também são capazes de remover estes contaminantes e realizar a metabolização destes por ação enzimática. Elas transformam em metabólitos, que podem ter efeitos tóxicos menores ou maiores em relação ao fármaco original. Esses metabólitos podem tornar-se disponíveis para o consumo, como fonte alimentar a outras espécies, podendo afetar outros organismos (PODLIPNÁ et al., 2013; STUHLÍKOVÁ et al., 2016). Entretanto os efeitos tóxicos e o destino dos anti-helmínticos nas plantas são pouco estudados.

Stuchlíková et al. (2016), avaliou a fitotoxicidade e a biotransformação do albendazol (ABZ), fenbendazol (FBZ) e flubendazol (FLU) em células da planta *Campanula rotundifolia*. Os resultados demonstraram que o ABZ é oxidado inicialmente do grupo S (biotransformação Fase I) e hidrolisado observando-se a formação do sulfóxido de albendazol (ABZSO). Com uma segunda oxidação do grupo S origina-se a sulfona de albendazol (ABZSO₂). A Fase II gerou a formação de vários metabólitos (detectados por UHPLC-MS) totalizando ao final 24 metabólitos e a exposição aguda (24 horas) não expressou alteração significativa para as células da planta em estudo.

Marciocha et al. (2013) observaram a absorção do ABZ utilizando a espécie de planta *Vicia faba*, em uma cultura hidropônica por 14 dias, assumindo uma concentração inicial do fármaco de $1,7 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, obtendo uma recuperação de 93% e 86% para as raízes e parte aérea, respectivamente. Não foram encontradas na literatura avaliações toxicológicas para o metabólito ABZSO tanto para as plantas como em organismos aquáticos.

3.8 Processos Oxidativos Avançados (POAs)

O desenvolvimento de processos que sejam eficientes na diminuição dos impactos gerados pelas descargas de águas residuais aos recursos naturais vem sendo investigadas a fim de se obter mais eficiência em relação aos processos empregados em tratamentos convencionais (DEWIL et al., 2017; PASCOAL et al., 2007), uma vez que muitos poluentes apresentam alta estabilidade e resistência a mineralização, sendo necessários tratamentos mais reativos e eficientes (TOKODE

et al., 2015). Os POAs se destacam pela remoção de contaminantes orgânicos, convertendo-os em dióxido de carbono, água e ânions inorgânicos pela reação de oxidação das radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$) (TEIXEIRA; JARDIM, 2004; TOKODE et al., 2015), que possuem um potencial de oxidação de $E^0 = 2,73\text{V}$ que possibilita a degradação de diversos compostos (KONDO et al., 2014; RODRIGUES-SILVA et al., 2014). O ataque não seletivo dos radicais também se destaca para o tratamento de águas residuais e descontaminação ambiental (MALATO et al., 2009), outra vantagem destes processos está na versatilidade na geração dos radicais hidroxilas que podem ser gerados por reações de oxidantes fortes como o ozônio (O_3) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), semicondutores como dióxido de titânio (TiO_2) e óxido de zinco (ZnO) combinados com irradiação ultravioleta (UV) (TEIXEIRA; JARDIM, 2004; MALATO et al., 2009). Os radicais hidroxilas não são os únicos radicais gerados no processo, porém é a espécie dominante na eficiência da remoção (SIEVERS, 2011). O mesmo autor também destaca a eficiência na remoção de poluentes de origem antropogênica, substâncias tóxicas, bactérias, vírus e micropoluentes emergentes.

Os POAs se dividem em sistemas homogêneos (onde não é empregado um catalisador em forma sólida) e heterogêneos (onde é empregado um catalisador semicondutor sólido) (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). Os empregos de catalisadores sólidos geram no processo reações como a difusão, adsorção, reação e dessorção dos produtos fora da superfície e ao final da reação a difusão dos produtos finais, os catalisadores (metais nobres como-Cu, Mn, Co, Cr, V, Ti, Bi e Zn) são imobilizados em superfícies sólidas (orgânicos e inorgânicos) com funções de aumentar a superfície catalítica do material, diminuir a sinterização e controlar a vida útil dos catalisadores (SIEVERS, 2011), ou serem utilizados em suspensão aquosa (NOGUEIRA; JARDIM, 1998).

Os POAs podem ser empregados em tratamentos de contaminantes do ar, solo e recursos hídricos (KONDO et al., 1999; GAYA; ABDULLAHA, 2008; WANG et al., 2011; PRIETO-RODRIGUEZ et al., 2012). Processos oxidativos podem ser utilizados para a remoção de produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais (MARTÍNEZ et al., 2011). Dentre os POAs tem-se destaque a fotocatalise heterogênea que em diversos trabalhos é reportada na remoção destes poluentes (KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009; MARTÍNEZ et al., 2011;

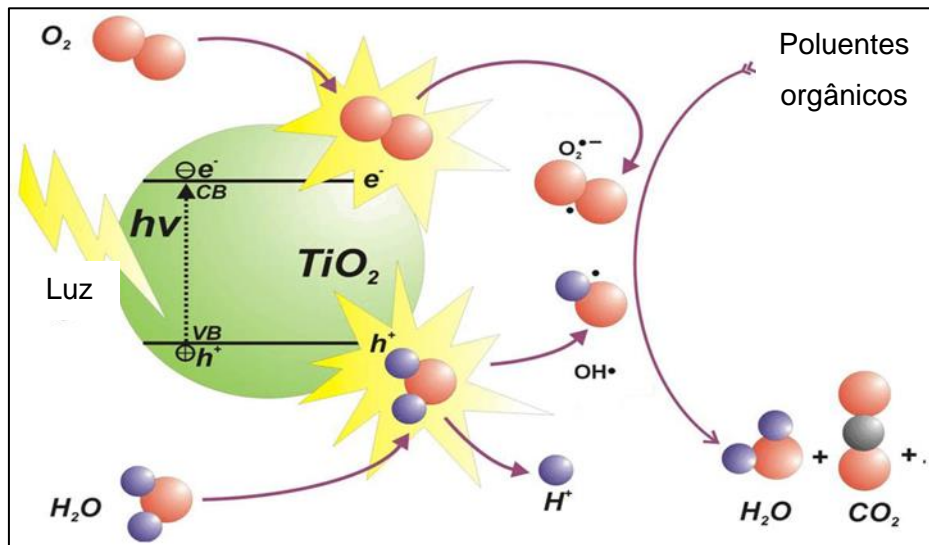
CANDIDO et al., 2016; CIZMIC et al., 2017).

3.8.1 Fotocatálise Heterogênea

A fotocatalise heterogênea teve sua descoberta em 1972 com a obtenção de hidrogênio a partir da reação de oxidação da água, realizado por Fujishima e Honda, onde desde então o processo vem sendo estudado para aplicação de semicondutores na remoção de poluentes ambientais orgânicos e inorgânicos, tratamento dos recursos hídrico ou atmosférico (IBHADON; FITZPATRICK, 2013). O processo de fotocatalise heterogênea consiste na aplicação de um semicondutor inorgânico como TiO_2 , ZnO ou CdS , fornecendo uma energia superior a energia de *bandgap*, região compreendida entre a banda de valência (BV) e banda de condução (BC), provocando a excitação eletrônica, levando o elétron a migrar da BV para BC, formando sítios oxidantes e redutores (par elétron/lacuna (e^-/h^+)) que realizaram reações químicas catalíticas (ZIOLLI; JARDIM, 1998). Estas reações são possíveis pela geração de uma lacuna (h^+) na BV, estas lacunas apresentam potenciais de eletropositivos no intervalo de +2,0 a +3,5 V, sendo capazes de gerar radicais hidroxilas ($\bullet\text{OH}$) a partir da oxidação de moléculas de água adsorvidas à superfície do semicondutor (NOGUEIRA; JARDIM, 1997). A ativação de um semicondutor pela radiação segue esquematizada na Figura 5.

Entretanto o par elétron/lacuna (e^-/h^+) pode sofrer recombinação interna. A presença do oxigênio nas reações onde são empregados os semicondutores é muito importante, pois o oxigênio aprisiona o elétron da BC formando radicais superóxidos (O_2^-), com um menor potencial de redução em relação aos radicais hidroxilas que podem também oxidar compostos orgânicos (TEIXEIRA; JARDIM, 2004). Martínez et al. (2011), avaliaram a eficiência da degradação do medicamento diclofenaco em relação ao emprego de oxigênio e observaram que a diferença ao empregar uma proporção de 21,0; 50,0 e 100% de oxigênio é mínima, porém o aumento da degradação é proporcional a adição de O_2 . Na ausência de O_2 o processo de degradação foi muito lento e a degradação de 82% do fármaco com 21,0% de oxigênio dissolvido demonstrou que é viável o trabalho em condições ambientais.

Figura 5: Ativação do semiconductor



Fonte: Adaptado de IBHADON; FITZPATRICK (2013).

Fotoexcitação: $\text{TiO}_2 + h\nu \rightarrow e^- + h^+$

Adsorção oxigênio: $\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}_2^{\bullet -}$

Ionização da água: $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{OH}^- + \text{H}^+$

Formação do superóxido: $\text{O}_2^{\bullet -} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HOO}^\bullet$

O semiconductor bastante empregado é o dióxido de titânio (TiO_2), devido a sua elevada fotoatividade, sua não toxicidade, estabilidade na presença de radiação e variação de pH, eficiência no processo de degradação e por não ser corrosivo faz com que este seja preferido em relação a catalisadores comerciais. (KLAVARIOTI; MANTZAVINOS; KASSINOS, 2009; SAIEN; KHEZRIANJOO, 2008; HAVLÍKOVÁ; SATINSHY; SOLICH, 2016). O TiO_2 possui uma energia (*bandgap*) de 3,0 e 3,2 eV, assim a radiação solar, que compreende o comprimento de onda menor que 387 nm, pode ser usada como fonte de radiação para ativação do semiconductor, uma vez que neste comprimento de onda aproximadamente 3% do espectro solar atinge a terra (FERREIRA; DANIEL, 2004). O emprego do semiconductor também tem vantagens da não geração de nenhum lodo que requeira destinação para o aterro. O catalisador não sofre alterações durante todo processo o que evita o uso de produtos químicos (IBHADON; FITZPATRICK, 2013). Segundo IBHADON; FITZPATRICK (2013) a inércia do TiO_2 ao ambiente químico faz com que seja amplamente empregado em diversos produtos como cosméticos, produtos farmacêuticos e protetores solares.

De acordo com Nogueira; Jardim, (1997), a maior fotoatividade do TiO₂ em relação aos outros semicondutores deve ser considerada, porém a recombinação do par elétron/lacuna torna limitante o seu rendimento. Outro fator limitante é a radiação absorvida do fotocatalisador onde a melhor eficiência com o aumento da irradiação, entretanto apenas 5% da luz solar é capaz de causar fotossensibilização devendo considerar as possíveis perdas por processos de reflexão (GAYA; ABDULLAH, 2008).

Diversos estudos são reportados na literatura visando à aplicação deste processo para remoção de fármacos, como descrito por Saien e Khezrianjoo (2008), com a remoção do carbendazim, um fungicida da classe dos BZD. A remoção de fármacos floxacina e atenolol também foi avaliada (HAPESHI et al., 2010). Havlíková Satinsky e Solich (2016), estudaram a remoção de dois fármacos anti-helmínticos ivermectina e praziquantel. Candido et al. (2016) também avaliaram a eficiência da fotocatalise heterogênea para remoção do fármaco ibuprofeno avaliando o processo por ensaios toxicológicos com organismos aquáticos.

3.9 Ensaios ecotoxicológicos

A avaliação da resposta de organismos frente a fatores estressores do meio já é realizada desde tempos mais antigos. A ecotoxicologia estuda os efeitos de substâncias sintéticas ou naturais na exposição de organismos vivos (animal ou vegetal), de suas populações ou comunidades de ecossistemas aquático ou terrestres, utilizada como uma ferramenta de monitoramento ambiental (MAGUALHAES, FERRÃO, 2008). Para esta avaliação são empregados testes ecotoxicológicos pré-estabelecidos e padronizados por normas brasileiras. Estes testes se classificam de acordo com o tempo de exposição em agudo ou crônico, avaliando possíveis alterações fisiológicas, morfológicas ou comportamentais (morte, crescimento ou reprodução) (KAPANEN; ITÄVAARA, 2001). Segundo Kapanen e Itävaara (2001) as respostas obtidas pelos testes agudos são expressas em LC₅₀ (concentração letal) e as respostas crônicas expressas em EC₅₀ (valores de concentração média efetiva) indicando morte ou algum tipo de alteração em 50% dos organismos.

Os organismos aquáticos estão expostos a diversos poluentes que podem uma vez dentro do organismo causar diferentes efeitos até a morte (WAGIL et al., 2014). É crescente a aplicação destes ensaios ecotoxicológicos a fim de

monitoramento dos corpos hídricos. Várias espécies podem ser utilizadas para realização dos testes, dentre elas encontram-se a *Daphnia similis*, a *Vibrio fischeri*, a *Raphidocelis subcapitata*, a *Danio rerio* e dentre outras selecionadas de acordo com o objetivo da avaliação (RÊGO DA SILVA; POMPÊO; PAIVA, 2015; BRAZ et al., 2014; CANDIDO et al., 2016).

Os ensaios ecotoxicológicos podem ser uma boa ferramenta para monitoramento dos POAs, a avaliação da toxicidade antes e depois dos ensaios avaliando a redução da toxicidade ou efeitos toxicológicos pela formação de subprodutos durante o processo (RIZZO et al., 2009). Os mesmos autores avaliaram a degradação do diclofenaco empregando o processo de fotocatalise heterogêneaos bioensaios com *Daphnia magna*; *Pseudokirchneriella subcapitata* e oocisto de *Artemia*.

Em 2014, Czech; Joško e Oleszczuk avaliaram a toxicidade do processo de remoção dos fármacos cloranfenicol e diclofenaco utilizando como bioindicadores *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri*. Candido e colaboradores em 2016 utilizaram os bioensaios para monitoramento da degradação do ibuprofeno avaliando os organismos aquáticos *Daphnia similis* e *Raphidocelis subcapitata*.

Os efeitos toxicológicos do ABZ e seus metabólitos foram estudados por Carlsson et al. (2013) em embriões de peixe-zebra confirmando seu efeito teratogênico ao observar que os embriões apresentaram seu desenvolvimento afetado (cabeças e olhos subdesenvolvidos e caudas truncadas).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

- Acetonitrila / grau HPLC – Dinâmica
- Água de nascente – Comunidade Sol de Deus, Itajubá-MG
- Água ultrapura – sistema Millipore Milli-Q
- Albendazol (manipulado) e Sulfóxido de Albendazol (comercial)
- Cloreto de cálcio (Synth)
- Dióxido de titânio (Degussa, P25)
- Dimetilsulfóxido (DMSO) (Synth)
- Lugol 5%
- Membrana de éster de celulose – 0,45 µm de porosidade e 0,47 mm de

diâmetro (Química Moderna)

- Membrana de fibra de vidro 0,47 μ m (Carvalhes)
- Papel de filtro (Unifil)
- Tubos Falcon 50 mL
- Vials 1,5 mL
- Placas de Petri

4.1.2 Equipamentos

- Aerador -VigoAr 60
- Agitador magnético –NovaInstruments
- Autoclave vertical –PhoenixLuterco (Modelo 415)
- Balança analítica– Shimadzu (Modelo: ATX 224)
- Banho ultrassônico – Tecnal TE-0581
- Bomba a vácuo – Unique
- Câmara de Fluxo laminar -Veco
- Câmara de Neubauer
- Centrífuga –Thermo Fisher
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Modelo 1260 Infinity series - Agilent
- Coluna cromatográfica – Modelo ZORBAX SB – C18/ RapidResolution HT (150 mm x 4,6 mm, 5 μ m)
- Condutivímêtro – Alfa Mare
- Estufa D.B.O – Eletrolab
- Lâmpada a vapor de Hg 125 W - GE Iluminação do Brasil Comércio de lâmpadas LTDA
- Luxímetro Digital – Modelo: Wm 1850 – Icel
- Mesa agitadora - Aggimax
- Mesa Orbital – Shaker
- Micropipeta – Labmate
- Microscópio óptico– Olympus
- Oxímetro – Inolab
- pHmêtro - Digimed
- Radiômetro– Solar Light
- Reator (125 W, 220 V/1,15 A) –Indústria de Materiais Elétricos (Intral AS)

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Preparo de Soluções

Foi preparada uma solução estoque contendo ambos os fármacos ABZ e ABZSO. Empregou-se o ABZ adquirido em uma farmácia de manipulação e seu metabólito ABZSO extraído a partir de um medicamento comercial. A solução padrão estoque de concentração de 900 mg L^{-1} foi preparada pesando 0,09 g do ABZ em balança analítica de alta precisão e pipetando 1,5 mL do medicamento contendo o ABZSO, cuja apresentação comercial é de 6,0 g de ABZSO a cada 100 mL de medicamento. As amostras foram solubilizadas em 10 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) e avolumadas em balão volumétrico de 100 mL com acetonitrila (ACN), obtendo uma concentração final de 900 mg L^{-1} . Também foram preparadas soluções estoques dos fármacos isoladamente nas concentrações de 900 mg L^{-1} .

Uma solução trabalho, denominada como solução trabalho I, com concentração de 10 mg L^{-1} foi preparada para uso imediato mediante à diluições da solução estoque e avolumadas com solução de acetonitrila: água ultrapura em uma proporção de 50:50 (v:v). Outra solução, denominada como solução trabalho II, foi preparada para obtenção de 1 L de solução de ABZ e ABZSO na concentração de $900 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, obtido a partir de diluição da solução estoque em água ultrapura. Esta teve seu pH ajustado para 8,5 com auxílio de solução de hidróxido de sódio (NaOH) e/ou ácido clorídrico (HCl), ambos na concentração de 1 mol L^{-1} .

Todas as soluções foram submetidas ao banho ultrassônico por 10 minutos, armazenadas, protegidas de luminosidade e refrigeradas a 4°C .

4.2.2 Validações do método analítico

Para detecção e quantificação dos fármacos foi utilizada a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) empregando-se um equipamento de modelo Infinity 1260 da Agilent Technologies composto por um sistema de bombeamento quaternário (Figura 6), acoplado aos detectores Fluorescência (FLD) e Arranjos de Diodos (DAD), equipado com uma coluna C18 de 4,6 mm de diâmetro, 150 mm de comprimento e $5 \mu\text{m}$ de tamanho de partícula. Os parâmetros analíticos de validação (ou figuras de mérito) avaliados foram: seletividade, linearidade em uma faixa linear de trabalho, sensibilidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão, precisão e robustez seguindo parâmetros estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) pelo Instituto Nacional de Metrologia,

Normalização e Qualidade Industrial- INMETRO (BRITO et al., 2003; RIBANI et al., 2004; PASCHOAL et al., 2008). Os tratamentos estatísticos dos dados foram realizados empregando o programa estatístico Microsoft Office Excel 2010.

Figura 6: Cromatógrafo Líquido modelo Infinity 1260 da Agilent Technologies



Fonte: próprio autor.

As condições cromatográficas empregadas para a análise dos fármacos foram adaptadas de Gokbulut, Akar e Mckellar (2006), onde se empregou uma fase móvel composta por acetonitrila e água deionizada (ambas filtradas em microfiltro de fibra de vidro de 0,47 μm e desgaseificadas em banho ultrassônico por 15 minutos), módulo gradiente descrito na Tabela 1, volume de injeção igual a 10 μL , temperatura da coluna igual de 40°C. A detecção dos fármacos para o FLD ocorreu no comprimento de onda de excitação ($\lambda_{\text{excitação}}$) igual a 280 nm e comprimento de onda de emissão ($\lambda_{\text{emissão}}$) igual a 320 nm. Para o DAD o comprimento de onda (λ) utilizado foi de 292 nm.

Tabela 1: Modo gradiente empregado na corrida cromatográfica para determinação do ABZ e ABZSO

Vazão da fase móvel (ml min ⁻¹)	Composição da fase móvel (%)	Tempo (min)
0,3	50:50	0-3
0,3	50:50	3-5
0,5	75:25	5-9
0,5	75:25	9-15
0,3	50:50	15-20

Fonte: Próprio autor.

4.3 Seletividade

A avaliação da seletividade na separação cromatográfica dos fármacos foi observada através da comparação de uma matriz fortificada com os analitos ABZ e ABZSO, simultaneamente, na concentração de 900 µg L⁻¹ em relação a uma matriz isenta dos analitos na composição de acetonitrila: água 50:50 (v:v), analisados por CLAE.

4.4 Linearidade

A linearidade do método foi obtida através da construção da curva analítica em 14 níveis de concentração (5, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 µg L⁻¹), realizados em triplicatas. As diferentes concentrações foram obtidas pela diluição da solução trabalho em acetonitrila: água 50:50 (v:v) analisadas por CLAE, sendo avaliado pelo método matemático de regressão linear, onde obteve-se as equações das retas expressas como: $y = a + b \times C$, na qual C é a concentração dos fármacos em µg mL⁻¹ e y a área do pico cromatográfico, sendo a e b correspondem aos coeficientes linear e angular, respectivamente.

4.5 Limite de detecção e (LD) Limite de quantificação (LQ)

O Limite de Detecção (LD) e o Limite de Quantificação (LQ) foram determinados pelo método sinal-ruído pela comparação dos cromatogramas dos analitos em baixas concentrações em relação à leitura de um cromatograma proveniente de uma matriz isenta dos analitos composta por acetonitrila: água

deionizada 50:50(v:v). Segundo Ribani et al., 2004, pode-se considerar uma razão de 3:1 e 10:1 para LD e LQ, respectivamente. Estas medidas foram mensuradas com auxílio de uma régua. Também se utilizou-se a comparação dos parâmetros da curva analítica, considerando as equações que foram obtidas pela regressão linear de cada triplicata (equação 9 e 10).

$$LD = 3,3x \frac{s}{S} \quad (9)$$

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

Sendo 's' o desvio padrão do coeficiente linear da equação da reta e 'S' coeficiente angular da curva analítica.

4.6 Exatidão

Um dos métodos mais utilizados para avaliação da exatidão consiste na realização de ensaios de fortificação da amostra, adicionando concentrações do analito de interesse e posterior determinação da concentração adicionada (BRITO et al., 2003). A exatidão foi avaliada ao se preparar soluções nas concentrações de 300, 500, 700 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos em água deionizada a partir da solução trabalho I, realizadas em triplicatas, avaliando o percentual de recuperação (R) dos analitos (Eq. 11) em matrizes aquosas após a análise por CLAE comparando com dados determinados na literatura (BRITO et al., 2003).

$$\text{Valor Obtido (R\%)}: \frac{\text{Concentração do valor}}{\text{valor adicionado}} * 100 \quad (11)$$

4.7 Precisão

Para se avaliar a precisão do método analítico verificou-se a repetitividade do método ao se analisar o coeficiente de variação (CV (%)) da preparação de dez soluções nas concentrações de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ em acetonitrila: água deionizada (50:50, v:v) dos analitos, preparadas por um primeiro analista e analisadas em CLAE, avaliado e comparado com dados determinados para análises a níveis traços na literatura (Ribani et al., 2004).

Também se avaliou a reprodutividade do método preparando soluções dos

analitos nas mesmas condições do primeiro analista, porém realizado por um segundo analista, em dias diferentes. Foram calculados os valores de recuperação (R), aplicando testes estatísticos (teste F e teste T), em um nível de confiança de 95%.

4.8 Robustez

A robustez foi realizada variando $\pm 5\%$ de alguns parâmetros do método analítico para determinar o quão robusto ele se apresenta frente a pequenas variações nas condições pré-estabelecidas, comparando o fator de recuperação com o determinado na literatura (BRITO et al., 2003). Assim três soluções dos analitos nas concentrações de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ foram preparadas pela diluição da solução trabalho I em acetonitrila: água deionizada (50:50, v:v) e analisadas em CLAE, variando parâmetros como temperatura da coluna, volume de injeção e vazão da fase móvel.

4.9 Método de estudo para análise do comportamento do ABZ e do ABZSO no solo

4.9.1 Avaliação da estabilidade do ABZ e ABZSO em solução de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$

Para avaliação da estabilidade dos analitos ABZ e ABZSO na solução extratora de CaCl_2 e nos tubos Falcon® (Polipropileno), foram preparadas soluções em quintuplicatas na concentração de $900 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos em CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ a partir da solução estoque de 600 mg L^{-1} dos analitos em $25,0 \text{ mL}$ de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Após o preparo, as soluções foram transferidas para tubos Falcon®, mantidas em agitação (120 rpm) por 72 horas, protegidas de luz solar a 25°C e coletando alíquotas a cada 24 horas de cada solução.

As alíquotas foram filtradas em membrana de mistura de ésteres $0,45 \mu\text{m}$ de porosidade e armazenadas em *via/s* para posterior análise em CLAE.

4.9.2 Otimização da razão solução/solo no estudo de adsorção

Amostras de 0,1; 0,25; 0,5 e 1,0g do horizonte A do solo em estudo foram pesadas em triplicata em tubos Falcon® de capacidade de 50 mL, adicionando 25mL da solução dos analitos na concentração de $900 \mu\text{g L}^{-1}$ em CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, preparadas pela diluição da solução estoque de $9000 \mu\text{g L}^{-1}$, a cada tubo. Quatro razões solo/soluções foram estudadas: 1/25 (1 g: 25,0mL), 1/50 (0,5 g:25,0 mL),

1/100 (0,25 g: 25,0 mL) e para 1/250 (0,1 g:25,0mL).

Os tubos foram mantidos em agitação a 120 rpm por 24 h a 25°C, mantendo um branco para cada razão solo/solução como pode-se observar na Figura 7.

Figura 7: Mesa agitadora para realização dos ensaios de sorção dos analitos



Fonte: próprio autor.

Posteriormente, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos e as alíquotas do sobrenadante foram coletadas e filtradas em membrana 0,45 μm de porosidade. O filtrado foi armazenado em *vials* para análise em CLAE.

4.9.3 Estudos das isotermas de sorção e dessorção do ABZ e ABZSO para o horizonte A

Os estudos de adsorção e dessorção para o horizonte A foram realizados em pH 3 e sem ajuste. Para os ensaios de adsorção foram pesados em triplicata massas de 1g de solo em tubos Falcon® adicionando soluções de 25 mL de CaCl_2 0,01 mol L^{-1} dos analitos nas concentrações de 0,6, 0,9, 1,2, 3, 6, e 9 mg L^{-1} , realizou-se ajuste de pH quando necessário com o auxílio das soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e/ou ácido clorídrico (HCl), ambos na concentração de 1 mol L^{-1} . Os tubos ficaram sob agitação (120 rpm) protegidas de luz solar a 25°C por 24 horas. Após este período centrifugou-se as amostras por 10 minutos sendo as alíquotas do sobrenadante coletadas e filtradas em membrana 0,45 μm de porosidade. Realizou-se diluições em água: ACN (50:50 v:v) para que pudesse ser realizada a leitura das amostras dentro da faixa de trabalho (curva analítica), sendo 1,2 mg L^{-1} (1:1), 3 mg L^{-1}

¹ (3:1), 6 mg L⁻¹ e 9 mg L⁻¹ (10:1), sendo as amostras foram armazenadas para análise em CLAE.

Para os ensaios de dessorção retirou-se todo sobrenadante de cada tubo adicionado 25 mL de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ sem os analitos, sendo o pH da solução CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ ajustado para pH 3 na isoterma de meio ácido. O sistema foi mantido por mais 48 horas nas mesmas condições já descritas de agitação. Após este período o sistema foi novamente centrifugado e filtrado como já descrito na adsorção. Para as concentrações 6,0 e 9,0 mg L⁻¹ foi realizada uma diluição 1:1.

4.10 Avaliação da fitotoxicidade

Os estudos para avaliação dos efeitos fitotóxicos de uma substância em organismos vegetais, podem ser conduzidos segundo normas pré-estabelecidas, como o guia 208 da OECD chamado Seedling Emergence and Seedling Growth Test e o guia E1963 – 09 da ASTM chamado Standard Guide for Conducting Terrestrial Plant Toxicity Tests.

4.10.1 Avaliação da fitotoxicidade em sementes de alface (*Lactuca sativavar.capitata*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*): ensaios em placa de Petri

Para avaliação da influência dos fármacos ABZ e ABZSO na germinação das sementes foi montado um experimento contendo seis tratamentos com quatro repetições cada um. Placas de Petri (10,5 cm diâmetro) foram recobertas com papel de filtro quantitativo de 12,5 cm embebidas com 5,0 mL de solução contendo ambos os fármacos nas concentrações de 0,12, 12, 120 e 600 mg L⁻¹. Foi preparado um controle negativo contendo água destilada e um segundo controle positivo, contendo somente os solventes utilizados no preparo das nas soluções dos fármacos (120 e 600 mg L⁻¹), nas mesmas proporções (ACN: DMSO 90:10 v:v). As placas foram mantidas em estufa tipo BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) por 24h para evaporação do solvente. Após este período adicionou-se a cada placa de Petri, 25 sementes de alface e 25 de feijão separadamente, em um total de 100 sementes por tratamento e uma segunda folha de papel filtro cobrindo as sementes. As placas foram mantidas no escuro à temperatura 25 ± 4 °C. Adicionou-se água destilada para manter a umidade quando se observava perda da mesma, mantendo-a suficiente para germinação.

As sementes foram analisadas quanto a germinação e o seu crescimento por análise qualitativa com auxílio de uma lupa (ZEISS Stemi 305).

4.10.2 Avaliação da fitotoxicidade em sementes de feijão: Ensaios no solo

Foi conduzido um experimento na casa de vegetação da Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) para avaliação da influência dos fármacos em estudos na germinação e crescimento de plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris*), os estudos no solo foram conduzidos empregando sementes de feijão pelo seu curto prazo de germinação e crescimento, também pelas sementes se apresentarem mais resistentes ao uso dos solventes (controle positivo) em relação as sementes de alface, como observado nos ensaios de placa de Petri.

As sementes foram adicionadas em caixa de plástico (dimensões 21,2 x 15,0 x 5 cm) contendo solo proveniente do horizonte A, peneirado em tamanho de partículas menores que 2,0 mm. Foram preparadas quatro bandejas por tratamento, e a cada bandeja foram adicionados 25mL de soluções contendo ambos os fármacos nas concentrações de 0,12, 12, 120 e 600 mg L⁻¹, reservando um tratamento para controle positivo onde foi adicionada apenas água e um controle negativo onde foram adicionados os solventes utilizado nas soluções (ACN:DMSO 90:10 v:v).

As bandejas permaneceram por 24 horas com as soluções para evaporação dos solventes. Após este período foram adicionadas cinco sementes por bandejas, totalizando 20 sementes por repetição. Avaliou-se a porcentagem de germinação, altura do caule para a semente de feijão, além de observação sob os aspectos qualitativos das plantas. Os dados foram submetidos inicialmente ao teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p > 0,05$). Em seguida à análise de variância, com uso do software SISVAR (FERREIRA, 2011). A fim de verificar a diferença entre os tratamentos para as características testadas, foi realizada a comparação das médias pelo teste de Scott-Knott a 95% do nível de confiança.

4.11 Estudo de remoção do ABZ e ABZSO em solução aquosa

4.11.1 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO por fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO₂/O₂ sob luz UV artificial

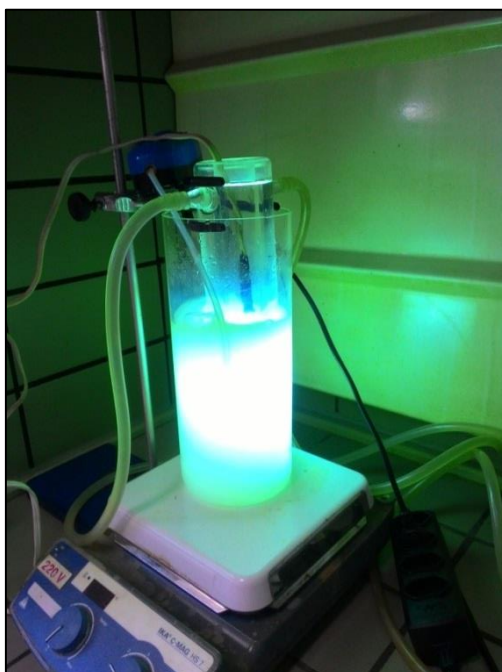
Para os ensaios de fotodegradação empregando radiação UV artificial, foi utilizado um reator de borossilicato de dupla jaqueta (27cm de altura, 2,5cm de espessura) (KONDO; JARDIM, 1991). Inseriu-se uma lâmpada de vapor de mercúrio de potência igual a 125W e comprimento de onda máximo de 365nm no interior do

reator, a qual foi acesa 10 minutos antes do início do processo de degradação. O sistema foi inserido em um recipiente de vidro com capacidade de 2 litros, contendo 1 litro da solução de ambos os fármacos (ABZ e ABZSO) na concentração de $900 \mu\text{g L}^{-1}$ (preparadas a partir da solução estoque 900 mgL^{-1}) em pH ajustado a 8,5 com o auxílio de soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e/ou ácido clorídrico (HCl), ambos na concentração de 1 mol L^{-1} . Manteve-se a solução sob agitação com auxílio do agitador magnético (600 rpm) e sob aeração constante ($60 \text{ cm}^3 \text{ mL}^{-1}$). Para que a solução não se aquecesse, conectou-se um fluxo de água contínuo de vazão igual $0,5 \text{ L min}^{-1}$ ao reator. O ensaio foi realizado durante uma hora (Figura 8).

Adicionou-se as soluções massas TiO_2 em diferentes concentrações 1; 10; 100; 500 e 1000 mg L^{-1} , a fim de otimizá-la.

Foram retiradas alíquotas da solução a cada 15 minutos de reação, durante o período de uma hora. Todas as alíquotas foram filtradas, utilizando filtro de membrana de mistura de ésteres de $0,45 \mu\text{m}$, e transferidas para *vials*, para posterior análise por CLAE.

Figura 8: Sistema empregado no processo de degradação com radiação UV artificial



Fonte: próprio autor.

4.11.2 Avaliação da remoção do ABZ por fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO₂/O₂ em luz UV artificial

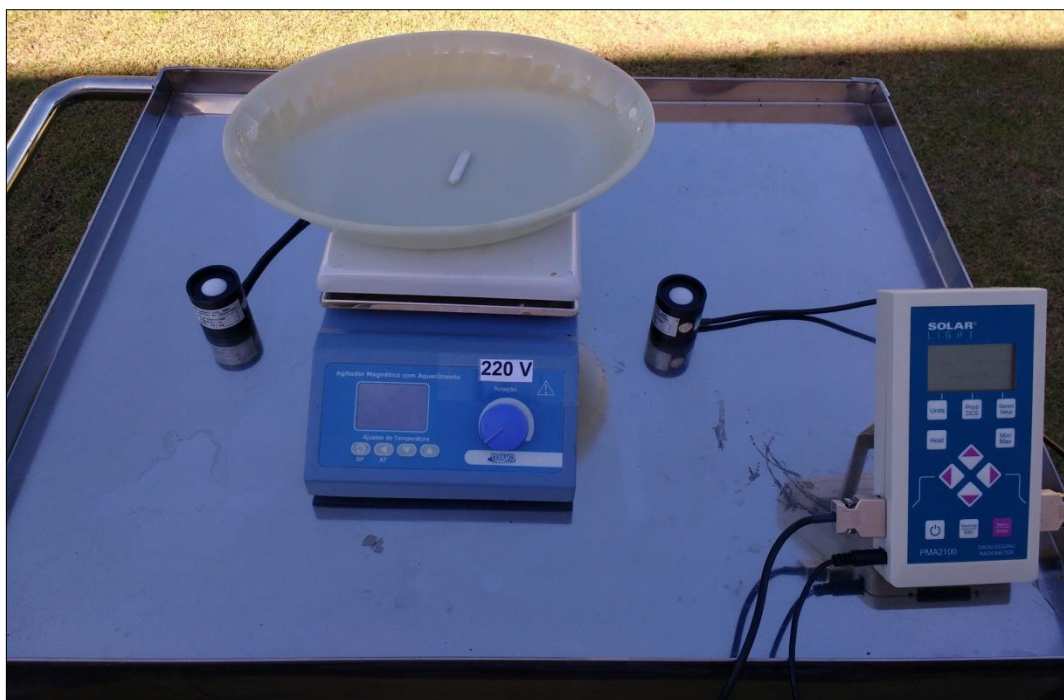
Para os ensaios de fotodegradação empregando radiação UV artificial foi preparada 1 litro de uma solução contendo apenas o ABZ na concentração inicial de 900 µg L⁻¹ (preparadas a partir da solução estoque 900 mg L⁻¹) em pH ajustado a 8,5 com o auxílio de soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e/ou ácido clorídrico (HCl), ambos na concentração de 1 mol L⁻¹. Empregou-se a massa otimizada do semicondutor (10,0 mg L⁻¹ TiO₂) e o processo descrito em 4.11.1 foi repetido.

4.11.3 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO por fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO₂ sob luz UV solar

Para o estudo da fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO₂/O₂ sob luz UV solar foi montado o experimento à latitude de 22° 24' 45" e a longitude 45° 26' 58" a 850 metros acima do nível do mar, no campus da Universidade Federal de Itajubá, MG, em um período entre 11 horas a 14 horas, aferindo a radiação acumulada, com o auxílio de um radiômetro.

Foi preparada 1 litro de uma solução contendo ambos os fármacos (ABZ e ABZSO) na concentração de 900 µg L⁻¹ (preparadas a partir da solução estoque 900 mg L⁻¹) em pH ajustado a 8,5 com o auxílio de soluções de hidróxido de sódio (NaOH) e/ou ácido clorídrico (HCl), ambos na concentração de 1 mol L⁻¹. As soluções foram colocadas em recipientes de vidro com diâmetros similares, em um mesmo período de tempo (Figura 9) mantido sob agitação (600 rpm).

Figura 9: Esquema montado para a realização do processo de fotocatalise heterogênea empregando radiação solar



Fonte: próprio autor.

Foram retiradas alíquotas da solução a cada 15 minutos de reação, durante o período de uma hora. Todas as alíquotas foram filtradas utilizando filtro de membrana de mistura de ésteres de $0,45\mu\text{m}$ e transferidas para *vials*, para posterior análise em CLAE.

4.11.4 Experimentos controle

Foram realizados experimentos controle com os parâmetros estudados isoladamente: aeração, radiação UV (artificial e solar) e com o semicondutor TiO_2 .

4.12 Ensaio ecotoxicológicos com *Daphnia simillis* e microalga *Raphidocelis subcaptata*

Os ensaios ecotoxicológicos com microcrustáceo *Daphnia simillis* e com a microalga *R.subcaptata* foram conduzidos no Laboratório de Limnologia da Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) (Itajubá- MG). Tais estudos foram realizados a partir de protocolos estabelecidos pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Para manutenção dos organismos e realização de todos os testes ecotoxicológicos utilizou-se água de nascente (água de cultivo) proveniente da Comunidade Sol de Deus, do Município de Itajubá, MG.

4.12.1 Avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia simillis*

A avaliação da toxicidade aguda utilizando o microcrustáceo *Daphnia simillis* foi realizada de acordo com a Norma NBR 12713/2016. (BRASIL, 2016).

Foi mantido por um período de três semanas uma cultura de organismos adultos, fêmeas ovadas proveniente desta cultura foram retiradas incubadas e mantidas em cubas contendo um litro de água de nascente, alimentadas com 10 mL microalga *R. subcaptata* (10^5 cels mL⁻¹) e suplementos a base de peixes. A cultura de organismos foi incubada à 22°C, em fotoperíodo controlado (12 horas claro e 12 horas escuro) e mantidas em sistema estático. Neonatos provenientes desta cultura com idades de 6 a 24 h foram então utilizados para os testes de toxicidade.

As amostras utilizadas na exposição dos organismos foram obtidas pela realização do processo de fotocatalise heterogênea utilizando TiO₂/O₂/UV artificial com a massa otimizada do catalisador. Para este ensaio substituiu-se a água ultrapura utilizada nos processos de degradação por água de nascente. À solução foi adicionada 900 µg L⁻¹ de ambos os fármacos. A cada 15 minutos alíquotas de 50 mL eram retiradas filtradas, armazenadas e refrigeradas, para realização do teste de exposição da *D. simillis*. Foram utilizados béqueres de 50 mL contendo 10 mL da amostra adicionando 5 organismos a cada um; foram expostas quatro réplicas de cada tempo (0, 15, 30, 45 e 60 minutos); também foi reservado um controle contendo apenas água de nascente. Um controle reacional foi preparado nas mesmas condições do processo de degradação, porém sem adição dos fármacos, a fim de avaliar a toxicidade de todos os consumíveis durante o processo.

As amostras foram monitoradas no início do teste e após 48 h de exposição dos organismos aferindo parâmetros físicos e químicos (condutividade, oxigênio dissolvido, pH e temperatura). Após a exposição, realizou-se a contagem dos organismos imobilizados em 24 h e 48 h de exposição.

4.12.2 Avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia simillis* para determinação da CE₅₀ para o ABZ e para o ABZSO

Foram realizados testes de exposição aguda dos organismos *Daphnia simillis* como descrito em 5.12.1, porém empregando soluções preparadas com os fármacos individualmente. Para o ABZ foi utilizada concentrações de 0,009; 0,09; 0,3; 0,6 e 0,9 mg L⁻¹. Preparadas a partir de soluções estoque do ABZ 900 mg L⁻¹. Os resultados foram determinados pelo Software Jspear.

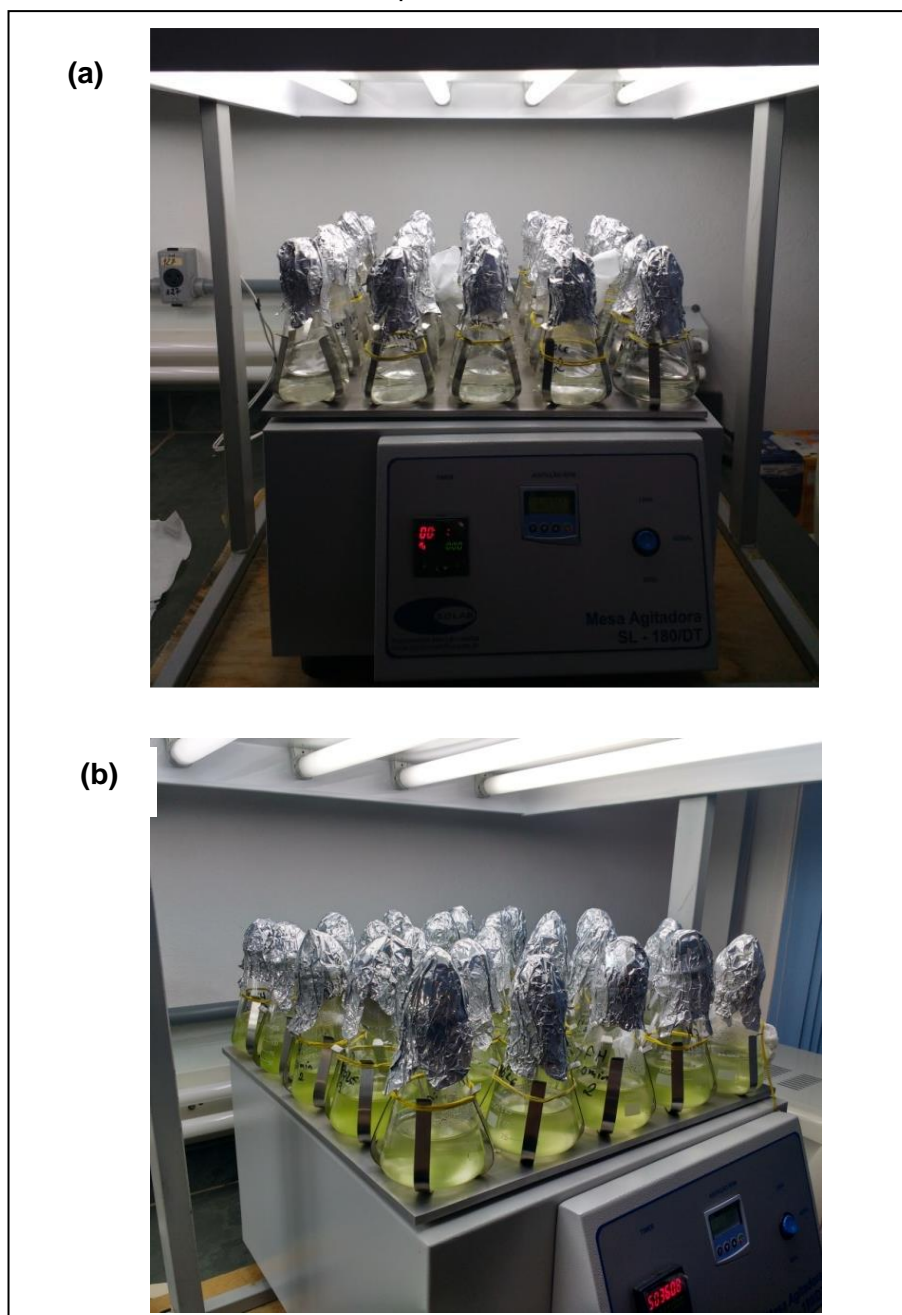
4.12.3 Toxicidade crônica com *Raphidocelis subcapitata*

A avaliação da toxicidade crônica com a microalga *R.subcapitata* foi realizado de acordo a norma NBR 12648/2011. (BRASIL, 2011)

Foi preparada uma pré-cultura de microalga *R.subcapitata*, mantida em condições conhecidas de temperatura, luminosidade e aeração constante, permanecendo em crescimento exponencial durante sete dias antes dos testes.

Para a realização dos testes todosos materiais utilizados foram devidamenteautoclavados a 120°C, durante um período de 15 minutos. Assim como o meio de cultura L.C. Oligo utilizado para o crescimento algáceo também foi autoclavados nas mesmas condições. O meio de cultura L.C. Oligo foi preparado segundo a normativa NBR 12648/2011(BRASIL, 2011), e segue descrito na Tabela 2. A Figura 10 representa o esquema montado para a realização dos testes.

Figura 10: Esquema empregado no ensaio crônico com *R.subcapitata*(a) início (b) final do experimento



Fonte: próprio autor.

Tabela 2: Soluções para preparo do meio de cultura L.C. Oligo

Solução	Reagente	Quantidade mg	Preparo
1	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	4 000	Dissolver e completar
2	KNO ₃	10 000	para 100 mL com água
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	3 000	de nascente
4	K ₂ HPO ₄	4 000	
5	CuSO ₄ .5H ₂ O	30	Dissolver e completar
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	60	para 1 000 mL com água
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	60	de nascente
	CoCl ₂ .6H ₂ O	60	
	Mn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	60	
	C ₆ H ₈ O ₂ .H ₂ O	60	
	H ₃ BO ₃	60	
6	C ₆ H ₅ FeO ₇ .5H ₂ O	1625	Dissolver e completar
	FeCl ₃ .6H ₂ O	625	para 1 000 mL água de
	FeSO ₄ .7H ₂ O	625	nascente
7	NaHCO ₃	15 000	Dissolver e completar
			para 1 000 mL água de
			nascente

Volume das soluções para preparo de 1 L do meio de cultura L.C. Oligo

Solução	1	2	3	4	5	6	7
Volume (mL)	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5	1,0

Fonte: (BRASIL, 2011)

Para obtenção do inóculo algal foi centrifugada a pré-cultura e realizada a contagem (após diluição 1:10) na câmara de câmara de Neubauer, realizada em microscópio óptico, para que o volume algáceo a ser inoculado nas amostras testes fosse na ordem de 10⁴ células mL⁻¹ e 10⁵ células mL⁻¹.

Após se realizar a contagem calculou-se um volume de 0,214 mL a ser inoculado na solução teste de 100 mL de volume final, volume este preparado com 94 mL de meio L.C. Oligo e 6,0 mL de amostra teste obtida do processo de fotocatalise heterogênea em água de nascente. A inoculação, assim como toda montagem do teste, foi realizada em na câmara de fluxo laminar para evitar

contaminações. As soluções testes foram preparadas em Erlenmeyer de 250 mL, sendo realizada a exposição da cultura de algas a cinco amostras (0, 15,30,45 e 60 minutos) um controle em água de cultivo e mais cinco amostras de controle reacional onde não foram adicionados no processo da fotocatalise heterogênea os fármacos; todas as amostras foram realizadas em triplicatas.

Os recipientes permaneceram em uma mesa agitadora orbital por 72 h (Figura 11), à temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com iluminação contínua (lâmpada fluorescente) acima de 4 500 lux e velocidade de agitação entre 120 rpm. Os recipientes testes foram aleatorizados diariamente, a fim de diminuir possíveis interferências. Após 72 h foi adicionado Lugol a 5mL de amostra para que ocorresse a inibição do crescimento ou decaimento celular. Foi realizada a contagem das amostras na câmara de câmara de Neubauer em microscópio óptico. O crescimento algáceo médio A foi calculado pela (Eq. 12), sendo os resultados em porcentagem de inibição (%I).

$$\%I = \frac{Mc - Ma}{Mc} * 100 \quad (12)$$

Onde:

$\% I$ = porcentagem de inibição do crescimento algáceo.

Ma = média do número de células das soluções teste.

Mc = média do número de células do controle.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

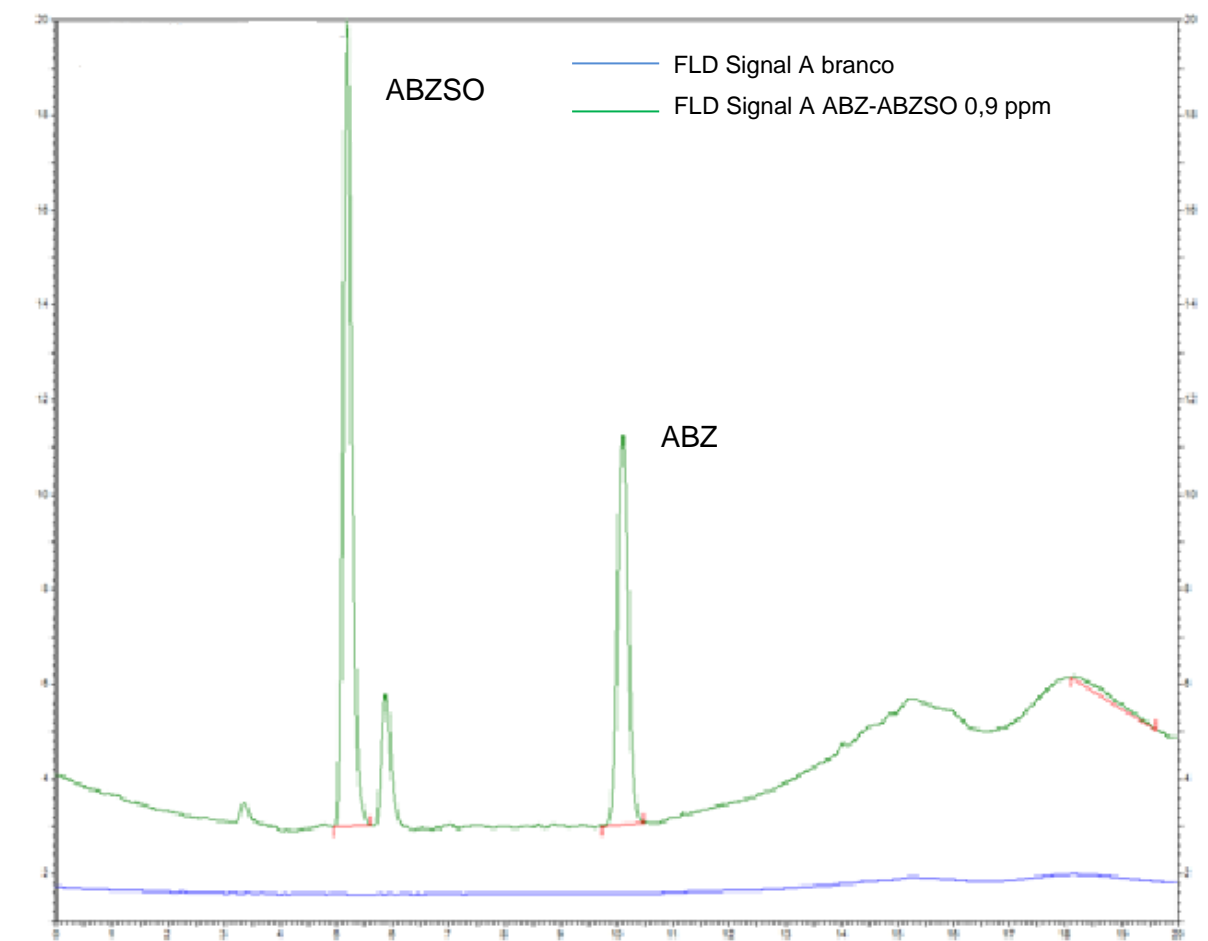
5.1 Validação da metodologia analítica

As validações devem ser realizadas a fim de garantir que o método analítico apresente confiabilidade para detecção e quantificação dos analitos nas matrizes em estudo.

5.1.1 Seletividade

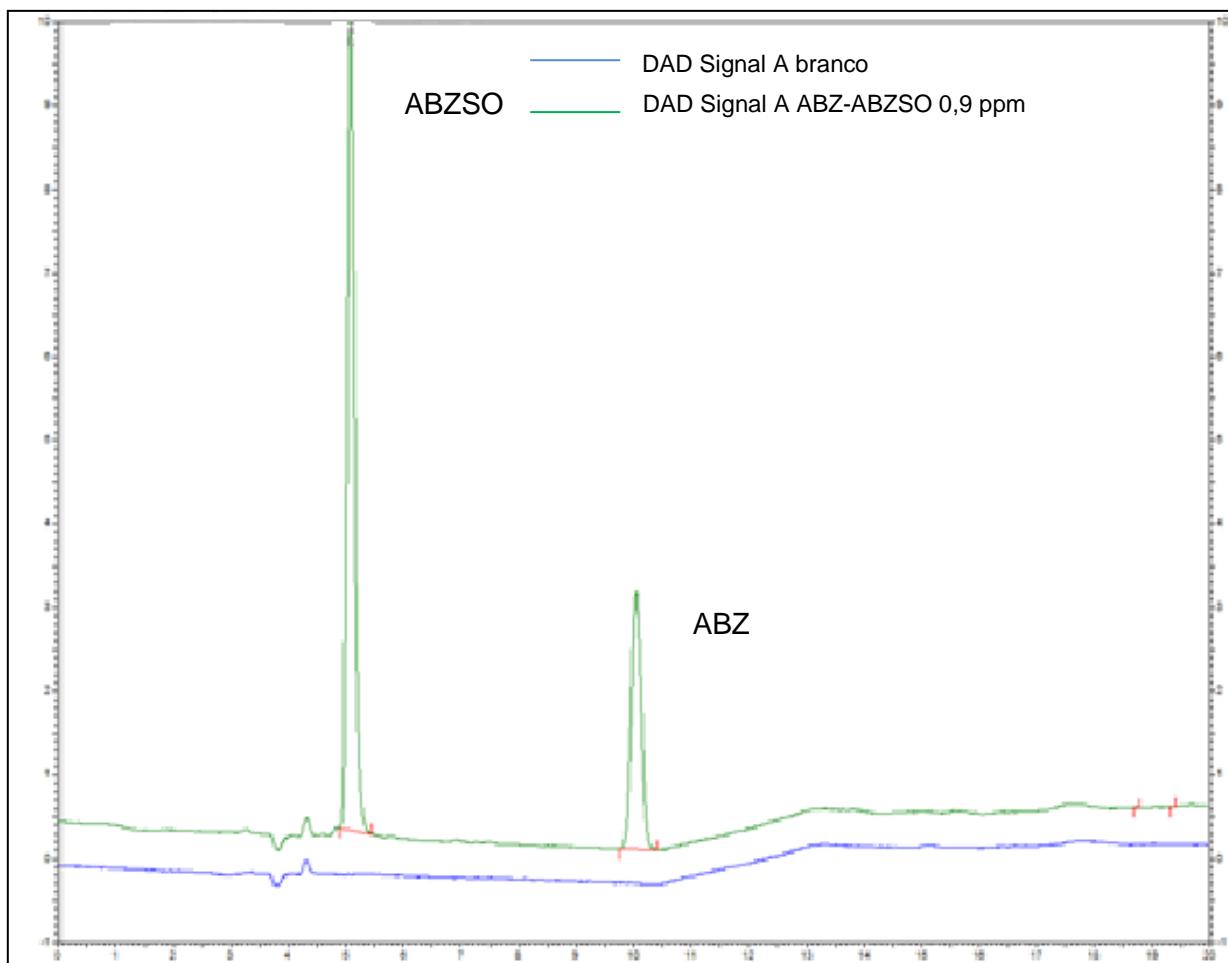
Os cromatogramas apresentados nas Figuras 11 e 12 representam as separações entre o ABZ e ABZSO no detector fluorescência (FLD) no comprimento de onda de $\lambda_{\text{excitação}} = 280 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 320 \text{ nm}$ e pelo detector ultravioleta (DAD) no comprimento de onda de $\lambda = 292 \text{ nm}$.

Figura 51: Cromatograma solução ABZ e ABZSO $900 \mu\text{g L}^{-1}$ sobreposto ao branco ACN: H_2O (50:50) pelo detector FLD $\lambda_{\text{emissão}} 280 \text{ nm}$ - $\lambda_{\text{exc}} 320 \text{ nm}$



Fonte: Próprio autor.

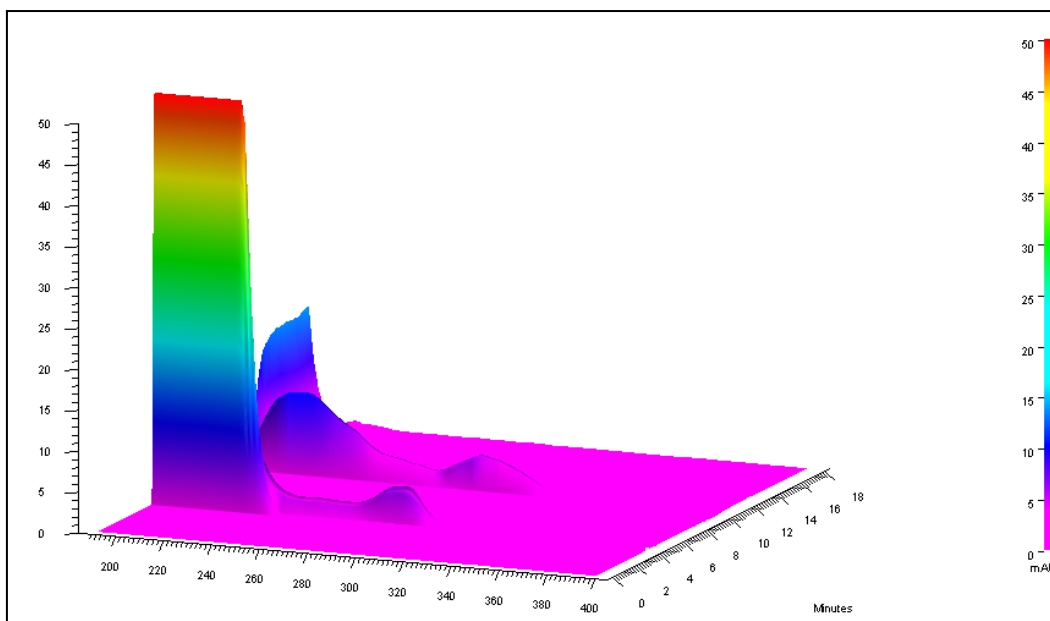
Figura 6: Cromatograma solução ABZ e ABZSO 900 $\mu\text{g L}^{-1}$ sobreposto ao branco ACN:H₂O (50:50) pelo detector DAD λ - 292 nm



Fonte: Próprio autor.

Pode-se observar que houve uma separação satisfatória entre os fármacos para ambos os detectores. Comparando os cromatogramas na presença e ausência (branco ACN: água (50:50 v:v) dos analitos, não observa-se eluição de outras substâncias próximo ao tempo de retenção dos mesmos. Assim o método se apresentou seletivo para a leitura do ABZ e ABZSO. Na Tabela 3 são apresentados os tempos de retenção de cada analito em estudo. A Figura 13 apresenta o espectro de absorção dos analitos nos comprimentos de $\lambda=292$ nm (DAD) e em $\lambda_{\text{excitação}}=280$ nm e $\lambda_{\text{emissão}}=320$ nm (FLD) em seus respectivos tempos de eluição.

Figura 13: Análise espectral da solução ABZ e ABZSO 900 µg L⁻¹ seus respectivos tempos de eluição



Fonte: Próprio autor.

Pode-se observar que os analitos possuem absorção em uma faixa de comprimento de onda entre 280 a 320 nm. O ABZ possui eluição em um tempo de retenção de aproximadamente 10 minutos já o ABZSO possui eluição entre 5 a 6 minutos (Tabela 3).

Tabela 3: Tempo de retenção do ABZ e ABZSO nos detectores DAD e FLD

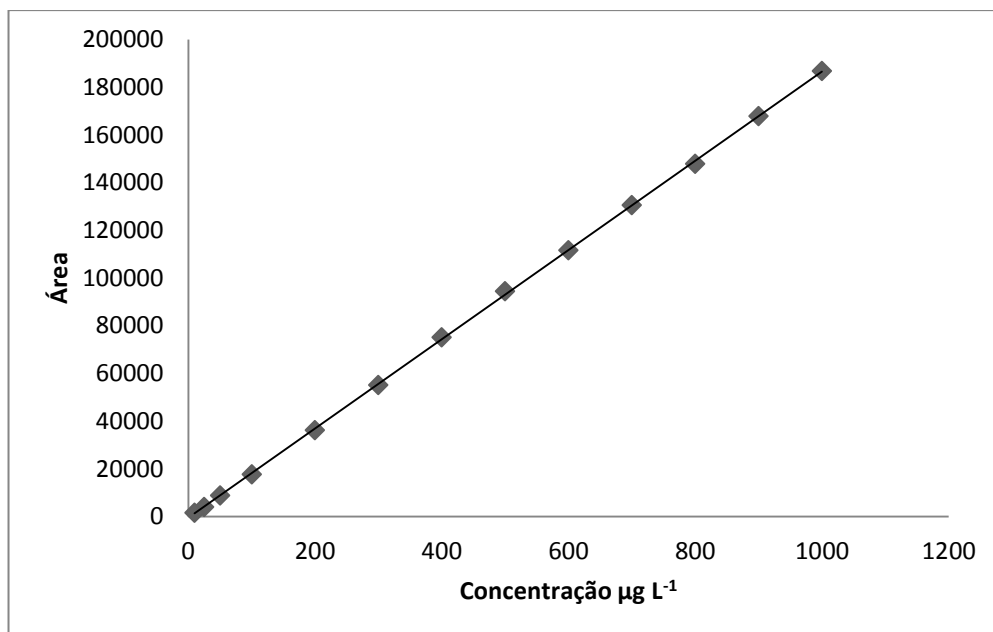
Concentração (µg L ⁻¹)	Tempo de retenção (min.)	
	DAD (292 nm)	FLD (280- 320 nm)
ABZ	10,027	10,109
ABZSO	5,060	5,184

Fonte: Próprio autor.

5.1.2 Linearidade

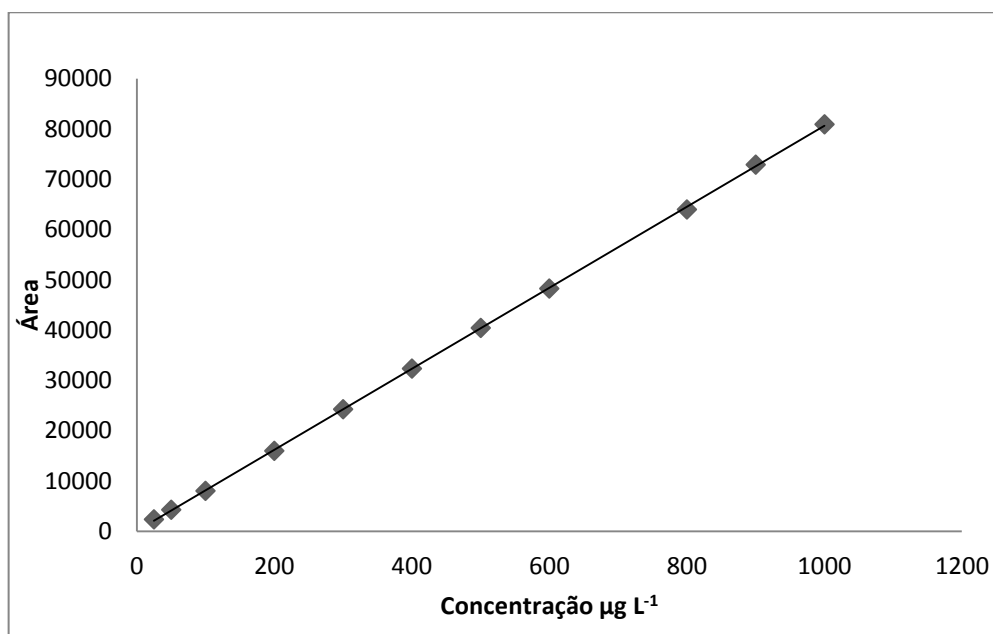
O método analítico se apresentou linear para os detectores DAD e FLD, como se pode observar pela regressão linear das curvas analíticas demonstradas nas Figuras 14,15,16 e 17.

Figura 14: Curva analítica do ABZ pelo detector DAD em λ -292 nm-Faixa linear
5 - 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$



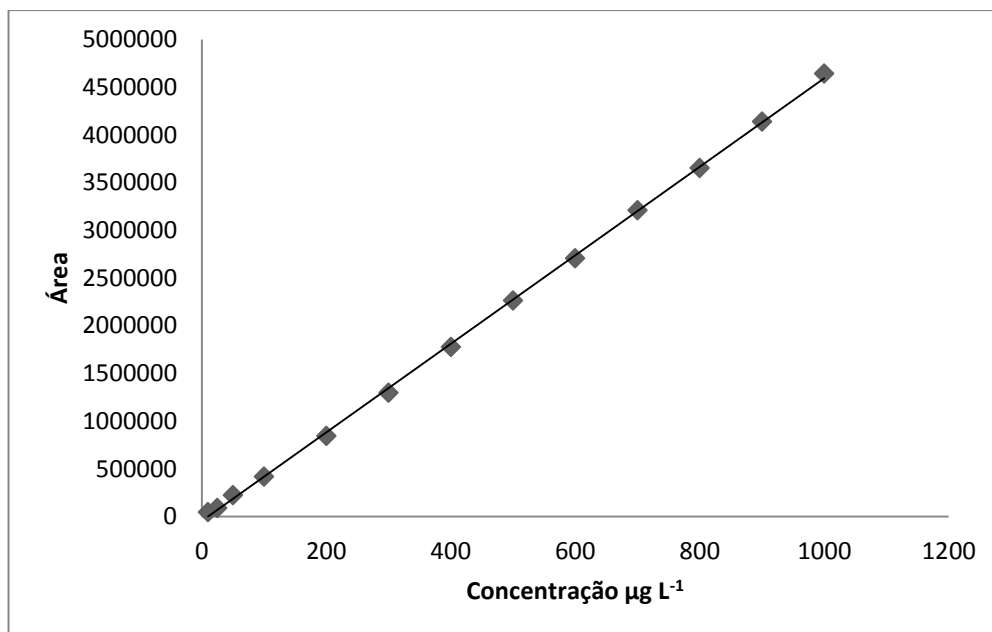
Fonte: próprio autor.

Figura 75: Curva analítica do ABZSO pelo detector DAD em λ -292 nm -Faixa linear
5 - 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$



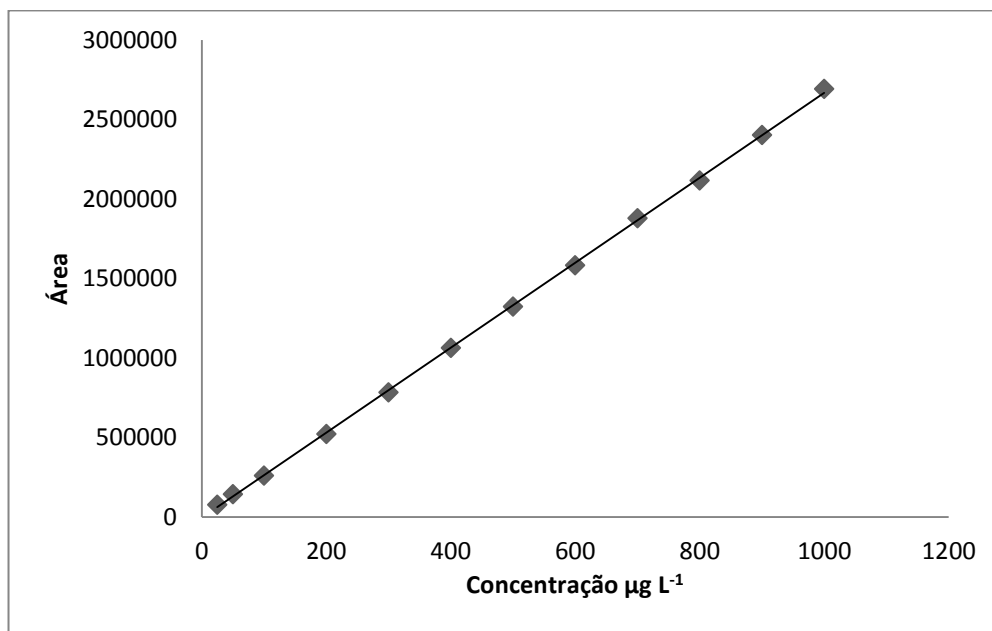
Fonte: próprio autor.

Figura 16: Curva analítica ABZ pelo detector FLD em λ -290-320 nm -Faixa linear
5 - 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$



Fonte: próprio autor.

Figura 17: Curva analítica ABZSO pelo detector FLD em λ -290-320 nm -Faixa linear
5 - 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$



Fonte: próprio autor.

A Tabela 4 apresenta as equações da reta para cada fármaco em estudo e o coeficiente de correlação linear (R^2) que se apresentou para ambos os fármacos superior a 0,999, podendo considerar uma forte correlação entre os dados (BRITO et al., 2003). Assim ambos os detectores apresentaram linearidade para o método empregado.

Tabela 4: Equação da reta para o ABZ e ABZSO e seus respectivos coeficientes de correlação linear (R^2)

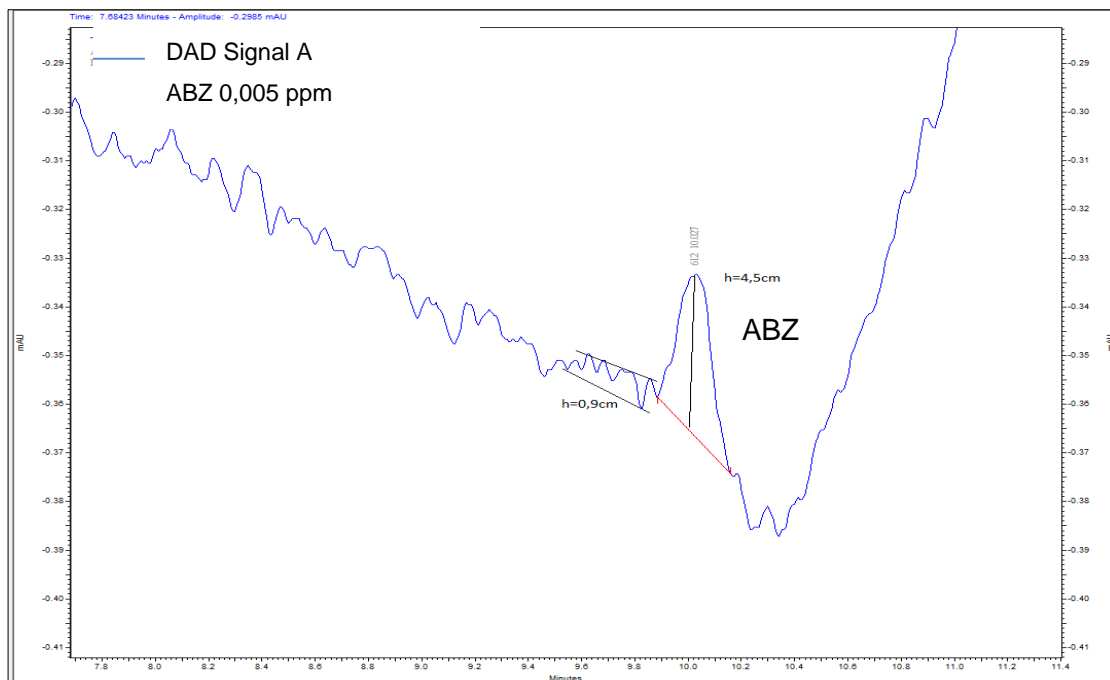
Fármacos	Detectores	Equação da reta	R^2
ABZ	DAD	$y=80,55x + 87,02$	0,999
	FLD	$y = 2674x - 6301$	0,999
ABZSO	DAD	$y=187,02x - 551,8$	0,999
	FLD	$y = 4640,x - 45009$	0,999

Fonte: próprio autor.

5.1.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

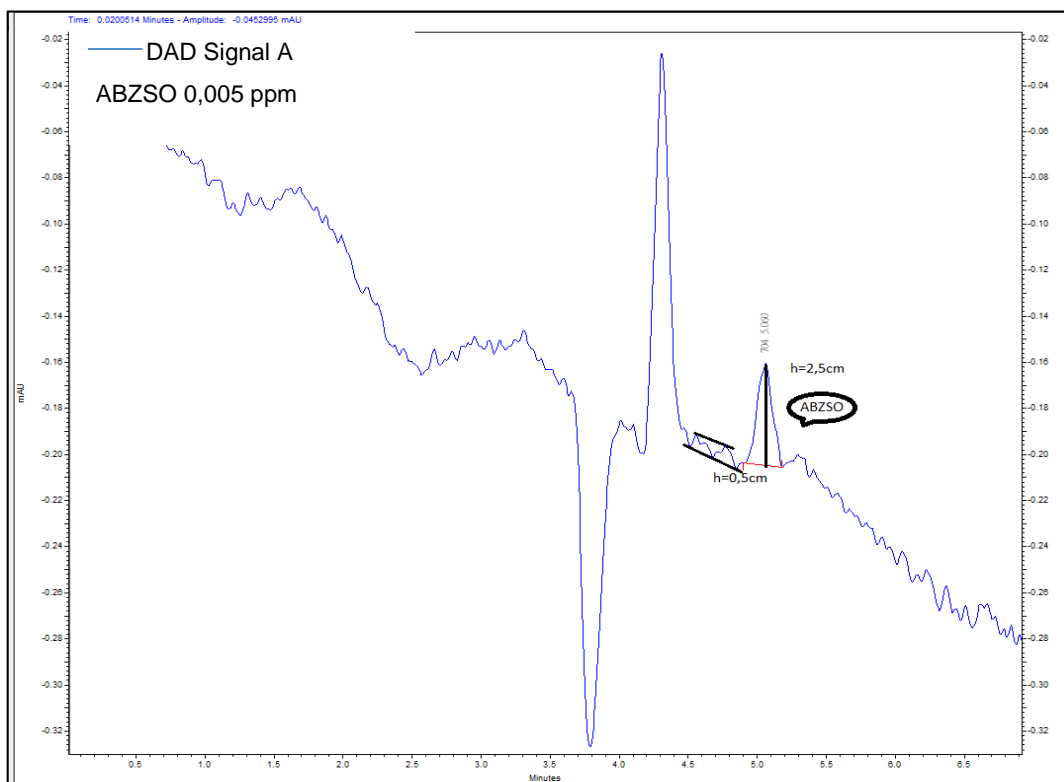
As Figuras 18, 19, 20, 21, 22 e 23 apresentam os cromatogramas resultantes da leitura de baixas concentrações dos analitos. O limite de detecção e quantificação do método foi obtido através da relação sinal/ruído, de acordo com as razões estabelecidas em **5.5**.

Figura 18: Cromatograma referente ao ABZ na concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LD pelo detector DAD-292 nm



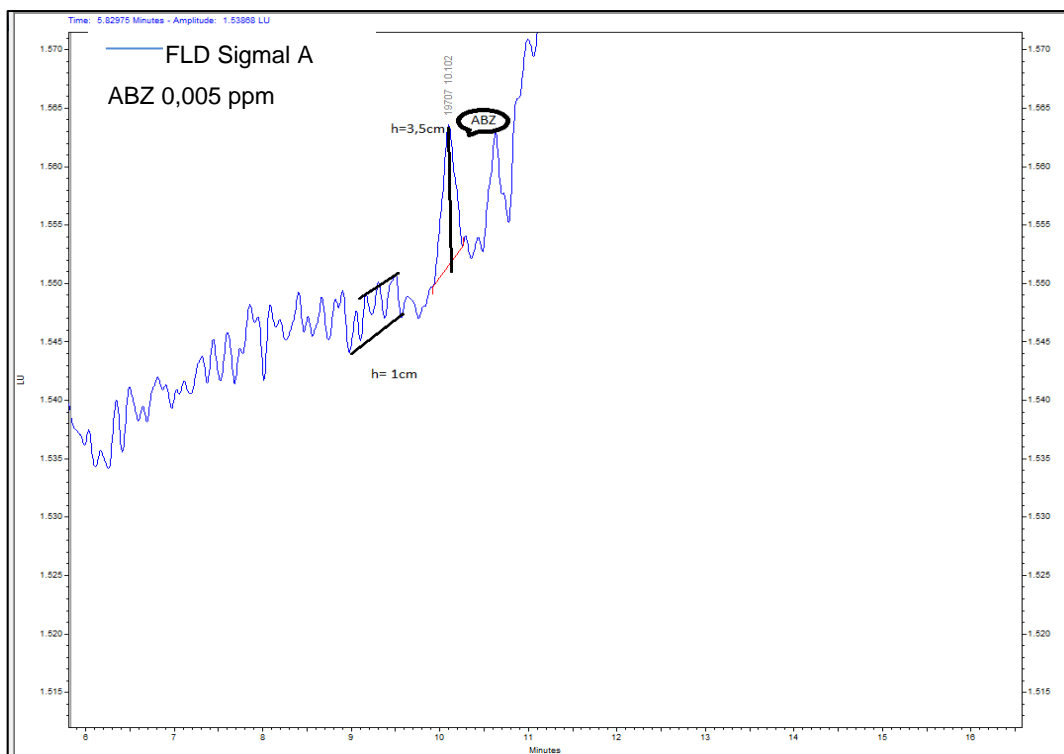
Fonte: próprio autor.

Figura 8: Cromatograma referente ao ABZSO na concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LD pelo detector DAD-292 nm



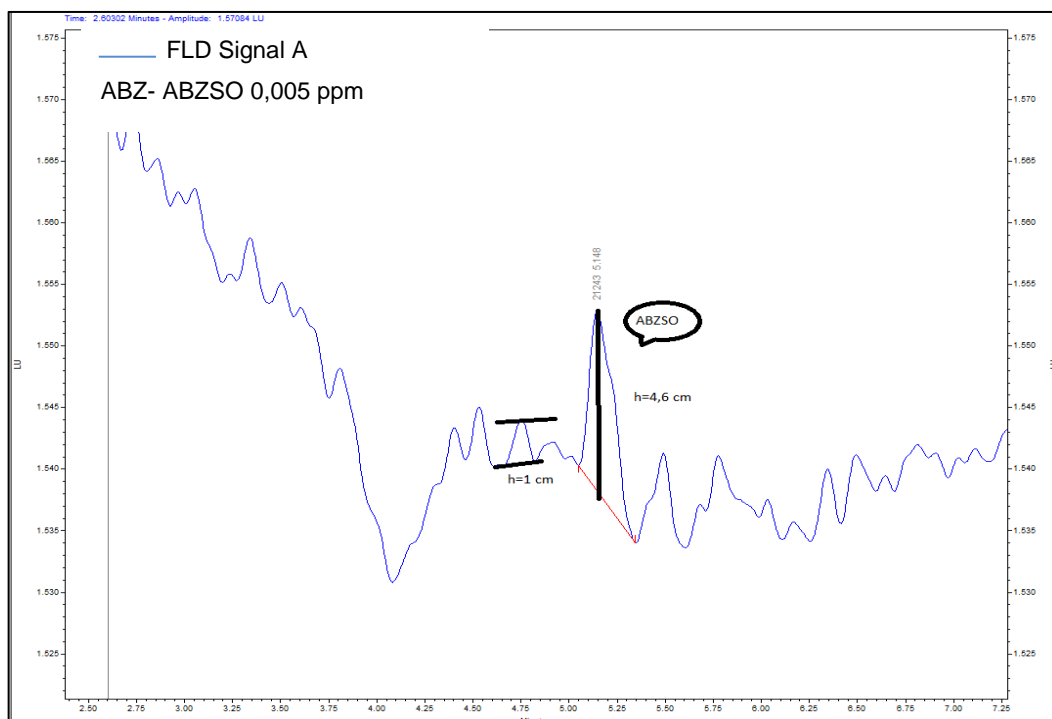
Fonte: próprio autor.

Figura 20: Cromatograma referente ao ABZ na concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LD pelo detector FLD-290-320nm



Fonte: próprio autor.

Figura 21: Cromatograma referente ao ABZSO na concentração de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LD pelo detector FLD-290-320nm



Fonte: próprio autor.

Figura 22: Cromatograma referente ao ABZe ABZSO na concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LQ pelo detector DAD-292 nm

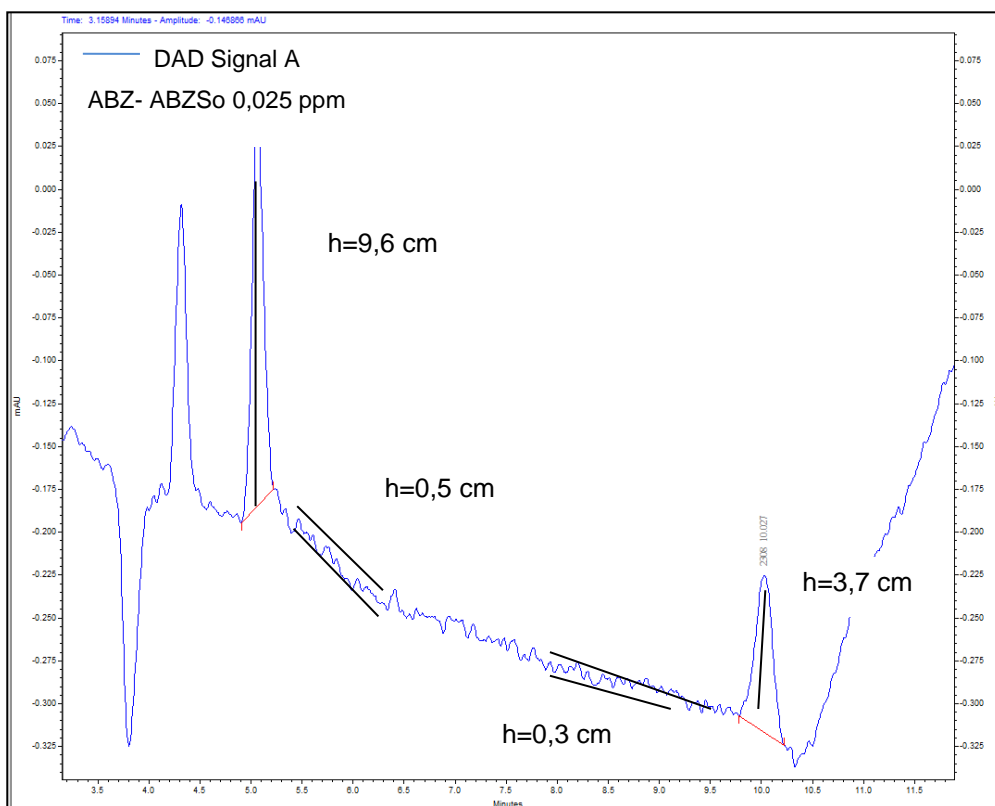
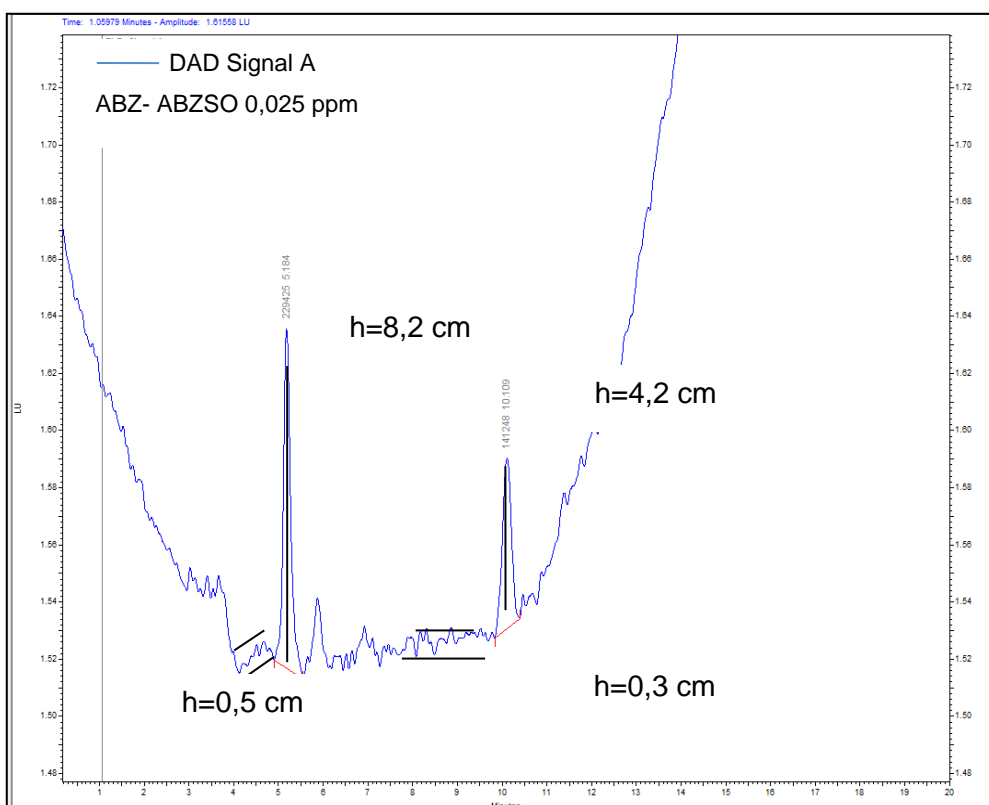


Figura 23: Cromatograma referente ao ABZ e ABZSO na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ para aferição do LQ pelo detector FLD-292 nm



A Tabela 5 resume os limites de detecção e quantificação dos analitos apresentados pelos cromatogramas apresentados acima.

Tabela 5: Obtenção do LD e LQ pelo método sinal/ ruído

Método sinal/ Ruído		Limite de detecção	Limite de quantificação
		$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
ABZ	DAD-292 nm	5,0	25,0
	FLD-280 nm /320 nm	5,0	50,0
ABZSO	DAD-292 nm	5,0	25,0
	FLD-280 nm /320 nm	5,0	50,0

Fonte: próprio autor.

Também foi calculado os LD e LQ pelos parâmetros da curva analítica como descrito nas Eq. 9 e 10. A Tabela 6 apresenta os valores calculados para os fármacos.

Tabela 6: Obtenção do Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ) pelos parâmetros da curva analítica

Parâmetros da curva analítica		Limite de detecção	Limite de quantificação
		$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
ABZ	DAD-292 nm	38,7	117,0
	FLD-280 nm /320 nm	1,6	5,56
ABZSO	DAD-292 nm	1,83	4,85
	FLD-280 nm /320 nm	4,19	12,7

Fonte: próprio autor.

Os LD e LQ obtidos pelos parâmetros da curva analítica apresentam grandes variações na leitura de soluções dos analitos a baixas concentrações, utilizando por tanto o método sinal/ ruído para detecção e quantificação dos analitos. Pode-se observar que o detector DAD apresentou menores LQ e LD para ABZSO.

5.1.4 Exatidão

As recuperações foram determinadas, avaliando-se o percentual recuperado após a fortificação e seu respectivo coeficiente de variação (CV%)(Tabela 7).

Tabela 7: Recuperação e coeficiente de variação obtida na avaliação da exatidão do método analítico

	Concentração adicionada		Concentração média determinada	Recuperação média	Coeficiente de variação
	(µg L ⁻¹)		(µg L ⁻¹)	(%)	CV (%)
ABZ	300	DAD	274,00	91,34	2,48
		FLD	270,06	90,03	5,04
	500	DAD	448,59	93,17	7,82
		FLD	443,40	88,68	10,57
	700	DAD	647,51	87,98	4,13
		FLD	632,30	90,33	6,32
ABZSO	300	DAD	300,75	100,25	0,78
		FLD	306,64	102,22	2,60
	500	DAD	477,04	95,41	10,00
		FLD	474,05	94,81	10,51
	700	DAD	684,37	97,77	4,85
		FLD	678,70	96,96	5,12

Fonte: próprio autor.

Os dados apresentados na tabela mostram que o ABZ tem uma recuperação média para o detector DAD na ordem de 87,98 e 93,17% para o detector FLD a recuperação média dos analitos entre 88,68 e 90,33%. Para o ABZSO pode-se observar uma recuperação média para o detector DAD na ordem de 95,41 e 100,25% e para o detector FLD 94,81 e 102,22%. Para ambos os detectores os valores de recuperação estão dentro dos limites estabelecidos na literatura, que de acordo com Ribani et al. (2004) se encontra em uma faixa entre 40- 120% com um CV (%) inferior a 20% para análises de traços ou impurezas.

5.1.5 Precisão

Segundo Ribani et al. (2004), a avaliação da repetitividade e reprodutibilidade do método demonstram a concordância entre os resultados de uma amostra analisadas repetitivamente sob mesmas condições laboratoriais ou avaliação desta concordância sob condições diferentes pré-estabelecida. A Tabela 8

apresenta o resultado das análises de amostras para avaliação dos parâmetros de precisão do método.

Tabela 8: Avaliação dos parâmetros de precisão: repetitividade e precisão intermediária

Recuperação	ABZSO	ABZSO	ABZ	ABZ
Média (%)	FLD	DAD	FLD	DAD
Analista 1	90,93	95,74	85,73	103,00
Analista 2	98,95	97,54	90,52	93,72
CV(%) (Analista 1)	3,31	1,61	2,96	2,36
CV(%) (Analista 2)	4,57	2,50	4,27	1,64
F (calculado)	2,25	2,49	2,32	2,54
F 5%(tabelado)	3,18	3,18	3,18	3,18
T(calculado)	0,0249	0,11	0,0419	0,0204
T 5%(tabelado)	1,734	1,734	1,734	1,734

Fonte: próprio autor.

Os dados apresentaram um CV (%) para ambos analistas inferiores a 4,57, podendo considerar o método preciso, com um CV (%) menor que 20% como o recomendado na literatura (BRITO et al, 2003).

O método pode ser considerado preciso pelos valores de recuperação dos analistas ao serem relacionados estatisticamente pelo teste F, podendo inferir com 95% de confiança que não há diferença significativa entre as variâncias e não há diferença significativa entre as médias pelo cálculo do teste T, ambos os valores obtidos se apresentam inferiores quando comparados com seus respectivos valores tabelados.

5.1.6 Robustez

A Tabela 9 apresenta a recuperação média das análises das amostras de ABZ e ABZSO ($500 \mu\text{g L}^{-1}$) ao se realizar pequenas variações na ordem de $\pm 5\%$ no método analítico.

Tabela 9: Avaliação da recuperação média (%) frente a ± 5 % variações nas condições cromatográficas

Recuperação Média (%)	ABZSO-FLD	ABZSO-DAD	ABZ-FLD	ABZ-DAD
Temperatura da coluna (38°C)	107,99	102,32	89,46	83,62
Temperatura da coluna (42°C)	107,03	102,36	87,41	87,41
Volume inj. 9,5 μL	88,23	88,68	83,82	92,54
Volume inj. 10,5 μL	99,47	98,08	95,80	104,04
Fase móvel (47,5 mL-71,2 mL)	96,53	103,99	82,76	88,84
Fase móvel (52,5 mL-78,8 mL)	81,66	92,2	84,39	101,95

Fonte: próprio autor.

O método pode ser considerado robusto uma vez que para ambos os detectores os valores de recuperação média se encontram entre 81,66 a 107,99%, apresentando valores dentro dos estabelecidos na literatura (BRITO et al., 2003).

Optou-se por realizar os estudos subsequentes utilizando a leitura das amostras pelo detector DAD, uma vez que se apresentou mais sensível à detecção e quantificação dos fármacos pelos parâmetros avaliados.

5.2 Característica e propriedade físicas e químicas do solo em estudo

Para avaliação do comportamento dos fármacos no solo foram utilizadas amostras obtidas da sub-bacia hidrográfica do Ribeirão José Pereira, da cidade de Itajubá (Minas Gerais- MG). O solo da região foi caracterizado como Latossolo Vermelho-Amarelo de coloração úmida bruno muito escuro (7,5 YR 2,5/2). As amostras em estudos compreendem o Horizonte A do perfil do solo, caracterizado como argiloso (53,8% argila, 32,8% areia e 13,4% silte), possuindo um teor médio de matéria orgânica de 1,72% e pH 4,2. Na Tabela 10 estão apresentadas outras

determinações que foram realizadas pelo Laboratório da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Tabela 10: Propriedades físicas e químicas do horizonte A do Latossolo Vermelho-Amarelo

Propriedades	Unidade	Resultado
Teor de umidade		19,09
Matéria Orgânica (M.O.)		1,72
Argila	%	53,8
Areia		32,8
Silte		13,4
K		14,23
P		1,15
Na		-
Ca	mg dm ⁻³	0,22
Mg		0,10
Al		2,01
Capacidade de troca catiônica	cmolc dm ⁻³	2,37

Fonte: Adaptado dos dados de análises da UFLA.

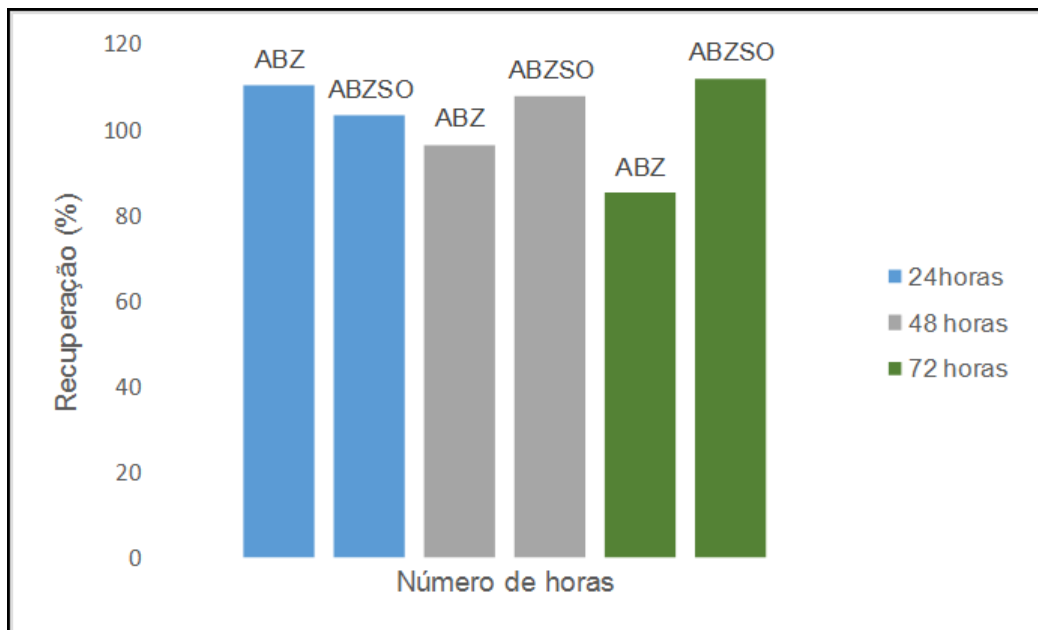
5.2.1 Estudos preliminares para avaliação do comportamento dos fármacos no solo

Os estudos foram realizados em conformidade com o determinado pelo Guia 106 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico- OECD (OECD, 2000), realizando ensaios preliminares de estabilidade dos fármacos, otimização da razão solo solução e avaliação da adsorção e dessorção dos fármacos no solo.

5.2.2 Avaliação da estabilidade do ABZ e ABZSO em solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹

O estudo controle de estabilidade é preconizado pelo Guia da OECD (OECD, 2000), assim como os ensaios preliminares para avaliação da estabilidade dos fármacos durante o período de estudo. O estudo da estabilidade dos fármacos na solução extratora de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ foi avaliada no período de 72 h e analisadas por CLAE-DAD e os resultados são apresentados na Figura 24. Os tubos permaneceram durante o ensaio em agitação (120 rpm) a 25°C e protegidos da luz, para evitar processo de fotólise.

Figura 24: Estabilidade do ABZ e ABZSO na concentração de 900 $\mu\text{g L}^{-1}$ tubos de Falcon e na solução extratora CaCl_2 0,01 mol L^{-1} detectadas pelo DAD-292 nm



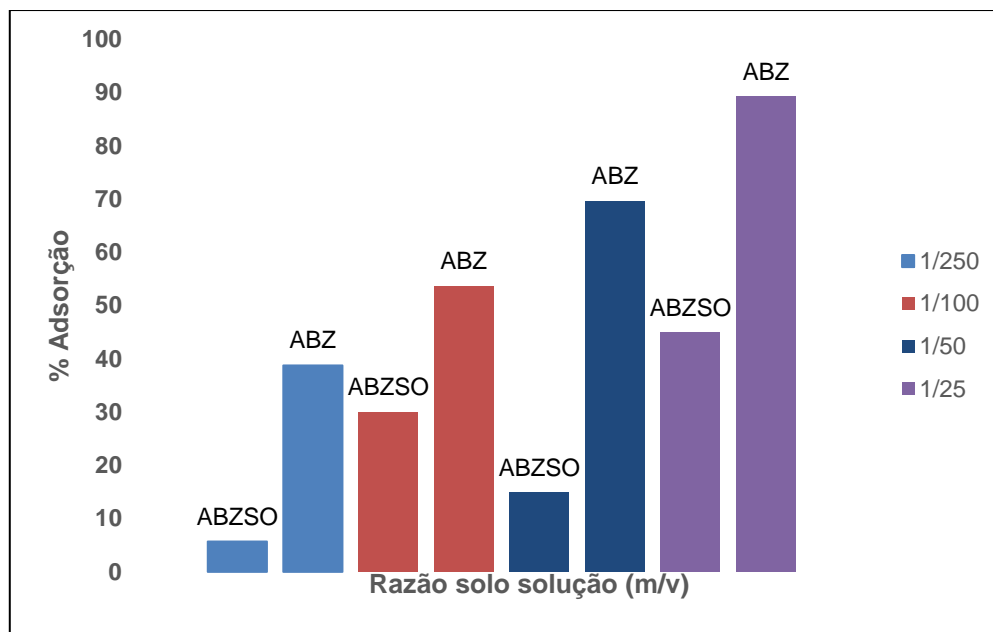
Fonte: próprio autor

Observou-se que o ABZSO não apresentou variação significativa na concentração durante o período analisado com uma recuperação média de 100 a 112%, para o ABZ a faixa de recuperação média foi um pouco menor em relação ao ABZSO estando entre 85 a 110%. Porém as recuperações se encontram dentro do estabelecido na literatura para análises de traços (RIBANI et al., 2004). Assim, não observando adsorção dos fármacos nas paredes do recipiente e que não sofrem degradação durante o período de estudo, os tubos Falcon foram escolhidos para continuidade do trabalho.

5.2.3 Otimização da razão solo/solução no estudo de adsorção

O estudo desenvolvido para determinar a melhor razão entre solo/solução ao variar a massa de solo está apresentado na Figura 25 para os fármacos analisados no horizonte A do solo em estudo, podendo ser observada redução na sorção dos analitos à medida que se empregou menores massas de solo.

Figura 25: Adsorção média do ABZ e ABZSO no horizonte A em função da variação da razão solo/solução (m/v).



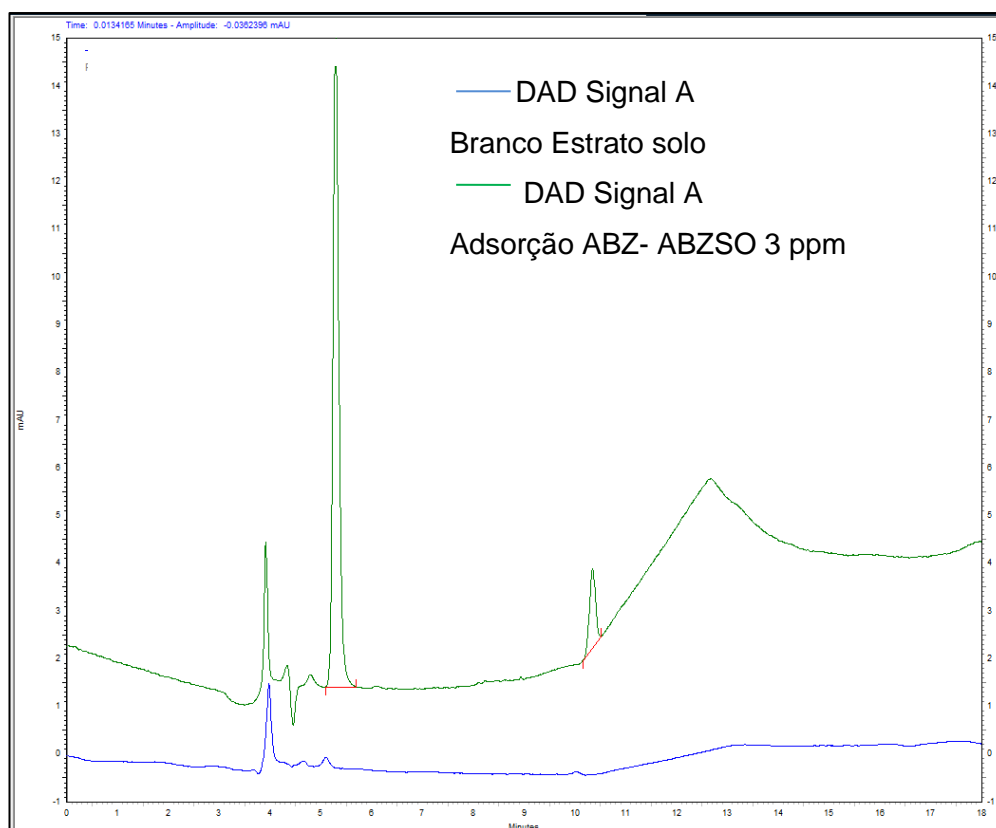
Fonte: próprio autor.

A razão 1:25 apresentou maior adsorção ao solo para ambos os fármacos, sendo de aproximadamente 90% e 40% para o ABZ e ABZSO, respectivamente. Essa razão foi escolhida para os ensaios seguintes uma vez que, como determinado pela OECD 106 (OECD, 2000), a adsorção deve ser de no mínimo maior que 20% e preferencialmente maior que 50%, estando às taxas de adsorção dentro do estabelecido.

5.2.4 Determinação do ABZ e ABZSO no extrato do solo e avaliação do efeito matriz na quantificação dos fármacos

A Figura 26 apresenta a sobreposição do cromatograma obtido pela análise do ABZ e ABZSO, detectados e quantificados por CLAE-DAD no comprimento de onda de 292 nm e o cromatograma obtido pela análise de um branco (CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ e solo) isento dos analitos.

Figura 26: Cromatograma dos extratos brancos do solo (CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e solo) e o obtido da solução de ABZ e ABZSO (3 mg L^{-1}) no solo detectados por DAD- λ -292 nm



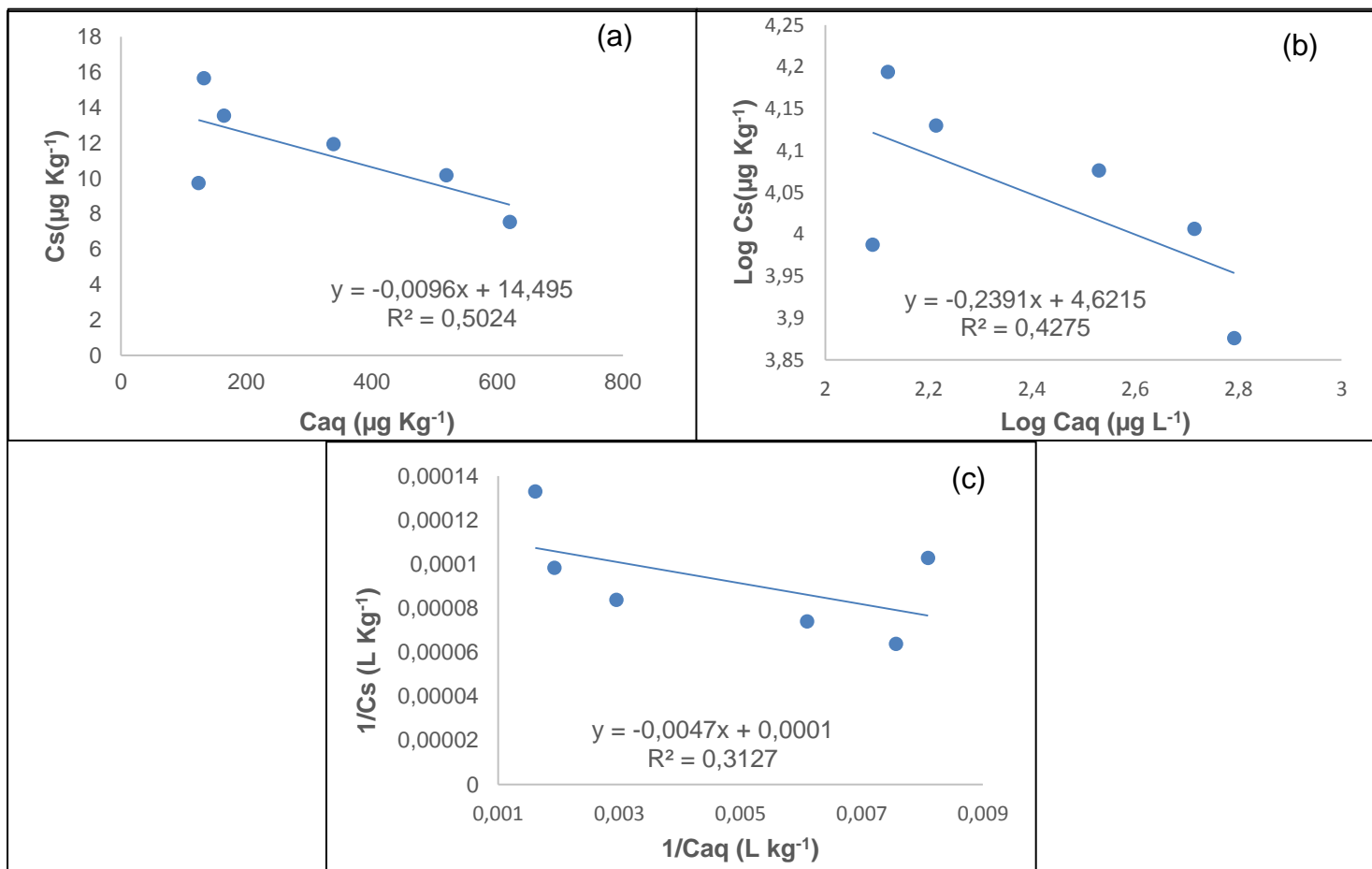
Fonte: Próprio autor

Pode-se observar que a leitura e quantificação dos analitos não ficaram comprometidas pelo efeito matriz da amostra (solo), como observado mesmo com a presença de um pico próximo a 4 minutos como a eluição dos analitos ocorrem em tempos de retenção diferentes (5 minutos para o ABZ e 10 minutos para ABZSO), não se observou qualquer tipo de interferência.

5.2.5 Estudos das isotermas de sorção e dessorção do ABZ e ABZSO para o horizonte A

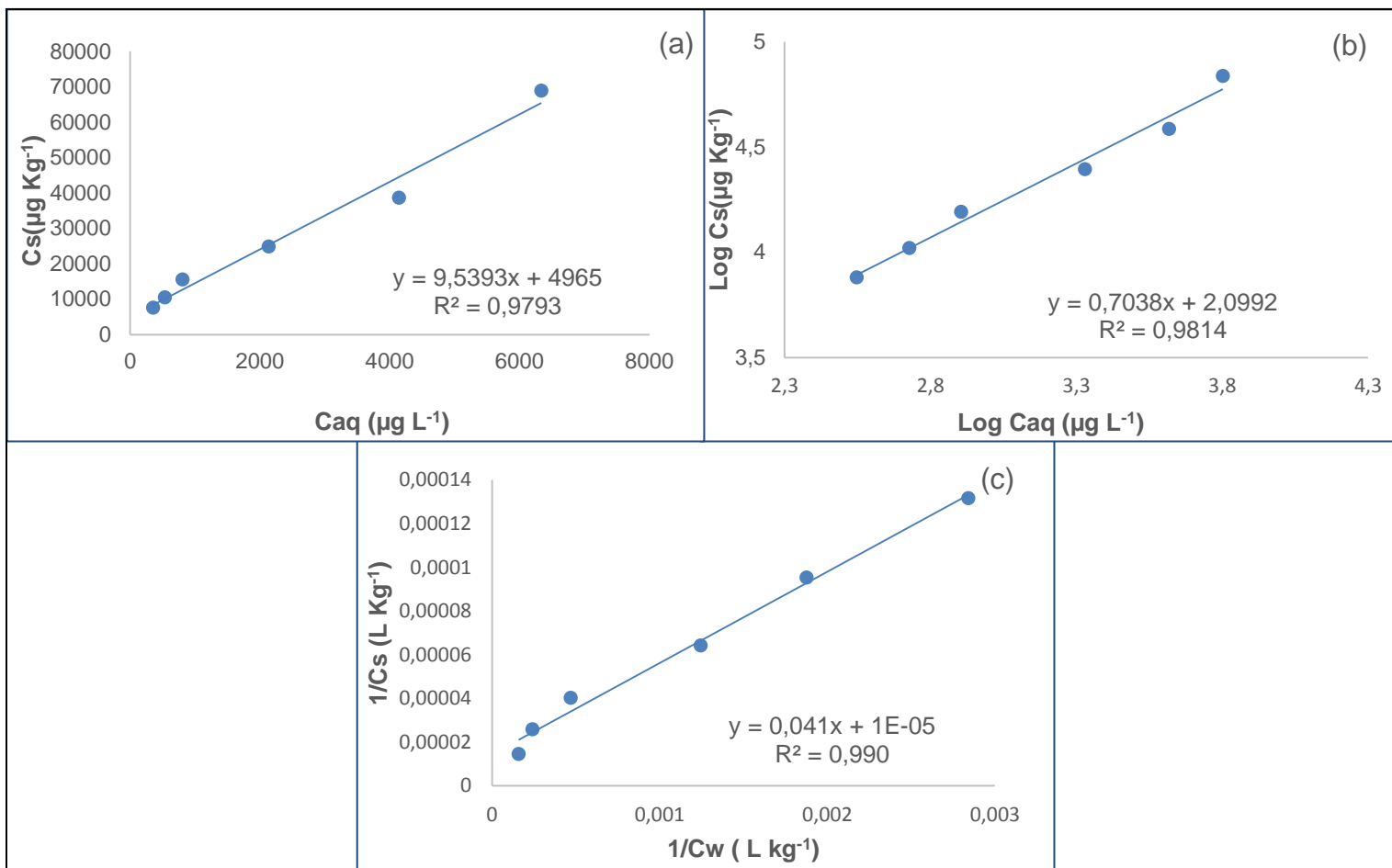
As isotermas de adsorção e dessorção dos fármacos ABZ e ABZSO foram estudadas em duas variações de pH, sem ajuste (4,2- 4,5) e pH 3, devido a probabilidade de se encontrar solos com valores de pH semelhantes aos pH escolhidos para o estudo das isotermas. As isotermas de adsorção foram ajustadas segundo os modelos lineares, de Freundlich e Langmuir, representados nas Figuras 27, para o ABZ e na Figura 28, para o ABZSO, respectivamente.

Figura 27: Isotermas de adsorção do ABZ em pH sem ajuste (SA) ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir



Fonte: Próprio autor.

Figura 28: Isotermas de adsorção do ABZSO em pH sem ajuste ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir



Fonte: Próprio autor.

Os resultados obtidos com a construção das isotermas se relacionam com as formas ionizáveis de cada fármaco que variam segundo o pH do meio, e as interações que estes podem ter com o solo. As sorções das moléculas ao solo ocorrem por mecanismos fracos ou não específicos como força de London- Van Waals, dipolo- dipolo e transferência de cargas, mas são fracas quando comparadas as interações específicas onde se tem a presença de ligações covalentes, iônica e ligações de hidrogênio (OLIVEIRA Jr e REGITANO, 2009).

Para as isotermas construídas em pH sem ajuste (entre 4,0 a 4,5), o ABZ se encontra 50% na forma neutra e 50% na forma catiônica e o ABZSO se apresenta 100% em sua forma neutra neste pH (ver Figura 4), estima-se que a molécula de ABZ possa ter mais interação com as cargas do solo em relação ao seu metabólito (ABZSO). Nestas condições as isotermas de adsorção para o ABZ não foram bem ajustadas ao modelo matemático proposto em estudo, uma vez que

apresentou um coeficiente de correlação (R^2) baixo, podendo ser resultado de sua baixa solubilidade nas condições em estudo. No entanto, para o ABZSO pode-se destacar um bom ajuste aos modelos com um R^2 superior a 0,9. A Tabela 11, apresenta os dados obtidos a partir das equações das retas. Nesta são apresentados os valores de K_f (eq.5) e a relação $1/n$, obtidos a partir das equações de isotermas de adsorção de Freundlich e as constantes obtidas das equações de Langmuir- K_L e K_d a partir do modelo linear.

Tabela 11: Coeficientes lineares obtidos pelas equações da reta (R^2) e constantes de ajuste ao modelo de

Freundlich (K_f - $\text{mg}^{1-1/n}\text{L}^{1/n}\text{kg}^{-1}$ e $1/n$) de Langmuir (L Kg^{-1}) e modelo Linear (L Kg) para isotermas de adsorção em pH sem ajuste

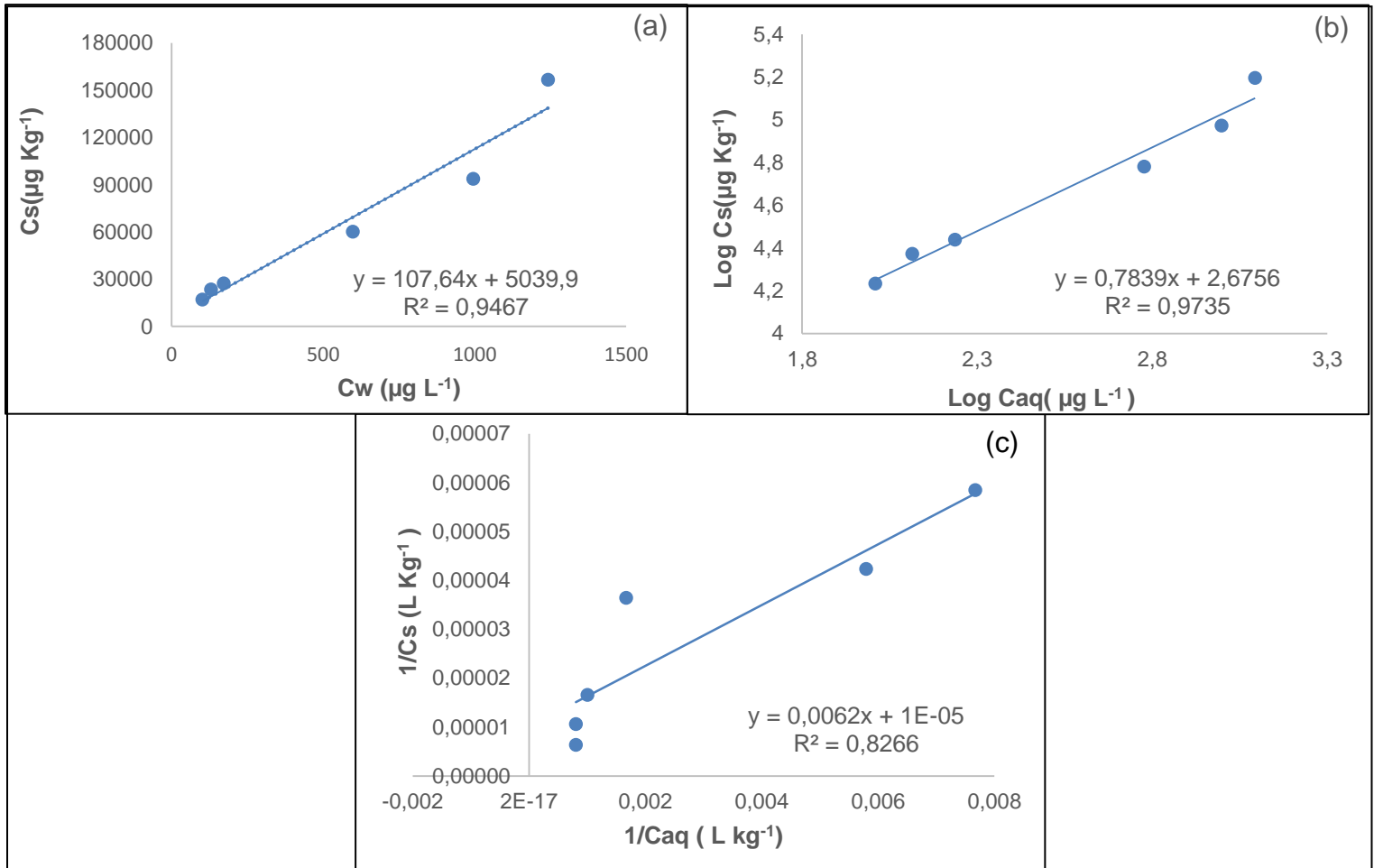
Fármaco em pH	Estudo	Freundlich			Langmuir		Linear	
		$(\mu\text{g}^{1-1/n}\text{L}^{1/n}\text{kg}^{-1}\text{e } 1/n)$			(L Kg^{-1})		(L Kg^{-1})	
Sem ajuste		K_f	$1/n$	R^2	R^2	K_L	R^2	K_d
ABZ	Adsorção	41.783	-0,239	0,427	0,3127	-0,21	0,502	-0,009
ABZSO	Adsorção	125	0,703	0,981	0,990	$2,44 * 10^{-4}$	0,979	9,539

Fonte: próprio autor.

Segundo Do Nascimento et al. (2014) valores de N inferiores a um indica uma forte interação entre o adsorvente e adsorvato, assim podemos concluir que o ABZ possui mais interação ($N = -4,18$) neste pH em relação ao ABZSO ($N = 1,42$) ao solo. Porém como N para o ABZ foi menor que uma unidade neste pH, pode-se concluir que a adsorção não foi favorável, já para o ABZSO ocorre um favorecimento da adsorção.

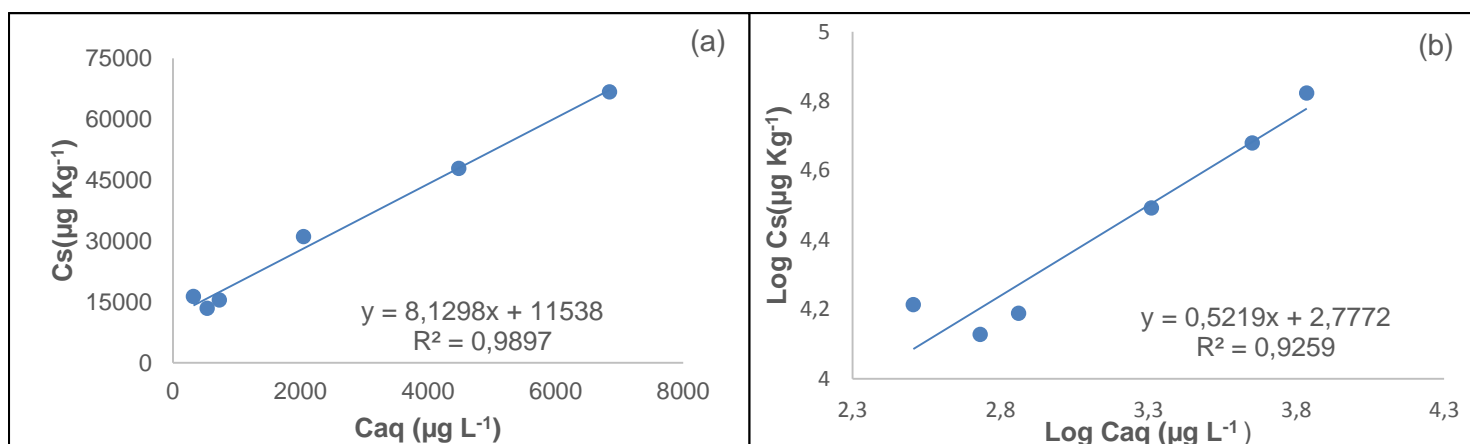
As Figuras 29 e 30 e a Tabela 12 apresentamos resultados para o estudo de adsorção em pH 3, para ambos os fármacos.

Figura 29: Isotermas de adsorção do ABZ em pH 3 ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir



Fonte: Próprio autor

Figura 30: Isotermas de adsorção do ABZSO em pH 3 ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich



Fonte: próprio autor.

Tabela 12: Coeficientes lineares obtidos pelas equações da reta (R^2) e constantes de ajuste ao modelo de Freundlich ($K_f \cdot \text{mg}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1}$ e $1/n$) para isotermas de adsorção em pH 3

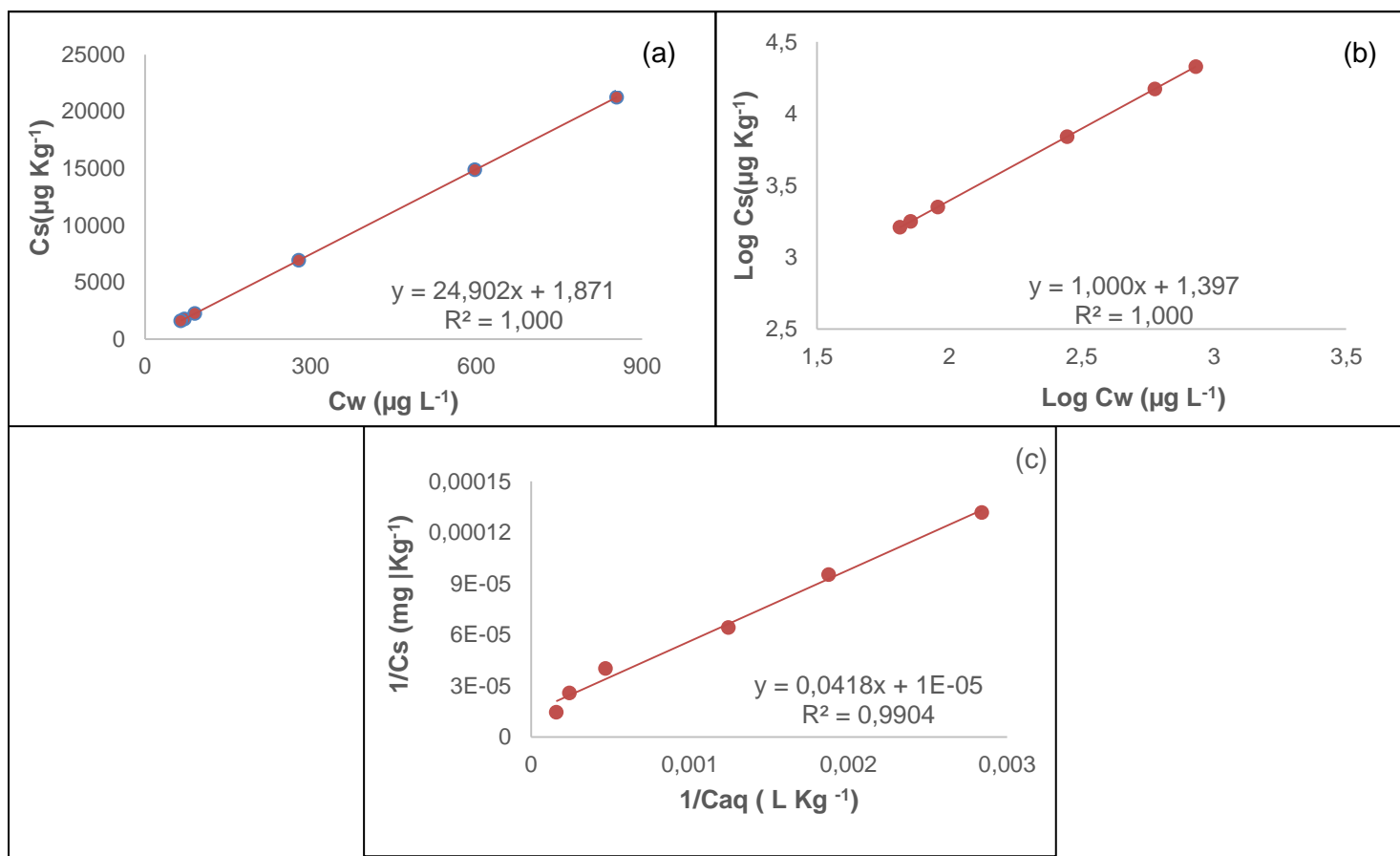
Fármaco em pH	Estudo	Freundlich			Langmuir		Linear	
		$(\mu\text{g}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1})$	$1/n$	R^2	R^2	K_L	R^2	K_d
3		K_f	$1/n$	R^2	R^2	K_L	R^2	K_d
ABZ	Adsorção	473	0,783	0,973	0,826	$1,66 \cdot 10^{-3}$	0,946	107,6
ABZSO	Adsorção	598	0,521	0,925	Não se ajustou*		0,989	8,129

Fonte: próprio autor.

Os resultados encontrados para as isotermas de adsorção do ABZ, em pH 3, apresentam um melhor ajuste aos modelos empregados, com coeficientes de correlação superior a 0,9, o ABZSO também teve um bom ajuste aos modelos exceto ao modelo de Langmuir, porém se ajusta bem aos outros modelos. Deve-se considerar que em pH 3 ambos os fármacos expressão características mais catiônicas. Neste pH a adsorção foi favorável para ambos os fármacos, com um $1 > N > 10$ (Do NASCIMENTO et al., 2014), 1,27 e 1,91 para o ABZ e ABZSO, respectivamente.

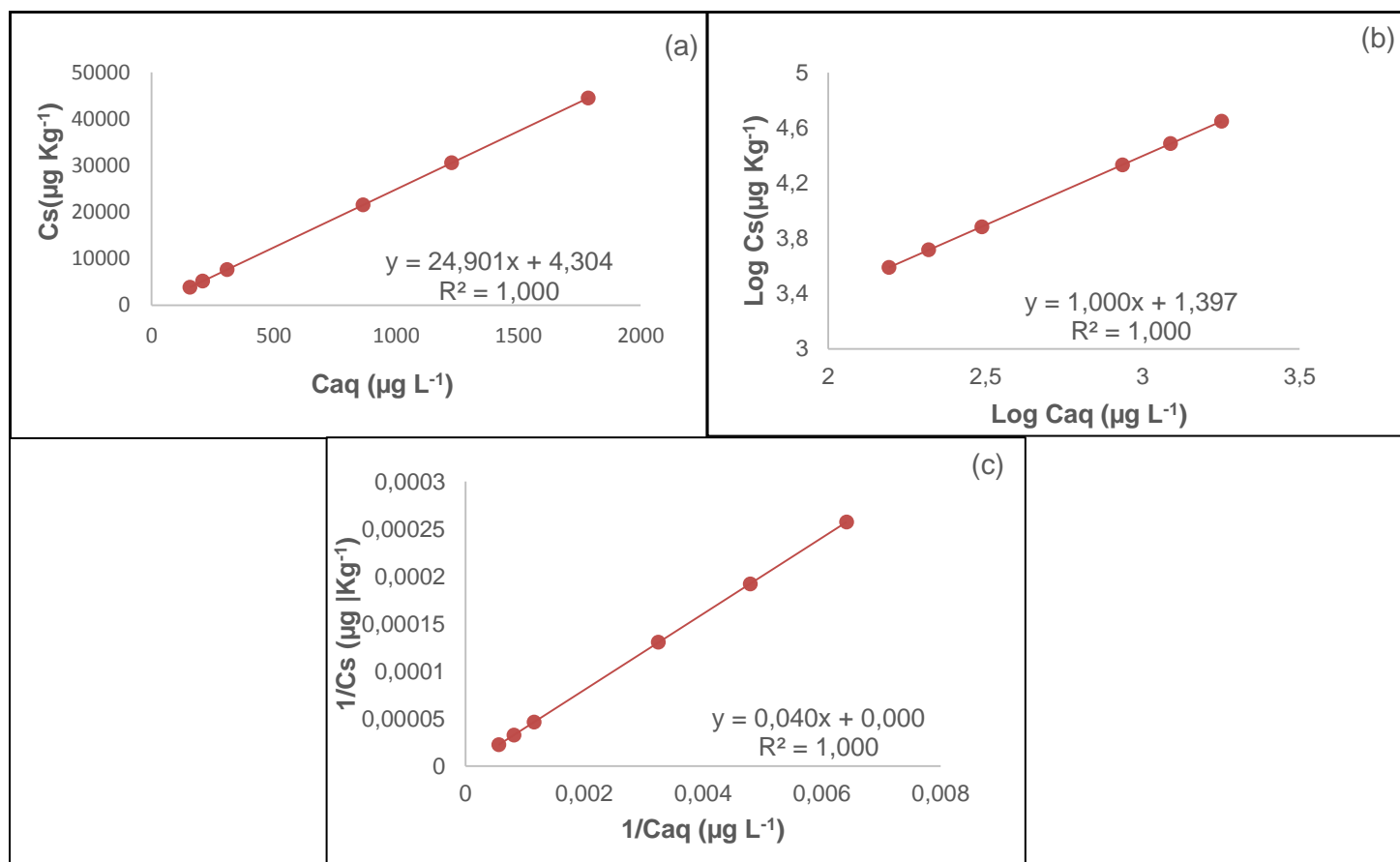
As Figuras 31 e 32 apresentam as isotermas de dessorção ajustadas aos modelos proposto e as constantes obtidas estão expressas na Tabela 13.

Figura 31: Isotermas de dessorção do ABZ em pH sem ajuste, ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir



Fonte: Próprio autor

Figura 32: Isotermas de dessorção do ABZSO em pH sem ajuste ajustado aos modelos (a) linear, (b) Freundlich e (c) Langmuir



Fonte: próprio autor.

Tabela 13: Coeficientes lineares obtidos pelas equações da reta (R^2) e constantes de ajuste ao modelo de Freundlich ($K_f \cdot \text{mg}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1}$ e $1/n$) para isotermas de dessorção em pH sem ajuste

Fármaco em pH	Estudo	Freundlich			Langmuir		Linear	
		$(\mu\text{g}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1} \text{ e } 1/n)$			(L Kg^{-1})		(L Kg^{-1})	
Sem ajuste		K_f	$1/n$	R^2	R^2	K_L	R^2	K_d
ABZ	Dessorção	24.888	0,999	1	0,990	$2,39 \cdot 10^{-4}$	1	24,9
ABZSO	Dessorção	24.889	0,999	1	1	$2,50 \cdot 10^{-7}$	1	24,9

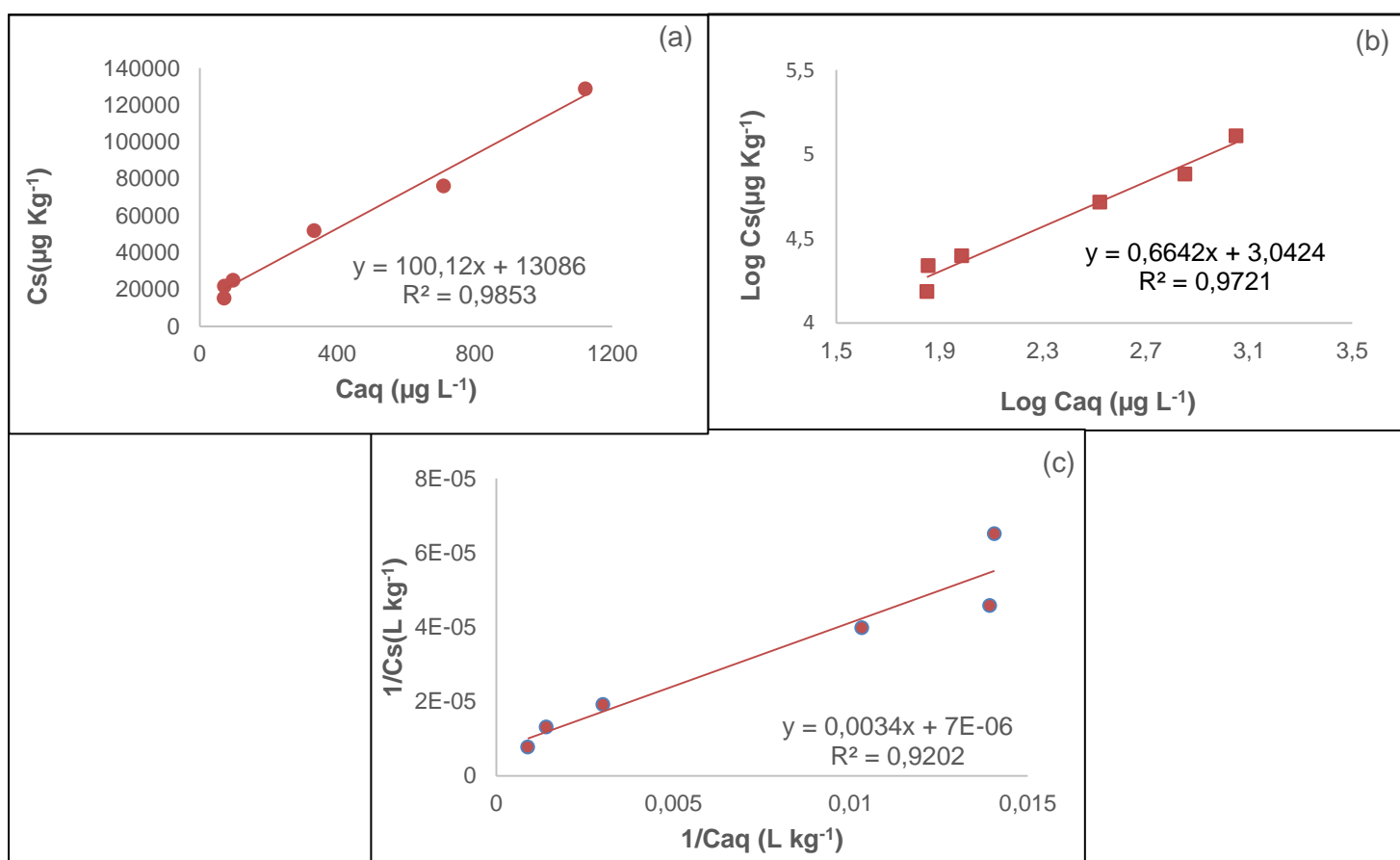
Fonte: Próprio autor.

Os coeficientes encontrados para as isotermas sem ajuste de dessorção caracterizam uma correlação forte para ambos os fármacos em todos os modelos a que foram ajustados construídas em pH sem ajuste. Para ambos os fármacos neste pH no processo de dessorção o fator $1/n$ foi próximo a 1 (0,999), podendo indicar

uma maior linearidade em relação ao processo de adsorção (Do NASCIMENTO et al., 2014).

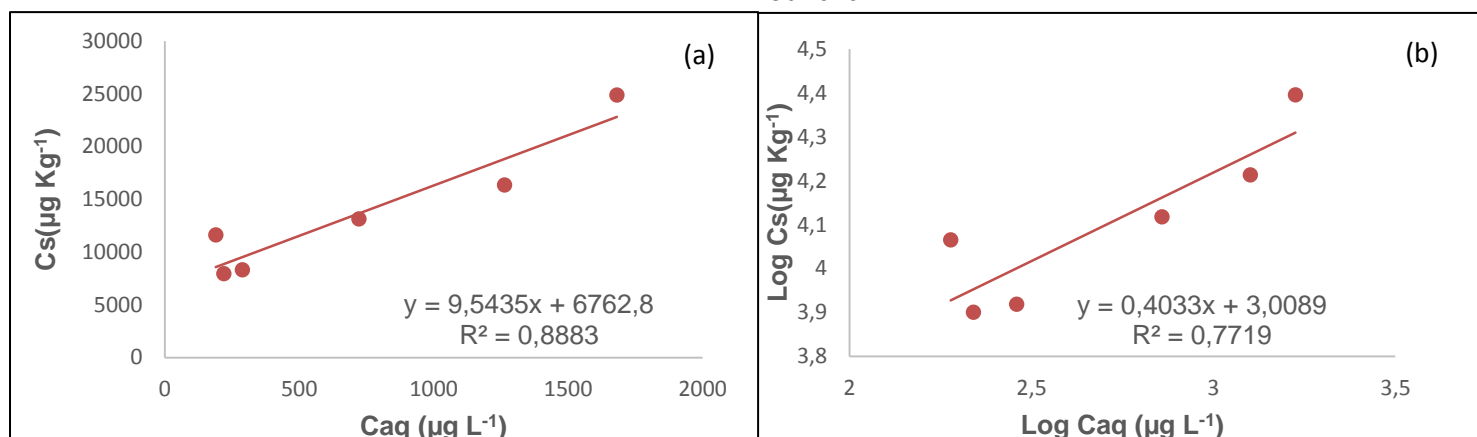
Para o modelo de Freundlich os valores de Kf encontrados apresentam capacidade de dessorção elevada para ambos os fármacos, considerando a Eq. 4 e 5, pode-se estimar o processo de histerese para o ABZ no pH sem ajuste ($1/n_{des}/1/n_{ads} = -4,17$) e ABZSO ($1/n_{des}/1/n_{ads} = 1,42$). Quando os valores de histerese encontrados são menores que 0,7 tem-se uma histerese positiva (MAMY; BARRIUSO, 2007), como observado para o ABZ, e negativa para o ABZSO ($H = 1,42$). A representação da dessorção dos fármacos em pH 3 seguem apresentados nas Figuras 33 e 34, e na Tabela 14.

Figura 33: Isotermas de dessorção do ABZ em pH 3, ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich e (c) Langmuir



Fonte: Próprio autor.

Figura 34: Isotermas de dessorção do ABZSO em pH 3, ajustado aos modelos (a) linear; (b) Freundlich



Fonte: próprio autor.

Tabela 14: Coeficientes lineares obtidos pelas equações da reta (R^2) e constantes de ajuste ao modelo de Freundlich ($K_f \cdot \text{mg}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1}$ e $1/n$) para isotermas de dessorção em pH 3

Fármaco em pH	Estudo	Freundlich			Langmuir		Linear	
		$(\mu\text{g}^{1-1/n} \text{L}^{1/n} \text{kg}^{-1} \text{ e } 1/n)$			(L Kg^{-1})		(L Kg^{-1})	
3		K_f	$1/n$	R^2	R^2	K_L	R^2	K_d
ABZ	Dessorção	1.101	0,664	0,972	0,920	$3,33 \cdot 10^{-6}$	0,985	100,1
ABZSO	Dessorção	1.118	0,403	0,771	Não se ajustou*		0,888	9,543

Fonte: próprio autor.

Os resultados obtidos demonstram um ajuste para o ABZ para todos os modelos, apresentando bons coeficientes lineares. Assim, como na adsorção do ABZSO, em pH 3 não foi possível o ajuste ao modelo de Langmuir. Os valores de K_f para ambos os fármacos demonstram uma dessorção elevada. Os valores de H obtidos ($1/n_{des}/ 1/n_{ads}$) 0,848 e 0,773 para o ABZ e ABZSO, respectivamente, demonstram uma reversibilidade do processo de sorção, onde em um intervalo de $0,7 < H < 1,0$, há ausência de histerese (MAMY, BARRIUSO, 2007).

Pavlović et al. (2017) avaliaram o potencial de sorção do ABZ para cinco amostras de solo e cinco amostras de sedimentos obtidos de rios, da região da Croácia. As amostras de sedimento apresentavam texturas arenosas ($82,5 < \% \text{ areia fina} < 88,6$) e para o solo uma textura também arenosa ($43 < \% \text{ areia fina} < 70,5$). O pH do sedimento entre $3,92 < \text{pH} < 7,19$ e para o solo $6,0 < \text{pH} < 7,25$, com um percentual de matéria orgânica de $1,51 < \% \text{ MO} < 3,62$ para o sedimento e $1,52 < \% \text{ MO} < 11,59$ para o solo. Os resultados foram ajustados ao modelo linear, Freundlich e Langmuir

apresentando um bom ajuste a todos os modelos, obtendo um R^2 maior que 0,9 sendo o modelo linear mais adequado para descrever o processo de sorção dos solos e sedimentos pelo alto R^2 0,9864.

Os valores obtidos pelos autores demonstram para o modelo de Freundlich revelaram um $N > 2$, indicando um favorecimento da sorção com o aumento da concentração, para o sedimento 1 e 3 e o solo 4 observou um N próximo de 1, indicando linearidade da isoterma e uma afinidade constante. Para os sedimentos os K_f ($\mu\text{g g}^{-1}$) ($\text{mL } \mu\text{g}^{-1}$)^{1/n} variaram entre $17,89 < K_f < 29,09$ e $12,5 < K_f < 30,35$ para sedimento e solo, respectivamente. As constantes de K_d (mL g^{-1}) obtidas indicaram uma forte sorção ao solo 1, que apresentou um maior valor de K_d -104,43 mL g^{-1} e o menor valor foi obtido pelo sedimento 3 (K_d - 29,43 mL g^{-1}) sugerindo uma mobilidade do ABZ nos sedimentos. Os autores revelam um aumento de adsorção em valores menores de pH, observado também no presente estudo. Devido a expressão das moléculas dos fármacos terem mais sítios disponíveis a realizar interações com a matriz solo.

Białk-bielińska et al. (2012) avaliaram o potencial de sorção do MV Sulfadimetoxina (SDM) em três tipos solos (argiloso, aluvial e areia de praia). O estudo revelou um ajuste para o modelo de Freundlich e Langmuir e ao modelo linear, com um coeficiente de correlação superior a 0,9, para o solo argiloso a SDM expressaram um K_d de 107,53 mL g^{-1} (linear), K_L 144991 (Langmuir) e um K_f de 24,95 (Freundlich) e para os solos com textura arenosa obteve-se um K_d inferior a 4,83, $K_L < 148,37$ e $K_f < 1,53$, os valores de adsorção inferiores para o solo de características arenosas são decorrentes da baixa interação entre as moléculas e as frações argilas e matéria orgânica do solo, que são responsáveis por estas interações, assim os autores puderam avaliar que as propriedades do solo influenciam o transporte da fármaco e que o potencial de sorção das sulfas são baixos, sugerindo alta mobilidade na matriz.

5.3 Avaliação da fitotoxicidade

A exposição do solo a contaminação por MVs pode causar efeitos em plantas, uma vez que estas podem absorver estes contaminantes. As avaliações da toxicidade em plantas terrestres auxiliam na avaliação do impacto que os contaminantes possam provocar nestas espécies, e a influência no desenvolvimento e fisiologia das plantas.

5.3.1 Avaliação da fitotoxicidade em sementes de alface (*Lactuca sativa* var. *capitata*) e feijão (*Phaseolus vulgaris*): Ensaios em placa de Petri

Ensaios em placa de Petri, realizados para a avaliação da fitotoxicidade do ABZ e ABZSO, seguem apresentados na Tabela 15. Os resultados são referentes às sementes de alface e feijão em relação ao percentual de germinação (%) e comprimento da raiz (cm).

Tabela 15: Parâmetros estatísticos do Percentual de Germinação (%) crescimento da raiz (cm) para as sementes de Alface e Feijão avaliados após exposição a diferentes concentrações de ABZ e ABZSO

ABZ e ABZSO em placa de petri (mg L ⁻¹)	Feijão		Alface	
	Germinação após 5 dias %	Comprimento da raiz (cm)	Germinação após 5 dias %	Comprimento da raiz (cm)
Controle Água	22	7,05 ±0,7 a	51	4,48 ±0,31 a
Controle (ACN: DMSO) (90: 10 v:v) 0,12 mg L ⁻¹	14	8,66 ±0,7 a	0	0 ±0,31 d
	15	6,96 ±0,7 a	8	2,54 ±0,31 b
12 mg L ⁻¹	26	6,11 ±0,7 a	8	1,99 ±0,31 b
120 mg L ⁻¹	17	5,47 ±0,7 a	7	1,08 ±0,31 c
600 mg L ⁻¹	0	2,35 ±0,7 b	0	0 ±0,31 d
CV %		23		10

Fonte: próprio autor. Dados seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% pelo teste Skott-Knott.

De acordo com os dados da tabela pode se observar que a exposição das sementes a 600 mg L^{-1} dos fármacos influenciou de forma negativa na germinação das sementes de feijão. Para as mesmas o comprimento da radícula, se apresentou reduzido e observou-se um engruvinhamento. Nos demais tratamentos, as sementes de feijão, não apresentam diferenças entre a porcentagem de germinação e comprimento da raiz.

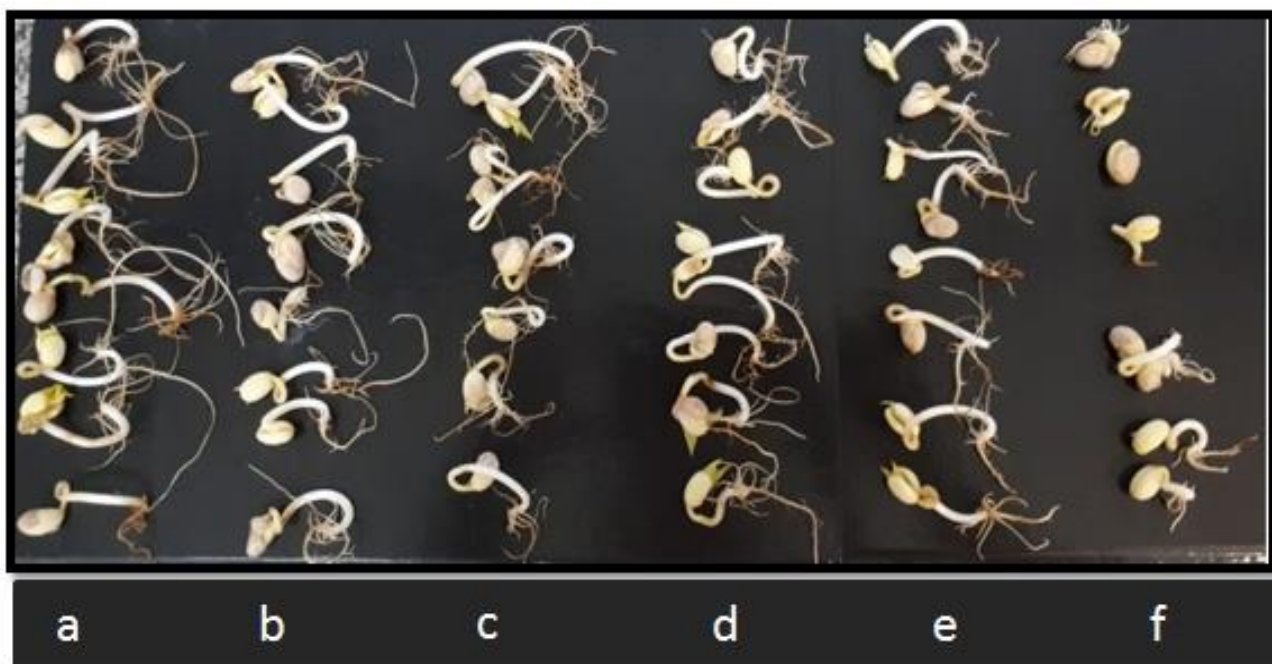
Para as sementes de alface foi verificada uma influência maior, reduzindo drasticamente a germinação. Observa-se também a influência dos fármacos na protusão e alongamento da radícula à medida que se aumenta a concentração dos medicamentos. O controle positivo de ACN: DMSO se comportou de forma semelhante ao tratamento com 600 mg L^{-1} dos fármacos, onde ambos os tratamentos se observou ausência de germinação.

A germinação das sementes de alface foi afetada pela presença dos fármacos semelhante aos solventes. O pericarpo e o tegumento da semente restringem a entrada de contaminantes, porém observa-se que a simples presença dos fármacos e do solvente a princípio do DMSO, por que na concentração de 120 mg L^{-1} os fármacos estão solubilizados em ACN e apresentaram germinação, independente da concentração afetou o embrião e conseqüentemente, diminuiu sua germinação.

Stuchlíková et al. (2016) avaliaram a fitotoxicidade do ABZ, fenbendazol e flubendazol para as células de *Campanula rotundifolia*, as células foram expostas por 24 horas a $10 \text{ }\mu\text{M}$ de cada fármaco, este estudo revelou que nestas concentrações os fármacos não afetaram significativamente o crescimento e a viabilidade das células, sendo identificado 24 metabólitos ao final do estudo, onde todo o ABZ foi metabolizado.

As Figuras 35 e 36 apresentam uma comparação ao final do experimento das sementes de feijão e alface, a fim de apresentar algumas alterações observadas.

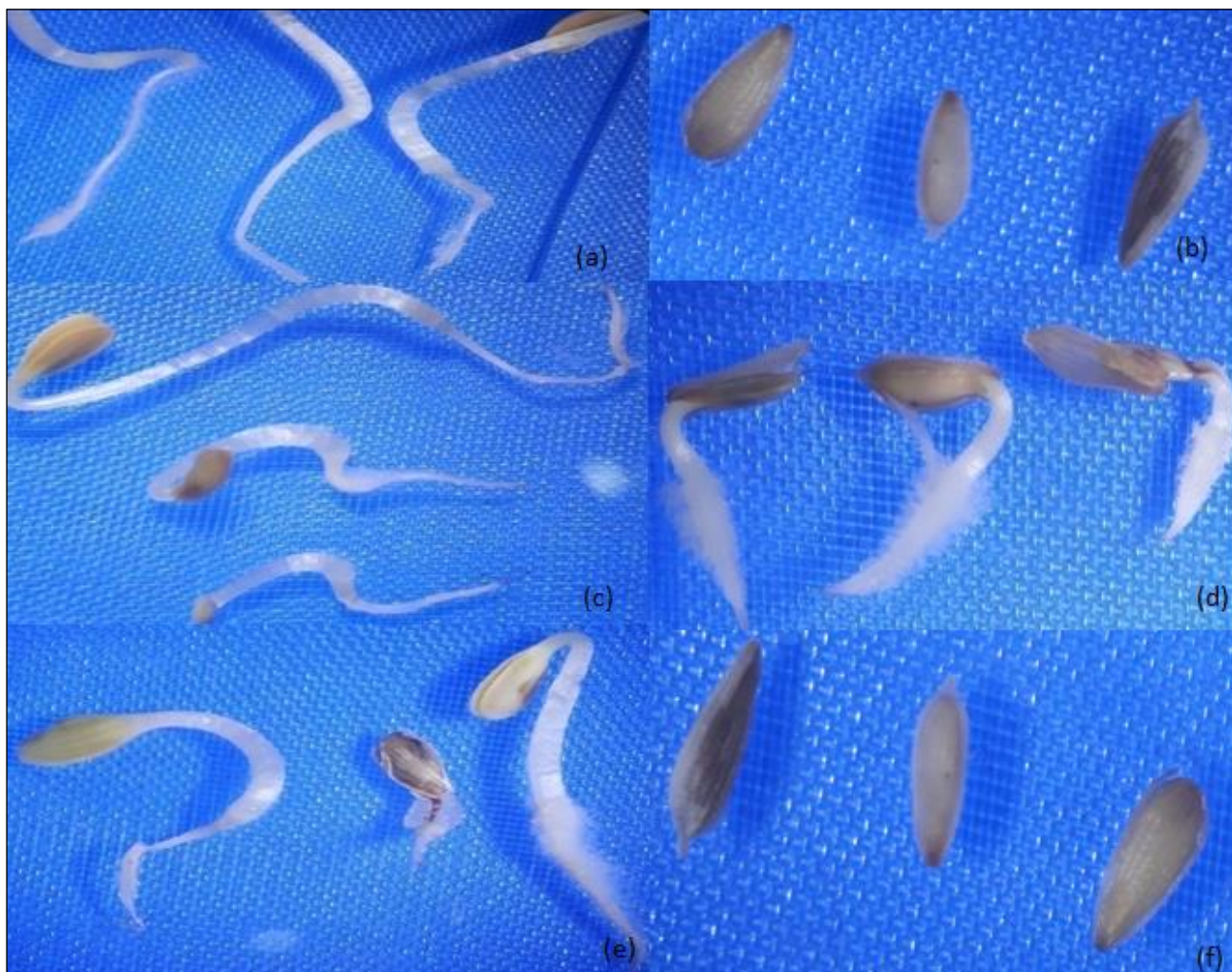
Figura 35: Sementes de feijão expostas aos fármacos ABZ e ABZSO: a- Controle com água destilada; b- controle negativo com ACN: DMSO, (90:10 v:v); c- 0,12 mg L⁻¹; d- 12 mg L⁻¹ ;e- 120 mg L⁻¹ ;f- 600 mg L⁻¹



Fonte: próprio autor.

Ao comparar os tratamentos é possível observar que os aumentos das concentrações dos fármacos causaram uma redução no tamanho da radícula e um engruvinhamento das mesmas.

Figura 36: Imagens ao final do experimento da exposição de sementes de alface aos fármacos ABZ e ABZSO: (a) Controle com água destilada (b) controle negativo com ACN:DMSO, 90:10 v:v (c) 0,12 mg L⁻¹ dos fármacos (d) 12 mg L⁻¹ dos fármacos (e) 120 mg L⁻¹ dos fármacos (f) 600 mg L⁻¹ dos fármacos



Fonte: próprio autor.

No ensaio de exposição das sementes de alface aos fármacos, pode se observar que os solventes ACN: DMSO, inibiram a germinação assim como quando em contato com solução de concentração de 600 mg L⁻¹ dos medicamentos. Nas concentrações de 0,12 e 12 mg L⁻¹ dos fármacos não proporcionaram diferenças estatísticas entre os tratamentos, porém uma redução no tamanho da radícula e um aumento dos números de tricomas radiculares, pode ser observado. A concentração de 120 mg L⁻¹ também apresentou uma alteração na anatomia das radículas, com presença de tricomas, porém a um comprometimento maior no crescimento e germinação Figura 37.

A produção de plântulas anormais foi evidenciada nas concentrações acima

de 0,12 mg L⁻¹, com redução drástica do sistema radicular (Figura 37).

Essa redução no crescimento radicular (tricomas) pode afetar o crescimento de toda a plântula por restringir a absorção de água e nutrientes. As restrições no crescimento das plântulas, estão provavelmente relacionados aos efeitos fitotóxicos dos solventes que podem levar à inibição da atividade enzimática, instabilidade de membranas com modificações prejudiciais na fisiologia das plântulas de alface (LAMHAMDI et al., 2011).

A observação de raízes na lupa confirmou o aumento de densidade e comprimento dos tricomas radiculares em plantas tratadas com 12 e 120 mg L⁻¹ de fármacos. Os resultados mostraram que em alface, o ABZ e ABZSO induz uma mudança no tamanho do meristema apical da raiz que se torna cada vez mais curto, sugerindo que os fármacos provavelmente influenciam a atividade mitótica (Figura 33).

Balestri et al. (2014) avaliou a tolerância de plantas *P. vittata* na absorção de cádmio em concentrações de 0, 30, 60 e 100 µM, tais autores também observaram um aumento da densidade e comprimentos dos tricomas radiculares nas concentrações de 30 e 60 µM, reduzindo drasticamente em 100 µM, os autores atribuíram o aumento no número de tricomas como uma resposta adaptativa a um agente estressor que provocou mudanças na morfologia e anatomia das plantas com o aumento das concentrações.

Em amostras tratadas com 12 e 120 mg L⁻¹, o surgimento dos tricomas radiculares ocorreram mais perto do ápice, indicando um desequilíbrio entre a divisão celular e o início da célula alongamento e diferenciação. Essas mudanças envolvem tamanho do meristema apical da raiz e o desenvolvimento da raiz. As plantas de feijão e alface parecem incapazes de sobreviver por um período mais longo a uma concentração acima de 12 mg L⁻¹ porque, em tais condições. Por tanto, o tratamento com fármacos acelera a maturação das raízes, induzindo mudanças morfogênicas que podem estar ligadas a estratégias adaptativas.

5.3.2 Avaliação da fitotoxicidade feijão (*Phaseolus vulgaris*): Ensaio no solo

As sementes de feijão foram utilizadas para continuação dos testes de fitotoxicidade no solo por se apresentarem menos sensíveis a presença dos solventes em relação às sementes de alface, como demonstrado nos ensaios em placa de Petri e pelo seu rápido tempo de desenvolvimento (Tabela 16).

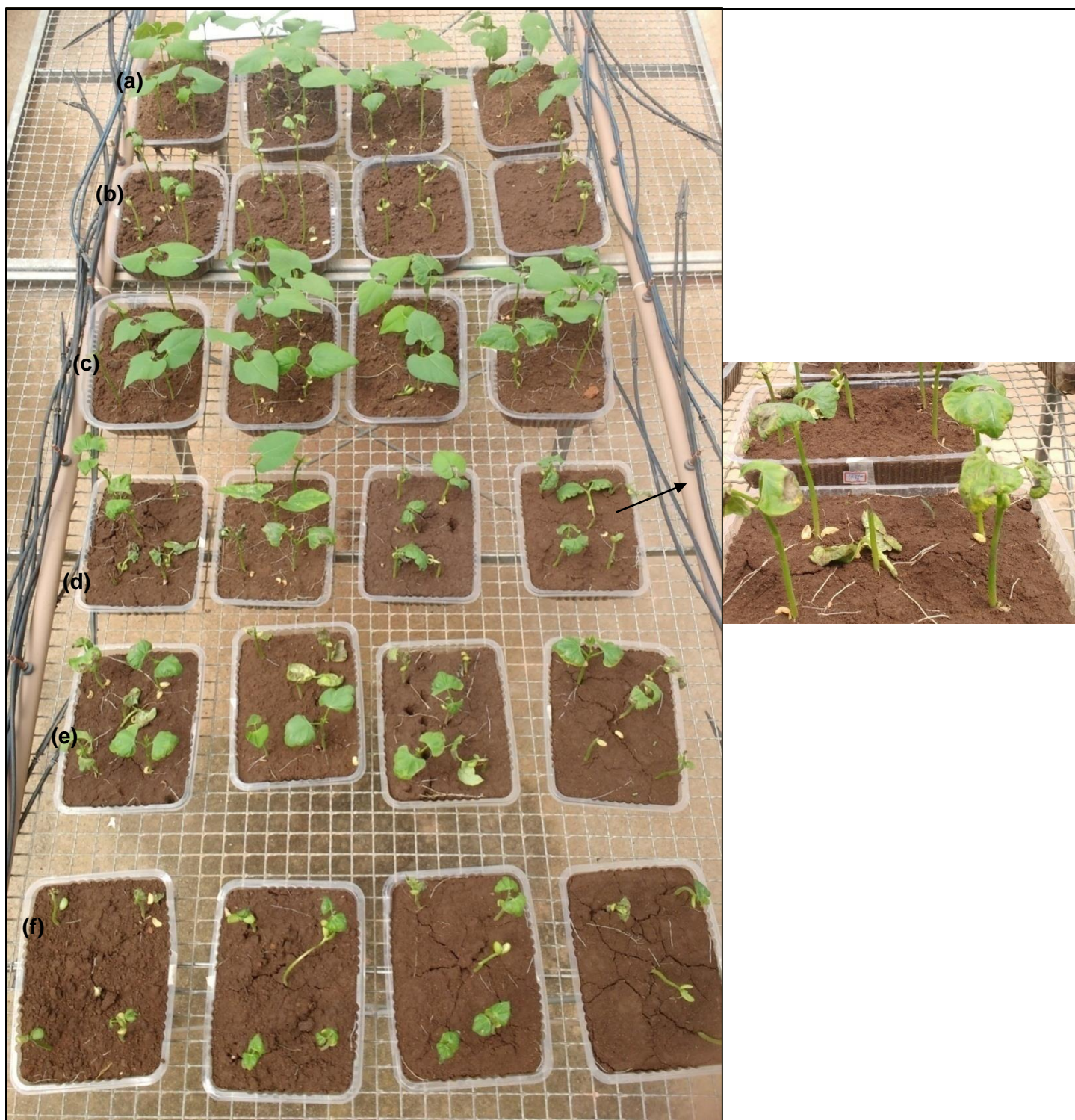
Tabela 16: Parâmetros estatísticos do percentual de germinação (%) e crescimento da raiz (cm) para as sementes de Feijão no solo avaliados após exposição a diferentes concentrações de ABZ e ABZSO

Tratamentos SOLO	Feijão		
	Número de folhas	Largura da folha	Comprimento do caule
Controle Água	16,7 ±1,1 a	4,7 ±0,3 a	9,49±0,6 a
Controle (ACN:DMSO) (90:10 v:v)	0±1,1 d	1,87 ±0,3 c	7,87 ±0,6 b
0,12 mg L⁻¹	18,5 ±1,1 a	4,45 ±0,3 a	10,02 ±0,6 a
12 mg L⁻¹	5±1,1 b	2,95 ±0,3 b	7,04 ±0,6 b
120 mg L⁻¹	2,5±1,1 c	3,09 ±0,3 b	7 ±0,6 b
600 mg L⁻¹	0 ±1,1 d	0,95 ±0,3 c	7,24 ±0,6 b
CV %	14,9	22	14

Fonte: próprio autor. Dados seguidos pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% pelo teste Skott-Knott

Após 15 dias, foi observado que o tratamento controle somente água e 0,12 mg L⁻¹ dos fármacos, não apresentaram influência no número e na largura das folhas, assim como no crescimento do caule do feijão. Pode-se observar também que no controle positivo (ACN: DMSO (90:10 v:v), as plantas se comportaram de forma semelhante quando cultivadas em altas concentrações dos fármacos (600 mg L⁻¹) apresentando menor número e largura de folhas assim como no crescimento da planta de feijão. Outros sintomas no tratamento de 600 mg L⁻¹ foram observados comoo estrangulamento do caule, como destacado na Figura 37. Em concentrações em torno de 0,12 mg L⁻¹ os fármacos não causam problemas no desenvolvimento das plantas de feijão, porém a partir de 12 mg L⁻¹ ele interfere na produção de folhas e tamanho do caule.

Figura 37: Imagens ao final do experimento da exposição no solode sementes defeijão aos fármacos ABZ e ABZSO: (a) Controle com água destilada (b) controle negativo com ACN: DMSO, 90:10 v:v (c) 0,12 mg L⁻¹ (d) 12 mg L⁻¹ (e) 120 mg L⁻¹e (f) 600 mg L⁻¹ dos fármacos



Fonte: Próprio autor.

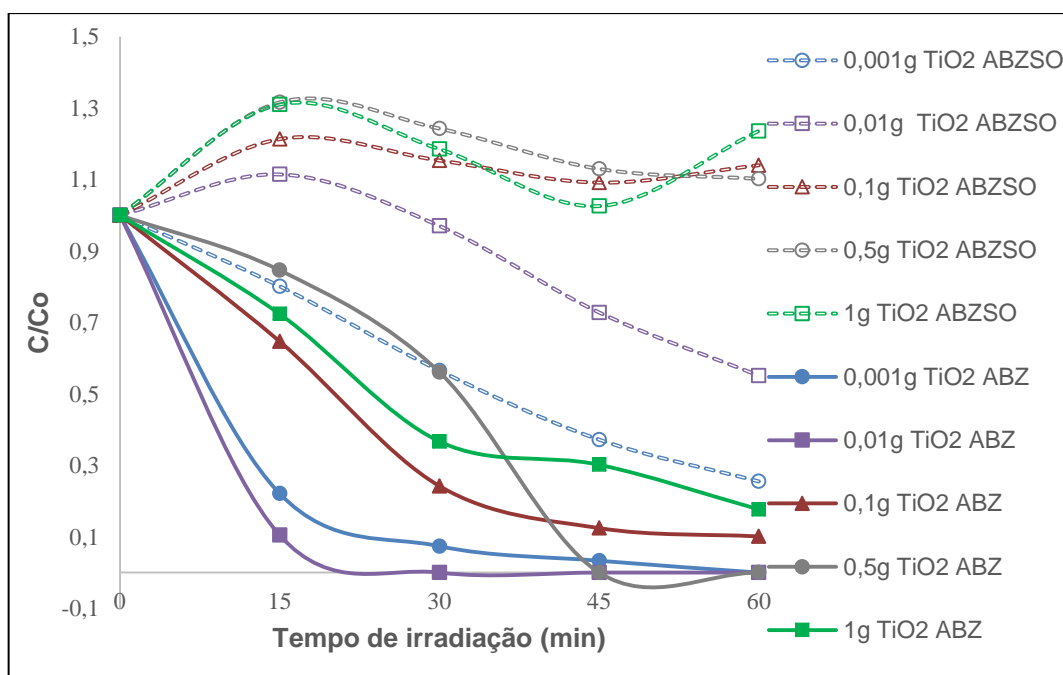
5.4. Estudo de remoção do ABZ e ABZSO em solução aquosa

A fim de avaliar a remoção dos fármacos ABZ e ABZSO em solução aquosa pelo processo de fotocatalise heterogênea, realizou se ensaios empregando radiação UV artificial e solar e o semicondutor TiO_2 .

5.4.1 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO_2/O_2 sob luz UV artificial

Os ensaios de fotodegradação empregados no processo de fotocatalise heterogênea $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial (50.472 J cm^2), seguem apresentados na Figura 38. Os estudos foram realizados empregando diversas concentrações do semicondutor TiO_2 , em pH ajustado para 8,5.

Figura 38: Remoção simultânea do ABZ e ABZSO ($900 \mu\text{g L}^{-1}$) empregando o sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial em pH 8,5 com variações de concentração do TiO_2



Fonte: próprio autor

Os resultados obtidos com o emprego de diferentes concentrações do semicondutor TiO_2 (Degussa P-25), demonstram remoção do ABZ nas concentrações de 1 mg L^{-1} em 60 minutos de reação, com 10 mg L^{-1} a remoção ocorre em 30 min., quando emprega-se maiores massas do semicondutor, como a concentração de 100 mg L^{-1} a remoção é de 90% nos 60 minutos finais, com 500 mg L^{-1} a remoção ocorre nos 45 min. de reação e com o emprego de 1000 mg L^{-1}

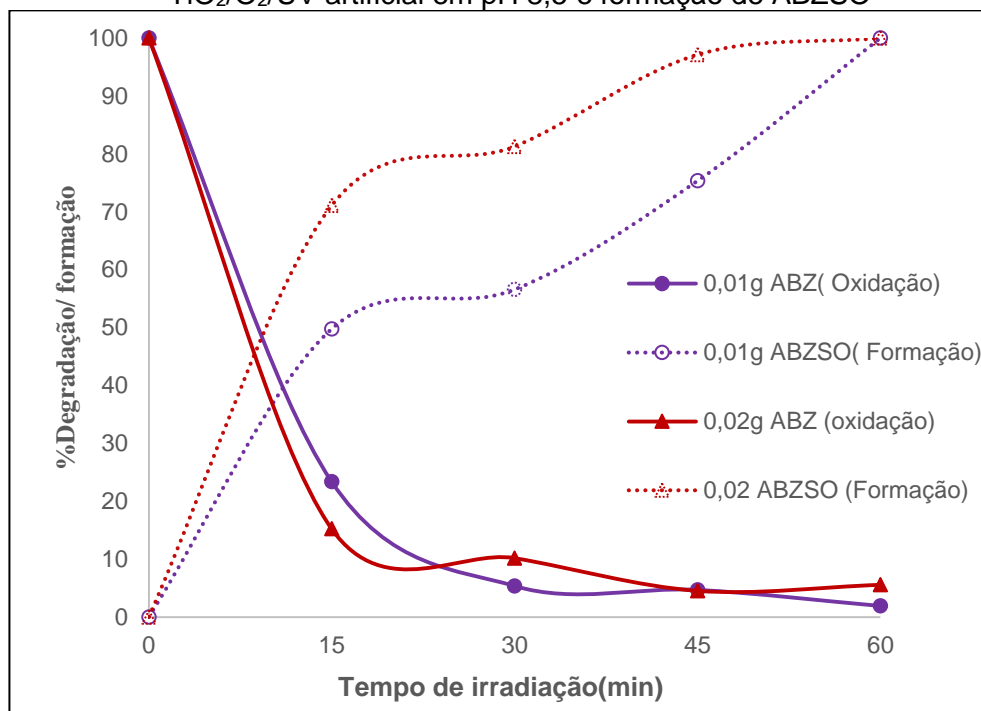
tem-se uma remoção menor em relação as concentrações citadas anteriormente, sendo de apenas 87%.

Hapeshie et al. (2010) avaliaram a remoção dos fármacos ofloxacina e atenolol, para de seis marcas comerciais do semicondutor TiO_2 Degussa P-25, Hombicat UV100, Aldrich, Tronox A-K-1, Tronox TR-HP-2 e Tronox TR, em 30 min. de reação obtiveram um percentual de remoção de 85,0; 83,0; 73,0; 67,0; 39,0 e 33,0%, respectivamente, observando que dentre os semicondutores avaliados a marca Degussa P-25 apresentou melhor eficiência de remoção dos fármacos.

Para o ABZSO tem-se uma remoção com o emprego de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de 75%, com $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ observa-se uma remoção de 38% ao final do processo e com o emprego das massas de 100 mg L^{-1} ; 500 mg L^{-1} e 1000 mg L^{-1} ocorre ineficiência na remoção do fármaco. Nos primeiros 15 minutos do processo verificou-se um aumento da concentração de ABZSO em relação a sua concentração inicial com o emprego de maiores massas do semicondutor (10 mg L^{-1} ; 100 mg L^{-1} ; 500 mg L^{-1} e 1000 mg L^{-1}). Para conseguir uma remoção para ambos os fármacos durante o processo otimizou-se a massa de 10 mg L^{-1} .

Estes resultados demonstram a oxidação do ABZ formando o intermediário ABZSO, que já estava presente em solução. Assim, observa-se o aumento e não a diminuição do ABZSO. Para confirmar esta hipótese, foi realizado um estudo de fotodegradação empregando uma solução contendo somente ABZ. A Figura 39 apresenta os resultados obtidos pela exposição da solução contendo apenas o ABZ na concentração inicial de $900 \mu\text{g L}^{-1}$ ao processo de Fotocatálise $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial com o emprego de 10 e 20 mg L^{-1} do semicondutor.

Figura 39: Emprego da solução individual de ABZ ($900 \mu\text{gL}^{-1}$) utilizando o sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial em pH 8,5 e formação de ABZSO

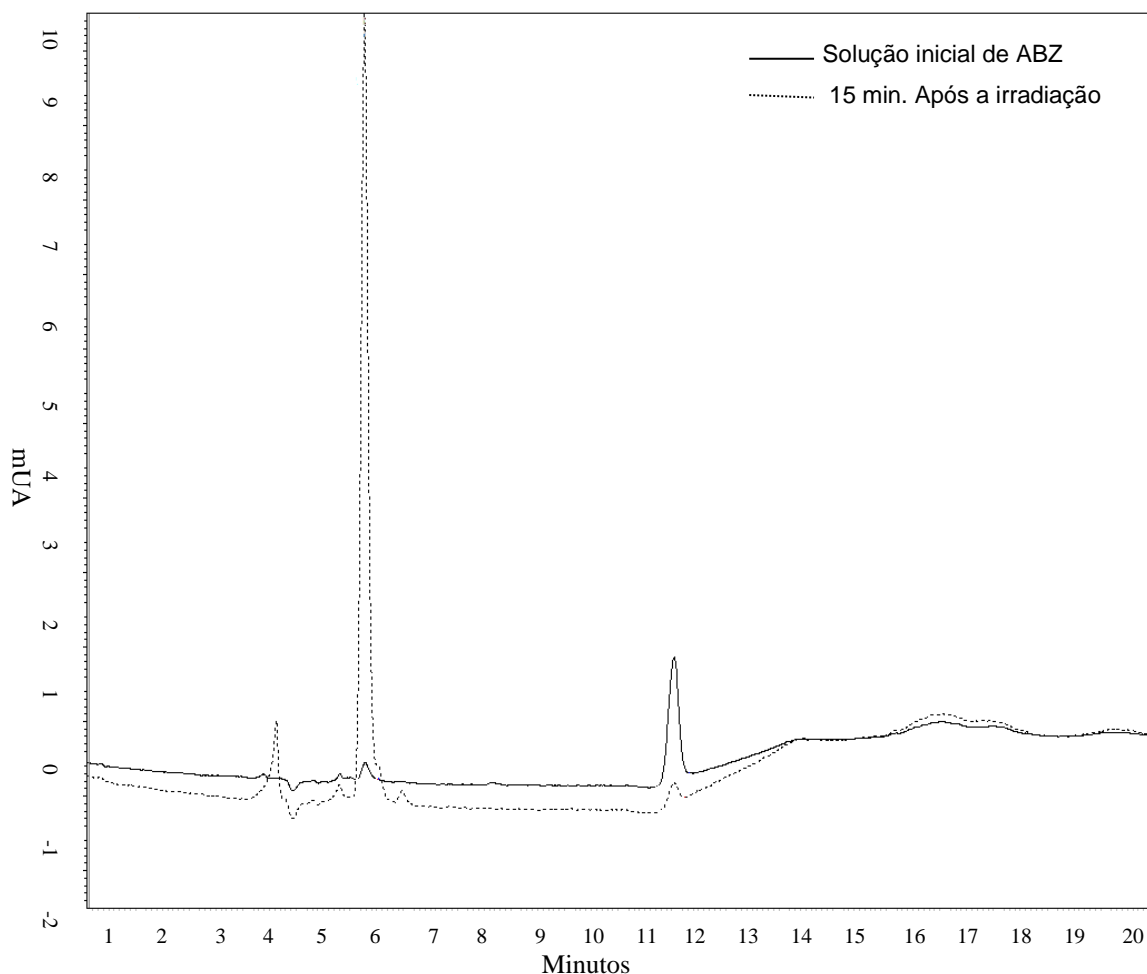


Fonte: próprio autor

Pode-se observar que ocorre a formação do ABZSO a partir da oxidação do ABZ, considerando que o ABZSO é um metabólito do ABZ, após um processo de oxidação seletiva do grupamento tioéter gerando o grupamento sulfóxido. Pode-se estimar que o radical $\bullet\text{OH}$ gerado durante o processo da fotocatalise esteja favorecendo esta reação, como descrita no trabalho de Grogan (2012) que discute esta oxidação do albendazol, gerando seu metabólito que mantém o efeito farmacológico do fármaco original.

A Figura 40 representa a sobreposição dos cromatogramas, onde no tempo de 0 min. se observa apenas o pico do ABZ que elui no tempo de retenção de 10 min., sobreposto a ele a o cromatograma após 15 minutos de reação que já apresenta no tempo de retenção de aproximadamente 5 minutos o pico cromatografico do ABZSO, confirmando a formação do metabólito.

Figura 40: Sobreposição do cromatograma inicial da solução de ABZ ($900 \mu\text{gL}^{-1}$) aos cromatogramas de 15 e 30 minutos após o início da reação



Fonte: próprio autor

Pode-se observar também a eluição de outro pico cromatográfico eluindo entre 3 a 4 minutos do início da corrida cromatográfica, no cromatograma referente aos 15 minutos do processo, provavelmente se tratando de outro intermediário gerado durante o processo de fotocatalise, porém não quantificado no presente trabalho.

Havlíková, Satínský e Solich (2016) observaram a remoção de 88% e 60% dos anti helmínticos ivermectina e praziquantel ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) ao empregar o processo de fotocatalise utilizando um reator de tubo de vidro, lâmpada UV a 366 nm (Camag), $2,0 \text{ g L}^{-1}$ de TiO_2 , sendo observado a formação de intermediários que ao final do processo de 7 horas foram completamente removidos.

Um fator importante nas reações de degradação fotocatalíticas é o pH da

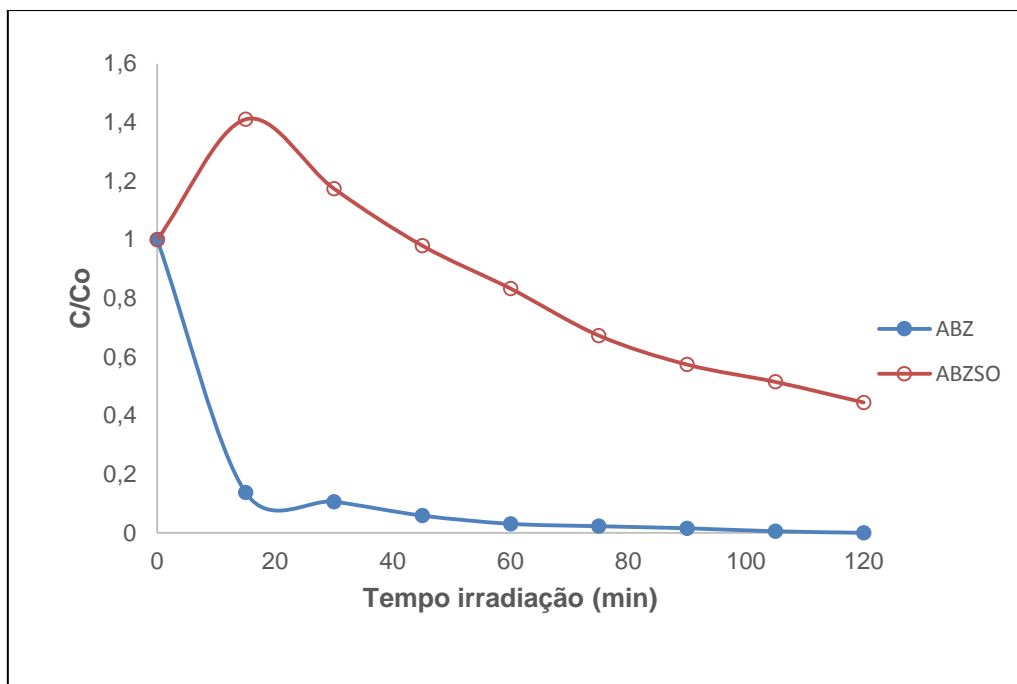
solução, segundo Gaya e Abdullah (2008) o semicondutor TiO₂-Degussa P-25 se encontra em um pH 6,9 no seu ponto de carga zero (PCZ) estando 80% em sua forma anatase e 20% rutilo, em meio ácido a superfície do semicondutor está protonada (pH < 6,9) e em meio básico desprotonada (pH > 6,9). Considerando que no pH 8,5, em estudo, o fármaco ABZ se encontra em sua forma 50% neutra e 50% aniônica e o ABZSO em sua forma 100% neutra, pode-se inferir que o pH influenciou a porcentagem de remoção do ABZSO que pode ter sofrido repulsão entre as cargas da superfície do semicondutor e as formas carregadas ionizadas do fármaco, fato que contribuiu para sua menor remoção. Porém os estudos foram conduzidos neste pH para que o pH da solução fosse próximo ao pH da água de nascente empregada nos estudos ecotoxicológicos.

A combinação de dois ou mais POAs pode gerar um efeito sinérgico aumentando a capacidade oxidativa pela geração de mais espécies oxigênio reativas, melhorando a eficiência na remoção de compostos orgânicos (DEWIL et al., 2017) podendo ser uma alternativa para estudos futuros o emprego de processos oxidativos conjuntos para melhoria da degradação.

Um estudo realizado por Cizmic et al. (2017), para remoção do anti-helmíntico praziquantel revelou avaliou a degradação em dois comprimentos de onda, UV-A (365nm) e UV-C (185 a 254nm), empregando um filme de TiO₂ combinado com o emprego de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), avaliando a taxa de fotólise direta, irradiação com o filme de TiO₂ e UV+filme de TiO₂+ H₂O₂, os resultados para a remoção do fármaco foi de uma degradação na fotólise direta com UV-A insuficiente. Porém, ao se utilizar UV-C a degradação foi mais eficiente, o emprego de UV-C/TiO₂ a degradação foi mais rápida, ao adicionar H₂O₂ observou maior degradação em relação a todos os experimentos realizados, na luz UV-A + filme TiO₂ a degradação foi de 90% após 5 horas em contrapartida com o uso da radiação UV-C a degradação de 95% ocorreu em 3 horas (CIZMIC et al., 2017).

Com o objetivo de avaliar se o aumento do tempo de irradiação tornaria a remoção mais eficiente, foi mantido o processo de fotocatalise heterogênea durante 120 min. A Figura 41 apresenta os resultados obtidos pela exposição da solução de ABZ e ABZSO em concentração inicial de 900 µg L⁻¹(pH 8,5) ao processo de fotocatalise TiO₂/O₂/UV artificial com o emprego de 10,0 mg L⁻¹ do semicondutor em 120 minutos de reação.

Figura 41: Remoção simultânea do ABZ e ABZSO ($900 \mu\text{gL}^{-1}$) empregando o sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial em pH 8,5 em 120 minutos de reação



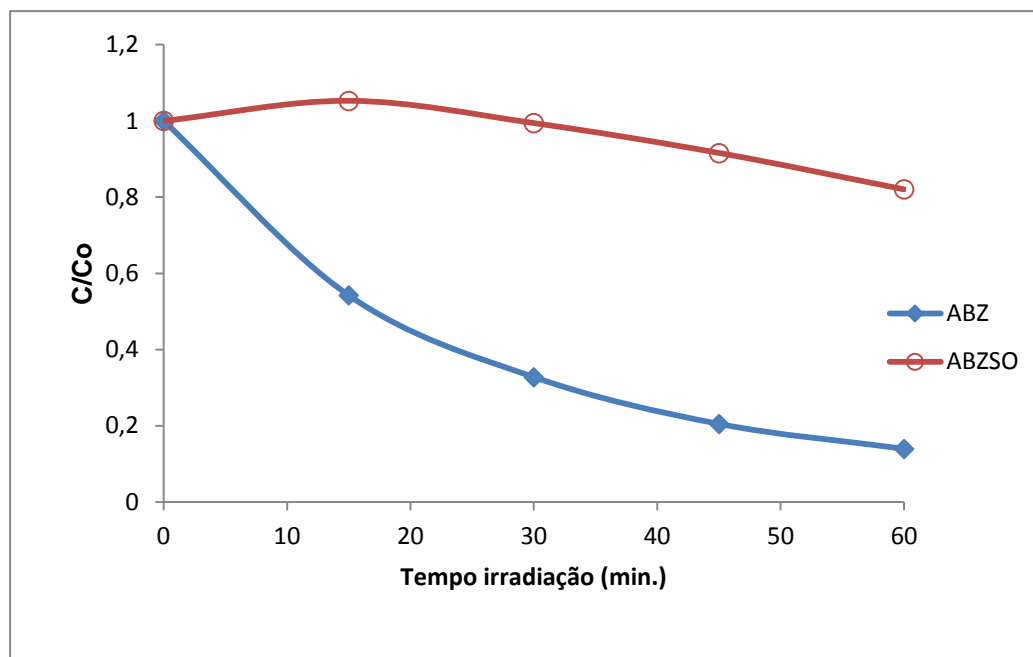
Fonte: próprio autor

Com o emprego de um maior tempo de exposição (120 minutos) dos fármacos ao processo de degradação observou-se uma remoção do ABZ em 60 minutos de reação, porém a remoção do ABZSO ao final de 120 minutos de reação foi de apenas 55%. Devido aos consumíveis durante o processo, fluxo de água contínuo, gasto de energia e aumento no tempo e reagentes para análise, a remoção que se observou não seria viável a aplicação do processo em maiores tempos, por isso realizou o processo de fotocatalise em 60 minutos.

5.4.2 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO_2 sob luz UV solar

A Figura 42 apresenta os resultados obtidos pela exposição da solução de ABZ e ABZSO em concentração inicial de $900 \mu\text{g L}^{-1}$ (pH 8,5) ao processo de fotocatalise $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ com radiação solar, empregando TiO_2 $10,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Figura 42: Remoção simultânea do ABZ e ABZSO (900 μgL^{-1}) empregando o sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ solar em pH 8,5 com concentração 10,0 $\text{mg L}^{-1}\text{TiO}_2$



Fonte: próprio autor

Observou-se uma remoção de 87% do ABZ nos 60 minutos de reação, porém a remoção do ABZSO ao final de 60 minutos foi de apenas 18%. Ao final do processo de reação a radiação acumulada de 12,78 J cm^{-2} .

Campo et al., (2012) estudaram a fotocatalise heterogênea solar em escala piloto para o ABZ, empregando um reator em tubos de vidro com diâmetro 32 mm, com dimensões da caixa de 520 mm X 1650 mm acoplado a um tanque de recirculação de água, obtiveram uma remoção de 30,27% do ABZ de concentração inicial de 40 mg L^{-1} com o emprego de 0,6 g L^{-1} TiO_2 (Degussa-P25), em uma radiação acumulada de 30W h m^{-2} . Perez et al. (2012) também aplicaram em escala piloto a fotocatalise heterogênea solar onde um reator do tipo coletor parabólico composto, que aumenta a redistribuição da radiação composto por dez tubos de vidro (32 mmX 1,4 mm).

Os autores obtiveram uma degradação do ABZ na concentração inicial de 40,0; 75,0 e 159,0 mg L^{-1} , empregando 0,6 g L^{-1} TiO_2 (Degussa-P25), de 39; 36; 34,77 e 22,96%, respectivamente.

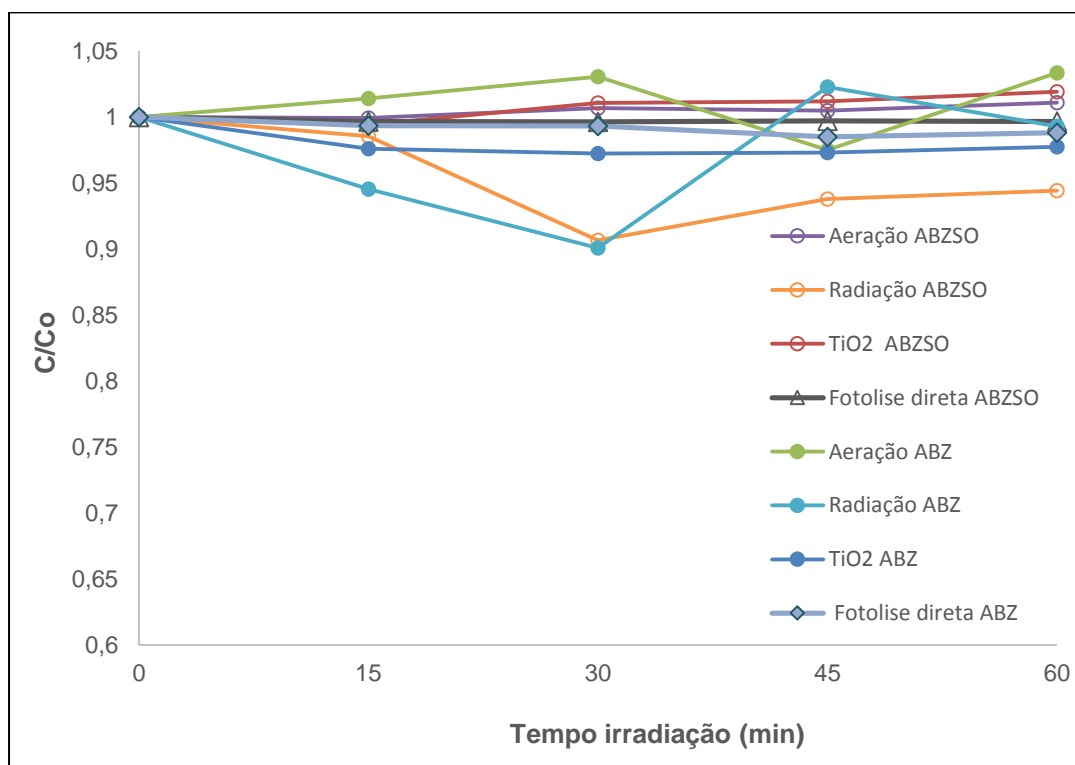
A eficiência do processo de fotocatalise heterogênea é dependente da absorção de radiação pelo catalisador, obtendo maiores degradações com o aumento de intensidade luminosa. O processo pode ser realizado empregando luz

solar, a mesma apresenta no comprimento de onda de até 385 nm 3% a 5% de espectro solar que atinge a terra, porém ainda não apresenta eficiência na remoção, sendo um dos fatores limitantes de sua aplicação. Perdas como reflexão, transmissão ou perda por calor, no processo também devem ser consideradas (TEIXEIRA; JARDIM, 2004; GAYA; ABDULLAH, 2008).

5.4.3 Experimentos controle

Os estudos das condições isoladas empregadas no processo da fotocatalise heterogênea $TiO_2/O_2/UV$ foram estudadas a fim de verificar se ocorre remoção dos fármacos quando empregadas isoladamente: assim semicondutor TiO_2 , radiação UV solar (Fotólise direta) e artificial e aeração foram avaliadas. Os resultados seguem descritos na Figura 43.

Figura 43: Estudos controles com os fármacos simultâneos ABZ e ABZSO ($900 \mu g L^{-1}$) em pH 8,5



Fonte: próprio autor

Os estudos controle empregando a massa de $10,0 mg L^{-1}$ de TiO_2 não apresentaram eficiência na remoção dos fármacos, sendo a remoção do ABZ e ABZSO inferior a 1% e 6%, respectivamente. Com o emprego isolado do aerador

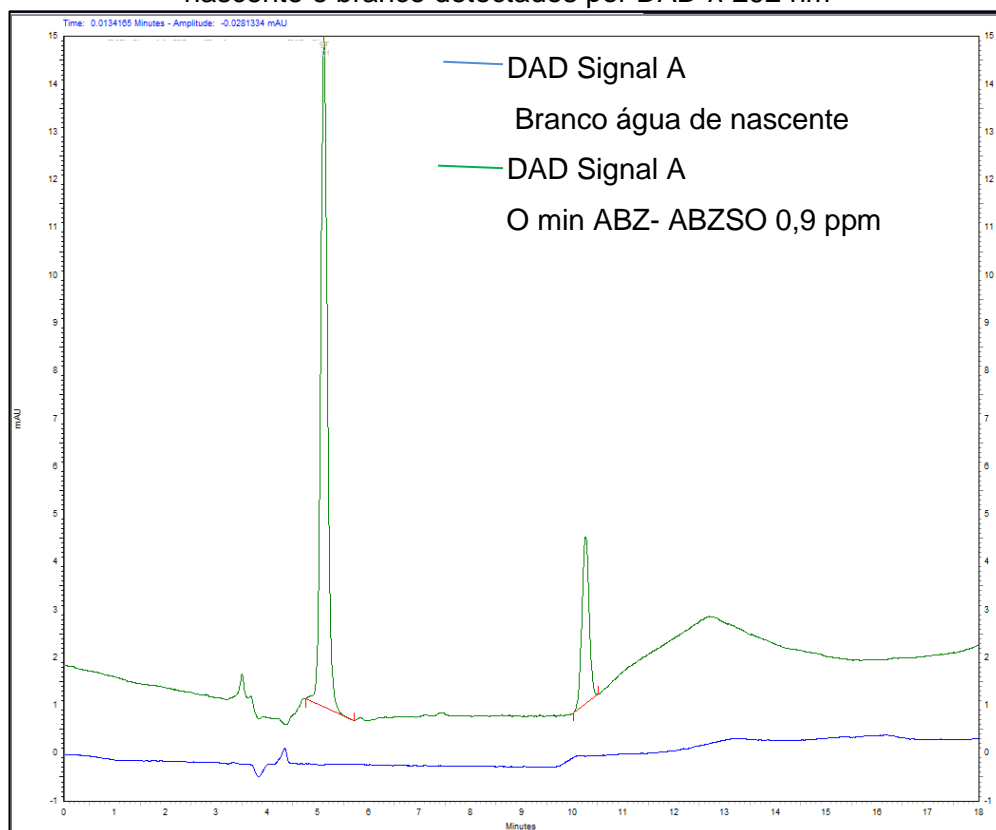
não se observou remoção significativa dos fármacos no processo de fotólise direta, pois observou-se remoção de 2% e 1% para o ABZ e ABZSO, respectivamente. Os resultados encontrados demonstram que as condições só apresentam eficiência na remoção dos fármacos quando são empregados conjuntamente, uma vez que a remoção do estudo controle foi inferior a 6%.

Candido e colaboradores (2016) estudou a remoção da molécula de ibuprofeno por fotocatalise heterogênea observando que não houve adsorção considerável do fármaco a superfície do catalisador, não volatilização do mesmo com o emprego do aerador e que a luz solar isolada não apresenta eficiência na remoção em um percentual de menos de 10%.

5.4.4 Determinação do ABZ e ABZSO em água de nascente e avaliação do efeito matriz na quantificação dos fármacos por CLAE-DAD- λ -292 nm

A Figura 44 apresenta a sobreposição do cromatograma obtido pela análise do ABZ e ABZSO nas concentrações de $900 \mu\text{g L}^{-1}$ em água de nascente, detectados e quantificados por CLAE-DAD no comprimento de onda de 292 nm e o cromatograma obtido pela análise de um branco (água de nascente) isento dos analitos, a fim de observar o efeito matriz.

Figura 44: Cromatograma referente a detecção do ABZ e ABZSO ($900 \mu\text{g L}^{-1}$) em água de nascente e branco detectados por DAD- λ -292 nm



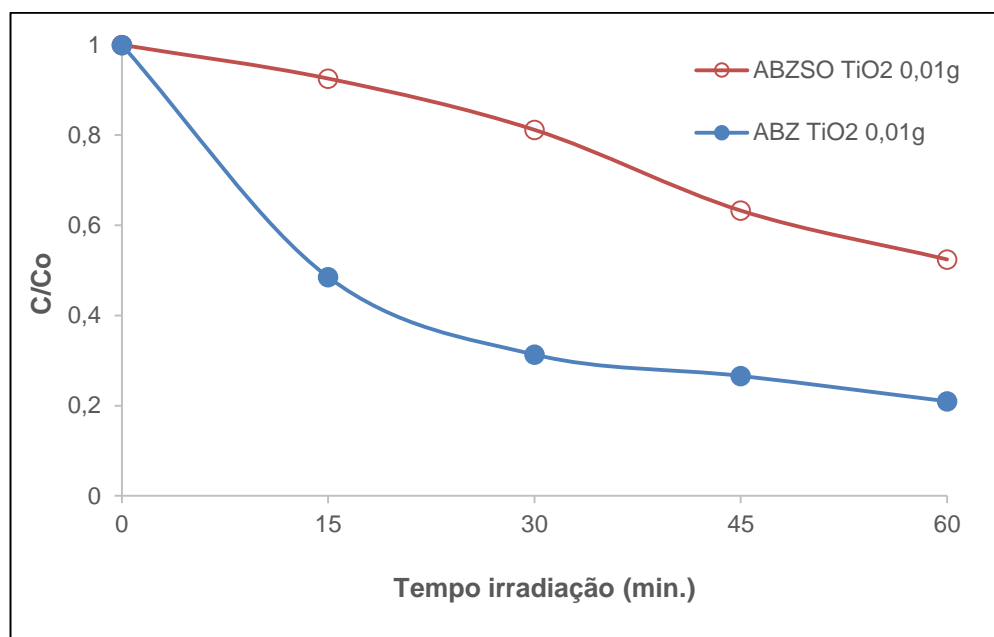
Fonte: próprio autor.

Pode-se inferir que não houve interferência da matriz utilizada (água de nascente), para detecção e quantificação dos analitos. Podendo os estudos, de fotocatalise heterogênea para remoção dos fármacos, prosseguirem já que não houve comprometimento do método analítico.

5.4.5 Avaliação da remoção do ABZ e ABZSO fotocatalise heterogênea com o emprego de TiO_2/O_2 / UV artificial em água de nascente

Para realização dos ensaios ecotoxicológicos foi necessário a realização do processo de fotocatalise heterogênea TiO_2/O_2 artificial ($10,0 \text{ mg L}^{-1}\text{TiO}_2$) substituindo a água ultrapura por água de nascente. Os resultados da remoção seguem descritos na Figura 45.

Figura 45: Remoção simultânea do ABZ e ABZSO ($900 \mu\text{g L}^{-1}$) empregando o sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial, pH sem ajuste com concentração $10,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ TiO}_2$ em água de nascente



Fonte: próprio autor

Os resultados obtidos mostram uma remoção de 80% para o ABZ e de 48% para o ABZSO. Não se observou, durante o processo, o aumento da concentração do ABZSO em relação a sua concentração inicial, ao contrário do observado com emprego de água ultrapura. A água de nascente apresenta diversos compostos orgânicos que podem ter impedido a oxidação do ABZ para ABZO.

Ren, Drosos e Frimmel (2017) avaliaram a degradação do ácido cítrico relatando que o percentual de matéria orgânica exerce grande influência na degradação, uma vez que pode interagir com as nanopartículas de TiO_2 , porém ao se empregar valores maiores de pH esta interação diminui.

5.5 Ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia simillis*

A realização do monitoramento da toxicidade do processo de fotocatalise heterogênea utilizando bioindicadores se apresenta muito importante, uma vez que o processo pode remover o contaminante orgânico, porém aumentar sua toxicidade pela formação de compostos intermediários (VAN DOORSLAER et al. 2015).

Os ensaios de fotocatalise heterogênea simultânea do ABZ e ABZSO ($900 \mu\text{g L}^{-1}$) empregando o sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial, pH sem ajuste com concentração $10,0 \text{ mg L}^{-1} \text{ TiO}_2$ em água de nascente, quando expostos os organismos *Daphnia*

simillis para avaliação da toxicidade aguda, em períodos de 24h e 48h seguem apresentados na Figura 46.

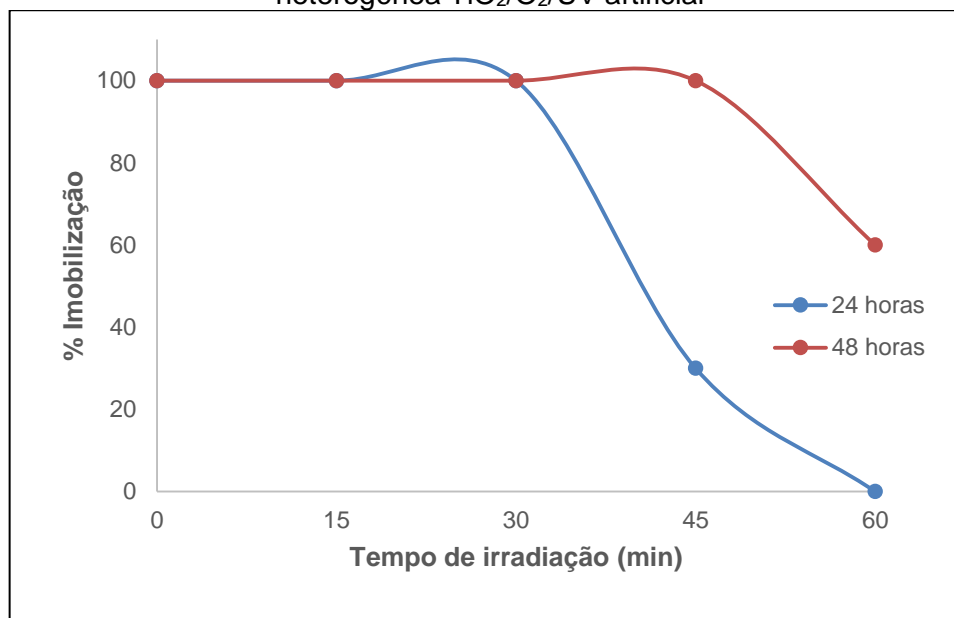
Na Tabela 17 encontram-se as medidas dos parâmetros pH, condutividade, oxigênio dissolvido e temperatura mensurados antes do início do teste de exposição e ao final do teste. A fim de monitoramento das propriedades físicas e químicas da amostra.

Tabela 17: Propriedades físicas e químicas monitoradas nos ensaios ecotoxicológicos agudo com organismos *Daphniasimillis*

Paramêtros 8-11-17	PH	Condutividade (µs/cm)	Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)	Temperatura (C°)
0 min -inicial	8,05	62,0	7,24	24,5
0 min 48 h	8,33	63,5	7,59	24,6
30 min- inicial	7,99	63,8	7,24	24,6
30 min 48 h	8,14	67,8	7,56	24,8
60 min-inicial	7,97	63,0	7,23	24,1
60 min 48 h	8,12	68,7	7,79	23,4

Fonte: próprio autor.

Figura 46: Porcentagem de imobilização de organismos *Daphnia simillis* após 24 e 48 horas de exposição a amostras dos tempos coletados durante o processo de fotocatalise heterogênea TiO₂/O₂/UV artificial



Fonte: próprio autor.

Os ensaios de exposição dos organismos *Daphnia simillis* ao controle reacional, processo de fotocatalise heterogênea mais todos os consumíveis,

incluindo os reagentes utilizados na solução dos fármacos, porém sem os fármacos, não apresentou imobilização dos organismos após 48 horas de exposição em todos os tempos do processo (0, 15, 30, 45 e 60 minutos).

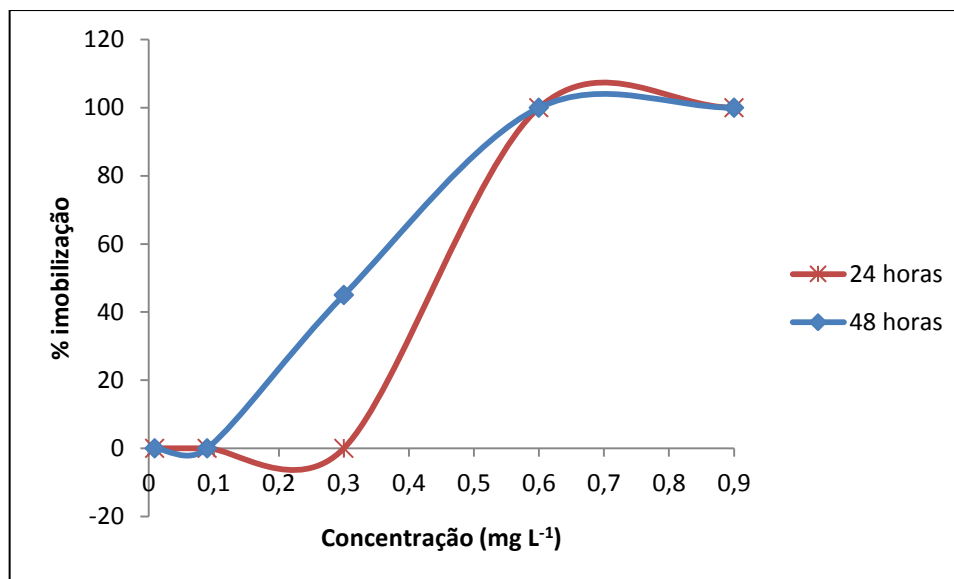
Ao empregar soluções do processo de fotocatalise heterogênea com os fármacos ABZ e ABZSO simultâneos, observou-se 100% de imobilização nos primeiros 0, 15 e 30 minutos em 24 horas, com uma redução de 30% e 100% nos 45 e 60 minutos, respectivamente. Em 48h de exposição observou-se uma porcentagem de imobilização de 100% em 0, 15, 30 e 45 minutos da reação e uma redução de 40% ao final do processo (60 minutos).

Carlsson et al. (2013) investigou o efeito agudo do ABZ (0,022 - 0,22 mg L⁻¹) para embriões zebrafish (*Danio rerio*), observando 50 e 100% de mortalidade nas concentrações mais altas, ao final de 48 horas após a exposição, estas soluções foram analisadas e observou-se predomínio do ABZ, já que nas concentrações mais baixas observou-se metabolização do ABZ a três de seus metabólitos (sulfóxido de albendazol, sulfona de albendazol e aminosulfona de albendazol), observando que a toxicidade é atribuída ao ABZ e não a seus metabólitos, onde a mortalidade ocorreu onde havia predomínio do ABZ. A redução da toxicidade ao final do processo pode ser relacionada a presença do metabólito, já que a completa remoção do ABZ.

5.5.1 Avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia simillis* para determinação da CE₅₀ para o ABZ

Os efeitos tóxicos dos fármacos isolados foram avaliados empregando soluções destes aos organismos realizando avaliação da toxicidade aguda. Os resultados obtidos seguem descritos na Figura 47 para os ensaios com o ABZ. A Tabela 18 apresentam os parâmetros monitorados durante os testes.

Figura 47: Porcentagem de imobilização dos organismos *Daphnia simillis* a concentrações de ABZ 0,009 a 0,9 mg L⁻¹ para determinação da CE₅₀



Fonte: próprio autor.

Os resultados demonstram que os organismos testes apresentam toxicidade ao fármaco ABZ na concentração de 0,6 e 0,9 mg L⁻¹ apresentando 100% de imobilização após 24 e 48 horas. A concentração de 0,3 mg L⁻¹ apresentou 45% de imobilização em 48 horas. Nestas concentrações não houve efeitos toxicológicos dos organismos ao ABZSO.

Tabela 18: Propriedades físicas e químicas monitoradas nos ensaios ecotoxicológicos agudo para exposição com organismos *Daphnia simillis* ao ABZ

Paramêtros	PH	Condutividade (µs/cm)	Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)	Temperatura (C°)
Controle -inicial	7.64	110,7	7,01	26,2
Controle 48 h	8,03	129,5	7,39	25,5
0,009(mg L⁻¹) inicial	7,77	108,5	7,02	26,5
0,009(mg L⁻¹) 48 h	7,99	127,4	7,40	26,0
0,3(mg L⁻¹) inicial	7,75	109,6	7,05	26,1
0,3(mg L⁻¹) 48 h	8,15	126,4	7,42	26,0
0,9(mg L⁻¹) inicial	7,80	109,9	7,05	26,1
0,9(mg L⁻¹) 48 h	7,76	127,4	7,40	26,0

Fonte: próprio autor.

Oh et al. (2006) estudou a toxicidade aguda de seis fármacos da classe dos BZD (fembendazol, tiabendazol, flubendazol, oxfendazol, febantel e albendazol) para os organismos *Vibrio Fischeri* (bactéria marinha) monitorados em 5 e 15 min. de

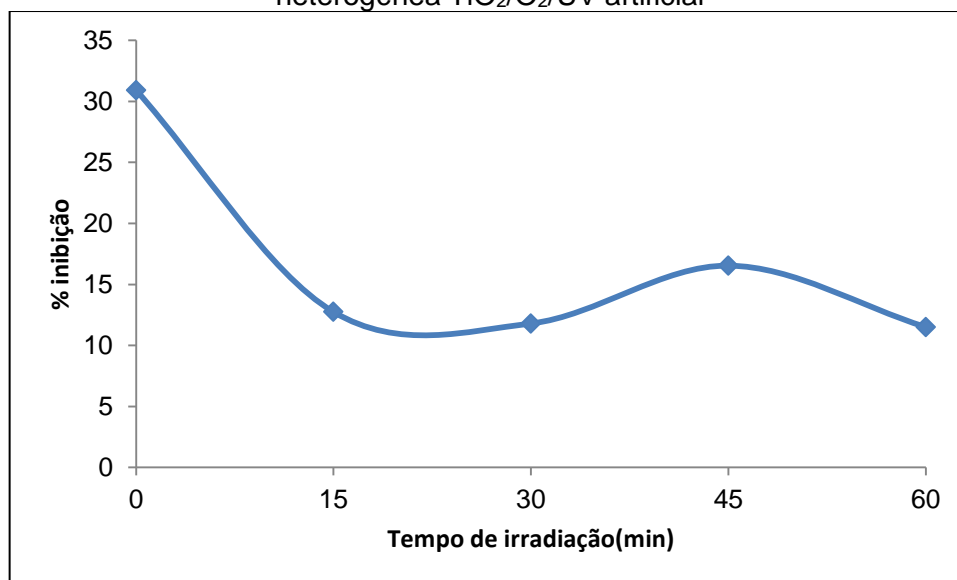
exposição e a *Daphnia magna* (invertebrado de água doce), monitorados em 24, 48, 72 e 96 horas, observando que a bactéria *Vibrio Fischeri* apresentou menor sensibilidade aos fármacos, sendo o ABZ mais tóxico para o organismos em um concentração de $770 \mu\text{g L}^{-1}$ e para as *Daphnia magna* o ABZ em 48 horas apresentou uma CE_{50} de $67,9 \mu\text{g L}^{-1}$. Para embriões de zebrafish (*Danio rerio*) o ABZ expressou alta toxicidade com um CE_{50} $0,042 \text{ mg L}^{-1}$ (CARLSSON et al., 2013).

No presente estudo obteve-se uma CE_{50} de 24 h foi de $0,16 \text{ mg L}^{-1}$ e em 48 h de $0,074 \text{ mg L}^{-1}$ para o ABZ.

5.5.2 Toxicidade crônica com *Raphidocelis subcapitata*

Os ensaios para avaliação da toxicidade crônica foram realizados com a microalga *Raphidocelis subcapitata* às amostras obtidas do processo de fotocatalise heterogênea (0, 15, 30, 45 e 60 minutos), em um período de 72 horas de exposição, o percentual de inibição foi determinado através da contagem celular (Eq. 11). Os resultados seguem apresentados na Figura 48.

Figura 48: Porcentagem de imobilização de organismos *Raphidocelis subcapitata* em 72 horas de exposição a amostras dos tempos coletados durante o processo de fotocatalise heterogênea $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial



Fonte: próprio autor.

As amostras referentes à concentração inicial (0 minutos) apresentaram uma inibição aproximadamente de 30%, nos tempos de 15, 30, 45 e 60 minutos do processo um percentual de inibição de aproximadamente 14%, 10%, 15% e 10%, respectivamente. Pode-se observar uma redução na porcentagem de inibição ao

decorrer do processo.

Um estudo realizado empregando os processos oxidativos avançados para remoção do antibiótico moxifloxacina foi realizado empregando a concentração inicial do fármaco de 50 mg L⁻¹, 1 g L⁻¹ de TiO₂ (Degussa-P25) e uma radiação UV-300 a 440 nm, o estudo foi conduzido durante 150 minutos observando que após 90 min. a detecção do fármaco estava abaixo do LD, ensaios toxicológicos utilizando a microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*, os ensaios foram conduzidos empregando as soluções no tempo de 0, 30, 60, 90 e 150 minutos, os resultados também apresentaram um percentual de inibição de 72% no início do processo e ao final este percentual reduziu a 12% (VAN DOORSLAER et al., 2015).

6. CONCLUSÃO

De acordo com os parâmetros determinados pela ANVISA, tem-se que o método foi validado, sendo o detector DAD mais sensível para detecção e quantificação dos fármacos em estudos, portanto o escolhido para posteriores detecções e quantificações.

Os ensaios de sorção ao solo revelaram que o ABZ apresenta uma maior tendência a adsorção em relação ao ABZSO no solo em estudo. Em pH 3, o processo revelou maior reversibilidade para ambos os fármacos, onde o processo de dessorção é mais favorecido em relação ao processo de adsorção no solo em estudo.

O processo de fotocatalise heterogênea com o emprego do sistema $\text{TiO}_2/\text{O}_2/\text{UV}$ artificial apresentou uma remoção total do ABZ em 30 minutos de reação e para o ABZSO uma remoção de 38% ao final de 60 minutos de irradiação. Pode-se concluir que a oxidação pelos radicais hidroxilas liberados durante a reação contribuiu para oxidação do ABZ em seu metabólito ABZSO, assim os resultados de remoção para o ABZSO demonstraram menor eficiência. Com o emprego da luz solar observou uma remoção de 87 e 18% para o ABZ e ABZSO, respectivamente.

Os ensaios com os organismos *Daphnia similis* demonstraram uma redução de 40% dos efeitos tóxicos ao final do processo de fotocatalise heterogênea. Os resultados da exposição destes organismos aos fármacos isolados demonstram uma CE_{50} de 24 horas de $0,16 \text{ mg L}^{-1}$ e em 48 horas de $0,074 \text{ mg L}^{-1}$ para o ABZ e nas concentrações aplicadas não apresentou toxicidade do ABZSO aos organismos.

Os ensaios de avaliação de toxicidade crônica revelaram um percentual de inibição dos organismos *R. subcaptata* de aproximadamente 30% no início do processo e ao final do processo esta inibição reduziu a aproximadamente 10%.

Os ensaios de fitotoxicidade para as sementes de feijão e alface revelam alterações no percentual de germinação e desenvolvimento das plântulas, sendo que as sementes de alface foram as mais sensíveis ao uso dos solventes.

A solução contaminada com o fármaco, nas condições deste experimento, promove modificações morfológicas radiculares em plântulas de alface e feijão;

A sensibilidade da alface aos solventes possui relação com a restrição de crescimento do sistema radicular.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

O presente trabalho revelou que os fármacos ABZ e ABZSO podem apresentar potenciais de toxicidade ao meio ambiente, sendo necessários mais estudos em relação ao seu comportamento em outros tipos de solo brasileiros. Utilização de outros níveis tróficos como *Chironomus*, organismos de sedimentos para avaliação de seus efeitos tóxicos.

8. REFERÊNCIAS

- 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.
- ALLEONI, L. R. F.; MELLO, J. W. V. de; ROCHA, W. S. D.da. Eletroquímica, adsorção e troca iônica no solo. In: MELO, V. de F.; ALLEONI, L. R. F. **Química e mineralogia do solo**. Viçosa: Elsevier, 2009. Cap. 12. p. 70-129.
- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de análise de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal-PANVET. Monitoramento de Resíduos em Leite Exposto ao Consumo Relatório 2006-2007, p. 76, 2009.
- BALESTRI, M.; CECCARINI, A.; FORINO, L. M. C.; ZELKO, I.; MARTINKA, M.; LUX, A.; CASTIGLIONE, M. R. Cadmium uptake, localization and stress-induced morphogenic response in the fern *Pteris vittata*. **Planta**, [s.l.], v. 239, n. 5, p.1055-1064, fev. 2014. Springer Nature. doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s00425-014-2036-z>.
- BÁRTÍKOVÁ, H.; PODLIPNÁ, R.; SKÁLOVÁ, L. Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants. **Chemosphere**, [s.l.], v.144, p.2290-2301, 2016. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.137>.
- BEYNON, S. Potential environmental consequences of administration of anthelmintics to sheep. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v. 189, n. 1, p.113-124, set. 2012. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.040>.
- BIAŁK-BIELINSKA, A.; MASZKOWSKA, J.; MROZIK, W.; BIELAWSKA, A.; KOŁODZIEJSKA, A. M.; PALAVINSKAS R.; STEPNOWSKI P.; KUMIRSKA, J. Sulfadimethoxine and sulfaguanidine: Their sorption potential on natural soils. **Chemosphere**, [s.l.], v. 86, n. 10, p.1059-1065, mar. 2012. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.11.058>.
- BOXALL, A. B. A. The environmental side effects of medication. **EMBO reports**, v. 5, n. 12, p. 1110-1116, 2004. doi: 10.1038/sj.embor.7400307.
- BOXALL, A. B. A.; JOHNSON, P.; SMITH, E. J.; SINCLAIR, C. J.; STUTT, E.; LEVY, L. S. Uptake of Veterinary Medicines from Soils into Plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 54, n. 6, p.2288-2297, mar. 2006. American Chemical Society (ACS). doi: <http://dx.doi.org/10.1021/jf053041t>
- BOXALL, A. B.; KOLPIN, D. W.; HALLING-S., B.; TOLLS, J. Are veterinary medicines causing environmental risks? **Environmental science & technology**, v. 37, n. 15, p. 286A-294A, 2003. doi: 10.1021/es032519b.

BOXALL, A.B.A.; FOGG, L.A.; BLACKWELL, P.A.; KAY, P. Veterinary Medicines in the Environment. In: WARE, G. W.; ALBERT, L. A.; CROSBY, D. G.; VOOGT, P.; HUTZINGER, O.; KNAACK, J. B.; YANG, R. S. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, 2004.

BRAZ, F.S.; SILVA, M.R.A.; SILVA, F.S.; ANDRADE, S.J.; FONSECA, A.L.; KONDO, M.M. Photocatalytic Degradation of Ibuprofen Using TiO₂ and Ecotoxicological Assessment of Degradation Intermediates against *Daphnia similis*. **Journal of Environmental Protection**, v.5, p. 620-626, 2014.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.13, p. 129-146, 2003.

CAMPO, N. L.; RODRIGUEZ, C.; DAVID, J.; MARQUEZ, C.; ÁNGEL, J. Aplicación de la fotocatalisis heterogénea solar para la degradación de residuos farmacéuticos en efluentes Universidad de Cartagena 2012. Disponível em: <http://190.242.62.234:8080/jspui/handle/11227/120>. Acesso em: 10 dez.2017.

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.

CAPECE, B. P. S.; ARZO, A.; ADELL, C. **Caracterización farmacológica del albendazol sulfóxido y de sus enantiómeros en ovejas y ratas**. Dissertação (mestrado) Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de Veterinària, 2002.

CARLSSON, G.; PATRING, J.; ULLERÅS, E.; OSKARSSON, A. Developmental toxicity of albendazole and its three main metabolites in zebrafish embryos. **Reproductive Toxicology**, [s.l.], v. 32, n. 1, p.129-137, jul. 2011. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.05.015>

CARLSSON, A.G.; PATRING, J.; KREUGER, J.; NORRGRENA, L.; OSKARSSON, A. Toxicity of 15 veterinary pharmaceuticals in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Aquatic Toxicology**, [s.l.], v. 126, p.30-41, jan. 2013. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.10.008>.

CASELANI, K. Resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 17, n. 3, p. 187-195, 2014. Disponível em: <file:///C:/Users/Tanca/Downloads/4944-15366-3-PB%20(2).pdf>. Acesso em: 15 out. 2017.

CHUNG, H. S.; LEE, Y.; RAHMAN, M. M.; ABD EL-ATY, A. M.; HAN SOL LEE; KABIR, M. H.; KIM, S.; PARK, B.; KIM, J.; HACIMÜFTÜOĞLU, F.; NAHAR, N.; SHIN, H.; SHIMA, J. Uptake of the veterinary antibiotics chlortetracycline, enrofloxacin, and sulphathiazole from soil by radish. **Science of The Total Environment**, [s.l.], v. 605-606, p.322-331, dez. 2017. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.231>.

CIZMIC, M.; LJUBAS, B.; CURKOVIC, L.; SKORIC, I.; BABIC, S. Kinetics and

degradation pathways of photolytic and photocatalytic oxidation of the anthelmintic drug praziquantel. **Journal of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 323, p.500-512, fev. 2017. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016> M.

CZECH, N. B.; JOŠKO I.; OLESZCZUK, P. Ecotoxicological evaluation of selected pharmaceuticals to *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna* before and after photooxidation process. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.], v. 104, p.247-253, jun. 2014. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.03.024>

CHEMSPIDER, 1998. Albendazole. Disponível em: <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.1998.html?rid=a9488b1a-c7a9-4489-89f0-1425d0846541>>. Acesso em: 01 dez. 2017.

DANAHER, M.; DE RUYCK, H.; CROOKS, S. R.; DOWLING, G. ; O'KEEFFE, M. Review of methodology for the determination of benzimidazole residues in biological matrices. **Journal of Chromatography**, v. 845, n. 1, p. 1-37, 2007.

DAYAN, A. D. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. **Acta tropica**, v. 86, n. 2, p. 141-159, 2003.

DICK, D. P.; NOVOTNY, E. H.; DIECKOW, J. Eletroquímica, adsorção e troca iônica no solo. In: MELO, Vander de Freitas et al. **Química e mineralogia do solo**. Viçosa: Elsevier, 2009. Cap. 6. p. 2-55.

DEWIL, R.; MANTZAVINOS D.; POULIOS I.; RODRIGO, M.A. New perspectives for Advanced Oxidation Processes. **Journal of Environmental Management**, [s.l.], v. 195, p.93-99, jun. 2017. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.04.010>.

DO NASCIMENTO, R. F.; DE LIMA, A. C. A.; VIDAL, C. B.; MELO, D. De Q.; RAULINO, G. S. C. Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais. **Biblioteca de Ciências e Tecnologia**, 2014.

DORETTO, K. M.; PERUCHI, L. M.; RATH, S. Sorption and desorption of sulfadimethoxine, sulfaquinoxaline and sulfamethazine antimicrobials in Brazilian soils. **Science of The Total Environment**, [s.l.], v. 476-477, p.406-414, abr. 2014. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.01.024>.

DRUNGBANK, 2011. Albendazole. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00518>>. Acesso em: 01 dez. 2017.

EMBRAPA- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2006.

EMA- European Medicines Agency: Guideline on environmental impact assessment for veterinary medicinal products in support of the VICH guidelines GL6 and GL38 EMA/CVMP/ERA/418282/2005, p. 22-77, 2016.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e agrotecnologia**. Lavras, v.38, n.2, p. 109-112, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>>. Acesso em: 30jan. 2017.

FERREIRA, I. V.L.; DANIEL, L. A. Fotocatálise Heterogênea Com TiO_2 Aplicada ao Tratamento de Esgoto Sanitário Secundário. **Eng. Sanit. Ambient.**, São Carlos, v. 9, n. 4, p.335-342, 2004.

FONTES, M. P. F.; CAMARGO, O. D.; SPOSITO, G. Eletroquímica das partículas coloidais e sua relação com a mineralogia de solos altamente intemperizados. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 3, p. 627-646, 2001.

GAO, Y.; SUN, X.; GU, X.; SUN, Z. Gene expression responses in different regions of *Eisenia fetida* with antiparasitic albendazole exposure. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 89, p. 239-244, 2013. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.12.004.

GAYA, A. U. I.; ABDULLAH, A. H. Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems. **Journal Of Photochemistry And Photobiology C: Photochemistry Reviews**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.1-12, mar. 2008. Elsevier BV. Doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2007.12.003>.

GOKBULUT, C.; AKAR, F.; MCKELLAR, Q. A. Plasma disposition and faecal excretion of oxfendazole, fenbendazole and albendazole following oral administration to donkeys. **The Veterinary Journal**, [s.l.], v. 172, n. 1, p.166-172, jul. 2006. Elsevier BV. Doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.02.022>

GONG, W.; LIU, X.; HE, H.; WANG L.; DAI, G. Quantitatively modeling soil–water distribution coefficients of three antibiotics using soil physicochemical properties. **Chemosphere**, [s.l.], v. 89, n. 7, p.825-831, out. 2012. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.04.064>.

GROGAN, G. Oxidation: Asymmetric Enzymatic Sulfoxidation. **Comprehensive Chirality**, [s.l.], p.295-328, 2012.Elsevier.<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-08-095167-6.00718-7>.

GROS, M.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELÓ, D. Fast and comprehensive multi-residue analysis of a broad range of human and veterinary pharmaceuticals and some of their metabolites in surface and treated waters by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [s.l.], v. 1248, p.104-121, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.05.084>.

HAPESHI, A. E.; ACHILLEOS, M.I. V. ; MICHAEL C.; XEKOUKOULOTAKIS N.P.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Drugs degrading photocatalytically: Kinetics and mechanisms of ofloxacin and atenolol removal on titania suspensions. **Water Research**, [s.l.], v. 44, n. 6, p.1737-1746, 2010. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.11.044>.

HAVLÍKOVÁ, L.; SATÍNSKÝ, D.; SOLICH, P. Aspects of decontamination of ivermectin and praziquantel from environmental waters using advanced oxidation technology. **Chemosphere**, [s.l.], v. 144, p.21-28, fev. 2016. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.08.039>.

HORVAT, A. J.; BABIĆ, S.; PAVLOVIĆ, D. M.; AŠPERGER, D.; PELKO, S.;

KAŠTELAN-MACAN, M.; MANCE, A. D. Analysis, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, p. 61-84, 2012. DOI: 10.1016/j.trac.2011.06.023.

IBGE: Rebanho bovino alcança a marca recorde de 215,2 milhões de cabeças. 2016. Disponível em :<saladeimprensa.ibge.gov.br>. Acesso em: 04jun. 2017.

IBHADON, A.; FITZPATRICK, P. Heterogeneous Photocatalysis: Recent Advances and Applications. **Catalysts**, [s.l.], v. 3, n. 1, p.189-218, 2013. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3390/catal3010189>>. Acesso em: 15 mai. 2017.

MELLO, I.S.; CARVALHO, M. A. de; FERREIRA, J. N.; COGO, J. M.; SILVA R. A. R. da; GUERRA, D. L.Revisão Sobre Argilominerais e Suas Modificações Estruturais com Ênfase em Aplicações Tecnológicas e Adsorção - Uma Pesquisa Inovadora Em Universidades.Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta, v.9, n.1, p.141-152, 2011.

JARDIM, W. F.; MORAES, S. G.; TAKIYAMA, M. M. K. Photocatalytic degradation of aromatic chlorinated compounds using TiO₂: toxicity of intermediates. **Water Research**, v. 31, n. 7, p. 1728-1732, 1997.

JJEMBA, P. K. The potential impact of veterinary and human therapeutic agents in manure and biosolids on plants grown on arable land: a review. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, [s.l.], v. 93, n. 1-3, p.267-278, dez. 2002. Elsevier BV. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/s0167-8809\(01\)00350-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0167-8809(01)00350-4).

KAPANEN, A.; ITÄVAARA, M.Ecotoxicity Tests for Compost Applications. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [s.l.], v. 49, n. 1, p.1-16, 2001. Elsevier BV. Doi:<http://dx.doi.org/10.1006/eesa.2000.1927>.

KIM, HYO-JUNG; LEE, D. S.; KWON, JUNG-HWAN. Sorption of benzimidazole anthelmintics to dissolved organic matter surrogates and sewage sludge. **Chemosphere**, [s.l.], v. 80, n. 3, p.256-262, jun. 2010. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.04.029>

KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. **Environment International**, [s.l.], v. 35, n. 2, p.402-417, fev. 2009. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2008.07.009>.

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.

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. **Coffee Science**, v. 9, p. 506-515, 2014.

KONDO, M.M.; TAKIYAMA, L. R.; GRASSI, M. T.; ORLANDA, J.F.F.; NOBREGA, S.M.; FERREIRA, M.G.A.B. Fotocatálise Heterogênea: Tratamento Alternativo de Atmosferas Contaminadas. **Caderno Pesquisa**, São Luís, v. 10, n. 1, p.45-52, 1999.

KOSCHORRECK, J.; KOCH, C.; RÖNNEFAHRT, I. Environmental risk assessment

of veterinary medicinal products in the EU—a regulatory perspective. **Toxicology Letters**, v. 131, n. 1, p. 117-124, 2002. doi: 10.1016/S0378-4274(02)00047-4.

LAMHAMDI, M.; BAKRIM, A.; AARAB, A.; LAFOND, R.; SAYAH, F. Lead phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.) seed germination and seedlings growth. **Comptes Rendus Biologies**, v.334, n.2, p.118-126, 2011.

LANUSSE, C. E.; PRICHARD, R. K. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. **Veterinary Parasitology**, v. 49, n. 2, p. 123-158, 1993. Disponível em [:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8249240>](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8249240). Acesso em: 18 nov. 2016.

LESPINE, A.; MÉNEZ, C.; BOURGUINAT, C.; PRICHARD, R. K. P-glycoproteins and other multidrug resistance transporters in the pharmacology of anthelmintics: prospects for reversing transport-dependent anthelmintic resistance. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 58-75, 2012.

LIGUORO de M.; POLTRONIERI, C.; CAPOLONGO, F.; MONTESISSA, C. Use of sulfadimethoxine in intensive calf farming: evaluation of transfer to stable manure and soil. **Chemosphere**, [s.l.], v. 68, n. 4, p.671-676, jun. 2007. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.02.009>.

LIMA, T.do C.de. **Desenvolvimento e validação de métodos para o controle analítico do anti-helmíntico ricobendazole®**. 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado em Química), UFSCar, São Carlos, 2013.

LIOU, S.; CHEN, W. Oxidative transformation kinetics and pathways of albendazole from reactions with manganese dioxide. **Journal Of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 347, p.299-306, abr. 2018. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.12.067>.

MACHADO, A. E.; FRANÇA, M. D.; VELANI, V.; MAGNINO, G. A.; VELANI, H. M., FREITAS, F. S.; SCHMÜCKER, M. Characterization and Evaluation of the Efficiency of TiO₂/Zinc Phthalocyanine Nanocomposites as Photocatalysts for Wastewater Treatment Using Solar Irradiation. **International Journal of Photoenergy**, [s.l.], v. 2008, p.1-12, 2008. Hindawi Publishing Corporation. doi:<http://dx.doi.org/10.1155/2008/482373>.

MAGALHÃES, D. de P.; FERRAO-FILHO, A. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 3, 2008.

MALATO S. A.; FERNANDEZ-IBANEZ, P. A. ; MALDONADO M.I.; BLANCO A. J.; GERNJAK, A. W. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. **Catalysis Today**, [s.l.], v. 147, n. 1, p.1-59, set. 2009. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cattod.2009.06.018>.

MAMY, L.; BARRIUSO, E. Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils. **European Journal of Soil Science**, v. 58, n. 1, p. 174-187, 2007.

MARCIOCHA, D.; KALKA, J.; TUREK-SZYTOW, J.; SURMACZ-GÓRSKA, J.A.

Pretreatment Method for Analysing Albendazole by HPLC in Plant Material. **Water, Air and Soil Pollution**, [s.l.], v. 224, n. 8, p.1-8, 30 jul. 2013. Springer Nature. Doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s11270-013-1646-6>.

MARTÍNEZ, A.C.; CANLE, L.M.; FERNÁNDEZA, M.I.; SANTABALLA, J.A.; FARIA, J. Aqueous degradation of diclofenac by heterogeneous photocatalysis using nanostructured materials. **Applied Catalysis B: Environmental**, [s.l.], v. 107, n. 1-2, p.110-118, ago. 2011. Elsevier BV. Doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.apcatb.2011.07.003>.

MCKELLAR, Q. A.; JACKSON, F. Veterinary anthelmintics: old and new. **Trends In Parasitology**, [s.l.], v. 20, n. 10, p.456-461, out. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2004.08.002>.

MELLO, S.; CARVALHO, M. A.; FERREIRA, J. N.; COGO, J. M.; SILVA, R. Revisão sobre argilominerais e suas modificações estruturais com ênfase em aplicações tecnológicas e adsorção– Uma pesquisa inovadora em universidades. **Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta**, v. 9, n. 1, p. 141-152, 2011.

MONTFORTS, M. H. M. M. Environmental risk assessment for veterinary medicinal products Part 1. Non-immunological drug substances. **Second update**. p.1- 88. 2004.

MONTFORTS, M. H. M. M. Validation of the exposure assessment for veterinary medicinal products. **Science of The Total Environment**, [s.l.], v. 358, n. 1-3, p.121-136, abr. 2006. Elsevier BV. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.04.008>.

MOTA, J. C. A.; ASSIS J.; RAIMUNDO N.; AMARO FILHO, J.; ROMERO, R. E.; MOTA, F. O. B.; LIBARDI, P. L. Atributos mineralógicos de três solos explorados com a cultura do melão na Chapada do Apodi: RN. **Rev. Bras. Ciênc. Solo**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 445-454, Jun. 2007 doi:<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832007000300004>

NASCIMENTO, V. A.; FILHO, M. B.; DIAS, M. Evolução do efetivo de bovinos no Brasil, estado de Goiás e município de Jataí (GO). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.13 n.23; p. 610, 2016.

NEUMANN, M. G.; GESSNER, F.; CIONE, A. P. P.; SARTORI, R. A.; CAVALHEIRO, C. C. S. Interações entre corantes e argilas em suspensão aquosa. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 6, p. 818-824, 2000. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422000000600016>.

NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. A Fotocatálise Heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, 21, 69-72, 1997.

NOGUEIRA, R.F. P.; JARDIM, W. F. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, [s.l.], v. 21, n. 1, p.69-72, fev. 1998. FapUNIFESP (SciELO). doi:<http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40421998000100011>

OECD. “**Guideline for the testing of chemicals 106: Adsorption-Desorption using batch equilibrium method**”, Organization for Economic Cooperation and

Development". Paris, France, 2000

OH, S.J.; PARK, J.; LEE, M.J.; PARK, S.Y.; LEE, J.H.; CHOI, K. Ecological Hazard Assessment of Major Veterinary Benzimidazoles: Acute And Chronic Toxicities to Aquatic Microbes And Invertebrates. **Environmental Toxicology And Chemistry**, [s.l.], v. 25, n. 8, p.2221-2226, 2006. Wiley-Blackwell. doi:<http://dx.doi.org/10.1897/05-493r.1>

OLIVEIRA Jr., R. S.; REGITANO, J. B. Dinâmica de pesticidas no Solo. In: MELO V. F., ALLEONI L. R. F. **Química e Mineralogia do Solo**. Vol 2. Viçosa-MG: SBCS, 2009. Cap. XV. P. 188-241. DE MENEZES OLIVEIRA, V., DE OLIVEIRA, R., AMORIM, M. J., DOMINGUES, I.; SOARES, A. M. Os medicamentos veterinários no meio ambiente: aplicações e implicações. **Toxicologia e Química Ambiental**, [SI], v. 1, n. 2, p.183-192, 2009

OLIVEIRA, V. DE M.; MÓNICA, R. DE O.; DOMINGUES, J.B. A. I.; SOARES, A. M.V.M. Os medicamentos veterinários no meio ambiente: aplicações e implicações. **Toxicologia e Química Ambiental**, [SI], v. 1, n. 2, p.183-192, 2009.

OLIVEIRA NETO, O. F.de; ARENAS, A. Y.; FOSTIER, A. H. Sorption of thiabendazole in sub-tropical Brazilian soils. **Environmental Science And Pollution Research**, [s.l.], v. 24, n. 19, p.16503-16512, 29 maio 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-017-9226-8>.

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; AIROLD, F. P. S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**, [s.l.], v. 31, n. 5, p.1190-1198, 2008. FapUNIFESP (SciELO).doi: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000500048>

PAVLOVIĆ, D. M.; GLAVAČ, A.; GLUHAK, M.; RUNJE, M. Sorption of albendazole in sediments and soils: Isotherms and kinetics. **Chemosphere**, [s.l.], v. 193, p.635-644, fev. 2017. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.025>.

PEREZ, A.; REYNEL R.; NUÑEZ, G.; MARGARITA, M. Modelado de un reactor fotocatalítico heterogéneo solar con TiO₂ para el tratamiento de efluentes contaminados con residuos farmacéuticos -dic-2012 Universidad de Cartagena Tesis (Ingeniero Químico).-Universidad de Cartagena. Facultad de Ciencias E Ingenierías. Programa de Ingeniería Química, 2012. Disponível em < <http://190.242.62.234:8080/jspui/handle/11227/13631>>. Acesso em: 23 dez. 2017.

PODLIPNA, R.; SKALOVA, L.; SEIDLOVA, H.; SZOTAKOVA, B.; KUBIC, V.; STUCHLIKOVA L.; JIRASKO, R.; VANEK, T.A, VOKRAL I.. Biotransformation of benzimidazole anthelmintics in reed (*Phragmites australis*) as a potential tool for their detoxification in environment. **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 144, p.216-224, set. 2013. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.105>.

PRCHAL, L.; PODLIPNÁ, R.; LAMKA, J.; DĚDKOVÁ, T.; SKÁLOVÁ, L., VOKŘÁL, I.; SZOTÁKOVÁ, B. Albendazole in environment: faecal concentrations in lambs and impact on lower development stages of helminths and seed germination. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-8, 2016. doi: 10.1007/s11356-

016-6472-0.

PRIETO-RODRIGUEZ, L.; MIRALLES-CUEVAS, S.; OLLER, I.; AGÜERA, A.; PUMA, G. L.; MALATO, S. Treatment of emerging contaminants in wastewater treatment plants (WWTP) effluents by solar photocatalysis using low TiO₂ concentrations. **Journal of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 211-212, p.131-137, abr. 2012. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.008>.

RATH, S.; SCHRODER, C. H. K.; RODRIGUES-SILVA, C.; FERREIRA, F. D. O.; DIONIZIO, A. C.; DAL BOSCO, S. M. Avermectinas no agronegócio brasileiro: uma solução ou um problema? **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 1, p. 8-24, 2016. Disponível em: <file:///C:/Users/Tanca/Downloads/30656-59369-1-PB.pdf>. Acesso em: 21 nov.2016.

REGITANO, J. B.; LEAL, R. M. P.. Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 3, p. 601-616, 2010.

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. >. Acesso em: 10 jan. 2018.

REN, M.; DROSOS, M.; FRIMMEL, F.H. Inhibitory effect of NOM in photocatalysis process: Explanation and resolution. **Chemical Engineering Journal**, [s.l.], v. 334, p.968-975, out. 2017. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.099>.

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.

PALAVINSKAS, R.; STEPNOWSKI, P.; KUMIRSKA; J.Sulfadimethoxine and sulfaguanidine: Their sorption potential on natural soils. **Chemosphere**, [s.l.], v. 86, n. 10, p.1059-1065, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.11.058>.

PEREIRA, L. A.; JARDIM, I. C. S. F.; FOSTIER, A. H.; RATH, S. Ocorrência, comportamento e impactos ambientais provocados pela presença de antimicrobianos veterinários em solos. **Química Nova**, v. 35, n.1, p. 159-169, 2012.

RIZZO, L.; MERIC, S.; KASSINOS, D.; GUIDA, M.; RUSSO, F.; BELGIORNO, V.Degradation of diclofenac by TiO₂ photocatalysis: UV absorbance kinetics and process evaluation through a set of toxicity bioassays. **Water Research**, [s.l.], v. 43, n. 4, p.979-988, mar. 2009. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.11.040>.

RODRIGUES-SILVA, C.; MANIERO, M. G.; PERES, M. S.; GUIMARÃES, J. R. Occurrence and degradation of quinolones by advanced oxidation processes. **Química Nova**, [s.l.], p.868-885, 2014. GN1 Genesis Network.

<http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140139>

SAIEN, J.; KHEZRIANJOO, S. Degradation of the fungicide carbendazim in aqueous solutions with UV/TiO₂ process: optimization, kinetics and toxicity studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 157, n. 2, p. 269-276, 2008.

SIEVERS, M. Advanced Oxidation Processes. **Treatise on Water Science**, [s.l.], p.377-408, 2011. Elsevier. Doi:<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-444-53199-5.00093-2>.

SIM, W.; KIM, H.; CHOI, S.; WON, J.; OH, J. Evaluation of pharmaceuticals and personal care products with emphasis on anthelmintics in human sanitary waste, sewage, hospital wastewater, livestock wastewater and receiving water. **Journal of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 248-249, p.219-227, mar. 2013. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.01.007>.

SINDAN-Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal, 2016. Disponível em :<<http://www.sindan.org.br/>>. Acesso em: 10 maio. 2016.

SITTIG, S.; KASTEEL, R.; GROENEWEG, J.; HOFMANN, D.; THIELE, B., KÖPPCHEN, S., VEREECKEN, H. Dynamics of transformation of the veterinary antibiotic sulfadiazine in two soils. **Chemosphere**, [s.l.], v. 95, p.470-477, jan. 2014. Elsevier BV. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.09.100>.

SPARKS, D.L. Environmental Soil Chemistry. 2a ed. USA: Academic Press; **2003**.

STUHLÍKOVÁ, L.; JIRASKO, R.; SKALOVÁ, L.; PAVLÍK, F.; SZOTAKOVÁ, B.; HOLCAPEK, M.; VANEK, T.; PODLIPNA R. Metabolic pathways of benzimidazole anthelmintics in harebell (*Campanula rotundifolia*). **Chemosphere**, [s.l.], v. 157, p.10-17, ago. 2016. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.015>.

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

TOKODE, O.; PRABHUB, R.; LINDA, A. L., PETER K.; ROBERTSON, J. Controlled periodic illumination in semiconductor photocatalysis. **Journal Of Photochemistry And Photobiology A: Chemistry**, [s.l.], v. 319-320, p.96-106, mar. 2016. Elsevier BV. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochem.2015.12.002>.

TOLLS, J. Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 35, n. 17, p.3397-3406, set. 2001. American Chemical Society (ACS). Doi: <http://dx.doi.org/10.1021/es0003021>

VAN DOORSLAER, X. ; HAYLAMICHEAL, I. D.; DEWULF, J.; LANGENHOVE , H.V. ; JANSSEN, C. R.; DEMEESTERE, K. Heterogeneous photocatalysis of moxifloxacin in water: Chemical transformation and ecotoxicity. **Chemosphere**, [s.l.], v. 119, p.75-80, jan. 2015. Elsevier BV. Dói:<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.048>

WAGIL, M.; BIAŁK-BIELIŃSKA, A.; PUCKOWSKI, A.; WYCHODNIK, K.; MASZKOWSKA, J.; MULKIEWICZ, E.; KUMIRSKA, J.; STEPNOWSKI, P.;

STOLTE, S. Toxicity of anthelmintic drugs (fenbendazole and flubendazole) to aquatic organisms. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.], v. 22, n. 4, p.2566-2573, 6 set. 2014. Springer Nature. doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s11356-014-3497-0>.

WANG, T. C.; LU, N.; LI, J.; WU, Y. Plasma-TiO₂ Catalytic Method for High-Efficiency Remediation of p-Nitrophenol Contaminated Soil in Pulsed Discharge. **Environmental Science & Technology**, [s.l.], v. 45, n. 21, p.9301-9307, nov. 2011. American Chemical Society (ACS). doi:<http://dx.doi.org/10.1021/es2014314>.

ZHANG J.; LI ZHAO JUN; GE GAOFEI; SUN WANCHUN; LIANG YONGCHAO; WU LAOSHENG. Impacts of soil organic matter, pH and exogenous copper on sorption behavior of norfloxacin in three soils. **Journal of Environmental Sciences**, [s.l.], v. 21, n. 5, p.632-640, jan. 2009. Elsevier BV. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/s1001-0742\(08\)62318-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1001-0742(08)62318-9)

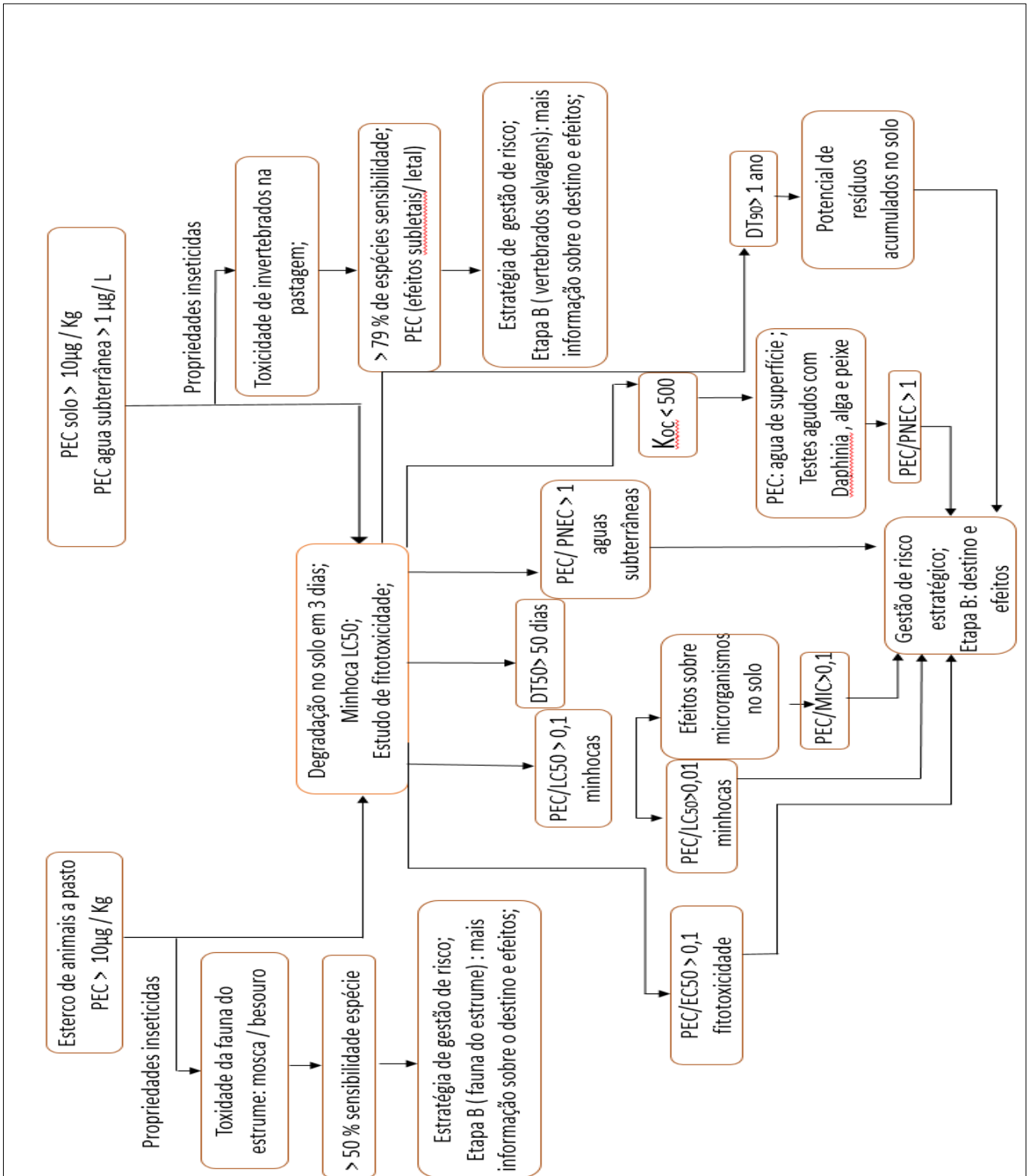
ZHANG, Y.; HUANG, X.; YUAN, D. Determination of benzimidazole anthelmintics in milk and honey by monolithic fiber-based solid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography–diode array detection. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, [s.l.], v. 407, n. 2, p.557-567, 19 nov. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-014-8284-8>.

ZHAO, Z.; ZHANG, Y.; XUAN, Y.; SONG, W.; SI, W.; ZHAO, Z.; RAO, Q. Ion-exchange solid-phase extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of veterinary drugs in organic fertilizers. **Journal Of Chromatography B**, [s.l.], v. 1022, p.281-289, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.04.008>

ZIOLLI, R. L.; JARDIM W. F. Mecanismo de Fotodegradação de Compostos Orgânicos Catalisada por TiO₂. **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 319-324, 1998.

Anexo I

Árvore decisória para avaliação do risco ambiental pela exposição a MVS



Fonte: BOXALL et al. (2004)