

MARIANA BEATRIZ TEIXEIRA DINIZ

REMOÇÃO DE TRIMETOPRIM DE ÁGUAS PELO USO DE NANOESTRUTURAS DE ÓXIDO DE MANGANÊS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

D585r
2018
Diniz, Mariana Beatriz Teixeira, 1992-
Remoção de trimetoprim de águas pelo uso de
nanoestruturas de óxido de manganês / Mariana Beatriz Teixeira
Diniz. – Viçosa, MG, 2018.
xi, 52 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Antônio Augusto Neves.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: r. 45-52.

1. Oxidação. 2. Antibióticos - Oxidação. 3. Bimessita.
4. Água - Purificação - Oxidação. 5. Cromatografia a gás.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 541.39

MARIANA BEATRIZ TEIXEIRA DINIZ

REMOÇÃO DE TRIMETOPRIM DE ÁGUAS PELO USO DE NANOESTRUTURAS DE ÓXIDO DE MANGANÊS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.


APROVADA: 21 fevereiro de 2018.



Fernanda Fernandes Heleno



Efraim Lázaro Reis



André Fernando de Oliveira
(Coorientador)

Maria Eliana L. Ribeiro de Queiroz
(Coorientadora)



Antônio Augusto Neves
(Orientador)

*Ao Pedro,
Aos meus pais,
À minha família,
Aos amigos*

Com muito carinho, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Antônio Augusto, pelo incentivo, orientação e amizade. Obrigada por muitas vezes ser como um pai para mim.

Aos coorientadores André Fernando e Maria Eliana, pela dedicação, conselhos e amizade.

Aos amigos do LAQUA, por estarem sempre ao meu lado nessa jornada. Agradeço principalmente a Liany, Cris, Carol, Rafa e Ricardo por todo apoio e companheirismo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização do curso.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço ao meu pai por acreditar nesse sonho comigo, pela torcida, amor e carinho.

À minha mãe, por confiar em minha capacidade, mesmo quando eu não mais confiava.

À minha família, pela constante torcida e orações.

Ao Pedro, por me fazer sorrir sempre que precisei, por secar minhas lágrimas quando elas teimavam em cair e principalmente pelo amor e carinho que só encontro ao seu lado.

À Juliana, por estar sempre de portas abertas, pela amizade e sorrisos. Obrigada amora, por estar sempre a uma mensagem de distância para me fazer sentir melhor.

Aos senhores Ricardo e Mateus por estarem sempre por perto mantendo a alegria independente do mundo lá fora.

A todos, muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS.....	3
Objetivo geral	3
Objetivos específicos	3
REVISÃO DE LITERATURA.....	4
Histórico	4
Poluentes emergentes	5
Antibióticos	5
Trimetoprim	7
Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)	8
Métodos de degradação de compostos orgânicos	9
Óxido de manganês do tipo birnessita	10
MATERIAL E MÉTODOS	13
Reagentes e soluções.....	13
Instrumentação e condições cromatográficas	13
Síntese e caracterização da birnessita.....	14
Espectrometria no infravermelho (IV)	14
Análise termogravimétrica (TG)	15
Espectrometria de difração de raios-X (DRX).....	15
Potencial de carga zero (PCZ).....	15
Sistema reacional para remoção/degradação de trimetoprim em água por birnessita.....	15
Efeito do pH do meio reacional.....	16
Efeito da temperatura	16
Efeito da proporção de trimetoprim/birnessita	16
Efeito da oxigenação/desoxigenação do meio.....	17
Adaptação da técnica microextração líquido-líquido dispersiva para determinação de trimetoprim em água por GC-MS.....	17
Validação do método analítico	17
Determinação de manganês em água	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO	19

Adaptação da técnica microextração líquido-líquido dispersiva para extração de trimetoprim em água.....	19
Validação do método analítico	23
Síntese e caracterização da birnessita.....	25
Espectrometria no infravermelho (IV)	26
Análise termogravimétrica (TG)	26
Espectrometria de difração de raios-X (DRX).....	27
Potencial de carga zero (PCZ).....	28
Sistema reacional para remoção/degradação de trimetoprim em água por birnessita	29
Efeito do pH do meio reacional.....	29
Estudo da cinética de degradação do trimetoprim.....	35
Efeito da temperatura	36
Efeito da concentração de trimetoprim	40
Efeito da oxigenação/desoxigenação do meio.....	41
CONCLUSÕES.....	43
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Página do papiro de Ebers, um pergaminho médico egípcio com instruções para o preparo de diversos medicamentos à base de ervas medicinais.....	4
Figura 2: Possíveis rotas de fármacos no meio ambiente, desde sua fabricação até disposição final no meio hídrico.....	6
Figura 3: Comparação entre as estruturas de parte do anel piridínico do ácido fólico e a porção pirimidina do fármaco trimetoprim. Fonte: Adaptado de RANG <i>et al.</i> , 2016.	7
Figura 4: Esquema das diferentes estruturas dos óxidos de manganês.Fonte: FENG <i>et al.</i> , 1999.	11
Figura 5: Tubo de ensaio onde foi realizado o procedimento de extração...	19
Figura 6: Cromatograma obtido após adicionar 0,5 mL de solvente dispersor à amostra (B) e cromatograma do analito em solvente (A) na mesma concentração de 50 mg L ⁻¹ . Ambos os cromatogramas foram obtidos no modo Scan.....	20
Figura 7: Fórmula estrutural do trimetoprim indicando os átomos que podem ser protonados e seus respectivos valores de pKa.....	20
Figura 8: Cromatograma do extrato obtido da amostra com ajuste de pH do meio para aproximadamente 9 antes do procedimento de extração (B), e cromatograma do analito em solvente (A). Em ambos os casos a concentração do fármaco foi de 50 mg L ⁻¹ e a análise foi realizada no modo Scan.....	21
Figura 9: Cromatogramas obtidos com adição de cloreto de sódio para concentração final de 0,5 mol L ⁻¹ (B) e 1,0 mol L ⁻¹ (C) comparados com o resultado para a mesma concentração (50 mg L ⁻¹) de trimetoprim em solvente (A). Análises realizadas no modo Scan.	22
Figura 10: Cromatogramas obtidos com a presença de sulfato de sódio nas amostras, nas concentrações de 0,5 mol L ⁻¹ (B) e 1,0 mol L ⁻¹ (C) comparado com a mesma concentração de analito em tolueno (A).	23
Figura 11: Comparação entre os cromatogramas obtidos de extratos de amostras de água de torneira sem fortificação (A) e fortificadas (B) com trimetoprim na concentração de 200 µg L ⁻¹	24
Figura 12: Espectro de FTIR-ATR da birnessita sintetizada.	26

Figura 13: Gráfico de TG-DTG da birnessita indicando a perda de massa decorrente do aquecimento da amostra	27
Figura 14: Difratoograma de raios X da birnessita sintetizada.....	28
Figura 15: Valores de pH inicial e pH final na análise do ponto de carga zero da birnessita.....	29
Figura 16: Efeito do pH do meio sobre a porcentagem de remoção do trimetoprim por birnessita em relação ao tempo.....	30
Figura 17: Concentração de manganês liberada, em função do tempo de contato da birnessita com solução aquosa em diferentes valores de pH na ausência de trimetoprim.....	31
Figura 18: Concentração de manganês liberada, em função do tempo de contato da birnessita com solução aquosa em diferentes valores de pH na presença de trimetoprim.	31
Figura 19: Cromatogramas de extratos de alíquotas da solução aquosa de trimetoprim (10 mg L^{-1}) em contato com a birnessita (20 mg) em função do tempo de contato. Aparecimento de um possível produto de degradação do trimetoprim em 12,7 min.	32
Figura 20: Monitoramento da área do pico em 12,7 minutos, atribuído ao produto de degradação do trimetoprim em meio ácido, após contato com a birnessita em função do tempo.....	32
Figura 21: Fórmula estrutural do composto sugerido pela biblioteca utilizada pelo espectrômetro de massa, para o pico existente nos cromatogramas no tempo de retenção de 12,7 min.	33
Figura 22: Espectro de massa para o composto sugerido pelo equipamento.	33
Figura 23: Espectro de massa obtido para o produto de degradação.	34
Figura 24: Fórmula estrutural para o produto de degradação da reação entre o trimetoprim e birnessita (ALHARBI <i>et al.</i> , 2017).	34
Figura 25: Proposta de estrutura para os fragmentos 273 (A) e 137 (B).	35
Figura 26: Estudo cinético da reação de degradação, ajustando aos dados experimentais os modelos de Boltzman, pseudo 1ª ordem e pseudo 2ª ordem e respectivas análises de resíduos.....	36
Figura 27: Resultados da reação de remoção em diferentes temperaturas, com ajuste do modelo de pseudo 1ª ordem e seus resíduos.....	37

Figura 28: Variação da concentração de manganês no meio reacional com a birnessita (20 mg) em função da temperatura da reação ao longo do tempo.	38
Figura 29: Gráfico de Arrhenius para o efeito da temperatura na degradação do trimetoprim pela birnessita.	39
Figura 30: Resultado da reação de remoção utilizando diferentes concentrações de trimetoprim.	40
Figura 31: Variação da concentração de manganês na reação da birnessita com trimetoprim em diferentes concentrações, ao longo do tempo de reação.	41
Figura 32: Porcentagem de remoção de trimetoprim em relação ao tempo com o uso de ar sintético e gás nitrogênio em comparação com a reação sem o uso de gás.	42

RESUMO

DINIZ, Mariana Beatriz Teixeira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Remoção de trimetoprim de águas pelo uso de nanoestruturas de óxido de manganês.** Orientador: Antônio Augusto Neves. Coorientadores: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e André Fernando de Oliveira.

Com o desenvolvimento populacional os medicamentos estão cada vez mais comuns e maiores quantidades deles chegam ao meio ambiente, podendo causar impactos ambientais graves, em especial os antibióticos que podem levar à resistência bacteriana. Sendo assim, a comunidade científica voltou sua atenção nas últimas décadas para a quantificação desses compostos em matrizes ambientais a fim de inspirar uma legislação que imponha o controle das quantidades lançadas aos ecossistemas. Outra preocupação é gerar alternativas para remover ou degradar tais analitos de forma segura e de fácil emprego em estações de tratamento, por exemplo. Para esse fim, um material que vem ganhando destaque é o óxido de manganês do tipo birnessita. Por isso, este trabalho buscou avaliar o uso de birnessita para degradar o antibiótico trimetoprim em água. Foram avaliados os efeitos do pH, temperatura, concentração de trimetoprim para uma mesma quantidade de birnessita e a presença/ausência de oxigênio no meio reacional. Os resultados obtidos mostram que a reação só ocorre em quantidades significativas em pH igual a 2, alcançando 53% em 10 minutos de reação a 25 °C. A temperatura da solução interferiu diretamente na cinética da reação, chegando a 69% de degradação no mesmo tempo. Ao avaliar o efeito da concentração, os resultados mostraram que quanto maior a quantidade de trimetoprim maiores são as porcentagens obtidas. Entretanto, a reação se estabiliza em valores menores de degradação quanto maior a quantidade do fármaco. Por fim, a utilização de nitrogênio permitiu a degradação de 73% do fármaco em 10 minutos de reação, alcançando o máximo de 99,7%. Diante do exposto a degradação de trimetoprim em água utilizando birnessita mostrou-se prática e eficiente.

ABSTRACT

DINIZ, Mariana Beatriz Teixeira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2018. **Removal/degradation of antibiotic for veterinary use by the use of manganese oxide nanostructures.** Advisor: Antônio Augusto Neves. Co-advisors: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz and André Fernando de Oliveira.

With population growth, medicines are increasingly common and larger quantities of them reach the environment and can cause serious environmental impacts, especially antibiotics that can lead to bacterial resistance. Thus, the scientific community has turned its attention in the last decades for the quantification of these compounds in environmental matrices in order to inspire legislation that imposes the control of the quantities released to the ecosystems. Another concern is to generate alternatives to remove or degrade such analytes safely and easily in treatment plants, for example. To this end, a material that has been gaining prominence is manganese oxide of the birnessite type. Therefore, this work sought to evaluate the use of birnessite to degrade the antibiotic trimethoprim in water. The effects of pH, temperature, trimethoprim concentration for the same quantity of birnessite and the presence / absence of oxygen in the reaction medium were evaluated. The results show that the reaction only occurs in significant amounts at pH equal to 2, reaching 53% in 10 minutes of reaction at 25 ° C. The temperature of the solution interfered directly with the kinetics of the reaction, reaching 69% degradation at the same time. When evaluating the effect of the concentration, the results showed that the higher the amount of trimethoprim, better is the percentages obtained. However, the reaction stabilizes at lower degradation values the higher the amount of the drug. Finally, the use of nitrogen allowed the degradation of 73% of the drug in 10 minutes of reaction, reaching a maximum of 99.7%. In view of the above, the degradation of trimethoprim in water using birnessite proved to be practical and efficient.

INTRODUÇÃO

A partir dos anos oitenta uma nova classe de contaminantes, ditos poluentes emergentes, passou a ser encontrada nos meios hídricos. Dentre esses contaminantes estão os corantes têxteis, agrotóxicos e outros. A descarga no meio ambiente de grandes quantidades dessas substâncias, mesmo em baixas concentrações (ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$) vem dando sinais de seus efeitos negativos na saúde humana e em diversos outros meios (BILA & DEZOTTI, 2003).

Os poluentes emergentes englobam vários tipos de compostos, como por exemplo os produtos de cuidados pessoais, surfactantes, hidrocarbonetos policíclicos e os fármacos. Estes últimos por sinal têm ganhado maior atenção ao longo dos anos devido ao seu uso em larga escala, tanto na medicina humana quanto veterinária. Uma das classes mais utilizadas entre os medicamentos é a dos antibióticos, os quais podem acarretar resistência bacteriana quando em contato com tais microrganismos. Além disso, vários estudos relatam que diferentes compostos podem ter interações sinérgicas, como por exemplo os antibióticos trimetoprim e sulfametoxazol, levando à efeitos adversos inesperados para humanos e outros organismos (SOUSA *et al.*, 2018; GAFFNEY *et al.*, 2014).

Uma vez nos meios hídricos, esses compostos dificilmente são removidos já que os processos utilizados tanto nas estações convencionais de tratamento de esgoto quanto as de água não são capazes de degradá-los ou mesmo removê-los antes de reintroduzir os efluentes no meio ambiente (LARSEN *et al.*, 2004). Portanto, tornou-se necessário o desenvolvimento de novas tecnologias para remoção dessas espécies presentes em águas contaminadas, visando proteger a saúde humana e o meio ambiente (SOUSA *et al.*, 2018; HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998).

Os processos oxidativos avançados (POAs) estão entre os métodos promissores na remoção da maioria das classes de produtos farmacêuticos (DIAS 2015). Os POAs referem-se especificamente aos processos nos quais a oxidação dos contaminantes orgânicos ocorre principalmente através de reações com radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$). Normalmente os POA's envolvem duas

etapas: a formação do radical $\cdot\text{OH}$ e a reação desse agente oxidante com contaminantes orgânicos na água (POURAKBAR, *et al.*, 2016). Diferentes POAs foram desenvolvidos e estudados para a remoção de antibióticos em água. Estes incluem UV – oxidação (SÖRENSEN *et al.*, 2015), fotocatalise (LOFRANO *et al.*, 2016), UV/H₂O₂ (JUNG *et al.*, 2012), ozonização catalítica (MOUSSAVI *et al.*, 2015), reagente de Fenton e seus derivados (SANTOS *et al.*, 2015) e sonólise (DE BEL *et al.*, 2009).

Neste mesmo contexto, encontram-se na literatura estudos recentes, com o uso da birnessita na degradação de compostos orgânicos. A birnessita é um tipo de óxido de manganês que apresenta uma estrutura em camadas, formadas a partir de unidades octaédricas de MnO₆ com o Mn, normalmente, nos estados de oxidação III e IV. Este material apresenta propriedades como: alto poder de sorção, troca iônica, peneira molecular e catálise. Além disso, a birnessita também pode adsorver os compostos, devido a possibilidade da sua estrutura em camadas se expandir (LIU *et al.*, 2012; FIGUEIRA *et al.*, 2008).

OBJETIVOS

Objetivo geral

Desenvolver um método capaz de remover ou degradar resíduos do antibiótico trimetoprim em água empregando de nanoestruturas de óxido de manganês do tipo birnessita.

Objetivos específicos

- Adaptar a técnica microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) para extrair resíduos de trimetoprim da água;

- Desenvolver as análises, qualitativa e quantitativa, do fármaco por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC-MS);

- Validar o procedimento analítico desenvolvido para análise de trimetoprim em água;

- Preparar nanoestruturas de óxido de manganês do tipo birnessita e caracterizá-las por meio das técnicas de difração de raios-x (DRX), espectroscopia de infravermelho (FT-IR), técnica potenciométrica para ponto de carga zero (PCZ) e análise termogravimétrica (TG);

- Investigar a remoção e/ou degradação de trimetoprim da água por birnessita, em diferentes tempos de contato, pH (2, 7 e 9), temperatura (25, 35, 45 e 55 °C), proporção MnO₂/fármaco, presença e ausência de oxigênio.

REVISÃO DE LITERATURA

Histórico

Desde as grandes civilizações antigas, como os egípcios, o homem utiliza diversos produtos a fim de se obter uma melhora frente à uma doença. Avalia-se que o primeiro registro escrito de terapia medicamentosa seja o papiro de Erbs datado de 1500 a.C. (Figura 1), um pergaminho de 20 metros de comprimento orientando sobre o uso e manipulação de remédios à base de ervas e outros produtos extraídos da natureza (JONES, 2011).

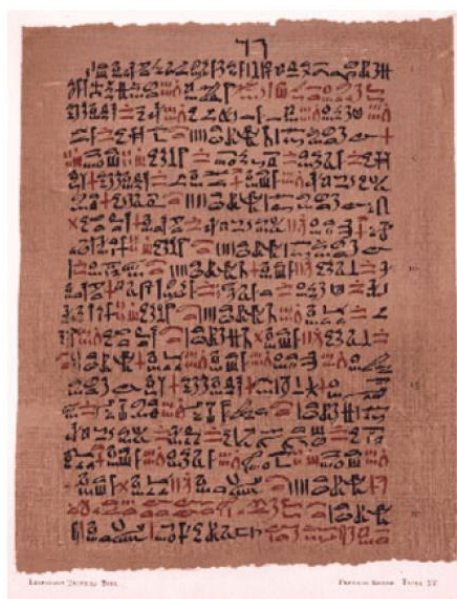


Figura 1: Página do papiro de Ebers, um pergaminho médico egípcio com instruções para o preparo de diversos medicamentos à base de ervas medicinais.

Fonte: JONES, 2001.

Inicialmente os medicamentos advinham de fontes naturais e quando descartados na natureza, direta ou indiretamente, não acarretavam grandes danos ao meio ambiente. Somente em 1869 começaram as primeiras sínteses de medicamentos, como por exemplo o hipnótico hidrato de cloral, comercializado ainda hoje em alguns países como Noctec® (JONES, 2011).

Com o avanço da indústria farmacêutica, a presença desses compostos no meio ambiente tornou-se cada vez mais evidente. Nos últimos anos algumas toneladas de medicamentos foram produzidas apesar de as

quantidades exatas não serem publicadas (BILA & DEZOTTI, 2003). Atualmente os resíduos de fármacos, entre outros produtos, são classificados como poluentes emergentes e sua presença tem sido relatada em diversos países, em efluentes de água residual, água potável, rios e barragens (TERNES *et al.*, 1999; KOLPIN *et al.*, 2002; JOHNSON *et al.*, 2000; DESBROW *et al.*, 1998). Sendo este um recurso esgotável, com apenas 0,01% da quantidade total disponível ao consumo humano e de valor inestimável aos seres vivos de modo geral, tornou-se cada vez significativa a preocupação com os poluentes emergentes (PEREIRA & FREIRE, 2005).

Poluentes emergentes

O termo “poluentes emergentes” refere-se a um grupo especial de compostos que apresentam crescente contaminação do meio ambiente, em especial das águas subterrâneas e de superfície podendo se tornar altamente indesejáveis no futuro.

Dentre as diversas substâncias existentes sob essa classificação, encontra-se compostos perfluorados, retardantes de fogo, alguns pesticidas, hormônios sintéticos e os fármacos de um modo geral. Como esses produtos estão diretamente relacionados com as atividades antropogênicas, os maiores níveis de concentração já relatados situam-se próximos à grandes centros populacionais e/ou industriais ou mesmo efluentes destes (BRUCHET *et al.*, 2002; BARCELÓ, 2003).

Outras características desses micropoluentes são as baixas concentrações em níveis crescentes e principalmente a falta de informações referentes aos impactos causados sobre os seres vivos e os seus diversos destinos (STEVENS-GARMON *et al.*, 2011; HOSPIDO *et al.*, 2010).

Antibióticos

Nessa classe de compostos (micropoluentes), os antibióticos utilizados na medicina humana e/ou veterinária merecem maior atenção. Isso se deve ao fato de que tais medicamentos foram desenvolvidos para possuir determinada resistência ao processo metabólico a fim de garantir sua presença por tempo prolongado. Sendo assim, diversas vezes 50 a 90% da dosagem inicial é excretada sem alterações. Apesar da baixa concentração

(ng L⁻¹ a µg L⁻¹) na qual essas substâncias chegam aos diversos ecossistemas, sua entrada é contínua apresentando então significância ambiental frente aos diversos riscos potenciais para organismos aquáticos e terrestres (BILA & DEZOTTI, 2003).

Após a excreção ou mesmo em etapas de fabricação desses compostos, o destino final no meio ambiente geralmente é nos diversos cursos hídricos. Isso pode ocorrer por exemplo através da utilização de esterco como fertilizantes, advindos de animais que foram tratados com antibióticos, levando então à contaminação da água subterrânea por meio da lixiviação dos contaminantes. Outros caminhos são exemplificados na Figura 2 (BILA & DEZOTTI, 2003; ABELLÁN *et al.*, 2007).

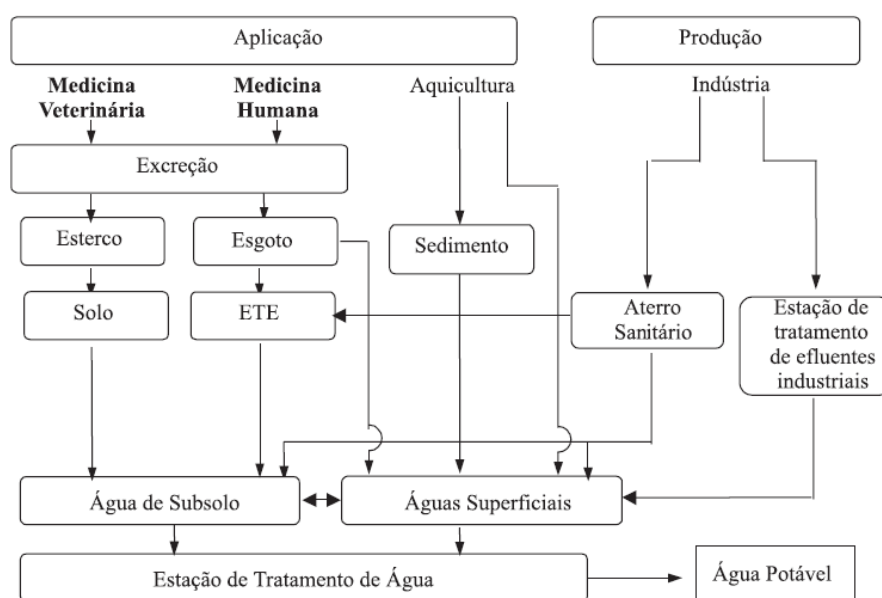


Figura 2: Possíveis rotas de fármacos no meio ambiente, desde sua fabricação até disposição final no meio hídrico.

Fonte: BILA & DEZOTTI, 2003.

Uma vez em contato com seres vivos, os antibióticos podem causar inúmeros efeitos adversos. Dentre os já conhecidos está a promoção da resistência bacteriana, que inclusive é favorecida por baixas concentrações (HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998). Outras pesquisas sugerem ainda que alguns antibióticos podem atuar como desreguladores endócrinos (substâncias que agem no metabolismo hormonal) levando à má qualidade

dos espermatozoides que vem sendo acompanhada nos últimos 50 anos (MULTIGNER & OLIVA, 2002).

Trimetoprim

Um dos antibióticos que vêm sendo estudado é o trimetoprim (2,4-diamino-5-(3, 4, 5-trimetoxibenzil)-pirimidina), também conhecido como trimetoprima. Isso ocorre porque este fármaco é utilizado tanto na medicina humana quanto veterinária, de forma oral, tópica ou injetável. Apresenta baixas taxas de metabolização no organismo o que acarreta na excreção renal da forma inalterada de boa parte da dose administrada, ou seja, 50-70% de acordo com as informações do fabricante do medicamento Bactrim® (BOXALL *et al.*, 2004).

O trimetoprim, cuja fórmula estrutural pode ser observada na Figura 3, é uma diamino-pirimidina sintética, regularmente prescrito para tratamento de infecções nas vias respiratórias, urinárias e gastrointestinais. Este antibiótico é classificado como bacteriostático, ou seja, impede a proliferação das bactérias não levando à morte das mesmas, o que é de responsabilidade do próprio sistema imunológico do paciente. O medicamento age inibindo a formação do ácido fólico (Figura 3), que é essencial à multiplicação das bactérias (AKAY & ÖZKAN, 2002; CÓRDOVA *et al.*, 2003).

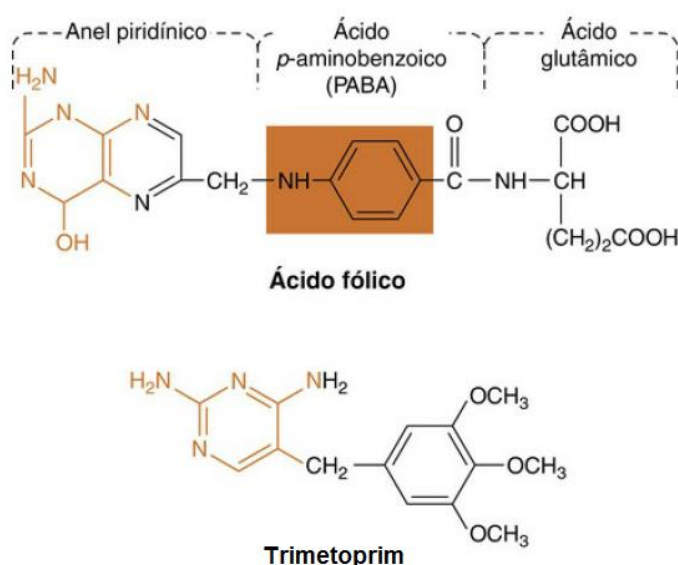


Figura 3: Comparação entre as estruturas de parte do anel piridínico do ácido fólico e a porção pirimidina do fármaco trimetoprim. Fonte: Adaptado de RANG *et al.*, 2016.

Essa inibição competitiva ocorre devido a parte da molécula de trimetoprim ser semelhante à porção pteridina do ácido fólico. Desta forma a enzima diidrofolato redutase bacteriana não consegue se ligar ao ácido fólico para então dar continuidade à síntese do tetra-hidrofolato necessário para a síntese do DNA da bactéria responsável pela sua multiplicação (RANG *et al.*, 2016).

Pesquisas mostram que este princípio ativo apresenta efeitos em diversas espécies aquáticas. Para as microalgas *Selenastrum capricornutum* o trimetoprim apresentou valor de EC₅₀ (concentração efetiva que provoca inibição de 50% da população) de 80 mg/L mostrando ser prejudicial a esses microrganismos (EGUCHI *et al.*, 2004). Para a alga verde o EC₅₀ foi de 16 mg/L sendo também classificado como prejudicial (LINDBERG *et al.*, 2007).

Embora algumas pesquisas associem a presença de antibióticos à diversas alterações no ecossistema, ainda não existem leis que regulamentem a quantidade permitida desses compostos nos efluentes das estações de tratamento de esgoto ou mesmo na água destinada ao consumo humano e animal. Entretanto alguns países já reduziram o uso destes medicamentos. No Reino Unido, por exemplo, o trimetoprim tem seu uso restrito ao tratamento da pneumonia causada pelo fungo *Pneumocystis carinii*, toxoplasmose ou nocardiose (RANG *et al.*, 2016).

O método mais utilizado para a quantificação de trimetoprim em água é utilizando cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massa, sendo assim, pouco preparo de amostra é empregado (ALHARBI *et al.*, 2017; SIRTORI *et al.*, 2010). Porém, quando a determinação é realizada por cromatografia gasosa há necessidade de um preparo de amostra mais rigoroso, que geralmente consiste na extração desse fármaco presente na água para uma fase orgânica que possa ser injetada no cromatógrafo a gás. Uma técnica que pode ser escolhida para essa etapa é a microextração líquido-líquido dispersiva.

Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

A microextração líquido-líquido dispersiva foi apresentada pela primeira vez em 2006 por REZAEE e colaboradores, onde a ideia principal era desenvolver uma técnica de extração em fase líquida onde se utilizasse

quantidades menores de solventes orgânicos visando reduzir o impacto negativo no meio ambiente e na saúde dos profissionais da área de análises.

Sendo a quantidade de solvente extrator muito pequena, consegue-se um alto fator de enriquecimento. Além disso esta técnica consegue boa taxa de extração devido a presença do solvente dispersor, que nada mais é do que um solvente orgânico miscível tanto na fase aquosa quanto no solvente extrator, o que gera uma grande área de contato entre essas duas fases.

A DLLME consiste na dispersão de um solvente extrator (imiscível em água) e um solvente dispersor (miscível em água e no solvente extrator) em uma amostra aquosa. Uma mistura apropriada do solvente dispersor e do solvente extrator é injetada rapidamente, com auxílio de uma seringa, na amostra. Após agitação, uma solução turva com microgotas é formada. As microgotas consistem no solvente extrator mais o analito já extraído. Após centrifugação, ocorre a separação do solvente extrator que é retirado com o auxílio de uma seringa e é efetuada a quantificação dos analitos pela técnica mais apropriada, cromatografia a gás ou a líquido. Dependendo das características do extrator, a fase orgânica de interesse pode ficar na parte inferior ou superior de sistema. (CALDAS et al., 2011).

Métodos de degradação de compostos orgânicos

No Brasil, assim como em diversos países, as estações de tratamento de água e efluentes são de modo geral projetadas para remover matéria orgânica e outras impurezas por meio de processos biológicos e físico-químicos (coagulação, precipitação e adsorção). Entretanto, pode-se avaliar que tais processos não são suficientes para livrar o meio ambiente dos poluentes emergentes, já que eles são comumente encontrados na água em diversas partes de mundo (FIERRO *et al.*, 2008; ORMAD *et al.*, 2008; CHOI *et al.*, 2006; YOON *et al.*, 2007; ZHANG & ZHOU, 2008).

Com a crescente preocupação com a contaminação dos recursos hídricos pelos poluentes emergentes, cresceram também as pesquisas voltadas para a remoção e/ou degradação desses compostos dos efluentes de esgotos domésticos e/ou das águas destinadas ao consumo. Dentro desse contexto, encontram-se os processos oxidativos avançados (POA) que podem

ou não ser irradiados (ABELLÁN *et al.*, 2007) e utilizar catalizadores (MICHAEL *et al.*, 2013). Tais processos têm como base a formação de radical hidroxila HO[•], altamente reativo e oxidante com capacidade de degradar compostos orgânicos (RASTOGI *et al.*, 2009; EVGENIDOU *et al.*, 2007). Um material promissor nesse contexto é o óxido de manganês que pode ser utilizado na remoção de poluentes orgânicos (DANG *et al.*, 2013).

Óxido de manganês do tipo birnessita

Ultimamente os óxidos de manganês têm atraído a atenção dos pesquisadores por sua aplicação em diversas áreas, consequência de sua flexibilidade estrutural podendo se apresentar de diversas formas como pode ser observado na Figura 4 (SUIB, 2008).

De modo geral, a estrutura dos diferentes óxidos de manganês, Figura 4, é formada por octaedros de MnO₆ que compartilham vértices e arestas para dar origem às diferentes formas com as quais esses óxidos são encontrados na natureza, em solos e sedimentos, ou mesmo sintetizados (VICTOR, 2017).

Uma entre as diversas formas com que esse material se apresenta, tem atraído a atenção dos pesquisadores. A birnessita (δ -MnO₂) vêm recebendo essa atenção devido ao fato de apresentar uma estrutura diferenciada em camadas contendo folhas bidimensionais de octaedros de MnO₆ sendo compartilhados pelas arestas. Além disso, o espaço entre as folhas comporta moléculas de água e cátions metálicos (Li⁺, Na⁺, K⁺) imprescindíveis para equilibrar a carga negativa decorrente da presença de manganês com número de oxidação menores que IV. Inclusive essa presença de diferentes valências deste metal na birnessita é muito importante para as reações químicas (DI LEO *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2002).

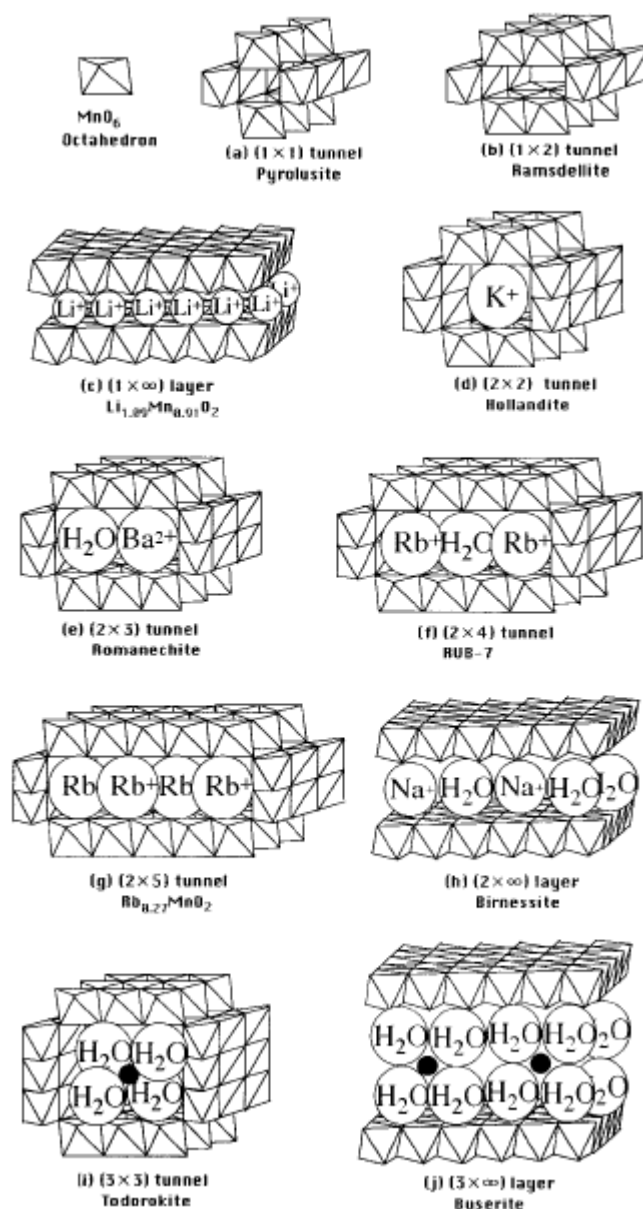


Figura 4: Esquema das diferentes estruturas dos óxidos de manganês. Fonte: FENG et al., 1999.

Estudos realizados mostram que a birnessita apresenta grande potencial frente à degradação de poluentes orgânicos presentes em água. VICTOR (2017) observou a degradação de 90% do corante orange G em 30 min a uma concentração de 0,20 g L⁻¹ utilizando birnessita sintética. Em estudo semelhante, ZHOU *et al.* (2013) obteve 95% de degradação do corante Ponceau 2R dentro de apenas 10 min. QIN *et al.* (2016) apresentou um estudo em que 10 mg dessas nanopartículas degradaram 50 mL do corante Rodamina B a 10 mg L⁻¹ em 5 min de contato.

Para fins de comparação, pode-se encontrar na literatura alguns processos de degradação que demandam mais tempo para patamares próximos de porcentagem. Para o corante Orange G, por exemplo, foram necessárias 2 h para degradar 99% utilizando biochar (uma mistura de biomassa com carvão) impregnada com ferro (PARK *et al.*, 2017). Em outro estudo utilizou-se bactérias exoeletrogênicas marinhas visando a degradação do corante Ponceau 2R (Xu *et al.*, 2016). Os resultados mostraram que para chegar a 20% de descoloração foram necessárias no mínimo 2 h. E por fim, ALVI *et al.* (2017) relataram 97% de degradação do corante Rodamina B dentro de 2 horas em um processo de degradação fotocatalítica utilizando nanoestruturas de óxido de zinco.

Considerando o grande potencial das nanoestruturas de manganês do tipo birnessita para degradação/remoção de compostos orgânicos em água, bem como os riscos vinculados a eles, neste trabalho foi investigada a degradação/remoção do fármaco trimetoprim em água utilizando para isso a birnessita sintetizada em laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Reagentes e soluções

Os solventes acetonitrila e tolueno foram adquiridos das empresas CRQ e Sigma Aldrich respectivamente, ambos de grau HPLC. A solução padrão estoque de trimetoprim foi preparada em acetonitrila na concentração de 1000 mg L^{-1} , a partir do padrão farmacêutico adquirido da empresa Sigma Aldrich (pureza > 99%). As demais soluções de trabalho foram obtidas a partir da diluição desta. Os reagentes cloridrato de hidroxilamina P. A. ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) e permanganato de potássio (KMnO_4 – pureza mínima de 99% m/m), utilizados na síntese da birnessita, foram adquiridos das empresas Synth e Vetec respectivamente. A solução estoque de sulfato de sódio P. A. (Na_2SO_4 – Sigma-Aldrich, Brasil Ltda) utilizada na extração do fármaco nas amostras do experimento de degradação, foi preparada na concentração de $3,0 \text{ mol L}^{-1}$. Para a validação do método utilizado nas análises foi utilizada uma solução de Na_2SO_4 na concentração de $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ preparada com água ultrapura (Milli Q[®]) a fim de melhorar a separação das fases bem como o processo de extração. Essa solução foi fortificada com quantidades conhecidas da solução estoque do padrão de trimetoprim. Todos os reagentes foram utilizados sem demais etapas de purificação.

Instrumentação e condições cromatográficas

Um microlitro do extrato obtido na etapa de extração da amostra foi injetado em um cromatógrafo a gás (GCMS-QP2020), equipado com injetor automático (AOC-20i), acoplado a espectrômetro de massa (MS) utilizando uma coluna capilar SH-Rtx-5MS (30 m, 0,25 mm d. i., 0,25 μm de espessura do filme). O extrato foi injetado no modo *splitless* utilizando hélio de alta pureza (99,99%) como gás de arraste (1,20 mL/min). O tempo de corte do solvente foi de 4 min e os espectros de massa foram obtidos por impacto de elétrons em 70 eV.

Na etapa de validação do método proposto, as amostras foram analisadas no modo SIM durante os tempos de 10 e 12 min do início da injeção visando a razão massa/carga de 290 (massa molar do trimetoprim). Nesse caso, a temperatura do injetor foi de 280 °C e o aquecimento da coluna

foi iniciado em 150 °C, mantendo essa temperatura por um minuto, aumentando 30 °C por minuto até 210 °C, seguido por outro aquecimento de 10 °C por minuto até 290 °C. A última taxa de aquecimento foi de 10 °C por minuto até 300 °C, onde manteve por mais um minuto.

Essa programação de temperatura foi obtida por otimização ao analisar o produto comercial do trimetoprim de uso veterinário Fortgal Plus®. Sendo assim, apesar de ter sido empregado neste trabalho um padrão de alta pureza, pode-se usar este método para o referido produto comercial.

Para analisar as amostras provenientes dos experimentos de degradação utilizou-se o modo Scan durante todo o tempo da análise cromatográfica (4 a 15 min). A programação de temperatura foi a mesma para as amostras de validação com exceção do tempo de permanência na temperatura de 300 °C, que nesse caso foi de 3 min.

Síntese e caracterização da birnessita

A birnessita empregada nos experimentos foi sintetizada a partir da redução de permanganato de potássio, de acordo com LIU et al. (2016). Para isso, gotejou-se 200 mL de uma solução de hidroxilamina a 0,07 mol L⁻¹, a uma velocidade de aproximadamente 0,7 mL min⁻¹, em 200 mL de solução de permanganato de potássio a 0,1 mol L⁻¹ sob vigorosa agitação. Após a adição de toda solução de hidroxilamina, a suspensão formada foi filtrada utilizando uma bomba de vácuo e lavada com água deionizada até a condutividade do filtrado estar abaixo de 20 µS cm⁻¹. Esta etapa foi realizada utilizando um condutivímetro de bancada AZ modelo 86503. Subsequentemente o produto foi seco em estufa a 60 °C por aproximadamente 14 h. A birnessita obtida foi caracterizada por análise potenciométrica para determinação do ponto de carga zero (PCZ), análise termogravimétrica (TG), espectroscopia no infravermelho (IV) e de difração de raios-X (DRX).

Espectrometria no infravermelho (IV)

Para caracterização do material obtido, foi feita análise de infravermelho de reflectância total atenuada utilizando o equipamento Varian 660 com acessório GladATR produzido pela empresa PIKE na faixa de 400 a 4000 cm⁻¹.

Análise termogravimétrica (TG)

A análise termogravimétrica foi realizada utilizando o equipamento Simultaneous Thermal Analyzer 6000 da Perkin Elmer. Para isso foi medida uma massa do material entre 10 e 50 mg, sendo submetida a aquecimento numa faixa de temperatura de 30 a 700 °C, variando 10 °C por minuto.

Espectrometria de difração de raios-X (DRX)

A análise de raios-X foi realizada em uma faixa de 5 a 80° com variação de 0,04° no difratômetro Bruker D8 Discovery DaVinci, com radiação de cobre filtrada com níquel ($\lambda=1,54 \text{ \AA}$, 40 KV, 40 mA). Uma amostra da birnessita sintetizada foi misturada com etanol para a formação de uma pasta, que então foi depositada sobre uma lâmina de vidro, a qual foi feita a análise.

Potencial de carga zero (PCZ)

Para análise do pH correspondente ao ponto de carga zero (pH_{PCZ}) do material sintetizado, foram adicionadas 20 mg de birnessita a 20 mL de solução aquosa de NaCl a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, com o intuito de controlar a força iônica do meio, em diferentes valores de pH inicial (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13), os quais foram ajustados com soluções de HCl ou NaOH e aferidas com pHmetro. Após 24 h sob agitação a 100 rpm, as soluções foram filtradas e o pH foi novamente medido. Foi plotado um gráfico de pH inicial versus pH final e o valor de PCZ foi estimado como a média dos valores presentes da região onde não ocorrem grandes variações entre o pH inicial e final.

Sistema reacional para remoção/degradação de trimetoprim em água por birnessita

Para as reações de remoção/degradação de trimetoprim com as partículas de óxido de manganês foi utilizado um béquer com capacidade de 600 mL contendo 300 mL da solução de trimetoprim a 10 mg/L em pH 2, previamente ajustado, e 20 mg de birnessita sob constante agitação magnética. Um pHmetro TECNOPON® mPA 210 e um termômetro foram mantidos na solução durante todo o experimento a fim de manter o pH e temperatura do sistema sob controle. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Em todos os ensaios de degradação/remoção foram recolhidas alíquotas de 3 mL nos tempos de 0, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após a adição de birnessita. Essas alíquotas foram filtradas com o auxílio de filtros de seringa com membras de PTFE de 0,45 µm, seguindo então para a etapa de extração e análise por GC-MS.

A eficiência da remoção/degradação do trimetoprim foi determinada segundo a Equação 1:

$$\% \text{ remoção} = \frac{A_i - A_t}{A_i} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde A_i é a área inicial do pico cromatográfico atribuído ao trimetoprim e A_t é a área do pico atribuído ao trimetoprim de cada alíquota recolhida durante o experimento.

Efeito do pH do meio reacional

Os ensaios para avaliar a influência do pH sobre a remoção de trimetoprim da água foram realizados em pH 2, 7 e 9 à temperatura ambiente. Para tanto, 300 mL de solução aquosa de trimetoprim teve o pH ajustado com soluções de HCl e NaOH antes da adição de birnessita e durante todo o experimento.

Efeito da temperatura

As temperaturas avaliadas foram: 25, 35, 45 e 55 °C. Para isso a solução do fármaco em pH ótimo teve sua temperatura ajustada antes do início da reação com o auxílio de uma chapa aquecedora. Só então foi adicionada à birnessita dando início a contagem de tempo. O sistema foi mantido na determinada temperatura em estudo durante todo o experimento.

Efeito da proporção de trimetoprim/birnessita

As concentrações avaliadas de trimetoprim foram 10, 30 e 50 mg L⁻¹, as quais foram obtidas por meio de diluições da solução estoque de 1000 mg L⁻¹. As variáveis pH e temperatura foram ajustadas em função dos melhores resultados obtidos nos estudos anteriores mantendo constante a massa de birnessita (20 mg). Embora as concentrações avaliadas sejam superiores àquelas encontradas no meio ambiente, elas foram escolhidas a fim de avaliar

a capacidade do óxido de manganês do tipo birnessita de remover e/ou degradar o fármaco.

Efeito da oxigenação/desoxigenação do meio

Para estudar o efeito da oxigenação do sistema reacional, a solução de trimetoprim empregada para esta etapa foi previamente mantida sob fluxo de ar sintético durante 30 min visando a saturação do meio reacional. O efeito da desoxigenação foi avaliado de forma semelhante, apenas substituindo o ar sintético por nitrogênio. Após o tempo inicial para saturação do sistema o restante do procedimento seguiu conforme descrito anteriormente, sob fluxo de cada gás.

Adaptação da técnica microextração líquido-líquido dispersiva para determinação de trimetoprim em água por GC-MS

Para a extração apreciável do fármaco a técnica DLLME foi modificada em relação ao procedimento descrito por VICTOR (2017). Após a filtração da alíquota de 3,0 mL proveniente da reação entre o trimetoprim e a birnessita, adicionou-se 1,5 mL da solução estoque de Na₂SO₄ (concentração final de 1 mol L⁻¹) e 0,5 mL de acetonitrila. Como mistura extratora foi utilizado 0,6 mL da mistura acetonitrila:tolueno (5:1), a qual foi adicionada rapidamente à amostra com o auxílio de uma micropipeta de volume variável. Após esta etapa, as amostras foram agitadas em vortex por 30 s e centrifugadas a 8000 rpm por 10 min. Consecutivamente, 90 µL da fase orgânica foi transferido a um insert inserido em um vial. Por fim, 1 µL do extrato foi injetado no cromatógrafo a gás, acoplado a espectrômetro de massa (GC-MS).

Validação do método analítico

Após a etapa de adaptação, o método DLLME/GC-MS foi validado de acordo com os critérios estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (ANVISA, 2003) e pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – INMETRO (INMETRO, 2010). Os parâmetros avaliados foram: seletividade (para as amostras provenientes dos estudos de remoção do trimetoprim da água), linearidade, precisão, exatidão, fator de enriquecimento, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

Determinação de manganês em água

Para avaliar as possíveis alterações da birnessita decorrentes da reação com trimetoprim foi feita a análise da quantidade de manganês liberada ao longo do tempo de reação. Após recolher a fase orgânica obtida com a técnica DLLME, a fase aquosa das amostras foi acidificada e encaminhada para análise de absorção atômica utilizando um equipamento 200 Series AA produzido pela empresa Agilent Technologies.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Adaptação da técnica microextração líquido-líquido dispersiva para extração de trimetoprim em água

Inicialmente a técnica DLLME foi aplicada a uma solução de trimetoprim de 5,0 mL utilizando como mistura extratora os solventes acetonitrila e tolueno na proporção 5:1. Logo na etapa de agitação, foi observado uma certa dificuldade em separar as duas fases, não sendo possível a formação de microgotas como o esperado para a técnica ao fim dos 30 s, Figura 5. O tempo de agitação foi então aumentado para 1 min, seguido de centrifugação. Entretanto, devido a formação de emulsão não foi possível recolher o sobrenadante, mesmo após longo período de centrifugação.



Figura 5: Tubo de ensaio onde foi realizado o procedimento de extração.

Em uma tentativa de resolver o problema inicial na dispersão do solvente extrator, foi acrescentado 0,5 mL de acetonitrila antes da adição da mistura extratora. Desta forma foi possível obter as microgotas após 30 s de agitação no vortex. A emulsão ainda continuou presente depois da centrifugação, porém em menor intensidade, sendo possível recolher quantidade satisfatória para realizar a análise por GC-MS.

Com a análise cromatográfica foi possível perceber que o trimetoprim não foi extraído. O cromatograma obtido para o extrato (B) (cromatogramas B – Figura 6) não apresentou nenhum pico no tempo de retenção do analito.

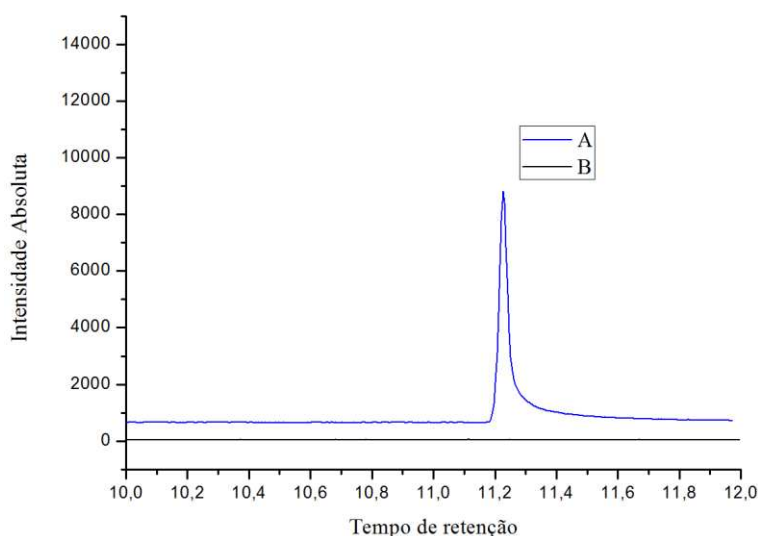


Figura 6: Cromatograma obtido após adicionar 0,5 mL de solvente dispersor à amostra (B) e cromatograma do analito em solvente (A) na mesma concentração de 50 mg L⁻¹. Ambos os cromatogramas foram obtidos no modo Scan.

Como o trimetoprim apresenta dois valores de pK_a, para a desprotonação dos grupos mostrados na Figura 7, optou-se por elevar o pH da solução de trimetoprim antes do processo de extração para que tais grupos estivessem desprotonados, favorecendo assim a extração do fármaco pela fase orgânica (BRENNER *et al.*, 2009).

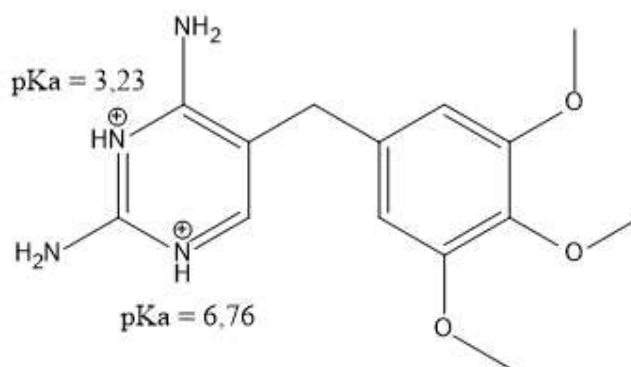


Figura 7: Fórmula estrutural do trimetoprim indicando os átomos que podem ser protonados e seus respectivos valores de pK_a.

O resultado obtido desta alteração (aumento de pH do meio para aproximadamente 9) está ilustrado na Figura 8. Apesar da melhora significativa, ainda assim o pico do fármaco extraído (cromatograma B) continuou menor (6,1 vezes) do que o observado para a mesma concentração (50 mg L⁻¹) do analito no solvente (cromatograma A). O esperado era que o pico correspondente à amostra de trimetoprim fosse muito maior do que o pico correspondente ao fármaco no solvente.

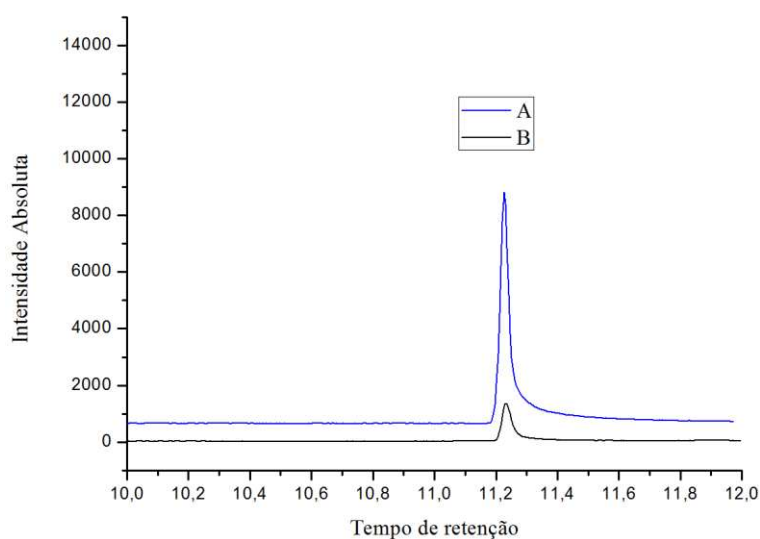


Figura 8: Cromatograma do extrato obtido da amostra com ajuste de pH do meio para aproximadamente 9 antes do procedimento de extração (B), e cromatograma do analito em solvente (A). Em ambos os casos a concentração do fármaco foi de 50 mg L⁻¹ e a análise foi realizada no modo Scan.

Como ainda era observado a presença de emulsão entre as fases orgânica e aquosa, foi testada a adição de sal a fim de solucionar tal problema e melhorar a eficiência da extração de trimetoprim. Foram utilizados cloreto de sódio na concentração final na fase aquosa de 0,5 (B) e 1,0 mol L⁻¹ (C). Os cromatogramas obtidos estão compilados na Figura 9.

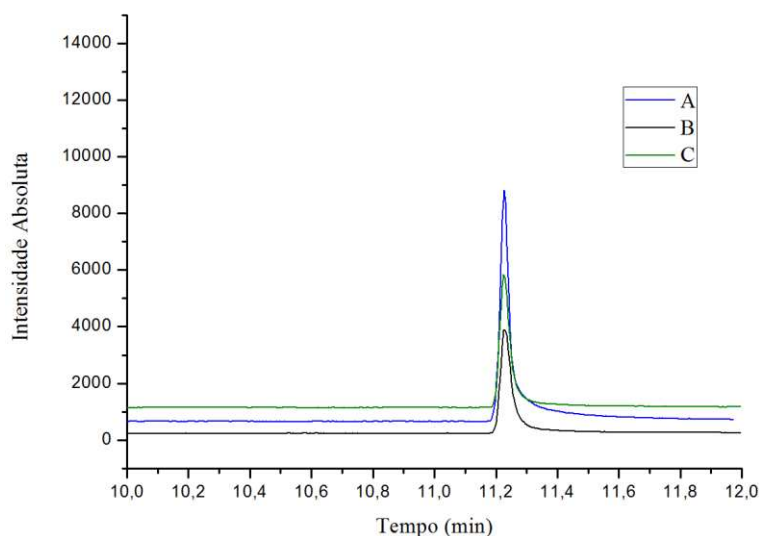


Figura 9: Cromatogramas obtidos com adição de cloreto de sódio para concentração final de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (B) e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (C) comparados com o resultado para a mesma concentração (50 mg L^{-1}) de trimetoprim em solvente (A). Análises realizadas no modo Scan.

Assim como esperado, a presença desse sal auxiliou na separação das fases o que melhorou a extração, o que pode ser concluído com os valores da razão das áreas de cada pico, e não foi mais notado a formação de emulsão entre as fases orgânica e aquosa. Isso ocorre porque a presença de sal faz com que as moléculas de água solvatem os íons, reduzindo a quantidade de água disponível para solvatar os compostos orgânicos. Esse processo faz com que a fase orgânica extraia melhor o analito.

Entretanto, ainda assim a extração não foi como se esperava já que as áreas dos extratos foram menores do que aquela obtida pela análise do composto em solvente. Para uma melhor análise, a razão entre as áreas foi de 2,1 vezes (A/B) e 1,8 vezes (A/C). Como a carga e o tamanho dos íons influenciam no efeito “salting-out” também foram testadas soluções de sulfato de sódio que apresenta íons e carga maiores do que o cloreto de sódio, nas concentrações $0,5$ e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (NORONHA *et al.*, 2015). Os resultados obtidos após a análise por GC-MS estão apresentados na Figura 10.

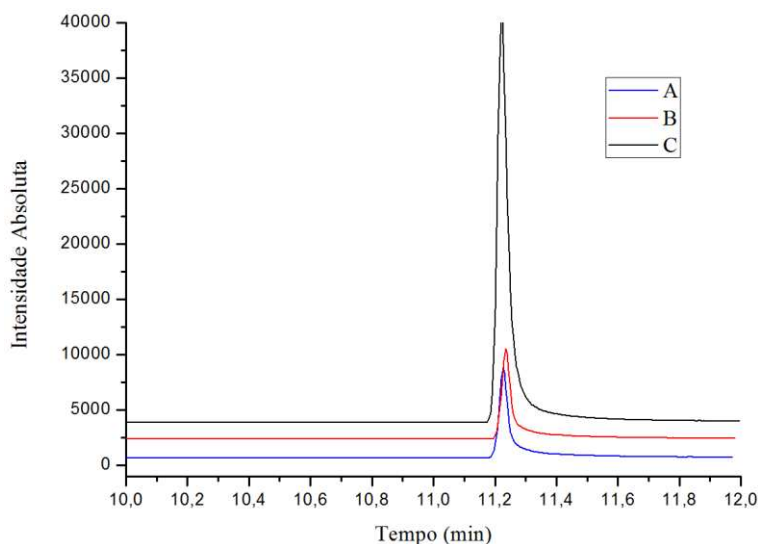


Figura 10: Cromatogramas obtidos com a presença de sulfato de sódio nas amostras, nas concentrações de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (B) e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (C) comparado com a mesma concentração de analito em tolueno (A).

Com base nos resultados, a extração foi feita utilizando 3,0 mL de água deionizada com quantidades adequadas de trimetoprim para cada estudo, ou de amostras provenientes dos experimentos de remoção utilizando a birnessita sintetizada. Foi adicionado 1,5 mL da solução de sulfato de sódio a $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ e 0,5 mL de acetonitrila seguida de agitação manual, 0,6 mL da mistura extratora composta por acetonitrila e tolueno (5:1 respectivamente). As amostras foram agitadas com auxílio de vortex por 30 s e centrifugadas a 8000 rpm durante 10 m. 90 μL da fase orgânica foi recolhida utilizando uma micropipeta automática e 1 μL do extrato foi injetado em GC-MS.

Validação do método analítico

O primeiro parâmetro avaliado no método de determinação de trimetoprim em água foi a seletividade. Para isso foram feitas análises de amostras de água de torneira sem adição do fármaco e os resultados foram comparados com as análises das amostras fortificadas. Os cromatogramas com os resultados das análises (realizadas no modo Scan) são apresentados na Figura 11.

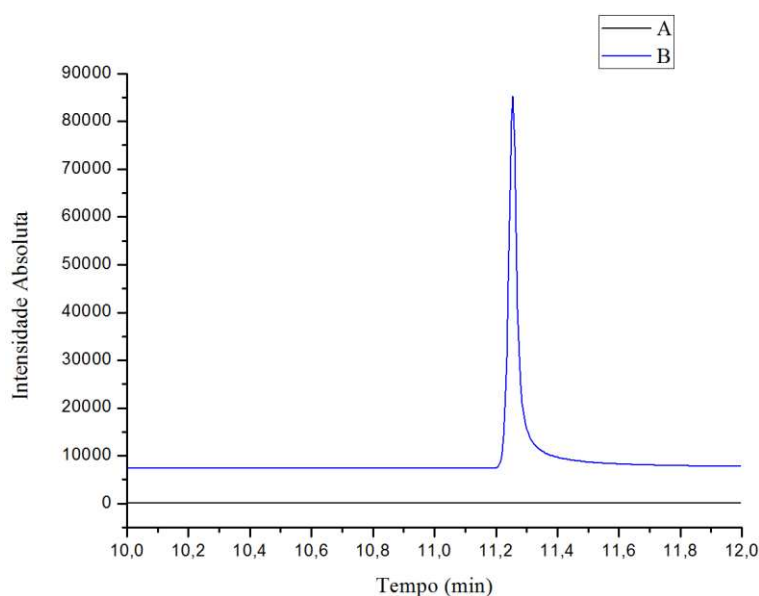


Figura 11: Comparação entre os cromatogramas obtidos de extratos de amostras de água de torneira sem fortificação (A) e fortificadas (B) com trimetoprim na concentração de $200 \mu\text{g L}^{-1}$.

Observando os cromatogramas, pode-se concluir que o método desenvolvido é seletivo já que não há interferentes no tempo de retenção do trimetoprim.

Dando continuidade à análise das demais figuras de méritos, os resultados de precisão (CV) e exatidão (%E), encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros de validação: precisão (CV) e exatidão (%E) do método DLLME-GC/MS.

Concentração de trimetoprim ($\mu\text{g/L}$)	CV (%)	%E
100	4	96
250	5	104
400	7	114

O coeficiente de variação manteve-se entre 4 e 7% indicando um método preciso, já que a recomendação é que esteja abaixo de 10%. Além disso a exatidão, caracterizada pela porcentagem de recuperação, ficou entre

os limites permitidos (80 a 120%). Portanto, o método pode ser classificado como preciso e exato (ANVISA, 2003; INMETRO, 2010).

As demais figuras de mérito encontram-se relacionadas na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros de validação analítica obtidos pelo método DLLME-GC/MS.

Parâmetros	Curva analítica no solvente	Curva analítica na matriz
Equação da curva	Área = 124,77 C + 3,80 ±14,6	Área = 55,686 C + 49,741 ± 234
Coefficiente de correlação (R ²)	0,9994	0,9985
Fator de enriquecimento	-	40
LD (µg/L)	350	12,6
LQ (µg/L)	1170	42,1

Síntese e caracterização da birnessita

A síntese da birnessita utilizada neste trabalho foi proposta por LIU e colaboradores (LIU *et al.*, 2016) e merece atenção devido à sua simplicidade já que não necessita de vários reagentes e o controle que deve ser feito é apenas na adição de cloridrato de hidroxilamina. Em outras técnicas, há necessidade de diversos reagentes e controle de temperatura em diferentes etapas, como aquela proposta por ZHOU e colaboradores (ZHOU *et al.*, 2013).

Além disso, o tempo gasto na síntese é relativamente curto já que depende apenas do tempo necessário à adição de todo o cloridrato de hidroxilamina. A reação entre esse reagente e o permanganato de potássio é rápida e foi observada a formação das partículas de birnessita após a adição de alguns mililitros do volume inicial de hidroxilamina.

Após a síntese foi feita a lavagem do sólido, controlando a condutividade e foi feita a secagem em estufa apenas para diminuir o tempo do processo.

Espectrometria no infravermelho (IV)

O resultado da análise de infravermelho obtido do material sintetizado (Figura 12) apresentou picos de absorção dominantes em 3305 e 1627 cm^{-1} atribuídos a presença de água adsorvida. O pico em 499 cm^{-1} é devido à estrutura octaédrica da birnessita e juntamente com o pico em 439 cm^{-1} indicam as vibrações de estiramento da ligação Mn-O. Todos esses resultados estão de acordo com as informações encontradas na literatura (QIN *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2016).

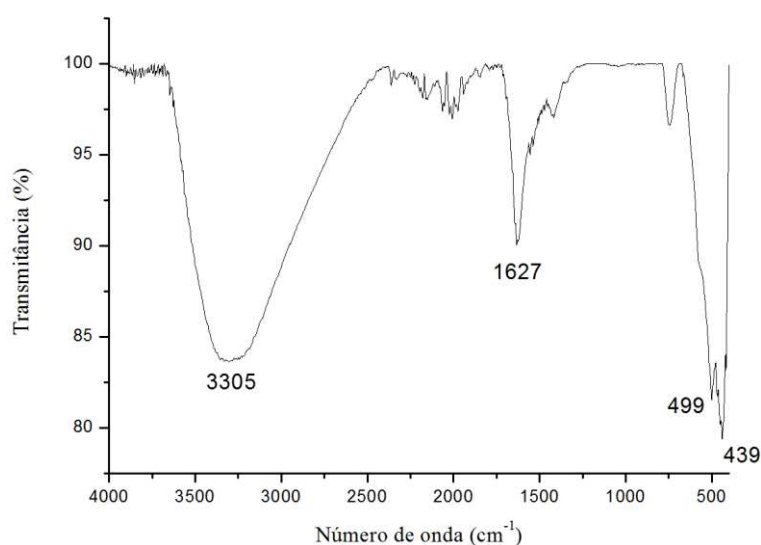


Figura 12: Espectro de FTIR-ATR da birnessita sintetizada.

Análise termogravimétrica (TG)

Os resultados da análise termogravimétrica (Figura 13) indicaram uma perda significativa de massa correspondente à água adsorvida na superfície da birnessita em aproximadamente 100 $^{\circ}\text{C}$. Ocorreu ainda, mais uma pequena perda de massa por volta de 350 $^{\circ}\text{C}$ também correspondente a evaporação de água presente entre as camadas da birnessita. A última perda significativa de massa que pode ser observada no gráfico corresponde à liberação de oxigênio, resultando na transformação de MnO_2 para Mn_2O_3 em aproximadamente 500 $^{\circ}\text{C}$. Esses resultados estão de acordo com o esperado para a birnessita, como consta na literatura (QIN *et al.*, 2016)

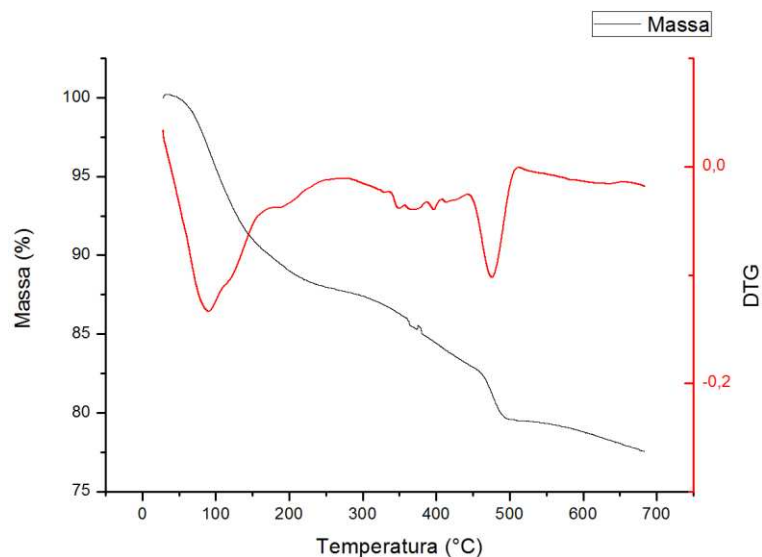


Figura 13: Gráfico de TG-DTG da birnessita indicando a perda de massa decorrente do aquecimento da amostra

Espectrometria de difração de raios-X (DRX)

A análise de difração de raio X apresentou todos os picos esperados para a birnessita (Figura 14). Entretanto, para cada síntese as características do material podem sofrer alterações levando a algumas diferenças nas análises. Pode-se concluir por meio do difratograma que o material sintetizado apresenta partículas grandes (pico em 10°) e baixa cristalinidade indicado pelo pico em aproximadamente 20° e também pela largura de todos os picos, o que pode acontecer em decorrência da adição de cloridrato de hidroxilamina em vazão superior àquela recomendada para essa síntese ($0,7 \text{ mL min}^{-1}$). Tal problema pode ter ocorrido durante a síntese devido à simplicidade do mecanismo utilizado para a adição deste reagente. Os picos em aproximadamente 30 e 70° indicam simetria hexagonal para amostra analisada (LIU *et al.*, 2016; VICTOR, 2017)

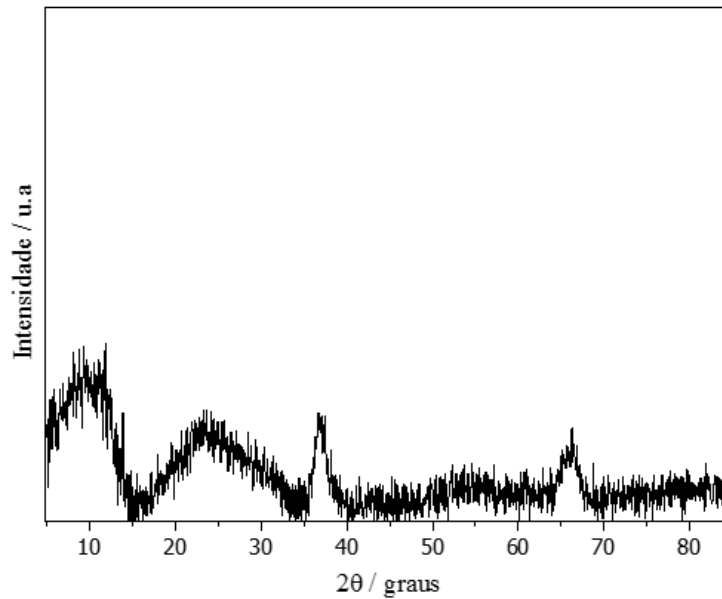


Figura 14: Difratoograma de raios X da birnessita sintetizada.

Potencial de carga zero (PCZ)

Os valores de pH da análise do ponto de carga zero estão representados na Figura 15. A região onde a variação do pH antes e depois de 24 h é menor corresponde, em média, ao valor de 7,32. Ou seja, para valores abaixo deste pH a birnessita apresenta cargas positivas que podem influenciar na atração ou repulsão dos compostos que se tenha o interesse de degradar. Este resultado está de acordo com aquele obtido por VICTOR (2017) o que mostra que mesmo com diferentes rotas sintéticas a birnessita obtida apresenta características semelhantes.

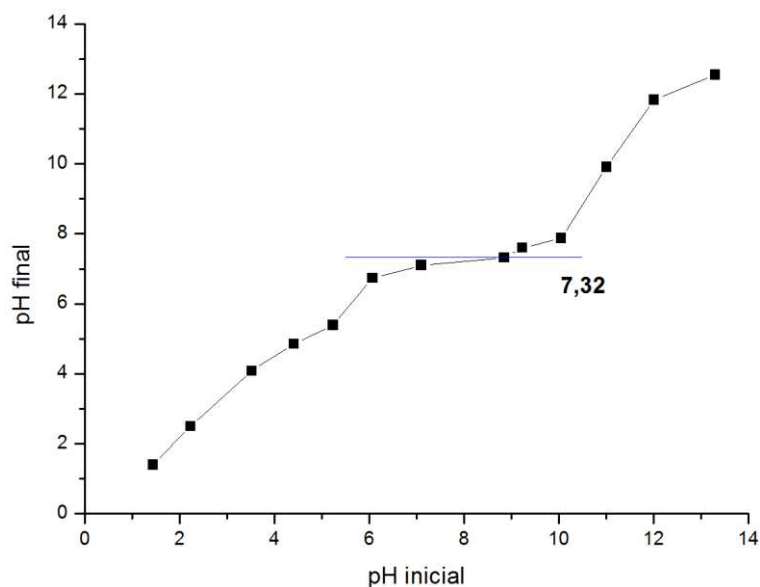


Figura 15: Valores de pH inicial e pH final na análise do ponto de carga zero da birnessita.

Sistema reacional para remoção/degradação de trimetoprim em água por birnessita

Efeito do pH do meio reacional

A acidez ou basicidade do meio em que procede a reação de remoção de diversos compostos pela birnessita é um parâmetro importante. Encontrase na literatura estudos mostrando que o pH do meio reacional influencia diretamente na remoção dos mesmos (VICTOR, 2017; QIN *et al.*, 2016).

Para avaliar o efeito desta variável sobre a remoção de trimetoprim em água, ajustou-se o pH da solução do fármaco inicialmente para os valores de 2,0, 7,0 ou 9,0 com soluções de HCl e/ou NaOH nas concentrações mais adequadas, mantendo-os durante toda a reação. Os resultados de remoção, em função do tempo, obtidos são apresentados na Figura 16.

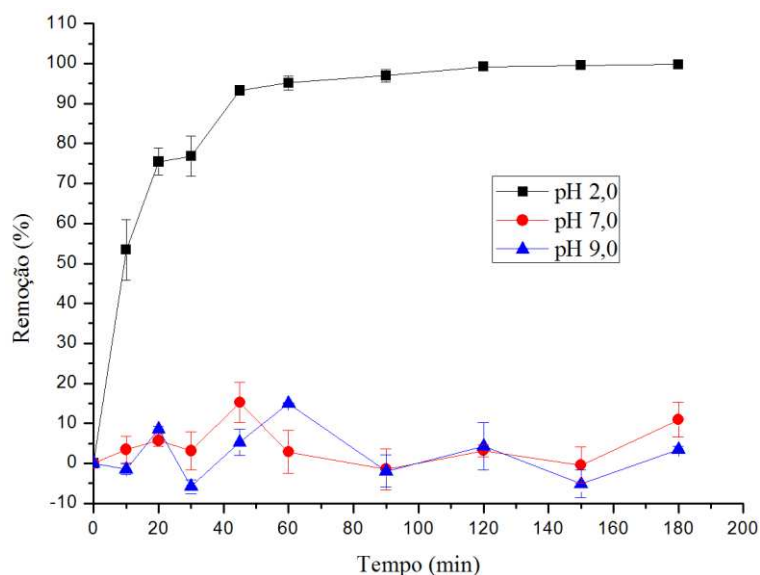


Figura 16: Efeito do pH do meio sobre a porcentagem de remoção do trimetoprim por birnessita em relação ao tempo.

Analisando os resultados apresentados na Figura 16 é possível observar que o pH do meio reacional influencia fortemente na porcentagem de remoção de trimetoprim. Em meio ácido a reação foi favorecida, chegando a 95% de remoção em 60 min. Em 180 min, a remoção foi de 99,7%. Em meio neutro e básico a reação não ocorreu de forma significativa. Os valores observados do pH_{PCZ} (7,32) e dos pK_a para o trimetoprim (3,23 e 6,76; BRENNER, 2009) indicam que em meio ácido a interação eletrostática é desprezível frente a outros processos que culminam na remoção do fármaco. Os altos valores de remoção em pH 2,0 estão de acordo com o fato de que em baixos valores de pH a estrutura em camadas da birnessita é menos estável beneficiando a reação redox entre Mn(IV) e Mn(III), o que facilita a degradação do trimetoprim (QIN *et al.*, 2016).

Esse fato também foi confirmado pelas análises de absorção atômica de manganês que indicam que em pH = 2,0 as quantidades liberadas de manganês foram maiores do que aquelas observadas em meio neutro e básico conforme mostra a Figura 17.

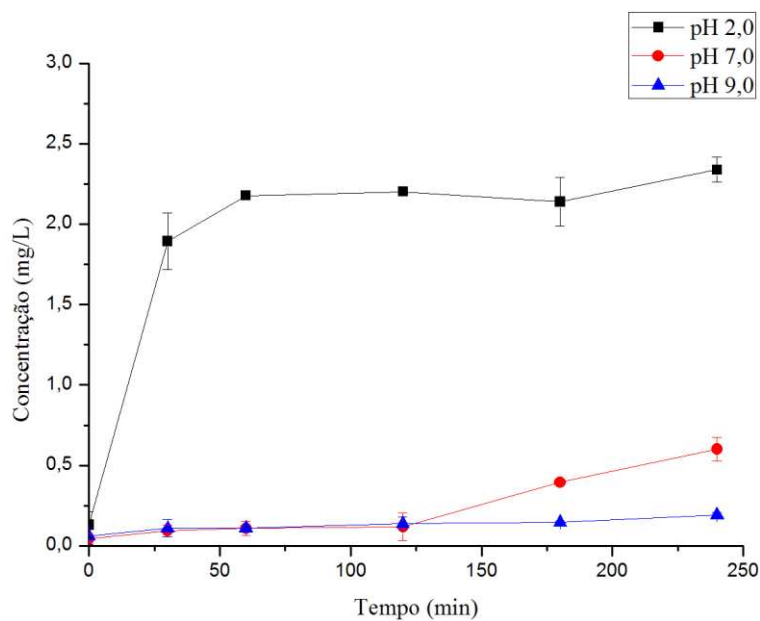


Figura 17: Concentração de manganês liberada, em função do tempo de contato da birnessita com solução aquosa em diferentes valores de pH na ausência de trimetoprim.

Foi observado ainda que na presença de trimetoprim, as quantidades liberadas de manganês foram ainda maiores em meio ácido como mostra a Figura 18.

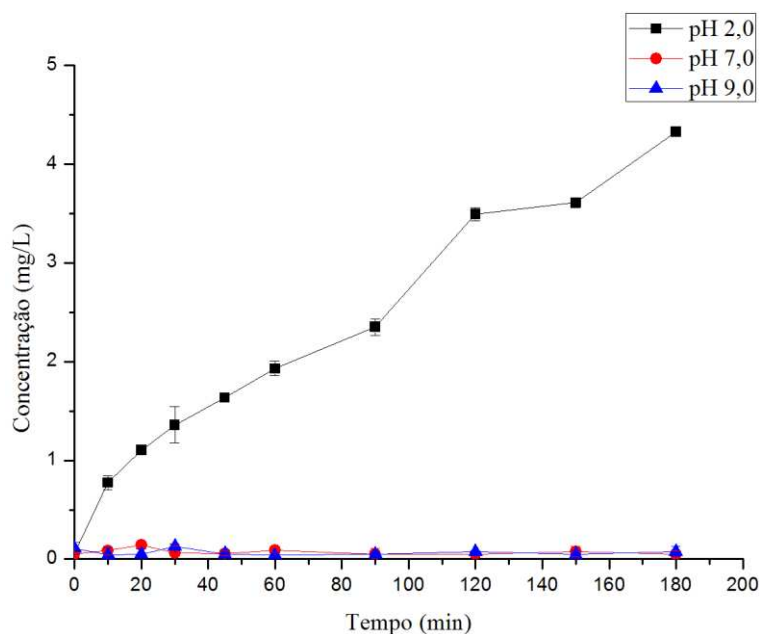


Figura 18: Concentração de manganês liberada, em função do tempo de contato da birnessita com solução aquosa em diferentes valores de pH na presença de trimetoprim.

Esse efeito mostra que na presença de trimetoprim, em meio ácido, ocorre uma reação redox onde o Mn(IV) é reduzido. Além disso, também foi observado o aparecimento de um produto de degradação do trimetoprim (Figura 19), no tempo de retenção de 12,7 min, nesse valor de pH que não foi observado nos demais ensaios. A área desse pico aumentou com o passar do tempo da reação como ilustrado na Figura 20.

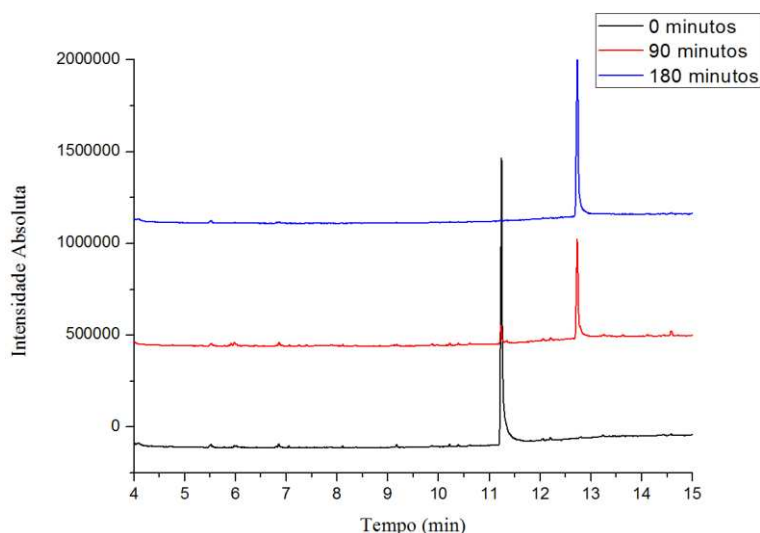


Figura 19: Cromatogramas de extratos de alíquotas da solução aquosa de trimetoprim (10 mg L^{-1}) em contato com a birnessita (20 mg) em função do tempo de contato. Aparecimento de um possível produto de degradação do trimetoprim em 12,7 min.

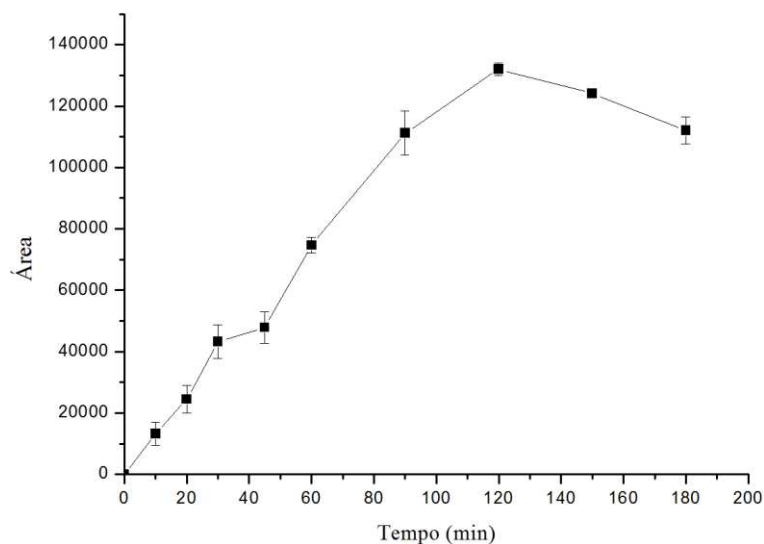


Figura 20: Monitoramento da área do pico em 12,7 minutos, atribuído ao produto de degradação do trimetoprim em meio ácido, após contato com a birnessita em função do tempo.

Esse fato corrobora com a hipótese de que o trimetoprim está diretamente envolvido na reação de redução do manganês, já que o seu aumento coincide com a diminuição da concentração de trimetoprim e o aumento da concentração de manganês solúvel na solução.

Segundo a biblioteca NIST, utilizada no espectrômetro de massa, o composto apresentado tem 54% de probabilidade de ser o [4,4'-bipyrimidine]-6,6'-diamine, 2,2'-dimethoxy-N,N,N',N'-tetramethyl, de massa molar igual a 304,354 g mol⁻¹ cuja estrutura é apresentada na Figura 21 e seu espectro de massas na Figura 22.

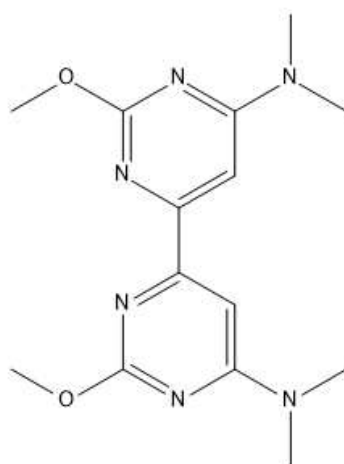


Figura 21: Fórmula estrutural do composto sugerido pela biblioteca utilizada pelo espectrômetro de massa, para o pico existente nos cromatogramas no tempo de retenção de 12,7 min.

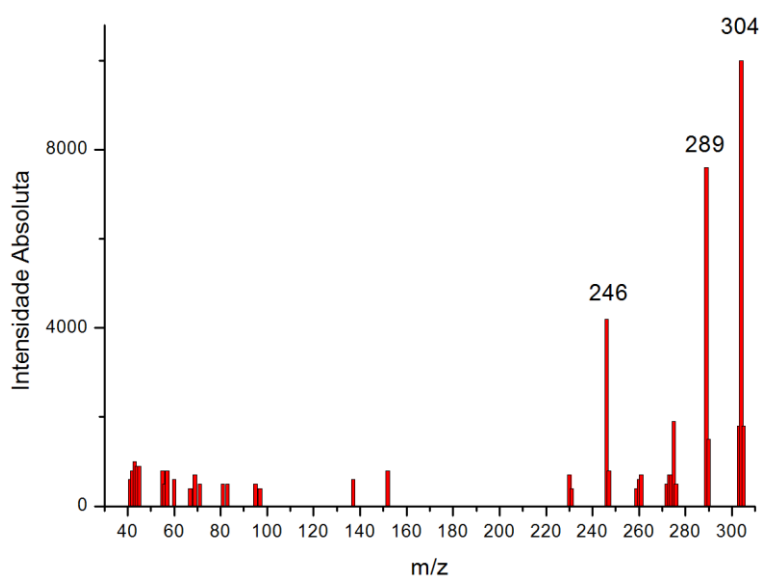


Figura 22: Espectro de massa para o composto sugerido pelo equipamento.

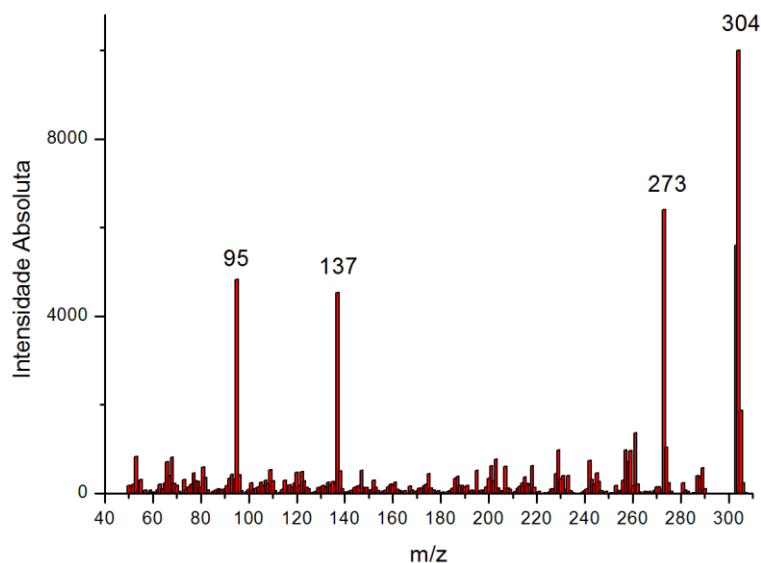


Figura 23: Espectro de massa obtido para o produto de degradação.

Entretanto, tal composto não é apontado como produto de degradação do trimetoprim na literatura e ainda, seu espectro de massa apresenta diferenças significativas com o obtido para a amostra (Figura 23).

Portanto, é possível que o composto formado durante a reação de degradação do trimetoprim não seja aquele sugerido pela biblioteca do espectrômetro de massa. Além disso, ALHARBI e colaboradores (2017) sugeriram um produto de degradação do trimetoprim com massa molar de 304 g mol⁻¹ com a seguinte fórmula estrutural (Figura 24):

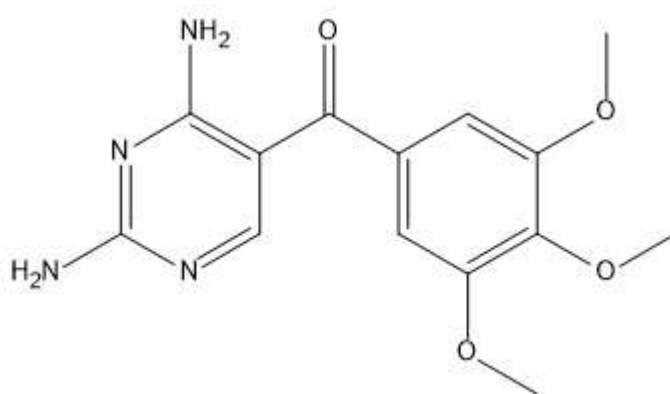


Figura 24: Fórmula estrutural para o produto de degradação da reação entre o trimetoprim e birnessita (ALHARBI *et al.*, 2017).

Com base nesse composto, foram sugeridas as seguintes estruturas para os picos 273 e 137:

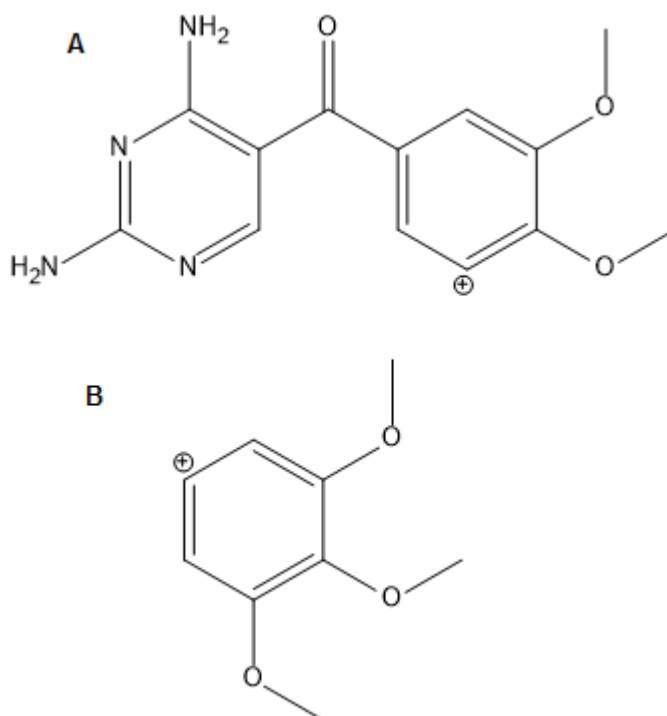


Figura 25: Proposta de estrutura para os fragmentos 273 (A) e 137 (B).

Estudo da cinética de degradação do trimetoprim

Após verificar a degradação do trimetoprim em pH 2,0, foram feitos ensaios para avaliar a cinética da reação. Para este fim o tempo de contato foi alterado para 300 min com o objetivo de alcançar a maior porcentagem de degradação possível. As análises quantitativas, como descritas anteriormente, foram realizadas com alíquotas de 3,0 mL recolhidas nos tempos: 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240 e 300 min após a adição da birnessita.

O estudo cinético foi feito avaliando qual das funções matemáticas, Boltzman, pseudo 1ª ordem e pseudo 2ª ordem, descrevem melhor o sistema. Na Figura 26 estão apresentados os modelos ajustados aos dados experimentais do estudo cinético bem como o gráfico de resíduos.

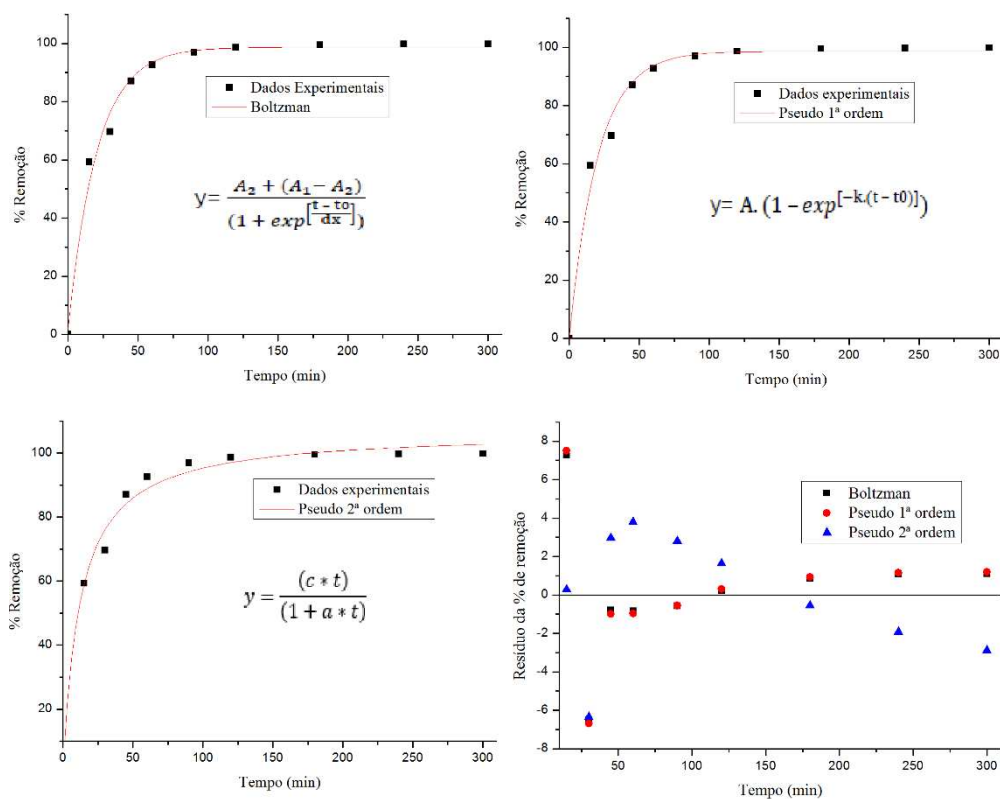


Figura 26: Estudo cinético da reação de degradação, ajustando aos dados experimentais os modelos de Boltzman, pseudo 1ª ordem e pseudo 2ª ordem e respectivas análises de resíduos.

Os valores de R^2 para os ajustes de Boltzman, pseudo 1ª ordem e pseudo 2ª ordem foram 0,982, 0,986 e 0,989 e os desvios padrão dos resíduos foram de 1,69, 1,29 e 1,16 respectivamente. Os valores matemáticos indicam que o melhor ajuste foi o modelo de pseudo 2ª ordem. Entretanto, graficamente pode-se observar que a curva não se ajustou tão bem aos dados e os resíduos não estão aleatoriamente dispersos, apresentando uma tendência. Desta forma, considerou-se o modelo que melhor se ajustou aos dados como o de pseudo 1ª ordem.

Efeito da temperatura

Segundo ATKINS (2010), um dos fatores que podem alterar significativamente o curso de uma reação é a temperatura em que ela ocorre. Por isso o efeito da temperatura do sistema reacional foi investigado seguindo o procedimento descrito anteriormente, alterando apenas o controle da temperatura da solução de trimetoprim antes da adição de birnessita e durante o prosseguimento da reação.

Para avaliar melhor o efeito da temperatura na reação de degradação, os resultados foram analisados segundo o modelo de pseudo 1ª ordem. Na Figura 27 encontram-se o gráfico obtido e seus respectivos resíduos.

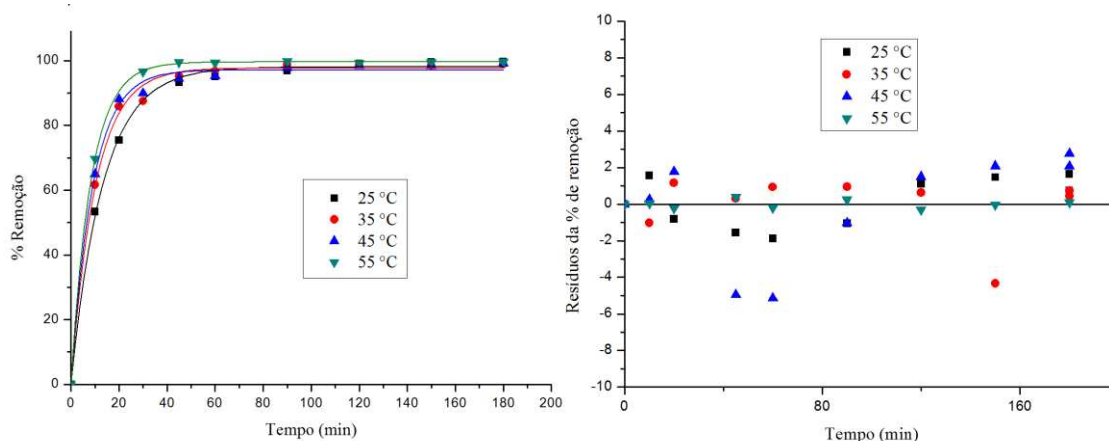


Figura 27: Resultados da reação de remoção em diferentes temperaturas, com ajuste do modelo de pseudo 1ª ordem e seus resíduos.

Pode-se perceber graficamente que o modelo pseudo 1ª ordem se ajustou bem aos dados e a análise de resíduos apresentou valores baixos e aleatoriamente distribuídos. Para uma melhor avaliação, também foram calculados os parâmetros k (constante de velocidade da reação) e R^2 para o modelo de pseudo 1ª ordem. Esses resultados estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3: Parâmetros do ajuste do modelo de pseudo 1ª ordem para as diferentes temperaturas de reação.

Pseudo 1ª ordem		
Temperatura / °C	R^2	$k / (\text{min}^{-1})$
25	0,997	$0,0751 \pm 0,0026$
35	0,995	$0,0975 \pm 0,0049$
45	0,995	$0,1099 \pm 0,0055$
55	0,999	$0,1202 \pm 0,0008$

Pode-se observar pela Figura 27 e pela Tabela 3 que o modelo cinético de pseudo 1ª ordem ajustou-se de forma adequada aos dados obtidos experimentalmente e que as constantes de velocidade mostraram uma tendência de aumento com o aumento de temperatura. A temperatura de 55 °C foi a que apresentou melhor resultado, chegando a uma degradação de 69% do trimetoprim presente em apenas 10 min.

Outro parâmetro que pode ser utilizado para avaliar a reação é a liberação de manganês, já que a birnessita é consumida ao reagir com o trimetoprim liberando esses íons. Para isso foram plotados graficamente os valores da concentração de manganês em relação ao tempo de reação (Figura 28).

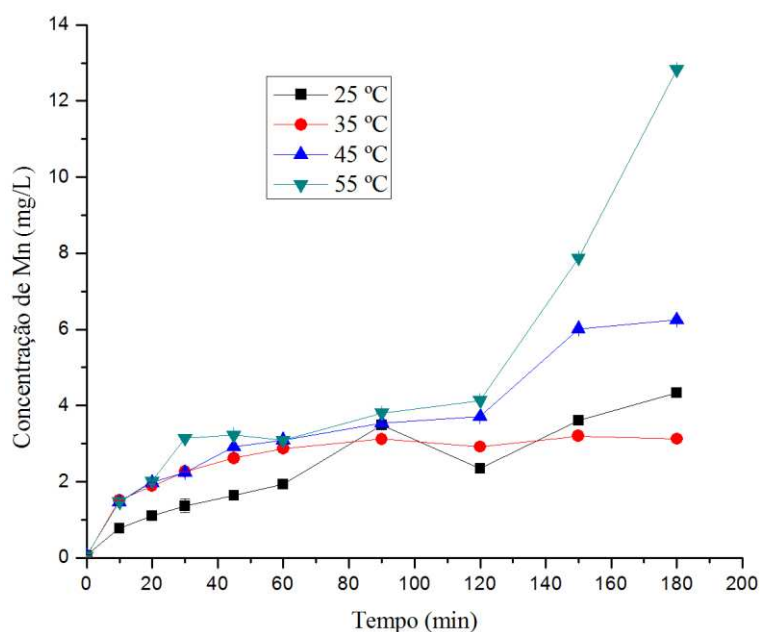


Figura 28: Variação da concentração de manganês no meio reacional com a birnessita (20 mg) em função da temperatura da reação ao longo do tempo.

Como se pode observar ao final do experimento, na temperatura de 55 °C obteve-se uma maior liberação do manganês no meio indicando a maior extensão da reação nesta temperatura corroborando com os resultados obtidos pelas análises por GC/MS.

Desta forma, foi utilizado o modelo linear da equação de Arrhenius para Teoria do Complexo Ativado para avaliar a correlação entre as constantes de velocidade e a temperatura (Figura 29). Por meio desta análise também foi

possível obter os valores termodinâmicos de entalpia (ΔH^* - coeficiente angular da equação) e entropia (ΔS^* - coeficiente linear da equação) (Tabela 4).

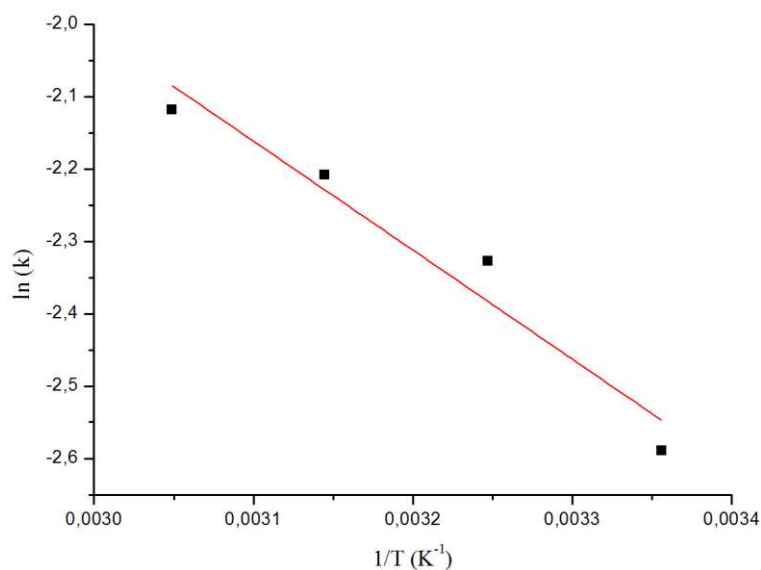


Figura 29: Gráfico de Arrhenius para o efeito da temperatura na degradação do trimetoprim pela birnessita.

Tabela 4: Parâmetros: R^2 , ΔH^* , ΔS^* obtidos pelo gráfico de Arrhenius e ΔG^* calculado para 25 °C.

Parâmetros termodinâmicos	
R^2	0,923
$\Delta H^* \text{ (J/mol)/R}$	$-1506,2 \pm 247,6$
$\Delta S^* \text{ (J/mol.K)/R}$	$2,507 \pm 0,792$
$\Delta G^* \text{ (J/mol)/R}$	$-2253,2 \pm 11,58$

A partir dos parâmetros relacionados na Tabela 4 pode-se concluir que o $\ln(k)$ e o recíproco da temperatura apresentam linearidade já que o R^2 foi de 0,923 indicando que a degradação segue o comportamento de Arrhenius.

Como a remoção não foi possível nos outros valores de pH estudados, não há como comparar os valores de ΔH^* e ΔS^* obtidos. Porém, como o valor calculado de ΔG^* é negativo, conclui-se que a reação é espontânea.

Portanto a temperatura influencia na reação de degradação do trimetoprim por birnessita, aumentando as porcentagens degradadas do fármaco. Para a temperatura de 55 °C chegou-se a 69% de degradação em apenas 10 minutos. Porém, como na temperatura de 25 °C a porcentagem neste mesmo tempo foi de 53%, escolheu-se essa temperatura para avaliar os demais parâmetros.

Efeito da concentração de trimetoprim

Foram analisadas três concentrações iniciais de trimetoprim para avaliar a capacidade máxima de degradação de uma mesma quantidade de birnessita (20 mg). As concentrações foram 10, 30 e 50 mg L⁻¹ e as reações foram realizadas a 25 °C em pH 2. Os resultados estão relacionados na Figura 30.

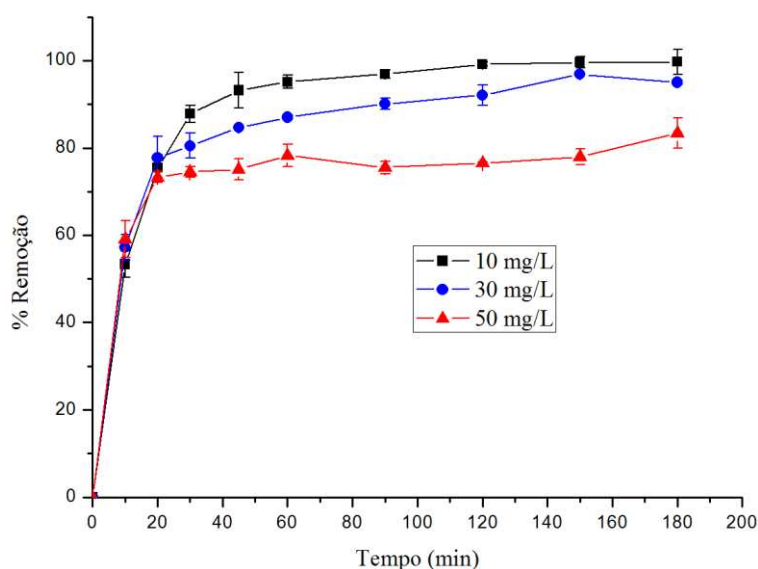


Figura 30: Resultado da reação de remoção utilizando diferentes concentrações de trimetoprim.

Pode-se notar que com o aumento da concentração de trimetoprim a reação chega a porcentagens de degradação maiores logo no início (10 min). Entretanto com o passar do tempo a degradação se estabiliza em valores menores quanto maior a concentração do fármaco.

Esse fenômeno pode ser atribuído ao fato de que inicialmente há uma maior quantidade de trimetoprim a ser degradada. Porém, a medida que a reação progride, a quantidade disponível de birnessita diminui já que ela é

consumida na reação e desta forma as reações com maiores quantidades de trimetoprim não conseguem alcançar valores maiores de porcentagem de degradação.

A liberação de manganês resultante da decomposição da birnessita pode ser analisada na Figura 31.

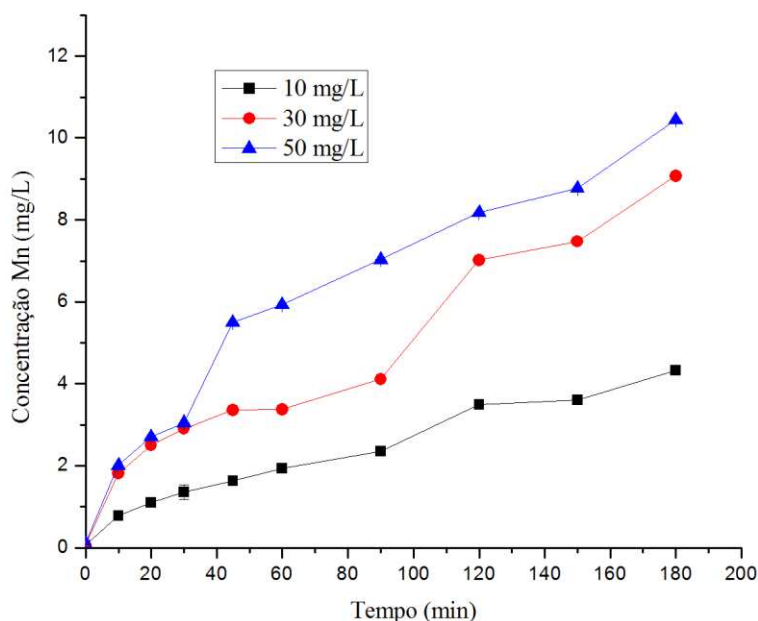


Figura 31: Variação da concentração de manganês na reação da birnessita com trimetoprim em diferentes concentrações, ao longo do tempo de reação.

Como se pode verificar, quanto maior a concentração de trimetoprim, maior a quantidade de manganês no meio reacional, indicando um maior consumo de birnessita. Entretanto, os valores obtidos da porcentagem de degradação de trimetoprim podem ser considerados bons mesmo para as maiores quantidades do fármaco, já que ao final da reação, a porcentagem de degradação chegou a 83 e 95% utilizando 50 e 30 mg L⁻¹ de trimetoprim contra 99% ao utilizar 10 mg L⁻¹.

Efeito da oxigenação/desoxigenação do meio

Para avaliar a influência do oxigênio na reação e obter mais informações sobre o seu mecanismo foram realizados ensaios utilizando 300 mL de solução de trimetoprim em água, em pH 2, a 10 mg L⁻¹ e 20 mg de birnessita a 25 °C.

Previamente, foi borbulhado ar sintético na solução do fármaco por 30 min e mantido o fluxo durante toda a reação. O mesmo foi feito para avaliar a possível interferência da desoxigenação do meio. Os resultados obtidos em porcentagem de degradação em relação ao tempo encontram-se na Figura 32.

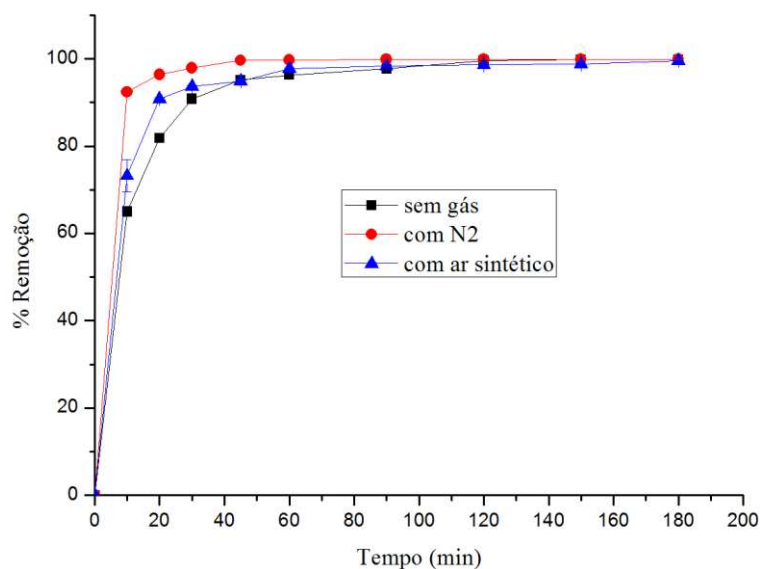


Figura 32: Porcentagem de remoção de trimetoprim em relação ao tempo com o uso de ar sintético e gás nitrogênio em comparação com a reação sem o uso de gás.

Como se pode observar no gráfico, a reação que foi realizada na presença de nitrogênio no meio alcançou 92% em apenas 10 minutos enquanto que, para o mesmo tempo, ao usar ar sintético a porcentagem obtida foi de 73%, contra 64% quando não se fez uso de nenhum gás.

Isso possivelmente ocorreu devido à remoção do oxigênio dissolvido na solução ao borbulhar gás nitrogênio. Desta forma, o equilíbrio da reação pode ser deslocado para o consumo da birnessita, favorecendo a reação com o trimetoprim. Além disso, ao borbulhar qualquer um dos gases se aumentou a agitação do meio que apesar de não ter sido otimizada neste estudo pode ser um fator importante na taxa de remoção.

CONCLUSÕES

O método analítico utilizado (DLLME-GC/MS) se mostrou eficiente para análise de trimetoprim em água após algumas adaptações simples e práticas que podem ser aplicadas em qualquer laboratório de análises.

A síntese utilizada para birnessita foi simples e rápida levando a um material de boa qualidade e compatível aos relatados na literatura, de acordo com os resultados de análise por infravermelho, raio X, termogravimetria e ponto de carga zero. Entretanto, para a obtenção de um material mais cristalino deve-se promover um controle mais rígido da vazão de cloridrato de hidroxilamina para o meio reacional.

A birnessita sintética se mostrou eficiente em degradar o antibiótico trimetoprim em águas contaminadas por resíduos deste fármaco. Os resultados levam a crer que se trata de uma reação de oxirredução e que provavelmente não se dá via radical livre.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O trabalho apresentado representa um caminho que pode ser seguido na degradação de fármacos e na quantificação de trimetoprim. Entretanto, a fim de extrair o máximo possível deste assunto ainda podem ser feitos trabalhos adicionais que complementem e tragam novas informações sobre tais materiais.

Recomenda-se que tal pesquisa prossiga a ponto de elucidar o mecanismo de reação, que devido aos resultados de análise de manganês por absorção atômica supõe-se ser uma reação de oxirredução. Porém, como alguns autores sugerem mecanismos via formação de radical, este tópico deve ser estudado (DANG *et al.*, 2013; DANG *et al.*, 2016).

Outro ponto que merece atenção é o produto de degradação obtido. Para realmente comprovar que este é um produto de degradação do trimetoprim deve-se isolar este analito e caracterizá-lo. Além disso, é importante verificar a toxicidade deste composto, pois diversas vezes os produtos de degradação podem ser mais tóxicos do que seus compostos de origem (ALHARBI *et al.*, 2017).

Sugere-se ainda fazer análises de carbono orgânico total para investigar demais degradações possíveis resultando na formação de compostos orgânicos não identificados.

Seria interessante ainda, aplicar o método de quantificação desenvolvido neste trabalho para alguns produtos comerciais do trimetoprim, como por exemplo os medicamentos Bactrim e Fortgal Plus (uso veterinário). O intuito seria investigar se a degradação e a extração podem ocorrer na presença de outros compostos que fazem parte da composição destes medicamentos.

Em relação à birnessita sintetizada, dever-se-ia investigar o seu uso quando calcinada já que muitos materiais apresentam características distintas quando calcinados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELLÁN, M. N.; BAYARRI, B.; GIMÉNEZ, J.; COSTA, J. Photocatalytic degradation of sulfamethoxazole in aqueous suspension of TiO₂. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 74, n. 3-4, 233-241, 2007.

AKAY, C.; ÖZKAN, S. A. Simultaneous LC determination of trimethoprim and sulphamethoxazole em pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, n. 4, 1207-1213, 2002.

ALHARBI, S. K.; KANG, J.; NGHIEM, J. D.; MERWE, J. P. V.; LEUSCH, F. D. L.; PRICE, W. E. Photolysis and UV/H₂O of diclofenac, sulfamethoxazole, carbamazepine, and trimethoprim: Identification of their major degradation products by ESI-LC-MS and assessment of the toxicity of reaction mixtures. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 112, 222-234, 2017

ALVI, M. A.; AL-GHAMDI, A. A.; AKHTAR, M. S. Synthesis of ZnO nanostructures via low temperature solution process for photocatalytic degradation of rhodamine B dye. **Materials Letters**, v. 204, 12-15, 2017.

ANVISA. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Poder Executivo, Brasília, DF: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA): seção 1, 56-59, 2003.

ATKINS, P. W.; JONES, L. **Princípios de química – Questionando a vida moderna e o meio ambiente**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

BARCELÓ, D. Emerging pollutants in water analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n.10, XIV-XVI, 2003.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, 523-530, 2003.

BOXALL, A. B. A.; KAY, P.; BLACKWELL, P. A.; FOGG, L. A. Fate of veterinary medicines applied to soil. In: KÜMMERER, K. (Ed.). **Pharmaceuticals in the environment**. Heidelberg: Springer, 2004. p. 165-180.

BRENNER, C. G. B. **Antimicrobiais sulfametoxizol e trimetoprima em efluente hospitalar: determinação, degradação através de**

eletrocoagulação e identificação de subprodutos e metabólitos. 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

BRUCHET, A.; PROMPSY, C.; FILLIPPI, G.; SOUALI, A. A broad spectrum analytical scheme for the screening of endocrine disruptors (EDs), pharmaceuticals and personal care products in wastewaters and Waters. **Water Science and Technology**, v. 46, n. 3, 97-104, 2002.

CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massa. **Química Nova**, v. 34, n. 9, 1604-1617, 2011.

CALDAS, S. S.; ROMBALDI, C.; ARIAS, J. L. O.; MARUBE, L. C.; PRIMEL, E. G. Multi-residue method for determination of 58 pesticides, pharmaceuticals and personal care products in water using solvent demulsification dispersive liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 146, 676-688, 2016.

CHEN, X.; SHEN, Y.; SUIB, S. L.; O'YOUNG, C. L. Characterization of manganese oxide octahedral molecular sieve (M-OMS-2) materials with diferente metal cation dopants. **Chemistry of Materials**, v. 14, n. 2, 940-948, 2002.

CHOI, K. J.; KIM, S. G.; KIM, C. W., PARK, J. K. Removal efficiencies of endocrine disrupting chemicals by coagulation/flocculations, ozonation, powdered/granular activated carbon adsorption, and chlorination. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 23, n. 3, 399-408, 2006.

CÓRDOVA, M. L. F., BARRALES, P. O.; TORNÉ, G. R. DÍAZ, A. M. A flow injection sensor for simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim by using Sephadex SP C-25 for continuous on-line separation and solid phase UV transduction. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 31, n. 4, 669-677, 2003.

DANG, T. D.; BANERJEE, A. N.; CHENEY, M. A.; QIAN, S.; JOO, S. W.; MIN, B. K. Bio-silica coated with amorphous manganese oxide as an efficient

catalyst for rapid degradation of organic pollutant. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 106, 151-157, 2013.

DANG, T. D.; BANERJEE, A. N.; TRAN, Q-T.; ROY, S. Fast degradation of dyes in water using manganese-oxide-coated diatomite for environmental remediation. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 98, 50-58, 2016.

DE BEL, E.; DEWULF, J.; WITTE, B. D.; VAN LANGEHOVE, H.; JANSSEN, C. Influence of pH on the sonolysis of ciprofloxacin: Biodegradability, ecotoxicity and antibiotic activity of its degradation products. **Chemosphere**, v. 77, n. 2, 291-295, 2009.

DESBROW, C.; ROUTLEDGE, E. J.; BRIGHTY, G. C.; SUMPTER, J. P.; WALDOCK, M. W. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 11, 1549-1558, 1998.

DI LEO, P.; PIZZIGALLO, M. D. R.; ANCONA, V.; DI BENEDETTO, F.; MESTO, E.; SCHINGARO, E.; VENTRUTI, G. Mechanochemical transformation of an organic ligand on mineral surfaces: The efficiency of birnessite in catechol degradation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 201-202, 148-154, 2012.

DIAS, I. N. *Degradação de fluoreno, sulfametoxazol e trimetoprima por fotocatalise, foto-fenton e foto-fenton mediado por complexos de ferrioxalato utilizando radiação solar natural e artificial*. 2015. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

EGUCHI, K.; NAGASE, H.; OZAWA, M.; ENDOH, Y. S.; GOTO, K.; HIRATA, K.; MIYAMOTO, K.; YOSHIMURA, H. Evaluation of antimicrobial agents for veterinary use in the ecotoxicity test using microalgae. **Chemosphere**, v. 57, 1733-1738, 2004.

EVGENIDOU, E.; KONSTANTINOY, I.; FYTIANOS, K.; POULIOS, I.; ALBANIS, T. Photocatalytic oxidation of methyl parathion over TiO₂ and ZnO suspensions. **Catalysis Today**, v. 124, n. 3-4, 156-162, 2007.

FENG, Q.; KANO, H.; OOI, K. Manganese oxide porous crystals. **Journal of Materials Chemistry**, v. 9, n. 2, 319-333, 1999.

FIERRO, V.; FERNÁNDEZ, V. T.; MONTANÉ, D. CELZARD, A. Adsorption of phenol onto activated carbons having different textural and surface properties. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 111, n. 1-3, 276-285, 2008.

FIGUEIRA, B. A. M.; ANGÉLICA, R. S.; SCHELLER, T. Síntese e caracterização de óxido hidróxido de manganês do tipo manganita (γ - MnOOH). **Cerâmica**, v. 54, 193-197, 2008

GAFFNEYA, V. DE JESUS. et al. Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS. **Química Nova**, v. 37, n. 1, 138-149, 2014.

GUMBI, B. P.; MOODLEY, B.; BIRUNGI, G.; NDUNGU, P. G. Detection and quantification of acidic drug residues in South African surface water using gas chromatography-mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 168, 1042-1050, 2017.

HALLING-SORENSEN, B.; NIELSEN, S. N.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; LÜTZHOFT, H. C. H.; JORGENSEN, S. E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review. **Chemosphere**, v. 36, n. 2, 357-393, 1998.

HOSPIDO, A.; CARBALLA, M.; MOREIRA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M.; FEIJOO, G. Environmental assessment of anaerobically digested sludge reuse in agriculture: potential impacts of emerging micropollutants. **Water Research**, v. 44, n. 10, 3225-3233, 2010.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos**. Revisão 3, fev. 2010, p. 20. 2010

JOHNSON, A. C.; BELFROID, A.; CORCIA, A.; Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. **The Science of the Total Environment**, v. 256, 163-173, 2000.

JONES, A. W. Early drug discovery and the rise of pharmaceutical chemistry. **Drug Testing and Analysis**, v. 3, 337-344, 2011.

JUNG, Y. J.; KIM, W. G.; YOON, Y.; KANG, J. W.; HONG, Y. M.; KIM, H. W. Removal of amoxicillin by UV and UV/H₂O₂ processes. **Science of the Total Environment**, v. 420, n. 15, 160-167, 2012.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 6, 1202-1211, 2002.

LARSEN, T. A.; LIENERT, J.; JOSS, A.; SIEGRIST, H. How to avoid pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of Biotechnology**, v. 113, 295-304, 2004.

LINDBERG, R. H.; BJÖRKLUND, K.; RENDAHL, P.; JOHANSSON, M. I.; TYSKLIND, M.; ANDERSSON, B. A. V. Environmental risk assessment of antibiotics in the Swedish environment with emphasis on sewage treatment plants. **Water Research**, v. 41, 613-619, 2007.

LIU, C.; NANABOINA, V.; KORSHIN, G. V.; JIANG, W. Spectroscopic study of degradation products of ciprofloxacin, norfloxacin and lomefloxacin formed in ozonated wastewater. **Water Research**, v. 46, n.6, p.5235-5246, 2012.

LIU, L.; LUO, Y.; TAN, W.; ZHANG, Y.; LIU, F.; QIU, G. Facile synthesis of birnessite-type manganese oxide nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 482, 183-192, 2016.

LOFRANO, G.; LIBRALATO, G.; ADINOLFI, R.; SICILIANO, A.; IANNECE, P.; GUIDA, M. GIUGNI, M.; VOLPI GHIRARDINI, A.; CAROTENUTO, M. Photocatalytic degradation of the antibiotic chloramphenicol and effluente toxicity effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 123, 65-71, 2016.

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

MOUSSAVI, G.; ALAHABADI, A.; YAGHMAEIAN, K. Investigating the potencial of carbono activated with NH₄Cl for catalyzing the degradation and

mineralization of antibiotics in ozonation process. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 97, n. 1, 91-99, 2015.

MULTIGNER, L.; OLIVA, A. Secular variations in sperm quality: fact or Science fiction? **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 2, 403-412, 2002.

NORONHA, L. M. S.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; OLIVEIRA, A. F. Evaluation of the Effects of Hofmeister Series on Salting Out in the Determination of Organophosphorous Pesticides and Pyrethroids by LDS/DLLME. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 9, 1897-1901, 2015.

ORMAD, M. P.; MIGUEL, N.; CLAVER, A.; MATESANZ, J. M.; OVELLEIRO, J. L. Pesticides removal in the process of drinking water production. **Chemosphere**, v. 71, n. 1, 97-106, 2008.

PARK, J.; WANG, J. J.; XIAO, R.; TAFTI, N.; DELAUNE, R. D.; SEO, D. Degradation of Orange G by Fenton-like reaction with Fe-impregnated biochar catalyst. **Bioresource Technology**, v. 249, 368-376, 2018.

PEREIRA, W. S.; FREIRE, R. S. Ferro zero: uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes. **Química Nova**, v. 28, 130-136, 2005.

POURAKBAR, M.; MOUSSAVI, G.; SHEROOHIYAN, S. Homogenous VUV advanced oxidation process for enhanced degradation and mineralization of antibiotics in contaminated water. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 125, 72-77, 2016.

QIN, M.; ZHAO, H.; YANG, W.; ZHOU, Y.; LI, F. A facile one-pot synthesis of three-dimensional microflower birnessite (δ - MnO_2) and its efficient oxidative degradation of rhodamine B. **Royal Society of Chemistry**, v. 6, n. 28, 23905-23912, 2016.

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RASTOGI, A.; AL-ABED, S. R.; DIONYSIOU, D. D. Sulfate radical-based ferrous-peroxymonosulfate oxidative system for PCBs degradation in aqueous

and sediment systems. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 85, n. 3-4, 171-179, 2009.

REZAEI, M.; ASSADI, Y.; HOSSEINI, M-R. M.; AGHAEI, E.; AHMADI, F.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1-2, 1-9, 2006.

SANTOS, L. V. S.; MEIRELES, A. M.; LANGE, L. C. Degradation of antibiotics norfloxacin by Fentox, UV and UV/H₂O₂. **Journal of Environmental Management**, v. 154, 8-12, 2015.

SARAVANAN, M.; HUR, J. H.; ARUL, N.; RAMESH, M. Toxicological effects of clofibric acid and diclofenac on plasma thyroid hormones of an Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* during short and long-term exposures. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 38, 948-958, 2014.

SHIRAISHI, F.; IKEDA, S.; KAMIKARIYA, N. Photocatalytic decompositions of gaseous HCHO over thin films of titanium oxide converted from amorphous in a heated air and in an aqueous solution of hydrogen peroxide. **Chemical Engineering Journal**, v. 148, n. 2-3, 234-241, 2009.

SIRTORI, C.; AGÜERA, A.; GERNJAK, W.; MALATO, S. Effect of water-matrix composition on trimethoprim solar photodegradation kinetics and pathways. **Water Research**, v. 44, n. 9, 2735-2744, 2010.

SÖRENSEN, M.; ZEGENHAGEN, F.; WECKENMANN, J. State of the art wastewater treatment in pharmaceutical and chemical industry by advanced oxidation. **Pharmazeutische Industrie**, v. 77, n. 4, 594-607, 2015.

SOUSA, J. C. G.; RIBEIRO, A. R.; BARBOSA, M. O.; PEREIRA, M. F. R.; SILVA, A. M. T. A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. **Journal of Hazardous Materials**, v. 344, 146-162, 2018.

STEVENS-GARMON, J.; DREWES, J. E.; KHAN, S. J.; MCDONALD, J. A.; DICKENSON, E. R. Sorption of emerging trace organic compounds onto wastewater sludge solids. **Water Research**, v. 45, n. 11, 3417-3426, 2011.

SUIB, S. L. Porous manganese oxide octahedral molecular sieves and octahedral layered materials. **Accounts of Chemical Research**, v. 41, n. 4, 479-487, 2008.

TERNES, T. A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R. -D.; SERVOS, M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. **The Science of the Total Environment**, v. 225, 81-90, 1999.

VICTOR, R. P. D. **Estudo da remoção de poluentes orgânicos da água por óxidos de manganês e alumínio de valência zero**. 2017. Tese (Doutorado em agroquímica) – Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WINKLER, H.; LAWRENCE, J. R.; NEU, T. R. Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm systems. **Water Research**, v. 35, n. 13, 3197-3205, 2001.

XU, F.; MOU, Z.; GENG, J.; ZHANG, X.; LI, C. Azo dye decolorization by a halotolerant exoelectrogenic decolorizer isolated from marine sediment. **Chemosphere**, v. 158, 30-36, 2016.

YOON, Y.; WESTERHOFF, P.; SNYDER, S. A.; WERT, E. C.; YOON, J. Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes. **Desalination**, v. 202, n. 1-3, 16-23, 2007.

ZHANG, Y.; ZHOU, J. L. Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater. **Chemosphere**, v. 73, n. 5, 848-853, 2008.

ZHOU, J.; YU, L.; SUN, M.; YANG, S.; YE, F.; HE, J.; HAO, Z. Novel synthesis of birnessite – type MnO₂ nanostructure for water treatment and electrochemical capacitor. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 28, 9586-9593, 2013.