

## II-558 – ESTUDO DA EFICIÊNCIA DE FOTODEGRADAÇÃO (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV) DA ISONIAZIDA E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DE DEGRADAÇÃO

**Marco Veiga<sup>(1)</sup>**

Engenheiro Químico pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Engenheiro Sanitarista pela Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca. MBA em Gestão Ambiental pela Universidade Federal do Rio de Janeiro. Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente. Mestre em Engenharia Ambiental pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Chefe da Divisão de Meio Ambiente do Laboratório Farmacêutico da Marinha. Ministério da Defesa. Marinha do Brasil.

**Marcia Dezotti<sup>(2)</sup>**

Graduada em Química pela Unicamp, Mestrado e Doutorado em Química pela Unicamp e pós-doutorado na North Carolina State University. Atualmente é Professora Associada no Programa de Engenharia Química da COPPE na Universidade Federal do Rio de Janeiro (mdezotti@peq.coppe.ufrj.br).

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Avenida Athos da Silveira Ramos, 149, CT - Bloco A, 2º andar - Cidade Universitária - Rio de Janeiro - RJ - Brasil CEP: 21941-909 - Caixa Postal 68529 Tel: (21) 7855-7573 - e-mail: eng.veiga@poli.ufrj.br

### RESUMO

A ocorrência de resíduos de fármacos pertencentes à classe terapêutica dos antibióticos é um grave problema ambiental devido à possibilidade dos micro-organismos presentes nas matrizes ambientais desenvolverem mecanismos de resistência a esses fármacos. A isoniazida é um antibiótico de primeira escolha, utilizado no esquema terapêutico para o tratamento da tuberculose pulmonar, uma grave doença infectocontagiosa, cuja incidência no Brasil aumentou significativamente nos últimos anos.

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a eficiência de degradação e mineralização da isoniazida via aplicação dos Processos Oxidativos Avançados na sua variante H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, bem como a identificação dos compostos de degradação por CLAE-EM. Com respeito à eficiência, o processo alcançou taxas de mineralização de 100% após o tempo reacional de 60 minutos. A degradação do fármaco foi observada após 5 minutos de reação para ambas as proporções molares avaliadas. O modelo de segunda ordem foi o que melhor representou os dados da cinética de degradação da isoniazida. Adicionalmente, a degradação do fármaco deu origem a seis produtos de degradação, que foram efetivamente removidos ao final de 60 minutos, para ambas as proporções molares investigadas.

Em face aos resultados obtidos é possível inferir que o processo é potencialmente viável de ser aplicado em tratamento de águas contaminadas com fármacos e, possivelmente outros poluentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Resíduos de Fármacos, Processo Oxidativo Avançado, Compostos de Degradação, Isoniazida.

### INTRODUÇÃO

Ao longo dos últimos anos, os resíduos de fármacos vêm sendo considerado um grave problema ambiental devido ao seu descarte contínuo nos ecossistemas aquáticos, mesmo sendo detectados em baixas concentrações, ao seu elevado grau de persistência e principalmente pela possibilidade de geração de resistência bacteriana (Klavarioti *et al.*, 2009).

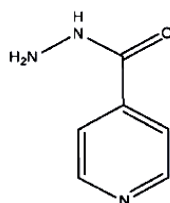
Os resíduos de fármacos pertencentes à classe terapêutica dos antibióticos são os que mais preocupam a comunidade científica, os quais quando presentes nas matrizes ambientais podem sensibilizar os micro-organismos e assim induzir a resistência bacteriana. Caso o micro-organismo resistente venha infectar o homem, este por sua vez poderá desenvolver a doença, e o indivíduo ao fazer uso do fármaco indicado para tratar a infecção, poderá não responder a terapia e assim evoluir para óbito, sendo considerado, portanto um grave problema de saúde pública.

As implicações dos efeitos biológicos causados pela presença dos resíduos de antibióticos no meio ambiente, ainda não foram completamente elucidadas, mas sabe-se que podem levar ao aumento da resistência bacteriana dando origem inclusive às denominadas superbactérias (Lin e Tsai, 2009).

Tecnologias convencionais como, por exemplo, filtros biológicos e sistemas de lodos ativados mostraram degradar fármacos em pequena extensão (Huber *et al.*, 2005). Consequentemente, muitos medicamentos são apenas parcialmente removidos dos efluentes durante um processo biológico e são descartados continuamente nos corpos receptores ainda capazes de exercer efeitos biológicos (Andreozzi *et al.*, 2003). Por isso os processos oxidativos avançados (POA) antes e/ou após o tratamento biológico, parece promissor e até necessário para garantir a completa remoção dessas substâncias dos efluentes, sejam domésticos, hospitalares ou mesmo de indústrias farmacêuticas (Ikehata *et al.*, 2006).

Para o tratamento de efluentes contendo resíduos de fármacos, dentre as opções de POA, a radiação ultravioleta associada ao peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ /UV) se mostra viável por envolver reações com espécies de alto poder oxidante, além de não haver a transferência de fase dos poluentes e não introduzir outras substâncias químicas na matriz a ser tratada.

O fármaco escolhido para este trabalho foi a isoniazida (INH, Figura 1), um potente agente tuberculostático de primeira escolha pertencente à classe terapêutica dos antibióticos quimioterápicos, utilizado no protocolo clínico de tratamento da tuberculose pulmonar (TB).



**Figura1: Estrutura molecular da isoniazida ( $C_6H_7N_3O$ ).**

A TB é uma grave doença infecto-contagiosa transmitida basicamente pelo ar e pode atingir todos os órgãos do corpo (Souza & Vasconcelos, 2005). Dados fornecidos pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) denotam que a incidência no Brasil dessa doença é em torno de 71 mil casos por 100 mil habitantes com taxa de mortalidade bastante elevada, cerca de 4,8 mortes/mil habitantes, enquanto que o número de pessoas infectadas é estimado em 42 milhões e cerca de 10% dos casos notificados por ano ocorrem em menores de 15 anos. As maiores incidências encontram-se no Estado do Rio de Janeiro com 69,8 novos casos/100 mil habitantes (SVS, 2011).

A luz do exposto, esses dados contribuem para o possível aumento da ocorrência da isoniazida no meio ambiente tanto em função do aumento do consumo do fármaco bem como, devido ao uso intensivo pelos indivíduos portadores da doença, o qual segundo dados farmacocinéticos cerca de 75 a 95% de uma dose de isoniazida são excretados na urina dentro de 24 h, em sua maioria sob a forma de metabólitos ativos (Goodman & Gilman, 2006).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da aplicação dos Processos Oxidativos Avançados (POA) na sua variante peróxido de hidrogênio combinado com a radiação ultravioleta ( $H_2O_2$ /UV), para total remoção de Carbono Orgânico Total e da isoniazida para ambas as proporções molares de  $H_2O_2$  avaliadas [1C:1 $H_2O_2$ ] e [1C:2 $H_2O_2$ ]. Secundariamente, a concentração de nitrogênio amoniacal liberada para o meio foi quantificada em função da concentração de  $H_2O_2$ . Por fim, foi realizada a determinação da constante cinética da reação, assim como a identificação dos compostos de degradação via cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa (CLAE-EM).

O desenvolvimento desse trabalho contou com o apoio institucional do Laboratório Farmacêutico da Marinha, organização militar pertencente à Marinha do Brasil.

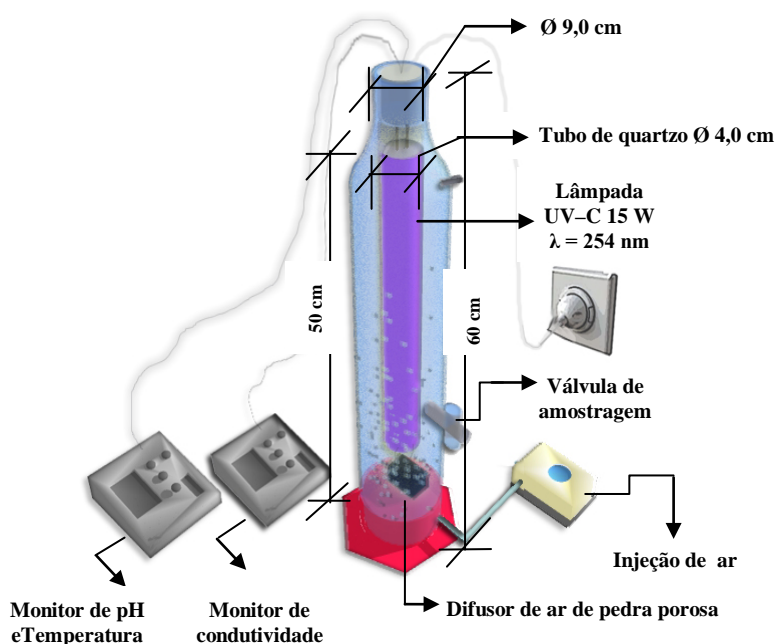
## MATERIAIS E MÉTODOS

### PREPARO DAS AMOSTRAS

A solução contendo o fármaco foi preparada a partir do padrão primário USP (United State Pharmacopeia) com teor de pureza de 99,97% na concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  em água Milli-Q ( $0,22 \mu\text{m}$ ), cujo o valor do pH natural da solução foi de 7,3. Após a completa dissolução do fármaco, as amostras eram imediatamente submetidas à análise para determinação do Carbono Orgânico Total (COT), concentração de  $\text{NH}_4^+$ , pH, condutividade e transferidas para o reator fotocatalítico.

A quantidade de  $\text{H}_2\text{O}_2$  adicionado no reator era diretamente proporcional ao volume total de efluente a ser tratado bem como o resultado obtido nas análises de COT. Para cada nova batelada, o efluente sintético era submetido à nova análise de COT para cálculo do volume de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a ser adicionado no reator. O  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi adicionado ao sistema com auxílio de uma micropipeta, sempre numa dosagem única no início do experimento. A concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  utilizada variou de  $0,84 \text{ mmol}$  para proporção molar  $[1\text{C}:1\text{H}_2\text{O}_2]$ , e  $1,68 \text{ mmol}$  para  $[1\text{C}:2\text{H}_2\text{O}_2]$ .

Conforme ilustrado na Figura 2 o sistema é composto por um reator em vidro borossilicato com geometria cilíndrica com altura de 60 cm e diâmetro de 9,0 cm e volume total de 2 L. A lâmpada de UV-C germicida (Philips) emite energia luminosa no comprimento de onda ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ), e possui potência nominal de 15 Watts, é encamisada por um tubo de quartzo de 2 mm de espessura por 50 cm de comprimento e diâmetro de 4,0 cm. O reator possui ainda um difusor de ar de pedra porosa, localizado na base do reator conectado a um sistema de ar comprimido cujo o fluxo de ar introduzido foi aferido por um fluxômetro o qual registrou a vazão de  $0,5 \text{ L min}^{-1}$ , possui ainda uma válvula manual para retirada de amostras.



**Figura 2: Desenho esquemático do reator fotocatalítico com as respectivas dimensões.**

Os tempos de reação adotados no experimento foram: 1,3, 5, 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60 min. Experimentos com 60 min apenas radiação UV e somente na presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foram realizados, sendo estes denominados de experimento controle.

### PARÂMETROS ANALÍTICOS

Para determinação da eficiência global do processo de fotodegradação, foram escolhidos os parâmetros, bem como adotado a seguinte estratégia de monitoramento, conforme detalhado a seguir e resumido na Tabela 1.

- COT  $\text{mg C L}^{-1}$ : imediatamente após o preparo do efluente e em todos os tempos de radiação;
- pH: imediatamente após o preparo do efluente (pH original da solução), após a dosagem do  $\text{H}_2\text{O}_2$  e em todos os tempos de reação;
- $\text{NH}_3$  ( $\text{mg L}^{-1}$ ): imediatamente após o preparo do efluente sintético e em todos os tempos de reação;
- Absorbância (ABS) no UV-Vis  $\lambda=265 \text{ nm}$ : após o preparo do efluente sintético e em todos os tempos de reação;
- Conc. residual via CLAE ( $\text{mg L}^{-1}$ ): somente no final do processo em todos os tempos de reação; e
- Compostos de Degradação via CLAE-EM: somente no final do processo em todos os tempos de reação.

O equipamento utilizado no processamento das análises de COT foi o COT 2000 FARMA, com mecanismo baseado no princípio de Foto-Oxidação Catalítica. Em relação à CLAE foi utilizado o equipamento da Waters® Alliance, modelo Waters 2695 DAD. A composição da fase móvel:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1 M +  $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_4\text{OH})_3$  (95:5) e tampão ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) + metanol @ pH 6,9. A Coluna cromatográfica utilizada:  $\text{C}_{18}$   $5\mu\text{m}$  4,6x250mm (Waters); volume de injeção: 100  $\mu\text{L}$ ; detector: UV/DAD 254 –nm e fluxo: 1,5  $\text{mL min}^{-1}$ .

**Tabela1: Estratégia de monitoramento dos parâmetros analíticos avaliados.**

| Tempo (min)                   | Parâmetros Analíticos        |          |                                  |                                 |   |                                  |                                 |                                      |           |                                     |           |   |          |            |
|-------------------------------|------------------------------|----------|----------------------------------|---------------------------------|---|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|-----------|-------------------------------------|-----------|---|----------|------------|
|                               | COT ( $\text{mg C L}^{-1}$ ) |          | pH                               |                                 | Condutividade ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) |                                  |                                 | $\text{NH}_3$ ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |           | ABS UV-Vis $\lambda=265 \text{ nm}$ |           | Conc. Residual CLAE-EM ( $\text{mg L}^{-1}$ ) |          | CD CLAE-EM |
|                               | ANTES POA                    | APÓS POA | ANTES ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) | APÓS ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) | FINAL POA                               | ANTES ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) | APÓS ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) | FINAL POA                            | ANTES POA | APÓS POA                            | ANTES POA | APÓS POA                                      | APÓS POA | APÓS POA   |
| 1                             |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  |                                 | X                                    |           | X                                   |           | X   |          | X          |
| 3                             |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  |                                 | X                                    |           | X                                   |           | X   |          | X          |
| 5                             |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  |                                 | X                                    |           | X                                   |           | X   |          | X          |
| 7                             |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  |                                 | X                                    |           | X                                   |           | X   |          | X          |
| 10                            |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  |                                 | X                                    |           | X                                   |           | X   |          | X          |
| 20                            |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  |                                 | X                                    |           | X                                   |           | X   |          | X          |
| 30                            | X                            | X        | X                                | X                               | X                                       | X                                |                                 | X                                    | X         | X                                   | X         | X   | X        | X          |
| 40                            |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  | X                               | X                                    |           | X                                   | X         | X   | X        | X          |
| 50                            |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  |                                 | X                                    |           | X                                   |           | X   | X        | X          |
| 60                            |                              | X        |                                  |                                 | X                                       |                                  |                                 | X                                    |           | X                                   |           | X   | X        | X          |
| 60 (UV)                       |                              | X        |                                  | NR*                             | X                                       |                                  | NR*                             | X                                    |           | X                                   |           | X   | X        | X          |
| 60 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) |                              | X        |                                  | X                               | X                                       |                                  | X                               | X                                    |           | X                                   |           | X   | X        | X          |

NR\* - Não Realizado.

As análises dos compostos de degradação foram realizadas apenas de forma qualitativa. Foi utilizado o espectro de massa com tecnologia triplo quadrupolo da marca Varian® mod. 320 MS com dois quadrupolos (analisadores) em paralelo e câmara de colisão (quadrupolo em U) ligados ao detector elétron multiplier com detector-UV/DAD 254-nm. A fase móvel utilizada possuía a seguinte composição: Fase A:  $\text{H}_2\text{O}$ /Ácido fórmico 0,1%; Fase B: Metanol/Acetonitrila/50:50 – Gradiente: 10% B 90% A. Coluna  $\text{C}_{18}$   $5\mu\text{m}$ -4,6x150mm Atlantis t3; volume de injeção: 10  $\mu\text{L}$  e fluxo: 0,4  $\text{mL min}^{-1}$ .

A Espectrofotometria de absorção no UV-Vis foi realizada no Cary Win UV 50 Conc da marca Varian®. Foram executados experimentos confirmatórios com a solução de INH a 10  $\text{mg L}^{-1}$  no  $\lambda=265\text{nm}$ , em seguida as amostras resultantes do processo de fotodegradação foram submetidas a varredura completa na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm. A concentração da  $\text{NH}_4^+$  foi avaliada, com o auxílio de um medidor de pH/ORP/ISE/temperatura da marca DIGIMED DM. O pH foi determinado pelo método potenciométrico com auxílio do medidor automático da marca WTW Inolab modelo pH 720.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA NO UV- VIS DA INH

Os espectros de absorção das Figuras 3 (a) e (b) apresentaram ao longo do tempo reacional uma sensível diminuição da absorbância das bandas características da INH indicando que o anel piridínico foi rompido resultando na perda do efeito terapêutico. Simultaneamente, Figuras 4 (a) e (b) foram observadas mudanças contínuas nas regiões entre 590,9 a 669,0 nm acusando uma discreta absorção confirmando que concomitante a degradação do fármaco, ocorreu também à formação de outros compostos.

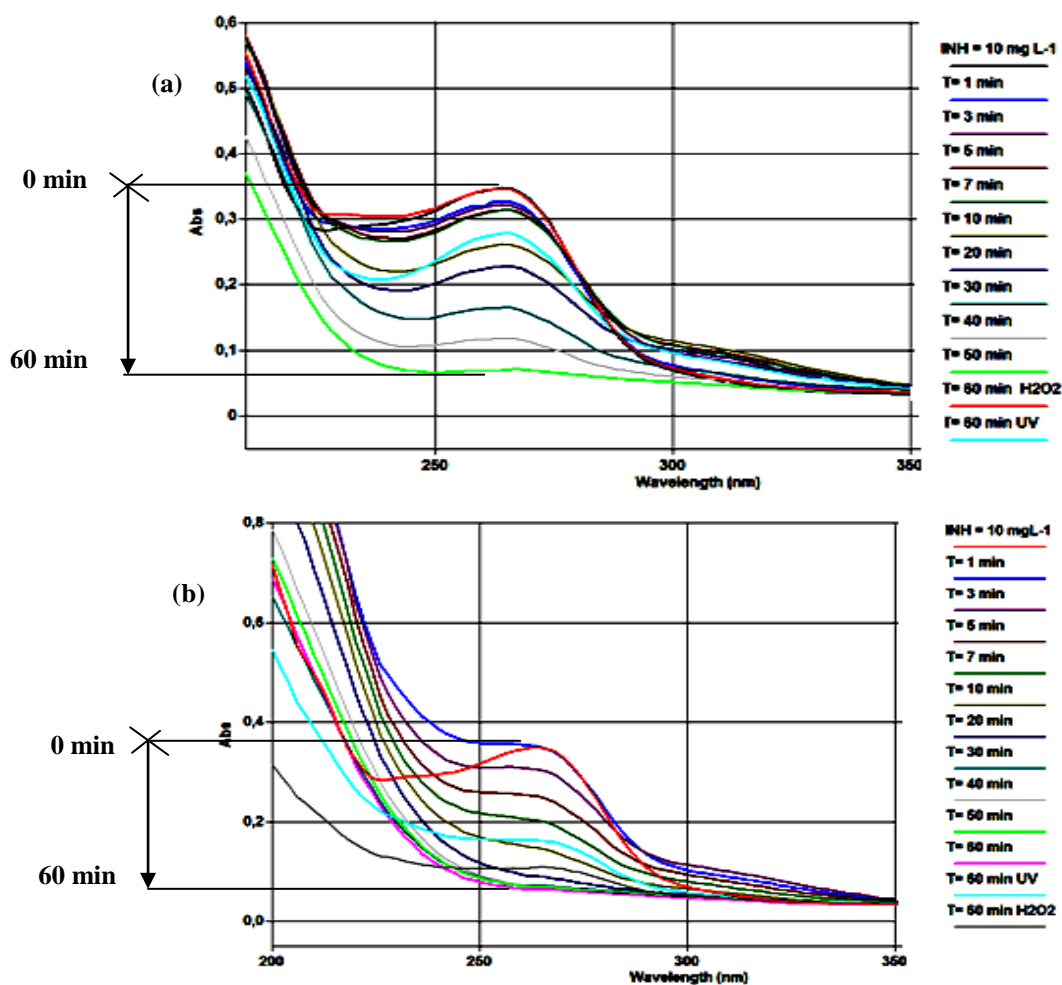
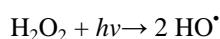
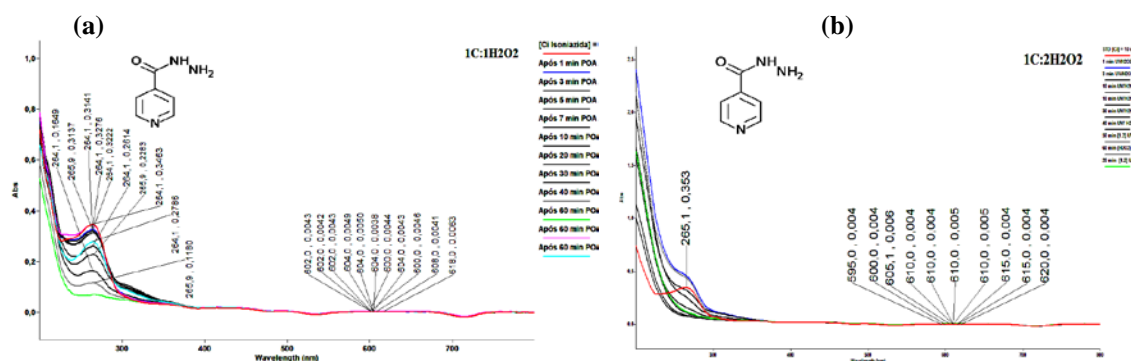


Figura 3: Espectros de varredura completa no UV-Vis indicando a sobreposição espectral do meio reacional. (a) [1C:1H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] e (b) [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>].

É importante registrar que a absorção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ocorre no comprimento de onda de 220 nm. Entretanto, não foi evidenciada nenhuma banda de absorção nesse comprimento de onda, o que permite concluir que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi totalmente convertido a radicais HO<sup>•</sup>, conforme apresentado na equação 1.



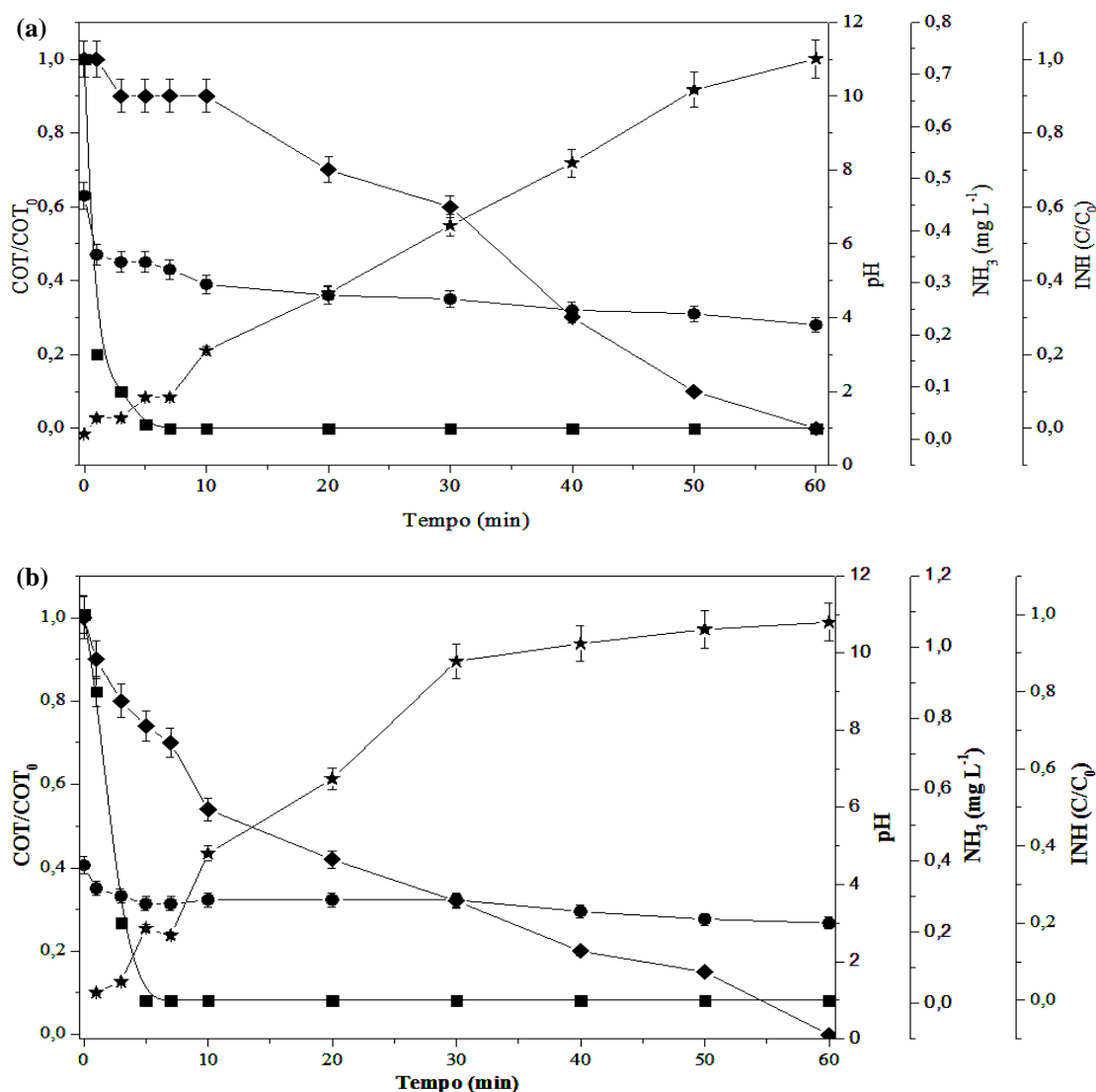
equação (1)



**Figura 4: Espectros de varredura completa no UV-Vis indicando mudanças contínuas na região entre 590,9 a 669,0 nm. (a) [1C:1H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] e (b) [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>].**

### ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> NO pH

Como pode ser observado na Figura 5 (a), o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> causou uma sensível redução no pH natural do efluente (pH 7,3) alcançando o valor final de 3,9. Lewin e Hirsch (1985) avaliaram os efeitos da temperatura e agentes quelantes sobre a estabilidade em solução da INH sob diferentes valores de pH e foi constatado que em pH 6,5 a INH sofre decomposição de cerca de 80%.



**Figura 5: Perfis de monitoramento. (a) [1C:1H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] - (♦) COT/COT<sub>0</sub>, (■) INH (C/C<sub>0</sub>), (●) pH, (★) NH<sub>4</sub> (mg L<sup>-1</sup>); (b) [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] - (♦) COT/COT<sub>0</sub>, (■) INH (C/C<sub>0</sub>), (●) pH, (★) NH<sub>3</sub> (mg L<sup>-1</sup>).**

De acordo com Lewin e Hirsch (1985) é possível inferir que a INH em função do pH inicial sofre degradação logo nos primeiros minutos de reação do processo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, influenciando na taxa da reação de oxidação.

Para a razão molar [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] Figura 5 (b), o pH registrado logo após a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi de 4,5, e o pH após 60 minutos de reação alcançou o valor de 3,9, tornando o meio reacional ainda mais ácido. Portanto, pode-se concluir que a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exerceu uma influência direta no pH inicial do meio reacional, degradando a molécula de INH e possibilitando a formação de compostos de degradação, além de alterar a taxa da reação de oxidação para ambas as proporções molares avaliadas.

## REMOÇÃO DE CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT)

De acordo com as Figuras 5 (a) e (b) a remoção de COT ocorreu de forma satisfatória, alcançando 100% de mineralização em 60 minutos de reação para ambas proporções molares avaliadas.

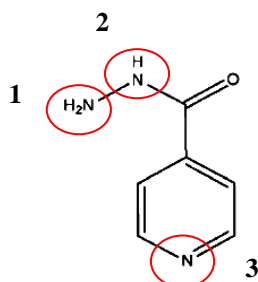
A análise de tais resultados permite supor, portanto, que a maior parte (ou a totalidade) do carbono remanescente em solução está relacionado à presença dos compostos de degradação, os quais sabidamente são



formados a partir de pH 6,5. O ataque do radical  $\text{HO}^\bullet$  ocorre preferencialmente nesses compostos, retardando a velocidade de degradação e consequentemente o atingimento do estado pseudo estacionário da reação, o que justifica a completa mineralização do fármaco somente no tempo reacional de 60 minutos.

### INVESTIGAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE $\text{NH}_4^+$ NO MEIO REACIONAL

Os princípios ativos e excipientes farmacêuticos possuem na sua grande maioria átomos de nitrogênio em sua fórmula estrutural, que em função da degradação, esses compostos podem ser facilmente convertidos a amônia, aumentando a sua concentração no efluente.



**Figura 6: Fórmula estrutural da INH destacando os átomos de nitrogênio.**

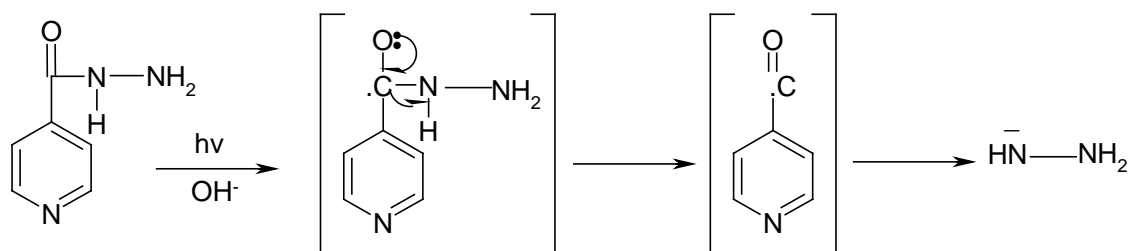
Com base nos resultados das Figuras 5 (a) e (b), o aumento da concentração da amônia no meio reacional, deve-se ao ataque do radical  $\text{HO}^\bullet$  sobre a molécula de INH além da reduzida estabilidade e a facilidade de saída dos grupamentos (regiosseletividade) indicado na Figura 6 pelas regiões 1 e 2 ( $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}$ ), por estar localizado na extremidade da molécula, sobretudo por não apresentar impedimento estérico, além de estar associado ao reduzido tamanho destes grupos. Alguns pesquisadores, entre eles Richard e Boule (1995) e Stafford *et al.*, (1994), sugerem que tais processos ocorrem simultaneamente e são regiosseletivos.

Em relação à região 3, observa-se uma maior complexidade para saída do nitrogênio, devido à exigência de quebra de um maior número de ligações.

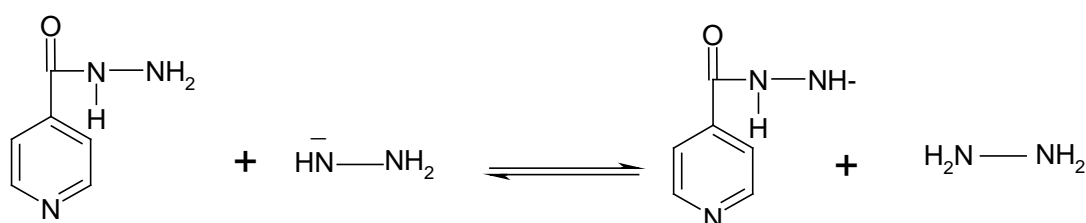
A Figura 7 apresenta o mecanismo proposto por Bhutani *et al.*, (2007), o qual destaca a formação da amônia no meio reacional, resultado da degradação da molécula de isoniazida.



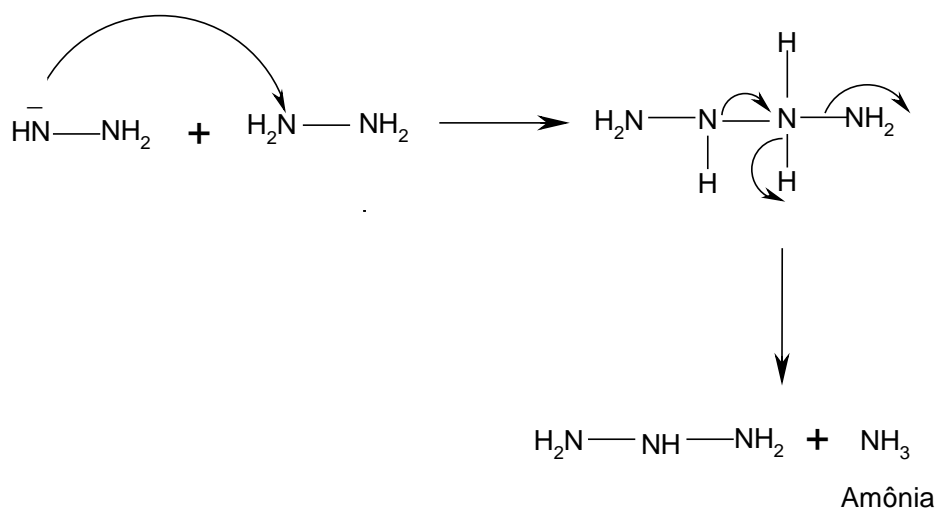
**- 1ª Etapa -**



**- 2ª Etapa -**



**- 3ª Etapa -**



**Figura 7: Mecanismo de formação da amônia no meio reacional.**

**Fonte: Adaptado de Bhutani *et al.*, 2007.**

Os resultados apresentados nas Figuras 5 (a) e (b) indicaram ainda que na proporção molar [1C:1H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] os valores da concentração de amônia aumentam, alcançando concentração máxima de 0,73 mg L<sup>-1</sup> no tempo 60 min; e na proporção molar [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>], observa-se o mesmo perfil, entretanto a concentração final é quase 2 vezes superior (1,07 mg L<sup>-1</sup>).

Para os ensaios controles, foram observadas baixas concentrações de amônia no meio reacional. Esses resultados sugerem que em virtude da ausência dos radicais HO<sup>•</sup>, a molécula de INH não degrada através da liberação dos nitrogênios na forma de nitrogênio amoniacal, podendo-se inferir que o processo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV foi validado nas condições em que se desenvolveram os ensaios.

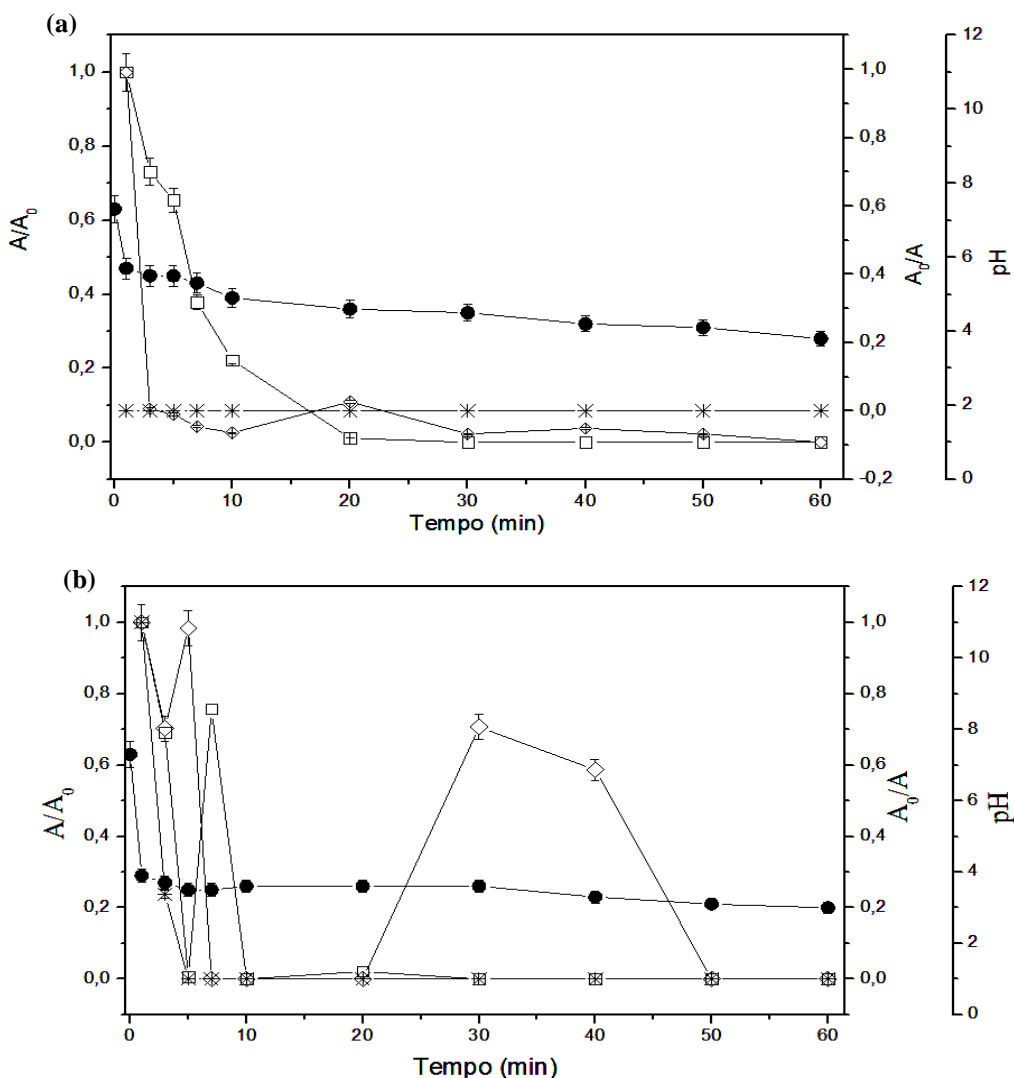
## DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO RESIDUAL DE INH VIA CLAE

De acordo com as Figuras 5 (a) e (b) pode-se concluir que após o tempo de 5 minutos de irradiação para ambas as proporções molares, 100% da INH havia sido degradado, porém com uma taxa de mineralização de apenas 16,7% e 31,6% respectivamente, reforçando que houve a formação de compostos de degradação.

Em relação aos ensaios controles, os resultados obtidos estão em perfeito acordo, o qual a aplicação isolada do UV e  $H_2O_2$  não apresentou resultados expressivos. O resultado relativo ao tratamento com o UV registrou apenas 60% de degradação e para o tratamento com o  $H_2O_2$  nenhuma conversão de INH foi observada, sendo possível concluir que o processo mais uma vez foi validado.

## IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DE DEGRADAÇÃO VIA CLAE-EM

Com o intuito de melhor avaliar o comportamento dos compostos de degradação formados, foram construídos gráficos correlacionando a área normalizada de cada composto em função do tempo reacional, conforme Figuras 8 (a) e (b).



**Figura 8 :** Comportamento dos compostos de degradação. (a) [1C:1H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]: (●) pH; (□) Ácido isonicotínico; (◇) Ácido isonicotínico etilideno hidrazina; (\*) Isonicotinamida. [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] – (●) pH. (b) [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]: (□) Ácido isonicotínico; (◇) Ácido isonicotínico etilideno hidrazina; (\*) Isonicotinamida.

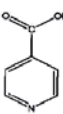
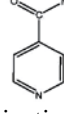
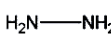
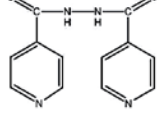
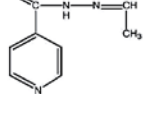
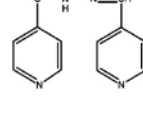
**Ácido isonicotínico:** Os resultados indicaram que este composto é formado logo nos primeiros minutos de reação Figuras 8 (a) e (b) sendo possível inferir que a INH é altamente susceptível ao ataque dos radicais  $\text{OH}^\bullet$  se decompondo muito rapidamente. Para a proporção  $[1\text{C}:1\text{H}_2\text{O}_2]$ , observa-se que a degradação ocorre de forma mais lenta, face a menor concentração de radicais  $\text{OH}^\bullet$  no meio reacional, e como consequência a sua total eliminação somente foi alcançada no tempo reacional de 20 minutos.

Em relação à proporção molar  $[1\text{C}:2\text{H}_2\text{O}_2]$ , observa-se um perfil completamente distinto, o qual o composto formado é consumido pelos radicais  $\text{OH}^\bullet$  logo nos 10 minutos iniciais da reação de degradação Figura 8 (b).

**Isonicotinamida:** Em relação à isonicotinamida para a proporção molar  $[1\text{C}:1\text{H}_2\text{O}_2]$  não foi observado a sua presença. Entretanto, na proporção molar  $[1\text{C}:2\text{H}_2\text{O}_2]$ , Figura 8 (b), foi possível observar a presença do fragmento indicado pelo íon quasimolecular ( $m/z$ ) 120,8 mais que é imediatamente degradado nos primeiros minutos de reação, indicando ser rapidamente degradado pelo radical  $\text{OH}^\bullet$ .

Vale ressaltar que os compostos de degradação obtidos conforme apresentado na Tabela 2, já haviam sido identificados por Bhutani *et al.*, (2007) utilizando processos semelhante. Para os demais compostos foi observada uma discreta abundância, e por isso não foi possível obter os seus espectros de massa.

**Tabela 2- Compostos de degradação identificados.**

|   |  |   |
|---|--|---|
| <br>Ácido isonicotínico<br>PM 123,11                                       | <br>Isonicotinamida<br>PM = 122,12                          | <br>Hidrazina<br>PM = 32,05  |
| <br>Ácido Isonicotínico N'-(piridil-4-carboxil)-hidrazida<br>PM = 226,23 | <br>Ácido Isonicotínicoetilideno-hidrazida<br>PM = 163,18 | <br>Ácido Isonicotínico piridina-4-metileno-hidrazida<br>PM = 226,23 |

## DETERMINAÇÃO DO MODELO CINÉTICO

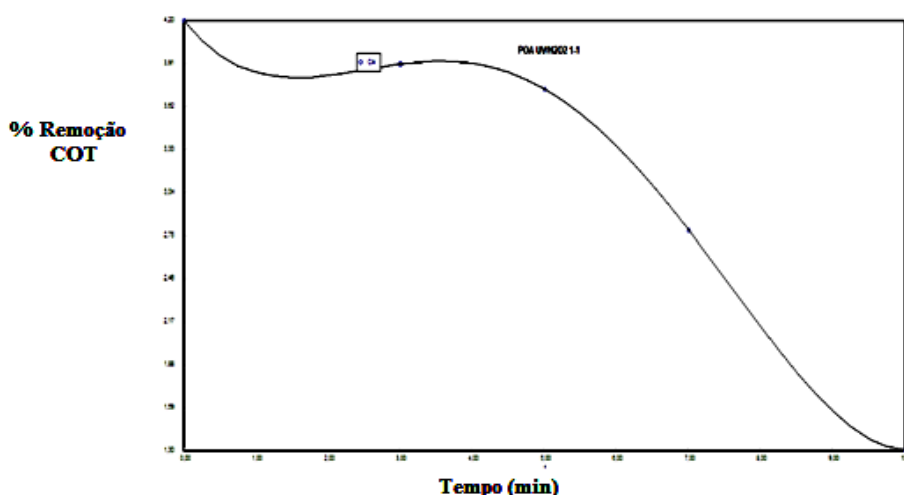
Em virtude da elevada taxa de degradação e os complexos mecanismos envolvidos na reação de fotodegradação da isoniazida, não foi possível determinar a cinética de degradação pela avaliação direta da concentração residual do fármaco no meio reacional. Assim, a avaliação da cinética foi realizada por meio da medida indireta da eficiência de degradação do fármaco, expressa como percentual de remoção de carbono orgânico total (% Remoção de COT).

Neste contexto, os ensaios realizados para ambas as proporções molares de  $\text{C}:\text{H}_2\text{O}_2$  foram avaliados quanto a atividade de fotodegradação do fármaco, buscando determinar os valores ótimos dos parâmetros que maximizassem a degradação fotocatalítica do contaminante em questão.

## EXPERIMENTO $[1\text{C}:1\text{H}_2\text{O}_2]$

A partir dos dados experimentais obtidos para os ensaios desenvolvidos para essa proporção molar, foram testados vários modelos para ajustar a uma equação que descrevesse a concentração de COT ao longo do tempo reacional.

O modelo que melhor representou a curva experimental é indicado por um polinômio de 4ª ordem, conforme a Figura 9.



**Figura 9 : Representação gráfica da função polinomial de 4ª ordem para as reações de fotodegradação do fármaco na proporção molar [1C:1CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]**

Na proporção molar [1C:1H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] tem-se uma menor concentração de peróxido no meio reacional. E assim sendo pode-se inferir que a concentração de peróxido influencia na expressão da taxa de reação. A determinação da equação da taxa foi realizada através da avaliação da concentração ao longo do tempo reacional. Entretanto, em função do rápido consumo do substrato modelo, só foi possível representar a equação da taxa por intermédio de uma função polinomial de 4ª ordem, conforme indicado na equação 2.

$$c_{cot}^0 = 4,2 - 0,608 t + 0,313 t^2 - 0,056 t^3 + 0,0028 t^4 \quad \text{equação ( 2 )}$$

### EXPERIMENTO [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]

Para determinação da cinética de reação para proporção molar [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] foi realizada medida indireta da degradação da INH através das medidas de COT, em função da rápida degradação do fármaco no meio reacional. Foram testadas diversas expressões de taxa do tipo homogênea, onde a taxa de reação é proporcional à velocidade específica e a concentração dos reagentes, elevados a uma ordem específica.

Sendo assim, a equação assume a seguinte forma:

$$(-r_{cot}) = k(I_{254\text{ nm}}) \cdot c_{cot}^n \cdot [H_2 O_2]^a \quad \text{equação ( 3 )}$$

(Expressão da taxa de reação)

Onde:

(I<sub>254nm</sub>) = Intensidade da energia luminosa e comprimento de onda da radiação UV 254 nm

[H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]<sup>a</sup> = Concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no meio reacional

n = Ordem de reação em relação ao COT

a = Ordem de reação em relação a concentração inicial de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

k = Velocidade específica da reação (indica a quantidade de fármaco que se degrada por unidade de tempo), calculada a partir da inclinação da reta em cada intervalo de tempo da retirada da alíquota do reator fotocatalítico.

Para a proporção molar [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] foi possível inferir as seguintes hipóteses:

- i - Taxa de incidência da energia luminosa em excesso em relação ao COT.
- ii - A concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é aproximadamente constante (excesso) em relação ao COT.

Logo:

$$(-r_{\text{COT}}) = k' \cdot C_{\text{COT}}^n \quad \text{equação (4)}$$

Como a reação se processou em fase líquida, pode-se aplicar a equação 5, onde:

$$C_{\text{COT}} = C_{\text{COT}}^0 (1 - X_{\text{COT}}) \quad \text{equação (5)}$$

O balanço no reator batelada fornece:

$$t = C_{\text{COT}}^0 \int_0^{X_{\text{COT}}} \frac{dX_{\text{COT}}}{(-r_{\text{COT}})} \quad \text{equação (6)}$$

Foi realizado o método integral de análise e foi encontrado ordem 2 ( $n = 2$ ) de maior correlação ( $R^2 = 0,999$ ), indicando que este foi o melhor modelo que se adequou totalmente aos dados experimentais referentes aos ensaios realizados.

Substituindo na expressão da taxa de reação temos:

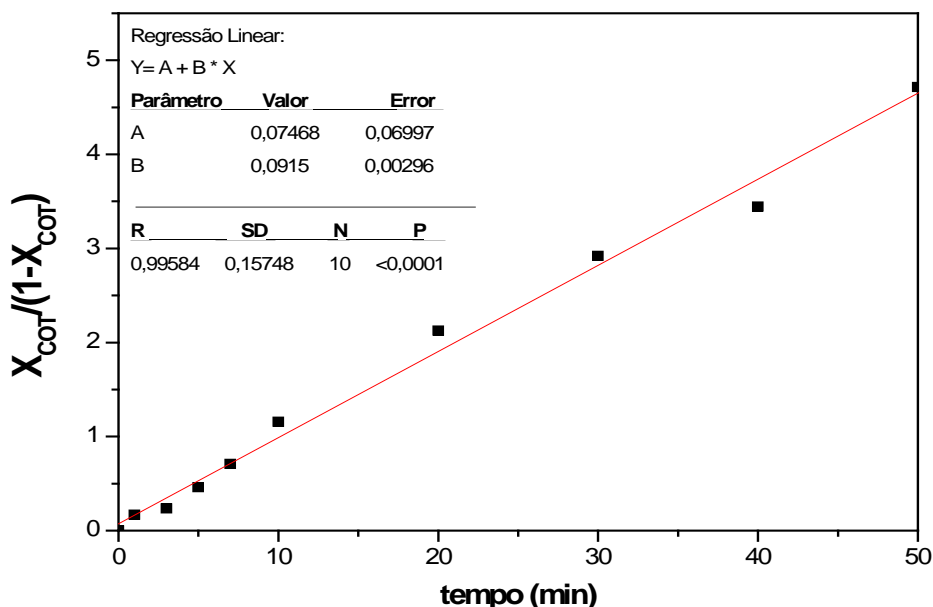
$$t = C_{\text{COT}}^0 \int_0^{X_{\text{COT}}} \frac{dX_{\text{COT}}}{k' (C_{\text{COT}}^0 (1 - X_{\text{COT}}))^2} \quad \text{equação (7)}$$

Rearranjando a expressão, temos a equação 8:

$$C_{\text{COT}}^0 \cdot k' \cdot t = \int_0^{X_{\text{COT}}} \frac{dX_{\text{COT}}}{1 - X_{\text{COT}}} \quad \text{equação (8)}$$

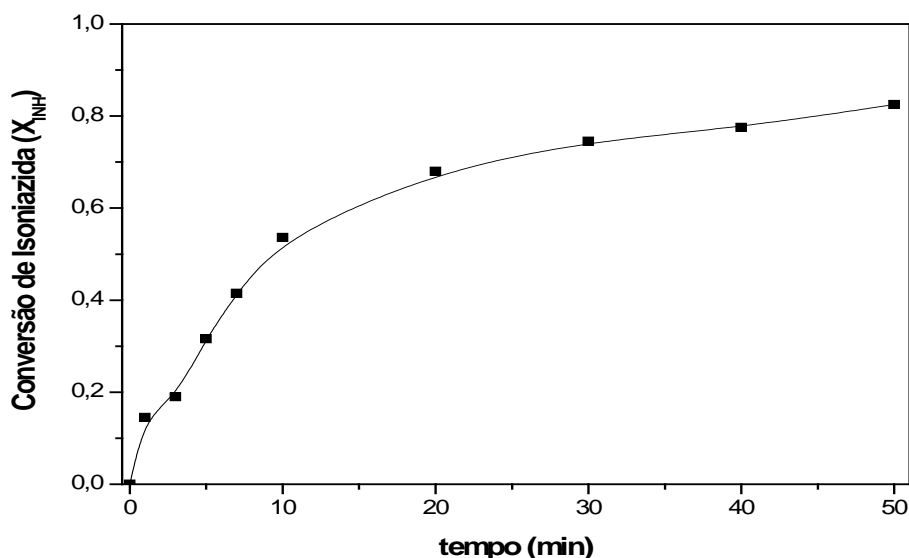
A integração da expressão acima fornece a equação 9:

$$k' \cdot t \cdot C_{\text{COT}}^0 = \frac{X_{\text{COT}}}{1 - X_{\text{COT}}} \quad \text{equação (9)}$$



**Figura 10: Regressão linear dos dados experimentais para proporção molar [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>].**  
 (■)  $X_{\text{COT}}/(1 - X_{\text{COT}})$ .

A plotagem da curva  $\frac{X_{\text{COT}}}{1 - X_{\text{COT}}}$  versus tempo de reação nos permite determinar a velocidade específica da reação, conforme gráfico apresentado no gráfico da Figura 10.



**Figura11: Taxa de degradação da isoniazida em função do tempo reacional para cálculo da velocidade específica. (■) Conversão de isoniazida (X<sub>INH</sub>).**

De acordo com os resultados obtidos a partir da análise gráfica realizada nas Figuras 10 e 11, observa-se que os pontos experimentais se adequaram de forma satisfatória ao modelo cinético proposto de ordem 2 ( $n = 2$ ), para a reação de degradação da isoniazida. O coeficiente angular da reta conforme apresentado pela Figura 10 fornece  $k' \cdot C_{COT}^0$ .

Dessa forma a expressão da taxa desdobra-se em:

$$(-r_{COT}) = k' \cdot (C_{COT})^2 \quad (mg/L \cdot min^{-1}) \quad \text{equação (10)}$$

Onde o valor de  $k'$  é igual á:

$$(k') = 0,016 \quad mg \cdot L^{-1} \cdot min$$

## CONCLUSÕES

A concentração de  $H_2O_2$  adicionado antes do experimento, alterou o pH inicial do meio reacional, possibilitando além da formação de produtos de degradação, alteração na taxa da reação de oxidação do fármaco (% Remoção de COT) para ambas proporções molares avaliadas. Deste modo, a constante da taxa de reação da isoniazida é fortemente dependente do pH do meio reacional.

O processo  $H_2O_2$ /UV foi efetivo na degradação e mineralização em meio aquoso para ambas as proporções molares avaliadas. No que se refere ao monitoramento da concentração de amônia, foi observado o aumento no meio reacional, confirmando a degradação do fármaco.

A despeito dos produtos de degradação, os resultados obtidos na CLAE-EM comprovaram a sua formação no meio reacional, entretanto com uma diferença em função das razões molares avaliadas, sendo que na maior [1C:2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] foram observados mais sub-produtos. Isto parece estar associado à degradação mais extensiva do fármaco, o que retardou o atingimento do estado estacionário, sendo possível apenas observar 100% de remoção de COT no tempo de 60 minutos.

Na determinação do modelo cinético foi observado que a degradação da isoniazida apresentou uma cinética de segunda ordem, entretanto, é necessária uma pesquisa adicional a fim de estabelecer menores intervalos de amostragem, para melhor compreender a cinética de degradação da isoniazida.

Por fim, em face aos resultados experimentais obtidos é razoável argumentar que o processo  $H_2O_2/UV$  é eficiente para mineralizar e degradar a INH presentes em águas contaminadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDREOZZI, R., CAPRIO, V., MAROTTA, R. Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and UV/ $H_2O_2$  system, *Water Research*, v. 37, n. 5, p. 993-1004, 2003.
2. BHUTANI, H, SINGH, S., VIR, S., BHUTANI, K.K.; KUMAR, R.A.J.; CHAKRABORTI, A. K.; JINDAL, K.C. LC and LC-MS study of stress decomposition behaviour of isoniazid and establishment of validated stability-indicating assay method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.43, n.4, p.1213-1220, 2007.
3. CONAMA. Resolução N.º 430 – 13 de maio 2011. *Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA*. Diário Oficial da União, Brasília, 2011.
4. GOODMAN & GILMAN: *As bases farmacológicas da terapêutica/ revisão de conteúdo* Almir Lourenço da Fonseca – Rio de Janeiro: McGraw Hill Interamericana do Brasil, 2006.
5. HUBER, M.M.; GÖBEL, A; JOSS, A; HERMANN, N; LÖFFLER, D; MCARDELL, C.S; RIED, A; SIEGRIST, H; TERNES, T.A; VON GUNTEN, U. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: A pilot study. *Environmental Science Technology*, v.39, p.4290–4299, 2005.
6. IKEHATA, K; NAGHASHKAR, N.J; GAMAL EL-DIN, M.. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. *Ozone Science. Engineering*, v.28, p.353–414, 2006.
7. KLAVERIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environmental International*, v.35 p. 402-407, 2009.
8. LEWIN, E.; HIRSCH, J.G. Studies on the stability of isoniazid. *Am Rev Tuberc.* v.71 n.5 p.732–742, 1985.
9. LIN, A. Y.C; TSAI, Y.T. Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan's surface waters: Impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities. *Science of the Total Environment*, v.407, p.3793–3802, 2009.
10. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde. Apresentação do Programa Nacional e Controle da Tuberculose, Brasília, 2011 Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2site\\_31\\_05\\_2011.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/2site_31_05_2011.pdf)>. Acesso em: 21 ago 2011.
11. RICHARD C., BOULE, P.; *Solar energy materials*. v. 38, p.431, 1995.
12. SOUZA, Bianca Miguel de. *Avaliação de processos oxidativos avançados acoplados com carvão ativado granulado com biofilme para reúso de efluentes de refinaria de petróleo*. 2010. 160 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química COPPE) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.
13. SOUZA, M. V.N; VASCONCELOS, T. R. A; Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. *Química. Nova*, Vol. 28, No. 4, 678-682, 2005.
14. STAFFORD, U.; Gray, K.A.; Kamat, P.V.; *J. Phys. Chem.* v. 98, p. 6343, 1994.