

## I-153 - DEGRADAÇÃO DA SULFAQUINOXALINA POR PEROXIDAÇÃO ASSISTIDA POR RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

**Vanessa Ribeiro Urbano<sup>(1)</sup>**

Tecnóloga em Gestão e Saneamento Ambiental pelo Centro Universitário Hermínio Ometto (Uniararas). Mestre em Agricultura e Ambiente pelo Centro de Ciências Agrárias (CCA/UFSCar). Doutoranda em Engenharia Civil na Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo (FEC/Unicamp), Departamento de Saneamento e Ambiente.

**Milena Guedes Maniero<sup>(1)</sup>**

Pós-doutoranda na Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo (FEC/Unicamp), Departamento de Saneamento e Ambiente

**Liane Yuri Kondo Nakada<sup>(1)</sup>**

Possui graduação em Engenharia ambiental pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP (2008) e mestrado em Engenharia civil e ambiental pela UNESP (2012). Doutoranda em Engenharia Civil na Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo (FEC/Unicamp), Departamento de Saneamento e Ambiente.

**José Roberto Guimarães<sup>(1)</sup>**

Professor Titular na Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo (FEC/Unicamp), Departamento de Saneamento e Ambiente

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Av. Albert Einstein, 951 – Cidade Universitária - Campinas – São Paulo - CEP: 13084-971 - Brasil - Tel: +55 (19) 3521-2307 - Fax: +55 (19) 3521-2406 - e-mail: [jorober@fec.unicamp.br](mailto:jorober@fec.unicamp.br)

### RESUMO

A sulfaquinoxalina, pertencente à família das sulfonamidas, é um antimicrobiano sintético aplicado em animais para prevenção e tratamento da coccidiose e infecções bacterianas. Por possuir baixa adsorção em solos, a sulfaquinoxalina geralmente é encontrada em águas subterrâneas e superficiais. Uma vez que as estações de tratamento convencional de efluentes não a degradam de forma eficiente, baixas concentrações deste composto vêm sendo detectadas em águas superficiais e subterrâneas. Os processos oxidativos avançados (POA) se mostram eficientes na degradação de sulfonamidas. Nesse estudo avaliou-se a degradação da sulfaquinoxalina ( $C_{\text{inicial}} = 500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) pelos processos de peroxidação (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), fotólise (UV) e peroxidação assistida por radiação ultravioleta (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), bem como a redução da toxicidade das soluções submetidas aos processos de degradação. A quantificação da sulfaquinoxalina foi avaliada em HPLC (UV) (LQ = 0,03 mg L<sup>-1</sup>) e as amostras foram concentradas por extração em fase sólida (EFS). O processo de peroxidação não foi eficiente para a degradação da sulfaquinoxalina. A fotólise degradou 57,8% do fármaco após 60 minutos de ensaio e as soluções submetidas a esse processo inibiram, em média, 7,6% da luminescência da bactéria *Vibrio fischeri*. A peroxidação assistida por radiação ultravioleta (na condição com 9 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) degradou 99,6% da sulfaquinoxalina após 60 minutos de ensaio (4757 mW.s cm<sup>-2</sup>). Apesar da eficiência de degradação do POA UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a toxicidade das soluções degradadas aumentou para todas as condições testadas. Portanto, é possível que tenha ocorrido a formação de produtos de degradação mais tóxicos que a sulfaquinoxalina.

**PALAVRAS-CHAVE:** Antimicrobianos, fotólise, peroxidação, POA, sulfonamidas.

### INTRODUÇÃO

Atualmente, a preocupação com a qualidade da água potável oferecida à população vem ganhando destaque. Muitos contaminantes emergentes vêm sendo encontrados na água potável (Umbuzeiro, 2012). Antimicrobianos são utilizados para fins terapêuticos e profiláticos na medicina humana e veterinária e são considerados contaminantes emergentes da água e do solo (Doretto *et al.*, 2014).

As sulfonamidas são antimicrobianos sintéticos e importantes agentes bacteriostáticos, introduzidas em 1937. Foram os primeiros agentes antimicrobianos utilizados e, até hoje, permanecem sendo empregadas em larga escala na medicina veterinária, principalmente devido ao relativo baixo custo e alta eficácia contra bactérias e protozoários (Sarmah *et al.*, 2006; De Liguoro *et al.*, 2009; De Liguoro *et al.*, 2010; Dalla Bona *et al.*, 2014;

Doretto *et al.*, 2014). A sulfaquinoxalina é uma das sulfonamidas utilizadas em larga escala em animais para o tratamento preventivo da coccidiose e infecções bacterianas (De Liguoro *et al.*, 2010).

A sulfaquinoxalina possui baixa adsorção em solo ( $K_{ow} = 1,68$ ); dessa forma, é geralmente encontrada em águas subterrâneas e superficiais (De Liguoro *et al.*, 2010; Doretto *et al.*, 2014). Em águas subterrâneas, a sulfaquinoxalina foi quantificada em concentrações variando de  $0,01 \text{ ng L}^{-1}$  a  $112,1 \text{ ng L}^{-1}$  (García-Galán *et al.*, 2010). Em rios, o fármaco foi quantificado na faixa de  $4,5 \text{ ng L}^{-1}$  a  $40,4 \text{ ng L}^{-1}$  (García-Galán *et al.*, 2011).

O agravante da presença desses microcontaminantes nas águas superficiais e subterrâneas é que as plantas de tratamento convencional de água não foram projetadas para remover compostos farmacêuticos eficientemente (Garcia-Rodriguez *et al.*, 2013). A incorporação de processos oxidativos avançados (POA) em estações de tratamento de água pode ser uma alternativa para degradação de compostos recalcitrantes. Os POA são métodos oxidativos baseados na geração de radicais hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), os quais são extremamente reativos e menos seletivos do que outros oxidantes como, por exemplo, o ozônio molecular e o cloro (Homem & Santos, 2011).

Frente à escassez de trabalhos científicos sobre a remoção de sulfaquinoxalina presente em matrizes aquosas, neste estudo foi avaliada a degradação da sulfaquinoxalina pelos processos de fotólise, peroxidação e peroxidação assistida por radiação ultravioleta.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As soluções de trabalho de sulfaquinoxalina (sulfaquinoxalina PESTANAL<sup>®</sup> - 96%,  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ ,  $300,34 \text{ g mol}^{-1}$ , Sigma-Aldrich) na concentração de  $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  foram preparadas diariamente a partir da diluição da solução estoque ( $500 \text{ mg L}^{-1}$ ) em água ultrapura obtida pelo sistema Milli-Q.

Os ensaios de degradação foram realizados em um reator fotoquímico de vidro borossilicato com recirculação da amostra e volume útil de 190 mL. Os tempos de ensaio foram de: 0, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos, os quais correspondem respectivamente aos seguintes tempos de irradiação: 0; 1,9; 2,9; 5,7; 8,6 e 11,4 minutos. O reator possuía um comprimento de 38,5 cm e diâmetro interno de 3,5 cm. Uma lâmpada de vapor de mercúrio de baixa pressão (15 W, 2,1 cm de diâmetro interno e  $\lambda_{\text{máx}}$  de 254 nm) foi acoplada no centro do reator, permanecendo em contato direto com a solução. A intensidade de radiação emitida pela lâmpada UV era de  $6,95 \text{ mW cm}^{-2}$  e foi medida com um radiômetro Cole Parmer modelo VLX3 W calibrado em 254 nm. A dose de radiação correspondente a cada tempo de ensaio foi calculada, variando de  $793 \text{ mW.s cm}^{-2}$  no tempo de ensaio de 10 minutos a  $4757 \text{ mW.s cm}^{-2}$  em 60 minutos de ensaio.

O método usado para quantificação da sulfaquinoxalina foi a cromatografia líquida de alta eficiência. O cromatógrafo era composto por uma bomba, modelo 510 (Waters, EUA), um injetor manual, modelo 7725i (Waters, EUA), um detector UV modelo 486 (Waters, EUA) e um integrador modelo HP3395 (Hewlett Packard, EUA) para obtenção dos cromatogramas. O volume de injeção da amostra foi de  $20 \text{ } \mu\text{L}$  e o comprimento de onda utilizado foi de 248 nm.

Para a separação do analito da fase móvel, foi utilizada uma coluna modelo XBridge<sup>TM</sup> RP18 da marca Waters ( $250 \text{ mm} \times 4,6 \text{ mm}$ ,  $5 \text{ } \mu\text{m}$ ) e o volume de amostra injetado foi de  $20 \text{ } \mu\text{L}$ . A fase móvel utilizada era composta de ácido fórmico 0,1% : metanol, na proporção de 45:55 (v:v), na vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ . Antes de injetar as amostras no cromatógrafo, elas foram filtradas em filtros de membrana modelo Minisart RC 15  $0,2 \text{ } \mu\text{m}$  (Sartorius Stedim Biotech, Alemanha).

As amostras foram concentradas utilizando a técnica de extração em fase sólida com o cartucho Octadecil  $\text{C}_{18}$  ( $500 \text{ mg/6 mL}$ ) da marca Varian, condicionado com 6 mL de metanol e 6 mL de água ultrapura. A extração foi realizada em pH 3. Para a eluição do analito de interesse, foram utilizados 4 mL de metanol.

A concentração de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 30% m/m, Synth) utilizada nos ensaios foi baseada na relação estequiométrica da oxidação máxima da sulfaquinoxalina pelo peróxido de hidrogênio, sendo necessários 45 mols de  $\text{H}_2\text{O}_2$  para degradar um mol de sulfaquinoxalina. As relações estequiométricas  $\text{SQX}:\text{H}_2\text{O}_2$  e a correspondente concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  adotadas nesse estudo foram: 1:225 mol/mol ( $0,4 \text{ mmol}$

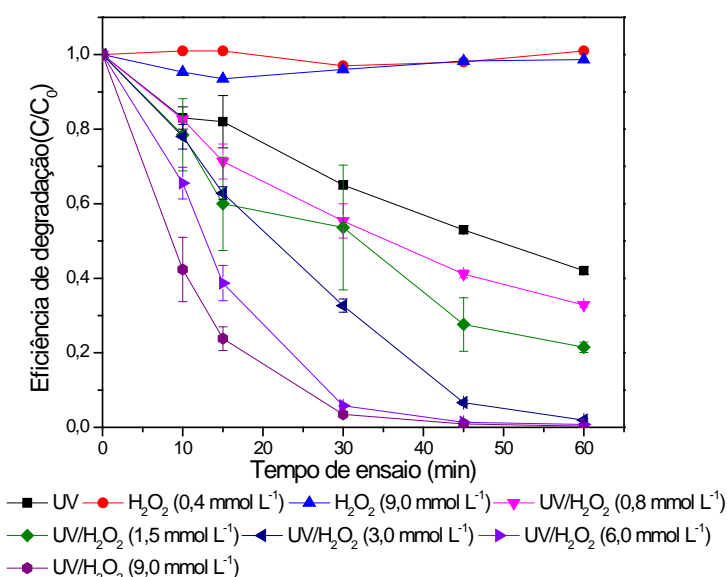
L<sup>-1</sup>), 1:450 mol/mol (0,8 mmol L<sup>-1</sup>), 1:900 mol/mol (1,5 mmol L<sup>-1</sup>), 1:1800 mol/mol (3,0 mmol L<sup>-1</sup>), 1:3600 mol/mol (6,0 mmol L<sup>-1</sup>) e 1:5400 mol/mol (9,0 mmol L<sup>-1</sup>).

O decaimento da concentração do peróxido de hidrogênio durante os ensaios de degradação foi avaliado utilizando-se o método colorimétrico descrito por Nogueira *et al.* (2005) e o limite de quantificação obtido foi de 0,03 mmol L<sup>-1</sup>.

O ensaio de toxicidade Microtox<sup>®</sup> foi realizado utilizando a bactéria *Vibrio fischeri*. Seguiu-se o protocolo padrão do teste *screening* 81,9% com 30 minutos de contato entre a amostra e a bactéria. A toxicidade da concentração inicial de sulfaquinoxalina, do peróxido de hidrogênio e das soluções submetidas ao processo de degradação foi avaliada.

## RESULTADOS

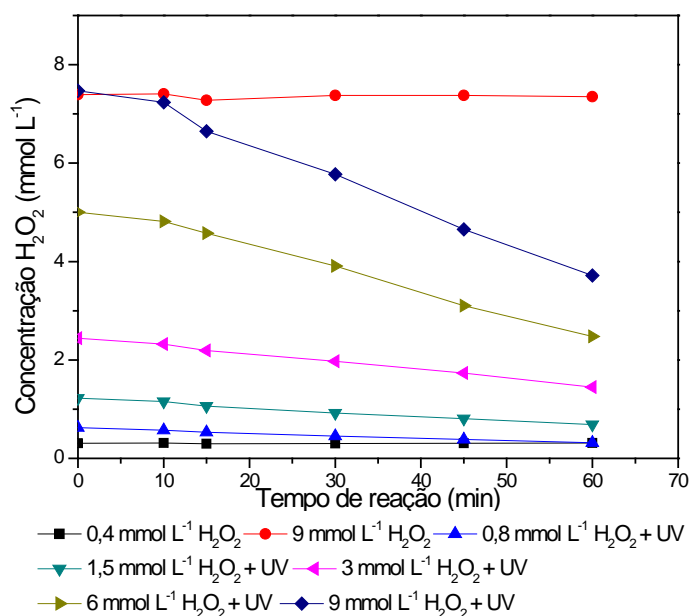
Na Figura 1 são apresentados os resultados de degradação da sulfaquinoxalina por fotólise, peroxidação e peroxidação assistida por radiação ultravioleta. A fotólise foi capaz de degradar 57,8% da sulfaquinoxalina em 60 minutos de ensaio, o qual corresponde a 11,4 minutos de irradiação.



**Figura 1. Degradação da sulfaquinoxalina pelos processos de fotólise, peroxidação e peroxidação assistida por radiação ultravioleta.**

A degradação da sulfaquinoxalina pela fotólise seguiu uma reação de pseudo-primeira ordem, na qual a constante de velocidade de reação foi de  $1,43 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ . O processo químico de peroxidação degradou menos que 10% da sulfaquinoxalina, independentemente da concentração de oxidante utilizada (0,4 e 9,0 mmol L<sup>-1</sup>).

Foi realizada a quantificação do decaimento de peróxido de hidrogênio durante os ensaios (Figura 2) e observou-se que o consumo do mesmo ficou abaixo do limite de quantificação do método, o que indica que a reação entre o oxidante e o fármaco foi muito pouco efetiva.



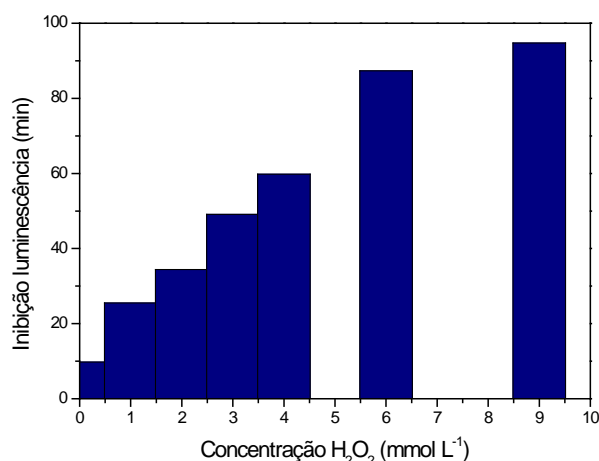
**Figura 2. Decaimento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> durante os processos de peroxidação e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Quando o processo de peroxidação foi combinado ao processo de fotólise, a eficiência de degradação da sulfaquinoxalina foi de 99,6%, utilizando 9,0 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e um tempo de 60 minutos de ensaio (Figura 1). A constante de velocidade de reação da degradação da sulfaquinoxalina por UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> é de pseudo-primeira ordem:  $k = 1,92 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  para a relação estequiométrica SQX:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1:450;  $k = 2,61 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  para a relação estequiométrica SQX:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1:900;  $k = 5,85 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  para a relação estequiométrica SQX:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1:1800;  $k = 8,59 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  para a relação estequiométrica SQX:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1:3600 e  $k = 9,97 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  para a relação estequiométrica SQX:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1:5400.

No processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a proporção de oxidante adicionado teve influência na eficiência de degradação obtida. Porém, cabe ressaltar que, apesar do uso de 9,0 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resultar em uma eficiência de 99,6% no tempo de 60 minutos, resultados similares foram obtidos utilizando-se 1/3 da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ou seja, 3,0 mmol L<sup>-1</sup>, com degradação de 98%; com 2/3 da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, obteve-se 99,2%. O decaimento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em todas as condições do processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avaliadas, foi de no mínimo 40% e no máximo 53% da concentração inicial (Figura 2).

É importante ressaltar que com excesso de peróxido de hidrogênio no meio reacional pode ocorrer o sequestro dos radicais hidroxila (•OH) formados, tais reações competitivas desaceleram a degradação do analito (Ferreira *et al.*, 2015).

Uma vez que o peróxido de hidrogênio presente nas amostras submetidas aos processos H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pode inibir a luminescência da bactéria *Vibrio fischeri*, foram feitos ensaios com esse reagente com concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na faixa de 0 a 9 mmol L<sup>-1</sup> (Figura 3).

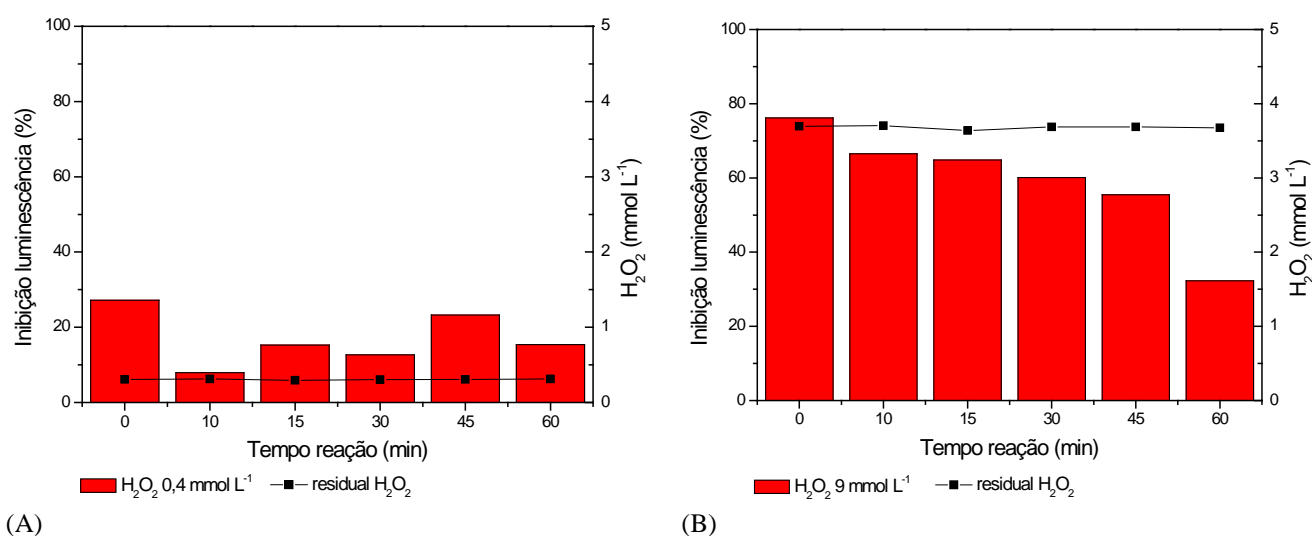


**Figura 3. Toxicidade de soluções de peróxido de hidrogênio na faixa de concentração entre 0 e 9 mmol L<sup>-1</sup>, utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* como organismo teste.**

Observa-se que 9 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que é também a maior concentração usada nos ensaios de degradação, inibiu aproximadamente 90% da luminescência das bactérias. Por essa razão, os resultados de toxicidade são apresentados em conjunto com o decaimento da concentração de peróxido de hidrogênio das amostras.

As amostras dos ensaios de peroxidação e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> usando 9 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Figura 4 e Figura 5 C), foram diluídas duas vezes (concentração inicial de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 4,5 mmol L<sup>-1</sup>) para execução do ensaio Microtox devido à alta inibição da luminescência da bactéria apresentada por essa concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Figura 3).

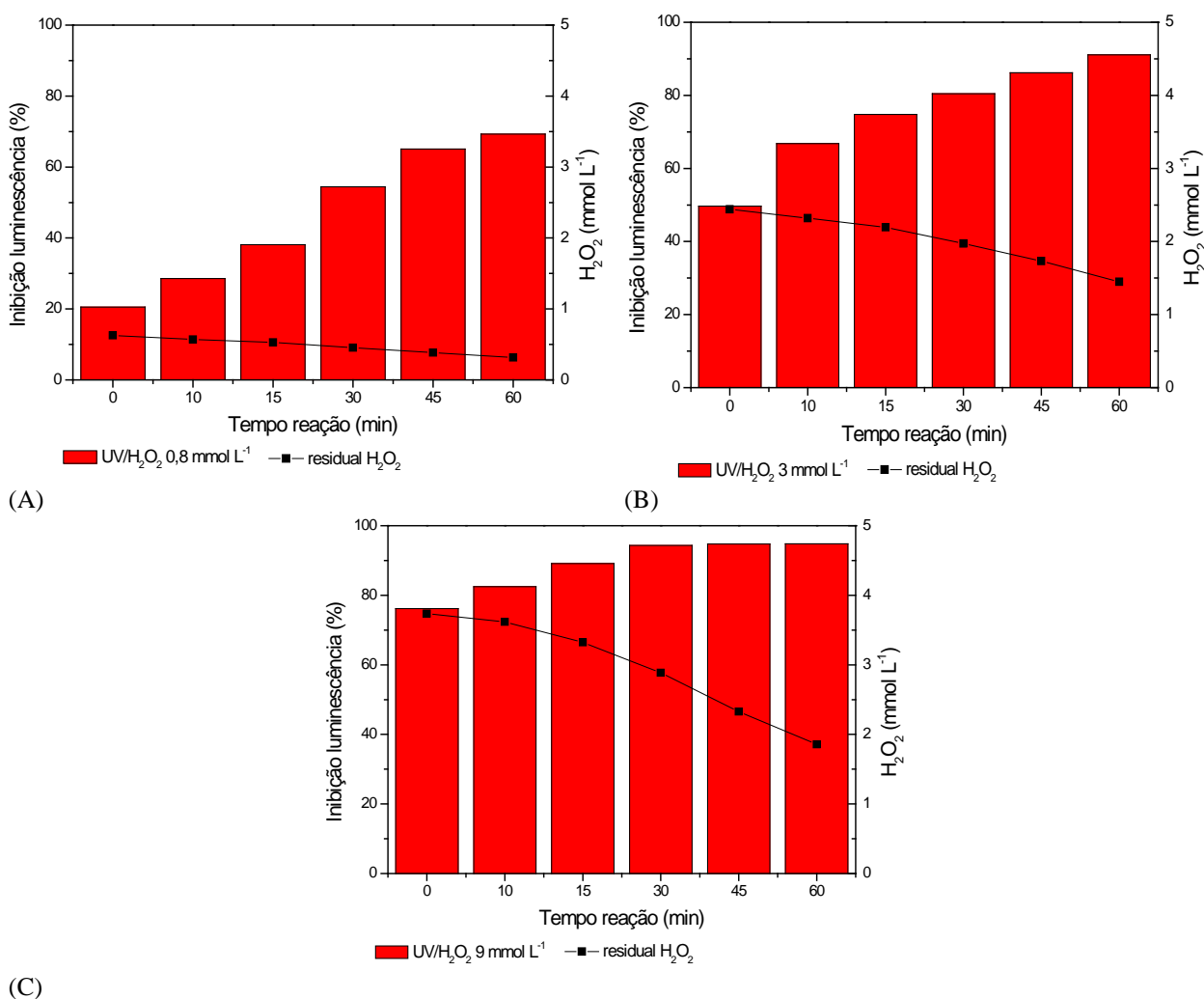
O processo de peroxidação, em ambas as concentrações avaliadas (0,4 e 9 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), não foi eficiente para degradar a sulfaquinoxalina, obtendo menos que 10% de eficiência. Desta forma, não era esperado que houvesse aumento na toxicidade das amostras submetidas a esse processo (Figura 4 A e B). Quando comparadas a inibição de luminescência ocasionada por 0,4 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Figura 3) e a inibição da amostra de sulfaquinoxalina submetida ao processo de peroxidação (Figura 4 A), verifica-se que não houve diferença (variação em torno de 5%).



**Figura 4. Toxicidade das amostras submetidas ao processo de peroxidação com (A) 0,4 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e (B) 9 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* como organismo teste.**

Nos ensaios de degradação pelo processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, observou-se em todas as concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> testadas, uma tendência a aumento da toxicidade das amostras ao longo do tempo. Essa toxicidade não pode ser atribuída ao peróxido de hidrogênio residual, uma vez que a concentração desse oxidante diminuiu durante o

tempo de reação. Provavelmente há a formação de produtos intermediários tóxicos de degradação, resultando num aumento da toxicidade da solução ao longo do tempo de ensaio (Figura 5).



**Figura 5. Toxicidade das amostras submetidas ao processo de UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> utilizando oxidante nas concentrações de (A) 0,8 mmol L<sup>-1</sup>, (B) 3 mmol L<sup>-1</sup> e (C) 9 mmol L<sup>-1</sup>, utilizando a bactéria *Vibrio fischeri* como organismo teste.**

## CONCLUSÕES

O processo oxidativo avançado de peroxidação assistida por radiação ultravioleta se mostrou eficiente na degradação da sulfaquinoxalina em matriz aquosa, sendo capaz de degradar 99,6% do fármaco. As constantes de velocidade de reação aumentaram de  $1,92 \times 10^{-2}$  a  $9,97 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  para as relações estequiométricas sulfaquinoxalina:peróxido de hidrogênio variando de 1:450 a 1:5400.

A fotólise resultou na degradação de 57,8% da sulfaquinoxalina após 60 minutos de ensaio. O processo de peroxidação foi o menos eficiente; menos que 10% da concentração inicial foi reduzida.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BONA, M.D.; LEVA, V.D.; LIGUORO, M.D. The sensitivity of *Daphnia magna* and *Daphia curvirostris* to 10 veterinary antibacterials and to some of their binary mixtures. *Chemosphere*, v.115, p. 67-74, nov. 2014.
2. DE LIGUORO, M.; DI LEVA, V.; GALLINA, G.; FACCIO, E.; FACCIO, E.; PINTO, G.; POLLIO, A. Evaluation of the aquatic toxicity of two veterinary sulfonamides using five test organisms. *Chemosphere*, v.81, p.788-793, out. 2010.
3. DORETTO, K.M.; PERUCHI, L.M.; RATH, S. Sorption and desorption of sulfadimethoxine, sulfaquinoxaline and sulfamethazine antimicrobials in Brazilian soils. *Science of the Total Environment*, v.476-477, p. 406-414, 2014.
4. FERREIRA, G.F.; MANIERO, M.G.; GUIMARÃES, J.R. Degradation of sucralose by peroxidation assisted with ultraviolet radiation and photo-Fenton. *LACSIT International Journal of Engineering and Technology*, V.7, n.5, 2015.
5. GARCÍA-GALÁN, M.J.; GARRIDO, T.; FRAILE, J.; GINEBREDÁ, A.; DÍAZ-CRUZ, M.S., BARCELÓ, D. Simultaneous occurrence of nitrate and sulfonamide antibiotics in two ground water bodies of Catalonia (Spain). *Journal of Hydrology*, v. 383, p.93-101, 2010.
6. GARCÍA-GALÁN, M.J., DÍAZ-CRUZ, M.S., BARCELÓ, D. Occurrence of sulfonamide residues along the Ebro river basin Removal in wastewater treatment plants and environmental impact assessment. *Environment International*, v.37, p.462-473, 2011.
7. GARCIA-RODRIGUEZ, A.; MATAMOROS, V.; FONTÀS, C.; SALVADÓ, V. The influence of light exposure, water quality and vegetation on the removal of sulfonamides and tetracyclines: A laboratory-scale study. *Chemosphere*, v.90, p. 2297-2302, 2013.
8. HOMEM, V.; SANTOS, L. Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices – A review. *Journal of Environmental Management*, v.92, p.2304-2347, 2011.
9. NOGUEIRA, R.F.P.; OLIVEIRA, M.C.; PATERLINI, W.C. Simple and fast spectrophotometric determination of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in photo-Fenton reactions using metavanadate. *Talanta*, v.66, p. 86-91, 2005.
10. RIVAS, J.; ENCINAS, Á.; BELTRÁN, F.; GRAHAM, N. Application of advanced oxidation processes to doxycycline and norfloxacin removal from water. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, v.46, n.9, p. 944-951, 2011.
11. SARMAH, A.K.; MEYER, M.T.; BOXALL, A.B.A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, v.65, p. 725-759, 2006.
12. UMBUZEIRO, G.A. Guia de potabilidade para substâncias químicas. São Paulo: Limiar, 2012. 144 p.