

II-592 - VALIDAÇÃO DE MÉTODO EM CLAE E ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DE ETINILESTRADIOL POR MEIO DE FOTÓLISE E FOTOCATÁLISE

Bruna Guimarães Isecke⁽¹⁾

Mestre em Engenharia do Meio Ambiente pela Escola de Engenharia Civil da Universidade Federal de Goiás

Luiz Carlos da Cunha

Professor Titular da Universidade Federal de Goiás

Jerônimo Raimundo de Oiveira

Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia.

Vania Cristina Rodriguez Salazar

Bioquímica, Mestre e Doutora em Toxicologia pela USP, professora da Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

Francisco Javier C. Terán

Engenheiro Civil pela Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP). Mestre e Doutor em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professor Adjunto da Escola de Engenharia Civil da Universidade de Goiás (UFG)

Endereço⁽¹⁾: Praça Universitária, 1488, Setor Universitário. Goiânia/GO. Brasil. CEP. 74605-220- e-mail: paco.ufg@gmail.com.

RESUMO

O etinilestradiol (EE2) vem sendo considerado um dos principais desreguladores endócrinos encontrados no meio ambiente, visto que o mesmo é bastante utilizado em pílulas anticoncepcionais e em reposições hormonais. O EE2 não é facilmente biodegradado, sendo que somente cerca de 50% é removido através de tratamentos de efluentes convencionais. Nesse contexto os processos oxidativos se inserem bem no intuito de remover esse tipo de molécula. Métodos analíticos rápidos para quantificação do EE2 são, portanto, necessários para a determinação da taxa de degradação. Com o exposto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método rápido e sensível para a detecção e quantificação de EE2 em matrizes aquosas através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) associada à fluorescência (FLD) e aplicá-lo na avaliação da degradação do hormônio através de fotólise e fotocatalise heterogênea. As análises foram realizadas em modo isocrático utilizando coluna C18 250 x 4,6 mm (5 µm) com detecção a 254 nm. A fase móvel foi constituída de acetonitrila:água (80:20 v/v) com fluxo de 1,0 mL/min. A faixa de linearidade do método foi de 0,1 a 10 mg.L⁻¹, apresentando um bom fator de correlação ($r^2 = 0,9988$). O método validado mostrou-se sensível, seletivo, exato, preciso, de baixo custo e o tempo de retenção do AR foi de 3,46 ± 0,4 minutos. Os ensaios de degradação fotocatalítica desenvolvidos em um reator fotocatalítico operando em regime de batelada apresentaram grande eficiência na degradação do etinilestradiol presente em água, obtendo-se degradação média de cerca de 99% em aproximadamente 120 minutos e cerca de 75% quando se realizou a fotólise. O método analítico desenvolvido e validado se mostrou eficiente para detectar e quantificar o composto etinilestradiol (EE2) nas amostras simuladas em água após os estudos de fotólise e fotocatalise.

PALAVRAS-CHAVE: Desreguladores endócrinos, etinilestradiol, cromatografia líquida de alta eficiência, Fotocatalise heterogênea.

INTRODUÇÃO

A qualidade da água é um dos tópicos mais relevantes na química ambiental na atualidade. Nos últimos anos observa-se o crescente aumento na preocupação em relação aos micropoluentes – poluentes que são encontrados no meio ambiente na ordem de µg.L⁻¹ e ng.L⁻¹ – e sua toxicidade. Desreguladores Endócrinos, poluentes orgânicos persistentes (POPs) são grupos de substâncias bastante estudadas e investigado devido, principalmente, aos efeitos apresentados em relação aos organismos e também ao meio ambiente. Dentre esses micropoluentes os desreguladores endócrinos vêm se destacando devido aos problemas que podem causar aos organismos em geral. Pereira (2011) afirma que um Desregulador Endócrino é uma substância ou mistura de substâncias que alteram o funcionamento do sistema endócrino e, dessa forma, causam efeitos adversos à saúde de um organismo, na sua descendência ou na sua população. O sistema endócrino é constituído de glândulas

responsáveis pelo controle e envio das mensagens para que haja a liberação de substâncias químicas conhecidas como hormônios, que se distribuem pelo corpo através da corrente sanguínea. Os hormônios são reconhecidos, no organismo, por meio de receptores proteicos especializados em reconhecimento molecular, e são responsáveis pela comunicação entre vários tipos de células (PEREIRA, 2011).

De acordo com Maia e Dezotti (2007) os desreguladores endócrinos ligam-se aos receptores de estrogênio, bloqueando ou mimetizando o hormônio, dessa maneira tais substâncias podem causar um efeito agonista ou antagonista. Sendo que o efeito agonista é a capacidade de uma substância exógena, ou seja, um desregulador endócrino, em ligar-se ao receptor e mesmo assim gerar resposta. Já em relação ao efeito antagonista temos a capacidade de uma substância exógena em ligar-se em um receptor e, dessa forma, bloquear o sítio receptor com isso evitando que uma resposta seja gerada. Além dos fatores citados os desreguladores endócrinos podem ainda intervir nos estágios da dinâmica hormonal, tais como: produção, excreção ou na biotransformação dos hormônios.

Os estrogênios apresentam como estrutura básica 18 carbonos contendo um anel fenólico (anel aromático com um grupo hidroxílico ou cetona na posição 17 do anel D, e um grupo hidroxila no carbono 3) (Figura 1). Sendo o anel fenólico o principal componente da estrutura do estrogênio responsável pela alta afinidade apresentada com os receptores. (LOOSE-MITCHELL; STANCEL, 2005).

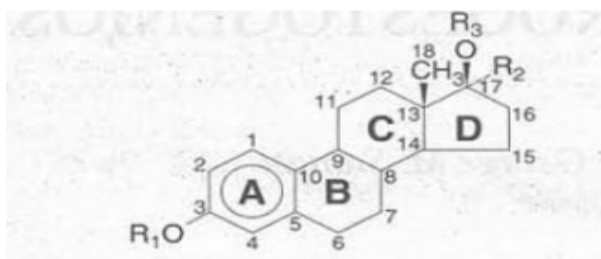


Figura 1 – Estrutura básica de estrogênios esteroides (LOOSE-MITCHELL; STANCEL, 2005).

Pereira (2011) afirma que as substâncias exógenas podem induzir a alterações no organismo que podem ser caracterizadas de duas formas: através de modulação endócrina, na qual há a interferência em menor nível não acarretando em efeitos tão severos, sendo dessa forma reversíveis, e através de desreguladores endócrinos, os quais apresentam efeitos mais drásticos, e que muitas vezes não são passíveis de reversão.

Os primeiros indícios dos efeitos do DEs foram observados em colônias de aves na Região dos Grandes Lagos (E.U.A), na década de 1980, que apresentaram características femininas após exposição ao DDT (dicloro difenil tricloroetano) (SETAC, 2005), e foram observados os mesmos efeitos em comunidades de jacarés de lagos da Flórida-EUA (REIS FILHO et al., 2007). Algumas mulheres grávidas no período dos anos de 1948 a 1971 tomaram dietilestilbestrol (DES), na época, prescrito para evitar o aborto espontâneo, e várias filhas destas mulheres apresentaram dificuldade para engravidar ou tornaram-se inférteis, e algumas desenvolveram um tipo raro de câncer vaginal. Entre os vários grupos de substâncias capazes de provocarem alterações endócrinas os hormônios femininos e os esteroides sintéticos são considerados os principais (PEREIRA, 2011).

Segundo Ferreira (2008) o Etinilestradiol ou 17 α -etinilestradiol é considerado o principal estrogênio sintético, visto que é encontrado em pílulas anticoncepcionais e é também aplicado em terapias de reposição hormonal. É um dos desreguladores endócrinos de maior relevância encontrada no ambiente aquático, devido ao fato de possuir uma alta estrogenicidade de ser bastante resistente à biodegradação. O crescente aumento no consumo de pílulas contraceptivas resulta em uma preocupação maior em relação a problemas causados por desreguladores endócrinos, já que mesmo em concentrações baixas o 17 α -etinilestradiol têm provocado efeitos preocupantes tais como: deformidades de nascimento, diminuição da fertilidade, disfunção do sistema hormonal, anormalidades metabólicas e feminilização de aves, peixes, mamíferos aquáticos e répteis (MORAIS, 2012). A estrutura do etinilestradiol ou 17 α -etinilestradiol (EE2) é representada na Figura 2:

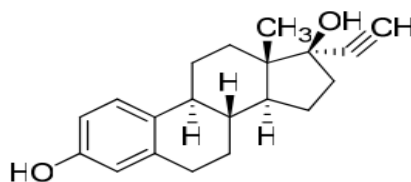


Figura 2 – Estrutura química do etinilestradiol (EE2) (CORDEIRO, 2009).

O Etinilestradiol apresenta rápida absorção no trato intestinal apresentando o pico plasmático cerca de 30 a 120 minutos após a ingestão oral. Esse hormônio sofre um extenso metabolismo hepático, apresentando o 2-hidróxi-etinilestradiol como principal metabólito formado. Apresenta também como metabólitos numerosos compostos hidroxilados e metoxilados encontrados na forma livre ou como glicuronídeos conjugados e sulfatos. A meia-vida para eliminação do etinilestradiol varia de 13 a 27 horas, sendo excretado pelas fezes e urina (MARTINDALE, 2007).

MATERIAIS E MÉTODOS

Estratégia do trabalho

As etapas para realização do trabalho foram representadas no fluxograma da Figura 3.

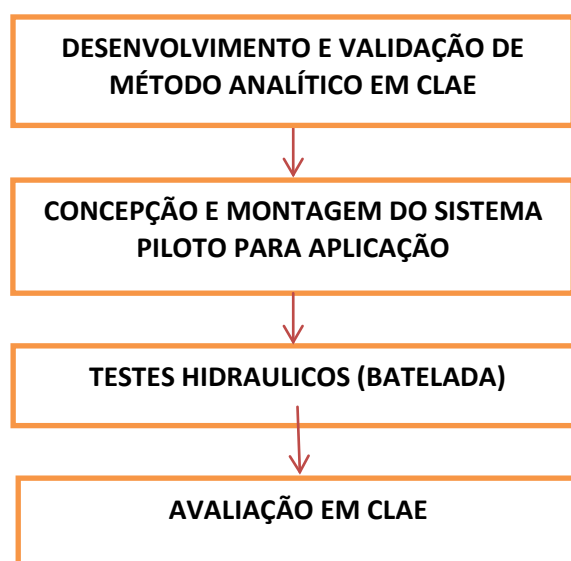


Figura 3. Representação esquemática das principais etapas envolvidas no trabalho.

Material e reagentes

As soluções do hormônio foram sintetizadas a partir de um padrão secundário de etinilestradiol (98,90% da Zhejiang Xinaju Pharmaceutical Co. Ltda.); acetonitrila grau cromatográfico foi adquirida da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil) e a água ultrapura foi obtida através do sistema de purificação por osmose reversa os10 LZ da GEHAKA.

Condições cromatográficas

Um sistema de cromatografia líquida Shimadzu (Kyoto, Japão) foi utilizado, equipado com bomba LC-20 AT (prominence), detector fluorescência RF- 10 A XL (Shimadzu), detector PDA SPD-M20A (prominence) e

injetor automático SIL-20 A (proeminence) com volume de injeção de 20 μL . Os dados foram analisados pelo programa LCsolution (Shimadzu, Kyoto, Japão). Como fase estacionária foi utilizada uma coluna C18 (250 x 4,6mm, 5 μm) ACE-HPLC columns, A fase móvel utilizada no processo era composta de acetronitrila:água (80:20, v/v) em modo isocrático. A operação do sistema foi realizada à temperatura ambiente, utilizando vazão de 1,0 mL min^{-1} , com comprimento de onda: 254 nm e a detecção em espectrofluorimetria com excitação em 280 nm e emissão em 310 nm e o tempo de retenção foi de, aproximadamente, 3,46 minutos.

Desenvolvimento e Validação do método analítico

Tem-se como objetivo de uma validação a demonstração que o método utilizado é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias. Dessa forma, a validação deve garantir, experimentalmente, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando assim a confiabilidade dos resultados devendo apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, sensibilidade, limite de quantificação, exatidão, adequada à análise. A validação é dividida entre métodos bioanalíticos e métodos analíticos, sendo que nesse estudo utilizaremos a validação para métodos analíticos conforme as normas da ANVISA (2003).

Os parâmetros avaliados na validação do método compreenderam: seletividade, linearidade, limites de quantificação e detecção, precisão e exatidão.

Seletividade

Para se avaliar a seletividade do método para análises de etinilestradiol, utilizou-se água ultrapura (branco) fornecida pelo sistema GEHAKA e injetou-se uma amostra da solução de água ultrapura e etinilestradiol (0,10 mg.L^{-1}) que foi obtida após a diluição da solução estoque. As duas amostras foram submetidas as mesmas condições cromatográficas.

Linearidade

A linearidade do etinilestradiol foi estudada a partir da solução padrão do hormônio em nove níveis de concentrações, apresentando valores abaixo dos valores próximos ao limite de quantificação e valores maiores que o valor de estudo (0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 mg.L^{-1}). Construiu-se a curva de calibração para o método, seguindo o modelo matemático de regressão linear a partir do método dos mínimos quadrados e calculado o quadrado do coeficiente de correlação linear (r^2) respectivo. Para análise de variância estudos de homocedasticidade e heterocedasticidade foram aplicados a curva.

Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram estabelecidos experimentalmente através da solução padrão contendo o hormônio estudado, em concentrações decrescentes até o menor nível detectável.

Precisão e Exatidão

Para determinar a precisão (repetibilidade) e a exatidão do método para o hormônio em estudo preparou-se 9 (nove) amostras que contemplavam o intervalo linear do método, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada e para cada replica se fez uma duplicata. As concentrações escolhidas foram 0,25, 2,5 e 7,5 mg.L^{-1} .

Para a determinação da precisão inter-corridas realizou-se ensaios em 2 dias diferentes ($n = 2/\text{dia}$). Os resultados foram expressos em relação ao desvio padrão relativo (DPR, %).

Preparação da Solução Aquosa do Composto

A pesquisa envolveu o tratamento de uma solução aquosa que simulava um efluente industrial preparado a partir de um padrão secundário de etinilestradiol (98,90% da Zhejiang Xinaju Pharmaceutical Co. Ltda.). Para a realização desta pesquisa adotou-se a concentração de 5,0 mg.L^{-1} para a solução de etinilestradiol a ser objeto do tratamento. Essa concentração foi adotada a partir de valores encontrados em efluentes de indústrias farmacêuticas por Yargeau et al. (2012) após análise de efluente em CLAE.

Primeiramente foi preparada uma solução de eintilestradiol de concentração de 50 mg.L^{-1} . Conhecendo-se as características físico-químicas desse hormônio, já que o mesmo não é solúvel em água, optou-se por solubilizá-lo em acetonitrila. As soluções com concentrações iniciais estabelecidas em cada experimento serão preparadas a partir da solução padrão e diluídas com água ultrapura obtida pelo sistema de tratamento de água OS10 LZ da GEHAKA e também em água oferecida pelo sistema de tratamento público.

Concentração de TiO_2 aplicada ao sistema

As concentração de TiO_2 foram fixadas em valores de $0,1 \text{ g.L}^{-1}$. De acordo com trabalho realizado por Yargeau et al. (2012), o valor de $0,1 \text{ g.L}^{-1}$ é suficiente para a degradação efetiva de EE2 sem que haja perda do fotocatalisador. Para valores maiores que $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ observou-se que a eficiência não apresentou um aumento considerável, dessa forma, com uma concentração menor de TiO_2 pode-se fazer a degradação efetiva do substrato com um gasto menor de fotocatalisador. Vários estudos indicam que há a diminuição da eficiência da degradação fotocatalítica em doses mais elevadas de fotocatalisador, este fato pode ser explicado, pois uma vez que há um excesso de partículas na solução aquosa cria-se um efeito protetor na penetração da radiação UV. Para os experimentos de fotocatalise, a suspensão de TiO_2 foi sonicada durante 30 minutos, antes da adição à mistura de reação para evitar a aglomeração e subsequente redução na área de superfície ativa e também para a retirada de microbolhas de ar que possam interferir no sistema

Descrição da instalação experimental

Para a aplicação do método foi utilizado um reator fotocatalítico com seção anular, operado inicialmente em bateladas sequenciais. O esquema do sistema operacional do reator é mostrado na Figura 4.

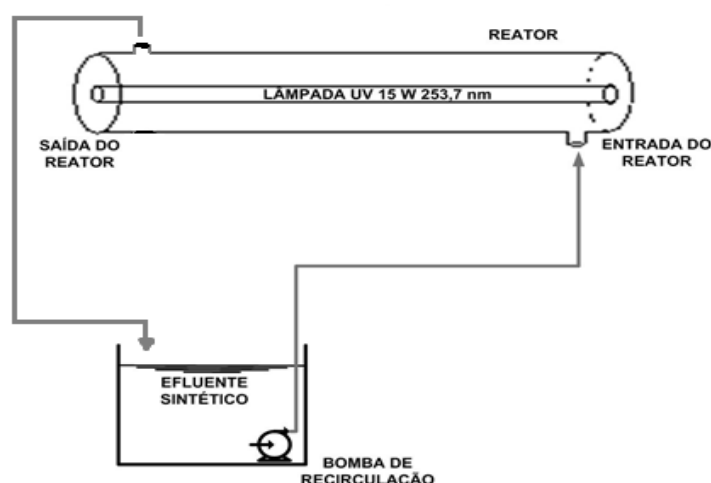


Figura 4 - Representação esquemática do reator fotoquímico.

O reator é constituído por um tubo cilíndrico fechado nas extremidades, com a fonte de radiação UV situada no eixo central. O reator foi construído com tubulação de PVC de 100 mm de diâmetro, fechado por “caps”, com volume útil de 3,6 L, contendo uma lâmpada UV (G-LIGHT) com 47 cm de comprimento, 15 watts de potência e com máximo de emissão no comprimento de onda de 253 nm. Houve a inserção de mangueiras nas extremidades laterais do reator para a condução do efluente entre o reator e o recipiente de recirculação, promovida por bomba submersa, com vazão nominal de 300 L.h^{-1} . Após a determinação das melhores condições de operação obtidas por meio do planejamento fatorial foram realizadas modificações para que o reator operasse em fluxo contínuo.

Descrição dos Ensaios de Degradação do Etililestradiol por fotólise e fotocatalise

Os ensaios de degradação fotocatalítica foram realizados com o intuito de definir o rendimento do sistema, em termos de degradação de hormônio, para cada uma das condições empregadas. De forma geral, em cada ensaio será adicionado ao fotoreator anular a solução contendo o hormônio na concentração de estudo. Para os

experimentos de fotólise a solução aquosa simulada foi exposta a radiação UV durante duas horas e estudada em matrizes aquosas diferentes (água ultrapura e água de abastecimento público da cidade de Goiânia, Goiás). Já para o estudo de fotocatalise se acrescentou o fotocatalisador ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$) à solução simulada e se iniciou a reação pela aplicação de radiação UV em água de abastecimento público. Anteriormente a cada experimento, a lâmpada UV foi estabilizada por 5 minutos. Amostras serão retiradas e filtradas em membrana de fibra de vidro (GFC-52) de $0,60 \mu\text{m}$ para remoção do TiO_2 e submetidas à análise em CLAE.

RESULTADOS

Seletividade

Nessa etapa se adicionou uma amostra do branco, ou seja, a matriz sem analito e uma amostra contendo o analito, sendo a mesma constituída de água livre de orgânicos e o EE2, ambas foram submetidas às mesmas condições cromatográficas.

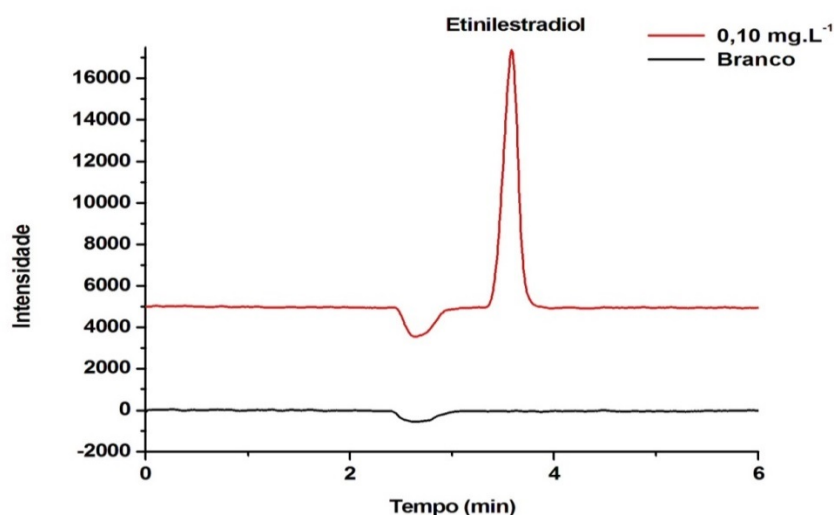


Figura 5 – Seletividade do processo para o etinilestradiol (EE2).

Pode-se considerar que o método analítico é seletivo para as condições adotadas (utilizando-se somente o etinilestradiol em matrizes aquosas) já que não houve a aparição de nenhum pico de retenção semelhante ao pico apresentado pelo etinilestradiol (tempo de retenção de 3,46 min). Esse fato nos revela que o método utilizado para detecção e quantificação do EE2 não apresenta falso positivo ou falso negativo.

Linearidade

Para o estudo da linearidade construiu-se a curva de calibração para o método, seguindo o modelo matemático de regressão linear a partir do método dos mínimos quadrados e calculado o quadrado do coeficiente de correlação linear (r^2) respectivo.

O gráfico da curva de calibração obtido para o etinilestradiol apresentou um fator de correlação r^2 superior a 0,9900 ($r^2 = 0,9988$), o qual é recomendado pela ANVISA (2003) para a validação de métodos analíticos, o que nos apresenta uma boa linearidade em relação às respostas obtidas pelo cromatógrafo como pode ser observado na Figura 6. Este método se mostrou muito sensível, e apresentou boa detecção como pode ser visto no cromatograma típico na Figura 7.

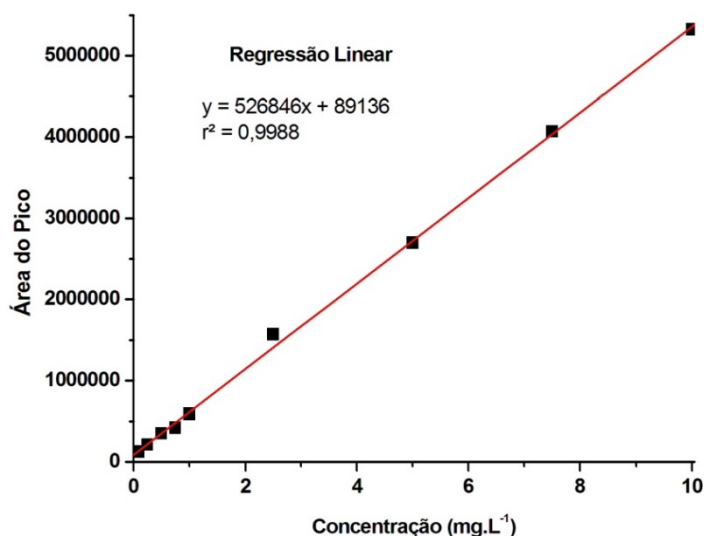


Figura 7 – Gráfico para a curva de calibração do etinilestradiol no intervalo de concentração 0,1 - 10 mg.L⁻¹.

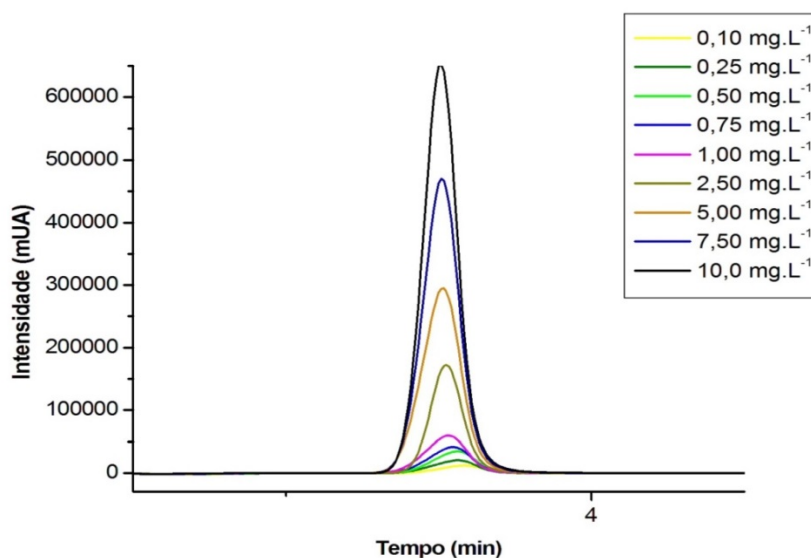


Figura 7 - Cromatogramas (CLAE/FLD) obtidos para o etinilestradiol (EE2) para a faixa de concentração 0,10 – 10,0 mg.L⁻¹.

Para que a linearidade obtida através da regressão linear fosse comprovada o teste de homocedasticidade foi aplicado à curva de calibração conforme os parâmetros de Almeida et al. 2002. Para a realização do teste de homocedasticidade realizou-se a aplicação do teste de F, onde se comparou os valores de F-tabelado (F_{tab}) e do F-experimental (F_{exp}). O valor de F_{tab} foi obtido a partir da tabela de F a 99% de intervalo de confiança e f₁ = f₂ (n-1) graus de liberdade, sendo n o número de replicas realizado (n=3), portanto os graus de liberdade serão 2. O F_{exp} foi calculado a partir da divisão da variância obtida da análise das amostras do limite superior de quantificação (10 mg.L⁻¹) e entre a variância do limite inferior de quantificação (0,10 mg.L⁻¹). Se o valor de F_{exp} < F_{tab} não se rejeita a homocedasticidade do teste, caso F_{exp} > F_{tab}, tem-se que há heterocedasticidade. O resultado do teste F é apresentado na Equação 1.

$$F_{tab} = 99; F_{exp} = 0,005291$$

$$0,005291 < 99 \quad (1)$$

Como $F_{exp} < F_{tab}$ não se rejeita o teste para homocedasticidade. Através do teste de homocedasticidade é possível verificar se a variância é a mesma para todos os pontos estudados na curva de calibração, caso o resultado para este parâmetro seja positivo pode-se considerar que o método dos mínimos quadrados é eficiente no cálculo da curva de regressão linear, caso o resultado seja negativo, tem-se então que a amostra apresenta heterocedasticidade sendo necessário que haja a correção então na curva de regressão linear.

Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

A Figura 8 mostra o cromatograma para menor concentração do etinilestradiol (EE2), cujo valor é $0,001 \text{ mg.L}^{-1}$, e a Figura 9 mostra o cromatograma do LQ (limite de quantificação), com valor de $0,005 \text{ mg.L}^{-1}$ para o EE2.

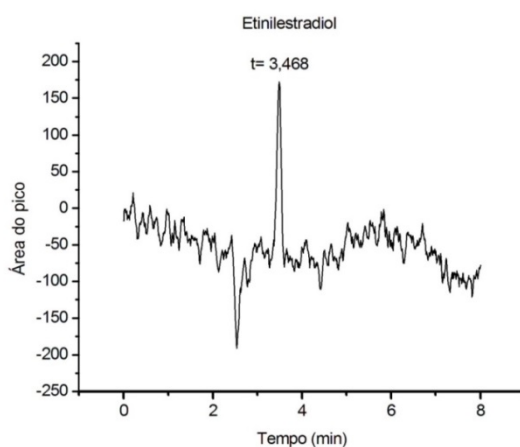


Figura 8 – Cromatograma para o LD (limite de detecção)

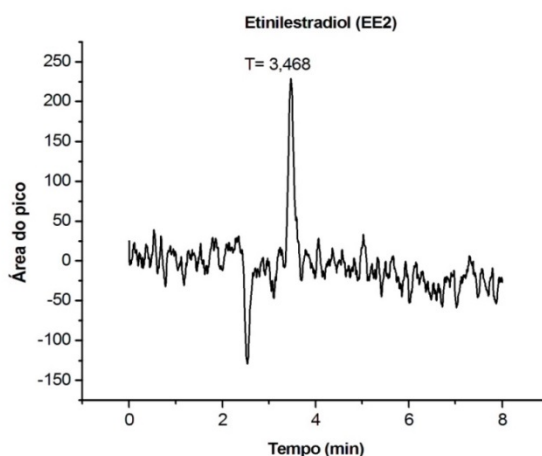


Figura 9 – Cromatograma para o LQ (limite de quantificação)

Segundo a USEPA, o limite de detecção (LD) deve ser cinco vezes menor que o limite de quantificação (LQ), portanto, como o limite de detecção foi determinado como $0,001 \text{ mg.L}^{-1}$, o limite de quantificação foi determinado como sendo $0,005 \text{ mg.L}^{-1}$. Apesar de a concentração ser muito baixa e o pico cromatográfico referente ao etinilestradiol ter uma pequena área é possível notar que eles foram detectados como pode ser observado nas Figuras 8 e 9.

Precisão e Exatidão

A Tabela 1 mostra as áreas dos picos cromatográficos obtidos para as três concentrações para a determinação da precisão e da exatidão e como pode ser visto o Desvio Relativo Padrão (DPR) para os três níveis estão dentro do valor estipulado pela ANVISA (2003) que não admite valores para DPR maiores que 5%.

Tabela 1 – Resultados obtidos para a determinação da precisão do método para o 17 α -etinilestradiol

Amostra	1° nível (0,25 mg.L ⁻¹) CB*	2° nível (2,5 mg.L ⁻¹) CM*	3° nível (7,5 mg.L ⁻¹) CA*
1	236553	1311152	4595074
2	235798	1317505	4194195
3	233182	1331456	4063359
4	245186	1316915	4068366
5	235553	1360310	4229787
6	233182	1343876	4241678
DPR (%)	3,015293	1,526994	4,687469
Exatidão (%)	111,9414	94,22612	104,8489

*CB – Concentração baixa; CM – Concentração Média; CA – Concentração alta;

A Tabela 2 apresenta os valores obtidos para precisão intermediária e exatidão.

Tabela 2 – Valores obtidos na avaliação da precisão e exatidão inter-ensaio

Concentração da amostra	DPR (%)	Exatidão (%)
1° nível (0,25 mg.L ⁻¹) CB	2,5790	111,5578
2° nível (2,5 mg.L ⁻¹) CM	1,784247	95,62297
3° nível (7,5 mg.L ⁻¹) CA	3,9567	102,67

Como se pode observar os valores de DPR encontrados são menores que os recomendados pela ANVISA (2003) – menor que 5%. Conclui-se então que o método apresenta uma boa precisão e exatidão

Estudo de degradação por Fotólise

Admite-se de uma maneira geral, que em tratamentos fotocatalíticos o radical hidroxila (OH•) é o principal agente mediador da degradação de compostos, agente tal que surge a partir da interação do semicondutor e da radiação ultravioleta fornecida pelo sistema. No entanto, observa-se que a incidência somente da radiação ultravioleta pode propiciar a degradação do substrato em estudo (fotólise), o que é de bastante relevância nos casos em que os substratos sejam fotossensíveis (MARINHO, 2012). No intuito de verificar a interação da radiação em relação ao substrato de interesse, estudos de degradação do etinilestradiol (EE2) (5 mg.L⁻¹) foram realizados apenas na presença da radiação ultravioleta. A Figura 10 apresenta o gráfico comparativo da degradação por fotólise em matrizes diferentes (água ultrapura e água do sistema de abastecimento público).

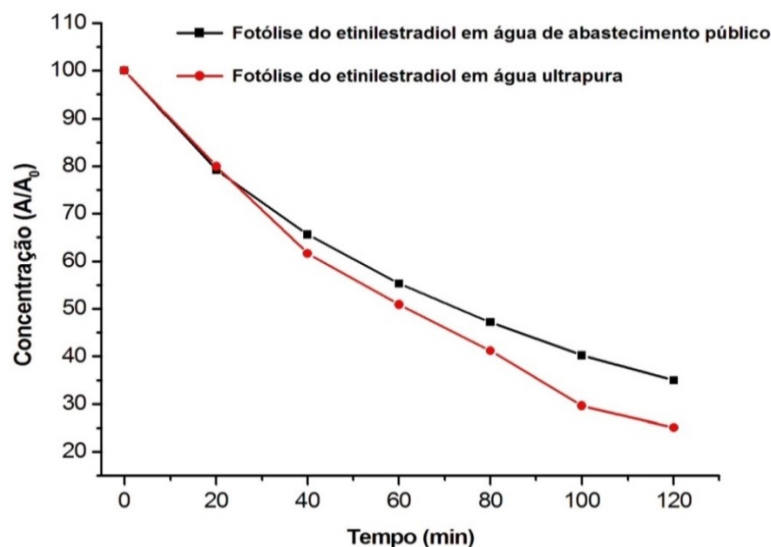


Figura 10 - Degradação de etinilestradiol após aplicação de fotólise em matrizes diferentes.

Observa-se a partir da Figura 5 uma diferença significativa em relação à taxa de degradação para o etinilestradiol em matrizes de água diferente (água proveniente do sistema de abastecimento público – 65% - e água proveniente do sistema de osmose reversa – 75%). Segundo Xekoukoulotakis et al. (2012) o processo de fotólise em água ultrapura apresenta uma maior eficiência em relação à fotólise em água de sistema de abastecimento público. Esse fato pode estar relacionado à presença de cloretos e sulfatos, que também reagem com os radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$), para formar os seus respectivos radicais; embora os mesmos ainda possam oxidar o EE2, o seu potencial de oxidação é inferior ao de radicais hidroxila.

Além desse fato, a água de abastecimento apresenta bicarbonatos que podem atuar como captadores de radicais. Juntamente a presença de moléculas inorgânicas nesse tipo de matriz também há a presença de matéria orgânica residual que é bastante resistente à degradação por meio de (POA), sendo que as mesmas competem com as moléculas de EE2 para serem degradados pelos radicais hidroxila. Como a fotodegradação não é seletiva tem-se a perda de uma grande parte dos radicais hidroxila, já que os mesmos atacam moléculas que não são o alvo do tratamento e não somente o etinilestradiol (XEKOUKOULOTAKIS et al., 2012).

Segundo Marinho (2012), algumas propostas de mecanismos apresentadas sugerem que no processo de fotólise a degradação do grupo fenólico não ocorre nos estrogênios, porção que confere a essas substâncias a características de estrogenicidade. Além desse fato, sugeriram que há a formação de quinonas, hidroquinonas assim como derivados hidroxilados após o processo de fotólise em estradiol (E2) e em etinilestradiol (EE2).

Estudo de degradação por fotocatalise com TiO_2 em batelada

Os estudos de degradação em sistema operando em batelada foram realizados na presença do estrogênio modelo ($\text{EE2} = 5\text{mg.L}^{-1}$), concentração de $0,1\text{ g.L}^{-1}$ de TiO_2 em suspensão e avaliando-se a taxa de degradação durante 120 minutos de tratamento e com coletas realizadas a cada 20 minutos.

A Figura 11 apresenta o gráfico que representa a eficiência da fotocatalise heterogênea e a Figura 12 apresenta os cromatogramas para a degradação de etinilestradiol. Observa-se que a taxa de degradação em relação ao etinilestradiol alcançou cerca de 90% após 20 minutos, chegando a 98% de degradação após 40 minutos de tratamento e que após esse tempo a degradação não se mostrou muito expressiva.

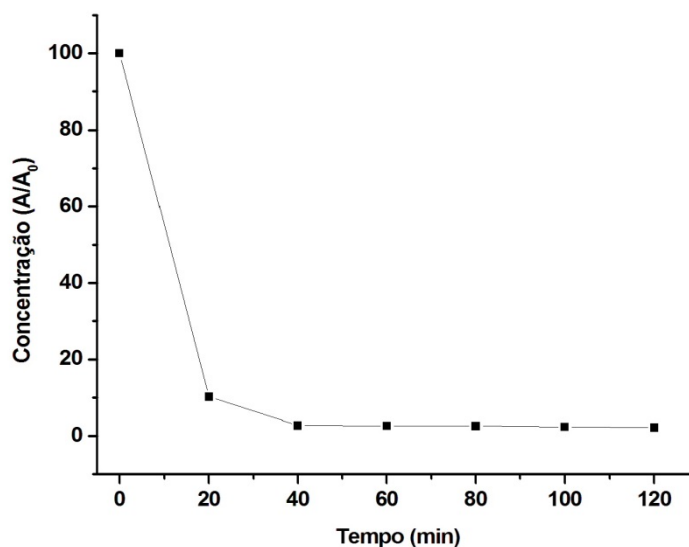


Figura 11 – Degradação do etinilestradiol por meio da fotocatalise heterogênea etinilestradiol (5mg.L^{-1}) com massa de TiO_2 ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$) em pH neutro (7,0).

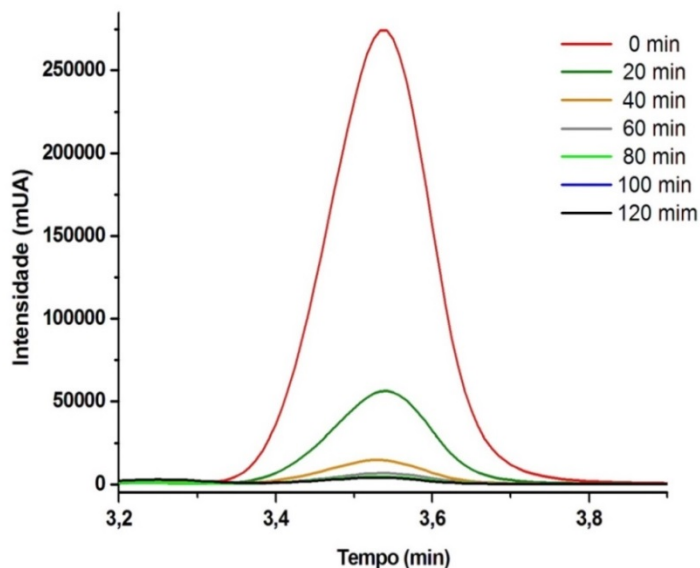


Figura 12 – Figura de mérito para degradação por fotocatalise de etinilestradiol (5mg.L^{-1}) com massa de TiO_2 ($0,1 \text{ g.L}^{-1}$) em pH neutro (7,0).

Esses resultados estão de acordo com recentes relatos de Marinho (2012) que atestam degradação de cerca de 95% do estrogênio EE2 por processo de fotocatalise heterogênea utilizando o TiO_2 como catalisador em apenas 24 minutos de tratamento. Apesar das baixas concentrações de substrato (5mg.L^{-1}) que costumam resultar em menor eficiência de degradação, em razão da não saturação do sistema, observou-se uma alta eficiência na degradação do EE2 (cerca de 99%). As reações de degradação mediadas por TiO_2 são mais

eficientes em concentrações de COT entre 20 e 30 mg L⁻¹, em razão desta faixa de concentração usualmente permitir a saturação da superfície do fotocatalisador, o que maximiza a eficiência do processo.

Apesar da utilização da água obtida através do sistema de abastecimento público, observa-se uma eficiência de degradação bastante efetiva e relevante para os experimentos realizados, fato importante, pois a solução aquosa apresenta parâmetros próximos aos reais, como água oferecida pelo sistema público de tratamento e pH neutro.

CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que o método analítico desenvolvido e validado se mostrou eficiente para detectar e quantificar o composto etinilestradiol (EE2) nas amostras simuladas em água antes e após os tratamentos propostos, apresentando todos os valores obtidos dentro dos valores estabelecidos pela ANVISA (2003).

A fotólise e a fotocatalise heterogênea se mostraram eficientes na degradação de etinilestradiol, visto que os processos conseguiram degradar uma quantidade alta do hormônio. A fotocatalise heterogênea apresentou uma maior eficiência conseguindo remover cerca de 90% de etinilestradiol em 20 minutos de exposição e com 40 minutos de exposição cerca de 98% do hormônio foi removido apesar da utilização de água proveniente do sistema de abastecimento público. Observa-se que para a fotólise essa degradação chegou a cerca de 66% para água potável e 75% em água ultrapura.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq e à FAPPEG pelo financiamento da pesquisa e pela bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, maio, 2003.
2. FERREIRA, M.G. Remoção da atividade estrogênica de 17 β -estradiol e de 17 α -etinilestradiol pelos processos de ozonização e O₃/H₂O₂. Tese (Doutorado em Ciências em Engenharia Química) – Coordenação do Programa de Pós- Graduação de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.
3. LOOSE-MITCHELL, D. S.; STANCEL, G. M. Estrogênios e progestogênios. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. Goodman e Gilman, as bases farmacológicas da terapêutica. Tradução da 10. ed. Original, Carla de Mello Vorsatz et al. 10. ed. McGraw-Hill, cap. 58, p. 1201-1229, 2005.
4. MAIA, D.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. Química Nova, v.30, n.3, p.651-666, 2007.
5. MARINHO, B. A. Estudo da Potencialidade da Fotocatalise Heterogênea e dos Processos Fenton para a Degradação de Micropoluentes em Águas Residuárias (Esgoto Tratado). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, 2012.
6. MARTINDALE. The Complete Drug Reference. 35a Ed. Londres: PhP, 2007.
7. MORAIS, R. L. Remoção de hormônios sexuais sintéticos por carbonização hidrotermal e por fungos de decomposição branca. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia do Meio Ambiente, Universidade Federal de Goiás, 2012.
8. PEREIRA, O. P. Formação de subprodutos do estrona e 17 β -estradiol na oxidação utilizando cloro e ozônio em água. Tese de Doutorado em Ciências (Engenharia Hidráulica e Saneamento), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.
9. REIS FILHO, R. W. Hormônios estrógenos no Rio do Monjolinho, São Carlos – SP: Uma Avaliação da Problemática do Desreguladores Endócrinos Ambientais. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
10. SETAC – SOCIETY OF ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY AND CHEMISTRY- Endocrine disruptors and modulators, Technical Issue Paper (TIP), 2005.5p.
11. XEKOUKOULOTAKIS N.P ; FRONTISTIS, Z.; DROU, C.; TYROVOLA, K.; MANTZAVINOS, D. FATTA- KASSINOS, D.; VENIERI, D.; Experimental and Modeling Studies of the Degradation of

- Estrogen Hormones in Aqueous TiO₂ Suspensions under Simulated Solar Radiation. In: Ind. Eng. Chem. Res. 51, 16552–16563, 2012.
12. YARGEAU, V.; BERK, D.; NASUHOGLU, D. Photocatalytic removal of 17 α -etinylestradiol (EE2) and levonorgestrel (LNG) from contraceptive pill manufacturing plant wastewater under UV radiation. Chemical Engineering Journal, v. 185-186, p.52-60, 2012.