



**SANDRA MARIA DAL BOSCO**

**DEGRADAÇÃO DE IVERMECTINA POR PROCESSOS  
OXIDATIVOS AVANÇADOS**

**CAMPINAS  
2012**



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E URBANISMO**

**SANDRA MARIA DAL BOSCO**

**DEGRADAÇÃO DE IVERMECTINA POR PROCESSOS  
OXIDATIVOS AVANÇADOS**

**Orientador: Prof. Dr. José Roberto Guimarães**

Tese de Doutorado apresentada a Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da Unicamp, para obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil, na área de Saneamento e Ambiente.

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE  
DEFENDIDA PELA ALUNA SANDRA MARIA DAL BOSCO E  
ORIENTADA PELO PROF. DR. JOSÉ ROBERTO GUIMARÃES.**

**ASSINATURA DO ORIENTADOR**

---

**CAMPINAS  
2012**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

D15d Dal Bosco, Sandra Maria  
Degradação de ivermectina por peroxidação, fotólise e processos oxidativos avançados / Sandra Maria Dal Bosco. --Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: José Roberto Guimarães.  
Tese de Doutorado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo.

1. Ivermectina. 2. Processos oxidativos avançados. 3. Toxicidade. 4. Daphnia similis. I. Guimarães, José Roberto, 1958-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. III. Título.

Título em Inglês: Ivermectin degradation by peroxidation, photolysis and advanced oxidation processes

Palavras-chave em Inglês: Ivermectin, Advanced oxidation processes, Toxicity, Daphnia similis

Área de concentração: Saneamento e Ambiente

Titulação: Doutora em Engenharia Civil

Banca examinadora: Luiz Antonio Daniel , Daniele Maia Bila, Susanne Rath, Anne Helene Fostier

Data da defesa: 04-07-2012

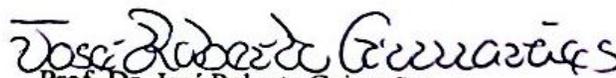
Programa de Pós Graduação: Engenharia Civil

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E URBANISMO**

**DEGRADAÇÃO DE IVERMECTINA POR PROCESSOS OXIDATIVOS  
AVANÇADOS**

**Sandra Maria Dal Bosco**

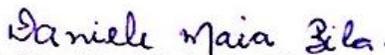
**Tese de Doutorado aprovada pela Banca Examinadora, constituída por:**



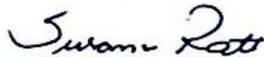
**Prof. Dr. José Roberto Guimarães  
Presidente e Orientador/FEC/Unicamp**



**Prof. Dr. Luiz Antonio Daniel  
EESC/USP**



**Profa. Dra. Daniele Maia Bila  
UERJ**



**Profa. Dra. Susanne Rath  
IQ/UNICAMP**



**Profa. Dra. Anne Helene Fostier  
IQ/UNICAMP**

**Campinas, 04 de julho de 2012**

## **Dedicatória**

Dedico este trabalho

Aos meus pais, pelo imenso apoio, sempre

Ao André Dalben, pela mão incansavelmente estendida,

Ao Cassius Buda, por ter sido o primeiro a acreditar em mim, e continuar acreditando até os dias de hoje.

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador, Dr. José Roberto Guimarães (Tuca), pela disposição, dedicação e orientação, além da contribuição para o meu amadurecimento profissional, e também como pessoa.

À Milena, pela supervisão e disponibilidade ao longo de todo o trabalho.

À banca examinadora, pelas importantes contribuições.

Aos queridos técnicos Enelton, Fernando e Lígia, pela ajuda e por dividir, sempre, seus conhecimentos.

À colega e amiga Izabela, pelo apoio, incentivo e pelas longas e proveitosas conversas que muito me ensinaram nesses últimos anos.

À Regiane, Cristal, Luciana, Mário, Mirthys e Marina que em algum momento contribuíram para este trabalho e para meu aprendizado profissional e pessoal.

À Susi, por viabilizar o desenvolvimento desse trabalho, pelo interesse e incentivo, e por toda ajuda dispensada nesses anos.

Aos colegas de laboratório Ricardo, Cynthia, Laís, Lívia, Leonardo, Andreza, Keithy e Fernando, pela gostosa convivência, e por estarem sempre dispostos a ajudar.

À família Dalben: D. Odete, Seu Sérgio, Serginho e Evandro, pelo apoio que não imaginam o quanto foi importante.

À Fernanda Girardi e sua família, pelo incentivo carinhoso, sempre.

Às razões da minha vida: meu pai, minha mãe, André e Cassius.

À CAPES, pelo apoio financeiro.

Foram necessárias centenas de milhões de anos para se produzir a vida que agora habita a Terra; idades de tempo, para que essa vida, desenvolvendo-se, evoluindo e diversificando-se, alcançasse um estado de ajustamento e de equilíbrio com o seu meio ambiente. O meio ambiente, dando conformação e dirigindo, rigorosamente, à vida que amparava, continha elementos que eram ao mesmo tempo hostis e sustentadores. Certas rochas emanavam radiações perigosas; até mesmo dentro da luz do Sol, de que todas as formas de vida recebem a sua energia, existiam radiações de onda curta, com potência bastante para lesar. Com o ocorrer do tempo - do tempo não em anos, e sim em milênios - a vida ajustou-se, e um equilíbrio foi conseguido. Porquanto o tempo é ingrediente essencial; mas, no mundo moderno, não há tempo.

A rapidez da mudança e a velocidade com que novas situações se criam, acompanham o ritmo impetuoso e insensato do Homem, ao invés de acompanhar o passo deliberado da Natureza.

CARSON, 1969, p. 16-17

## Resumo

DAL BOSCO, S. M. *Degradação de ivermectina por processos oxidativos avançados*. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Civil). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.

Neste trabalho foi avaliada a degradação de ivermectina em solução aquosa ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) pelos processos de peroxidação, fotólise, peroxidação assistida por luz ultravioleta, reagente de Fenton, foto-Fenton, fotocatalise com  $\text{TiO}_2$  em suspensão, eletroquímico e fotoeletroquímico. A peroxidação foi ineficaz independentemente da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  utilizada ( $0,5 - 10 \text{ mmol L}^{-1}$ ). A fotólise e a peroxidação assistida por luz ultravioleta apresentaram eficiências superiores a 98% em 300 s de reação (dose de  $1.410 \text{ mJ cm}^{-2}$ ). No processo de degradação Fenton, quando utilizado  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de Fe(II) e  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , a eficiência máxima foi de 80% em 60 s. No foto-Fenton as degradações atingiram 99 % em 600 s de reação. Na fotocatalise com  $\text{TiO}_2$  em suspensão houve uma degradação de 90% para uma dose de radiação de  $1.410 \text{ mJ cm}^{-2}$ , e 97% para  $2.820 \text{ mJ cm}^{-2}$ . No processo eletroquímico em 60 s de reação a eficiência foi entre 50 e 60%, e em 600 s entre 60 e 70% em todas as condições de densidade de corrente elétrica ( $13,6$  a  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ ) e concentrações de eletrólito suporte ( $0,01$  a  $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) avaliadas. O processo fotoeletroquímico apresentou eficiência de degradação próxima a 95% em 300 s de reação, independentemente das concentrações de eletrólito suporte e densidades de corrente elétrica empregadas. De forma geral, as reduções da toxicidade aguda, utilizando-se o microcrustáceo *Daphnia similis* como organismo-teste, foram diretamente proporcionais às eficiências de degradação. Ao final de 600 s não foi observada toxicidade nas soluções submetidas aos processos de fotólise, peroxidação assistida por luz ultravioleta, reagente de Fenton ( $1,0$  e  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , respectivamente), foto-Fenton (todas as condições avaliadas) e fotocatalise com  $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2$  ( $0,12$  e  $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{TiO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , respectivamente).

**Palavras-chave:** ivermectina, processos oxidativos avançados, toxicidade, *Daphnia similis*

## Abstract

Ivermectin degradation ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$ ) by peroxidation, photolysis, peroxidation assisted by UV radiation, Fenton's reagent, photo-Fenton, photocatalysis with  $\text{TiO}_2$  in suspension, electrochemical, and photoelectrochemical processes were evaluated. Peroxidation was ineffective regardless of  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration used ( $0.5 - 10 \text{ mmol L}^{-1}$ ). The photolysis and peroxidation assisted by UV radiation reached 98% of degradation in 300 s of reaction (dose of  $1410 \text{ mJ cm}^{-2}$ ). The maximum efficiency in Fenton process was 80% for 60 s ( $1.0 \text{ mmol L}^{-1}$  Fe(II) and  $5.0 \text{ mmol L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ). For photo-Fenton the degradation efficiency reached 99% in 600 s reaction. In photocatalysis assays the degradation was 90% for a radiation dose of  $1410 \text{ mJ cm}^{-2}$  and 97% for  $2820 \text{ mJ cm}^{-2}$ . In the electrochemical process the efficiency ranged from 50% to 60% in 60 s of reaction and from 60% to 70% in 600 s when the current density ranged from  $13.6$  to  $40.9 \text{ mA cm}^{-2}$  (supporting electrolyte concentration of  $0.01$  and  $0.25 \text{ mmol L}^{-1}$ ). The photoelectrochemical process presented 95% of degradation efficiency in 300 s of reaction, regardless of the electrolyte concentrations and electrical current densities employed. In general, the acute toxicity reductions using the micro-organism *Daphnia similis* as organism-test were directly proportional to the efficiencies of degradation. In 600 s of the reaction, no toxicity was observed in the solution submitted to photolysis, peroxidation assisted by UV radiation, Fenton's reagent ( $1.0 \text{ mmol L}^{-1}$  of Fe(II) and  $5.0 \text{ mmol L}^{-1}$  of  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), photo-Fenton (all conditions studied), and photocatalysis with  $\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2$  ( $0.12$  and  $0.01 \text{ mmol L}^{-1}$  of  $\text{TiO}_2$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$ , respectively) processes.

**Keywords:** ivermectin, advanced oxidation processes, toxicity, *Daphnia similis*

## LISTA DE FIGURAS

página

- Figura 1.** Principais rotas de contaminação do ambiente por fármacos de uso humano e veterinário (adaptado de Pereira *et al.*, 2012).....13
- Figura 2.** Estrutura molecular da ivermectina (avermectina H2B1a e avermectina H2B1b).....15
- Figura 3.** Representação esquemática da fotocatalise. (BV: banda de valência, BC: banda de condução, (-) : elétron fotogerado, (+): lacuna fotogerada) (Nogueira e Jardim, 1998).....22
- Figura 4.** Sistema de concentração da ivermectina por extração em fase sólida.....31
- Figura 5.** Esquema do reator utilizado nos ensaios de degradação da ivermectina em solução aquosa.....38
- Figura 6.** Imagem do reator utilizado para os testes de degradação de ivermectina em solução aquosa, à esquerda. Detalhe da superfície inferior do reator, à direita.....39
- Figura 7.** Esquema do reator eletroquímico/fotoeletroquímico utilizado nos ensaios de degradação da ivermectina em solução aquosa.....40

<b>Figura 8.</b> Imagem do reator eletroquímico/fotoeletroquímico utilizado para os testes de degradação de ivermectina em solução aquosa. À esquerda: visão completa do sistema; à direita: partes constituintes do reator.....	40
<b>Figura 9.</b> Esquema das etapas dos ensaios de degradação da ivermectina por POA.....	42
<b>Figura 10.</b> Esquema do ensaio de toxicidade com <i>Daphnia similis</i> realizado para cada POA avaliado.....	47
<b>Figura 11.</b> Cromatograma da ivermectina 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (fator de concentração de 50 vezes).....	51
<b>Figura 12.</b> Curva analítica dinâmica de ivermectina em metanol para HPLC.....	53
<b>Figura 13.</b> Variação da concentração de ivermectina na peroxidação em diferentes teores iniciais do oxidante. Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	55
<b>Figura 14.</b> Espectros de varredura no UV da solução de ivermectina nos diferentes intervalos de tempo de reação com peróxido de hidrogênio a 5,0 $\text{mmol L}^{-1}$ . Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	56
<b>Figura 15.</b> Degradação de ivermectina em solução aquosa por fotólise em triplicata com médias e respectivos desvios padrões. Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	57
<b>Figura 16.</b> Espectros de varredura no UV da solução de ivermectina pela fotólise nos diferentes intervalos de tempo de irradiação UV. Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	58

<b>Figura 17.</b> Degradação de ivermectina por peroxidação assistida por luz UV em diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio. Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	60
<b>Figura 18.</b> Espectros de varredura no UV da solução de ivermectina nos diferentes intervalos de tempo submetidas ao processo UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (C <sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></sub> = 5,0 mmol L <sup>-1</sup> ). Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	60
<b>Figura 19.</b> Degradação de ivermectina por reagente de Fenton em diferentes concentrações de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e do íon Fe(II): (A) 0,25, (B) 0,5 e (C) 1,0 mmol L <sup>-1</sup> . Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	64
<b>Figura 20.</b> Degradação de ivermectina por Fenton em diferentes concentrações de Fe(II). H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : (A) 1,0 (B) 5,0 e (C) 10,0 mmol L <sup>-1</sup> . Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	66
<b>Figura 21.</b> Degradação de ivermectina por foto-Fenton em diferentes concentrações de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Fe(II): (A) 0,25, (B) 0,5 e (C) 1,0 mmol L <sup>-1</sup> . Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	68
<b>Figura 22.</b> Degradação de ivermectina por foto-Fenton em duplicata com médias e respectivos desvios padrões. Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ . Concentrações de Fe(II) de 0,5 mmol L <sup>-1</sup> e de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> de 10,0 mmol L <sup>-1</sup> .....	69
<b>Figura 23.</b> Degradação de ivermectina por foto-Fenton em diferentes concentrações de Fe(II). H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : (A) 1,0 (B) 5,0 e (C) 10,0 mmol L <sup>-1</sup> . Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	70
<b>Figura 24.</b> Espectro de absorvância das amostras tratadas por (A) reagente de Fenton e (B) foto-Fenton. Concentração inicial de IVM 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ . Concentrações iniciais de Fe(II) e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> de 0,5 e 5,0 mmol L <sup>-1</sup> , respectivamente.....	71

<b>Figura 25.</b> Degradação de ivermectina por fotocatalise em diferentes concentrações de $\text{TiO}_2$ . Concentração inicial de IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . pH = 4,5.....	73
<b>Figura 26.</b> Degradação de ivermectina por fotocatalise com $\text{TiO}_2$ ( $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e diferentes teores de $\text{H}_2\text{O}_2$ . Concentração inicial de IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$ e pH = 4,5.....	74
<b>Figura 27.</b> Degradação de ivermectina por fotocatalise com variação de pH. Concentração inicial de IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . Concentrações de (A) $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{TiO}_2$ ; (B) $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{TiO}_2$ e $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{H}_2\text{O}_2$ .....	75
<b>Figura 28.</b> Espectros de absorvância das amostras de ivermectina submetidas à fotocatalise. Concentração inicial de IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$ e de $\text{TiO}_2$ $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$ . pH 4,5 (A); $\text{H}_2\text{O}_2$ $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ , pH 4,5 (B); $\text{H}_2\text{O}_2$ $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ , pH de 7,0 (C).....	77
<b>Figura 29.</b> Degradação de ivermectina pelo processo eletroquímico. Influência da concentração de eletrólito suporte nas densidades de corrente elétrica de 13,6 (A), 27,3 (B) e $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ (C). Concentração inicial de IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	79
<b>Figura 30.</b> Degradação de ivermectina pelo processo eletroquímico: influência da densidade de corrente elétrica para concentrações de eletrólito suporte de $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ (A) e $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ (B). Concentração inicial de IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	80
<b>Figura 31.</b> Degradação de ivermectina pelo processo eletroquímico em duplicata com médias e respectivos desvios padrão ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_2\text{SO}_4$ ). Concentração inicial de IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	82
<b>Figura 32.</b> Degradação de ivermectina pelo processo fotoeletroquímico. Influência da concentração de eletrólito suporte nas densidades de corrente elétrica de 13,6 (A), 27,3 (B) e $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ (C). Concentração inicial de IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	83

**Figura 33.** Degradação de ivermectina pelo processo fotoeletroquímico: influência da densidade de corrente elétrica para concentrações de eletrólito suporte de 0,01 mmol L<sup>-1</sup> (A) e 0,10 mmol L<sup>-1</sup> (B). Concentração inicial de IVM 500 µg L<sup>-1</sup> .....84

**Figura 34.** Espectros de absorvância das amostras de ivermectina tratadas pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico. Concentração inicial de IVM 500 µg L<sup>-1</sup>. Concentrações de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de 0,10 mol L<sup>-1</sup>. Densidade de corrente elétrica de 13,6 mA cm<sup>-2</sup> em (A) eletroquímico e (D) fotoeletroquímico; 27,3 mA cm<sup>-2</sup> em (B) eletroquímico e (E) fotoeletroquímico; 40,9 mA cm<sup>-2</sup> em (C) eletroquímico e (F) fotoeletroquímico.....86

**Figura 35.** Degradação de ivermectina por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5,0 mmol L<sup>-1</sup>), UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5,0 mmol L<sup>-1</sup>), Fenton (Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1,0/5,0 mmol L<sup>-1</sup>), foto-Fenton (Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1,0/5,0 mmol L<sup>-1</sup>), fotocatalise (TiO<sub>2</sub> 0,12 mmol L<sup>-1</sup>), eletroquímico (40,9 mA cm<sup>-2</sup>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 mmol L<sup>-1</sup>) e fotoeletroquímico (40,9 mA cm<sup>-2</sup>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 mmol L<sup>-1</sup>). Concentração inicial de IVM 500 µg L<sup>-1</sup> .....87

## Lista de Tabelas

	<b>página</b>
<b>Tabela 1.</b> Potencial padrão de redução para algumas espécies oxidantes.....	17
<b>Tabela 2.</b> Doses de radiação fornecidas às soluções de ivermectina em cada intervalo de tempo de reação.....	34
<b>Tabela 3.</b> Doses de radiação fornecidas às soluções de ivermectina em cada intervalo de tempo de reação, nos ensaios eletroquímicos e fotoeletroquímicos.....	35
<b>Tabela 4.</b> Concentração das soluções utilizadas para obtenção da curva analítica para HPLC.....	36
<b>Tabela 5.</b> Concentrações de peróxido de hidrogênio e íon Fe(II) aplicadas aos ensaios de reagente de Fenton e foto-Fenton.....	43
<b>Tabela 6.</b> Concentrações de sulfato de potássio e valores de densidade de corrente elétrica aplicados nos ensaios eletroquímicos e fotoeletroquímicos.....	45
<b>Tabela 7.</b> Recuperação da ivermectina após SPE com os cartuchos C <sub>18</sub> (Varian) e OASIS HLB (Waters). Fator de concentração de 250 vezes.....	52

<b>Tabela 8.</b> Parâmetros de validação obtidos para a determinação de ivermectina em solução aquosa por HPLC-UV.....	53
<b>Tabela 9.</b> Recuperação da ivermectina após ensaio em branco.....	54
<b>Tabela 10.</b> Ensaio de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para soluções de ivermectina tratadas por UV e UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0,25 mmol L <sup>-1</sup> ).....	89
<b>Tabela 11.</b> Ensaio de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para soluções de ivermectina tratadas por reagente de Fenton e foto-Fenton.....	91
<b>Tabela 12.</b> Ensaio de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> para soluções de ivermectina tratadas por fotocatalise e fotocatalise com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	92

## Lista de Quadros

	<b>página</b>
<b>Quadro 1.</b> Parâmetros de conformidade do sistema para métodos cromatográficos de acordo com a U. S. Food and Drug Administration (US-FDA, 1994).....	28
<b>Quadro 2.</b> Condições analíticas do sistema de cromatografia líquida de alta eficiência.....	32
<b>Quadro 3.</b> Amostras de ivermectina obtidas em diferentes tempos de degradação.....	46
<b>Quadro 4.</b> Parâmetros de conformidade do sistema obtidos para o método de HPLC-UV.....	50

## Su0mário

Lista de Abreviaturas e Siglas .....	xxii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	7
3.1. Fármacos de usos veterinários no ambiente.....	8
3.2. Rota dos fármacos no ambiente .....	12
3.3. Ivermectina .....	14
3.4. Processos Oxidativos Avançados .....	16
3.4.1. Peroxidação assistida por luz UV (UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	18
3.4.2. Reagente de Fenton .....	18
3.4.3. Foto-Fenton .....	19
3.4.4. Fotocatálise com TiO <sub>2</sub> em suspensão.....	20
3.4.5. Eletroquímico e fotoeletroquímico.....	24
3.5. Toxicidade aguda.....	25
3.6. Métodos de determinação de ivermectina .....	26
3.7. Validação .....	27
3.8. Espectrometria UV-Visível.....	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1. Equipamentos.....	30
4.1.1. Extração em fase sólida (SPE) .....	30
4.1.2. Eficiência de extração usando SPE .....	31
4.1.3. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) .....	32

4.1.4. Espectrofotometria na região UV-Visível.....	33
4.1.5. Medida da intensidade e cálculo da dose de radiação.....	33
4.2. Reagentes e soluções .....	35
4.3. Validação do método analítico para HPLC .....	36
4.3.1. Construção da curva analítica .....	36
4.3.2. Linearidade e sensibilidade .....	36
4.3.3. Limite de detecção (LD) .....	37
4.3.4. Limite de quantificação (LQ).....	37
4.3.5. Precisão .....	37
4.3.6. Exatidão.....	37
4.4. Construção do reator .....	38
4.5. Ensaio em branco.....	40
4.6. Ensaio de degradação.....	41
4.6.1. Degradação da ivermectina em solução aquosa por peroxidação assistida por radiação ultravioleta (UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	42
4.6.2. Degradação da ivermectina em solução aquosa por reagente de Fenton e foto-Fenton .....	42
4.6.3. Degradação da ivermectina em solução aquosa por fotocatalise com TiO <sub>2</sub> em suspensão.....	44
4.6.4. Degradação da ivermectina em solução aquosa pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico .....	44
4.7. Determinação de peróxido de hidrogênio residual .....	45
4.8. Ensaio de toxicidade aguda .....	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	49
5.1. Conformidade do sistema cromatográfico .....	49
5.2. Extração em Fase Sólida.....	50
5.3. Validação .....	52
5.4. Ensaio em branco .....	54
5.5. Degradação de ivermectina por peroxidação.....	54
5.6. Degradação de ivermectina por fotólise .....	56
5.7. Degradação de ivermectina por UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	58

5.8. Degradação de ivermectina pelos processos de Fenton e foto-Fenton .....	61
5.8.1. Influência da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> no processo Fenton.....	64
5.8.2. Influência da concentração de Fe(II) no processo Fenton.....	65
5.8.3. Degradação de ivermectina em solução aquosa pelo processo foto-Fenton .....	67
5.8.4. Influência da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> no processo foto-Fenton .....	67
5.8.5. Influência da concentração de Fe(II) no processo foto-Fenton.....	69
5.8.6. Espectrometria UV-Visível .....	71
5.9. Degradação de ivermectina por fotocatalise com TiO <sub>2</sub> em suspensão .....	72
5.9.1. Influência da concentração de TiO <sub>2</sub> na fotocatalise .....	72
5.9.2. Influência da concentração de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	73
5.9.3. Influência do pH no processo de fotocatalise.....	75
5.9.4. Espectrometria de UV-visível .....	76
5.10. Degradação de ivermectina pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico .....	78
5.10.1 Influência da concentração de eletrólito suporte no processo eletroquímico.....	78
5.10.2. Influência da densidade da corrente elétrica no processo eletroquímico .....	80
5.10.3. Processo eletroquímico: ensaios realizados em duplicata.....	81
5.10.4. Influência da concentração de eletrólito suporte no processo fotoeletroquímico .82	
5.10.5. Influência da densidade da corrente elétrica no processo fotoeletroquímico.....	84
5.10.6. Espectrometria de UV-visível dos processos eletroquímico e fotoeletroquímico	85
5.11. Degradação de Ivermectina em solução aquosa: comparação entre os processos UV, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Fenton, foto-Fenton, fotocatalise, eletroquímico e fotoeletroquímico.....	87
5.12. Toxicidade aguda .....	88
6. CONCLUSÕES .....	93
REFERÊNCIAS .....	95

## **Lista de Abreviaturas e Siglas**

ABNT: Associação Brasileira de Normas Técnicas

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BC: banda de condução

BV: banda de valência

DAD: detector de arranjo de fotodiodos

DQO: demanda química de oxigênio

DSA®: ânodo dimensionalmente estável

EC<sub>50</sub>: concentração efetiva para causar dano a 50% da população de organismos expostos a um agente tóxico

ETA: estação de tratamento de água

ETE: estação de tratamento de esgoto

FEC: Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo

HPLC: cromatografia à líquido de alta eficiência (high performance liquid chromatography)

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IVM: ivermectina

LABPOX: Laboratório de Processos Oxidativos

LD: limite de detecção

LQ: limite de quantificação

MTBE: metil-terc-butil éter

ONU: Organização das Nações Unidas

pH: potencial hidrogeniônico

POA: processos oxidativos avançados

SPE: extração em fase sólida (solid phase extration)

US-FDA: U. S. Food and Drug Administration

UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: peroxidação assistida por radiação ultravioleta

UV: ultravioleta

## 1. INTRODUÇÃO

Os fármacos veterinários são amplamente utilizados na produção animal com efeitos tanto profiláticos, como terapêuticos, no controle de zoonoses. Na última década, o uso de produtos veterinários, e seus resíduos no ambiente, foram investigados por vários autores em águas superficiais (Sammartino *et al.*, 2008; Abellán *et al.*, 2007; Ternes *et al.*, 2003), solos (Stoob *et al.*, 2007; Christian *et al.*, 2003; Hamscher *et al.*, 2002) e sedimento (Lalumela *et al.*, 2004).

A presença de fármacos veterinários no ambiente tem preocupado a comunidade científica em países europeus (Jones *et al.*, 2004). Grande parte da dose administrada é excretada, sem ser metabolizada, diretamente no meio ambiente e seu consumo é elevado em todo o mundo, inclusive no Brasil, que apresenta população de gado de 206 milhões de cabeças, superior a de seres humanos (IBGE, 2011). Uma vez no ambiente, os fármacos e seus metabólitos podem se disseminar para águas superficiais e subterrâneas, solos e sedimentos, causando a contaminação de organismos e plantas e sendo acumulados via cadeia alimentar.

A presença de fármacos veterinários no ambiente tem preocupado a comunidade científica em países europeus (Jones *et al.*, 2004). A utilização dos fármacos é bastante elevada em diversos países do mundo, inclusive no Brasil, que apresenta população de gado de 206 milhões de cabeças, número este superior própria a população brasileira (IBGE, 2011). Grande parte da dose dos fármacos administrados é excretada diretamente no meio ambiente, sem ser metabolizada. Uma vez no ambiente, os fármacos e seus metabólitos podem se disseminar para águas superficiais e subterrâneas, solos e sedimentos, causando a contaminação de organismos e plantas, podendo também se acumular via cadeia alimentar.

A partir dos anos 1980, as avermectinas começaram a ser utilizadas como anti-helmínticos e, atualmente, é neste grupo que se encontram os principais fármacos usados para controlar endoparasitas e ectoparasitas em animais (Steel, 1993).

Pelos critérios estabelecidos pela Comunidade Européia, avermectinas são suspeitas de causar efeitos adversos no ambiente aquático, devido à alta toxicidade para alguns organismos (microcrustáceos e peixe), mesmo quando presentes em baixas concentrações como, por exemplo,  $0,25 \mu\text{g L}^{-1}$  (CE<sub>50</sub>-48h) para *Daphnia magna* e  $50,4 \mu\text{g L}^{-1}$  (CE<sub>50</sub>-96h) para Zebrafish (Tisler e Erzen, 2006). Hernando e colaboradores (2006) verificaram que as avermectinas apresentam efeitos negativos sobre a reprodução e a sobrevivência de organismos não-alvo em ecossistemas aquáticos e terrestres, que desempenham importante papel na cadeia alimentar como, por exemplo, as espécies envolvidas na decomposição das fezes.

Avermectinas são um grupo de lactonas macrocíclica produzidas por fermentação pela bactéria *Streptomyces avermitilis*, um actinomiceto que ocorre naturalmente no solo. Elas apresentam atividades inseticida, acaricida e anti-helmíntica, e são amplamente utilizadas em bovinos, suínos, equinos e ovinos para o tratamento de um amplo espectro de doenças parasitárias (Seelanan *et al.*, 2006; Iglesias *et al.*, 2006; Kitzman *et al.*, 2006). A ivermectina (22,23-di-hidroavermectina B1), fármaco veterinário da família das avermectinas, é uma lactona macrocíclica semi-sintética, que é uma mistura de duas moléculas homólogas, sendo superior a 80% de 22,23-di-hidroavermectina B1a e inferior a 20% de 22,23-dihidroavermectina B1b. Os dois homólogos diferem por um grupo lateral metil ou etil. Este fármaco tem uma baixa solubilidade em água e é eficaz em baixas doses. Nos seres humanos, a sua principal aplicação é no controle da filaríase (Kitzman *et al.*, 2006). Devido à sua natureza lipofílica, a ivermectina acumula-se principalmente nos tecidos adiposos, fígado, e, em menor grau, no cérebro. Após a administração, quantidades significativas do fármaco inalterado, e/ou de seus metabólitos, são excretadas diretamente no ambiente, e os seus destinos principais são as águas superficiais e o solo. De acordo com Tisler e Erzen (2006), na maioria dos casos, até 98% de avermectinas aplicadas no gado são excretados nas fezes como moléculas inalteradas, ou como metabólitos ativos. Estas substâncias ligam-se fortemente às fezes e podem persistir no solo durante um longo período de tempo. O deflúvio da água das chuvas em pastagens é um dos principais meios de transporte de resíduos de fármacos veterinários em cursos d'água. Dessa forma, os fármacos

veterinários podem ser considerados poluentes de fontes difusas e suas concentrações nos corpos d'água podem variar de acordo com as chuvas, afetando os ecossistemas e a saúde humana (Kim *et al.*, 2008), uma vez que muitos medicamentos podem resistir ao tratamento convencional de água.

Vários estudos (Celestina *et al.*, 2010; Jiang *et al.*, 2008; Iglesias *et al.*, 2006; Davies *et al.*, 1998) foram realizados para compreender o comportamento da ivermectina no meio ambiente. Métodos analíticos foram desenvolvidos para sua determinação em várias matrizes ambientais e em formulações farmacêuticas, entretanto não foram encontradas na literatura científica investigações relacionadas com a sua degradação.

Avermectinas, incluindo a ivermectina, geralmente não são degradadas, ou facilmente removidas da água por sistemas convencionais de tratamento, fato que limita as opções de remoção. No entanto, tratamentos que utilizam processos oxidativos avançados (POA) têm sido relatados como um possível método para degradar, ou reduzir a concentração de fármacos veterinários na água (da Silva *et al.*, 2011; Palominos *et al.*, 2008). Os POA são tecnologias eficientes na degradação, ou redução da concentração de substâncias tóxicas e de compostos orgânicos recalcitrantes, geralmente em baixas concentrações (Klamerth *et al.*, 2010). Estes processos são caracterizados pela geração do radical hidroxila ( $\bullet\text{OH}$ ), que apresenta elevada reatividade e baixa seletividade, sendo capaz de reagir com a maioria das moléculas orgânicas e inorgânicas. É importante ressaltar que, mesmo quando sistemas de degradação atingem a meta de reduzir a concentração de produtos químicos, subprodutos tóxicos podem ser gerados. Portanto, ensaios de toxicidade com organismos padrão devem ser realizados para avaliar a possível toxicidade dos subprodutos formados durante os processos de degradação.



## 2. OBJETIVOS

O objetivo principal desta pesquisa consistiu em avaliar a degradação da ivermectina em solução aquosa pelo processo oxidativo peroxidação, pelo processo físico fotólise e pelos processos oxidativos avançados peroxidação assistida por radiação ultravioleta, reagente de Fenton, foto-Fenton, fotocátalise com  $\text{TiO}_2$  em suspensão, eletroquímico e fotoeletroquímico. Dentre os objetivos a serem atingidos especificamente, incluem-se:

- Desenvolvimento e validação da metodologia analítica para determinação da ivermectina em solução aquosa durante o processo de degradação utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência;
- Avaliação das influências do tempo de reação e das concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Fe(II)}$  e  $\text{TiO}_2$ , nos processos UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ , Fenton e foto-Fenton, e fotocátalise, respectivamente.
- Avaliação das influências da intensidade da corrente elétrica e da concentração de eletrólito suporte nos processos eletroquímico e fotoeletroquímico;
- Avaliação da redução da toxicidade das soluções submetidas aos processos de degradação utilizando o microcústáceo *Daphnia similis* como organismo-teste.



### **3. REVISÃO DA LITERATURA**

O uso da natureza pelo homem não é atividade recente, ele acompanha a própria história humana. Desde a pré-história, o homem desenvolve ferramentas para trabalhar a natureza em seu benefício. No entanto, foi no período da Revolução Industrial que esta atividade começou a ganhar proporções nunca antes imaginadas. A criação de máquinas e o próprio desenvolvimento de conglomerados urbanos, nos séculos XIX e XX, provocaram não apenas uma mudança da paisagem, como também uma transformação do meio ambiente (Thomas, 2010).

Devido ao intenso manejo e exploração da natureza, principalmente a partir do final da II Guerra Mundial, o impacto causado pelo homem sobre o meio ambiente se estendeu a áreas ainda maiores, atingindo, em alguns casos, proporções mundiais. Estas transformações ambientais, causadas pela ação humana, não passaram despercebidas; no entanto, foi somente entre 1960 e 1970 que uma preocupação a respeito desta questão começou a se manifestar de maneira mais contundente. O termo ecologia passou a ter cada vez mais importância econômica, social e política, e saberes específicos ligados a questões ecológicas foram criados e incentivados (McCormick, 1992).

É neste contexto histórico que se insere a obra *Primavera Silenciosa*, publicada em 1962 pela bióloga norte-americana Rachel Carson, e que provocou um abalo significativo, tanto na sociedade científica da época, quanto na população em geral. A obra sintetizou, em linguagem acessível a todos, o conhecimento científico que era produzido de forma segmentada pelas várias especialidades acadêmicas. A influência desta publicação foi de tamanha ordem que forçou o governo dos Estados Unidos a proibir o uso do DDT em 1972. O impacto desta obra pode ser também percebido pela fundação da Agência de Proteção Ambiental, em 1970, e pela aprovação da Lei das Espécies Ameaçadas pelo Congresso dos EUA, em 1973. Em termos mundiais, a

preocupação com o meio ambiente resultou na Conferência de Estocolmo, promovida pela ONU em 1972 e, em prosseguimento a esta, a RIO 92, em 1992.

Em sua obra, Rachel Carson defendeu a utilização prudente dos recursos naturais e seu manejo responsável, baseados na ciência e no conhecimento ambiental. O objetivo do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa é que ele cumpra, ao menos em parte, as expectativas suscitadas pela referida obra, cinquenta anos atrás.

### **3.1. Fármacos de usos veterinários no ambiente**

Medicamentos destinados a usos veterinários são amplamente utilizados na pecuária, principalmente para o controle de zoonoses. O destino final desses fármacos e de seus possíveis metabólitos no meio ambiente tem sido objeto de diversos estudos e é a partir da década de 2000 que a literatura científica internacional sobre a contaminação ambiental por fármacos veterinários começou a ganhar maior aporte.

Em um trabalho pioneiro realizado entre abril de 2000 e maio de 2001, Hamscher e colaboradores (2002) investigaram a distribuição e persistência no ambiente de dois fármacos veterinários bastante utilizados como antibióticos, a tilosina e a tetraciclina. O estudo foi realizado em um campo agrícola que recebeu, como adubo, esterco líquido proveniente de uma fazenda de porcos de engorda, em uma área da Alemanha que apresentava atividade de pecuária intensiva. A região escolhida pelos pesquisadores apresentava propriedades do solo e uso da terra bem documentados, pois fazia parte de um projeto de monitoramento da Baixa Saxônia, segundo maior estado da Alemanha, cujos dois terços de sua superfície são destinados à agricultura. Amostras de esterco líquido foram coletadas nos meses de abril de 2000 e 2001, época na qual o campo foi fertilizado. Amostras de solo foram coletadas nos meses seguintes às fertilizações do campo com o esterco líquido, e também em novembro. Amostras de água subterrânea também foram analisadas.

Os valores de concentração de tetraciclina e clortetraciclina encontrados no esterco líquido foram semelhantes nas duas amostragens realizadas (abril de 2000 e 2001): 4,0 e 0,1 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Os maiores valores de tetraciclina (198,7 µg kg<sup>-1</sup> na profundidade

de 10 a 20 cm) e clortetraciclina (entre 4,6 e 7,3  $\mu\text{g kg}^{-1}$  na profundidade de 0 a 30 cm) foram encontrados nas amostras de solo de maio de 2001, ou seja, na última amostragem do solo. As tetraciclina não foram detectadas na superfície, em profundidades de 30 a 90 cm do solo e na água subterrânea. Também não foram detectadas oxitetraciclina e tilosina em nenhuma das amostras avaliadas.

Os resultados obtidos levaram os autores a concluir que as tetraciclina entram no ambiente em concentrações significativas a partir de repetidas fertilizações com estrume líquido e, a partir de então, desenvolvem resíduos persistentes e se acumulam no solo representando, dessa forma, um risco potencial ao ambiente (Hamscher *et al.*, 2002).

Em um estudo mais recente, realizado na Itália, Lalumera e colaboradores (2004) investigaram a ocorrência dos antibióticos flumequina e oxitetraciclina na aquicultura, com a finalidade de identificar produtos químicos potencialmente tóxicos. Esta pesquisa fazia parte de um programa italiano mais amplo, que pretendia monitorar os possíveis impactos ambientais resultantes da utilização de fármacos veterinários. Foram analisadas amostras de sedimentos de tanques de criação de trutas e de robalos, nas regiões norte, leste e central do país. Os valores máximos, em peso seco, dos fármacos foram encontrados dentro dos tanques de criação: 246,3  $\mu\text{g/kg}$  de oxitetraciclina, na região norte, e 578,8  $\mu\text{g/kg}$  de flumequina, na região leste. Os autores demonstraram que ambos os fármacos são produtos químicos prioritários para o programa de monitoramento de possíveis efeitos ambientais adversos na aquicultura na Itália.

Celestina e colaboradores (2010) avaliaram diversos fatores que influenciam a dissipação de avermectinas (abamectina e doramectina) em fezes de ovinos tratados com os fármacos, em condições de laboratório e de campo, com o objetivo de prevenir uma extensa exposição dessas substâncias no meio ambiente. Segundo o estudo, os fatores que demonstraram influência neste processo, sob as condições experimentais estudadas, são tanto a maneira como as fezes são expostas, quanto sua forma e características físicas. No entanto, os autores ressaltam que atualmente ainda persistem algumas lacunas a respeito dos mecanismos precisos dessa entrada de fármacos no ambiente. Seriam necessárias pesquisas que explicassem, por exemplo, a formação de produtos de degradação e a contribuição de fatores individuais sobre a dissipação das avermectinas no ambiente.

Técnicas analíticas mais apropriadas, como LC-MS-MS, poderiam ser usadas como importante ferramenta para a identificação dos produtos de degradação, fornecendo maiores detalhes que ajudassem a elucidar o quão tóxico podem ser os fármacos ao entrar no meio ambiente.

Os estudos de saneamento ambiental sobre contaminação por fármacos veterinários abordam as especificidades dos diversos compartimentos ambientais, como solo, sedimento e águas, superficial e subterrânea. Os pesquisadores franceses, Dinh e colaboradores (2011), analisaram, por exemplo, amostras de água de três rios na bacia do Sena. As amostras foram coletadas em dezembro de 2009, nos afluentes Prédecelle e Charmoise, e no próprio rio Sena, nas proximidades de Paris. A escolha da localidade das amostragens se baseou no fato de que essa bacia está situada em uma região com alta densidade populacional na conurbação de Paris, sendo o rio Sena um corpo receptor de grandes quantidades de efluentes domésticos. Foram detectadas tilosina em baixas concentrações, aproximadamente  $3,0 \text{ ng L}^{-1}$ , no rio Sena, e sulfametoxazol nos três rios pesquisados. Concluiu-se que a contaminação do Sena tinha relação com as atividades agropecuárias estabelecidas em seu entorno. Quanto à presença do segundo antibiótico, que foi encontrado em maior concentração no rio Charmoise,  $1.435 \text{ ng L}^{-1}$ , atribuiu-se à existência de escoamento dos campos agrícolas fertilizados com lodo de esgoto.

Se por um lado a aplicação de fármacos é necessária para garantir a criação de animais para consumo humano em larga escala, como suínos, ovinos, peixes e bovinos, por outro, seu uso intensivo pode acarretar no desenvolvimento de espécies de micro-organismos resistentes. No Brasil, um estudo realizado por Lopes e colaboradores (2009) avaliou a eficácia do anti-helmíntico organofosforado triclorfom contra cepas de nematóides naturalmente resistentes à ivermectina. Foram utilizados no estudo, bezerros infectados provenientes de duas propriedades rurais localizadas em diferentes regiões do estado de Minas Gerais. A aplicação do triclorfom apresentou bons resultados quanto à eficácia do fármaco contra vários nematóides parasitas de bovinos resistentes à ivermectina. Entretanto, no ano seguinte à publicação desse estudo, a ANVISA (2010) proibiu, por meio da Resolução RDC nº 37/2010, a utilização do triclorfom no Brasil, assim como sua importação, considerando que o fármaco:

apresenta características genotóxicas, imunotóxicas, teratogênicas, neurotóxicas, provocando hipoplasia cerebelar, provoca efeitos adversos sobre a reprodução e o sistema hormonal (desregulação endócrina), assim como o fato de ser um agrotóxico com potencial de provocar danos neurológicos maiores para os seres humanos do que para os animais, como demonstrado pela neuropatia retardada.

Segundo Relatório de Atividades 2010 (ANVISA, 2011), o uso do triclorfom também foi proibido pela Comunidade Européia. A discussão quanto à utilização de fármacos veterinários na criação de animais para consumo humano vem crescendo no meio científico, tanto nacional, quanto internacional, pois diversas hipóteses foram levantadas, e muitas delas confirmadas, de que as substâncias utilizadas para prevenção, controle ou erradicação de zoonoses, assim como seus metabólitos, podem ser encontradas em alimentos como a carne e o leite.

No Brasil, o Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos, implementado em 2001 pelo Ministério da Saúde (ANVISA, 2001), tem o leite como principal objeto de pesquisa. A intenção de programas como esse é a de unir e incentivar a comunidade científica em torno de questões ligadas aos riscos existentes para o meio ambiente e para a saúde humana na aplicação de fármacos em animais destinados ao consumo. Tais programas têm também uma motivação econômica, uma vez que o Brasil possui o segundo maior rebanho de gado do mundo, 209,5 milhões de cabeças (Ministério da Agricultura, 2012) e exporta grande parte desta produção para países europeus nos quais há uma rígida legislação referente à produção e aprovisionamento alimentar (Regulamento CE n. 178, 2002).

O Brasil ainda se destaca na produção de aves, na qual é o terceiro produtor mundial, e lidera a exportação. Na suinocultura, o país encontra-se em quarto lugar na classificação mundial de produção e exportação de carne suína, e a criação de caprinos, com rebanho estimado em 14 milhões de animais, o situa em décimo oitavo lugar na classificação mundial de exportações. Somadas a produção de carnes bovina, suína e de aves, estimada em 24,5 milhões de toneladas, 75% foi consumida no mercado interno brasileiro em 2010, e 25% no externo (Ministério da Agricultura, 2012).

O sistema extensivo de produção, principal meio adotado no Brasil, se caracteriza pelo baixo investimento e apresenta consequências como a degradação do solo, devido à falta de

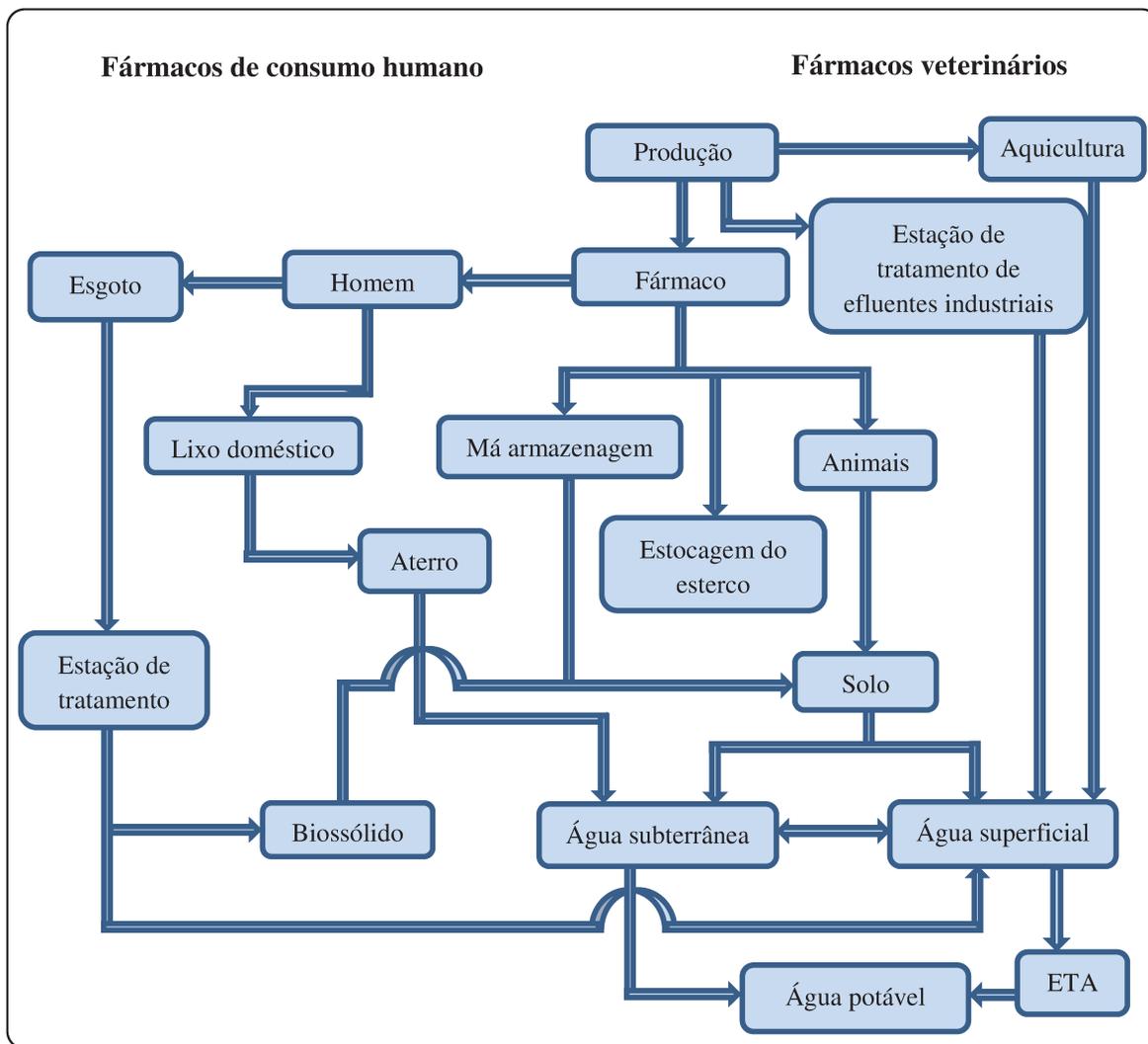
investimento na manutenção das pastagens, e a poluição dos recursos hídricos, provocada pela entrada de nutrientes contidos no esterco (nitrogênio, fósforo, potássio), hormônios e antimicrobianos. Por outro lado, o desenvolvimento da pecuária intensiva, caracterizada pelo elevado investimento e confinamento dos animais, resultando em aumento na produtividade, origina uma grande concentração de resíduos cujo destino final torna-se uma questão importante na gestão dos resíduos pecuários (Pereira, 2005).

### **3.2. Rota dos fármacos no ambiente**

Fármacos, de um modo geral, são produzidos com características de estabilidade suficientes para atingir o objetivo terapêutico ao qual são propostos, ou seja, são desenvolvidos para serem persistentes. Metabólitos dos fármacos administrados em humanos e parte significativa não metabolizada são excretados no esgoto doméstico e resistem aos processos convencionais de tratamento de água (Stumpf *et al.*, 1999). As principais rotas de entrada de fármacos humanos e veterinários no meio ambiente são apresentadas na Figura 1.

Corpos d'água podem também ser contaminados por condições inadequadas de armazenagem e destinação de produtos não utilizados, ou com prazo de validade expirado, assim como tratamentos administrados na aquicultura (Pereira *et al.*, 2012).

Os fármacos administrados em animais também têm uma parte significativa excretada pelas fezes, cujo esterco, usado como fertilizante sem cuidado prévio, constitui uma via de contaminação de águas subterrâneas e dos solos, onde pode provocar a bioacumulação por meio de plantas e micro-organismos. O mesmo pode ocorrer com a aplicação na agricultura de lodo proveniente de ETE. Outra rota de entrada de fármacos no ambiente aquático é a disposição de resíduos de indústrias farmacêuticas em aterros sanitários, que podem contaminar a água subterrânea no entorno do aterro (Bila e Dezotti, 2003).



**Figura 1.** Principais rotas de contaminação do ambiente por fármacos de uso humano e veterinário (adaptado de Pereira *et al.*, 2012).

Quando não introduzidos diretamente no ambiente aquático, os fármacos podem alcançar esse compartimento por meio da lixiviação do solo, disseminando o princípio ativo e seus metabólitos a partir da aplicação de biossólidos oriundos de tratamento de esgoto sanitário. Mesmo quando um fármaco apresenta alta capacidade de sorção no solo, ele pode ser encontrado em ambientes aquáticos, ainda que em menores concentrações.

Atualmente, alguns motivos que levam preocupação à sociedade científica mundial são: o elevado potencial de disseminação de contaminantes entre os vários compartimentos ambientais, a ausência de estudos detalhados sobre o comportamento dos fármacos no meio

ambiente e a carência de dados quantitativos a respeito da extensão e do impacto da contaminação provocados por tais substâncias que, por sua vez, é resultado da carência de métodos de determinação adequados às diversas matrizes ambientais.

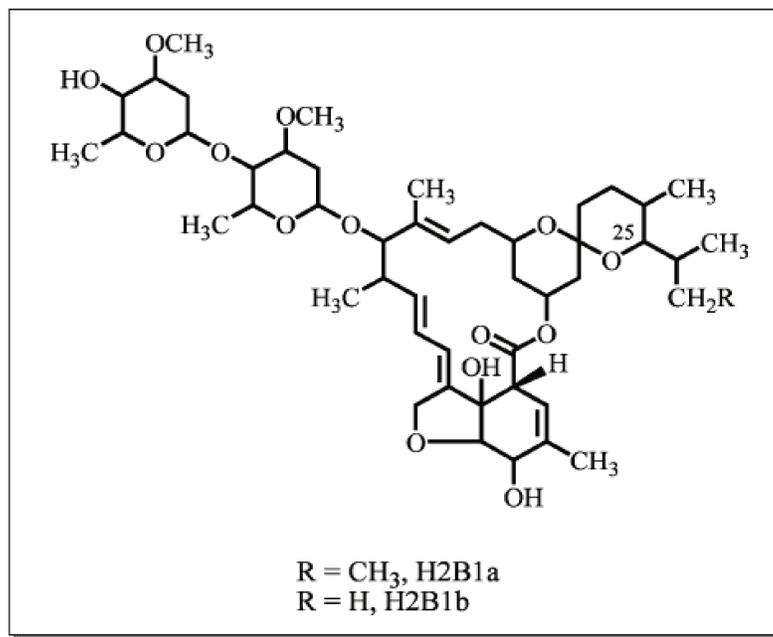
### 3.3. Ivermectina

A ivermectina é uma lactona macrocíclica, pertencente à família das avermectinas, originalmente isolada em 1975 como produto de fermentação da bactéria *Streptomyces avermitilis*, pertencente ao filo actinomiceto (Omura, 2008; Krogh *et al.*, 2009; Molinari *et al.*, 2009). Ela é composta por uma mistura de duas moléculas ativas, denominadas H2B1a,  $\geq 80\%$ , e H2B1b,  $\leq 20\%$ , (Hou *et al.*, 2007), que diferem estruturalmente pela natureza do radical ligado ao carbono 25: 1-metilpropil e 2-propil, respectivamente, representadas na Figura 2. A avermectina B1 (abamectina, precursora da ivermectina) é a mais importante das avermectinas produzidas naturalmente. Nessa produção ocorrem duas moléculas homólogas, a B1a, que é produzida em muito maior quantidade, e a B1b. A ivermectina é, então, produzida pela saturação de uma dupla ligação na posição C22-23 (Danaher *et al.*, 2006).

A ivermectina, introduzida no mercado em 1981 pela Merck, foi o primeiro fármaco antiparasitário de largo espectro, ativo contra endo e ectoparasitas, e é, atualmente, o mais empregado em todo o mundo. A substância possui característica lipofílica (solubilidade em água de  $4,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), que garante sua elevada eficácia em baixas doses, em torno de  $15 \text{ mg kg}^{-1}$ , e seu uso é destinado ao tratamento de infecções por artrópodes e nematóides, aplicado a diversos animais como gatos, cães, equinos, bovinos, carneiros e suínos (Iglesias *et al.*, 2006; Kitzman *et al.*, 2006). Em humanos, sua principal aplicação é no controle da filaríase (Kitzman *et al.*, 2006). Sua ação se dá no sistema nervoso central e na função muscular, porém seu mecanismo de ação não afeta o sistema nervoso central de mamíferos, por não ser capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica (Geary, 2005; Canga *et al.*, 2009; Chittrakarn *et al.*, 2009).

Devido a sua natureza lipofílica, a ivermectina se acumula principalmente no tecido adiposo, no fígado, e, em menor quantidade, no tecido cerebral. Embora seja rara a toxicidade em vertebrados, ela pode causar midríase, ataxia, depressão e morte (Canga *et al.*, 2009). Após sua administração, cerca de 90% do fármaco pode ser excretado pelo organismo, sem ser

metabolizado, nas fezes, e uma pequena parte no leite e na urina, provocando mudanças nos organismos invertebrados que participam da degradação fecal (Jiang *et al.*, 2008; Iglesias *et al.*, 2006).



**Figura 2.** Estrutura molecular da ivermectina (avermectina H2B1a e avermectina H2B1b).

A concentração de fármacos nas fezes e no solo é considerada um importante indicador de impacto ecológico (Jiang *et al.*, 2008). Iglesias e colaboradores (2006) avaliaram o impacto da ivermectina aplicada ao gado na colonização e degradação das fezes por 60 dias e observaram que os níveis de ivermectina permanecem elevados quando comparados a outros dados documentados de ecotoxicidade. Os autores concluíram que a ivermectina presente nas fezes reduz a abundância e a diversidade da fauna presente no estrume, além de atrasar a degradação de compostos orgânicos, podendo interferir no reciclo dos nutrientes do solo.

Krogh e colaboradores (2009) investigaram a transformação da ivermectina em condições aeróbias e anaeróbias, sua dissipação em solos de três localidades da Europa (York, Madrid e Tåstrup) e em um solo artificial utilizado como controle. Os autores verificaram uma dissipação relativamente lenta da ivermectina nos solos mesmo sob condições aeróbias, e

observaram que as propriedades do solo, como pH, capacidade de troca catiônica e temperatura, apresentam uma importante influência.

Loffler e colaboradores (2005) obtiveram resultados semelhantes aos obtidos por Krogh e colaboradores (2009) sobre a persistência da ivermectina ao analisarem amostras de sedimentos fortificados com o fármaco, observando um rápido transporte da substância da água para o sedimento e apresentando, neste compartimento, uma persistência moderada nas amostras analisadas, verificando o acúmulo da ivermectina neste compartimento. Opper e colaboradores (2004) avaliaram a mobilidade da ivermectina no solo e seu potencial de contaminação de água subterrânea e também observaram uma baixa mobilidade da ivermectina neste compartimento. Sanderson e colaboradores (2007) também demonstraram que a ivermectina é persistente no sedimento e altamente impactante para os micro-organismos nele existentes.

### **3.4. Processos Oxidativos Avançados**

O constante interesse da comunidade em geral e científica na busca por soluções eficientes e economicamente viáveis no que diz respeito ao tratamento dos resíduos orgânicos tóxicos e recalcitrantes tem despertado grande interesse pelo estudo dos processos oxidativos avançados (POA), os quais estão associados à geração do radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ). Esses processos caracterizam-se, entre outros fatores, por apresentarem elevada velocidade de reação, podendo subsidiar ou substituir processos convencionais que não satisfaçam às exigências de limites de tempo. Trata-se de tecnologias eficientes na degradação de compostos orgânicos, sendo frequentemente empregados no tratamento de substâncias orgânicas de difícil degradação e muitas vezes em baixas concentrações.

Os processos oxidativos avançados se constituem na geração do radical hidroxila a partir de diferentes meios reacionais. O radical hidroxila apresenta reatividade extremamente elevada e baixa seletividade, reagindo com a maior parte das moléculas orgânicas e inorgânicas e que resultam, após diversas reações intermediárias, em  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  e sais inorgânicos (Legrini *et al.*, 1993).

Os radicais hidroxila apresentam elevado potencial padrão de redução (2,8 V), menor apenas que o do flúor, como demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Potencial padrão de redução para algumas espécies oxidantes.

Espécie	Potencial Padrão de Redução (V)
Flúor	3,03
Radical hidroxila	2,80
Oxigênio atômico	2,42
Ozônio	2,07
Peróxido de hidrogênio	1,78
Permanganato	1,68
Dióxido de cloro	1,57
Cloro	1,36
Iodo	0,54

Fonte: Domènech *et al.* (2001)

A constante de velocidade de reação do radical hidroxila na degradação de contaminantes orgânicos, geralmente, está na faixa de  $10^6$  a  $10^9$  mol<sup>-1</sup> L s<sup>-1</sup> (Andreozzi *et al.*, 1999) e os mecanismos que envolvem essas reações, são a adição eletrofílica (Equação 1), a abstração do hidrogênio (Equação 2) e a transferência de elétrons (Equação 3):

♦ adição eletrofílica: que ocorre quando o substrato é um composto orgânico com duplas ligações carbono-carbono (alcenos) ou anéis aromáticos:



♦ abstração do hidrogênio: que ocorre quando o substrato é um composto orgânico saturado (ligação simples carbono-carbono), como alcanos e álcoois:



♦ transferência de elétrons: que ocorre quando o substrato é um íon inorgânico e esta reação é denominada Reagente de Fenton:



De acordo com Teixeira e Jardim (2004), os processos oxidativos avançados apresentam uma série de vantagens, dentre as quais podem ser citadas a mineralização do poluente e não somente a transferência de fase; a transformação de compostos refratários em compostos biodegradáveis; podem ser associados a outros processos, tanto no pré como no pós-tratamento.

### 3.4.1. Peroxidação assistida por luz UV (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

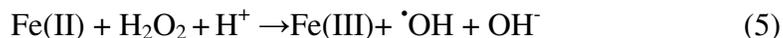
A peroxidação assistida por luz ultravioleta é o POA mais comum e baseia-se na divisão da molécula de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pela radiação UV produzindo dois radicais hidroxila, segundo a Equação 4, que, por sua vez, reagem rapidamente com vários tipos de compostos.



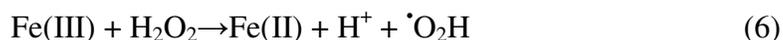
### 3.4.2. Reagente de Fenton

O processo oxidativo avançado denominado reagente de Fenton trata-se da geração de radicais hidroxila a partir da reação entre o peróxido de hidrogênio e o íon Fe(II) em meio ácido, pH < 3,0 (Soares, 2008; Dezotti, 2008). A aplicação deste reagente é normalmente destinada à efluentes que apresentam valores de DQO (Demanda Química de Oxigênio) na faixa de 1 a 100 g L<sup>-1</sup> e baixa biodegradabilidade (Suty *et al.*, 2004). Um inconveniente desse processo é a geração de lodo devido à floculação causada por mecanismos de coagulação química (Domènech *et al.*, 2001).

O clássico mecanismo de Fenton prevê que o peróxido de hidrogênio é reduzido pelo íon metálico com a geração do radical hidroxila livre, conforme Equação 5:



Segundo Adreozzi e colaboradores (1999), o controle do pH entre o intervalo de 2,7 a 2,8 pode aumentar consideravelmente a taxa da reação, pois pode resultar na redução do Fe(III) a Fe(II), Equação 6:



Uma vez gerado, o radical hidroxila pode ser também consumido por meio de reações com espécies de ocorrência natural presentes na matriz, como, por exemplo, sais inorgânicos, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos e colóides orgânicos (podem complexar com íons ferro ou competir com o poluente, na reação com o peróxido). Devido à alta concentração destes compostos em matrizes como solo e águas naturais, apenas uma pequena fração do radical formado efetivamente reage com o poluente. Estes fenômenos são as principais limitações deste reagente e resultam em um aumento do consumo de peróxido de hidrogênio (Pignatello, 1993).

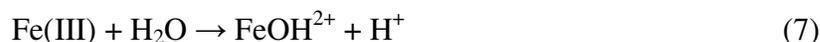
A reação de Fenton destaca-se pela sua capacidade de gerar o radical hidroxila na ausência de luz, o que representa uma grande vantagem em relação aos outros processos oxidativos que utilizam radiação ultravioleta. Além disso, ela também pode ser usada apenas para aumentar a biodegradabilidade do contaminante, visando posterior tratamento biológico (Teixeira e Jardim, 2004).

Os fatores que influenciam a reação de Fenton são: a dosagem dos reagentes  $\text{H}_2\text{O}_2$  e Fe(II), método de dosagem, tempo de reação, pH inicial e a razão molar  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$  (Lee e Shoda, 2008).

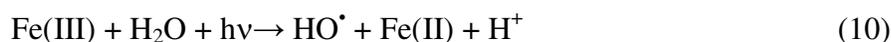
### **3.4.3. Foto-Fenton**

O aumento na mineralização das substâncias orgânicas pelo processo Fenton pode ser observado com a combinação das reações Fe(III)/Fe(II)/ $\text{H}_2\text{O}_2$  com UV/Visível, processo conhecido como foto-Fenton (Dezotti, 2008). A aplicação da radiação ultravioleta favorece a regeneração do Fe(II) somada à produção de novo radical hidroxila, seguindo o processo de fotorredução apresentados nas Equações 7 e 8 (Papic *et al.*, 2009). Tal regeneração pode explicar

o aumento da mineralização, devido aumento da geração do radical hidroxila no meio e o ciclo do Fe(II)/Fe(III)/Fe(II).



No processo UV/Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, o radical hidroxila pode ainda ser formado segundo as Equações 9 e 10:



Perez e colaboradores (2002) acrescentam que com a adição de radiação UV, a concentração de Fe(II) necessária pode ser menor do que a empregada em um processo convencional de Fenton devido ao aproveitamento dos radicais hidroxila gerados diretamente pela fotólise do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. O método é por consequência mais eficaz, tendo a desvantagem de que em alguns casos é necessária a adição contínua de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e a manutenção das condições ácidas do sistema.

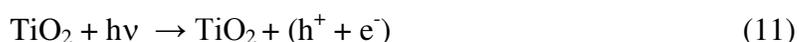
#### 3.4.4. Fotocatálise com TiO<sub>2</sub> em suspensão

A fotocatálise, assim como outros processos oxidativos avançados, pode ser utilizada como alternativa aos processos biológicos na degradação de poluentes tóxicos ou recalcitrantes (Abellán *et al.*, 2007).

Na fotocatálise, é utilizado um semicondutor ativado por radiação UV (luz solar ou artificial) em processos de oxido-redução para a produção de radicais hidroxila. Diversos são os semicondutores capazes de gerar •OH, porém o TiO<sub>2</sub> (dióxido de titânio) se mostra o mais ativo, além de apresentar baixo custo, ser insolúvel sob a maioria das condições, atóxico, apresentar fotoestabilidade e estabilidade química em uma ampla faixa de pH (Nogueira e Jardim, 1998).

Dentre as duas formas cristalinas mais comuns do dióxido de titânio, rutilo e anatásio, esta última apresenta atividade para fotodegradação de compostos orgânicos superior a do rutilo devido à formação de peróxidos estáveis em sua superfície durante reações de foto-oxidação, que estão ausentes na superfície do rutilo (Augustynsk, 1993).

A ativação do semicondutor pela radiação acarreta na passagem de um elétron da banda de valência para a banda de condução. Este estado eletronicamente excitado resulta na formação de um par elétron-lacuna ( $e^-$ ,  $h^+$ ), segundo a Equação 11 (Melo *et al.*, 2009).

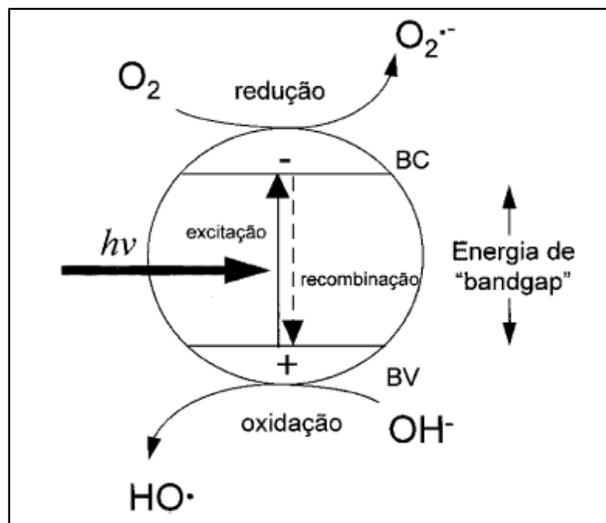


Nesse estado, os elétrons possuem o poder de redução da banda de condução e a lacuna possui o poder de oxidação da banda de valência. Se o par elétron-lacuna não se recombinar, pode reagir com espécies adsorvidas na superfície do catalisador (Linsebigler *et al.*, 1995). Na Figura 3, são apresentados os princípios da fotocatalise de forma esquemática.

A partir daí, o radical hidroxila, principal responsável pela oxidação das substâncias orgânicas no processo de tratamento, pode ser gerado segundo dois mecanismos diferentes.

A lacuna da banda de valência gerada apresenta caráter oxidante, capaz de gerar radicais hidroxila por meio da oxidação de moléculas de água adsorvidas na superfície do semicondutor, segundo a Equação 12 (Melo *et al.*, 2009).



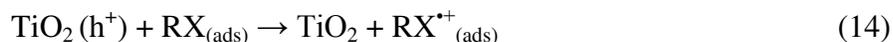


**Figura 3.** Representação esquemática da fotocatalise. (BV: banda de valência, BC: banda de condução, (-) : elétron foto gerado, (+): lacuna foto gerada) (Nogueira e Jardim, 1998).

A geração do radical hidroxila pode também ocorrer através da reação com a água dissociada adsorvida na superfície do semicondutor, ou seja, com os grupos  $\text{OH}^-$  ligados à superfície do  $\text{TiO}_2$ , segundo a Equação 13 (Dezotti, 2008):

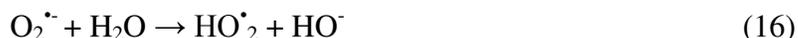


Há ainda um mecanismo no qual a lacuna da banda de valência é capaz de oxidar moléculas orgânicas diretamente, segundo a Equação 14 (Melo *et al.*, 2009). Porém, a elevada concentração de moléculas de água na superfície do condutor resulta no predomínio dos mecanismos indiretos de oxidação dos contaminantes, ou seja, aqueles que promovem a geração do radical hidroxila.



Na fotocatalise, o oxigênio dissolvido apresenta um importante papel na manutenção do par elétron-lacuna, pois funciona como receptor de elétrons na banda de condução, resultando na geração de radicais superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) (Equação 15) que, por sua vez, geram  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Equações 16 e 17), impedindo a recombinação do par elétron-lacuna, representada pela Equação 18 (Legrini *et*

*al.*, 1993). Essa recombinação ocorre em nanosegundos e pode acontecer tanto na superfície, como no interior da estrutura do TiO<sub>2</sub> (Valente *et al.*, 2005).



Assim como o oxigênio dissolvido, o peróxido de hidrogênio também impede a recombinação do par elétron-lacuna atuando como receptor de elétrons na banda de condução com a vantagem de gerar radicais hidroxila adicionais, além de evitar o arraste de compostos voláteis (Legrini *et al.*, 1993).

A possibilidade de substituição das fontes artificiais de irradiação do semicondutor pela luz solar têm sido demonstrada, porém com eficiência de degradação de compostos orgânicos inferior às fontes artificiais. Isto ocorre porque o TiO<sub>2</sub> é fotoativo na região do UV abaixo de 400 nm, que corresponde a apenas 5% do espectro solar (Linsebigler *et al.*, 1995). Uma alternativa para elevar a eficiência da fotocatalise com luz solar é a adição de metais, óxidos, e até mesmo outros semicondutores ao TiO<sub>2</sub> com o intuito de modificar suas propriedades superficiais (Valente *et al.*, 2005).

Khan e colaboradores (2010) compararam a degradação da brevetoxina, uma neurotoxina marinha associada às marés vermelhas, com fotocatalise empregando irradiação artificial e solar. O estudo demonstrou a eficiência superior da utilização da irradiação artificial

ao apontar 95% de degradação da neurotoxina após 30 minutos de tratamento, contra 50% de degradação ao utilizar luz solar durante o mesmo período de tempo.

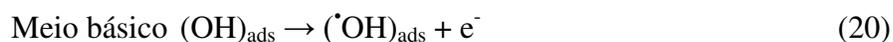
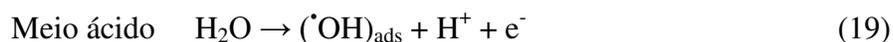
A fotocatalise é um processo que apresenta elevada eficiência na degradação de diversas substâncias orgânicas, mas possui alguns fatores limitantes para sua utilização em larga escala como: necessidade de fontes artificiais de radiação, dificuldade na penetração da radiação no meio reacional e dificuldade de separação do semicondutor finamente suspenso na solução (Kunz *et al.*, 2002).

### 3.4.5. Eletroquímico e fotoeletroquímico

Os processos eletroquímicos oferecem meios eficientes e versáteis de controle da poluição aquosa, modificando, destruindo ou mineralizando compostos orgânicos. Para alguns compostos são processos promissores, no entanto para outros já se constituem como realidade, uma vez que são “tecnologias limpas”, que não resultam na geração de lodo, pois os únicos reagentes envolvidos são o fóton e o elétron.

A combinação das tecnologias eletroquímica e fotocatalítica tem mostrado um efeito sinérgico, sendo que as velocidades de degradação observadas são até uma ordem de grandeza maior quando comparadas com a soma daquelas resultantes da aplicação dos processos individuais (Bertazzoli e Pelegrini, 2002).

O processo baseia-se na eletrólise do efluente, com transferência de elétrons entre a substância de interesse e o eletrodo, ou seja, reações de óxido-redução, tendo como resultado a degradação do contaminante. A geração do radical hidroxila pode ocorrer tanto em meio ácido, como em meio básico (Pellegrino, 2004), conforme Equações 19 e 20:



A aplicação de corrente elétrica, associada à radiação UV, resulta no processo fotoeletroquímico, que se caracteriza pela combinação dos processos eletroquímico e fotocatalítico.

### 3.5. Toxicidade aguda

Ensaio de toxicidade são necessários para se avaliar o potencial tóxico dos intermediários formados durante o processo de degradação, para os quais devem ser utilizados organismos padronizados pois, mesmo quando os sistemas de degradação são capazes de atingir a meta de reduzir a concentração das substâncias de interesse, os produtos de degradação gerados podem ser tóxicos e, por vezes, até mais tóxicos que a substância original. Portanto, testes de toxicidade com organismos padrão devem ser utilizados para avaliar a toxicidade dos possíveis subprodutos formados durante os processos de degradação propostos.

O invertebrado aquático *Daphnia similis* é um microcrustáceo bioindicador comumente utilizado como organismo-teste para avaliar a ecotoxicidade de substâncias químicas (Jonsson e Maia, 1999) e como agente microbiano para controle biológico de pragas (USEPA, 1989; Castro *et al.*, 2001).

Espécies do gênero *Daphnia* foram adotadas em estações de tratamento de esgoto e efluentes industriais para avaliar a eficiência na redução da toxicidade de processos como eletrólise (Angelis *et al.*, 1998) e ozonização (Araújo *et al.*, 1991).

A toxicidade da ivermectina para o microcrustáceo *Daphnia magna* é bem conhecida ( $EC_{50} = 25 \text{ ng L}^{-1}$ ), estabelecida por Halley e colaboradores (1993), e confirmada por Schweitzer e colaboradores (2010). A toxicidade da ivermectina também tem sido demonstrada em várias raças de cães: Collie, Old Inglês Sheepdog, Shetland Sheepdog, Pastor Alemão, Poodle e Labrador (Halley *et al.*, 1993).

Embora não haja estudos sobre a toxicidade aguda da ivermectina para *Daphnia similis*, Tisler e Erzen (2006), ao avaliarem a abamectina, fármaco da mesma família com semelhanças

estruturais e funcionais, verificaram uma toxicidade para a bactéria *Vibrio fischeri* muito inferior do que para o microcrustáceo *Daphnia magna*.

Davies e colaboradores (1998) investigaram a toxicidade aguda da ivermectina em sedimentos de viveiros de salmão. O fármaco é utilizado para combater os crustáceos *Caligus elongatus* e *Lepeophtheirus salmonis*, ectoparasitas comuns desses peixes. Os autores avaliaram a toxicidade da ivermectina para dois organismos sedimentares: o anfípode<sup>1</sup> *Corophium volutator* e a estrela do mar *Asterias rubens*<sup>2</sup>. Os estudos, realizados ao longo de três meses, revelaram que a degradação e a diminuição da concentração de ivermectina no sedimento são processos lentos, sugerindo uma meia-vida para o fármaco superior a 100 dias, se considerada cinética de primeira ordem para o caso. Os autores concluíram que o uso da ivermectina para controle de piolhos do mar em fazendas de salmão pode representar um risco significativo para a fauna de poliquetas<sup>3</sup> que se encontrem abaixo e ao redor das gaiolas dos peixes.

### 3.6. Métodos de determinação de ivermectina

Existem vários métodos analíticos disponíveis para determinação de ivermectina em diversos tipos de amostras, como ambientais e biológicas, que atingem concentrações da ordem de  $\text{ng L}^{-1}$ . Porém, os desafios desta área da ciência atualmente residem na necessidade de métodos analíticos capazes de determinar o fármaco em concentrações ainda mais baixas, uma vez que seu potencial de contaminação pode ser elevado mesmo em concentrações não detectáveis pelos métodos atualmente disponíveis. Ademais, mesmo os métodos já desenvolvidos necessitam incluir, via de regra, a etapa de concentração do fármaco por extração em fase sólida, para possibilitar sua determinação.

A utilização do método de determinação da ivermectina neste trabalho foi adaptada da monografia oficial da Farmacopeia Britânica (British Pharmacopeia, 2009), que recomenda o uso da cromatografia à líquido de alta eficiência, com a separação do fármaco por uma coluna de fase

---

<sup>1</sup>anfípode: ordem de crustáceos, principalmente marinhos, que possuem duas qualidades de pés: uma para nadar e uma para saltar.

<sup>2</sup>*Asterias Rubens*: tipo de estrela do mar que apresenta ampla distribuição geográfica e é a mais comum nas costas Atlânticas, pertencendo ao Filo Equinodermata, por se tratar de animal marinho invertebrado e que possui endoesqueleto calcário.

<sup>3</sup>poliquetas: vermes marinhos que vivem associados ao sedimento e constituem a subclasse do Anelídea, Filo que reúne os vermes mais evoluídos do reino animal.

reversa C18 (250 mm x 4,6 mm, 5  $\mu$ m), fase móvel ternária (H<sub>2</sub>O:MeOH:ACN,15:34:51 v/v/v), vazão 1,0 mL min<sup>-1</sup>, volume de injeção de 20  $\mu$ L e a detecção é realizada a 254 nm.

### 3.7. Validação

A validação do método analítico é um procedimento necessário para garantir que os dados obtidos a partir das análises, sejam verdadeiros, ou seja, que os dados sejam confiáveis e reprodutíveis. De acordo com as especificações estabelecidas pela ANVISA (2003): “A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados”.

Nas normas da ANVISA não constam recomendações para a avaliação da conformidade do sistema, no entanto esta é uma etapa da validação de fundamental importância, pois objetiva conferir se o sistema cromatográfico utilizado encontra-se adequado quanto à resolução e reprodutibilidade dos experimentos. A avaliação da conformidade do sistema pode ser realizada antes ou durante a análise de amostras desconhecidas e dos padrões a serem utilizados na identificação e quantificação dessas amostras.

Os parâmetros utilizados neste trabalho para a avaliação da conformidade do sistema de cromatografia à líquido de alta eficiência (HPLC) foram os estabelecidos pela U. S. Food, Drug and Administration e encontram-se descritos no Quadro 1.

A curva analítica tem por objetivo relacionar o sinal medido pela técnica analítica, neste caso, a área dos picos cromatográficos, com uma propriedade da amostra, nesse caso, a concentração do fármaco em solução. Para as técnicas instrumentais, a relação entre o sinal medido e a propriedade da amostra apenas é linear em um restrito intervalo de valores. Como a concentração do fármaco em solução é o que se deseja determinar, constrói-se empiricamente uma curva a partir de concentrações conhecidas do fármaco para as quais se obtém sinais em um intervalo linear de medidas. Este intervalo é chamado linearidade e deve ser composto por pelo menos cinco medidas diferentes (ANVISA, 2003).

**Quadro 1.** Parâmetros de conformidade do sistema para métodos cromatográficos de acordo com a U. S. Food, Drug and Administration (US-FDA, 1994).

Parâmetros	Recomendações
Fator de retenção	O pico deve ser bem resolvido de outros picos e do pico correspondente ao tempo de retenção de um composto não retido, ou seja, tempo mínimo para um composto que não interaja com a fase estacionária atravesse a coluna ( $t_M$ ), $k > 2^4$
Fator de cauda (TF)	$TF \leq 2$
Número de pratos da coluna cromatográfica	Deve ser $> 2000$

Uma vez construída a curva analítica, dela obtém-se os parâmetros linearidade, correspondente ao coeficiente de correlação linear ( $r$ ), que deve ser  $\geq 0,99$ ; e sensibilidade, correspondente ao coeficiente angular ( $a$ ), que deve ser diferente de zero (Brito *et al.*, 2003).

O valor de  $r$  superior a 0,99 caracteriza uma curva analítica com relação linear entre o valor de concentração do analito na amostra (eixo das abscissas) e o sinal fornecido pelo equipamento utilizado (eixo das ordenadas). O valor de  $a$  indica a capacidade do método de diferenciar duas concentrações próximas, de forma a assegurar a não sobreposição de picos correspondentes a substâncias diferentes, garantindo assim que a área do pico obtida após a análise corresponde somente à substância de interesse.

A equação da reta obtida (Equação 21) representa a curva analítica:

$$y = ax + b \quad (21)$$

---

<sup>4</sup> Para os propósitos deste trabalho de pesquisa, considerou-se aceitável um valor de  $k > 1,0$ , pois o objetivo da determinação cromatográfica se restringiu à molécula H<sub>2</sub>B1a.

sendo  $y$  o sinal medido,  $x$  a concentração do fármaco a ser determinada,  $a$  o coeficiente angular e  $b$  o coeficiente linear da reta, que representa a altura em que a reta intercepta o eixo das ordenadas.

### **3.8. Espectrometria UV-Visível**

A absorvância na região de comprimento de onda de 190 a 300 nm pode indicar a presença de dupla e tripla ligações entre carbonos em um composto, e a absorção UV em 288 nm pode ser associada à presença de um anel fenólico (Liu *et al.*, 2004). O espectro UV da ivermectina em metanol mostra um máximo de absorção em 245 nm.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O desenvolvimento do trabalho proposto foi realizado em 2 etapas. A primeira consistiu na construção do reator a ser utilizado nos ensaios de degradação da ivermectina em solução aquosa, assim como no desenvolvimento e validação da metodologia analítica para determinação do fármaco antes e após os ensaios de degradação. Ainda nesta etapa, foram incluídos os ensaios preliminares realizados com a finalidade de se avaliar a possibilidade de ocorrer o fenômeno de adsorção da ivermectina, presente na solução a ser degradada, nas paredes do reator.

Na segunda etapa, foram realizados os ensaios de degradação da ivermectina pelos processos propostos, avaliando-se parâmetros como: tempo de reação, concentração dos agentes oxidativos, pH do meio reacional e intensidade de corrente elétrica aplicada. A determinação do peróxido de hidrogênio residual, nos ensaios que utilizaram este agente oxidante, também foi realizada nesta etapa, assim como os ensaios de toxicidade das soluções antes e após a degradação.

### **4.1. Equipamentos**

#### **4.1.1. Extração em fase sólida (SPE)**

A extração em fase sólida foi necessária para a concentração do analito (ivermectina) nas amostras, uma vez que a concentração das soluções de trabalho era inferior à faixa de concentração detectável, tanto por cromatografia líquida de alta eficiência, como por espectrofotometria. A SPE foi realizada com o auxílio de um manifold (Agilent, EUA) e uma bomba de vácuo modelo 121 (Primatec, Brasil).

A SPE consistiu na passagem, sob vácuo, da solução a ser concentrada por um cartucho no qual ficou retida a substância de interesse. Os cartuchos foram condicionados com 6 mL de metanol, seguidos pela lavagem com 6 mL com água ultrapura. Soluções aquosas com diferentes concentrações de ivermectina foram então submetidas ao processo de extração, a uma vazão de 10 mL min<sup>-1</sup>. Após a passagem de toda a solução, neste caso 1 L de ivermectina em água ultrapura, adicionou-se ao cartucho 4 mL de metanol para proceder-se a eluição. O eluato foi filtrado em filtro de membrana de 0,22 µm e analisado por HPLC e espectrofotometria UV-Vis.

#### 4.1.2. Eficiência de extração usando SPE

Para definição do cartucho a ser utilizado na preparação das amostras, foram realizados testes com dois tipos dos mais comumente utilizados: o Bond Elut C-18 da Varian (grupo octadecilsilano quimicamente ligado à sílica), e o Oasis HLB da Waters (polimérico de equilíbrio hidrofílico-lipofílico), ambos com 500 mg de adsorvente e 6 mL de reservatório. A partir dos resultados obtidos, foi selecionado para a etapa de SPE o cartucho que apresentou maior eficiência de recuperação do fármaco. Na Figura 4 é apresentado o sistema para concentração do fármaco por SPE.



**Figura 4.** Sistema de concentração da ivermectina por extração em fase sólida.

### 4.1.3. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

Foi utilizado um cromatógrafo à líquido de alta eficiência para análises preliminares, a fim de definir as melhores condições para a identificação da ivermectina, como os constituintes e a proporção destes na fase móvel e o comprimento de onda ideal para determinação da ivermectina. O equipamento consiste de um sistema de bombeamento binário modelo 1525 (Waters, EUA), detector de arranjo de fotodiodos (DAD) modelo 2996 (Waters, EUA), injetor modelo 7725 (Rheodyne, EUA) e amostrador de 50  $\mu\text{L}$ , coluna cromatográfica XBridge™ RP18, 250 mm  $\times$  4,6 mm, 5  $\mu\text{m}$  (Waters, EUA) e coluna de guarda 4,6  $\times$  20 mm, 5  $\mu\text{m}$  (Waters, EUA). Para aquisição dos dados, foi utilizado o software Millennium 32 (Waters, EUA).

A cromatografia líquida de alta eficiência também foi empregada para a determinação da ivermectina em solução antes e após os ensaios de degradação. O equipamento utilizado nesta etapa consistiu de um sistema de bombeamento unitário modelo 510 (Waters, EUA), injetor modelo 7725 (Rheodyne, EUA), detector de UV com comprimento de onda variável modelo 486 (Waters, EUA), amostrador de 20  $\mu\text{L}$ . Para a aquisição dos dados foi utilizado um integrador modelo 746 (Waters, EUA). As colunas cromatográficas e de guarda usadas neste equipamento são as mesmas descritas anteriormente.

No Quadro 2 são apresentadas as condições analíticas utilizadas nas determinações de ivermectina por HPLC antes e após os ensaios de degradação.

**Quadro 2.** Condições analíticas do sistema de cromatografia líquida de alta eficiência.

Comprimento de onda da lâmpada	245 nm
Coluna cromatográfica	X-Bridge Shield RP18 (250 mm x 4,6 mm ID., 5 $\mu\text{m}$ ), Waters
Volume da alça de amostragem	20 $\mu\text{L}$
Fase móvel	Metanol:água (90:10, v/v)
Vazão	1,0 mL min <sup>-1</sup>

#### **4.1.4. Espectrofotometria na região UV-Visível**

A espectrofotometria foi utilizada para monitorar a ivermectina residual nas soluções tratadas. Devido à baixa concentração de ivermectina residual em solução, não é possível determiná-la diretamente por espectrofotometria. Portanto, o fármaco foi concentrado em cartuchos de extração em fase sólida. Normalmente, não é possível obter estes espectros de amostras contendo os contaminantes em baixas concentrações (Maniero *et al.*, 2008).

Todos os espectros foram registrados na região UV-visível, entretanto, apenas a região UV é apresentada, pois nenhuma das amostras de ivermectina, original ou tratada, apresentaram bandas de absorção na região do visível.

Os espectros UV-Visível das amostras antes e após os ensaios de degradação foram obtidos por um espectrofotômetro UV-1601 PC (Shimadzu, Japão). Foram analisadas a solução inicial ( $500 \mu\text{g L}^{-1}$  de ivermectina) e as amostras tratadas, previamente concentradas 250 vezes por SPE. Após a eluição com metanol (4 mL), as soluções foram filtradas ( $0,22 \mu\text{m}$ ), diluídas quatro vezes em metanol e analisadas no espectrofotômetro UV-Vis.

Os espectros foram obtidos na faixa de 200 a 800 nm. As amostras foram concentradas utilizando o mesmo procedimento de extração em fase sólida usado para as análises de HPLC.

Foi utilizado, ainda, um espectrofotômetro Odyssey (Hach, EUA) para obtenção dos valores de absorbância nos ensaios de determinação de peróxido de hidrogênio residual.

#### **4.1.5. Medida da intensidade e cálculo da dose de radiação**

A dose de radiação ( $\text{W s cm}^{-2}$ ) empregada nos ensaios de degradação do fármaco foi calculada a partir do produto da intensidade de radiação ( $\text{W cm}^{-2}$ ) emitida pela lâmpada, obtida por um radiômetro 9811 (Cole Parmer, EUA) previamente calibrado em 254 nm, pelo tempo de exposição (s), de acordo com a Equação 22:

$$D = I \times t \quad (22)$$

sendo que D está relacionada com a dose de radiação UV, I representa a intensidade de radiação e t é o tempo de exposição. Na Tabela 2 são apresentados os valores de dose de radiação em cada intervalo de tempo utilizado para o processo de degradação da ivermectina em solução aquosa.

**Tabela 2.** Doses de radiação fornecidas às soluções de ivermectina em cada intervalo de tempo de reação.

Dose de radiação	
Tempo (s)	(mJ cm <sup>-2</sup> )
10	47
30	141
60	282
300	1.410
600	2.820

É importante salientar que a dose de radiação aqui expressa refere-se à dose fornecida pela lâmpada, porém deve-se considerar a turbidez da solução contendo TiO<sub>2</sub> em suspensão e que, portanto, a dose fornecida não era aproveitada em sua totalidade durante a reação.

O reator, no qual ocorreram as degradações eletroquímicas e fotoeletroquímicas, constituiu-se de um béquer com vidro de borossilicato, com capacidade para 1 L de solução. Como ânodo foi utilizado o DSA<sup>®</sup> comercial de titânio revestido com a composição de óxidos 70 TiO<sub>2</sub>/30 RuO<sub>2</sub>, na forma cilíndrica. Como cátodo, foi utilizada uma tela cilíndrica de titânio metálica fixada dentro do ânodo a uma distância de 3,0 mm, por meio de anel de PVC. O sistema foi alimentado por uma fonte digital FA-1030 (Instrutherm, Brasil). Dentro do cátodo foi colocado um tubo de quartzo, dentro do qual foi inserida a lâmpada de baixa pressão de vapor de mercúrio, de 11 W de potência. Na Tabela 3 são apresentados os valores de dose de radiação em cada intervalo de tempo utilizado para os ensaios de degradação da ivermectina em solução aquosa pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico.

**Tabela 3.** Doses de radiação fornecidas às soluções de ivermectina em cada intervalo de tempo de reação, nos ensaios eletroquímicos e fotoeletroquímicos.

<b>Dose de radiação</b>	
<b>Tempo (s)</b>	<b>(mJ cm<sup>-2</sup>)</b>
10	104
30	313
60	626
300	3.132
600	6.264

O reator utilizado nos ensaios de degradação pelos processos oxidativos avançados está descrito no item 4.5. Para os ensaios de toxicidade aguda foi utilizado um sistema contendo uma bomba peristáltica 78017-10 (Ismate, Suíça), um condutivímetro 650 (Analyzer, Brasil), um registrador (Cole Parmer, EUA) e um banho-maria Q-215 (Químis, Brasil).

## **4.2. Reagentes e soluções**

A solução estoque de ivermectina na concentração de 500 mg L<sup>-1</sup> foi preparada a partir da pesagem de 0,050 g do padrão primário de ivermectina (> 90%), adquirido da Sigma-Aldrich (EUA), em 100 mL de metanol. A solução foi armazenada em frasco âmbar, à - 10 °C.

As soluções de trabalho de ivermectina, preparadas imediatamente antes do início dos ensaios, foram obtidas utilizando-se água ultrapura obtida do sistema Milli-Q, Academic (Millipore, EUA), na concentração de 500 µg L<sup>-1</sup>, por meio da adição de 1,0 mL da solução estoque em balão volumétrico de 1,0 L.

O sulfato ferroso heptahidratado (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), na concentração de 30% (v/v), o ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e o sulfato de potássio anidro (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) foram adquiridos da Synth (Brasil). O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi estocado sob refrigeração. O metanol (grau cromatográfico) foi adquirido da J. T. Baker (México).

### 4.3. Validação do método analítico para HPLC

A validação do método analítico visa à adequação dos procedimentos experimentais à obtenção de resultados confiáveis e reprodutíveis. Após a avaliação da conformidade do sistema, o método foi validado mediante a avaliação dos seguintes parâmetros: linearidade, sensibilidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão.

São apresentadas, a seguir, considerações sobre os parâmetros selecionados para a validação do método.

#### 4.3.1. Construção da curva analítica

Para a obtenção da curva analítica, foram preparadas soluções de ivermectina em metanol, a partir da solução estoque, em diferentes concentrações de acordo com a Tabela 4.

**Tabela 4.** Concentração das soluções utilizadas para obtenção da curva analítica para HPLC.

Concentração teórica de ivermectina ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )								
P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
0,5	5,0	10,0	20,0	30,0	40,0	50,0	60,0	70,0

#### 4.3.2. Linearidade e sensibilidade

Os parâmetros linearidade, correspondente ao coeficiente de correlação linear (r), e sensibilidade, correspondente ao coeficiente angular (a), foram obtidos a partir da curva analítica.

### **4.3.3. Limite de detecção (LD)**

O limite de detecção, concentração mínima que o analito pode ser detectado em uma amostra, mas não necessariamente quantificado, foi obtido analisando-se soluções de ivermectina em metanol na menor concentração que apresentou a razão sinal/ruído igual a 3.

### **4.3.4. Limite de quantificação (LQ)**

O limite de quantificação, concentração mínima que o analito pode ser quantificado em uma amostra com precisão e exatidão aceitáveis, foi calculado utilizando-se dez vezes a razão sinal/ruído.

### **4.3.5. Precisão**

A precisão, parâmetro utilizado para avaliar a variabilidade dos resultados, foi obtida para intra-ensaios e inter-ensaios. Para obtenção da precisão intra-ensaios, foi analisada uma solução de ivermectina em metanol, em concentração intermediária da curva analítica, em quintuplicata ( $n = 5$ ), em um mesmo dia.

Para obtenção da precisão inter-ensaios, foram analisadas três soluções de ivermectina em metanol, em três concentrações da curva analítica, em três dias diferentes ( $n = 3$ ).

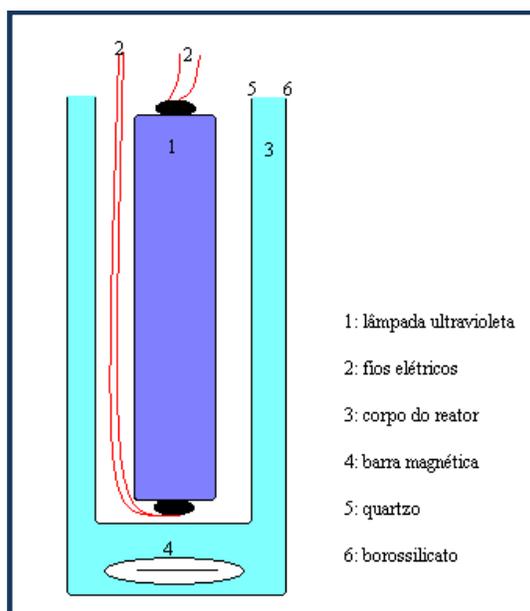
### **4.3.6. Exatidão**

A exatidão do método, grau de fidelidade em relação ao valor verdadeiro, foi obtida a partir de testes de recuperação da ivermectina após a extração em fase sólida. Para isso, foi preparado 1 L de solução de ivermectina em água na concentração de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , a partir da solução estoque. Após SPE e a eluição em metanol, a amostra foi diluída para a concentração correspondente à intermediária da curva analítica, ou seja,  $20,0 \text{ mg L}^{-1}$ , e analisada. O procedimento foi realizado em triplicata ( $n = 3$ ). A eficiência de extração usando SPE (item 4.1.2) foi considerada para a avaliação da exatidão.

#### 4.4. Construção do reator

Para a realização dos ensaios de degradação, foram necessários dois reatores: um para as reações de degradação da ivermectina por peroxidação assistida por luz ultravioleta, reagente de Fenton, foto-Fenton e fotocatalise; outro, para as reações de degradação do fármaco pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico.

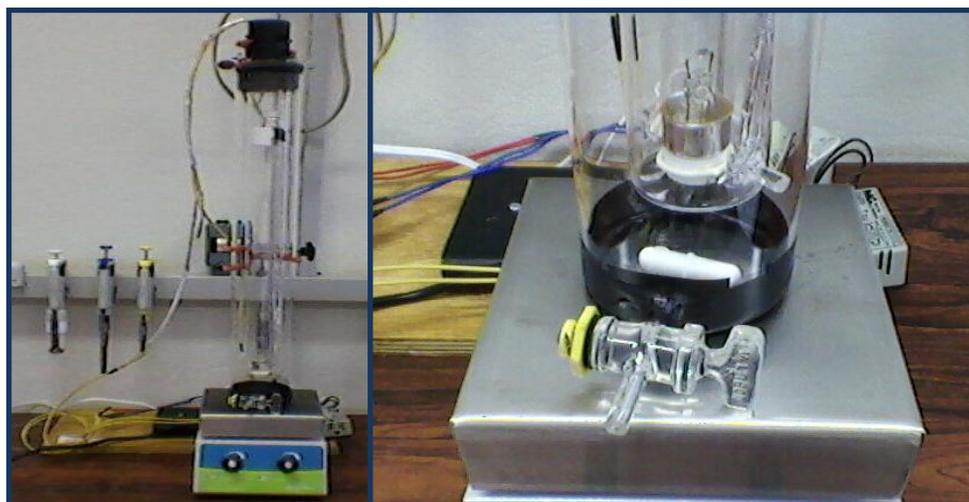
Na Figura 5 é apresentado de modo esquemático o reator utilizado em todos os ensaios de degradação da ivermectina em solução aquosa, exceto nos ensaios eletroquímicos e fotoeletroquímicos, para os quais foi utilizado outro reator.



**Figura 5.** Esquema do reator fotoquímico utilizado nos ensaios de degradação da ivermectina em solução aquosa.

O reator utilizado nos testes de degradação por UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Fenton, foto-Fenton e fotocatalise foi construído na Oficina Vidros do Instituto de Física Gleb Wataghin da Unicamp. O reator é constituído de duas partes, sendo uma delas um tubo interno de quartzo com um dos lados fechados, dentro do qual foi inserida uma lâmpada ultravioleta de 15 W, com comprimento de onda máximo de emissão em 254 nm, que é ligada apenas nos ensaios fotolíticos e fotoquímicos. A segunda parte trata-se de um tubo externo em vidro de borossilicato com um dos

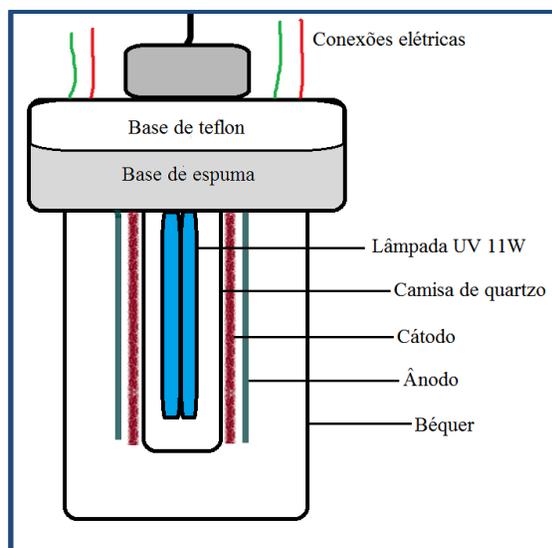
lados fechados, dentro do qual foi disposta concentricamente a primeira parte do reator. A capacidade deste reator é para um litro de solução, incluindo o espaço necessário para acomodar uma barra magnética responsável pela agitação da solução, promovida por um agitador magnético situado abaixo do reator. A lâmina de solução dentro do reator apresentou espessura de aproximadamente 1,3 cm. Na Figura 6 é mostrado o reator utilizado nos ensaios de degradação.



**Figura 6.** Imagem do reator fotoquímico utilizado para os testes de degradação de ivermectina em solução aquosa, à esquerda. Detalhe da superfície inferior do reator, à direita.

Nas Figuras 7 e 8 é apresentado o sistema utilizado para os ensaios de degradação pelos processos eletroquímicos e fotoeletroquímicos de forma esquemática e em imagens, respectivamente.

As medidas do ânodo são: 10,15 cm de altura (h) e 2,875 cm de raio (r). Sendo a área da superfície do ânodo dada por  $2 \pi r h$ , obtém-se as densidades de corrente elétrica aplicadas nos ensaios (Tabela 6, pág. 70).



**Figura 7.** Esquema do reator eletroquímico/fotoeletroquímico utilizado nos ensaios de degradação da ivermectina em solução aquosa.



**Figura 8.** Imagem do reator eletroquímico/fotoeletroquímico utilizado para os testes de degradação de ivermectina em solução aquosa. À esquerda: visão completa do sistema; à direita: partes constituintes do reator.

#### 4.5. Ensaio em branco

Uma vez construído o reator, foram realizados ensaios em branco a fim de se verificar uma possível adsorção de ivermectina, presente na solução, nas paredes do reator. O ensaio

consistiu em adicionar ao reator 1 litro de solução de ivermectina, na concentração de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , sob agitação magnética constante durante 60 minutos, sem adição de agente oxidante ou radiação ultravioleta. Após o tempo de ensaio, a solução foi concentrada, e a concentração de ivermectina foi determinada por HPLC, verificando se houve perda significativa da substância durante o processo.

#### 4.6. Ensaio de degradação

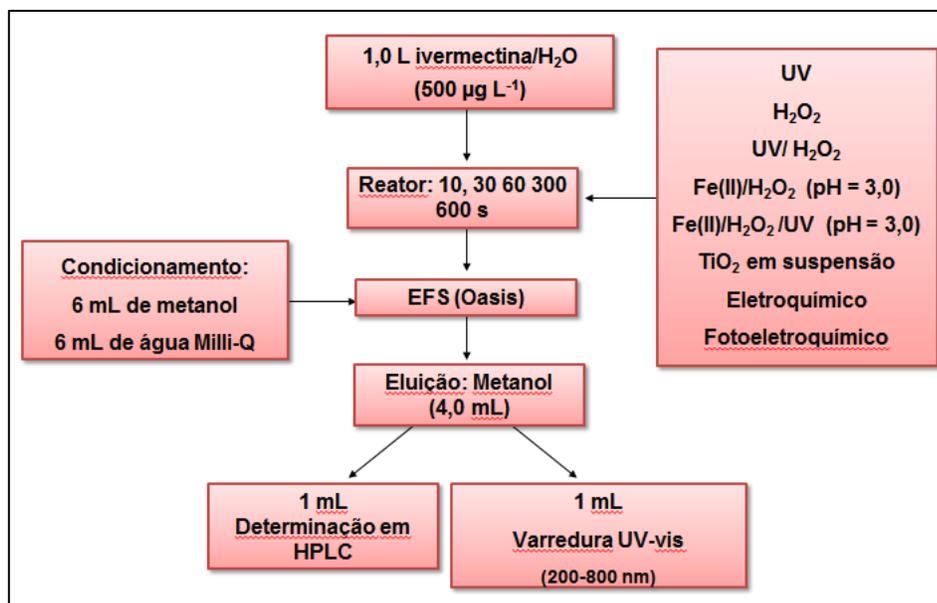
Ensaio de degradação preliminares (fotolíticos) foram realizados com a finalidade de se avaliar o período de tempo necessário para que a reação atingisse o equilíbrio. Uma vez determinado o período em que a reação se estabilizou, foram definidos os intervalos de tempo adequados para a avaliação do processo de degradação. Os ensaios de degradação foram então conduzidos nos seguintes intervalos de tempo: 0, 10, 30, 60, 300 e 600 segundos, sempre sob agitação magnética constante, com 1 L de solução de ivermectina em água ultrapura, na concentração de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

A porcentagem de degradação do fármaco foi calculada por meio da Equação 23:

$$\text{Degradação (\%)} = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100 \quad (23)$$

sendo  $C_0$  a concentração inicial de ivermectina e  $C$  a concentração de ivermectina após o processo de degradação.

Na Figura 9 são apresentadas esquematicamente as etapas dos ensaios de degradação da ivermectina até a obtenção dos resultados.



**Figura 9.** Esquema das etapas dos ensaios de degradação da ivermectina por POA.

#### 4.6.1. Degradação da ivermectina em solução aquosa por peroxidação assistida por radiação ultravioleta (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Para efeito de comparação, foram realizados testes de degradação da ivermectina com peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), variando-se a concentração entre 0,25 a 10,0 mmol L<sup>-1</sup>, na ausência de radiação ultravioleta.

A combinação da radiação ultravioleta com o peróxido de hidrogênio foi então avaliada segundo os intervalos de tempo pré-definidos e as concentrações de oxidante anteriormente citadas.

#### 4.6.2. Degradação da ivermectina em solução aquosa por reagente de Fenton e foto-Fenton

Os ensaios de degradação com reagente de Fenton e foto-Fenton foram realizados em pH < 3,0, obtido pela adição de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3,0 mol L<sup>-1</sup> à solução de ivermectina a 500 µg L<sup>-1</sup>. Quantidade pré-determinada do íon Fe(II) em meio ácido foi então adicionada à solução de ivermectina a ser degradada e, em seguida, foi adicionado o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. No caso dos ensaios de

degradação do fármaco pelo processo foto-Fenton, o experimento procedeu-se como descrito anteriormente, porém a contagem do tempo de reação foi iniciada com o acionamento da lâmpada geradora de radiação ultravioleta.

Para ambos os processos, ao final do intervalo de tempo desejado, foi adicionado bissulfito de sódio na proporção molar de 1:1 em relação ao peróxido de hidrogênio. Este procedimento foi realizado com o objetivo de interromper a reação de Fenton por meio do consumo do agente oxidante pelo bissulfito de sódio, que funciona como um capturador de oxigênio do peróxido de hidrogênio (Xu *et al.*, 2004).

Os ensaios de degradação da ivermectina em solução aquosa com aplicação de reagente de Fenton e foto-Fenton foram realizados diversificando-se as concentrações de peróxido de hidrogênio e íon Fe(II), de acordo com a Tabela 5, a fim de se avaliar as influências dos reagentes nos processos de degradação.

**Tabela 5.** Concentrações de peróxido de hidrogênio e íon Fe(II) aplicadas aos ensaios de reagente de Fenton e foto-Fenton.

H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mmol L <sup>-1</sup> )	Fe(II)(mmol L <sup>-1</sup> )
0,25	0,5
	1,0
	5,0
	10,0
0,50	1,0
	5,0
	10,0
1,0	5,0
	10,0

### **4.6.3. Degradação da ivermectina em solução aquosa por fotocatalise com TiO<sub>2</sub> em suspensão**

As remoções de ivermectina em solução aquosa foram avaliadas pelo processo de fotocatalise utilizando-se como semicondutor o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) em suspensão. Foram avaliadas as influências das concentrações de TiO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e do pH da solução no processo de degradação.

O efeito de adsorção do fármaco no dióxido de titânio foi avaliado submetendo-se 1 L de solução de ivermectina (500 µg L<sup>-1</sup>) ao contato com as quantidades mínima e máxima de TiO<sub>2</sub> utilizadas nos testes de degradação, sob agitação magnética constante, por um período de 600 s.

Em todos os ensaios de degradação do fármaco, a contagem do tempo de reação foi iniciada após a adsorção ter atingido o equilíbrio, ou seja, no momento a partir do qual a concentração de ivermectina na solução se manteve constante, neste caso, 1 minuto. Ao final do tempo de degradação desejado, a solução foi filtrada com microfiltro de fibra de vidro Schleicher & Schuell GF 52-C, com 0,47 µm de porosidade, para remoção da maior parte de TiO<sub>2</sub> da solução antes de submetê-la à extração em fase sólida.

### **4.6.4. Degradação da ivermectina em solução aquosa pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico**

Para realização dos ensaios eletroquímicos, foi utilizado como reator um béquer com capacidade para 1 L, dentro do qual foram inseridos um tubo de titânio revestido internamente com uma mistura de óxidos 70TiO<sub>2</sub>-30RuO<sub>2</sub>, que atua como ânodo do tipo DSA® (ânodo dimensionalmente estável), e uma tela cilíndrica de titânio, que atua como cátodo. No centro interno do reator, uma lâmpada germicida de 11 W foi inserida sob a proteção de uma camisa de quartzo, que apenas foi acionada nos ensaios fotoeletroquímicos.

Após a degradação nos diversos intervalos de tempo, as amostras foram concentradas por extração em fase sólida (SPE) e a concentração residual do fármaco foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Assim como ocorreu nos demais processos de

degradação, a solução tratada concentrada foi submetida à análise por espectrofotometria no UV-visível.

Para o processo de degradação da ivermectina em solução aquosa pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico foi utilizado como eletrólito suporte o sulfato de potássio anidro ( $K_2SO_4$ ). Avaliou-se a aplicação de diferentes densidades de corrente e concentrações de eletrólito suporte, de acordo com a Tabela 6, com e sem a irradiação UV. Para efeito de comparação, ensaios fotolíticos sem a presença do eletrólito foram realizados.

**Tabela 6.** Concentrações de sulfato de potássio e valores de densidade de corrente elétrica aplicados nos ensaios eletroquímicos e fotoeletroquímicos.

$K_2SO_4$ ( $mmol L^{-1}$ )	Densidade de corrente elétrica ( $mA cm^{-2}$ )
0,01	13,6
	27,3
	40,9
0,10	13,6
	27,3
	40,9

#### 4.7. Determinação de peróxido de hidrogênio residual

A concentração de  $H_2O_2$  residual nos ensaios de degradação foi determinada nos mesmos intervalos de tempo nos quais foram conduzidos os testes de degradação. O preparo e a padronização da solução de permanganato de potássio, assim como a determinação do peróxido de hidrogênio, foram realizados segundo a literatura (Mendham *et. al.*, 2002). A determinação do peróxido de hidrogênio residual propriamente dito, baseada na formação do cátion peroxovanádio, foi realizada por espectrofotometria, sendo monitorado em 450 nm, segundo Nogueira e colaboradores (2005).

## 4.8. Ensaio de toxicidade aguda

Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados segundo a norma brasileira NBR 12713 (ABNT, 2009).

O procedimento pode ser descrito de acordo com as seguintes etapas:

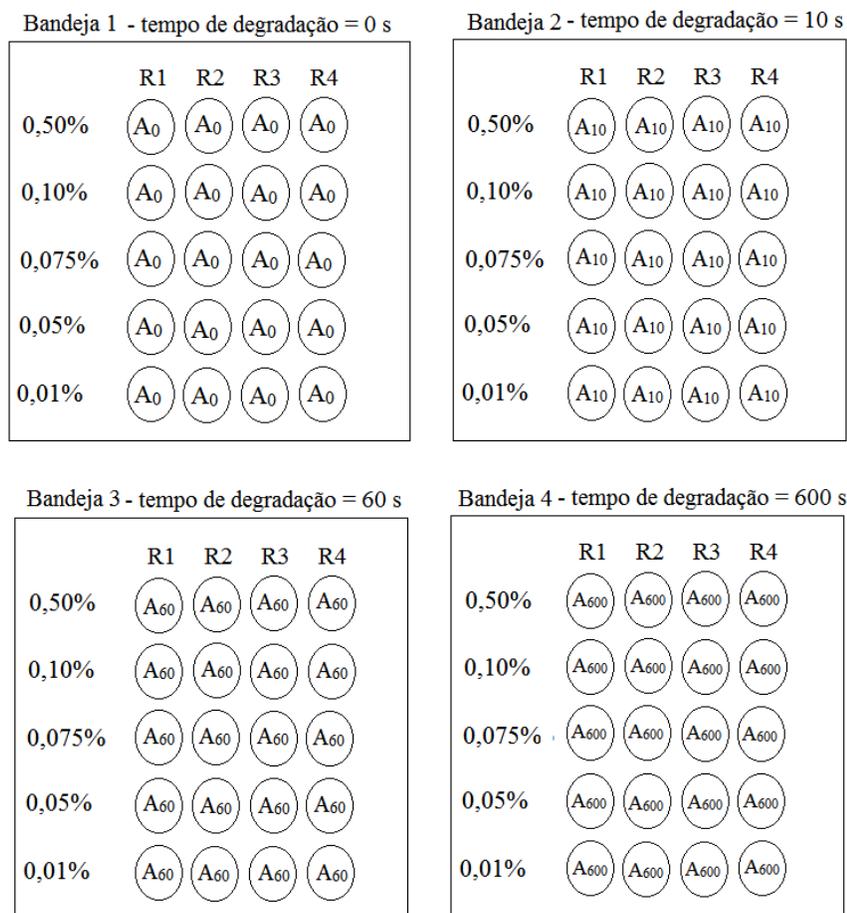
Etapa 1: quatro soluções de ivermectina  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  foram preparadas em água ultrapura. Destas, 3 soluções foram submetidas a um dos POA, cada uma por um tempo determinado, de acordo com o Quadro 3. Os processos avaliados foram UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Fenton, foto-Fenton e fotocatalise com TiO<sub>2</sub> em suspensão, sendo que para cada POA, foram produzidas novas amostras.

**Quadro 3.** Amostras de ivermectina obtidas em diferentes tempos de degradação

		<b>Tempo (s)</b>	<b>Amostra</b>
IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$	POA	0	A <sub>0</sub>
IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$	POA	10	A <sub>10</sub>
IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$	POA	60	A <sub>60</sub>
IVM $500 \mu\text{g L}^{-1}$	POA	600	A <sub>600</sub>

Etapa 2: foram coletados, separadamente, 200 mL de cada amostra (A<sub>0</sub>, A<sub>10</sub>, A<sub>60</sub>, A<sub>600</sub>), sendo que o tempo zero (A<sub>0</sub>) corresponde à solução contendo o fármaco e os demais reagentes correspondentes a cada processo avaliado.

Etapa 3: foram preparadas as soluções a serem usadas para exposição dos organismos (*Daphnia similis*) da seguinte forma: alíquotas apropriadas de cada amostra foram adicionadas em balões volumétricos, completados com água de cultivo, para obtenção de soluções com diluições de 0,01, 0,05, 0,075, 0,10 e 0,50%. Esta etapa foi realizada para cada amostra separadamente, sendo que cada diluição foi adicionada em 4 recipientes de 15 mL, obtendo-se o sistema apresentado de forma esquemática na Figura 10. A cada recipiente, foram adicionados 5 organismos de *Daphnia similis*.



**Figura 10.** Esquema do ensaio de toxicidade com *Daphnia similis* realizado para cada POA avaliado.

Cada bandeja, contendo vinte recipientes com cinco organismos em cada um deles, foi mantida a 20 °C, no escuro, por 48 horas. Após esse período, foi realizada a contagem dos organismos imóveis em cada recipiente. Com os dados obtidos, foram estimadas as diluições nas quais as soluções apresentaram EC<sub>50</sub>-48 h por meio do programa estatístico Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton *et. al.*, 1977). Vale ressaltar que este programa pode estimar a toxicidade da amostra em termos de concentração efetiva e porcentagem de diluição. Optou-se, neste trabalho, por calcular a toxicidade das amostras em porcentagem de diluição, uma vez que o objetivo era avaliar a variação da toxicidade das soluções resultantes nos tratamentos de degradação empregados e não a toxicidade de um componente específico presente nas soluções. Cada ensaio de toxicidade foi realizado em triplicata e o valor médio foi calculado.

Adicionalmente, foi obtida a  $EC_{50-48}$  h da ivermectina, em termos de concentração, a fim de comparar o resultado com a literatura existente. A obtenção da  $EC_{50-48}$  h da ivermectina seguiu o mesmo procedimento descrito anteriormente, com exceção aos valores de diluição das amostras que, neste caso, foram de 0,010, 0,015, 0,020, 0,025 e 0,030%.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A toxicidade da ivermectina já foi comprovada para diversos tipos de organismos, como a fauna presente em estrume de gado, a qual participa de sua degradação, e os micro-organismos presentes nos sedimentos. Sua elevada toxicidade também foi verificada para o microcústáceo *Daphnia sp*, que atualmente faz parte do principal ensaio utilizado para determinação da toxicidade aguda de fármacos, como a ivermectina, em solução aquosa.

Foram empregados diversos processos (físico, químico e oxidativo avançado) visando à degradação da ivermectina presente em solução aquosa. Ainda que um, ou mais processos, se mostrou eficiente na redução da concentração do fármaco, o resultado promissor não é suficiente para garantir que a solução tratada esteja finalmente segura para ser descartada no meio ambiente, pois nela podem conter intermediários de degradação com toxicidade semelhante, ou até mesmo superior à da solução original. Desse modo, faz-se necessária a realização de ensaios adicionais para verificar a toxicidade da solução final. É neste contexto que se inserem os ensaios de toxicidade aguda da ivermectina ao longo dos tratamentos empregados neste trabalho.

O monitoramento da concentração da ivermectina é de fundamental importância durante a aplicação de um processo de degradação, portanto toda a metodologia analítica empregada deve ser avaliada.

### **5.1. Conformidade do sistema cromatográfico**

No Quadro 4 são apresentados os resultados de conformidade do sistema cromatográfico obtidos para a HPLC com detecção no UV.

**Quadro 4.** Parâmetros de conformidade do sistema obtidos para o método de HPLC-UV.

<b>Parâmetros</b>	<b>Recomendações</b>
Tempo morto	2,81 min
Fator de retenção	k = 1,3
Repetibilidade	RSD = 1,5% (n = 5)
Fator de alargamento (tailing fator)	TF = 1,1
Número de pratos da coluna cromatográfica	N = 4.409

A avaliação da conformidade do sistema cromatográfico mostrou que o método analítico empregado neste trabalho é adequado para a determinação da ivermectina nas soluções aquosas degradadas.

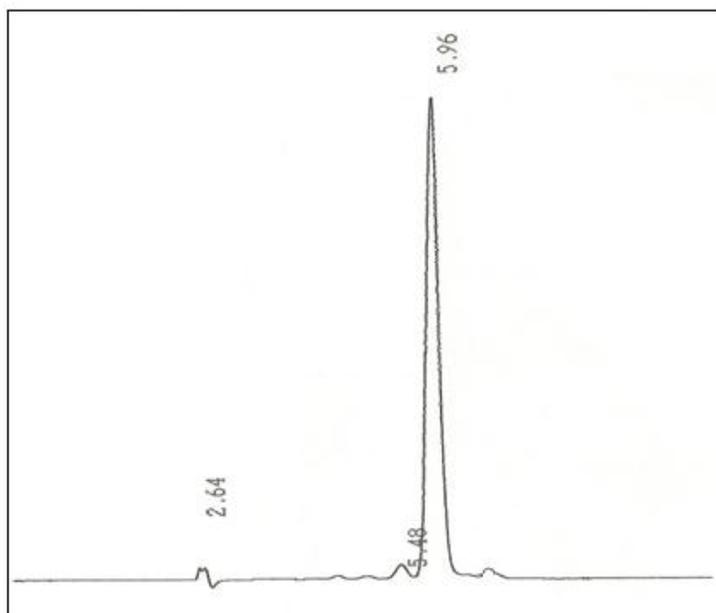
## **5.2. Extração em Fase Sólida**

O objetivo desta etapa é a obtenção de uma solução de ivermectina mais concentrada do que a solução utilizada no processo de degradação para que seja possível sua determinação por HPLC, uma vez que a faixa de concentração identificada por cromatografia é de 0,5 a 50 mg L<sup>-1</sup>.

Como já colocado anteriormente, durante o desenvolvimento do método, verificou-se a possibilidade de eliminação de algumas etapas de preparação da amostra. A etapa de evaporação do solvente da amostra, obtida após a SPE, foi eliminada da seguinte forma: durante a etapa de concentração do analito por SPE, inicialmente utilizou-se metanol, acetonitrila e acetato de etila (1:1:4, v/v/v) para a eluição da amostra. Este método exigia uma etapa de evaporação auxiliada por gás nitrogênio e posterior reconstituição em metanol, antes da injeção no cromatógrafo. Além de elevar consideravelmente o tempo de preparo da amostra, assim como o custo, este método incluía a utilização de acetonitrila, um solvente altamente tóxico. Verificou-se então, que era possível utilizar somente metanol para a eluição da ivermectina, sem prejuízo para a qualidade dos resultados, eliminando assim a etapa de evaporação e reconstituição. A SPE resultou em um fator de concentração do analito (ivermectina) de 250 vezes. Desta forma, a solução obtida estava

pronta para a análise imediatamente após a eluição, requerendo em alguns casos apenas a diluição para adequação à curva analítica dinâmica, nas análises em HPLC e diluição de 4 vezes em UV-Vis

Na Figura 11 são apresentados os picos cromatográficos da ivermectina após extração em fase sólida e eluição em metanol.



**Figura 11.** Cromatograma da ivermectina  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  (fator de concentração de 50 vezes).

Na Tabela 7 são apresentados os resultados dos testes de recuperação realizados a fim de se escolher melhor o cartucho a ser utilizado para a extração em fase sólida da ivermectina a partir da solução aquosa.

Como é possível observar nos dados apresentados na Tabela 7, o cartucho que apresentou o maior valor de recuperação da ivermectina após a SPE foi o Oasis HLB, da Waters, apresentando uma recuperação de aproximadamente 98% na concentração inicial de ivermectina utilizada para os testes de degradação. Portanto, optou-se por utilizar este cartucho na etapa de SPE.

**Tabela 7.** Recuperação da ivermectina após SPE com os cartuchos C<sub>18</sub> (Varian) e OASIS HLB (Waters). Fator de concentração de 250 vezes.

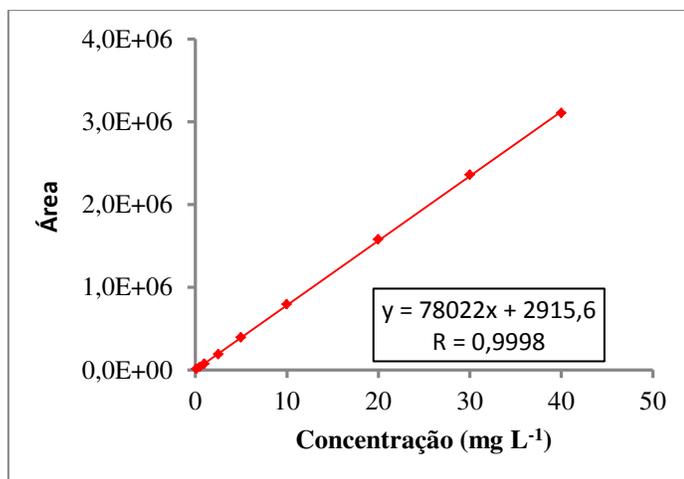
<b>Concentrações Iniciais</b>	<b>Recuperação OASIS HLB</b>	<b>Recuperação Varian</b>
<b>µg/L</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>
25	91,4	77,1
50	79,3	75,3
100	95,5	72,6
250	86,1	76,0
500	98,1	76,0

### 5.3. Validação

O processo de validação do método analítico para a determinação de ivermectina em solução aquosa por HPLC ocorreu simultaneamente ao seu próprio desenvolvimento, durante o qual se verificou a possibilidade de supressão de algumas etapas de preparação da amostra, descritas no item 5.3. Na Figura 12, é apresentada a curva analítica dinâmica da ivermectina para HPLC-UV.

Durante o desenvolvimento do método analítico, verificou-se a necessidade de incluir baixos valores de concentração de ivermectina na curva de trabalho (0,12 - 2,5 mg L<sup>-1</sup>) pois, mesmo após a concentração das amostras por SPE, o fármaco poderia estar presente em níveis muito inferiores nas soluções tratadas pelos processos de degradação em relação à amostra inicial, que ainda precisava ser diluída antes da injeção cromatográfica.

De acordo com os dados da Figura 11, o coeficiente linear obtido foi superior a 0,99, atendendo os requisitos necessários conforme recomendação da ANVISA (2003). A sensibilidade, representada pelo coeficiente angular da curva analítica foi de 77896 unidades de absorvância L mg<sup>-1</sup>.



**Figura 12.** Curva analítica dinâmica de ivermectina em metanol para HPLC.

Os parâmetros de validação obtidos para o método de determinação de ivermectina em solução aquosa por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta são apresentados na Tabela 8.

**Tabela 8.** Parâmetros de validação obtidos para a determinação de ivermectina em solução aquosa por HPLC-UV.

Parâmetros de Validação (HPLC-UV)	Ivermectina
Limite de detecção	0,13 mg L <sup>-1</sup>
Limite de quantificação	0,39 mg L <sup>-1</sup>
Exatidão	95 a 104%
<b>PRECISÃO</b>	
Inter-ensaio	RSD (%)
20 mg L <sup>-1</sup> (n = 3)	1,08
30 mg L <sup>-1</sup> (n = 3)	0,64
40 mg L <sup>-1</sup> (n = 3)	1,53
Intra-ensaio	RSD (%)
20 mg L <sup>-1</sup> (n = 5)	0,72

Todos os parâmetros de validação obtidos enquadraram-se nos limites aceitáveis para fornecer resultados confiáveis, caracterizando uma boa separação cromatográfica, com exatidão e precisão aceitáveis.

#### 5.4. Ensaios em branco

Na Tabela 9 são apresentados os resultados do ensaio em branco realizado a fim de se determinar uma possível perda de ivermectina no reator.

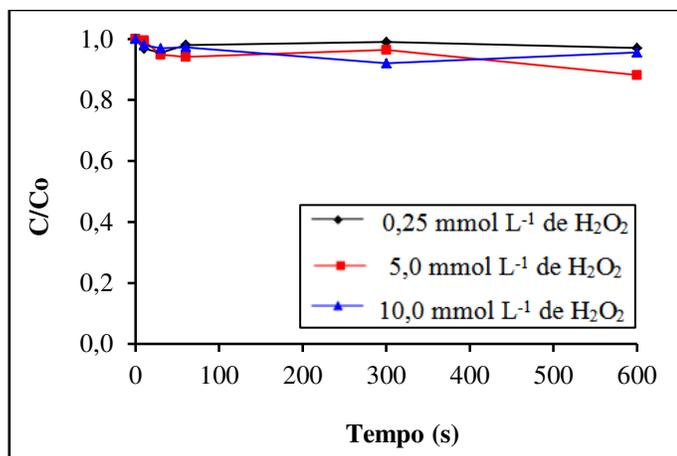
**Tabela 9.** Recuperação da ivermectina após ensaio em branco.

Tempo reação (min)	Concentração inicial da amostra ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Concentração final da amostra ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Recuperação (%)
60	437,65	423,58	96,80
10	466,76	472,25	101,18
10	451,50	490,44	108,63

Como é possível observar pelos dados apresentados na Tabela 9, após 60 minutos de contato da solução com o reator, houve uma variação de aproximadamente 3,2% na concentração de ivermectina, que caracteriza o erro do método.

#### 5.5. Degradação de ivermectina por peroxidação

Na Figura 13 são apresentados os resultados obtidos para degradação de ivermectina em solução aquosa pelo processo oxidativo de peroxidação com aplicação de diferentes concentrações do oxidante peróxido de hidrogênio.

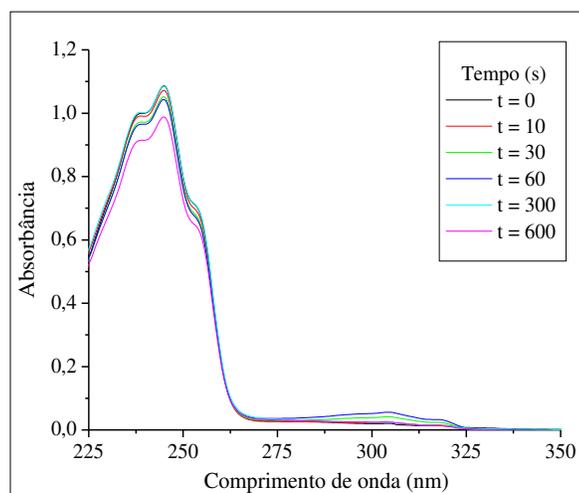


**Figura 13.** Variação da concentração de ivermectina na peroxidação em diferentes teores iniciais do oxidante. Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Observa-se que o processo de peroxidação não resultou em degradação significativa da ivermectina, independentemente da concentração inicial de peróxido de hidrogênio empregada ( $0,25$ ,  $5,0$  ou  $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ). A eficiência máxima de degradação foi de  $8\%$ , no tempo de  $300 \text{ s}$ , na concentração de peróxido de hidrogênio de  $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ . Por meio da determinação de peróxido de hidrogênio residual, verificou-se que não houve consumo do agente oxidante nas três concentrações avaliadas.

O emprego do peróxido de hidrogênio como agente de desinfecção de água pode ocorrer de forma isolada ou combinada (Mattos *et al.*, 2003), porém mostra-se ineficiente quando aplicado em processos de degradação de substâncias orgânicas na forma isolada. Catalkaya e Kargi (2009) utilizaram reagente de Fenton para avaliar a degradação do herbicida simazina em solução aquosa. Para efeito de comparação, os autores realizaram experimentos com peróxido de hidrogênio na ausência do íon ferro e obtiveram degradação de apenas  $3,5\%$  de simazina, para uma dose inicial do inseticida de  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ .

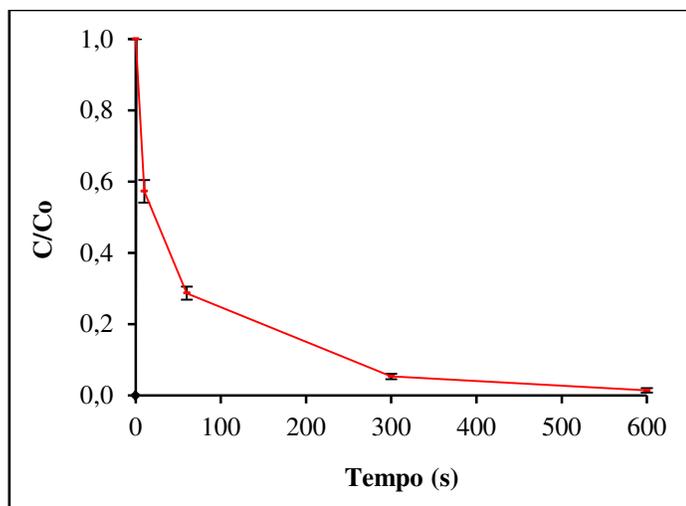
Os espectros de varredura no UV, apresentados na Figura 14, corroboram os resultados de degradação de ivermectina da solução. Demonstram também que não houve transformação na estrutura do fármaco nos intervalos de tempos avaliados. Dessa forma, pode-se assegurar que o processo é ineficiente para os objetivos desta pesquisa.



**Figura 14.** Espectros de varredura no UV da solução de ivermectina nos diferentes intervalos de tempo de reação com peróxido de hidrogênio a  $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ . Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

## 5.6. Degradação de ivermectina por fotólise

Na Figura 15 estão representados os resultados obtidos, em triplicata, para a degradação de ivermectina em solução aquosa com aplicação do processo de fotólise. Observa-se uma elevada porcentagem de degradação ou modificação das moléculas de ivermectina: aproximadamente 95% após 300 s de irradiação e, a partir deste intervalo, a taxa de degradação manteve-se constante até o tempo de 900 segundos. Observa-se também que a reação ocorreu mais rapidamente nos primeiros 60 s, quando atingiu, aproximadamente, 70% de degradação do fármaco. Os ensaios, realizados em triplicata, indicaram que os resultados foram repetíveis (desvio padrão máximo de 5,5%) e que o intervalo de tempo de 600 s mostrou ser suficiente para realização dos experimentos. Na Figura 15 são apresentadas as varreduras no UV-visível da degradação de ivermectina por fotólise.

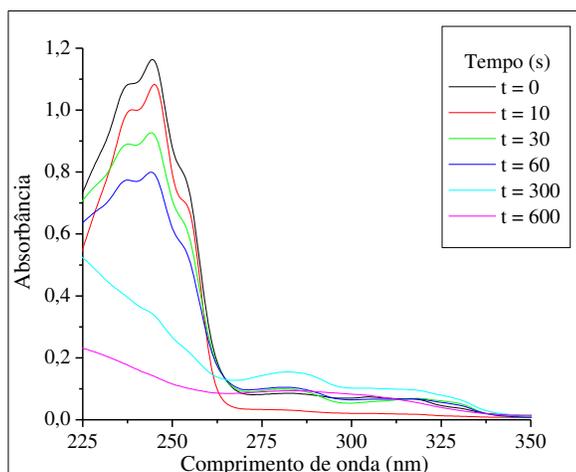


**Figura 15.** Degradação de ivermectina em solução aquosa por fotólise em triplicata com médias e respectivos desvios padrões. Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Pelos espectros de varredura no UV-visível (Figura 16) é possível observar que a ivermectina inicialmente presente na solução sofreu modificações em sua estrutura a cada intervalo de tempo avaliado. Até 60 s de reação, ocorreu uma diminuição da banda de absorção característica da ivermectina (245 nm) e a partir de 300 s, observa-se a degradação do pico correspondente aos anéis aromáticos condensados presentes na molécula do fármaco.

Kim e colaboradores (2009) utilizaram a fotólise para avaliar a degradação de 41 fármacos de águas residuais. Ao contrário da elevada eficiência de degradação da ivermectina por fotólise observada neste estudo, os autores obtiveram uma boa degradação apenas para alguns dos 41 fármacos por eles avaliados, como cetoprofeno, diclofenaco e antipirina. Para moléculas mais complexas, como os antibióticos macrolídeos claritromicina, eritromicina e azitromicina foram obtidas eficiências de degradação extremamente baixas, mesmo com uma considerável dose de radiação UV de  $2.768 \text{ mJ cm}^{-2}$ . Em contrapartida, neste trabalho, ao aplicar uma dose de radiação UV em torno de dez vezes inferior,  $282 \text{ mJ cm}^{-2}$ , correspondente a 60 s de reação, obteve-se 70% de degradação de ivermectina da solução e, com aplicação de dose semelhante à utilizada por Kim e colaboradores (2009), ou seja,  $2.820 \text{ mJ cm}^{-2}$ , correspondente a 600 s de reação, foi possível observar a completa degradação da molécula de ivermectina. Ao avaliar a estrutura química das moléculas em questão, nota-se que as substâncias que apresentam ligações

insaturadas em seus anéis, como o cetoprofeno, o diclofenaco, a antipirina e a ivermectina, são degradadas com maior eficiência do que aquelas que apresentam ligações saturadas em seus anéis, como é o caso da claritromicina, eritromicina e azitromicina. Isto indica que a fotólise atua, principalmente, nas ligações insaturadas dos anéis aromáticos, ou de lactona (ivermectina) dos fármacos, mostrando-se ineficiente para moléculas cuja forma mais estável ocorre com a presença de anéis com ligações químicas saturadas.



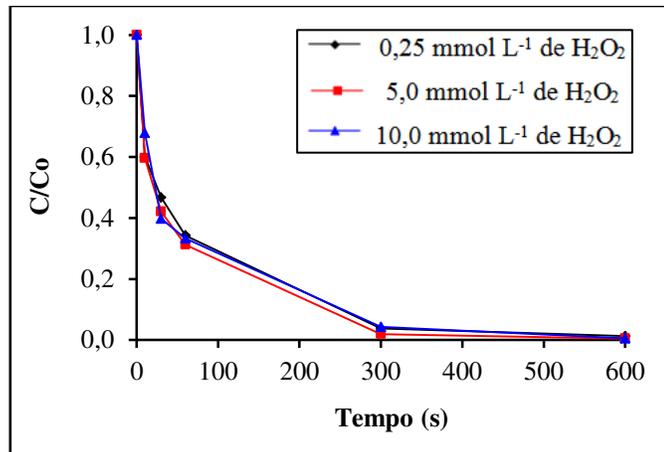
**Figura 16.** Espectros de varredura no UV da solução de ivermectina pela fotólise nos diferentes intervalos de tempo de irradiação UV. Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

### 5.7. Degradação de ivermectina por UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

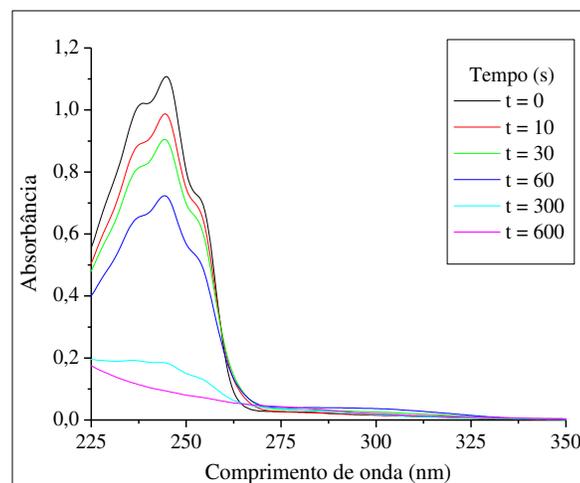
Na degradação de ivermectina em solução aquosa por meio do processo de peroxidação assistida por radiação ultravioleta (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), empregaram-se diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio, como mostrado na Figura 17. Pelos resultados obtidos nos testes foi possível sugerir que, independentemente da concentração do oxidante utilizada (0,25, 5,0 ou 10,0 mmol L<sup>-1</sup>), as remoções foram superiores a 65%, quando submetidos a 60 s de fotoreação, que corresponde a uma dose de radiação de  $282 \text{ mJ cm}^{-2}$ . Ao aplicar uma dose de radiação cinco vezes maior ( $1410 \text{ mJ cm}^{-2}$ , correspondente a 300 s), a eficiência de remoção do fármaco atingiu 96%.

Em processos oxidativos avançados, deve-se trabalhar sempre com excesso de agente oxidante, neste caso, o peróxido de hidrogênio, pois, para que a reação que origina radicais se inicie, é necessário que ocorra o consumo de uma quantidade do próprio agente oxidante, sem que isso resulte em aumento no número de radicais (Pryor, 1970). Por outro lado, uma dosagem apropriada de peróxido de hidrogênio pode dificultar a ocorrência da fotólise direta (Yuan *et al.*, 2009). Comumente, espera-se que, dadas as quantidades adequadas de agente oxidante, a degradação da substância de interesse por fotólise direta, e também pela geração de radicais hidroxila, intermediada pelo peróxido de hidrogênio, ocorram simultaneamente, o que resultaria teoricamente em um aumento da taxa de degradação do fármaco da solução. Entretanto, não se observou diferença na taxa de degradação de ivermectina entre as concentrações avaliadas, ou seja, 0,25, 5,0 e 10,0 mmol L<sup>-1</sup>, nos ensaios de UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ao comparar estes resultados com a Figura 14 (fotólise), ficam evidentes as elevadas taxas e eficiências na degradação de ivermectina na presença e ausência de peróxido de hidrogênio, porém não se observa influência do agente oxidante sobre o processo de degradação do fármaco. A fotólise parece ser o processo mais eficiente na degradação do composto alvo, no entanto, é necessário que se conheça os intermediários e a toxicidade resultante em ambos os processos.

Na Figura 17 observam-se os sinais de varredura na região do espectro ultravioleta da solução aquosa de ivermectina quando submetida ao processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com concentração de agente oxidante de 5,0 mmol L<sup>-1</sup>. Assim como ocorreu nos ensaios realizados apenas com aplicação de radiação ultravioleta (Figura 15), houve uma diminuição nos picos de absorção resultante da diminuição da concentração de ivermectina até 60 s de tratamento e, após esse período, a degradação completa do fármaco. Os espectros também revelam uma modificação ligeiramente superior do fármaco, especialmente no intervalo de 300 s, comparado com o processo de fotólise (Figura 15), o que indica que a presença do peróxido de hidrogênio pode resultar na geração de diferentes produtos de degradação entre ambos os processos.



**Figura 17.** Degradação de ivermectina por peroxidação assistida por luz UV em diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio. Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .



**Figura 18.** Espectros de varredura no UV da solução de ivermectina nos diferentes intervalos de tempo submetidas ao processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ( $C_{\text{H}_2\text{O}_2} = 5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Da Silva e colaboradores (2011), ao avaliarem a degradação de flumequina presente em solução aquosa por UV e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, observaram uma taxa de degradação do fármaco bastante superior, aproximadamente o dobro, ao combinar radiação ultravioleta com peróxido de hidrogênio ( $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ) quando comparado ao uso somente da radiação. A degradação do

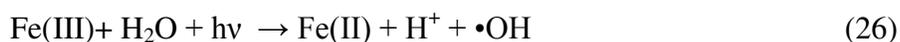
antimicrobiano foi também confirmada pelos espectros de varredura no UV. No entanto, são compostos de diferentes classes e estrutura molecular.

A aplicação dos POA na degradação de diversos compostos químicos tem sido avaliada. Um exemplo disso é o estudo de Amorin e colaboradores (2009), que compararam a degradação do corante RR195 pela aplicação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Os autores concluíram que o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> apresentou a melhor eficiência de degradação: 100% em 50 min de ensaio, contra 75% de degradação com 120 min para o processo UV, e menos de 10% quando aplicado apenas H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup>. Entretanto, até o momento, não foram encontrados na literatura estudos sobre a degradação de ivermectina em solução aquosa.

## 5.8. Degradação de ivermectina pelos processos de Fenton e foto-Fenton

Para o processo Fenton, a máxima degradação de ivermectina presente em solução aquosa ocorreu nos primeiros 60 s de reação. Após esse período, a taxa de reação tornou-se constante e muito baixa. Portanto, o processo Fenton mostrou-se efetivo para os objetivos desta pesquisa apenas na fase inicial de reação. Resultados semelhantes foram obtidos por Elmolla e Chaudhuri (2009a), que avaliaram a degradação dos antibióticos beta-lactâmicos amoxicilina, ampicilina e cloxacilina em solução aquosa pelo processo Fenton e observaram que a máxima degradação dos fármacos ocorreu nos dois primeiros minutos de reação.

O aumento da reatividade no processo foto-Fenton, quando comparado ao reagente de Fenton, é atribuído à geração simultânea de radicais hidroxila pelos processos Fenton (Equação 24) e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Equação 25), além da fotorredução do íon Fe(III) a Fe(II), de acordo com a Equação 26 (Méndez-Arriaga *et al.*, 2010).



A partir das Equações 24 a 26, é possível observar que o íon Fe(II) é continuamente regenerado no meio reacional e, portanto, não é esgotado durante a oxidação. Além disso, a formação de complexos de ferro, tais como (FeOH<sup>2+</sup>) (Equação 27), podem atuar como uma fonte adicional de radicais hidroxila na reação de foto-Fenton, de acordo com a Equação 28 (Méndez-Arriaga *et al.*, 2010; Papic *et al.*, 2009).



Observou-se que não houve consumo significativo de peróxido de hidrogênio durante a degradação de ivermectina pelo processo Fenton quando foram utilizados 0,25 e 5,0 mmol L<sup>-1</sup> de Fe(II) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, respectivamente, mesmo com 600 s de reação. O baixo consumo de peróxido de hidrogênio está de acordo com os resultados obtidos para degradação mostrados na Figura 18 (inferiores a 20% de degradação). A baixa degradação de ivermectina nessas condições pode estar associada com o excesso de peróxido de hidrogênio em solução que, neste caso, é o dobro do peróxido de hidrogênio presente na razão de Fe(II):H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1:5, condição que apresentou maior a maior eficiência no processo Fenton (90% de degradação).

No processo no qual se utilizou o reagente de Fenton, o ferro e o peróxido de hidrogênio são os dois principais reagentes químicos, os quais são responsáveis pelo custo e pela eficiência do tratamento. Tekin e colaboradores (2006) relataram que, quando um, ou ambos os reagentes (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou Fe(II)), estão em excesso, eles podem reagir com os radicais hidroxila, de acordo com as Equações 29 (Hu *et al.*, 2008) e 30 (Elmolla e Chaudhuri, 2009a), reduzindo a eficiência de oxidação dos compostos alvo. Dessa forma, torna-se bastante relevante a verificação da influência da concentração de cada reagente, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou Fe(II), no processo de degradação.



O radical hidroperoxila ( $\text{HO}_2^\bullet$ ) formado (Equação 29) apresenta um potencial de redução ( $E^\circ = 1,42 \text{ V}$ ) inferior ao do radical hidroxila ( $E^\circ = 2,80 \text{ V}$ ) (Nogueira *et al.*, 2007).

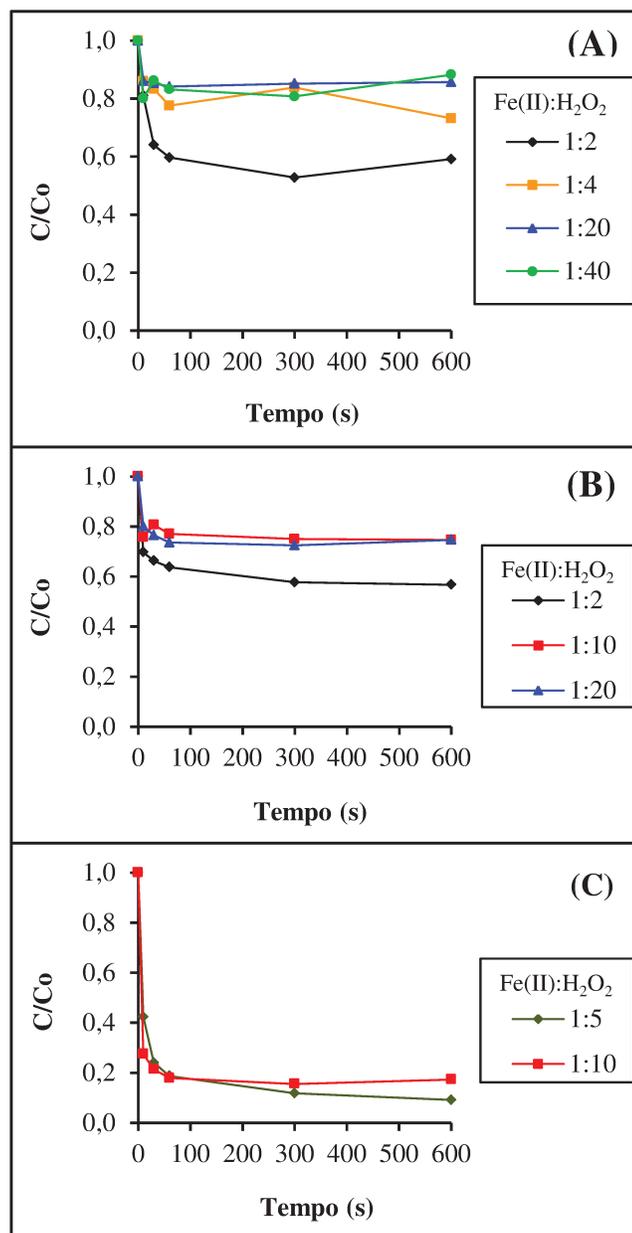
Burbano e colaboradores (2008) verificaram que a degradação do metil-terc-butil éter (MTBE) aumentou quando foram empregadas concentrações de peróxido de hidrogênio de 2 a 4 vezes maiores do que a concentração de Fe(II) como, por exemplo, razões molares de Fe(II): $\text{H}_2\text{O}_2$  de 0,50:1 e 0,25:1, respectivamente. O oposto ocorreu quando a concentração de peróxido de hidrogênio foi 10 vezes superior à de Fe(II) (razão molar Fe(II): $\text{H}_2\text{O}_2$  de 0,10:1), ou seja, nessas condições, a degradação do MTBE diminuiu. Xu e colaboradores (2004), em seus estudos sobre degradação do mesmo corante por reagente de Fenton, também verificaram que as razões molares de Fe(II): $\text{H}_2\text{O}_2$  de 0,25:1 e 0,20:1 produziram melhores resultados se comparados com a razão molar de 1:1 de Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ . No entanto, para doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  7,5 vezes superiores às doses de Fe(II), a degradação de MTBE iniciou um processo de desaceleração, uma vez que o sequestro de radicais hidroxila pelo excesso de peróxido de hidrogênio tornou-se significativo. Portanto, a baixa degradação de ivermectina quando utilizados 0,25 e 5,0  $\text{mmol L}^{-1}$  de Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  (doses de  $\text{H}_2\text{O}_2$  20 vezes maiores do que a dose de Fe(II)) está de acordo com os resultados obtidos por Burbano e colaboradores (2008) e Xu e colaboradores (2004).

Ao utilizar 0,5  $\text{mmol L}^{-1}$  de Fe(II) e 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , um aumento de aproximadamente 25% na degradação da ivermectina em solução aquosa (superior a 40%) foi observado, quando comparado ao ensaio em que foram utilizados 0,25 e 5,0  $\text{mmol L}^{-1}$  de Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , respectivamente. O consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi avaliado ao longo da reação e, após 600 s, ainda havia uma concentração significativa de peróxido de hidrogênio residual no meio reacional.

O ensaio com reagente de Fenton que produziu a maior degradação de ivermectina da solução (aproximadamente 90%) foi realizado com 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$  de Fe(II) e 5,0  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ou seja, quando foi utilizado peróxido de hidrogênio em concentração 5 vezes maior do que o Fe(II). Nestas condições, não foi detectado peróxido de hidrogênio residual no meio reacional após 600 s de tratamento, indicando que a proporção de reagentes Fe(II)/ $\text{H}_2\text{O}_2$  utilizada foi adequada.

### 5.8.1. Influência da concentração de $\text{H}_2\text{O}_2$ no processo Fenton

Na Figura 19 são apresentados os resultados de degradação de ivermectina de solução aquosa por reagente de Fenton em diferentes concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .



**Figura 19.** Degradação de ivermectina por reagente de Fenton em diferentes concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$  e do íon Fe(II): (A) 0,25, (B) 0,5 e (C) 1,0 mmol L<sup>-1</sup>. Concentração inicial de IVM 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

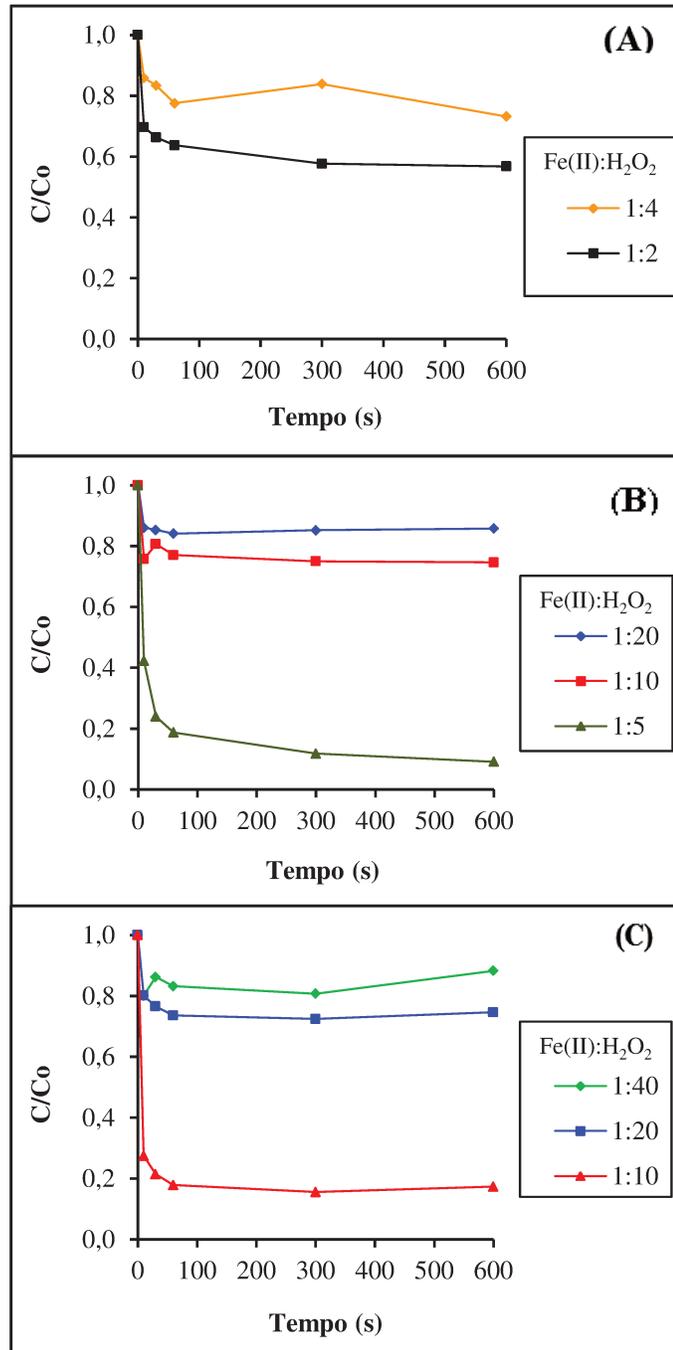
Verifica-se que um aumento na concentração de peróxido de hidrogênio de 0,5 para 10,0 mmol L<sup>-1</sup> ocasionou uma diminuição na eficiência de degradação. As máximas eficiências de degradação foram obtidas usando 1,0 mol L<sup>-1</sup> de Fe(II) e 5,0 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (razão 1:5), maior que 90%, ou 1,0 mol L<sup>-1</sup> de Fe(II) e 10,0 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (razão 1:10), maior que 80%, ou seja, para concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 5 e 10 vezes maiores do que as concentrações de Fe(II), respectivamente. No entanto, os piores resultados foram verificados usando relações molares de Fe(II):H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 0,25:5,0, 0,25:10 e 0,5:10 mol L<sup>-1</sup>, isto é, para concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 ou 40 vezes maiores do que de Fe(II). A menor degradação de ivermectina utilizando-se altas concentrações de peróxido de hidrogênio se deve ao excesso de oxidante no meio, que atua como sequestrador de radicais hidroxila, como relatado por Catalkaya e Kargi (2009).

### **5.8.2. Influência da concentração de Fe(II) no processo Fenton**

Na Figura 20, observa-se a influência da concentração do catalisador no processo Fenton. O aumento na concentração de íon Fe(II) de 0,25 para 1,0 mmol L<sup>-1</sup>, mantendo-se constante a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, resultou em um aumento na eficiência de degradação de ivermectina, ou seja, na taxa de oxidação do fármaco.

Os resultados são consistentes, se comparados com os obtidos por outros pesquisadores para degradação de simazina (Catalkaya e Kargi, 2009), antimicrobianos veterinários (Ben *et al.*, 2009), ibuprofeno (Méndez-Arriaga *et al.*, 2010), amoxicilina (Ay e Kargi, 2010) e redução da demanda química de oxigênio (DQO) de um efluente de uma indústria química contendo piridina e 3-cianopiridina (Padoley *et al.*, 2011).

É importante enfatizar que concentrações de Fe(II) maiores do que de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> não foram avaliadas, uma vez que Yoon e colaboradores (2001) relataram que uma razão molar de Fe(II):H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 2:1 diminui a degradação do t-butanol por reagente de Fenton, em comparação com os resultados obtidos utilizando-se uma razão molar de 1:1. O motivo foi o aumento da competição pelos radicais hidroxila entre o t-butanol e o Fe(II), uma vez que mais Fe(II) estava disponível e o sequestro do radical hidroxila pelo íon Fe(II) tornou-se mais significativo. Neyens and Baeyens (2003) relataram que a razão molar Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> deve ser inferior a 1 para que se obtenha uma maior eficiência de degradação.



**Figura 20.** Degradação de ivermectina por Fenton em diferentes concentrações de Fe(II). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: (A) 1,0 (B) 5,0 e (C) 10,0 mmol L<sup>-1</sup>. Concentração inicial de IVM 500 µg L<sup>-1</sup>.

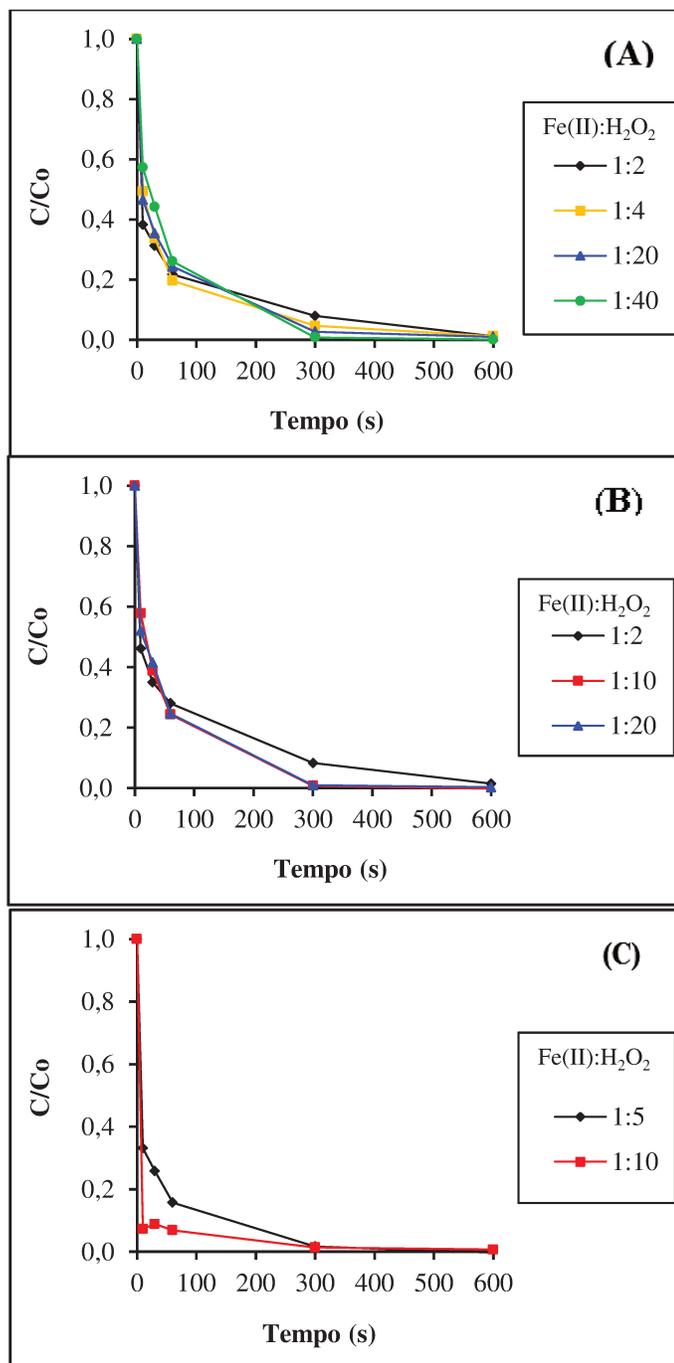
### **5.8.3. Degradação de ivermectina em solução aquosa pelo processo foto-Fenton**

Em todos os experimentos com foto-Fenton, o consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi elevado e ocorreu principalmente após 60 s de reação. Dessa forma, a irradiação aplicada ao meio reacional atua rapidamente regenerando Fe(II) a partir de íons Fe(III) produzidos na reação de Fenton e produz radicais hidroxila, de acordo com Elmolla e Chadhuri (2009b).

### **5.8.4. Influência da concentração de $\text{H}_2\text{O}_2$ no processo foto-Fenton**

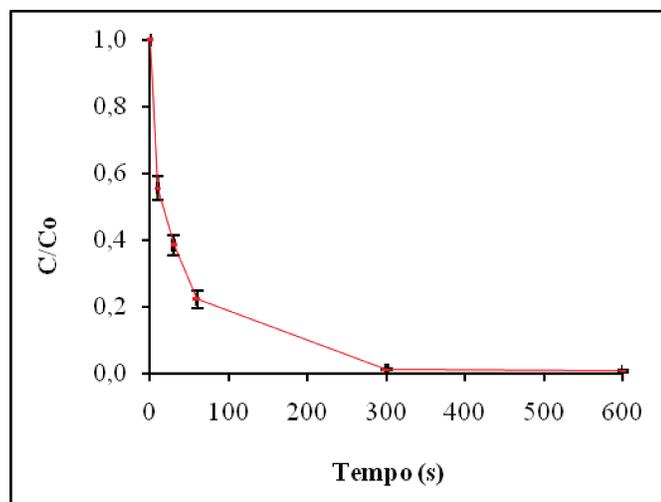
No processo de degradação de ivermectina em solução aquosa por foto-Fenton, não foi observada nenhuma influência significativa em diferentes concentrações de oxidante, como pode ser notado na Figura 21. Trovó e colaboradores (2008) observaram o mesmo comportamento ao estudar a degradação do paracetamol por foto-Fenton: a cinética de degradação ocorreu independentemente da concentração inicial de peróxido de hidrogênio (1,0 a 5,0  $\text{mmol L}^{-1}$ ). Resultados semelhantes haviam sido obtidos por Trovó e colaboradores em 2005, ao observar que a variação da concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  não apresentava grande influência sobre a degradação dos herbicidas diuron e tebutiuron em meios aquosos utilizando o processo foto-Fenton.

Pode-se notar que, com as concentrações de peróxido de hidrogênio utilizadas, o fármaco foi rapidamente oxidado. Nos primeiros 60 s de reação (dose de UV de  $282 \text{ mJ cm}^{-2}$ ), mais de 80% de ivermectina foi removida, sendo que aproximadamente 100% de degradação foi atingida com 600 s de reação (dose de UV de  $2.820 \text{ mJ cm}^{-2}$ ). Entretanto, é possível observar que, ao se utilizar  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de íon Fe(II) (Figura 21 C), um incremento tanto na taxa de reação, como na eficiência de degradação foi obtido para as duas concentrações de oxidante empregadas ( $5,0$  e  $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ) em relação aos ensaios que utilizaram menores concentrações de íon Fe(II),  $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$  (Figura 21 A) e  $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$  (Figura 21B).



**Figura 21.** Degradação de ivermectina por foto-Fenton em diferentes concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Fe(II): (A) 0,25, (B) 0,5 e (C) 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$ . Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Na Figura 22 são apresentados os resultados em duplicata de degradação de ivermectina por foto-Fenton, com os desvios padrões indicados.



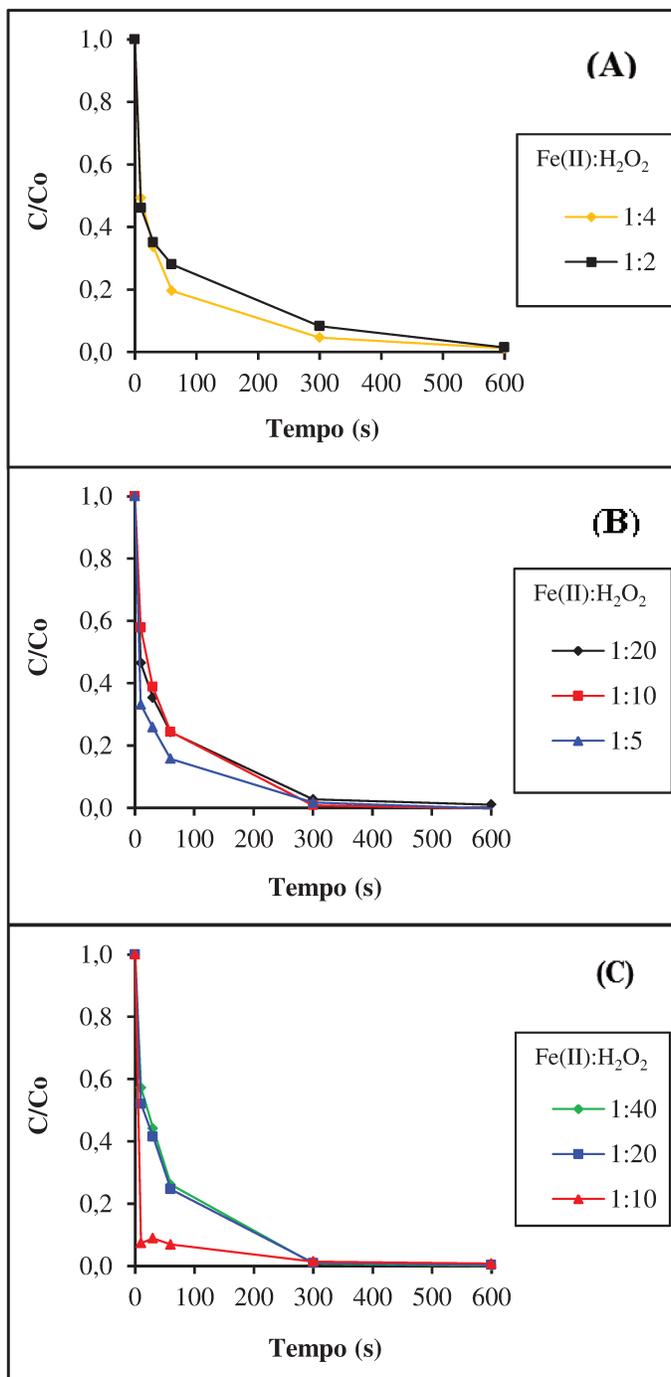
**Figura 22.** Degradação de ivermectina por foto-Fenton em duplicata com médias e respectivos desvios padrões. Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . Concentrações de Fe(II) de  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  e de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de  $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ .

Assim como para o processo Fenton, observa-se na Figura 22, que os resultados obtidos em duplicata para foto-Fenton também apresentaram repetibilidade, em todos os períodos de tempo avaliados, ou seja, no máximo um desvio de 0,2%.

### 5.8.5. Influência da concentração de Fe(II) no processo foto-Fenton

Nos ensaios nos quais foram utilizadas quantidades maiores de Fe(II) resultaram em um ligeiro aumento na eficiência de degradação da ivermectina pelo processo foto-Fenton, como é possível observar na Figura 23.

Com o aumento do tempo de irradiação, as porcentagens de degradação de ivermectina se igualaram, independentemente das condições experimentais avaliadas. Isso indica que a maior influência do Fe(II) ocorreu no início da reação (até 60 s).



**Figura 23.** Degradação de ivermectina por foto-Fenton em diferentes concentrações de Fe(II). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: (A) 1,0 (B) 5,0 e (C) 10,0 mmol L<sup>-1</sup>. Concentração inicial de IVM 500 µg L<sup>-1</sup>.

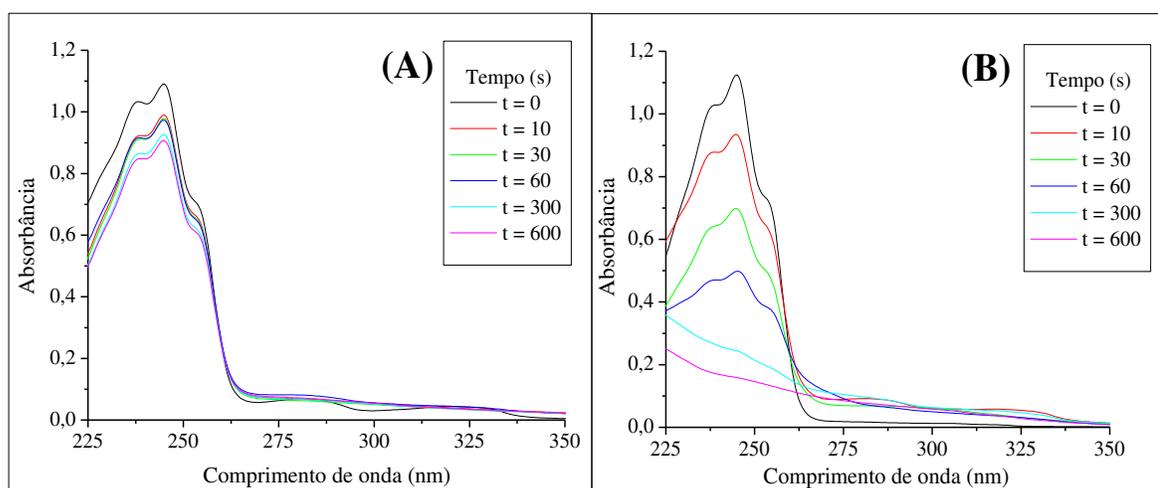
Estes resultados corroboram os obtidos por Zapata e colaboradores (2009), que verificaram um ligeiro aumento na taxa de degradação de uma mistura de cinco pesticidas (oxamil, metomil, dimetoato, imidaclopride e pirimetanil) em água com o aumento da

concentração de Fe(II), durante a oxidação por foto-Fenton. Shemer e colaboradores (2006) também observaram que a taxa e a eficiência de degradação do antibiótico metronidazol foram promovidas por um aumento da concentração de Fe(II) de 2,9 para 5,8  $\mu\text{mol L}^{-1}$  por foto-Fenton. Além disso, Lu e colaboradores (2011) e Elmolla e Chaudhuri (2009b) verificaram que um aumento na concentração do catalisador resultou em uma elevação na taxa de degradação de alguns nematocidas e vários antimicrobianos, corroborando os resultados obtidos neste estudo.

### 5.8.6. Espectrometria UV-Visível

Na Figura 24 são apresentados os espectros de absorção na região UV-Visível para amostras originais e tratadas pelos processos Fenton e foto-Fenton.

É possível observar uma diferença significativa nos espectros UV das amostras tratadas por foto-Fenton. Além disso, para o processo no qual foi utilizado o reagente de Fenton, a banda de absorbância característica da ivermectina diminuiu apenas um pouco ao longo do tempo de reação, indicando a baixa oxidação do fármaco por esse processo oxidativo avançado (Figura 24A).



**Figura 24.** Espectro de absorbância das amostras tratadas por (A) reagente de Fenton e (B) foto-Fenton. Concentração inicial de IVM 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Concentrações iniciais de Fe(II) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 0,5 e 5,0  $\text{mmol L}^{-1}$ , respectivamente.

Para o processo foto-Fenton, a banda de absorvância diminuiu significativamente ao longo do tempo de reação. Nos primeiros 30 s, foi observada uma diminuição na faixa de 230 a 260 nm, indicando a diminuição da concentração de ivermectina em solução. Após esse período, o perfil de absorvância se alterou, mostrando que a ivermectina foi degradada e que os produtos de degradação formados não absorveram fortemente na região UV. A acentuada diminuição das bandas de absorvância na faixa de 230 a 260 nm se deve à destruição das ligações duplas presentes na molécula original do fármaco.

## **5.9. Degradação de ivermectina por fotocatalise com TiO<sub>2</sub> em suspensão**

Abellán e colaboradores (2007), ao avaliarem a degradação do sulfametoxazol por fotocatalise, também observaram que a taxa de degradação foi mais elevada no início do experimento, porém, a maior eficiência de degradação por eles observada (91%) foi obtida com uma solução contendo 100 mg L<sup>-1</sup> de sulfametoxazol com 25 mmol L<sup>-1</sup> de TiO<sub>2</sub> e 6 h de experimento.

A adição de peróxido de hidrogênio ao meio reacional não resultou em incremento na eficiência de degradação da ivermectina quando mantido o pH original do meio reacional, ou seja, utilizando-se apenas TiO<sub>2</sub> na concentração de 0,12 mmol L<sup>-1</sup> (pH = 4,5) e utilizando-se a mesma concentração de TiO<sub>2</sub> e o mesmo valor de pH, acrescido de 0,01 de mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Da mesma forma, não foi demonstrada a influência do pH na degradação de ivermectina em solução aquosa.

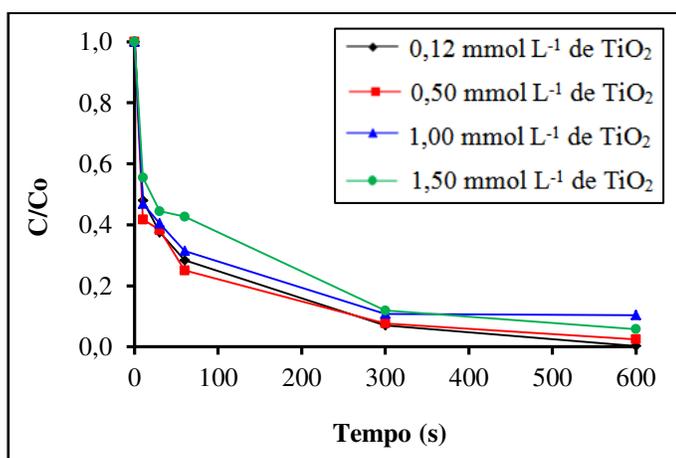
### **5.9.1. Influência da concentração de TiO<sub>2</sub> na fotocatalise**

Os resultados dos ensaios realizados com concentrações variadas do fotocatalisador TiO<sub>2</sub> são apresentados na Figura 25. Observa-se que a eficiência de degradação foi elevada para todas as concentrações de TiO<sub>2</sub> testadas, ultrapassando 85% na oxidação do composto.

Em todos os casos, a taxa de degradação foi elevada no início da reação, apresentando uma queda a partir de 60 s. É possível que isso ocorra devido à formação de subprodutos que passam a competir com as moléculas de ivermectina pelos radicais hidroxila.

Uma pequena diminuição na taxa de degradação foi observada na maior concentração aplicada ( $1,50 \text{ mmol L}^{-1}$ ) quando comparada às demais concentrações de  $\text{TiO}_2$ . Sabe-se que a turbidez causada pelo  $\text{TiO}_2$  em suspensão na solução oferece dificuldade à penetração da radiação ultravioleta no meio, prejudicando a eficiência do processo (Kunz *et al.*, 2002), porém neste caso, este problema pode ter sido minimizado pela constante agitação do meio reacional aliado à pequena espessura da lâmina da solução contida no reator, que não ultrapassa 1,30 cm. Abellán e colaboradores (2007) observaram um aumento na taxa de degradação do sulfametoxazol ( $C_0 = 100 \text{ mg L}^{-1}$ ) quando elevaram a concentração de  $\text{TiO}_2$  de 1,3 para  $6,5 \text{ mmol L}^{-1}$ , em tempos de reações de até 6 h, mas não observaram variação na degradação para concentrações superiores do catalisador.

Em virtude dos resultados obtidos nesta etapa da pesquisa, optou-se por utilizar-se a menor concentração de  $\text{TiO}_2$  dentre as avaliadas, ou seja,  $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$ , na continuidade dos experimentos, inclusive de forma a minimizar os possíveis custos e a produção de resíduos.



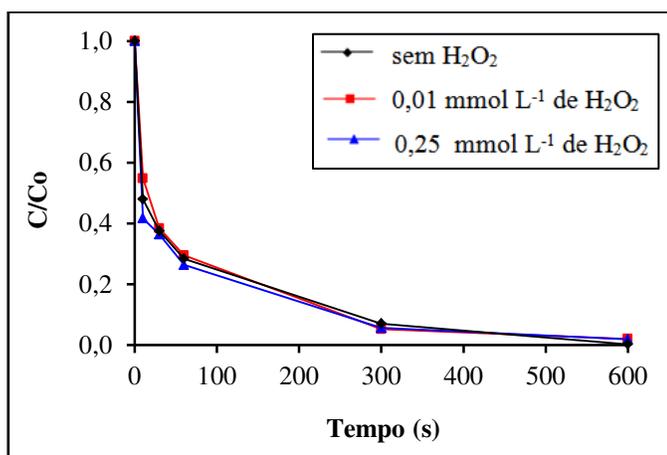
**Figura 25.** Degradação de ivermectina por fotocatalise em diferentes concentrações de  $\text{TiO}_2$ . Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .  $\text{pH} = 4,5$ .

### 5.9.2. Influência da concentração de $\text{H}_2\text{O}_2$

A presença de  $\text{H}_2\text{O}_2$  no sistema UV/ $\text{TiO}_2$  pode resultar em um aumento na taxa de reação devido à geração adicional de radicais hidroxila por UV/ $\text{H}_2\text{O}_2$ . Outra contribuição decorre

do fato de o  $\text{H}_2\text{O}_2$  ser um forte receptor de elétrons, impedindo a recombinação do par elétron-lacuna ao capturar os elétrons na banda de condução oriundos da banda de valência do catalisador, gerando  $\text{HO}\cdot$  e  $\text{OH}^-$ , ao invés do radical mais fraco  $\cdot\text{O}_2^-$ . Entretanto, o excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$  pode acarretar em diminuição na eficiência do processo de degradação devido ao sequestro de radicais hidroxila (gerados por fotólise direta) pelo próprio excesso de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Outra possibilidade, que pode ocorrer simultaneamente, é a oxidação de  $\text{OH}^-$  pelo  $\text{H}^+$ , gerando o radical hidroperoxila, muito mais fraco que o radical hidroxila. Além disso, o radical hidroperoxila pode reagir com o restante de radical hidroxila e formar oxigênio e água (Chu *et al.*, 2007).

Com a finalidade de se determinar a influência da concentração de peróxido de hidrogênio na fotocatalise, foram realizados ensaios com duas diferentes concentrações de  $\text{H}_2\text{O}_2$ : 0,01 e 0,25  $\text{mmol L}^{-1}$ , mantendo-se a concentração de  $\text{TiO}_2$  em 0,12  $\text{mmol L}^{-1}$ , conforme é mostrado na Figura 26.



**Figura 26.** Degradação de ivermectina por fotocatalise com  $\text{TiO}_2$  (0,12  $\text{mmol L}^{-1}$ ) e diferentes teores de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Concentração inicial de IVM 500  $\mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{pH} = 4,5$ .

Os resultados aqui apresentados evidenciam que, mesmo utilizando-se uma elevada diferença na concentração de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,01 e 0,25  $\text{mmol L}^{-1}$ ), nenhuma diferença foi observada na eficiência de degradação da ivermectina em solução ou na taxa da reação, quando realizados os testes sem ajustes no  $\text{pH}$  do meio, ou seja, mantendo-se em 4,5. Ambos os ensaios apresentaram elevadas taxa e eficiência de degradação do fármaco: superior a 60% de degradação com 30 s de

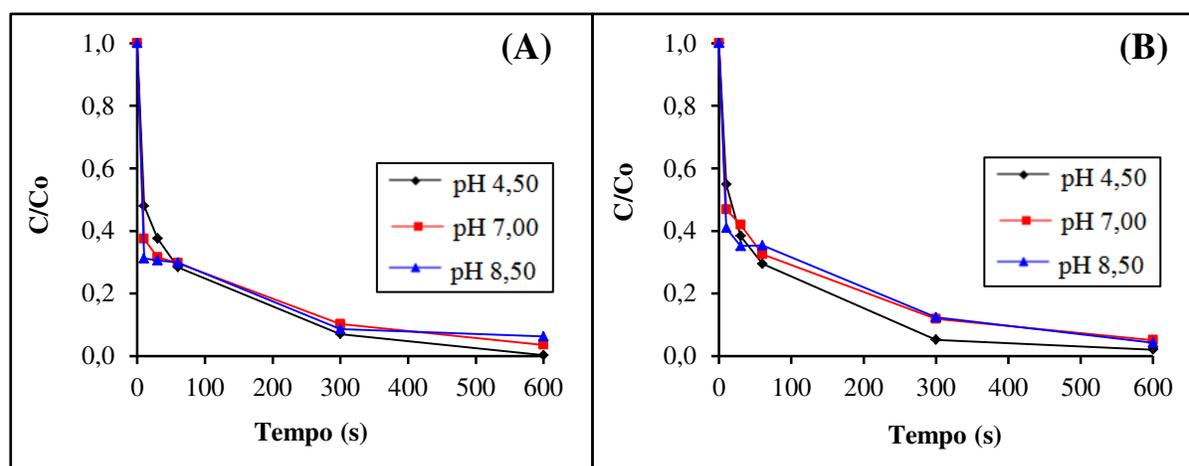
reação ( $141 \text{ mJ cm}^{-2}$ ) e alcançando cerca de 98% quando fornecida uma dose de radiação de  $2.820 \text{ mJ cm}^{-2}$ .

Chu e colaboradores (2007) observaram tanto a melhora, quanto a piora na taxa de degradação da 2-cloroanilina pelo processo UV/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A concentração ótima de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> encontrada pelos autores foi de  $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$  (para  $1,33 \text{ g L}^{-1}$  de TiO<sub>2</sub>). Ao elevar esta concentração para  $100 \text{ mmol L}^{-1}$ , foi constatada uma diminuição de 26% na taxa de degradação.

### 5.9.3. Influência do pH no processo de fotocatalise

Os resultados de degradação da ivermectina por fotocatalise, mantendo-se constante as concentrações de TiO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e variando-se o potencial hidrogeniônico do meio reacional, são apresentados na Figura 27.

Embora a elevada eficiência de degradação da ivermectina ao final de 600 s de reação tenha sido obtida nas três condições de pH, cerca de 98%, o pH não mostrou-se ser um parâmetro importante de influência na taxa da reação. Nos dois ensaios realizados, observou-se uma pequena diferença nas taxas de reação.



**Figura 27.** Degradação de ivermectina por fotocatalise com variação de pH. Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . Concentrações de (A)  $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$  de TiO<sub>2</sub>; (B)  $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$  de TiO<sub>2</sub> e  $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$  de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

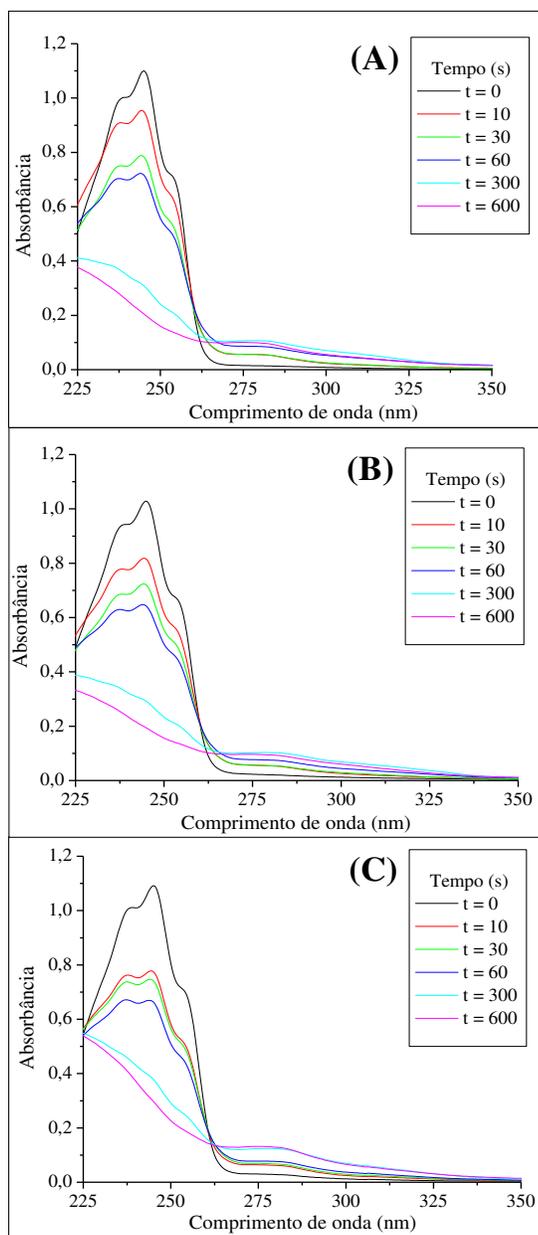
Os resultados são consistente com os encontrados por Son e colaboradores (2009), ao avaliarem o efeito do pH na degradação do agente antimicrobiano triclosan por fotocatalise. Os autores observaram aumento significativo na taxa de degradação ao diminuírem o valor de pH de 10 para 7 (concentração inicial de triclosan de  $1,73 \times 10^{-2}$  mmol L<sup>-1</sup>). Entretanto, nenhuma alteração no processo foi observada nos valores de pH de 3, 5 e 7.

#### **5.9.4. Espectrometria de UV-visível**

Os espectros de absorção na região do UV-visível da ivermectina antes do processo de fotocatalise e após cada intervalo de tempo de ensaio avaliado são apresentados na Figura 28.

É possível verificar que todos os espectros de absorbância das soluções de ivermectina degradada sofreram alterações. Observa-se que inicialmente há uma diminuição gradual do pico de absorbância até 60 s de reação, indicando que a concentração do fármaco na solução diminui ao longo do tempo de reação. Após esse tempo, há uma descaracterização dos picos da ivermectina (245 nm), sugerindo que houve uma mudança na estrutura da molécula, possivelmente com a quebra de seus anéis aromáticos.

As diferenças observadas nos espectros das soluções degradadas de ivermectina sugerem que a formação de subprodutos de degradação distintos, apontando para a necessidade de avaliar se a toxicidade da solução resultante também foi alterada.



**Figura 28.** Espectros de absorvância das amostras de ivermectina submetidas à fotocatalise. Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  e de  $\text{TiO}_2$   $0,12 \text{ mmol L}^{-1}$ . pH 4,5 (A);  $\text{H}_2\text{O}_2$   $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ , pH 4,5 (B);  $\text{H}_2\text{O}_2$   $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ , pH de 7,0 (C).

## **5.10. Degradação de ivermectina pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico**

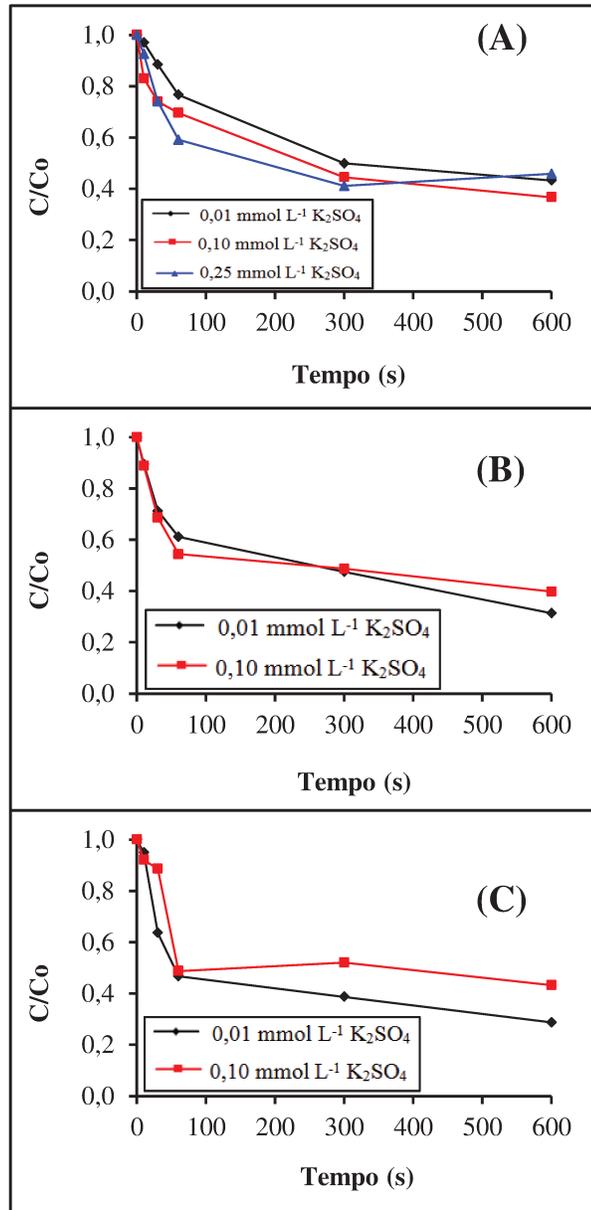
### **5.10.1 Influência da concentração de eletrólito suporte no processo eletroquímico**

Na Figura 29 são apresentadas as degradações de ivermectina pelo processo eletroquímico variando-se a concentração de eletrólito suporte ( $K_2SO_4$ ) e a densidade de corrente elétrica.

Em todos os casos, a degradação aumentou em função do tempo de ensaio a uma taxa elevada até 60 s, a qual diminuiu bruscamente a partir de então.

Para baixas densidades de corrente elétrica, é possível observar que a taxa de degradação da ivermectina sofreu um pequeno aumento ao se elevar a concentração do eletrólito suporte de 0,01 para 0,10 e 0,25  $mmol L^{-1}$  (Figuras 29 A e 29 B). Porém, a partir de 300 s de experimento, as eficiências de degradação mostraram-se muito semelhantes, ou seja, em torno de 50% de degradação do fármaco. Ainda da Figura 29 A, constata-se que não houve aumento da eficiência de degradação na concentração mais elevada de eletrólito suporte utilizada, ou seja, 0,25  $mmol L^{-1}$ , e sim a estabilização em torno de 50%. Dessa forma, não se justifica a aplicação de quantidade tão elevada de reagente; portanto, os demais experimentos foram conduzidos com concentrações de eletrólito suporte de 0,01 e 0,10  $mmol L^{-1}$ .

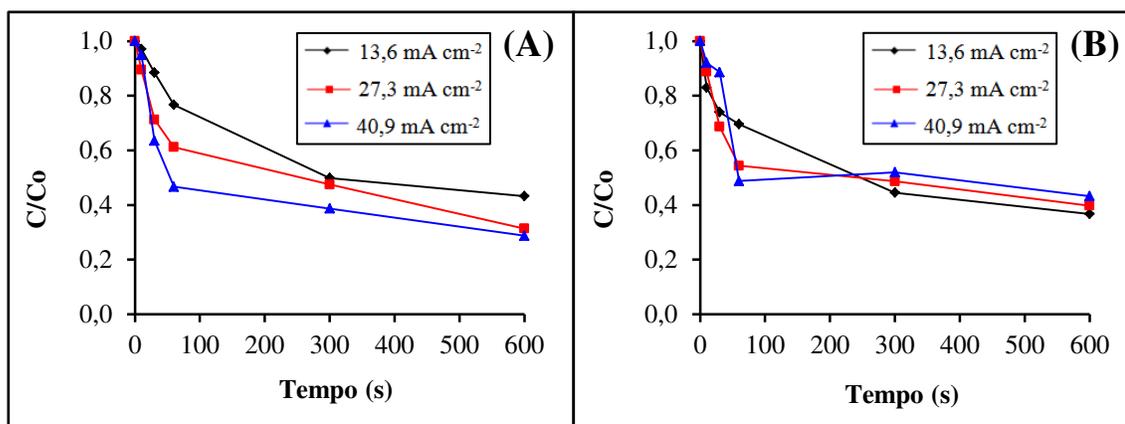
Comparando-se as Figuras 29-B e 29-C, observa-se que os resultados foram semelhantes, tanto com relação às eficiências, quanto às taxas de degradação do fármaco.



**Figura 29.** Degradação de ivermectina pelo processo eletroquímico. Influência da concentração de eletrólito suporte nas densidades de corrente elétrica de  $13,6$  (A),  $27,3$  (B) e  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$  (C). Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

### 5.10.2. Influência da densidade da corrente elétrica no processo eletroquímico

Na Figura 30 são apresentadas as degradações de ivermectina pelo processo eletroquímico variando-se a densidade de corrente elétrica.



**Figura 30.** Degradação de ivermectina pelo processo eletroquímico: influência da densidade de corrente elétrica para concentrações de eletrólito suporte de 0,01 mmol L<sup>-1</sup> (A) e 0,10 mmol L<sup>-1</sup> (B). Concentração inicial de IVM 500 µg L<sup>-1</sup>.

Fukunaga e colaboradores (2008) verificaram que, para altos valores de densidade de corrente e baixas concentrações iniciais de fármaco, apenas uma parte da corrente aplicada é utilizada na reação, sendo o restante consumido na reação secundária de evolução do oxigênio, segundo a Equação 31:



Com exceção do ensaio no qual foram utilizados 0,01 mmol L<sup>-1</sup> de eletrólito suporte e 13,6 mA cm<sup>-2</sup> de densidade de corrente, verifica-se, a partir dos dados apresentados na Figura 30, que não houve influência significativa na eficiência de degradação da ivermectina ao final de 600 s de reação nas demais condições avaliadas, ou seja, em torno de 70% de degradação em (A) e 60% em (B).

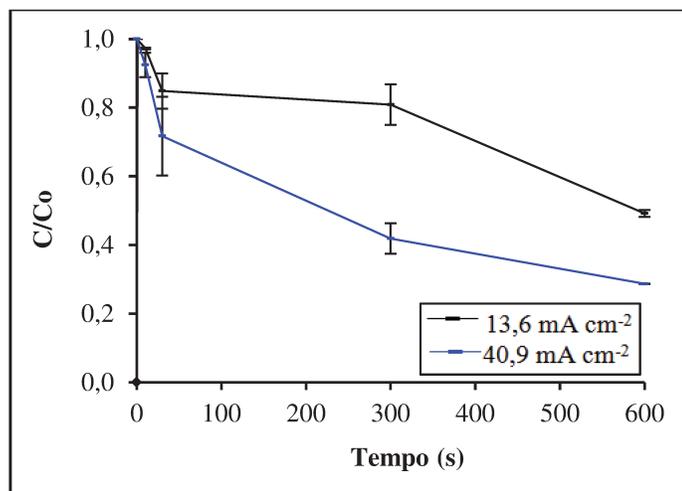
Nos ensaios em que se empregaram  $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$  de eletrólito suporte (Figura 30-A), observa-se uma clara influência da densidade de corrente elétrica na taxa de degradação da ivermectina, especialmente até 60 s de reação. Pode-se observar que ao se elevar a densidade de corrente elétrica de  $13,6$  para  $27,3 \text{ mA cm}^{-2}$ , e de  $27,3$  para  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ , as eficiências de degradação nesse ponto apresentaram um efeito positivo semelhante, ou seja, um aumento de 16% de degradação de  $13,6 \text{ mA cm}^{-2}$  para  $27,3$ , e de 14% de  $27,3$  para  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ . Em contrapartida, na Figura 30-B, é possível verificar a influência da densidade de corrente apenas na taxa de reação até 60 s de ensaio. Rocha e colaboradores (2009) obtiveram resultados semelhantes ao avaliarem a degradação do diclofenaco de sódio pelo processo eletroquímico. Ao utilizarem  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  com  $200 \text{ mg L}^{-1}$  de diclofenaco, os autores avaliaram as intensidades de corrente elétrica de 1, 2, 3 e 4 A. Em todas as condições, foram alcançadas elevadas eficiências de degradação, em torno de 99% em 20 min de experimento com recirculação ( $1,2 \text{ L}$  de solução à vazão de  $200 \text{ L h}^{-1}$ ). Porém, somente foi possível observar influência da corrente elétrica na taxa de degradação do diclofenaco e, ainda assim, apenas ao elevar-se de 1 para 2 A a intensidade da corrente, pois, nas demais condições, tanto as taxas, quanto as eficiências de degradação do fármaco foram semelhantes.

De qualquer forma, ao se comparar os experimentos realizados com  $0,01$  e  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  de eletrólito suporte, observa-se que um aumento de 10 vezes na concentração de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  não resultou em aumento na eficiência do processo.

### **5.10.3. Processo eletroquímico: ensaios realizados em duplicata**

Na Figura 31 são apresentados os ensaios de degradação de ivermectina pelo processo eletroquímico para duas condições em duplicata.

Verifica-se que os resultados obtidos em duplicata apresentaram repetibilidade adequada para os objetivos deste estudo, sendo que os erros máximos obtidos foram 9,5% para  $13,6 \text{ mA cm}^{-2}$  e 7,4% para  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ , com exceção dos dois pontos discrepantes em 60 s de reação.



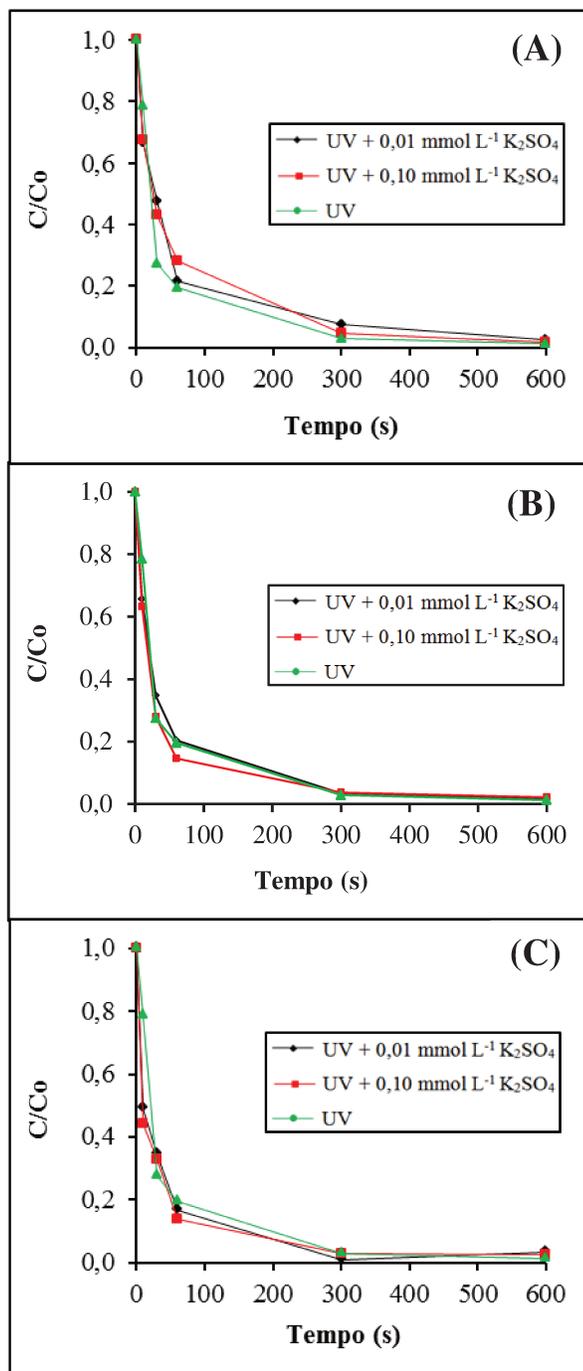
**Figura 31.** Degradação de ivermectina pelo processo eletroquímico em duplicata com médias e respectivos desvios padrão ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ). Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

#### 5.10.4. Influência da concentração de eletrólito suporte no processo fotoeletroquímico

Na Figura 32 são apresentadas as remoções de ivermectina pelo processo fotoeletroquímico variando-se a concentração de eletrólito suporte ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) e a densidade de corrente elétrica.

Ao utilizar densidade de corrente de  $13,6 \text{ mA cm}^{-2}$ , observa-se nitidamente uma ligeira elevação na eficiência de degradação da ivermectina ao se aumentar a concentração de eletrólito suporte de  $0,01$  para  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ , sendo que as degradações máximas foram semelhantes e atingidas ao final de  $600 \text{ s}$  de reação:  $57\%$  para  $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$  e  $63\%$  para  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  de eletrólito suporte.

Entretanto, ao se avaliar a influência da concentração do eletrólito suporte na degradação da ivermectina com densidades de corrente de  $27,3$  e  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ , o comportamento observado é diferente do que ocorre com  $13,6 \text{ mA cm}^{-2}$ . Nos dois casos (Figuras 32-B e 32-C), as taxas de degradação são semelhantes e elevadas até  $60 \text{ s}$  de reação independentemente da concentração de eletrólito suporte.

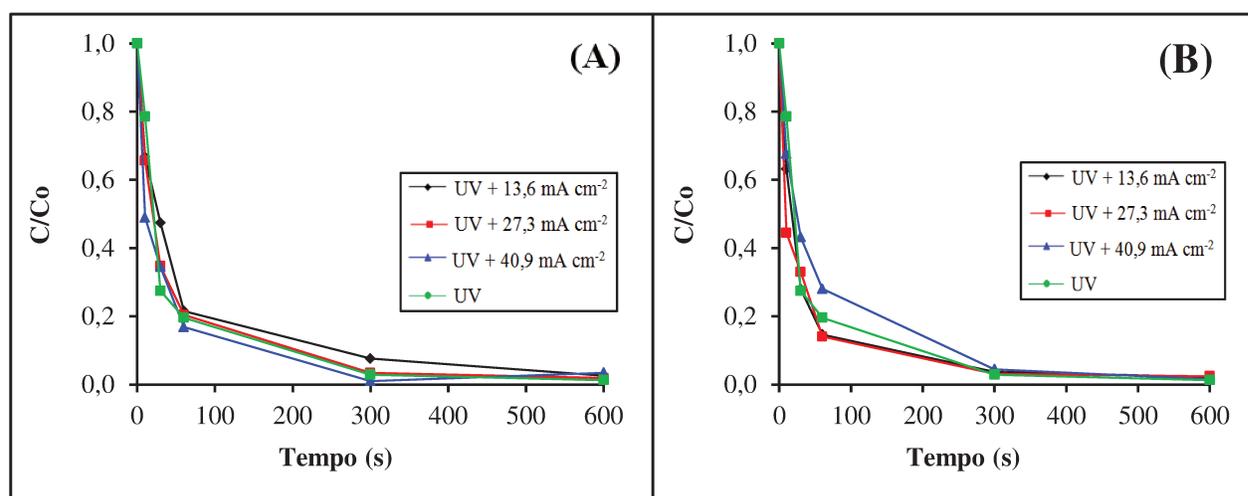


**Figura 32.** Degradação de ivermectina pelo processo fotoeletroquímico. Influência da concentração de eletrólito suporte nas densidades de corrente elétrica de 13,6 (A), 27,3 (B) e 40,9 mA cm<sup>-2</sup> (C). Concentração inicial de IVM 500 µg L<sup>-1</sup>.

A partir daí, ocorre uma queda acentuada na taxa de degradação e, como resultado final, a maior concentração de eletrólito suporte ( $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ ) produz uma eficiência inferior, ou seja, 60 e 57% de degradação com  $27,3$  e  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ , respectivamente, para uma concentração de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  de  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ ; e 69 e 71% de degradação com  $27,3$  e  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ , respectivamente, para uma concentração de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  dez vezes inferior ( $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$ ).

### 5.10.5. Influência da densidade da corrente elétrica no processo fotoeletroquímico

Na Figura 33, são apresentadas as remoções de ivermectina pelo processo fotoeletroquímico variando-se a densidade de corrente elétrica.



**Figura 33.** Degradação de ivermectina pelo processo fotoeletroquímico: influência da densidade de corrente elétrica para concentrações de eletrólito suporte de  $0,01 \text{ mmol L}^{-1}$  (A) e  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$  (B). Concentração inicial de IVM  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Novamente, observa-se que a eficiência de degradação da ivermectina pelo processo fotoeletroquímico é semelhante, ao se variar tanto a concentração de eletrólito suporte ( $0,01$  e  $0,10 \text{ mmol L}^{-1}$ ), como a densidade de corrente elétrica ( $13,6$ ,  $27,3$  e  $40,9 \text{ mA cm}^{-2}$ ). É possível verificar a elevada eficiência de degradação em todos os testes realizados, sendo que a degradação da ivermectina chega a aproximadamente 95% com 300 s de reação, e 99% com 600 s de reação, para quaisquer densidades de corrente elétrica aplicadas.

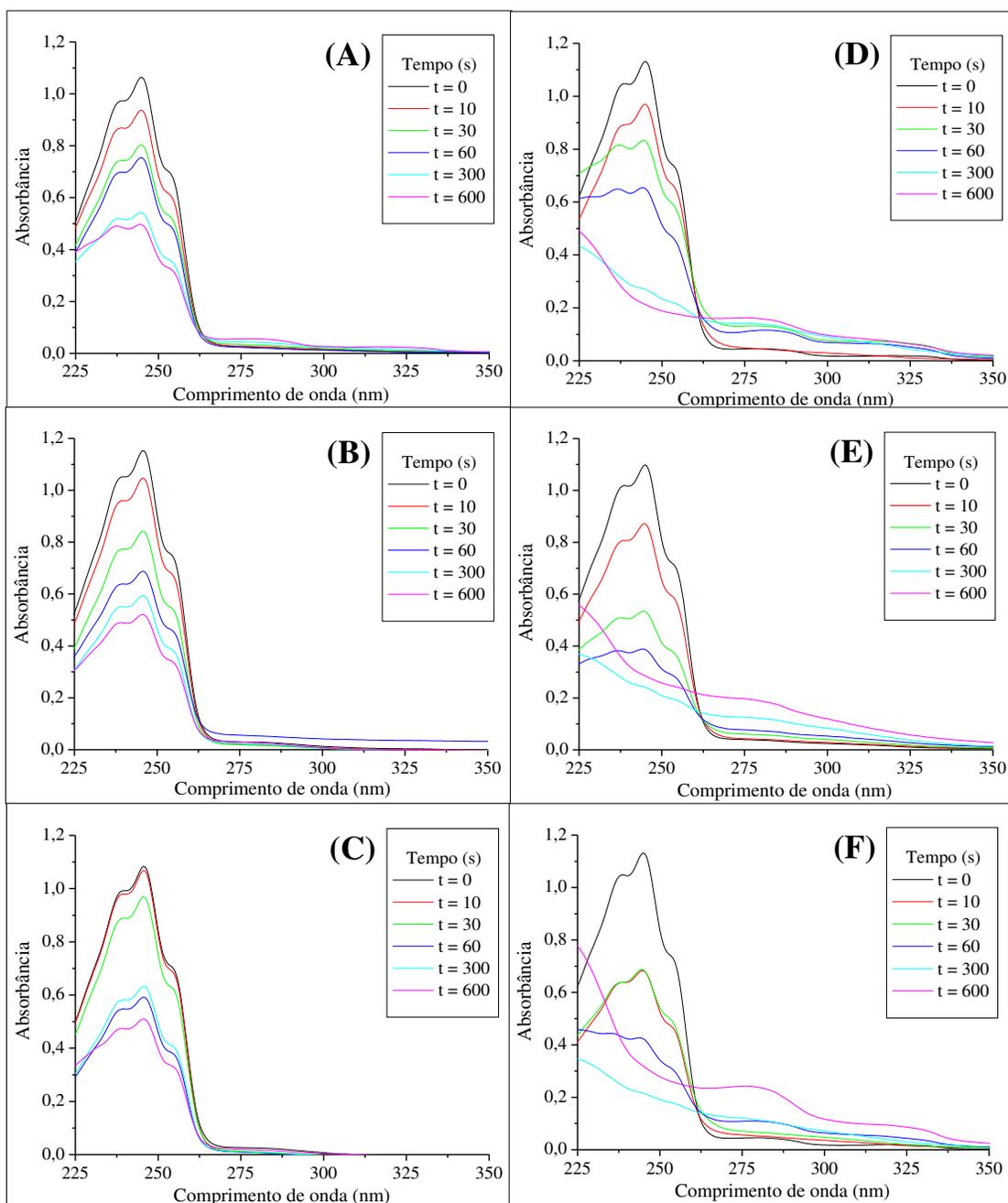
O processo fotoeletroquímico é conhecido por apresentar um efeito sinérgico na elevação das taxas de degradação de substâncias orgânicas, quando comparado ao somatório dos resultados dos processos eletroquímico e fotoquímico separadamente, devido à geração de maior quantidade de radicais hidroxila.

#### **5.10.6. Espectrometria de UV-visível dos processos eletroquímico e fotoeletroquímico**

Os espectros de UV-visível da ivermectina antes dos tratamentos pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico, e após cada intervalo de tempo de ensaio avaliado, são apresentados na Figura 34.

É possível verificar que as moléculas apresentam um pico de máxima absorvância em  $\lambda$  245 nm. Observa-se que há uma gradual diminuição do pico de absorvância até 600 s de reação no processo eletroquímico, indicando que a concentração do fármaco na solução diminui ao longo do tempo de reação. O mesmo ocorre com as soluções tratadas pelo processo fotoeletroquímico, porém a partir de 300 s é possível observar a completa degradação do pico da ivermectina em 245 nm.

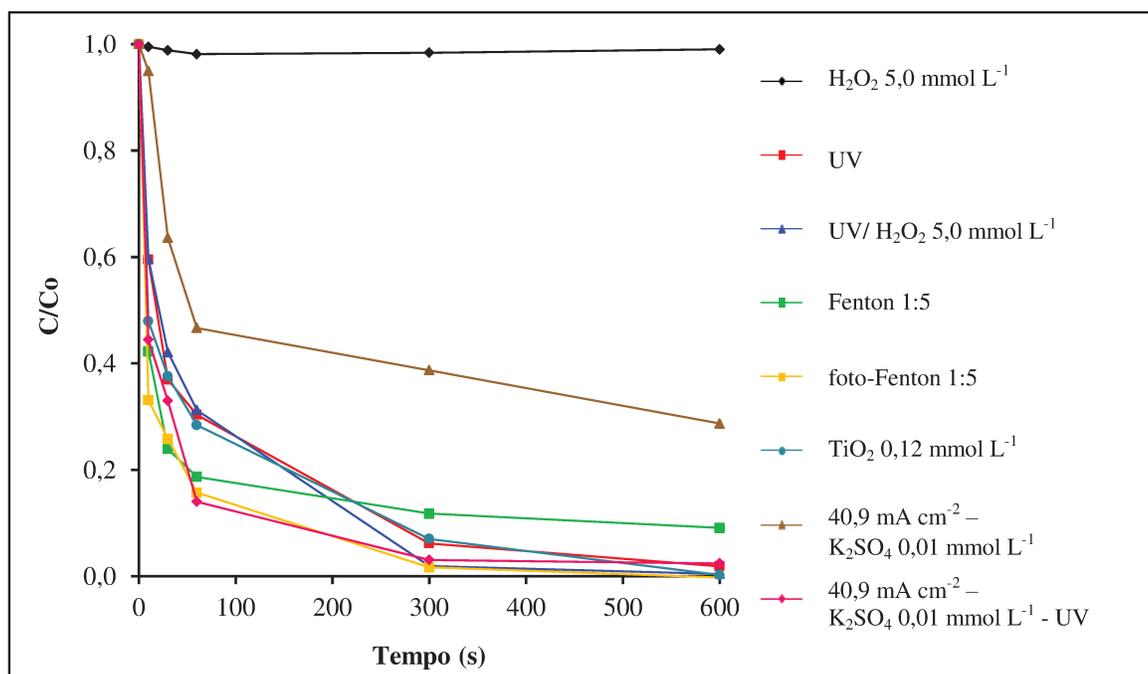
Nos experimentos fotoeletroquímicos realizados com  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  e densidade de corrente elétrica de  $27,3 \text{ mA cm}^{-2}$ , é possível observar a formação de duas novas bandas de absorvância na faixa de 270-290 nm e de 310-330 nm, indicando a possível formação de produtos de degradação que não estavam presentes anteriormente na solução e que há diferença na rota de degradação da ivermectina nas diferentes condições de eletrólito suporte e densidade de corrente.



**Figura 34.** Espectros de absorvância das amostras de ivermectina tratadas pelos processos eletroquímico e fotoeletroquímico. Concentração inicial de IVM 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Concentrações de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  de 0,10 mol  $\text{L}^{-1}$ . Densidade de corrente elétrica de 13,6 mA  $\text{cm}^{-2}$  em (A) eletroquímico e (D) fotoeletroquímico; 27,3 mA  $\text{cm}^{-2}$  em (B) eletroquímico e (E) fotoeletroquímico; 40,9 mA  $\text{cm}^{-2}$  em (C) eletroquímico e (F) fotoeletroquímico.

## 5.11. Degradação de Ivermectina em solução aquosa: comparação entre os processos UV, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Fenton, foto-Fenton, fotocatalise, eletroquímico e fotoeletroquímico

Na Figura 35, são apresentadas as degradações de ivermectina por fotólise, peroxidação, peroxidação assistida por luz UV, Fenton, foto-Fenton, fotocatalise, eletroquímico e fotoeletroquímico.



**Figura 35.** Degradação de ivermectina por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5,0 mmol L<sup>-1</sup>), UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5,0 mmol L<sup>-1</sup>), Fenton (Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1,0/5,0 mmol L<sup>-1</sup>), foto-Fenton (Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1,0/5,0 mmol L<sup>-1</sup>), fotocatalise (TiO<sub>2</sub> 0,12 mmol L<sup>-1</sup>), eletroquímico (40,9 mA cm<sup>-2</sup>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 mmol L<sup>-1</sup>) e fotoeletroquímico (40,9 mA cm<sup>-2</sup>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 mmol L<sup>-1</sup>). Concentração inicial de IVM 500 μg L<sup>-1</sup>.

Verifica-se que a degradação por peroxidação foi insignificante, que o processo Fenton não foi eficiente na oxidação de ivermectina em solução aquosa (degradação de 20%). Por outro lado, praticamente não houve diferença na degradação da ivermectina pelos processos que empregam luz UV (fotólise, peroxidação assistida por luz UV, foto-Fenton, fotocatalise e fotoeletroquímico), os quais foram altamente eficazes, sendo responsáveis por

degradações iguais ou superiores a 90% para 300 s de reação. Para o processo Fenton, a taxa de degradação foi elevada nos 60 s iniciais, mantendo-se constante após esse tempo e atingindo uma eficiência de degradação superior a 80% para razão de Fe(II):H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 1:5, sendo o melhor dentre os processos que não utilizaram radiação UV. Para o processo foto-Fenton, a degradação da ivermectina atingiu aproximadamente 95% com 300 s de ensaio, sendo que cerca de 80% da degradação ocorreram nos primeiros 60 s de ensaio. Para fotocatalise, a degradação da ivermectina atingiu aproximadamente 90% com 300 s de ensaio (dose de 1410 mJ cm<sup>-2</sup>) e 97% após 600 s (dose de 2820 mJ cm<sup>-2</sup>), sendo que com apenas 60 segundos de degradação (dose de 282 mJ cm<sup>-2</sup>), houve remoção da concentração do fármaco superior a 65%. O processo eletroquímico apresentou 61% de degradação com 300 s de reação (dose de radiação: 3.132 mJ cm<sup>-2</sup>). Já com o processo fotoeletroquímico, 99% de degradação foi alcançada com 300 s de reação para a densidade de corrente de 40,9 mA cm<sup>-2</sup>.

Ressalta-se que na literatura não são encontrados trabalhos onde são descritas as avaliações da degradação de ivermectina em soluções aquosas por esses cinco processos. Pellegrino (2004) avaliou a degradação da ivermectina pelo processo eletroquímico, obtendo 96% de degradação para uma densidade de corrente de 150 mA cm<sup>-2</sup>. Comparando os resultados de fotólise, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, foto-Fenton e fotocatalise (300 s de reação) com os resultados de Pellegrino (2004), verifica-se que os cinco processos (fotólise, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, foto-Fenton, fotocatalise e fotoeletroquímico) foram responsáveis por uma degradação similar desse fármaco (superior a 90%).

## 5.12. Toxicidade aguda

A CE<sub>50</sub>-48h média da ivermectina para o microcrustáceo *Daphnia similis*, obtida neste trabalho, foi de 70 ng L<sup>-1</sup> (intervalo de confiança: 60 a 80 ng L<sup>-1</sup>). Em água doce, utilizando o microcrustáceo *Daphnia magna* como organismo teste, ensaios agudos com base na imobilidade mostraram que a CE<sub>50</sub>-48h para a ivermectina variou de 5,7 a 25 ng L<sup>-1</sup> (Garric *et al.*, 2007, Nessel *et al.*, 1989).

Atualmente, existem diversos estudos que utilizam o micro-organismo *Daphnia sp* para avaliar a toxicidade aguda de diferentes tipos de amostras. Guimarães e colaboradores (2004)

utilizaram o micro-organismo para avaliar a toxicidade da água processada na estação de tratamento do município de Jacareí, SP, Brasil, na qual encontraram uma grande variação no índice de toxicidade em cada compartimento da ETA.

Os efeitos da ivermectina em esterco de gado em um sistema água-sedimento foram avaliados por Schweitzer e colaboradores (2010), utilizando *Daphnia magna* para os ensaios. Em seu trabalho, os autores chamam a atenção para a elevada toxicidade da ivermectina presente no esterco com uma única aplicação, além de o fármaco ter persistido por um longo período de tempo.

Estudos sobre a toxicidade de efluentes ao longo do tratamento de contaminantes na água são de grande importância, uma vez que os intermediários gerados podem apresentar toxicidade superior à da molécula original. Entretanto, até o momento não foram encontrados dados na literatura sobre o perfil da toxicidade de amostras durante a degradação.

Na Tabela 10, são apresentados os resultados dos testes de toxicidade aguda em termos de remoção da toxicidade, comparados com as eficiências de degradação obtidas sob as mesmas condições para os processos UV e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Tabela 10.** Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* para soluções de ivermectina tratadas por UV e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,25 mmol L<sup>-1</sup>).

	<b>Tempo (s)</b>	<b>Remoção toxicidade (%)</b>	<b>Degradação ivermectina (%)</b>
<b>UV</b>	0	0	0,0
	10	57 ±5	40,5
	60	79 ±4	69,6
	600	NT	98,1
<b>UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,25 mmol L<sup>-1</sup></b>	0	0	0,0
	10	35 ±11	40,2
	60	59 ±14	64,5
	600	NT	98,8

NT: não tóxico nas condições do ensaio

Para ambos os processos, observa-se a diminuição da toxicidade da solução ao longo do tempo de degradação, demonstrando que os possíveis intermediários formados durante o

processo não apresentam toxicidade aguda superior a da ivermectina para *Daphnia similis*, pelo menos na concentração encontrada nas condições dos ensaios. Ambos os processos atingiram o máximo de redução da toxicidade com 600 s de reação e foram eficientes na diminuição da toxicidade, verificando-se que não houve formação de produtos de degradação tóxicos para o micro-organismo teste.

Os resultados dos ensaios de toxicidade aguda para os processos Fenton e foto-Fenton, realizados apenas uma vez, são apresentados na Tabela 11 em termos de remoção de toxicidade, comparando com as eficiências de degradação obtidas sob as mesmas condições.

É possível verificar que as concentrações de ivermectina e a toxicidade diminuem ao longo do tempo de reação, para ambos os processos. Para Fenton, as remoções de toxicidade máxima foram de 5,6, 55,9 e 99% quando se empregou 0,25 e 5,0; 0,5 e 1,0 e 1,0 e 5,0 mmol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e Fe(II), respectivamente. Para as mesmas condições, o processo foto-Fenton foi capaz de remover completamente a toxicidade aguda das soluções.

Para todas as condições empregadas nos processos Fenton e foto-Fenton, houve uma relação entre o parâmetro de toxicidade e a remoção de ivermectina. Isso significa que os intermediários formados durante os processos de degradação não apresentam maior toxicidade aguda do que o fármaco original. Portanto, para a desintoxicação completa de soluções de ivermectina, uma redução significativa (aproximadamente 100%) da concentração do fármaco é necessária.

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade aguda para as soluções tratadas por fotocatalise com TiO<sub>2</sub> em suspensão são apresentados na Tabela 12. Nos ensaios em que foi empregado o processo de fotocatalise com concentração de TiO<sub>2</sub> de 0,12 mmol L<sup>-1</sup>, foi possível observar que a remoção da toxicidade aumenta ao longo do tempo de reação, assim como a degradação do fármaco porém, nota-se que a remoção da toxicidade aumentou numa proporção significativamente inferior a eficiência de degradação da ivermectina até 60 s de reação.

**Tabela 11.** Ensaios de toxicidade aguda com *Daphnia similis* para soluções de ivermectina tratadas por reagente de Fenton e foto-Fenton.

	Fenton			foto-Fenton	
	Tempo (s)	Remoção toxicidade (%)	Degradação ivermectina (%)	Remoção toxicidade (%)	Degradação ivermectina (%)
0,25 mmol L <sup>-1</sup> Fe(II)/ 5,0 mmol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <u>Razão 1:20</u>	0	0	0,0	0,0	0,0
	10	5,6	18,9	47,3	53,5
	60	5,6	15,9	58,5	75,7
	600	5,6	14,3	NT	99,0
0,5 mmol L <sup>-1</sup> Fe(II)/ 1,0 mmol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <u>Razão 1:2</u>	0	0,0	0,0	0,0	0,0
	10	16,7	30,3	35,7	53,9
	60	31,8	36,3	81,3	71,9
	600	55,9	43,2	NT	98,5
1,0 mmol L <sup>-1</sup> Fe(II)/ 5,0 mmol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> <u>Razão 1:5</u>	0	0,0	0,0	0,0	0,0
	10	75,0	57,7	44,8	66,9
	60	78,2	81,3	74,0	84,3
	600	NT	90,9	NT	99,2

NT: não tóxico nas condições do experimento.

Isso pode indicar que os produtos de degradação formados no início da reação sejam de difícil degradação, ou que sejam tóxicos. Entretanto, ao final de 600 s, estes subprodutos sofrem degradação e dão origem a uma solução cuja toxicidade aguda foi praticamente removida para *Daphnia similis*.

O mesmo ocorre nos ensaios em que foi empregado o processo de fotocatalise com TiO<sub>2</sub> em suspensão (0,12 mmol L<sup>-1</sup>) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,01 mmol L<sup>-1</sup>), sendo que, neste caso, os parâmetros remoção de toxicidade e degradação da ivermectina aumentaram ao longo do tempo, até 60 s de reação, numa desproporção superior aos ensaios de fotocatalise em que foi utilizado apenas TiO<sub>2</sub> em suspensão, indicando que os produtos formados são ainda mais recalcitrantes, ou mais tóxicos.

Entretanto, em ambos os ensaios, a remoção máxima da toxicidade aguda da ivermectina ocorreu ao final de 600 s de tratamento, em acordo com a degradação máxima do fármaco no mesmo período de tempo. Isto demonstra que os produtos formados durante o tratamento são transformados em substâncias não tóxicas para *Daphnia similis* ao final dos 600 s de ensaio.

**Tabela 12:** Ensaio de toxicidade aguda com *Daphnia similis* para soluções de ivermectina tratadas por fotocatalise e fotocatalise com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

	<b>Tempo (s)</b>	<b>Remoção toxicidade (%)</b>	<b>Degradação ivermectina (%)</b>
<b>UV/TiO<sub>2</sub> 0,12 mmol L<sup>-1</sup></b>	0	0	0,0
	10	38 ±14	52,0
	60	55 ±10	71,6
	600	99	99,7
<b>UV/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,12/0,01 mmol L<sup>-1</sup></b>	0	0	0,0
	10	34 ±11	45,2
	60	73 ±2	70,5
	600	NT	98,0

NT: não tóxico nas condições do experimento.

## 6. CONCLUSÕES

Os processos de degradação da ivermectina avaliados neste estudo apresentaram precisão adequada para os objetivos deste trabalho. O processo de peroxidação se mostrou ineficaz na degradação da ivermectina, inferior a 10% em todas as condições avaliadas. Os processos de UV e de UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se mostraram altamente eficazes na degradação do fármaco, apresentando taxas e eficiências de degradação semelhantes e elevadas, superiores a 98% em 300 s de reação.

A degradação do composto alvo pelo processo Fenton foi dependente, principalmente, da razão Fe(II):H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com valor ótimo de 1:5, apresentando uma eficiência de 90%. Os ensaios com foto-Fenton apresentaram uma maior eficiência de degradação da ivermectina, aproximadamente 99% em todas as condições estudadas.

Os ensaios de degradação da ivermectina por fotocatalise também apresentaram taxas e eficiências de degradação elevadas e semelhantes, porém a variação dos valores de pH, a presença de peróxido de hidrogênio, e a variação na concentração de TiO<sub>2</sub> não apresentaram nenhuma influência sobre a eficiência e sobre a taxa de reação na degradação da ivermectina em solução aquosa.

O processo eletroquímico apresentou eficiência de degradação de 40% a 60% porém, esta foi superada significativamente pelo processo fotoeletroquímico, a exemplo dos demais processos que utilizaram a radiação ultravioleta.

Ficou demonstrado que todos os processos fotoassistidos, resultaram numa eficiência de degradação superior a 95%, indicando que as moléculas de ivermectina são extremamente sensíveis à radiação ultravioleta (UVC-254 nm).

A espectrofotometria é uma técnica adequada para acompanhar a degradação da ivermectina em solução aquosa, capaz de mostrar claramente a modificação da estrutura da ivermectina, indicando a sua degradação e formação de produtos. Os ensaios de toxicidade aguda revelaram que, em todos os processos empregados, a toxicidade da solução apresentou importante diminuição ao longo do tempo de tratamento, indicando que os produtos formados durante a degradação da ivermectina apresentaram toxicidade inferior à do fármaco, resultando, ao final de 600 segundos de reação, em soluções sem toxicidade para *Daphnia similis*.

A escolha do processo a ser utilizado na degradação da ivermectina em solução aquosa deve levar em consideração os custos que envolvem os processos, como gastos com reagentes e energia elétrica, no caso da geração do radical hidroxila pela aplicação de radiação ultravioleta e/ou pela eletrólise. Dentre os processos de degradação da ivermectina em solução aquosa avaliados neste trabalho, a fotólise se mostrou ser a melhor opção por apresentar a maior simplicidade na execução do procedimento e o menor custo de aplicação, uma vez que dispensa o uso de reagentes, correção de pH e não resulta na formação de lodo. Porém, vale ressaltar que a escolha do processo depende também das características do efluente a ser tratado e do objetivo a ser atingido no tratamento do efluente.

## REFERÊNCIAS

- ABELLÁN, M.N.; BAYARRI, B.; GIMENEZ, J.; COSTA J. Photocatalytic degradation of sulfamethoxazole in aqueous suspension of TiO<sub>2</sub>. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 74, n. 3-4, pp. 233-241, 2007.
- ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade aguda - Método de Ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustácea)*, NBR 12713, 2009.
- AMORIM, C.C.; LEÃO, M.M.D.; MOREIRA, R.F.P.M. Comparação entre diferentes processos oxidativos avançados para degradação de corante azo. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 14, n. 4, pp. 543-550, 2009.
- ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; INSOLA, A.; MAROTTA, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catalysis Today*, v. 53, pp. 51-59, 1999.
- ANGELIS, D. F.; CORSO, C. R.; MORAES, P. B.; DOMINGOS, R. N.; ROCHA-FILHO R. C.; BIDOIA, E.D. Eletrólise de resíduos poluidores. 1 - Efluente de uma indústria liofilizadora de condimentos. *Química Nova*, v.21, pp. 20-24, 1998.
- ANVISA, 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos, RE nº 899, de 29/05/2003.
- ANVISA, 2011. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Relatório de Atividades 2010 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011. 68 p.
- ARAÚJO, R. P. A.; GASI, T. M. T.; GHERARDI-GOLDSTEIN, E.; AMARAL, L. A. V.; FRANCISCO, R. Ozone application for the improvement of UASB reactor effluent. II. Toxicity evaluation. *Ozone: Science & Engineering*, v.13, n.2, pp.195-203, 1991.
- AUGUSTYNSK, J. The role of the surface intermediates in the photoelectrochemical behaviour of anatase and rutile TiO<sub>2</sub>. *Electrochimica Acta*, v. 38, pp. 43-46, 1993.
- AY, F.; KARGI, F. J. Advanced oxidation of amoxicillin by Fenton's reagent treatment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 179, pp. 622-627, 2010.
- BEN, W.; QIANG, Z.; PAN, X.; CHEN, M. Removal of veterinary antibiotics from sequencing batch reactor (SBR) pretreated swine wastewater by Fenton's reagent. *Water Research*, v. 43, pp. 4392-4402, 2009.

- BERTAZZOLI, R.; PELEGRINI, R. T. Descoloração e Degradação de Poluentes Orgânicos em Soluções Aquosas através do Processo Fotoeletroquímico. *Química Nova*, v. 25, n. 3, pp. 477-482, 2002.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. *Química Nova*, v. 26, n. 4, pp. 523-530, 2003.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Esplanada dos Ministérios - Bloco D - Brasília/DF, <http://www.agricultura.gov.br/animal> acessado em 13/01/12
- BRASIL, Ministério da Saúde. ANVISA. **Programa de análise de resíduos de Drogas Veterinárias em Alimentos**. Brasília: 2001
- BRITISH PHARMACOPOEIA. Monographs: Medicinal and Pharmaceutical Substances: *Ph Eur Monograph 1336*, I & II: 3298-3304, 2009.
- BRITO, N. M.; AMARANTE JR. O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. Pesticidas: *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 13, pp. 129-143, 2003.
- BURBANO, A.A.; DIONYSIOU, D.D.; SUIDAN, M.T. Effect of oxidant to su substrate ratios on the degradation of MTBE with Fenton reagent. *Water Research*, v. 42, n. 12, pp. 3225-3239, 2008
- CANGA, A. G.; PRIETO, A.M.S.; LIÉBANA, M.J.D.; MARTÍNEZ, N.F.; VEGA, M.S.; VIEITEZ, J.J.G. The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *The Veterinary Journal*, v. 179, pp 25-37, 2009.
- CARSON, R. *Primavera Silenciosa*. São Paulo: Melhoramentos, 1969.
- CASTRO, V. L. S.; JONSSON, C. M.; MELO, I. S.; NUNES, F. V. Avaliação de risco ecotoxicológico de *Trichoderma stromaticum* usado como biopesticida. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, Coimbra, v.4, n.1, pp.18-24, 2001.
- CATALKAYA, E.C.; KARGI, F. Advanced oxidation and mineralization of simazine using Fenton's reagent. *Journal of Hazardous Materials*, v. 168, pp 688-694, 2009.
- CELESTINA, T. V.; KOLAR, L.; GOBEC, I.; KUZNER, J.; FLAJS, V. C.; POGACNIK, M.; ERZEN, N. K. Factors influencing dissipation of avermectins in sheep faeces. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 73, pp. 18-23, 2010.
- CHITTRAKARN, S.; JANCHAWEE, B.; RUANGRUT, P.; KANSENALAK, S.; CHETHANOND, U.; KOBASA, T.; THAMMAPALO, S. Pharmacokinetics of ivermectin in cats receiving a single subcutaneous dose. *Research in Veterinary Science*, v. 86, pp. 503-507, 2009.
- CHRISTIAN, T.; SCHNEIDER, R. J.; FARBER, H. A.; SKUTLAREK, D.; MEYER, M. T.; GOLDBACH, H. E.; Determination of Antibiotic Residues in Manure, Soil, and Surface Waters. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, v. 31, pp. 36-44, 2003.

- CHU, W.; CHOY, W. K.; SO, T. Y. The effect of solution pH and peroxide in the TiO<sub>2</sub>-induced photocatalysis of chlorinated aniline. *Journal of Hazardous Materials*, v. 141, pp. 86-91, 2007.
- Da SILVA, C. R.; MANIERO, M. G.; RATH, S.; GUIMARÃES, J. R. Antibacterial Activity Inhibition after the Degradation of Flumequine by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Advanced Oxidation Technology*, v. 14, n. 1, pp. 106-114, 2011
- DANAHER, M.; HOWELLS, L. C.; CROOKS, S.R.H.; CERKVENIK-FLAJS, V.; O'KEEFFE, M. Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. *Journal of Chromatography B*, v. 844, pp. 175-203, 2006.
- DAVIES, I. M.; GILLIBRAND, P. A.; MCHENERY, J. G.; RAE, G. H. Environmental Risk of Ivermectin to Sediment Dwelling Organisms. *Aquaculture*, v. 163, pp. 29-46, 1998.
- DEZOTTI, M. *Processos e Técnicas para o Controle Ambiental de Efluentes Líquidos*. Rio de Janeiro: E-papers, 2008, 360 p.
- DINH, Q. T.; ALLIOT, F.; MOREAU-GUIGON, E.; EURIN, J.; CHEVREUIL, M.; LABADIE, P. Measurement of trace levels of antibiotics in river water using on-line enrichment and triple-quadrupole LC-MS/MS. *Talanta*, v. 85, pp. 1238-1245, 2011.
- DOMÈNECH, X.; JARDIM, W. F.; LITTER, M. I. Procesos avanzados de oxidacion de contaminantes. In: *Eliminacion de contaminantes por fotocatalises heterogenea*. La Plata, Argentina: Blesa, cap. 1, p. 3-25, 2001.
- ELMOLLA, E.; CHAUDHURI, M. Degradation of the antibiotics amoxicillin, ampicillin and cloxacillin in aqueous solution by the photo-Fenton process. *Journal of Hazardous Materials*, v. 172, pp. 1476-1481, 2009b.
- ELMOLLA, E.; CHAUDHURI, M. Optimization of Fenton process for treatment of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*, v.170, n. 2-3, pp. 666-672, 2009a.
- EUA, United States Food and Drug Administration (US-FDA), Reviewer Guidance, Validation of Chromatographic Methods, 1994.
- FUKUNAGA, M. T.; GUIMARÃES, J. R.; BERTAZZOLI, R. Kinetics of the oxidation of formaldehyde in a flow electrochemical reactor with TiO<sub>2</sub>/RuO<sub>2</sub> anode. *Chemical Engineering Journal*, v. 136, pp. 236-241, 2008.
- GARRIC, J.; VOLLAT, B.; DUIS, K.; PÉRYA, A.; JUNKER, T.; RAMIL, M.; FINK, G.; TERNES, T.A. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran *Daphnia magna* and the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Chemosphere*, v. 69, pp. 903-910, 2007.
- GEARY, T. G. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder Drug. *Trends in Parasitology*, v.21, n. 11, pp. 530-532, 2005.
- GUIMARÃES, E. S.; LACAVA, P. M.; MAGALHÃES, N. P. avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia similis* na água captada no rio paraíba do sul e processada na estação de tratamento

de água do município de Jacareí - SP – Brasil, Engenharia Sanitária e Ambiental, v. 9, n. 2, pp. 124-130, 2004.

HALLEY, B.A.; VANDENHEUVEL, W. J.; WISLOCKI, P. G. Environmental effects of the usage of avermectins in livestock. *Veterinary Parasitology*, v. 48, pp. 109-125, 1993.

HAMILTON, M A.; RUSSO R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology*, v. 11, n. 7, pp. 714-719, 1977.; correction v. 12, n. 4, p. 417, 1978.

HAMSCHER, G.; SCZESNY, S.; HOLPER, H.; NAU, H. Determination o persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, v. 74, n. 7, pp. 1509-1518, 2002.

HERNANDO, M. D.; MEZCUA, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; BARCELÓ D. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, v. 69, pp. 334-342, 2006.

HOU, X. L.; WU, Y.; SHEN, J.; WANG, L.; DING, S. Multi-Residue Analysis of Avermectins in Bovine Liver and Muscle by Liquid Chromatography-Fluorescence Detector. *Chromatographia*, v. 65, pp. 77-80, 2007.

HU, Q.; ZHANG, C.; WANG, Z.; CHEN, Y.; MAO, K.; ZHANG, X.; XIONG, Y.; ZHU, M. Photodegradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UV/TiO<sub>2</sub>. *Journal of Hazardous Materials*, v. 154, pp. 795-803, 2008.

IBGE 2011: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE Censo Demográfico, 2010, Características da população e dos domicílios, Resultados do universo, Rio de Janeiro 2011

IGLESIAS, L. E.; SAUMELL, C. A.; FERNANDEZ, A. S.; FUSE, L. A.; LIFSCHITZ, A. L.; RODRIGUEZ, E. M.; STEFFAN, P. E.; FIEL, C. A. Environmental impact of ivermectin excreted by cattle treated in autumn on dung fauna and degradation of faeces on pasture. *Parasitology Research*, v. 100, pp. 93-102, 2006.

JIANG, H.; ZHOU, D.; LI, H.; XU, F.; Li, C.; SHEN, J.; LI, X.; DING, S. LC fluorescence detection of abamectin, ivermectin, doramectin, and eprinomectin in rabbit feces. *Chromatographia*, v. 68, n. 3/4, pp. 259-262, 2008.

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Potential ecological and human health risks associated with the presence of pharmaceutically active compounds in the aquatic environment. *Critical Reviews in Toxicology*, v. 34, n. 4, pp. 335-350, 2004.

JONSSON, C. M.; MAIA, A. H. N. Pesticidas: *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 9, pp. 145-153, 1999.

KHAN, U.; BENABDERRAZIK, N.; BOURDELAIS, A. J.; D. BADEN, G.; REIN, K.; GARDINALI, P. R.; ARROYO, L.; O'SHEA, K. E. UV and solar TiO<sub>2</sub> photocatalysis of brevetoxins (PbTx). *Toxicon*, v. 55, pp. 1008-1016, 2010.

- KIM, I.; YAMASHITA, N.; TANAKA, H. Performance of UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processes for the removal of pharmaceuticals detected in secondary effluent of a sewage treatment plant in Japan, *Journal of Hazardous Materials*, v. 166, pp. 1134-1140, 2009.
- KIM, Y.; JUNG, J.; KIM, M.; PARK, J.; BOXALL, A. B. A.; CHOI, K. Prioritizing veterinary pharmaceuticals for aquatic environment in Korea, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 26, pp. 167-176, 2008.
- KITZMAN, D.; WEI, S-Y.; FLECKENSTEIN, L. Liquid chromatographic assay of ivermectin in human plasma for application to clinical pharmacokinetic studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 40, pp. 1013-1020, 2006.
- KLAMERTH, N.; RIZZO, L.; MALATO, S.; MALDONADO, M.I.; AGÜERA, A.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R. Degradation of fifteen emerging contaminants at  $\mu\text{g L}^{-1}$  initial concentrations by mild solar photo-Fenton in MWTP effluents. *Water Research*, v. 44, pp. 545-554, 2010.
- KROGH, K. A.; JENSEN, G. G.; SCHNEIDER, M. K.; FENNER, K.; SORENSEN, B. H. Analysis of the dissipation kinetics of ivermectin at different temperatures and in four different soils. *Chemosphere*, v. 75, pp. 1097-1104, 2009.
- KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Química Nova*, v. 25, pp. 78-82, 2002.
- LALUMERA, F. M.; CALAMARI, D.; GALLI, P.; CASTIGLIONI, S.; CROSA, G.; FANELLI, R. Preliminary investigation on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in Aquaculture in Italy. *Chemosphere*, v. 54, pp. 661-668, 2004.
- LEE, H.; SHODA, M. Removal of COD and color from livestock wastewater by the Fenton method. *Journal of Hazardous Materials*, v. 153, p. 1314-1319, 2008.
- LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A.M. Photochemical processes for water treatment. *Chemical Reviews*, v. 93, n. 2, pp. 671-698, 1993.
- LINSEBIGLER, A.L.; GUANGQUAN, L.; YATES, J. T. Jr. Photocatalysis on TiO<sub>2</sub> surfaces: principles, mechanisms, and selected results. *Chemical Reviews*, v. 95, pp. 735-758, 1995.
- LIU, B.; LIU, X. L. Direct photolysis of estrogens in aqueous solutions. *Science of the Total Environment*, v.74, pp. 269-320, 2004.
- LOBATO, V.; RATH, S.; REYES, F. G. R. Occurrence of ivermectin in bovine milk from the Brazilian retail market. *Food Additives & Contaminants*, v. 23, n. 7, pp. 668-673, 2006.
- LOFFLER, D.; ROMBKE, J.; MELLER, M.; TERNES, T. Environmental Fate of Pharmaceuticals in Water/Sediment Systems. *Environmental Science & Technology*, v. 39, pp. 5209-5218, 2005.
- LOPES, W. D. Z.; SANTOS, T. R.; BORGES, F. A.; SAKAMOTO, C. A. M.; SOARES, V. E.; COSTA, G. H. N.; CAMARGO, G.; PULGA, M.E.; BHUSHAN, C.; COSTA, A. J. Anthelmintic efficacy of oral trichlorfon solution against ivermectin resistant nematode strains in cattle. *Veterinary Parasitology*, v. 166, pp. 98-102, 2009.

- LU, L-A; MA, Y-S.; KUMAR, M.; LIN, J-G. Photochemical degradation of carbofuran and elucidation of removal mechanism. *Chemical Engineering Journal*, v.166, pp. 150-156, 2011.
- MANIERO, M. G.; BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Degradation and estrogenic activity removal of 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\beta$ -ethinylestradiol by ozonation and O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Science of the Total Environment*, v. 407, pp. 105-115, 2008.
- MATTOS, I.L.; SHIRAISH, K.A.; BRAZ, A.D.; FERNANDES, J.R. Peróxido de Hidrogênio: importância e determinação. *Química Nova*, v. 26, n<sup>o</sup>. 3, pp. 373-380, 2003.
- McCORMICK, John. *Rumo ao Paraíso: a história do movimento ambientalista - Rio de Janeiro: Relume-Durnarã*, 1992.
- MELO, S. A. S.; TROVÓ, A. G.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Química Nova*, v. 32, 188-197, 2009.
- MÉNDEZ-ARRIAGA, F.; ESPLUGAS, S.; GIMÉNEZ, J. Degradation of the emerging contaminant ibuprofeno in water by photo-Fenton. *Water Research*, v. 44, pp. 589-595, 2010.
- MENDHAM, J.; THOMAS, M. J. K.; BARNES, J. D.; DENNEY, R.C. *Vogel – Análise química quantitativa*. 6<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro: LTC, 2002. 488 p.
- MOLINARI, G.; SOLONESKI, S.; REIGOSA, M. A.; LARRAMENDY, M. L. *In vitro* genotoxic and cytotoxic effects of ivermectin and its formulation ivermectin® on chinese hamster ovary (CHO<sub>K1</sub>) cells. *Journal of Hazardous Materials*, v.165, pp. 1074-1082, 2009.
- NESSEL, R. J.; WALLACE, D. H.; WEHNER, T. A.; TAIT, W. E.; GOMEZ, L. Environmental fate of ivermectin in a cattle feedlot. *Chemosphere*, v. 18, n. 7-8, pp. 1531-1541, 1989.
- NEYENS, E.; BAEYENS, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *Journal Hazardous Materials B*, v. 98, pp. 33-50, 2003.
- NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. *Química Nova*, v. 21, pp. 69-72, 1998.
- NOGUEIRA, R. F. P.; TROVÓ, A. G.; SILVA, M. R. A.; VILLA, R. D.; OLIVEIRA, M. C. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos Fenton e foto-Fenton. *Química Nova*, v. 30, n. 2, pp. 400-408, 2007.
- 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, pp. 86-91, 2005.
- OMURA, S. Ivermectin: 25 years and still going strong. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 31, pp. 91-98, 2008.
- OPPEL, J.; BROLL, G.; LOFFLER, D.; MELLER, M.; ROMBKE, J.; TERNES, T. Leaching behaviour of pharmaceuticals in soil-testing-systems: a part of an environmental risk assessment for groundwater protection. *Science of the Total Environment*, v. 328, pp 265-273, 2004.

- PADOLEY, K. V.; MUDLIAR, S. N.; BANERJEE, S. K.; DESHMUKH, S. C.; PANDEY, R. A. Fenton oxidation: A pretreatment option for improved biological treatment of pyridine and 3-cyanopyridine plant wastewater. *Chemical Engineering Journal*, v. 166, n. 1, pp. 1-9, 2011.
- PALOMINOS, R.; FREER, J.; MONDACA, M. A.; MANSILLA, H. D. Evidence for hole participation during the photocatalytic oxidation of the antibiotic flumequine. *Journal of Photochemistry and Photobiology A-Chemistry*, v. 193, pp. 139-145, 2008.
- PAPIC, S.; VUJEVIC, D.; KOPRIVANAC, N.; SINKO, D. Decolourization and mineralization of commercial reactive dyes by using homogeneous and heterogenous Fenton and UV/Fenton processes. *Journal of Hazardous Materials*, v. 164, p. 1137-1145, 2009.
- PELLEGRINO, R. R. L. *Estudo do processo de eletrodegradação do ivermectin*. 2004. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- PEREIRA, J. L. S. *Manipulação de efluentes de bovinicultura: pré-tratamento e aplicação ao solo*. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária). Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
- PEREIRA, L. A.; JARDIM, I. C. S. F.; FOSTIER, A. H.; RATH, S. Ocorrência, comportamento e impactos ambientais provocados pela presença de antimicrobianos veterinários em solos. *Química Nova*, v. 35, n. 1, pp. 159-169, 2012.
- PEREZ, M.; TORRADES, F.; DOMÈNECH, X.; PERAL, J. Fenton and photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water Research*, v. 36, pp. 2703-2710, 2002.
- PIGNATELLO, J.J.; FERRANDINO, F.J.; Q HUANG, L.Q. Elution of Aged and Freshly Added Herbicides from a Soil. *Environmental Science and Technology*, v. 27, pp. 1563-1571, 1993.
- PRYOR, W. A. *Introdução ao estudo dos radicais livres*, Editora Edgard Blucher LTDA, São Paulo, Brasil, 1970, 129 pp.
- ROCHA, R. S.; BEATI, A. A. G. F.; OLIVEIRA, J. G.; LANZA, R. V. Avaliação da degradação do diclofenaco sódico utilizando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fenton em reator eletroquímico. *Química Nova*, v. 32, n. 2, pp. 354-358, 2009.
- SAMMARTINO, M. P.; BELLANTI, F.; CASTRUCCI, M.; RUIU, D.; VISCO, G.; ZOCCARATO, T. Ecopharmacology: Deliberated or casual dispersion of pharmaceutical principles, phytosanitary, personal health care and veterinary products in environment needs a multivariate analysis or expert systems for the control, the measure and the remediation. *Microchemical Journal*, v. 88, n.2, pp. 201-209, 2008.
- SANDERSON, H.; LAIRD, B.; POPE, L.; BRAIN, R.; WILSON, C.; JOHNSON, D.; BRYNING, G.; PEREGRINE, A. S.; BOXALL, A.; SOLOMON, K. Assessment of the Environmental Fate and Effects of Ivermectin in Aquatic Mesocosms. *Aquatic Toxicology*, v. 85, pp. 229-240, 2007.

- SCHWEITZER, N.; FINK, G.; TERNES, T. A.; DUIS, K. Effects of ivermectin-spiked cattle dung on a water–sediment system with the aquatic invertebrates *Daphnia magna* and *Chironomus riparius*. *Aquatic Toxicology*, v. 97, pp. 304-313, 2010.
- SEELANAN, P.; SRISA-ART, M.; PETSOM, A.; NHUJAK, T. Determination of avermectins in commercial formulations using microemulsion electrokinetic chromatography. *Analytica Chimica Acta*, v. 570, pp. 8-14, 2006.
- SHEMER, H.; KUNUKCU, Y.K.; LINDEN, K.G. Degradation of the pharmaceutical metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. *Chemosphere*, v. 63, pp. 269-276, 2006.
- SOARES, A. *Bases Técnicas para Remediação de Solos e Águas Subterrâneas Utilizando Processos Oxidativos Avançados*. 2008. Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.
- SON, H-S.; KO, G.; ZOH, K-D. Kinetics and mechanism of photolysis and TiO<sub>2</sub> photocatalysis of triclosan. *Journal of Hazardous Materials*, v. 166, pp. 954-960, 2009.
- STEEL, J.W. Pharmacokinetics and Metabolism of Avermectins in Livestock, *Veterinary Parasitology*, v. 48, pp. 45-57, 1993.
- STOOB, K.; SINGER, H. P.; MUELLER, S. R.; SCHWARZENBACH, R. P.; STAMM, C. H. Dissipation and transport of veterinary sulfonamide antibiotics after manure application to grassland in a small catchment. *Environmental Science & Technology*, v. 41, pp. 7349-7355, 2007.
- STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar Drug Residues in Sewage and Natural Waters in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *The Science Total Environmental*, v. 225, pp. 135-141, 1999.
- SUTY, H.; DE TRAVERSAY, C.; COST, M. Applications of advanced oxidation processes: present and future. *Water Science and Technology*, v. 49, n. 4, pp. 227-233, 2004.
- TAUCHERT, E.; PERALTA-ZAMORA, P. Avaliação de processos fotoeletroquímicos no tratamento de líquidos lixiviados de aterros sanitários. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 9, n. 3, pp. 197-201, 2004.
- TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. Processos oxidativos avançados: conceitos teóricos. *Caderno Temático 3*. 2004, Campinas, São Paulo.
- TEKIN, H.; BILKAY, O.; ATABERK, S. S.; BALTA, T. H.; CERIBASI, I. H.; SANIN, F. D.; DILEK, F. B.; YETIS, U. Use of Fenton oxidation to improve the biodegradability of a pharmaceutical wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, v.136, pp. 258-265, 2006.
- TERNES, T. A.; STUBER, J.; HERMANN, N.; McDOWELL, D.; RIED, A.; KAMPMANN, M.; TEISER, B. Ozonation: A tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater?, *Water Research*, v.37, pp. 1976-1982, 2003.

THOMAS, Keith. O homem e o mundo natural : mudanças de atitude em relação às plantas e aos animais (1500-1800). São Paulo : Companhia das letras, 2010.

TISLER, T.; ERZEN, N. K. Abamectin in the aquatic environment. *Ecotoxicology*, v. 15, pp. 495-502, 2006.

TROVÓ, A. G.; MELO, S. A. S.; NOGUEIRA, R. F. P. Photodegradation of the pharmaceutical amoxicillin, bezafibrate and paracetamol by the photo-Fenton process – application to sewage treatment plant effluente. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v. 198, pp. 215-220, 2008.

TROVÓ, A. G.; VILLA, R. D.; NOGUEIRA, R. F. P. Utilização de reações foto-Fenton na prevenção de contaminações agrícolas. *Química Nova*, v. 28, n. 5, pp. 847-851, 2005.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Subdivision M of the Pesticide Testing Guidelines. Microbial and biochemical pest control agents. 1989, Washington, D.C.

VALENTE, J. P. S.; ARAÚJO, A. B.; BOZANO, D. F.; PADILHA, P. M.; FLORENTINO, A. O. Síntese e caracterização textural do catalisador CeO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> obtido via sol-gel: fotocatalise do composto modelo hidrogenoftalato de potássio. *Eclética Química*, v. 30, pp. 7-13, 2005.

XU, X.R.; LI, H.B.; WANG, W.H.; GU, J.D. Degradation of dyes in aqueous solutions by the Fenton processes. *Chemosphere*, v. 57, pp. 595-600, 2004.

YOON, J.; LEE, Y.; KIM, S. Investigation of the reaction pathway of OH radicals produced by Fenton oxidation in the conditions of wastewater treatment. *Water Science and Technology*, v. 44, pp. 15-21, 2001.

YUAN, F.; HU, C.; HU, X.; QU, J.; YANG, M. Degradation of selected pharmaceuticals in aqueous solution with UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Water Research*, n. 43, pp. 1766-1774, 2009.

ZAPATA, A.; VELEGRAKI, T.; SÁNCHEZ-PÉREZ, J.A.; MANTZAVINOS, D.; MALDONADO, M.I.; MALATO, S. Solar photo-Fenton treatment of pesticides in water: effect of iron concentration on degradation and assessment of ecotoxicity and biodegradability. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 88, pp. 448-454, 2009.