

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL**

VINICIUS TIAGO JOROSKI

**ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO CLORIDRATO DE FLUOXETINA POR
PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E COMPOSTO CONTENDO PRATA
COLOIDAL**

DISSERTAÇÃO

CURITIBA
2017

VINICIUS TIAGO JOROSKI

**ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO CLORIDRATO DE FLUOXETINA
POR PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E COMPOSTO CONTENDO PRATA
COLOIDAL**

Dissertação de mestrado apresentada
ao programa de Pós-Graduação em
Engenharia Civil da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Engenharia
Civil.

Orientador: Prof. Dr. Thomaz Aurélio
Paggioro

CURITIBA
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

J82e
2017

Joroski, Vinicius Tiago
Estudo da degradação do cloridrato de fluoxetina por peróxido de hidrogênio e composto contendo prata coloidal / Vinicius Tiago Joroski.-- 2017.
92 f.: il.: 30 cm.

Disponível também via World Wide Web.
Texto em português com resumo em inglês.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil. Área de Concentração: Meio Ambiente, Curitiba, 2017.
Bibliografia: f. 81-92.

1. Fluoxetina. 2. Biodegradação. 3. Peróxido de hidrogênio. 4. Prata coloidal. 5. Testes de toxicidade. 6. Águas residuais - Purificação. 7. Toxicologia ambiental. 8. Engenharia civil - Dissertações. I. Pagioro, Thomaz Aurélio, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil. III. Título.

CDD: Ed. 23 - 624

Biblioteca Central do Câmpus Curitiba - UTFPR
Bibliotecária: Luiza Aquemi Matsumoto CRB-9/794

TERMO DE APROVAÇÃO DE DISSERTAÇÃO Nº127

A Dissertação de Mestrado intitulada ESTUDO DA DEGRADAÇÃO DO CLORIDRATO DE FLUOXETINA POR PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E COMPOSTO CONTENDO PRATA COLOIDAL, defendida em sessão pública pelo(a) candidato(a) Vinicius Tiago Joroski, no dia 30 de agosto de 2017, foi julgada para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, área de concentração Meio Ambiente, e aprovada em sua forma final, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil.

BANCA EXAMINADORA:

Prof(a). Dr(a). Thomaz Aurélio Pagioro - Presidente - UTFPR

Prof(a). Dr(a). Flávio Bentes Freire - UTFPR

Prof(a). Dr(a). Francisco José Pereira de Campos Carvalho - UFPR

A via original deste documento encontra-se arquivada na Secretaria do Programa, contendo a assinatura da Coordenação após a entrega da versão corrigida do trabalho.

Curitiba, 30 de agosto de 2017.

Carimbo e Assinatura do(a) Coordenador(a) do Programa

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é dedicado à minha família e à minha namorada Suzanne que me apoiaram desde o início do meu ingresso em todos os momentos de dificuldade e aos professores que me deram a oportunidade e subsídios para ampliar meus conhecimentos.

Também agradeço pelo apoio técnico dos meus colegas de laboratório, Marlon, Rafael e Luciana pela ajuda nos pequenos detalhes dentro do ambiente de trabalho.

Se A é o sucesso, então A é igual a X mais Y mais Z. O trabalho é X; Y é o lazer; e Z é manter a boca fechada.
(EINSTEIN, Albert).

RESUMO

Todos os anos, milhares de toneladas de fármacos são descartadas no mundo na forma de efluentes domésticos, industriais e hospitalares, não apenas pelo despejo inadequado de resíduos, mas pela presença destes fármacos na excreção de usuários dos produtos. Por meio de diversos estudos, vem sendo demonstrado o impacto que baixas concentrações destes fármacos no ambiente podem causar aos organismos, além dos corpos aquáticos. Dentre os fármacos que são largamente utilizados no mundo para tratamento de doenças psíquicas, a fluoxetina é o que possui maior representatividade, sendo sua presença também evidente no ambiente. Conforme verificado na bibliografia existente, concentrações deste fármaco puderam ser encontradas em inúmeros casos quando analisadas águas naturais, superficiais e subterrâneas e, nas concentrações encontradas, provocam alterações da vida aquática. Assim sendo, a fim de evitar impactos nos organismos vivos, denota-se que formas de tratamento para estes rejeitos devem ser desenvolvidas para que se possa amenizar o problema. O presente trabalho tem como objetivos estudar o comportamento da fluoxetina em água, avaliado por leitura em espectrofotômetro UV-vis, na concentração de 40 mg.L^{-1} , exposta a diferentes faixas de pH e diferentes processos de degradação realizados em reator GERMETC, com lâmpada UV de 5W, em tempo de exposição de 3 horas. Soluções de fluoxetina foram expostas a combinações de peróxido de hidrogênio a 60 mg.L^{-1} , prata coloidal a $0,64 \text{ mg.L}^{-1}$ e radiação UV e amostras foram lidas no espectrofotômetro UV-vis em pequenos intervalos de tempo durante as 3 horas de exposição, permitindo análise da evolução da degradação. As amostras expostas aos diversos tratamentos foram submetidas a ensaios toxicológicos segundo a ABNT NBR 12713/2016 (Ecotoxicologia aquática – Toxicologia aguda – Método de ensaio com *Daphnias spp*) para obtenção dos valores de FT_D da solução resultante. Pôde-se observar que houve degradação de fluoxetina quando exposta à radiação UV (22% de redução), indicando atividade quando exposta ao UV, e valor de degradação de 23% quando exposta ao UV na presença de prata coloidal. Quando não exposto à radiação UV, não foi constatada reação significativa do fármaco na presença de peróxido de hidrogênio, na presença de prata ou da combinação dos dois. Quando houve aplicação de radiação UV com de peróxido de hidrogênio, a redução da concentração chegou a 94% e, com a aplicação de radiação com peróxido de hidrogênio e prata coloidal, a redução foi de 92%. Foi encontrado o FT_D de 32 para a 1) a fluoxetina na concentração do estudo; 2) para uma amostra que foi armazenada por 5 meses e 3) uma amostra exposta a peróxido de hidrogênio sem radiação UV. Todos os outros ensaios resultaram em aumento na toxicidade para FT_D de 128, com exceção da amostra exposta a peróxido de hidrogênio, prata coloidal e radiação UV cujo FT_D foi de 64. Constata-se que, por meio deste experimento, mesmo havendo degradação do fármaco, há formação de compostos intermediários que podem ser monitorados com auxílio de um espectrofotômetro e, além disso, estes compostos podem apresentar uma maior toxicidade frente à substância isolada. Como trabalhos futuros, é possível realizar a aplicação no estudo de diferentes concentrações e tempos maiores de exposição, bem como outros Processos Oxidativos Avançados (POAs).

Palavras-chave: Degradação; Cloridrato de Fluoxetina; Associação peróxido/prata; Toxicidade.

ABSTRACT

Every year, thousands of tons of drugs are disposed of worldwide in the form of domestic, industrial and hospital effluents, not only due to inadequate waste disposal, but also due to the presence of these drugs in the excretion of users of the products. Through several studies, it has been demonstrated the impact that low concentrations of these drugs in the environment can cause to the organisms, besides the aquatic bodies. Among the drugs widely used in the world for the treatment of psychic diseases, fluoxetine is the one that has the most representativeness, and its presence is evident in the environment. As verified in the existing literature, concentrations of this drug could be found in innumerable cases when analyzing natural, surface and underground waters and, in the concentrations found, cause changes in aquatic life. Therefore, in order to avoid impacts on living organisms, it is pointed out that forms of treatment for these wastes should be developed in order to mitigate the problem. The present study aims to study the behavior of fluoxetine in water, evaluated by reading in a UV-vis spectrophotometer at a concentration of 40 mg.L⁻¹, exposed to different pH ranges and different degradation processes performed in a GERMETC reactor, with 5W UV lamp, at 3 hours exposure time. Fluoxetine solutions were exposed to combinations of hydrogen peroxide at 60 mg.L⁻¹, colloidal silver at 0.64 mg.L⁻¹ and UV radiation and samples were read on the UV-vis spectrophotometer at minor intervals during 3 hours of exposure, allowing analysis of the evolution of degradation. The samples exposed to the various treatments were submitted to toxicological tests according to ABNT NBR 12713/2016 (Aquatic Ecotoxicology - Acute Toxicology – *Daphnias magna*. Test Method) to obtain the FTD values of the resulting solution. It was observed that there was degradation of fluoxetine when exposed to UV radiation (22% reduction), indicating activity when exposed to UV, and degradation value of 23% when exposed to UV in the presence of colloidal silver. When not exposed to UV radiation, no significant reaction of the drug was observed in the presence of hydrogen peroxide, in the presence of silver or the combination of the two. When UV radiation and hydrogen peroxide were applied, the concentration reduction reached 94% and, with the application of radiation with hydrogen peroxide and colloidal silver, the reduction was 92%. The FTD of 32 was found for 1) fluoxetine at study concentration; 2) for a sample that was stored for 5 months and 3) a sample exposed to hydrogen peroxide without UV radiation. All other assays resulted in an increase in FTD toxicity of 128, except for the sample exposed to hydrogen peroxide, colloidal silver and UV radiation whose FTD was 64. It was found that, through this experiment, even though there was degradation of the drug, there is formation of intermediate compounds that can be monitored with the help of a spectrophotometer and, in addition, these compounds can present a greater toxicity to the isolated substance. As future works, it is possible to carry out the application in the study of different concentrations and longer exposure times, as well as other Advanced Oxidative Processes (AOPs).

Key-words: Degradation; Fluoxetine hydrochloride; Association peroxide / silver; Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sistemas típicos dos processos oxidativos avançados.....	27
Figura 2 - Propriedades físico químicas da fluoxetina.....	30
Figura 3 - Fluxograma esquemático representando as principais rotas de exposição de fármacos em matrizes ambientais.....	39
Figura 4 - Quadro resumo dos experimentos aplicados ao cloridrato fluoxetina.....	47
Figura 5 - Sistema utilizado nos ensaios de degradação – Bomba peristáltica para Circulação, Reator com lâmpada de radiação ultravioleta, Reservatório de 500 mL e tubulação.....	50

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Espectros de absorção da olanzapina (---) e da fluoxetina (—) a 10 mg.L ⁻¹ e 40 mg.L ⁻¹ , respectivamente, em etanol:água 1:1.	32
Gráfico 2 - Espectros de absorção da olanzapina (---) e da fluoxetina (—) a 10 mg.L ⁻¹ e 40 mg.L ⁻¹ , respectivamente, em etanol.	32
Gráfico 3 - Espectros de absorção da olanzapina (---) e da fluoxetina (—) a 10 mg.L ⁻¹ e 40 mg.L ⁻¹ respectivamente, em etanol.	57
Gráfico 4 - Espectros de diferentes diluições do cloridrato de fluoxetina.	58
Gráfico 5 - Absorbância das soluções de cloridrato de fluoxetina.	59
Gráfico 6 - Espectros da diluição do cloridrato de fluoxetina em álcool etílico.	60
Gráfico 7 - Espectros das soluções de diferente pH.	61
Gráfico 8 - Concentração de peróxido de hidrogênio pela absorbância após adição de reagente Allper.	62
Gráfico 9 - Varredura de solução de peróxido de hidrogênio a 60 mg.L ⁻¹	63
Gráfico 10 - Varredura de 6 amostras de cloridrato de fluoxetina à 40 mg.L ⁻¹ e 1 de peróxido de hidrogênio à 60 mg.L ⁻¹ em água desmineralizada.	64
Gráfico 11 - Espectros da solução de 40 mg.L ⁻¹ de cloridrato de fluoxetina armazenada por 58 dias.	66
Gráfico 12 - Espectros dos experimentos realizados com peróxido de hidrogênio e prata coloidal com leitura após 180 min.	67
Gráfico 13 - Concentração de peróxido de hidrogênio durante o experimento de exposição do fármaco ao peróxido de hidrogênio.	68
Gráfico 14 - Espectros da exposição da fluoxetina a UV ao decorrer do tempo.	69
Gráfico 15 - Curva de concentração de fluoxetina por tempo com aplicação apenas de radiação UV.	69
Gráfico 16 - Espectros da exposição de fluoxetina a UV com a presença de prata coloidal.	70
Gráfico 17 - Curva de concentração de fluoxetina por tempo com aplicação de radiação UV e prata coloidal.	70
Gráfico 18 - Espectros da exposição da solução de fármaco a UV + peróxido de hidrogênio no decorrer do tempo.	71

Gráfico 19 - Concentração de fluoxetina no decorrer do tempo quando exposta ao peróxido de hidrogênio e UV.....	72
Gráfico 20 - Concentração de peróxido de hidrogênio na exposição de fármaco a este produto e UV.....	72
Gráfico 21 - Espectros da exposição da solução de fármaco a UV, peróxido de hidrogênio e prata coloidal no decorrer do tempo.....	73
Gráfico 22 - Concentração de fluoxetina no decorrer do tempo quando exposta a peróxido de hidrogênio, prata coloidal e UV.....	74
Gráfico 23 - Concentração de peróxido de hidrogênio durante a exposição do fármaco a 40 mg.L ⁻¹ a prata coloidal, peróxido de hidrogênio assistido por UV.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Experimentos feitos na solução de 40 mg.L ⁻¹ de cloridrato de fluoxetina.	54
Tabela 2 - Identificação das curvas apresentadas no Gráfico 10.	64
Tabela 3 - Concentrações dos experimentos nos determinados tempos de exposição.	75
Tabela 4 - Redução das concentrações nos experimentos conforme tempos de exposição.	75
Tabela 5 - Resultados dos ensaios de toxicidade, número de organismos imóveis conforme diluição.	77

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3 REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1 TRATAMENTO DE ÁGUA E EFLUENTES.....	15
3.2 FÁRMACOS – UM BREVE HISTÓRICO	19
3.3 EFEITO DOS FÁRMACOS NA BIOTA	22
3.4 REMOÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUA.....	24
3.5 FLUOXETINA E TOXICIDADE	29
3.6 ROTAS DE EXPOSIÇÃO AMBIENTAL DOS FÁRMACOS	37
3.7 DETECÇÃO DE FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE	42
4 METODOLOGIA	47
4.1 DESCRIÇÃO DOS MATERIAIS UTILIZADOS.....	48
4.2 DETERMINAÇÃO DA CURVA DE CONCENTRAÇÃO DO FÁRMACO	52
4.3 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO.....	53
4.4 DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	57
5.1 ANÁLISE DA CURVA DE CONCENTRAÇÃO DO FÁRMACO.....	57
5.2 ANÁLISE DOS EFEITOS DE ALTERAÇÃO DE pH NA SOLUBILIDADE.....	60
5.3 ANÁLISE DAS CURVAS DE CONCENTRAÇÃO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E DA PRATA EM SOLUÇÃO.....	62
5.4 ANÁLISE DA INTERAÇÃO DO FÁRMACO COM OS COMPOSTOS.....	63
5.5 AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO	65
5.6 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE	77
6 CONCLUSÕES	80
7 SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS	81

1 INTRODUÇÃO

A ocupação humana traz consigo o aparecimento da poluição e degradação ambiental, não apenas em caráter exploratório, devastando áreas e extinguindo espécies, mas também produzindo resíduos de forma constante que prejudicam seu entorno, bem como os corpos hídricos regionais que carregam seus rejeitos por quilômetros, prejudicando a qualidade da água à jusante.

Essa contaminação dos rios por efluentes tem se agravado com o avanço tecnológico devido à inclusão de novos compostos que as comunidades aquáticas não têm capacidade de processar e que podem, além disso, provocar a inviabilização da vida de certos organismos. Wolff (2011) e Santos *et al* (2010), mostram, à título de exemplo, a presença dos fármacos e suas consequências negativas no ambiente. Tais compostos levam à elevação da toxicidade do ambiente para os microrganismos, dificultando a remoção da carga orgânica por processos convencionais e ocasionando diminuição da biodegradabilidade da matéria orgânica (TERNNS, 1998).

Novas legislações (leis, resoluções e normas) vêm sendo dispostas com o objetivo de se reduzir a presença de poluentes nos descartes industriais, agropecuários e domésticos, de forma geral, a toxicidade de tais efluentes para os microrganismos, causando a melhora da qualidade dos corpos hídricos. Pode-se exemplificar citando a resolução CONAMA Nº 430/2011 (BRASIL, 2011), através da qual se estabelece, além da categorização de corpos d'água, os padrões mais severos para descarte, em complementação à resolução CONAMA Nº 357/2005 (BRASIL, 2005), em que se dispõe sobre a classificação dos corpos hídricos, diretrizes ambientais para seu enquadramento e se estabelece condições e padrões para o lançamento de efluentes.

O governo federal, com lei Nº 7.802 (BRASIL, 1989), regulamentou e proibiu a utilização de alguns fitossanitários e estes compostos, até então utilizados como defensivos agrícolas, foram substituídos por produtos que possuem menor estabilidade, cuja degradação causa menor impacto ambiental. Contudo, mesmo após sua proibição há mais de 20 anos, foi possível encontrar amostras que os continham em estudos realizados no Paraná na década de 90 (ANDREOLI *et al*, 2000).

Muito embora as empresas de fornecimento de água monitorem os fitossanitários utilizados na agricultura – atividade prevista pela Portaria Nº 2914

(BRASIL, 2011) – os fármacos têm sido encontrados em altas concentrações nos rios em geral.

O início da preocupação com a presença desses poluentes em recursos hídricos começou nos Estados Unidos da América (EUA) com estudos na década de 70 (GARRISON *et al.*, 1976 e HIGNITE *et al.*, 1977) e na Inglaterra na década de 80 (RICHARDSON *et al.*, 1985; AHERNE *et al.*, 1985; AHERNE *et al.*, 1990). Porém, apenas nos anos 90, as técnicas analíticas avançaram suficientemente para que se tivesse melhor compreensão e controle destes compostos na água e de sua dinâmica no ambiente.

Pesquisadores têm mostrado, através de variados estudos, que a presença de produtos farmacêuticos em rios tem alcançado valores significativos (WOLFF 2011; SANTOS *et al* 2010; TERNES, 1998; FOGAZIO *et al*, 2008). Entretanto, em vista da grande diversidade de compostos que é descartada, realizar o controle total destes é bastante difícil pois sua fonte de contaminação é difusa.

Outras características de tais contaminantes emergentes – assim chamados devido a recente preocupação instaurada – são as de serem biologicamente ativos e lipofílicos o que dificulta sua degradação no ambiente e aumenta sua capacidade de bioacumulação e persistência (CHRISTENSEN, 1998).

O tratamento convencional de efluentes domésticos não é suficiente para remover estes poluentes, cabendo muitas vezes um tratamento terciário para sua remoção. SOUZA (2011) realizou um estudo de degradação de atrazina no efluente de uma estação de tratamento de esgoto e apenas 6% da substância foi removida.

A dificuldade em se tratar de tal problemática é aumentada ao observar-se que a presença de fármacos nos efluentes domésticos não se dá apenas pelo descarte indevido das substâncias, mas também através de rejeitos humanos, na forma de metabólitos (CAMINADA, 2008).

Estudos feitos por HAN *et al.* (2006) apontaram que substâncias metabolizadas apresentam características mais lipofílicas às originais, aumentando a persistência no meio. Esses fatores fazem com que a presença destes poluentes seja inevitável, mesmo com medidas básicas preventivas que poderiam ser adotadas, como: campanhas que incentivem o descarte consciente; postos de coleta para medicamentos vencidos ou que não são mais usados; fracionamento na venda de medicamentos (para que o paciente compre apenas a dose necessária em vez de caixas de comprimidos); campanhas contra a hipocondria, dentre outras.

No Brasil, onde o sistema de abastecimento é, de acordo com o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS, diagnóstico de 2014), composto por 84% de águas de superfície, o descarte inadequado de medicamentos ou a urina na rede de esgoto torna a presença destes um fator ainda mais preocupante.

A Portaria Nº 2914 (BRASIL, 2011), que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano, não possui exigências para a presença de micropoluentes, apenas agentes fitossanitários ligados à agricultura e à presença de microcistina, o que dificulta o monitoramento e o controle em águas de abastecimento público.

Outro agravante que preocupa a comunidade científica é o potencial efeito à saúde (humana, animal ou de organismos aquáticos) da grande quantidade de novos medicamentos lançados anualmente pela indústria farmacêutica. Com os mais variados usos, tem-se a frequente invenção e renovação de, por exemplo, antibióticos, hormônios, anestésicos, antilipêmicos, antidepressivos, assim por diante. FENT *et al.* (2006) realizaram estudos ecotoxicológicos que demonstraram que efeitos de fármacos podem ser detectados em qualquer nível de hierarquia biológica: células, órgãos, organismos, populações e ecossistemas.

Quanto aos fármacos já consolidados no mercado, aqueles da classe de psiquiatria – como antidepressivos, sedativos, ansiolíticos e hipnóticos – estão entre as substâncias mais prescritas no mundo (BROOKS *et al.*, 2003).

A fluoxetina, por exemplo, é um antidepressivo muito usado, até mesmo de forma indiscriminada e sem prescrição médica, e acaba sendo um fármaco presente em boa parte das águas em que há efluentes domésticos.

Muitas vezes utilizado para outros fins diferentes do seu propósito, o composto tem sido encontrado com frequência¹ em matrizes ambientais estudadas, mostrando o amplo uso pela população e a ineficiência da sua remoção pelos sistemas disponíveis para tratamento dos efluentes domésticos, levando a graves impactos aos ecossistemas que por estes são abastecidos. Por exemplo, dentre os

¹ Valores médios encontrados de concentração de fluoxetina: em rios da Espanha de $0,13\mu.L^{-1}$ até $0,79\mu.L^{-1}$ (ALONSO *et al.*, 2010); para córregos dos Estados Unidos = $0,012\mu.L^{-1}$ (KOLPIN *et al.*, 2010); em efluente de estação de tratamento de esgoto no Canadá = $0,099\mu.L^{-1}$ (METCALFE *et al.*, 2003); em tecidos de peixes em ambiente controlado = $0,015\mu.g.kg^{-1}$ (BROOKS *et al.*, 2005, RAMIREZ *et al.*, 2007).

problemas causados às comunidades aquáticas afetadas pela presença do fármaco, pode-se citar: redução na eficiência da degradação de efluentes (MACLEOD e WONG, 2010); modificação da fertilidade e do sistema reprodutivo (FENT *et al*, 2006) e; mudanças comportamentais (tais como aumento da agressividade) em peixes (CLOTEFELTER e RODRIGUEZ, 2006).

A remoção de fármacos da água, de modo geral, deve ser feita por meio da fase de polimento após um tratamento convencional, pois estes não possuem capacidade de remoção de micropoluentes (SILVA, 2011). As principais formas de polimento para remover estes contaminantes são a adsorção por carvão ativado (SILVA, 2012, LIMA, 2013, FERNANDES, 2007), por novos materiais (MORUZZI *et al*, 2014, PEREIRA, 2013), por materiais de reúso (SILVA, 2013), dentre outros, e a degradação química por meio da oxidação utilizando peróxidos (MARTINS, 2009), processos oxidativos avançados (MARTINS, 2009, FERNANDES, 2007, TROVO, 2009), radiação solar (TROVO, 2009), hipoclorito de sódio (MORUZZI *et al*, 2014, FERNANDES, 2007).

Tais considerações postas, o presente trabalho expõe a avaliação um produto à base de peróxido e nanocomposto de prata para degradação da fluoxetina em água, em escala laboratorial.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O principal objetivo do trabalho é avaliar a degradação de cloridrato de fluoxetina comparando a utilização de dois reagentes: o peróxido de hidrogênio e este assistido por Produto NNXC R2, um composto a base de prata coloidal, utilizando como método de verificação o monitoramento por UV-vis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o método de detecção e quantificação da fluoxetina por UV-Vis em diferentes concentrações e faixas de pH, comparando à literatura existente;
- Verificar a reatividade da fluoxetina quando exposta a circulação (interação com oxigênio dissolvido), quando exposta a peróxido de hidrogênio e prata coloidal, com e sem aplicação de radiação ultra violeta (UV) ;
- Desenvolver um método de controle eficiente e de baixo custo para detecção do fármaco avaliado e para sua degradação (objetivando a degradação de grandes quantidades do fármaco, como um destino final);
- Realizar ensaios de toxicidade nas soluções resultantes para verificar se houve remoção ou acréscimo da toxicidade para *Daphnia spp.*

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 TRATAMENTO DE ÁGUA E EFLUENTES

Mesmo com a queda da qualidade geral das águas economicamente disponíveis para tratamento, o tratamento convencional é capaz de enquadrar os efluentes dentro dos parâmetros de qualidade exigidos pela legislação vigente. Porém, mesmo estando dentro do padrão mínimo para fornecimento, a falta de exigência de controle de micropoluentes faz com que não haja este controle e possíveis ações para sua remoção (BRASIL, 2011).

De forma geral, o tratamento de água tem como objetivo enquadrar os parâmetros de potabilidade (BRASIL, 2011) e de forma geral, o tratamento convencional confere bons resultados para o atendimento a esta portaria (DI BERNARDO, 2005 “a”, BRASIL, 2011). O tratamento de efluentes é mais complexo, já que cada empresa trabalha com diferentes tipos de efluentes, porém a redução de carga orgânica, nitrogênio e fósforo, já possui muito material na literatura, para tratamento aeróbico, anaeróbico, facultativo, fitoremediação, etc (DI BERNARDO, 2011).

O tratamento convencional consiste em captação, pré cloração e pré alcalinização (quando necessário), adição de coagulante, floculação, coagulação, decantação (ou flotação), filtração, desinfecção, cloração e fluoretação. Este processo consegue remover até 100% do material suspenso em água (quando feito de forma adequada) e consegue reduzir a carga orgânica, mesmo quando solúvel pela utilização de agentes oxidantes e a possibilidade de inclusão de carvão ativo para adsorção (DI BERNARDO, 2005 “a”). Todavia, há poucos resultados comprovados na remoção de micropoluentes (sem adição de carvão ativado ou de agentes oxidantes em doses maiores do que as são regularmente usadas). Ainda, quando há a aplicação de agentes oxidantes, há chances de formação de compostos secundários de difícil controle (DI BERNARDO, 2005 “b”).

Reforçando as afirmações anteriores, HAN *et al* (2006), realizaram ensaios em que os processos convencionais de tratamento de água não demonstraram eficiência na remoção dos fármacos e, se houve pequena remoção, correlaciona-se este fato aos processos de desinfecção ou pré cloração (dióxido de cloro, hipoclorito,

entre outros) e não ao processo de decantação/flotação e filtração – processo convencional para remoção de material em suspensão (HAN *et al.*, 2006).

A redução da presença de fármacos em sistemas de tratamento de esgoto é mais significativa do que os tratamentos convencionais de água devido à diversidade dos microrganismos nestes ambientes, à acumulação destes compostos pelas células – e consequente remoção por meio do lodo – e à metabolização dos mesmos (HAN *et al.*, 2006).

Já em estações de tratamento de efluentes, a taxa de remoção dos fármacos varia muito, como visto em vários estudos, indo de 1% de remoção até 99% (TERNES, 1998; STUMPF *et al.*, 1999; LINDQVIST *et al.*, 2005; ROBERTS e THOMAS, 2006). Os resultados de melhor remoção encontrados foram obtidos através de sistemas de lodo ativado, em que se estende o tempo de retenção do sistema e utiliza-se lodo estabilizado (FENT *et al.*, 2006).

A adsorção das substâncias pelos sólidos suspensos, em que há o material biológico, e a biodegradação são processos importantes em tratamento de esgotos. A adsorção depende, em grande parte, de alguns fatores como as características do composto e a interação hidrofóbica e eletrostática do fármaco com as partículas. Já sua degradação pelos microrganismos depende, especificamente, do tipo de espécies envolvidas e sua interação com o medicamento, da disponibilidade de nutrientes, da aceitação/toxicidade, dentre outros fatores (FENT *et al.*, 2006).

Para se remover o restante dos micropoluentes de forma eficiente, considerando que nem todo processo biológico atua de forma significativa, deve-se atuar aplicando-se processos auxiliares após qualquer tratamento, utilizando processos de polimento, como mencionado na seção 1. INTRODUÇÃO, deste presente trabalho.

A utilização de agentes adsorventes como forma de remoção dos fármacos em água é encontrada como se utilizando novos compostos e compostos que já possuem eficácia nesta remoção, mas feitos com matérias primas diferentes, geralmente resíduos de algum processo de produção.

O carvão ativado é um exemplo de material com conhecido funcionamento quando o objetivo é a remoção de material orgânico solúvel em água.

SILVA (2012) produziu carvão utilizando casca de coco baía e o utiliza na remoção de Amoxicilina, Ampicilina, Cefalexina, Ciprofloxacina, tendo remoção superior a 90% para todos os medicamentos com 4 horas de exposição.

Lima (2013) demonstrou que o uso concomitante de carvão ativado (de origem mineral) em processos de coagulação, floculação e decantação de águas superficiais que contêm fármacos não provoca bons resultados por haver competição por sítios ativos do carvão, mas quando utilizado em uma fase de pré-tratamento (respeitando-se um tempo de contato de 15 min e presença de 10 mg.L^{-1} de carvão) os resultados chegaram a 99,9% de remoção. Apesar do autor não realizar ensaios de aplicação após o processo de decantação (que apresentam remoção de até 30% dos contaminantes estudados), mostra que se pode alcançar bons valores de remoção aplicando-se pré-tratamentos diferenciados e não só fases de polimento.

Em uma ótica distinta, FERNANDES (2007) comparou a aplicação de carvão ativado (feito à base de casca de coco baía, industrializado) como tratamento de amostra de água subterrânea adicionada de 17α etinilestradiol com a oxidação gerada por hipoclorito de sódio e dióxido de cloro para remoção do fármaco. A análise dos resultados obtidos mostra que tanto o hipoclorito de sódio como o carvão ativado teve remoção acima de 95%, porém o tempo de contato para que o carvão alcance tais valores de remoção é de 60 min enquanto o tempo de contato com o hipoclorito de sódio é de no mínimo 3 h. O estudo menciona a formação de compostos intermediários gerados no processo de oxidação, mas não apresentou resultados sobre seu aparecimento ou proporção.

Com uma mesma intenção comparativa, MORUZZI *et al* (2014) compararam os resultados de remoção de ácido mefenâmico de água utilizando-se processo oxidativo com hipoclorito de sódio e adsorção com carvão ativo e lama vermelha (resíduo da produção de alumínio de uma empresa de Sorocaba –SP). Para o tratamento realizado com os 3 produtos, os valores de remoção foram próximos a 100%, mostrando que um outro resíduo pode ser estudado na remoção de fármacos.

Também utilizando um resíduo, SILVA (2013) realizou a ativação de poli tereftalato de etileno (o PET, encontrado em garrafas plásticas) com ácido sulfúrico e processo brando de pirólise para promover o aparecimento de sítios ativos de adsorção. Após isso, comparou o processo de adsorção de 5 fármacos (paracetamol, piroxicam, naproxeno, diclofenaco e ibuprofeno) pelo composto gerado e pelo carvão ativado (comercial) em filtros de passagem. A remoção de ibuprofeno, paracetamol e piroxicam foi equivalente para os 2 materiais, mas para os outros 2 contaminantes foi superior no filtro composto pelo PET ativado, mostrando que novos compostos,

realizados utilizando-se resíduos, podem ser uma alternativa mais barata, e por vezes mais eficiente, que o clássico carvão ativado.

Ainda utilizando a abordagem da adsorção, PEREIRA (2013) estudou a adsorção de diclofenaco em água utilizando a quitosana (biopolímero, resíduo de origem da indústria pesqueira) e suas formas modificadas quimicamente. O melhor valor de remoção obtido foi de 93% e 90 min de tempo de contato.

Inúmeros trabalhos trazem informações sobre a evidente eficiência da remoção de fármacos da água utilizando-se diversos processos e matérias de adsorção, entretanto os poluentes são transferidos para a fase sólida do agente adsorvente. Desta forma, mais concentrada, ainda há necessidade de se obter um destino adequado ao lodo ou material adsorvente, já que este possui grandes quantidades dos fármacos. Esta é a principal justificativa para a utilização de degradação dos fármacos, já que nela o objetivo é a mineralização (transformação de todos compostos orgânicos em CO₂ e água) ou a quebra dos compostos em produtos menos nocivos.

Dos estudos mencionados anteriormente, todos utilizavam cloro ou algum derivado como agente oxidante. Apesar de apresentar grande eficiência e baixo custo, em certas situações ou na presença de matéria orgânica e compostos nitrogenados pode haver a formação de compostos indesejados, como os tri halometanos (THMs) e cloraminas (DI BERNARDO, 2005 “a”).

As principais formas de polimento para remover estes contaminantes são a adsorção por carvão ativado (FERNANDES, 2007; SILVA, 2012; LIMA, 2013,), por novos materiais (PEREIRA, 2013, MORUZZI *et al*, 2014), por materiais de reuso (SILVA, 2013), dentre outros, e a degradação química por meio da oxidação utilizando peróxidos (MARTINS, 2009), processos oxidativos avançados (MARTINS, 2009, FERNANDES, 2007; TROVO, 2009), radiação solar (TROVO, 2009), hipoclorito de sódio (FERNANDES, 2007; MORUZZI *et al*, 2014).

Um processo eficiente de polimento, que apresenta bons resultados de remoção é a foto degradação utilizando-se energia solar, pois se tem um processo com baixo custo energético e de instalação. Apesar da fotodegradação realizada desta forma ter apresentado resultados satisfatórios de remoção, há a necessidade de grande incidência solar para isso. Tal processo têm apresentado problemas técnicos como disponibilidade da luz solar, variação de acordo com a latitude e

estação do ano, que são fatores de grande importância para implementação de um sistema de polimento eficiente (FENT *et al.*, 2006).

Entretanto, deve-se ressaltar que, caso um fármaco não seja encontrado ao final do tratamento de uma ETE, não se deve interpretar o resultado como positivo sem antes realizar um estudo nos possíveis metabólitos que podem ter sido gerados no processo de degradação, pois tais moléculas possuem a capacidade de contaminação dos corpos aquáticos onde o efluente da estação será degradado (DAUGHTON e TERNES, 1999; ZWIENER *et al.*, 2001; HEBERER, 2002).

3.2 FÁRMACOS – UM BREVE HISTÓRICO

Medicamento ou fármaco é um conceito que pode ser considerado abstrato, já que traz consigo elementos de ambiguidade, alteridade, estranheza e proximidade. A fonte desta dificuldade de tangibilidade do próprio conceito vem da sua palavra de origem *Pharmakon*, que pode significar corante, remédio ou veneno, dando raiz a ambiguidade e ao fim da palavra (DUTRA, 1998). Para os gregos, a interação com a natureza, relação chamada de terapêutica, tinha como principal objetivo a cura ou retorno da saúde. A sociedade veio a buscar na natureza o remédio, conceituado como elemento externo que proporcionava alívio de condição de dor, cicatrização de ferimentos e até superação da morte (RENOVATO, 2008).

A utilização de medicamentos como recurso terapêutico sofreu muitas evoluções ao longo da história e veio a tornar-se um dos principais recursos tecnológicos do campo da saúde quando, após a Segunda Guerra mundial, houve os primeiros indícios da industrialização de fármacos. Em adição, houve avanços que permitiram a criação de novos fármacos (ou aprimoramento de alguns existentes) a partir da implementação de recursos instrumentais que pudessem comprovar a sua segurança e eficácia (RENOVATO, 2007).

Graças ao desenvolvimento e aos grandes investimentos da indústria farmacêutica há um grande número de substâncias descobertas e a cura de várias patologias. Entretanto, entre a descoberta de uma nova substância e sua comercialização são necessários de 5 a 10 anos de estudos para a comercialização do medicamento (VIEIRA e OHAYON, 2006). Ainda, há tendências de que o tempo para a liberação de substâncias aumenta devido a regulamentações mais exigentes

quanto ao tempo dos estudos a serem feitos com as novas drogas (VIEIRA e OHAYON, 2006).

Os grandes investimentos realizados pelos laboratórios no desenvolvimento e o valor que certas descobertas têm para a sociedade na cura de enfermidades faz com que estas substâncias se tornem um objeto híbrido entre um bem de consumo e uma ferramenta terapêutica, sendo que sua caracterização como bem de consumo necessária para compreensão do seu uso racional (SEVALHO, 2003). Este mesmo autor aborda que o uso de medicamentos pode estar ligado à saúde emocional, não só na cura de doenças por efeito placebo, mas também como simbolismo de *status* social. Tal expressão estética da mais valia proporciona ao objeto a sucumbência à lógica de mercado e uma fuga do seu fim primário.

No Brasil, no início do século XX, havia descentralização da produção de fármacos dividida entre pequenos e médios empreendimentos, mas com a abertura das fronteiras de mercado proporcionada pela globalização, a descoberta de novas drogas (mais baratas e mais eficientes) sob o domínio de laboratórios estrangeiros, fez com que estes, a partir da década de 1970, dominassem boa parte da produção de medicamentos no Brasil (RENOVATO, 2008). Também nesta década, começou o processo de transição democrática, onde a militância política conseguiu como conquista atribuir a responsabilidade da saúde um direito ao povo e dever do Estado, o que culminou, em 1988, na criação do SUS.

Em 1971 a Central de Medicamentos (CEME) foi criada com o objetivo de aumentar o consumo de fármacos no país, acomodando os interesses das grandes empresas farmacêuticas, e propiciando acesso a fármacos para a população de baixa renda, mas foi extinta em 1997 devido a abrigar uma rede corrupção e por praticar políticas equivocadas de administração e assistencialismo. Antes deste desfecho, em 1990 foi promulgada a política da fabricação e uso dos medicamentos genéricos que, além de efetivamente viabilizar o acesso de medicamentos para a população pelo aumento da competição, criou novos métodos de controle para fabricação de fármacos, aumentando a segurança da comercialização e uso dos mesmos (RENOVATO, 2008).

Fatos importantes, que devem ser ressaltados sobre a indústria farmacêutica, são que a rentabilidade de bens desta indústria chega a 15,1%, superando a indústria automotiva, varejista, de construção civil e de alimentos; apenas 20% dos medicamentos comercializados no Brasil são considerados de uso essencial e; cerca

de 35% de todos os medicamentos do Brasil são adquiridos sem receita médica, mesmo havendo legislação que exija o contrário (NASCIMENTO, 2005). Este último fato perdurou até a década de 2010 e levou em, 2011, no retrabalho por parte da ANVISA, ao controle e fiscalização sobre a venda de medicamentos em farmácias em todo Brasil (SILVA, 2014).

Como já apontado por ANTUNES (1999) o crescimento da intensidade nas relações de trabalho, causa um aumento da insegurança no emprego, estresse e ou doenças originárias das atividades laborais. Os consumidores, portanto, tem a falsa impressão de poder comprar a paz por meio de medicamentos que os façam perderem peso, melhorarem desempenho sexual ou mesmo aumentar a energia e disposição para encararem o dia a dia.

Aliando, portanto, a facilidade de acesso ao crescente aumento do estresse da população, impulsionado por crises econômicas e necessidade da resolução dos próprios problemas (pelo menos dos danos a saúde que estes causam) levam ao aumento, ano a ano, do consumo de fármacos pela população.

Existem várias classificações diferentes para fármacos que a população tem acesso, quanto à origem (natural, sintética ou semissintética), quanto seu uso (antiácidos, antiparasíticos, bronquodilatadores, antiinflamatórios, antidepressivos, e outros), quanto à forma de aplicação (ingestão, uso externo, injeção intravenosa, inalação, dentre outros), quanto à restrição de uso (liberado, controlado, restrito ou proibido), quanto à forma de uso (pílulas, cápsulas, pomadas) e outras classificações. Há um grande controle no uso e comercialização de medicamentos devido ao risco inerente de mau uso, utilização para produção de outras drogas, riscos à saúde e estas diversas formas de classificação estão diretamente ligadas às normativas e regulamentações de drogas novas e já existentes (LIMA *et al*, 2008).

Frente aos fatos relatados, nota-se que há um aumento no consumo de fármacos na sociedade a nível mundial e o reflexo dessa condição é visto por meio de análises do aumento da exposição do meio às substâncias. A contaminação das águas superficiais e subterrâneas tem sido o foco de vários estudos e a ocorrência de todos os fármacos tem subido ano a ano (CLARKE e SMITH, 2011).

3.3 EFEITO DOS FÁRMACOS NA BIOTA

Ainda existem poucas informações sobre os efeitos crônicos da exposição à contaminação de fármacos em concentrações baixas e à bioacumulação (OETKEN, *et al.*, 2005). Há uma tendência de aumento dos estudos relacionados ao tema, mas a complexidade da exposição é muito grande devido à existência de inúmeros fármacos em concentrações diversas e a interação entre eles.

Efeitos na vida selvagem são constatados quando há presença de concentração de fármacos caso se utilize as ferramentas apropriadas para realização dos estudos (KUMMERER, 2009). Quando tais ferramentas não são acessíveis, existem dificuldades tanto para realização da análise quanto para definição de conclusão acerca de certos campos de observação. Como por exemplo, pode-se citar a atual escassez de estudos sobre a influência da concentração de hormônios na vida de animais terrestres, já que estudos tendo como foco a exposição de espécies aquáticas a modificações em sua fertilidade e sistema reprodutivo, em longo prazo, são mais simples e baratos (FENT *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, pesquisadores verificaram que há mudanças comportamentais (relacionados ao aumento da agressividade) e no sistema endócrino de espécies expostas à presença de hormônios em água (CLOTFELTER e RODRIGUEZ, 2006). Na espécie *Daphnia magna* há modificação no sistema reprodutivo comportamental quando os indivíduos são expostos a estrogênio de vertebrados (CLUBBS e BROOKS, 2007).

O 17 α -etinilestradiol pode provocar feminização de peixes em concentrações da ordem de ng.L^{-1} e as concentrações encontradas em diversos estudos é ambientalmente relevante. Os efeitos destes hormônios são comparados pelos cientistas a outras substâncias igualmente perigosas que tem efeito tóxico não letal, como o tributultin (TBT), que pode provocar queda da fertilidade, esterilização e até mudança de sexo em peixes pequenos e moluscos, provocando queda nas populações que são expostas (STROBEN *et al.*, 1992; OEHLMANN *et al.*, 1996; BAUER *et al.*, 1997).

No final da década de 1990, foram publicados estudos em que foi possível observar deformações em anfíbios (como pernas extras ou aparelho vocal atrofiado) na região de Minnesota (EUA) e no vale de Quebec (Canadá) (OUELLET *et al.*, 1997, GARDINER e HOPPE, 1999).

Nestas pesquisas não foi apontado um motivo explícito para a causa, porém, em um artigo publicado posteriormente, os autores propõem que as deformações poderiam estar ligadas à presença de hormônios, pesticidas e outros agentes xenobióticos (HAYES *et al.*, 2002). Segundo os autores, a falta de fertilidade tem afetado de forma óbvia o decréscimo da população, mas a perda da capacidade vocal também afeta estes organismos, pois os sons que emitem são utilizados para atrair parceiros, da mesma forma que pernas adicionais comprometem a reprodução uma vez que dificultam a copulação (HAYES *et al.*, 2002).

Outra ocorrência afetando populações marítimas, verificada por meio da utilização de microscopia eletrônica, foi a presença de estradiol na água. Em ensaios realizados em laboratório, a concentrações de $6\mu\text{g.L}^{-1}$, o produto provocou mudanças hormonais, comportamentais e perda de peso em larvas de carpa arco íris, além de danos como disfunção do sistema celular ótico e no nervo óptico dos peixes em geral (TRIEBSKORN, 1994).

Já em espécimes terrestres, foi verificada a extinção em massa de animais necrófagos no sudeste asiático no final da década de 1990, ligada ao uso do diclofenaco (droga anti-inflamatória). O gado, quando doente, recebia grandes quantidades do medicamento, mas devido às enfermidades não controladas pela aplicação do fármaco, acabava falecendo e sendo deixado no campo. A carne destes animais era então consumida pelos abutres, causando gota visceral, ou seja, deposição de cálculos de ácido úrico em todos os órgãos das aves (OAKS *et al.*, 2004).

A presença de micropoluentes na água não pode ser encarada como segura em qualquer concentração, uma vez que pode causar a extinção em massa de certas espécies pelos efeitos de bioacumulação ou mesmo por efeitos secundários gerados por sua presença, causando danos à população. Políticas públicas devem ser aplicadas, e constantemente revisadas, para impedir a entrada destas substâncias nos meios aquáticos com o objetivo de não apenas de evitar a contaminação da água (que futuramente será consumida por seres humanos), mas também de não provocar a extinção de espécies animais.

3.4 REMOÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUA

Dentre os diversos elementos que podem ser encontrados em um efluente, há substâncias que devem ser controladas a fim de que se evite a ocorrência de grandes impactos na biota. Neste âmbito, a remoção de substâncias específicas ganha importância e espaço em discussões, principalmente no que concerne à redução de produtos presentes em efluentes, como rejeitos industriais ou, até mesmo, domésticos, em que pode haver descarte acidental, ou inconsciente, de elementos prejudiciais ao ambiente.

Em tratamento de água, o acompanhamento de substâncias traço é mais intenso, já que muitas delas, principalmente fitossanitários e toxinas, são monitoradas devido à legislação, possuem um controle e métodos de remoção mais apurados. Porém, na Portaria NBR Nº 2914 (BRASIL, 2011), ainda não é previsto o controle de fármacos para fins de potabilização de água para consumo humano.

Para tratamento de água ou efluentes, a remoção de tais compostos é feita após os tratamentos convencionais, na etapa de polimento (DI BERNARDO, 2005 “a”). Essa etapa tem como foco a remoção de compostos em concentrações na ordem de $0,001 \mu\text{g.L}^{-1}$ a $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$, denominados na literatura como micropoluentes ou poluentes emergentes.

Como já mencionado, há na literatura diversos estudos realizados tendo como foco a remoção de contaminantes emergentes. Há duas formas mais comumente usadas para realizar esta remoção: 1) utilizar algum material adsorvente em que o poluente é acumulado e retirado por precipitação ou filtração e; 2) a oxidação utilizando produtos químicos com ou sem auxílio de radiação ultravioleta (que pode ser de fonte artificial ou natural) (SILVA, 2011).

Ambos os processos de remoção possuem suas peculiaridades e apresentam na literatura índices de remoção próximos a 100% para diversas classes de micropoluentes e em diferentes formas de aplicação. Como principal diferença apontada entre os dois, sabe-se que a adsorção promove a transferência do composto foco para um material adsorvente, enquanto a oxidação química promove a mineralização dos compostos orgânicos em questão. Não é possível afirmar que uma metodologia tenha vantagem sobre a outra, mas possuem características distintas que, quando aplicadas na prática, deverão ser levadas em conta (FERNANDES, 2007; CARONI, 2009; CHRISTEN *et al*, 2010; LIMA, 2013; FORNAZARI, 2015).

A remoção de substâncias por adsorção tem como principal adsorvente o carvão ativado. No começo de sua utilização, ele era feito a partir de carvão mineral, que era tratado para aumentar a adsorção. Mas, com a evolução de métodos de controle e de produção, outros materiais, principalmente resíduos agrícolas e industriais, têm sido utilizados para produção de diferentes tipos de carvão. Esta tendência tem como principal justificativa o reaproveitamento de resíduos que possuem um preço de mercado mais baixo (além de evitar a remoção de um carvão mineral, de forma não sustentável), dando a um material que seria descartado um uso mais nobre e gerando uma alternativa na remoção de micropoluentes (MORUZZI et al, 2014).

A simples utilização do carvão ativado não garante sua eficácia, como mostra estudo realizado por SILVA (2013), em que o carvão utilizado junto a um processo convencional de decantação (utilizando como coagulante sais de ferro⁺³) para clarificação de águas naturais contendo fármacos. Nesta aplicação, houve baixo desempenho na remoção de fármacos (variando de 10% a 38%), justificado pela presença de competição pelos sítios ativos do carvão entre os compostos foco e os coagulantes. Porém, quando o carvão foi aplicado antes da floculação, a remoção dos fármacos pesquisados aumentou para valores máximos de 99%. Resultados próximos (remoções superiores a 95%) são encontrados por FERNANDES (2007) que aplica tratamentos convencionais utilizando carvão ativado como após a floculação com sulfato de alumínio.

Valores de remoção próximos ao estudo apontado anteriormente se repetem quando SILVA (2012) compara o carvão ativado com carvão produzido a partir de cascas de coco da baía. Os estudos realizados tiveram como substrato amostras de água contaminadas com valores conhecidos de 3 diferentes fármacos, tendo uma pequena diferença para aplicação em água naturais contaminadas. Entretanto, o trabalho mostra como novos materiais podem ter performances equivalentes a produtos de uso consagrado pela indústria e comunidade científica, em que a remoção de ambos os materiais foi superior a 90% em todos os experimentos.

Tratando-se de adsorção, novos materiais baseados em outros resíduos, que não geram carvão como composto fim, também tem seu espaço na literatura, como aponta MORUZZI (2015). Seu estudo comparou a remoção de ácido mefetâmico (um anti-inflamatório) por carvão ativado, lama vermelha (resíduo proveniente do processamento da bauxita) e oxidação por hipoclorito de sódio. Nas melhores

condições de aplicação, a remoção por carvão ativo chegou a 100% e da lama vermelha a 96%, comparados com valores máximos de 96% para oxidação química.

Ainda, a adsorção não se restringe apenas a carvão ou a resíduos, como mostra CARONI (2009), que utiliza quitosana produzida por fungos na remoção de tetraciclina de água, segundo a autora, um processo relativamente simples e barato de produção deste substrato. Os níveis de remoção chegam a 96,5% para produtos que possuem maiores índices de polimerização e, comparados a outros adsorventes, a razão adsorvente:adsorbato é relativamente baixa, indicando um possível consumo inferior para remoção de uma mesma quantidade de agente poluente. Segundo a autora, a presença de diferentes grupos funcionais (como aminas, cetonas e outros) pode ser altamente eficiente para uma grande gama de fármacos.

Apesar da notória eficiência na adsorção de poluentes, há quem aponte, como principal desvantagem dos processos de adsorção, a simples transferência do problema para outro resíduo, que deverá ser destinado após a separação. Sendo este motivo o impulso para utilização de processos de oxidação, que tem como fim a mineralização dos compostos orgânicos. Para esta atividade utilizam-se processos oxidativos avançados, que descartam o uso de compostos oxidantes comuns – como hipoclorito de sódio e cloro gasoso, mais ligados a processos de desinfecção – e estão relacionados à aplicação de radiação ultravioleta (UV), que pode ser provinda de lâmpadas, *lasers*, ou radiação solar (US) (FORNAZARI, 2015).

Os processos oxidativos avançados (POAs) baseiam-se na formação de radicais hidroxila, elemento altamente oxidante e pouco seletivo, utilizados para degradação de compostos orgânicos. Existem diversas maneiras e técnicas para promover esta geração, mas os métodos mais utilizados estão expostos a seguir (HUANG, 1993):

Sistemas	Com irradiação	Sem irradiação
Homogêneos	O ₃ /UV	
	H ₂ O ₂ /UV	O ₃ /H ₂ O ₂
	Feixe de elétrons	O ₃ /OH ⁻
	H ₂ O ₂ /US	H ₂ O ₂ /Fe ⁺² (Fenton)
	UV/US	
	H ₂ O ₂ /Fe ⁺² /UV (foto-Fenton)	
Heterogêneos	TiO ₂ /O ₂ /UV	Eletroquímico
	TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV	Eletro-Fenton

Figura 1 - Sistemas típicos dos processos oxidativos avançados.
Fonte: Transcrito de HUANG (1993).

Pelo elevado poder de oxidação do radical hidroxila ($E^0 = +2,73$ V, comparado a $+2,08$ V para ozônio e $+1,36$ para o cloro, BRATSCH, 1989) e por não ser um processo de oxidação seletivo, os POAs são aplicados em qualquer processo em que a oxidação de compostos orgânicos é o objetivo.

O *Fenton*, por ser o processo mais simples de ser aplicado, que possui bons resultados com baixo gasto energético, aliado ao um baixo custo de implementação, tem sido utilizado ao longo dos anos para degradação de fármacos: agentes antineoplásicos (BAREK *et al.*, 1998); metronidazol (SHEMER *et al.*, 2006); sulfametazina (PEREZ-MOYA *et al.*, 2010); paracetamol, genfibrozila, ibuprofeno, fluoxetina (foco do presente trabalho), diclofenaco e naproxeno (LI *et al.*, 2012) e; dipirona (GIRI e GOLDER, 2014).

Os rendimentos dos estudos mencionados no parágrafo anterior são bastante amplos pois utilizaram condições diferentes para encontrar os melhores resultados. Contudo, todos os trabalhos trazem eficiências superiores a 90% para cada fármaco, além de serem aplicados aos fármacos isolados.

Já em estudos feitos por OLIVEIRA (2012), aplicou-se o *Fenton* na degradação de um efluente de empresa farmacêutica e a degradação de 3 compostos (incluindo da fluoxetina) foi monitorada durante os ensaios. Neste trabalho foi percebido que mesmo o processo de oxidação não sendo seletivo, há diferentes taxas de degradação para os fármacos (que tiveram variação de até 65% de eficiência de remoção para os mesmos ensaios). Amostras complexas e reais possuem taxas de degradação menores devido a vários fatores, dentre eles a presença de outros compostos orgânicos que acabam consumindo os agentes oxidantes e a presença de outros compostos que diminuem a ação da radiação pela formação de turbidez ou

mesmo por absorverem-na, não permitindo que seja usada pelos compostos como fonte de excitação.

Outros métodos também são empregados na degradação de fármacos, como a irradiação por feixe de elétrons, aplicada na degradação de fluoxetina em água e adicionada à amostra de efluente doméstico por SILVA (2014), obtendo altos valores de degradação (superiores a 98%). A aplicação de 5 diferentes fármacos em matriz de efluente real, com posterior degradação por H₂O₂/UV, foi realizada por KATSUMATA (2014), até que os fármacos não fossem mais detectados (degradação próximas a 100%).

FORNAZARI (2015) utilizou um método de redução com ferro metálico (Fe⁰) em forma de lã de ferro e de nanopartículas com posterior aplicação de *Fenton* para degradação de sulfatiazol (73% a 77%), sulfametazina (50% a 56%), diclofenaco (31% a 60%) e norfloxacin (67% a 68%). Embora o método tenha apresentado ótimos resultados na remoção de *Escherichia coli*, neste trabalho, valores não tão altos de remoção foram encontrados devido a: 1) existência de poucos e recentes estudos de aplicação do método e; 2) difícil controle na aplicação ou taxa de liberação de ferro no começo do processo.

A literatura revisada apresentou ótimos valores para remoção de fármacos por processos oxidativos. Todos os trabalhos mencionados realizam o controle da eficiência da degradação por meio de HPCL e, levando em consideração o caráter analítico do processo, mostrou-se um excelente método de controle. Entretanto, esta metodologia não consegue monitorar a formação de compostos intermediários (a não ser que também sejam monitorados) e esta poderia ser apontada como principal desvantagem dos processos oxidativos avançados. Como a utilização de radicais para oxidação não é seletiva, segundo HUANG (1993), não se pode esperar encontrar compostos que possuam especificidade suficiente para se controlar utilizando um equipamento de HPLC, pois seria necessário saber qual composto se deveria monitorar – muitas vezes os compostos gerados pela degradação parcial de alguns fármacos são substâncias mais tóxicas a organismos aquáticos.

Em SILVA (2014) houve diminuição da toxicidade, mas esta não é linearmente comparável à degradação, já que amostras que possuíam índices de degradação superiores a 95% apresentavam cerca de 83% de redução de toxicidade para *Daphnia magna*, mas apenas de 26% para *Vibrio fischeri*, o que indica que a toxicidade não é de origem exclusiva do fármaco que não sofreu degradação.

A *Daphnia magna* (Straus, 1820), é um microcrustáceo planctônico de água doce com reprodução é assexuada por partenogênese. É um organismo indicado pela NBR 12713 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2016) para análise de efluentes e amostras ambientais (KNIE, 2004).

Porém, KATSUMATA (2014) evidenciou em seu trabalho que mesmo os fármacos em estudo não estando mais em concentrações detectáveis, houve baixa remoção da toxicidade (em torno de 13% a 17%). Pesquisadores (KUNS *et al.*, 2002) apontam (em revisão), que há aumento nos índices de toxicidade após tratamento de efluente da indústria têxtil após utilização de POAs, mesmo quando há significativa remoção (até 70%) da carga orgânica do efluente. FORNAZANI (2015) aponta que não houve aparecimento de toxicidade para *Daphnias magna*, porém não se sabe se as soluções utilizadas seriam tóxicas caso o estudo fosse realizado em maiores concentrações.

3.5 FLUOXETINA E TOXICIDADE

O fármaco fluoxetina foi descrito pela primeira vez na literatura científica – em publicação datada de agosto de 1974, na revista Life Sciences (KRULICH, 1975) – como Lilly 11040 (na forma de cloridrato), revelando grande potencial de inibição seletiva da receptação da serotonina. A partir de então, amostras do composto foram disponibilizados para outros pesquisadores fora do “Projeto Lilly” – nome dado à droga que tinha como objetivo inibir efeitos da serotonina em animais cujos níveis altos do neurotransmissor provocavam doenças (como estresse). A inibição da serotonina é o principal mecanismo do fármaco que é utilizado até hoje em larga escala, mesmo após mais de 30 anos após sua descoberta (FERNANDES *et al.*, 2009).

Evidências do desempenho da serotonina (5- hidroxitriptamina, ou 5-HT) no combate à depressão apareceram no início da década de 1970, após estabelecida a hipótese de que o aumento da neurotransmissão da 5HT seria um mecanismo interessante para promover uma resposta antidepressiva. Após isso, iniciaram-se os esforços para a descoberta de um agente que não permitisse a receptação da 5-HT na junção sináptica.

O cloridrato de fluoxetina (Prozac ®; Eli Lilly) foi o achado desta busca. Após estudos em 1979, comprovou-se sua ação antidepressiva dado que impedia seletivamente a captação da serotonina. Por fim, foi aprovado para tratamento de

depressão na Bélgica em 1986 e pelo Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos em 1989 (FERNANDES *et al.*, 2009).

Através da Figura 2, a seguir, pode-se verificar o nome técnico, a estrutura e outras características do fármaco, bem como sua concentração em diferentes meios, inclusive água.

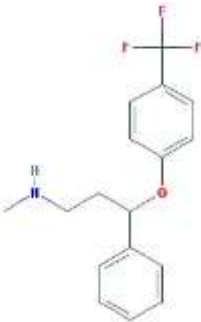
Nome IUPAC	N-metil-3-fenil-3-[4-(trifluorometil)fenoxi]-propano-1-amina
Estrutura Molecular	
Número CAS	54910893 (EPA, 2009)
Agente	Antidepressivo
Fórmula Molecular	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO (.HCl para cloridrato)
Peso Molecular	309,3 g/mol
Estado físico	Sólido Cristalino
Cor	Pó branco cristalino
Ponto de fusão	158°C
Solubilidade	Facilmente solúvel em metanol e diclorometano e em água na concentração de 50mg/L

Figura 2 - Propriedades físico químicas da fluoxetina
Fonte: FERNANDES (2009, P. 38).

Como sugestão de uso pela empresa que produz o medicamento, ele pode ser administrado na faixa de 20 mg.dia⁻¹ até 90 mg.dia⁻¹, dependendo da patologia apresentada (ELI LILLY AND COMPANY, 2011). Considerando estudos, descritos a seguir, pode-se estimar as quantidades de fluoxetina que um indivíduo humano tem o potencial de excretar durante o uso do produto.

O processamento da fluoxetina é realizado de forma parcial no fígado e tanto esta substância quanto seu metabólito norfluoxetina são excretados na urina. Seu tempo de meia vida dentro do organismo é de 4 a 6 dias, já o da norfluoxetina é de 4 a 16 dias. Pode-se afirmar que 20% a 30% da quantidade de fluoxetina ingerida é

excretada na forma de norfluoxetina, conforme apresentado em estudos (HARTKLE e MUTSLER, 1993).

Há variações na taxa de excreção, dependendo do fármaco, da dose e do indivíduo, mas para a fluoxetina após a ingestão oral, mais de 90% do fármaco é absorvido (o restante é eliminado através das fezes). Da parcela absorvida, menos de 10% é excretado na forma inalterada ou de seu metabólito fluoxetina-glucoramida. A recuperação do fármaco e seus metabólitos após 14 dias é próxima a 100% (HIEMKE e HEARTTER, 2000). Tal informação pode ser utilizada para avaliar a presença deste fármaco nos efluentes a partir de dados como consumo diário, quantidade de comprimidos vendidos, dentre outros.

A fluoxetina pura possui uma curva característica de resposta para o UV, na faixa de 200 nm até 260 nm. Pode ser detectada e quantificada utilizando-se os comprimentos de onda de 207 nm e 227 nm, com uma pequena banda em 276 nm. A diferença de sinal encontrado entre a utilização de água e álcool etílico como solvente foi tão somente a intensidade da banda, que diminuiu em álcool próximo à banda de 207 nm. Há a sobreposição de bandas com outros fármacos, porém, para um estudo realizado apenas com a fluoxetina, espectro de UV pode ser uma saída de baixo custo para a quantificação (MOURA e MOITA, 2011).

O estudo, através do qual se verificaram estes padrões, também permite avaliar a mudança das bandas em relação à sua variação de pH – que quando baixo tem apenas diminuição da intensidade das bandas e quando alto não há variação. Em pH abaixo de 1, há degradação química do composto. Os incipientes da fórmula dos comprimidos de fluoxetina podem ser separados por filtração ou centrifugação, já que são insolúveis e podem atrapalhar leituras óticas. (MOURA e MOITA, 2011).

Os gráficos a seguir mostram as curvas da fluoxetina e da olanzapina em etanol e mistura 1:1 etanol água:

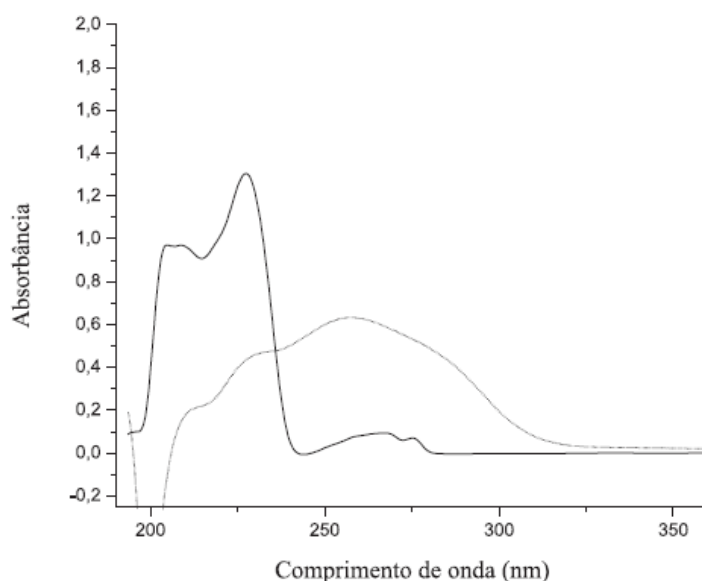


Gráfico 1 - Espectros de absorção da olanzapina (---) e da fluoxetina (—) a 10 mg.L⁻¹ e 40 mg.L⁻¹, respectivamente, em etanol:água 1:1.
Fonte: MOURA e MOITA (2011, P. 6).

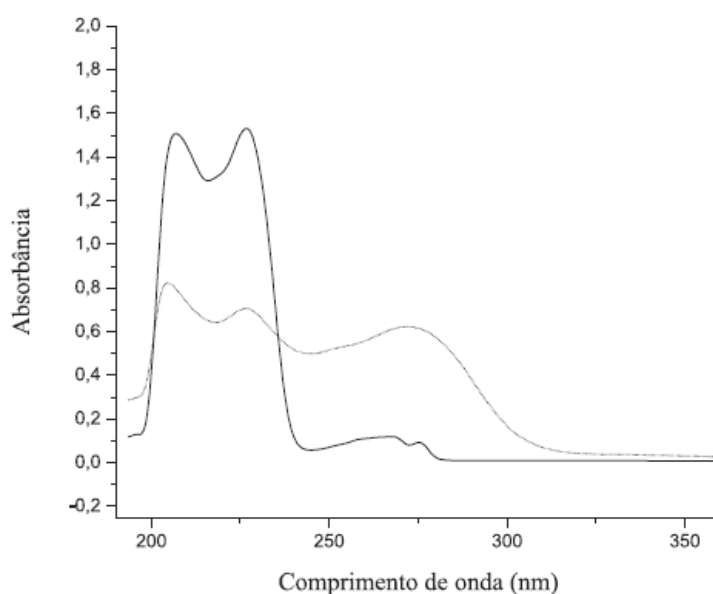


Gráfico 2 - Espectros de absorção da olanzapina (---) e da fluoxetina (—) a 10 mg.L⁻¹ e 40 mg.L⁻¹, respectivamente, em etanol.
Fonte: MOURA e MOITA (2011, P. 7).

A detecção do cloridrato de fluoxetina foi analisada por outros autores, como FREGONEZI (2008) que avaliou a resposta em ultravioleta para o medicamento utilizando concentrações de 100 mg.L⁻¹, 150 mg.L⁻¹, 200 mg.L⁻¹, 250 mg.L⁻¹, 300 mg.L⁻¹ do padrão, para validação de método de detecção do fármaco. Obteve resultados que apontam confiabilidade dos dados na detecção da concentração, precisão e repetitividade. O objetivo da autora era indicar um método alternativo para

a avaliação da concentração do fármaco em cápsula utilizando pico do espectro em 276 nm.

Apesar de amplamente utilizado como principal inibidor da captação da serotonina, há na literatura demonstrações de que o cloridrato de fluoxetina possui uma série de efeitos adversos ao meio ambiente. Foi selecionado e colocado como o inibidor de serotonina mais importante a ser considerado em estudos pela sua alta toxicidade às algas, altos níveis de concentração no ambiente (presença de rios e esgotamento sanitário na França) e provocar modificações de comportamento em invertebrados (BESSE e GARIC, 2010).

A fluoxetina foi detectada em águas superficiais nos Estados Unidos em concentrações de 12 ng.L^{-1} (KOLPIN *et al.*, 2002) e no Canadá em concentrações de 18 ng.L^{-1} , além de 75 outros compostos farmacêuticos (KOLPIN *et al.*, 2004). Outros estudos também feitos em águas próximas a Ontário, no rio Little, permitem observar concentrações de até 99 ng.L^{-1} de fluoxetina (METCALFE, 2003).

Em solo destinado à agricultura, no Canadá, a fluoxetina foi detectada em concentrações na ordem de ng.L^{-1} no solo até 0,10 m de profundidade (LISSEMORE *et al.*, 2006; EDWARDS *et al.*, 2009).

TERZIC (2008), em estudos na região balcânica (compreendendo a Croácia, Sérvia e Bósnia, mais precisamente), realizou a quantificação de 70 compostos químicos considerados, pela literatura, contaminantes emergentes importantes. A fluoxetina foi encontrada na concentração média de 35 ng.L^{-1} .

Já em rios que passam por algumas cidades da Espanha, a fluoxetina foi encontrada até em concentrações de 44 $\mu\text{g.L}^{-1}$, além de ser encontrada em 80% de todas as amostras. Rios que passavam pela cidade de Madri foram os que continham as maiores concentrações de contaminantes (GONZALEZ-ALONSO *et al.*, 2010).

BROOKS (2003) estudou a toxicidade referente à Concentração Letal 50 (CL50) da fluoxetina para as seguintes espécies: *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* e *Pimephales promelas*. Algumas espécies desenvolveram maior sensibilidade, outras, quando expostas, sofreram queda da fertilidade, e algumas não foram afetadas. Segundo o próprio autor, há baixo conhecimento sobre os efeitos da fluoxetina no meio aquático, principalmente seus efeitos aos organismos invertebrados.

Os Estados Unidos da América encomendaram um estudo de toxicidade a antidepressivos para algas/fitoplancton e, como resultado, houve a inibição do

crescimento, má distribuição das espécies e danos ao microcosmo. A fluoxetina ocupou a segunda colocação na toxicidade, atrás da sertralina e seguida pela fluvoxamina (JOHNSON *et al.*, 2007). Na revisão de literatura de KUMAR e XAGORARAKI (2010), a fluoxetina ocupou a oitava posição como causador de efeitos ecológicos e a norfluoxetina a trigésima posição. Ainda assim, a fluoxetina é apontada como a décima nona droga com potencial teratogênico dentre as 100 drogas (e metabólitos) avaliados (KUMAR e XAGORARAKI, 2010).

Em outra revisão, analisando artigos sobre lodos de estações de tratamento de água, foram quantificados 72 produtos farmacêuticos e a fluoxetina teve um valor médio de 171 $\mu\text{g.L}^{-1}$. A quantidade total de produtos contaminantes avaliados no lodo, que é destinado ao solo, pode chegar a 250 toneladas por ano (MCCLELLAN e HALDEN, 2010).

A Convenção de Oslo (1972), assinada por 13 países na Europa, visava o controle do lançamento de resíduos no mar, portanto, ela permitia o descarte de lodo de estações de tratamento, desde que se respeitassem certos parâmetros. Porém, com a preocupação da poluição dos oceanos, foi proibido em 1998, aos países pertencentes à Comissão da Comunidade Europeia (Commission of European Communities – CEC), o lançamento de esgotamento sanitário sem tratamento (MALTA, 2001). Uma alternativa que já vinha sendo usada, a utilização do lodo em campos de cultivo, tornou-se o principal destino do resíduo, porém, muitos compostos que estavam no rejeito vieram a passar para a cadeia produtiva de cultivo de alimentos. A fluoxetina, por exemplo, conseguiu ser absorvida e foi encontrada nas hastes do *Brassica oleracea var bratytis* (couve-flor) na proporção de 5% do que foi administrada (REDSHAW *et al.*, 2008). Não só relativo à absorção, mas estudou-se que a fluoxetina é persistente no meio por, pelo menos, três anos, sem haver a redução de suas concentrações no solo (WALTERS *et al.*, 2010).

A fluoxetina pode acumular-se no cérebro, fígado e outros tecidos de peixes. A concentração letal (CL 50) para as espécies *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* e *Pimephales promelas* foi observada em, respectivamente, 234 $\mu\text{g.L}^{-1}$, 820 $\mu\text{g.L}^{-1}$, e 705 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Nos mesmos estudos, descobriu-se que há inibição de crescimento para *Pseudokirchneriella subcaptata* na concentração de 14 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e na concentração de 223 $\mu\text{g.L}^{-1}$ houve inibição da reprodução da *Ceriodaphnia dubia*. Esta espécie, ainda, foi afetada na concentração de 8,9 mg.L^{-1} e houve inibição de crescimento para

Chironomus tentans e *Hyalella azteca* nas concentrações corporais de 1,3 mg.kg⁻¹ e 5,6 mg.kg⁻¹, respectivamente (BROOKS *et al.*, 2003).

Porém, STANLEY e colaboradores (2007) encontraram que a concentração letal (CL 50) de fluoxetina para *Daphnia magna* e *Pimephales promelas* foi de 170 µg.L⁻¹ e 133 µg.L⁻¹, respectivamente. Concentrações estas muito abaixo das encontradas por BROOKS *et al.* (2003). Os pesquisadores atribuem o fato à formulação do produto: desenvolvimento de novos processos produtivos (redução de possíveis compostos intermediários mais tóxicos na fórmula) e a outros insipientes (nova formulação, diferentes tempos e condições de absorção pelo organismo) o fato da redução da toxicidade.

A fluoxetina, junto com outros 3 medicamentos, foi testada em *Chironomus riparius*, *Lumbriculus variegates* e *Potamopyrgus antipodarum* e nos resultados foi observado que em concentrações a partir de 3 µg.L⁻¹ o fármaco afetava o crescimento dos organismos (NENTWIG, 2006).

Em estudo da exposição de *Daphnia magna*, a fluoxetina foi testada individualmente e em conjunto com ácido clofíbrico (herbicida usado na inibição do hormônio vegetal auxina). Foi demonstrado que, para até 100 µg.L⁻¹ de fluoxetina e 10 µg.L⁻¹ de ácido clofíbrico (separadamente), não houveram significativas mudanças na vida do organismos (em 6 dias de exposição). Porém, na exposição crônica de 30 dias, a 36 µg.L⁻¹ de fluoxetina, houve queda de fertilidade e, a 10 µg.L⁻¹ de ácido clofíbrico, houve um aumento na frequência de sexo. A exposição dos dois produtos juntos provocou alta taxa de mortalidade a 36 µg.L⁻¹ de fluoxetina e 100 µg.L⁻¹ de ácido clofíbrico e, com a mesma concentração de fluoxetina, mais 10 µg.L⁻¹ do ácido, houve o aparecimento de deformidades (FLAHERTY e DODSON, 2005).

O estudo reitera a preocupação não somente com a concentração de compostos isolados, mas também com as diferentes misturas que podem haver no ambiente. A inibição seletiva da serotonina pela fluoxetina pode explicar o aumento da atividade da serotonina, cuja produção está ligada ao metabolismo de crescimento da *Daphnia magna* (HECKMANN *et al.*, 2007; HANSEN *et al.*, 2008). NEUWOEHNER (2010) aponta o aumento da toxicidade da fluoxetina de acordo com o aumento do pH para soluções teste nesse mesmo organismo.

Um estudo diferenciado, para mostrar a ação da fluoxetina em organismos em crescimento, foi realizado com as espécies *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Potamopyrgus antipodarum* e *Chironomus riparius*, em que os recém-nascidos eram

expostos ao fármaco em baixas concentrações e foram avaliados os efeitos nas gerações seguintes. Para *D. magna* e *P. antipodarum*, a concentração usada foi de $8,9 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ e efeitos de alterações de crescimento foram notados a partir da segunda geração. O mesmos efeitos ocorreram para *H. azteca* em concentração de $33 \mu\text{g.L}^{-1}$ e não houve efeitos perceptíveis para *C. riparius* nas concentrações testadas. Isto mostra que ação do fármaco ocorre em mecanismos bastante específicos (PERY *et al.*, 2008). A diminuição na atividade e no crescimento populacional foi constatado para *Gammarus pulex*, para concentração de 10ng.L^{-1} de fluoxetina (DE-LANGE *et al.*, 2006).

O nível de fluoxetina encontrado em alguns efluentes mostra a concentração da ordem de ng.L^{-1} (FENT, 2006) apresentando efeitos de exposição crônica à vida aquática e mostrando o risco ambiental do descarte mesmo a baixas concentrações.

A toxicidade de inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), incluindo fluoxetina, fluvoxamina e sertralina, foi estudada em mistura em 12000 microcosmos. Os rotíferos e os copépodos foram as criaturas que apresentaram maior sensibilidade, demonstrando leves alterações em concentrações de ng.L^{-1} (LAIRD *et al.*, 2007; BLASCO e PICO, 2009; MORLEY, 2009,).

A persistência da fluoxetina pode ser comprovada, em seres maiores, em um estudo realizado com trutas, no Canadá. Alguns diferentes agentes foram encontrados em seus fígados, influenciando no metabolismo oxidativo das células e causando consequentes danos aos organismos. Entre todos os compostos encontrados, a fluoxetina se destacou, apresentando altos níveis de citotoxicidade (GAGNÉ *et al.*, (2006); THIBAUT e PORTE, 2008; SCHNELL *et al.*, 2009).

Ensaio realizados expondo *Morone saxatilis* (robalo riscado) à concentração de aproximadamente $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ diminuíram a atividade cerebral e reduziram sua capacidade de capturar presas. Contudo, todos os danos percebidos permaneceram nos organismos mesmo após um período de recuperação em água limpa (LAVILLE *et al.*, 2004; GAWORECKI *et al.*, 2008). A exposição à fluoxetina em alguns peixes tem o potencial de afetar o mecanismo de osmoregulação intestinal e excreção de nitrogênio branquial (MORANDO *et al.*, 2009).

Em dois estudos diferentes, foi investigada a bioacumulação em peixes *medaka* (*Oryzias latipes*) ocorrida quando há presença de fluoxetina no fígado e no corpo dos animais. A acumulação ocorreu na forma de fluoxetina e norfluoxetina e, para diferentes faixas de pH, a diferença foi grande, os fatores de acumulação foram

de 8,8; $3,0 \times 10$ e $2,6 \times 10^2$ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ no corpo e $3,3 \times 10^2$; $5,8 \times 10^2$ e $3,1 \times 10^3$ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ no fígado em pH 7, 8 e 9, respectivamente. (NAKAMURA *et al.*, 2008, PATERSON e METCALF, 2008). Ainda, são observadas alterações nos níveis de estrogênio na fêmea da espécie (FORAN *et al.*, 2004) e houve maturação precoce dos oócitos (IWAMATSU *et al.*, 1994) quando a espécie foi exposta à presença da fluoxetina.

Anfípodas, em exposição crônica à fluoxetina a $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ tiveram alteradas a fototaxia e geotaxia, além dos níveis de serotonina. Os parasitas ligados a estes organismos também sofreram alterações comportamentais (GULER e FORD, 2010).

Gastrópodos (*Valvata piscinalis* e *Potamopyrgus antipodarum*) expostos à presença de fluoxetina em níveis de $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ apresentaram diminuição dos parâmetros reprodutivos (como por exemplo queda no número de recém nascidos e número de embriões na bolsa incubadora), tamanho dos organismos, aumento do tempo para idade fértil e alteração da concentração de testosterona (GUST *et al.*, 2009; GUST *et al.*, 2010 a, b e c).

Para o *Chironomus tentans* foi encontrada uma concentração letal (CL 50) de $15,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de lodo. Em concentrações inferiores, houve crescimento reduzido das larvas. (BROKS *et al.*, 2003).

Ensaio preliminares em ratos mostram toxicidade da água em concentrações a partir da ordem de $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ tanto para a fluoxetina quanto para a norfluoxetina (NALECZ-JAWECK, 2007).

De forma geral, ensaios que levam em conta apenas a exposição aguda de fármacos pecam por não considerarem os efeitos em longo prazo das concentrações ambientalmente relevantes, efeitos sinérgicos e cumulativos (SCHNELL, 2009).

3.6 ROTAS DE EXPOSIÇÃO AMBIENTAL DOS FÁRMACOS

Embora se tenha ciência da ocorrência de ações indevidas, como o descarte de medicamentos no esgoto doméstico, a principal fonte de exposição de efluentes aos fármacos é através da excreção destes pela urina e fezes humanas (HOLM *et al.*, 1995). Os efluentes industriais e esgotamento sanitário dos hospitais também correspondem a uma grande parcela da fonte de contaminação do meio ambiente, como apontado em alguns estudos (LIN e TSAI, 2002; PASCOE *et al.*, 2003; LARSSON *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2008). Tal contaminação chega a alcançar a água

subterrânea, conforme observado em estudos realizados na Inglaterra (ASHTON *et al.*, 2004).

MULROY (2001), CALAMARI *et al.* (2003) e BENDZ *et al.* (2005) mostraram, através do estudo das excreções de pacientes que consumiram doses controladas de fármacos, que, de maneira genérica, 40% a 90% da dose é excretada inalterada ou na forma de algum metabólito, podendo ser encontrada na urina, fezes ou esterco animal. Segundo BOXALL (2004), também de maneira geral, 40% a 70% do medicamento que é ingerido por via oral muitas vezes não chega a ser absorvido pelo organismo, sendo excretado sem sofrer alteração metabólica, havendo ainda parte que é absorvida (não metabolizada) que é excretada na forma não modificada.

Segundo CHRISTEN *et al.* (2010), ao fazer revisão de 6 importantes bancos de dados sobre fármacos e meio ambiente, a quantidade de pesquisas utilizadas para demonstrar esses dados têm aumentado, ilustrando a preocupação da comunidade científica, e, conseqüentemente, a eficiência na busca por produtos farmacêuticos (e seus metabólitos) no meio ambiente.

Isso acarreta em um aumento no número de publicações anuais sobre a concentração de fármacos em água. Através de novas técnicas cromatográficas, como o High Performance Liquid Chromatography (HPLC, do inglês, Cromatografia Líquida de Alta Performance) pode-se identificar compostos em água até a ordem de $0,1 \text{ ng.L}^{-1}$. A quantificação de teores tão baixos pode ser usada para avaliação da periculosidade da presença de fármacos e seus metabólitos, mesmo nestes níveis.

A preocupação com a saúde humana está relacionada ao potencial de bioacumulação dos fármacos quando presentes na água de consumo (NYENJE, 2010). As estações de tratamento de esgoto, de modo geral, não estão preparadas para o tratamento (nem mesmo detecção) destes contaminantes, tampouco estão as estações de tratamento de água no Brasil (NYENJE, 2010).

Em revisão realizada por HALLING-SORENSEN *et al.* (1998), é exposto um fluxograma esquemático (Figura 3) em que são demonstradas as principais rotas de exposição dos diferentes tipos de fármacos no meio ambiente. Pode-se observar que não só fármacos utilizados para saúde humana, mas também para saúde animal, possuem um potencial de provocar efeitos no meio ambiente. Porém, os fármacos para animais possuem um acesso livre aos corpos d'água, já que o efluente dos animais criados em ambiente aberto chegam ao meio ambiente sem nenhum tratamento.

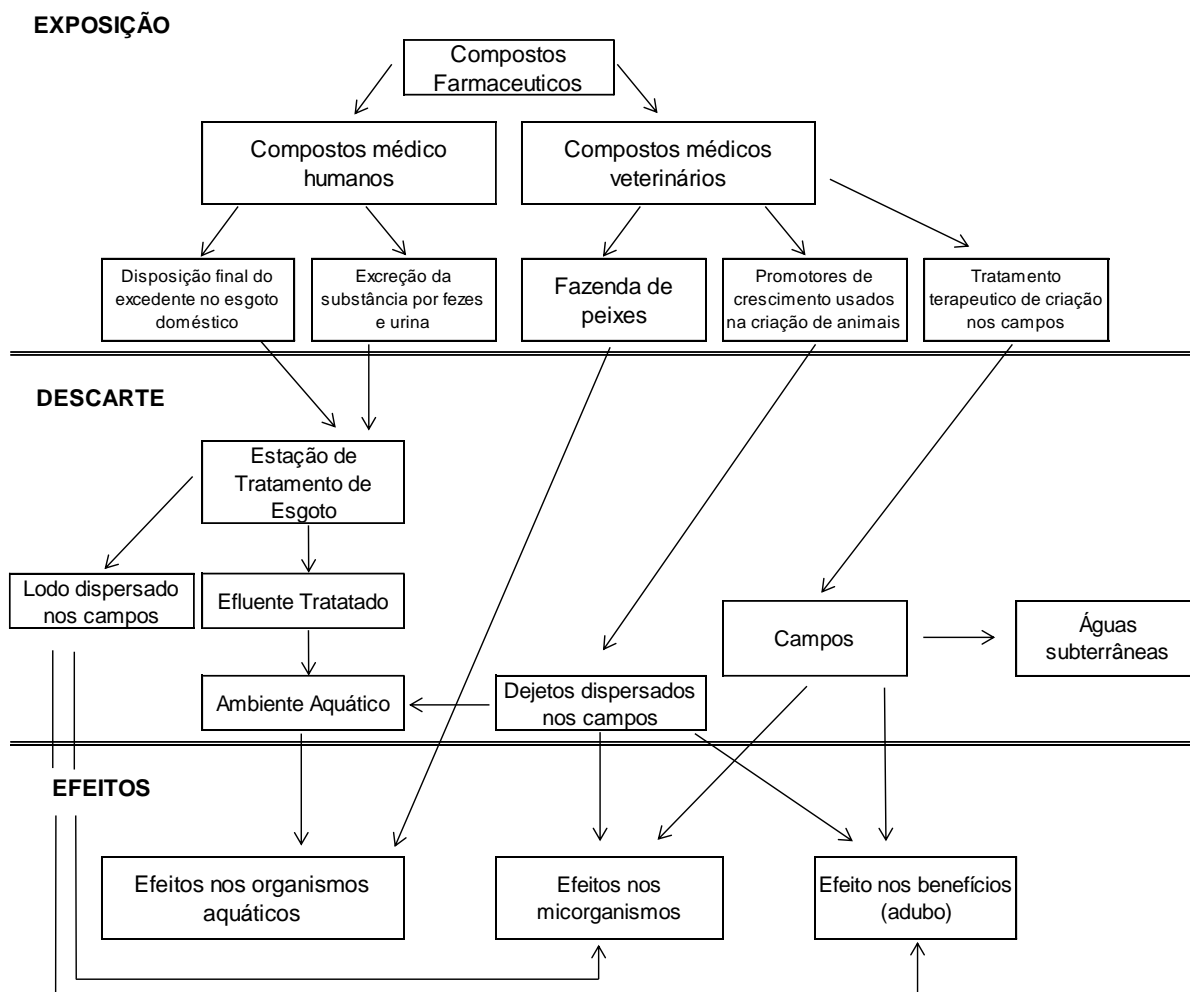


Figura 3 - Fluxograma esquemático representando as principais rotas de exposição de fármacos em matrizes ambientais.

Fonte: Halling- Sorensen *et al.* (1998, P. 359).

Os rejeitos das indústrias farmacêuticas possuem, segundo MORETTO *et al.* (2006), as seguintes origens que são potenciais fontes contaminadoras:

- (1) Área de pesquisa e desenvolvimento: com a criação de solventes, sais, compostos orgânicos, resíduos biológicos e radionuclídeos;
- (2) Área laboratorial: com o processo de síntese química, com a geração de rejeitos provenientes da lavagem de equipamentos ou da limpeza e sanitização/esterilização do local de trabalho, com a utilização de solventes para purificação, com a formulação dos medicamentos e outros processos relacionados à produção dos fármacos;
- (3) Área industrial: com a extração das matérias-primas (produtos naturais) e sua fermentação (originando resíduos orgânicos), com a produção dos

medicamentos e a geração de refugos de fabricação, com processos de limpeza similares aos das áreas laboratoriais, dentre outros exemplos.

Através de pesquisas², em que é evidenciada a presença de fármacos nas águas de abastecimento, a comunidade científica denota a necessidade de que se faça o monitoramento de tais substâncias. Como exemplo, pode-se citar a Coreia do Sul, país onde os estudos na área têm tido como foco as bactérias resistentes, pois, devido o uso frequente de antibióticos, seu número tem aumentado, consternando os governantes locais (LEE *et al.* 2008).

Já no Brasil, como medida preventiva, a venda de certos tipos de medicamentos nas farmácias, como antibióticos e outros tipos de remédios em que não se pedia a prescrição, é atualmente regulada através da exigência de receita médica.

Tal obrigatoriedade foi iniciada com a Resolução nº 44 de 26 de outubro de 2010, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como “antimicrobianos” de uso sob prescrição médica, isoladas ou em associação, dentre outras providências (BRASIL, 2010). As farmácias, para realizar a venda de tais medicações, devem manter cópia das receitas para prestação de relatório de vendas ao governo.

Porém, quando a prevenção de consumo e o descarte destas substâncias não são suficientes, e a presença de fármacos ainda é observada em dissolução no meio ambiente, a avaliação dos impactos causados por tal prática se faz necessária.

A United States Food and Drug Administration (USFDA) avaliou, na década de 1980, os riscos ambientais do uso de medicamentos veterinários que podem vir a afetar a vida de organismos aquáticos e terrestres. Foi verificado o impacto ambiental causado para *Daphnias*, peixes, algas, bactérias, anelídeos, plantas e invertebrados.

² ALONSO, S.G.; CATALÁ, M.; MAROTO, R.R.; GIL, J. R. L.; MIGUEL, A.G.; VALCÁRCEL, Y. Pollution by psychoactive pharmaceuticals in the Rivers of Madrid metropolitan area (Spain). *Environment International*. V.36, p 195 – 201, 2010

BESSE, J. P.; GARRIC, J. Human pharmaceuticals in surface waters Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicology Letters* 176,104–123, 2008.

EDWARDS, M.; TOPP, E.; METCALFE, C. D.; LI, H.; GOTTSCHALL, N.; BOLTON, P.; CURNOE, W.; PAYNE, M.; BECK, A.; KLEYWEGT, S.; LAPEN, D. R. Pharmaceutical and personal care products in tile drainage following surface spreading and injection of dewatered municipal biosolids to an agricultural field. *Science of the Total Environment* 407, 4220–4230, 2009.

A avaliação é feita com base na mortalidade de indivíduos de ciclo de vida curto em diferentes concentrações do composto em estudo (BOXALL, 2004).

Contudo, este tipo de investigação somente ocorre para medicamentos humanos quando a presença do fármaco no ambiente aquático ultrapassa a concentração de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (BOXALL, 2004). Utilizando-se de abordagens probabilísticas, com base em dados históricos para gerar as análises, é possível avaliar as chances de impactos ambientais causados por produtos farmacêuticos. (CHRISTESEN *et al.*, 2009).

ENICK e MOORE (2007) demonstraram que se a contaminação por produtos farmacêuticos é incorporada à avaliação, caracterização e gestão de riscos ambientais, os resultados podem mostrar com maior precisão as necessidades dos intervenientes. Assim, este processo dá subsídio para alavancar políticas públicas de prevenção de impactos negativos provenientes das redes de abastecimento.

A avaliação dos riscos de misturas complexas – que contém, além de vários fármacos, os seus metabólitos – foi realizada por ESCHER *et al.* (2010) e foi mostrado um aumento de toxicidade de até 30%, em relação à toxicidade gerada por apenas um dos reagentes, quando se possuía mistura do etilester osetalmevir (princípio ativo do Tamiflu) com seu metabólito ácido. Portanto, não só há o impacto dos fármacos diretamente, mas também há os efeitos sinérgicos dos mesmos em misturas complexas, podendo acarretar danos maiores aos organismos dos que os relatados em trabalhos em que se aplicam produtos de forma isolada.

A Comissão da Comunidade Europeia possui uma classificação para a avaliação da concentração mediana efetiva de substâncias químicas em diferentes organismos aquáticos, sendo consideradas nocivas as substâncias com concentrações menores que 1 mg.L^{-1} , tóxicas com valores entre 1 mg.L^{-1} e 10 mg.L^{-1} e muito tóxicas com valores entre 10 mg.L^{-1} e 100 mg.L^{-1} (Official Journal of the European Communities).

Entre os compostos encontrados nos meios aquáticos estão os anti-inflamatórios, analgésicos, contraceptivos, betabloqueadores, reguladores lipídicos, compostos neuroativos, entre muitos outros. Os organismos aquáticos são o principal foco dos estudos, pois acabam tendo contato constante (por gerações) com esgotos domésticos e industriais. Através do estudo de tais comunidades pode-se ter uma perspectiva do risco do consumo humano de tais organismos (FENT *et al.*, 2006).

A presença de agentes farmacêuticos, de aplicação animal e de utilização humana, têm sido encontrada tanto em efluentes e afluentes de ETAs e ETES como também em matrizes de solo, sedimento e até mesmo em águas naturais, como é apontado em variados estudos (HALLING-SORENSEN *et al.*, 1998; STUMPF *et al.*, 1999; GHISELLI e JARDIM, 2006; ZUCCATO *et al.*, 2006;).

Como ainda não há dados suficientes para expor o real risco à sociedade da presença de fármacos no ambiente, a comunidade científica, juntamente aos governos, discute mundialmente o tema e toma ações para reduzir a frequência destas substâncias no meio ambiente. Ações tais como o controle dos fármacos na fonte (através da etiquetagem dos resíduos industriais ou domésticos, controle de seu descarte e separação de urina em hospitais), a remoção dos medicamentos dos resíduos (por meio de tratamentos) e a melhoria do sistema de controle de receitas a ser utilizado por médicos (BOXALL, 2004).

Apesar de todos os controles criados para sua redução, os fármacos são desenvolvidos para agirem de modos específicos, com calculados tempos para absorção e permanência no corpo, sendo alta a persistência de alguns. Da mesma forma que têm capacidade de se acumular no corpo humano, há um potencial risco de acumulação na fauna e flora após seu descarte (KAR e ROY, 2010; SANTOS *et al.*, 2010).

3.7 DETECÇÃO DE FÁRMACOS NO MEIO AMBIENTE

A redução de parâmetros dos efluentes (como matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e surfactantes) é o foco da maior parte dos trabalhos neste âmbito de estudos de fármacos, promovendo grandes melhorias tecnológicas e de processo nos últimos 10 anos (UMWELT, 2004). Tornando-se mais proeminentes, houve uma objetivação das análises e os produtos farmacêuticos vêm apresentando um aumento expressivo no cerne das pesquisas.

Tal foco foi dado pela primeira vez a medicamentos por DEMOLL (1954) que expressou a preocupação com a presença de medicamentos veterinários nos efluentes, repercutindo para o direcionamento da questão no âmbito da saúde humana.

Com essa repercussão, novos estudos passaram a surgir nas décadas de 1970 e 1980. Como por exemplo, pode-se citar que, por meio de pesquisas

(GARRISON, 1976), realizadas em águas superficiais, demonstrou-se a presença média de $0,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ de ciprofloxacina em águas residuárias, próximas à região de Michigan, Estados Unidos da América. Além disso, RICHARDSON e BOWRON (1985) apontaram a presença de 186 substâncias em água superficial, utilizando o termo “micropoluentes” como indicação de poluentes que tem presença na ordem de $\mu\text{g.L}^{-1}$, compostos como carbamazepina (antidepressivo, encontrado a $0,44 \mu\text{g.L}^{-1}$), ciprofloxacina (regulador lipídico, encontrado a $6,3 \mu\text{g.L}^{-1}$) e 17 α -estínilestradiol (hormônio feminino, encontrado a $3,0 \text{ng.L}^{-1}$).

Além das pesquisas relacionadas à presença dos fármacos especificamente na água, outros dados também expõem a elevada necessidade de observância do tema. O National Institute of Health (NIH, 2016) passou a diagnosticar anualmente a incidência de doenças de todos os gêneros nos Estados Unidos da América e tem revelado que as doenças mentais e comportamentais são as que possuem os maiores índices de crescimento ao longo dos anos. O National Institute of Mental Health (NIMH, 2016) revela não só aumentos na incidência de depressão, mas também no consumo de agentes utilizados para tratar estas doenças. É estimado que, devido ao estresse causado pela vida nas cidades, o aumento de distúrbios mentais só tende a aumentar e, com isso, drogas relacionadas a esse tipo de doenças sejam descobertas e produzidas em maior escala do que outros tipos de medicamentos.

A partir da década de 1990, houve aumento significativo na detecção de fármacos, tornando cada vez mais evidente a presença dos resíduos de produtos farmacêuticos em águas superficiais. A razão da presença destas substâncias não está ligada somente à existência de descartes ilegais, mas também à resistência destes à biodegradação. Além disso, outro fator que aumentou os registros de presença dos fármacos é a melhoria da sensibilidade e eficiência de métodos analíticos para detecção de concentrações baixas (WOLFF, 2011).

Em estudo realizado por KASPRZY-HORDERN *et al.* (2008), houve a constatação da presença de vários produtos de uso pessoal, como disruptores endócrinos e drogas ilícitas nas águas do rio Taff e Elly, em South Wales, no Reino Unido. O antidepressivo amitriptilina foi detectado em níveis médios de $2,10 \text{ng.L}^{-1}$.

CARBALLA *et al.* (2008) realizaram pesquisa levantando dados do consumo de 17 diferentes fármacos, 2 hormônios e de 2 perfumes da população espanhola e compararam os dados obtidos com análises do efluente doméstico. A concentração esperada, estimada a partir do consumo, foi encontrada para 12 dos 21 compostos

estudados. Há, portanto, uma relação direta entre o consumo de produtos farmacêuticos de uma população e a concentração dos mesmos nos efluentes.

A quantidade de medicamentos que chega aos rios pode atingir toneladas todos os anos e seu aparecimento não é apenas em regiões urbanas. Em outros estudos realizados na Espanha, são citados vários fármacos atingindo localidades diversas. Como exemplos de locais em que foram encontrados, pode-se listar:

- Águas superficiais e esgotos de Barcelona (FARRE *et al.*, 2008);
- Locais onde há o uso de irrigação agrícola, em que foram encontrados 26 diferentes fármacos (CALDERON-PRECIADO, 2011);
- No rio Llobregat, na região da Catalunha, em que taxas seguras para sobrevivência de organismos aquáticos só se encontravam seguras à montante da cidade, foram encontrados 29 compostos utilizados pela população, dentre eles a fluoxetina e outros fármacos para tratamento psíquico (GINEBREDÁ *et al.*, 2010);
- No rio Ebro, um dos maiores rios da Espanha, quantidades não precisamente medidas, mas na ordem de $\mu\text{g/L}$ de ecstasy, heroína, morfina, cocaína, anfetamina e outros, também foram encontradas. POSTIGO (2010) estimou que, anualmente, são 36 toneladas destas drogas consumidas e que o mercado negro movimentava cerca de 1,1 bilhão de euros por ano.

Em Portugal, no rio Douro, 87 amostras coletadas apontaram a presença de 6 diferentes fármacos e em todas havia a presença de carbamazepina (MADUREIRA *et al.*, 2010)

No efluente de um hospital da Suíça, a maior carga de medicamentos encontrada foi do centro de psiquiatria, onde 42 fármacos diferentes foram detectados. Isto denota que, além de conter os maiores índices de fármacos em seu efluente, os medicamentos usados para controle psicológico têm uma presença expressiva em volume nos rejeitos hospitalares (ESCHER, *et al.*, 2011), sendo a fluoxetina um dos compostos de maior aparecimento em diversos tratamentos e no meio ambiente.

Em lagoas de estabilização no Canadá, foi avaliada a presença de fluoxetina, encontrada na ordem de ng.L^{-1} . Porém, a maior preocupação por parte dos pesquisadores era quanto à presença de antibióticos, que influenciam no processo de degradação (MACLEOD e WONG, 2010).

CLARKE e SMITH (2011) realizaram pesquisa para enumerar os compostos químicos frequentemente encontrados em lodo de ETE na Europa. Os autores avaliaram os produtos conforme persistência no meio ambiente, toxicidade humana, bioacumulação em seres humanos e no meio ambiente, ecotoxicidade e na quantidade de estudos encontrados para cada substância. Por fim, classificaram, em ordem crescente de prioridade, as substâncias químicas encontradas: bisfenol A, compostos quaternários de amônio, esteroides, ésteres de ftalado ácido e polidimetilsiloxanos; almíscares sintéticos; compostos perfluorados, alcanos policlorados, bifenilos naftalenos, organoestâmicos, ésteres difenil polibromados, triclosan, triclocarban, benzotiazóis, antibióticos e medicamentos (em geral).

A presença dos poluentes emergentes não se restringe às águas superficiais e efluentes. FOCAZIO *et al.* (2008) revelaram, através de suas pesquisas, que 20% das amostras de águas subterrâneas de sítios nos Estados Unidos continham quantidades significativas de compostos farmacêuticos. Para isso, selecionaram áreas nos Estados Unidos da América (EUA) onde há a exploração de água subterrânea para consumo humano e há potencial de contaminação por águas residuais de grandes centros, escolhendo 25 amostras de água subterrânea e 49 de águas superficiais. Nas áreas selecionadas, amostras foram removidas dos pontos mais próximos às nascentes ou onde poderia haver contaminação por influência antrópica. As amostras foram analisadas e 80 produtos farmacêuticos (de uso humano e animal) foram avaliados, incluindo fluoxetina.

O efluente de aproximadamente 90 indústrias farmacêuticas de produção de medicamentos a granel, destinados ao mercado de genéricos, na região de Patancheru, Índia, foi analisado e índices alarmantes de medicamentos foram encontrados em boa parte das amostras. A concentração de antibióticos de amplo espectro foi preocupante devido à possibilidade de desenvolvimento de bactérias super-resistentes. A concentração da ciprofloxacina alcançou valores de 31 mg.L^{-1} , 1000 vezes superior aos níveis tóxicos para algumas bactérias (LARSSON *et al.*, 2007).

Estima-se que, na África subsaariana, menos de 30% dos esgotos são tratados, retornando às águas superficiais, que são coletadas e distribuídas como fonte de água potável (muitas vezes sem tratamento adequado). A alta mortalidade de organismos aquáticos é apenas uma das consequências do alto nível de poluentes nestas águas. Há grande necessidade de investimentos e apoio de governos

internacionais nestas regiões para elucidar os efeitos da poluição e melhorar as condições de saneamento básico nestas regiões (NEYENJ, 2010).

Com tantos impactos causados pelo tema em questão, observa-se a necessidade de mais estudos voltados para a ocorrência, caracterização e destino de metabólitos em todos os tipos de água, principalmente os efeitos destes subprodutos em água potável (MOMPELAT *et al.*, 2009).

4 METODOLOGIA

A metodologia usada no escopo deste trabalho é detalhada nas quatro sessões que se seguem: 1) Descrição dos materiais e equipamentos – produtos utilizados e análises realizadas para verificação de concentração, características dos equipamentos, dentre outros; 2) Determinação da curva de concentração do fármaco – apresentando a metodologia para verificação e estimativa da melhor concentração de fármaco a ser utilizada, além da verificação da concentração do princípio ativo no produto e dos ensaios realizados para verificação de mudança do espectro de absorção do fármaco em diferentes faixas de pH; 3) Ensaios de degradação – método aplicado para degradação do fármaco e diferentes ensaios efetuados com tal metodologia; 4) Determinação de toxicidade – aplicação das soluções contendo fármaco para estimativa da toxicidade para *Daphnia magna*.

Para melhor compreensão, a seguir é apresentado um quadro resumo do método utilizado.

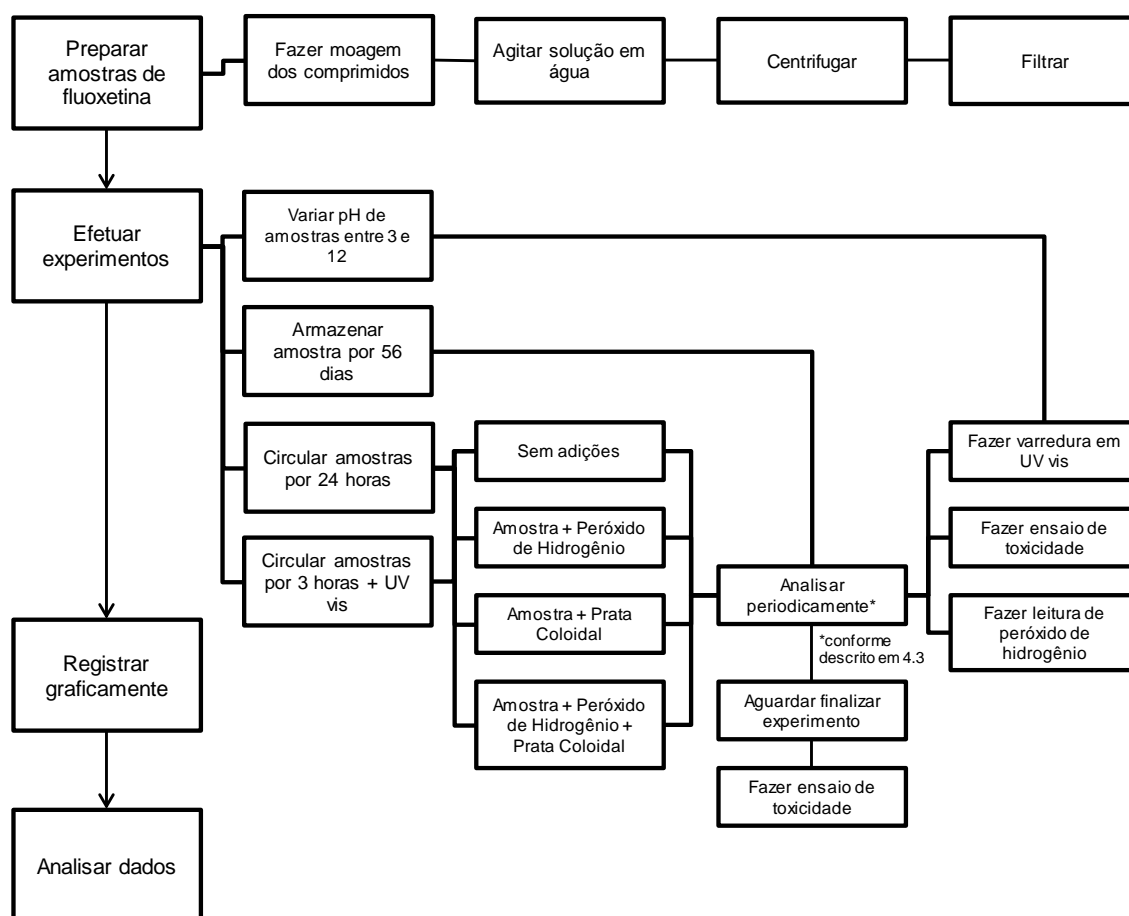


Figura 4 - Quadro resumo dos experimentos aplicados ao cloridrato fluoxetina. Fonte: Autoria própria (2017).

O uso de tal metodologia objetivou identificar uma faixa de concentração adequada para os ensaios de degradação, procedendo com concentrações e métodos encontrados na literatura. Para cumprir o objetivo de estudar a degradação de fármacos em altas concentrações, simulando tratamento de medicamentos vencidos ou em grandes quantidades (com altas concentrações) o estudo demandaria altas quantidades de fármacos e reagentes. Por este motivo, realizou-se o estudo da resposta dos equipamentos a altas concentrações, mas utilizou-se baixas concentrações nos ensaios de degradação.

A literatura não trás, até o momento em que os ensaios foram realizados, o acompanhamento da concentração de cloridrato de fluoxetina por meio de UV-vis após métodos de degradação, em especial utilizando a abordagem de varredura. Mesmo os estudos encontrados, que avaliam a degradação do fármaco, levam em consideração a concentração inicial e final do medicamento, realizando medição do composto inalterado na solução ensaiada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência.

4.1 DESCRIÇÃO DOS MATERIAIS UTILIZADOS

O cloridrato de fluoxetina, fármaco escolhido para os ensaios, foi utilizado na forma de comprimidos em associação da marca DAFORIN (medicamento genérico, lotes 553038, 583265, 593297, 648746, 649935, todos fora do prazo de validade). Cada caixa do fármaco continha 18 comprimidos, com 20 mg do princípio ativo por unidade. Todo comprimido usado foi macerado em pistilo de cerâmica, sempre antes da utilização, para evitar interação com umidade do ambiente e para diminuir as perdas de transferência de um recipiente para outro.

As soluções de cloridrato de fluoxetina empregues nos ensaios foram feitas dissolvendo-se 1 ou mais comprimidos em balões volumétricos de 0,5 L, 1 L ou 2 L (por exemplo, 20 mg.L⁻¹, 40 mg.L⁻¹, 100 mg.L⁻¹) e misturadas em agitador magnético (marca D.TOMÉ) por 20 min, a 80 rpm, e soluções com concentração intermediária foram criadas diluindo-se as soluções feitas a partir dos comprimidos. Seguindo o processo de separação utilizado por MOURA e MOITA (2012) as amostras foram centrifugadas em centrífuga (marca HITACHI, modelo CF15RN) a 3600 rpm, por 15 min. Para garantir a remoção da turbidez das amostras, após a centrifugação, elas

foram filtradas em papel filtro quantitativo (marca NALGON, 12,5 cm de diâmetro, filtragem rápida, faixa preta, cinza - 0,00009g).

O equipamento espectrofotômetro de UV-visível (marca SHIMADZU, modelo UV-vis 1800, capacidade de leitura de 190 nm até 1200 nm, cujo uso nos ensaios foi feito com uma cubeta de quartzo de 10,0 mm de espessura) foi utilizado em grande parte para realizar varredura na faixa de 190 nm à 400 nm. O equipamento foi conduzido por meio de sua própria interface operacional contida em um computador de bancada e conectado ao mesmo. Utilizando o programa, a varredura foi efetuada considerando intervalos de leitura de 1 nm e leitura lenta (para reduzir níveis de ruído). As análises do peróxido de hidrogênio foram realizadas no comprimento de onda 395 nm, apenas fazendo leitura direta. Os resultados obtidos foram transcritos em EXCEL, devido este ser um software mais dinâmico que a interface do espectrofotômetro. Os gráficos gerados foram feitos em ORIGIN (versão 8.0pro).

O equipamento para realização dos ensaios de degradação com ultravioleta, foi o GERMETC (modelo de bancada GPJ 283-1), volume interno de 1 L. O sistema consiste em um recipiente de vidro, revestido por aço inox, onde o líquido pode ser bombeado e entrar em contato com o ultra violeta produzido por uma lâmpada (10 W de potência). A circulação da solução foi promovida por uma bomba peristáltica (marca PROVITEC, modelo AWG 5000 A, com capacidade de bombear até 100 L.h⁻¹ de solução, em sistema não pressurizado, com controle da vazão por controle analógico, variável em 1 L.h⁻¹). A circulação foi regulada em 40 L.h⁻¹, com um reservatório para bombeamento de 500 mL e todo o sistema foi revestido com papel alumínio para evitar interação com radiação ambiente. A vazão do sistema foi medida a cada batelada de ensaios, para conferência, medindo-se o tempo para que 100 mL de água levassem para percorrer o sistema com um cronômetro de celular smartphone (Marca LG 3 *Stylus*), dividindo-se o volume de água pelo tempo cronometrado. O circuito completo utilizado pode ser visualizado na Figura 5, a seguir.

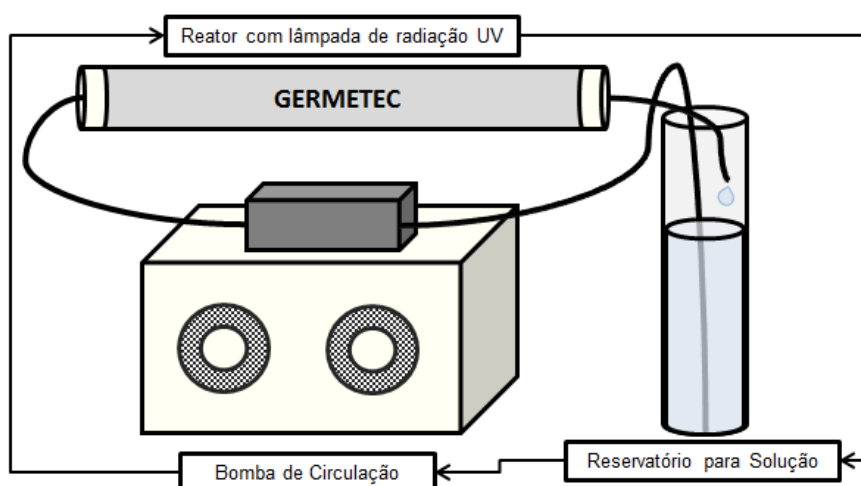


Figura 5 - Sistema utilizado nos ensaios de degradação – Bomba peristáltica para Circulação, Reator com lâmpada de radiação ultravioleta, Reservatório de 500 mL e tubulação. Fonte: Autoria própria (2017).

O peróxido de hidrogênio possuía uma concentração inicial de 370 g.L^{-1} e foi diluído em água desmineralizada para ser aplicado nos ensaios. A sua concentração na solução foi monitorada utilizando o procedimento descrito por OLIVEIRA *et al* (2011) em que se aplica o método de oxalato duplo de titânio e potássio, em meio acidificado – método este para monitoramento da concentração de peróxido em baixas concentrações (entre 1 mg.L^{-1} e 100 mg.L^{-1}). O procedimento consiste em adicionar 1 gota de reagente ALLPER (fornecido pela empresa SOLVEY do Brasil, produto de lote 0205716, fabricado em 26/02/2016, com validade de 2 anos) para cada 1 mL de amostra, agitar e proceder com leitura no espectrofotômetro UV-vis no comprimento de onda de 395 nm. A curva de padrão foi aplicada para concentração de peróxido de hidrogênio de 1 mg.L^{-1} até 100 mg.L^{-1} e foi feita a partir do peróxido utilizado no experimento (com concentração inicial de 370 g.L^{-1}). A curva foi feita usando as concentrações de peróxido de hidrogênio de $0,00 \text{ mg.L}^{-1}$; $0,0756 \text{ mg.L}^{-1}$; $1,152 \text{ mg.L}^{-1}$; $3,025 \text{ mg.L}^{-1}$; $4,537 \text{ mg.L}^{-1}$; $6,050 \text{ mg.L}^{-1}$ e; $7,562 \text{ mg.L}^{-1}$.

O produto NNXC R03 (fornecido pela empresa NANOX TECNOLOGIA S.A., lote 151124-1, fabricado em 24/11/2015, com validade de um ano) teve a quantidade de prata estimada pelo método de Mohr (BACAN *et al*, 1979), utilizada para quantificação da concentração de cloretos em água. Aplicou-se esta metodologia para calibração da solução de nitrato prata (normalmente aplicada para a quantificação de cloretos como o titulante) na solução de NNXC R03 para se estimar a quantidade de prata contida na solução. A amostra do produto, comercialmente fornecida contendo

peróxido (NNXC R20, lote 151124-2, fabricado em 15/11/2016, com validade de um ano) não foi usada por apresentar valores muito instáveis de peróxido de hidrogênio. Portanto, a solução de prata coloidal empregada não continha peróxido de hidrogênio, este foi adicionado de um padrão citado no parágrafo anterior.

O procedimento para verificação da concentração de prata, em solução de nitrato de prata, consiste em: adicionar 20 mL de solução 500 mg.L⁻¹ de cloreto de sódio em 100 mL de água desmineralizada; ajustar o pH da solução entre 7 e 10 utilizando-se hidróxido de sódio 0,1 mol.L⁻¹ (fator de correção 1,001); adicionar 1 mL de solução indicadora de K₂CrO₇ a 5 g.L⁻¹ e; titular essa mistura com a solução que se deseja verificar a concentração de prata. O mesmo deve ser feito sem adição da solução de cloreto de sódio para obtenção do valor do branco. A titulação é feita até que a solução se torne “alaranjado tijolo”, saindo do amarelo. Após este processo, aplicar a seguinte fórmula:

$$C = (A/B) \times F$$

Em que:

A = volume (mL) gasto da amostra na titulação;

B = volume (mL) gasto para titular o branco (apenas água desmineralizada);

C = concentração da solução (em mol.L⁻¹ de prata – Ag⁺), sendo igual a 1 para 0,0141mol por litro;

F = fator de correção para solução de cloreto de sódio (1,00)

Para as pesagens necessárias, foi utilizada uma balança analítica (marca BEL, modelo M214A, com capacidade máxima de leitura de 240 g, precisão de 0,0001 g).

O ácido clorídrico (marca ALPHATEC, 37% P.A. ACS, lote 21524-G, validade 04/09/2018) e o hidróxido de sódio (marca IMPEX, 99,8% P.A. ACS, lote 00783/12, validade 07/2016) foram preparados a uma concentração de 1 mol.L⁻¹, considerando a concentração indicada no rótulo, mas não tiveram concentração controlada por nenhum método analítico, pois foram utilizados para controle de pH. O álcool etílico utilizado nas diluições era da marca ALPHATEC (lote 21402, fabricado validade 18/07/2017).

Toda a água utilizada nos experimentos foi produzida por um sistema de osmose reversa (fornecida pela empresa FILTROS CURITIBA, contendo 2 filtros de

material suspenso e 2 desmineralizadores e 2 filtros de carvão ativado), com capacidade de produção 2 L.h⁻¹. O pH das soluções e a condutividade da água desmineralizada foram controlados por meio de pHmetro (marca DIGIMED, modelo DM-22). A condutividade sempre esteve abaixo de 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

4.2 DETERMINAÇÃO DA CURVA DE CONCENTRAÇÃO DO FÁRMACO

Para estimativa da concentração máxima de trabalho, e para fazer a curva de concentrações, a absorbância foi lida em 227 nm, conforme descrito em MELLO (2013), MOURA e MOITA (2011), e foi analisada nas seguintes concentrações no equipamento de UV-vis: 0 mg.L⁻¹ (branco); 8 mg.L⁻¹; 20 mg.L⁻¹; 40 mg.L⁻¹; 60 mg.L⁻¹; 75 mg.L⁻¹; 100 mg.L⁻¹; 120 mg.L⁻¹; 150 mg.L⁻¹ e; 200 mg.L⁻¹.

Todas as amostras foram submetidas à varredura no intervalo de 190 nm a 400 nm de absorbância para verificar o comportamento e estabelecer uma curva de concentração do fármaco ao longo do experimento, mas apenas a análises das concentrações até 100 mg.L⁻¹ foram utilizadas como dados para a confecção da equação da concentração do fármaco. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas.

O equivalente a 20 mg do fármaco foi diluído para 100 mL em álcool etílico absoluto e diluições desta solução foram feitas para verificar a diferença de resposta encontrada, resultando nas seguintes diluições: 2 mg.L⁻¹; 10 mg.L⁻¹; 20 mg.L⁻¹; 40 mg.L⁻¹ e; 200 mg.L⁻¹. Diluições de peróxido de hidrogênio a 5 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹, 20 mg.L⁻¹, 30 mg.L⁻¹, 40 mg.L⁻¹, 50 mg.L⁻¹ e 60 mg.L⁻¹ também foram submetidas a varredura no espectrofotômetro entre os comprimentos de 190 nm e 400 nm. Isto teve como objetivo verificar a influência da presença de peróxido de hidrogênio na absorbância lida nos intervalos considerados.

4.3. DETERMINAÇÃO DOS EFEITOS DE ALTERAÇÃO DE pH NA SOLUBILIDADE

A concentração de cloridrato de fluoxetina, utilizada para realização dos ensaios de solubilização em diferentes faixas de pH, foi a de 40 mg.L⁻¹, a mesma usada nos ensaios de degradação. As faixas de pH verificadas foram de: 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11 e; 12.

Depois de macerar 1 comprimido, ele foi adicionado a 480 mL de água em um copo de Becker de 500 mL e agitou-se por 10 min. Após isso, o pH foi corrigido adicionando-se, com um conta gotas, solução de hidróxido de sódio ou de ácido clorídrico, na concentração de 1 mol.L^{-1} , até o pH desejado. Uma vez este alcançado, a solução permaneceu sob agitação por mais 10 min. O pH foi verificado novamente e, quando necessário, foi corrigido e a solução permaneceu por mais 5 min sob agitação, passando por uma nova leitura de pH para confirmar o valor.

Após isso, a amostra foi transferida para um balão volumétrico de 500 mL e seu volume foi corrigido. As amostras foram centrifugadas e filtradas, conforme descrito no item 4.1, e o pH foi lido e registrado. A leitura das amostras foi realizada no espectrofotômetro UV-vis na faixa de 190 nm a 400 nm. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

O pH dos experimentos de degradação foi monitorado a fim de encontrar grandes mudanças de gradiente.

4.3 ENSAIOS DE DEGRADAÇÃO

Amostras contendo 40 mg.L^{-1} do comprimido em água desmineralizada, foram postas em circulação, com auxílio de bomba dosadora peristáltica, na vazão de 40 L.h^{-1} , em um equipamento GERMETEC. Ao circuito, 1,5 L de amostra foi adicionado a cada experimento. O sistema de circulação e armazenamento foi coberto com papel alumínio a fim de reduzir a interação da luz ambiente com a solução em ensaio, evitando interferência nos resultados.

Após o início de cada ensaio, alíquotas de 10 mL eram retiradas nesta sequência:

- A cada 5 minutos nos primeiros 20 min;
- A cada 10 min até os 60 min;
- A cada 15 min até os 180 min.

Intervalos maiores, de horas ou dias foram usados para experimentos mais longos, descritos em breve. Dessa alíquota, 5 mL eram removidos para varredura de UV-vis, entre os comprimentos de onda 190 nm e 400 nm e outros 5 mL para avaliação da concentração de peróxido remanescente.

Desta forma, os seguintes tratamentos diferentes foram testados durante a circulação da solução (todos em triplicata):

- 1) Tempo de 3 h, com remoção de alíquotas após 13 h, 15 h e 24 h;
- 2) Tempo de 3 h, com remoção de alíquotas após 13 h, 15 h e 24 h, aplicando apenas 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio;
- 3) Tempo de 3 h, com remoção de alíquotas após 13 h, 15 h e 24 h, aplicando apenas UV;
- 4) Tempo de 3 h, com remoção de alíquotas após 13 h, 15 h e 24 h, aplicando apenas 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal;
- 5) Tempo de 3 h, aplicando UV + 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal;
- 6) Tempo de 3 h, aplicando 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio + 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal;
- 7) Tempo de 3 h, aplicando 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio + UV;
- 8) Tempo de 3 h, aplicando 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio + UV + 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal

Nos ensaios em que amostras foram retiradas com tempos maiores a 3 h, não foi identificada diferença significativa na curva do fármaco e necessitava-se de mais dados para considerar a avaliação.

Na tabela a seguir, é apresentado um resumo com a ordem em que os experimentos foram realizados, as concentrações e os tempos de retiradas de amostras, totalizando 8 experimentos.

Tabela 1 - Experimentos feitos na solução de 40 mg.L⁻¹ de cloridrato de fluoxetina.

Experimento	60 mg.L ⁻¹ peróxido de hidrogênio	UV	0,64 mg.L ⁻¹ prata coloidal	Circulação de 3 h	Circulação de 13 h	Circulação de 15 h	Circulação de 24 h
1				X	X	X	X
2	X			X	X	X	X
3		X		X	X	X	X
4			X	X	X	X	X
5		X	X	X			
6	X		X	X			
7	X	X		X			
8	X	X	X	X			

Fonte: Autoria própria (2017).

Nos ensaios em que o peróxido foi adicionado, este foi controlado pelo mesmo método utilizado para verificação de sua concentração e os resultados expressos foram referentes à média dos valores encontrados nos experimentos.

Em adição, para verificação dos efeitos de degradação pela simples presença de água, uma amostra de 40 mg.L⁻¹ foi diluída e deixada ao abrigo da luz por 58 dias.

Nos primeiros 7 dias, 1 alíquota de 10mL era retirada para análise por dia, depois 1 a cada 7 dias, ou seja, no 14º dia, 21º dia, 28º dia e assim por diante até o 58º dia.

4.4 DETERMINAÇÃO DE TOXICIDADE

A avaliação da toxicidade do fármaco e das soluções resultantes dos processos de degradação foi realizada segundo o procedimento contido na NBR 12713 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2016), conforme detalhado a seguir.

Para o teste, como água de diluição das amostras, foi utilizada água de diluição, que consiste do meio básico de cultivo, composta de solução contendo cloreto de cálcio di-hidratado a 73500 mg.L⁻¹, sulfato de manganês hepta-hidratado a 123300 mg.L⁻¹, cloreto de potássio a 5800 mg.L⁻¹ e bicarbonato de sódio a 64800 mg.L⁻¹. Os organismos-teste (*Daphnias magna*) tinham de 2 a 26 horas de vida, e foram separados de sua cultura matriz, mantidos alimentados em um recipiente por no mínimo 2 horas antes do ensaio.

Os testes foram realizados em duplicata nos fatores de diluição 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64 e 1:128 de amostra em água. Os organismos foram distribuídos em grupos de dez indivíduos em recipientes contendo 25 mL da amostra a ser testada (já diluída e previamente misturada). A exposição dos organismos às soluções foi de 48 horas, armazenados em BOD escura com temperatura na faixa de 18 °C a 22 °C. Os resultados foram expressos no fator de toxicidade para *Daphnias* (FT_D).

O FT_D é determinado através da observação direta de mobilidade das *Daphnias* na série de diluições teste, sem ser necessário cálculo estatístico. O valor corresponde à menor diluição da amostra em que não ocorreu imobilidade para mais de 10% dos organismos. O resultado é expresso em número inteiro e é igual ao fator de diluição da amostra. Essa forma de expressão é mais utilizada para amostras em que a concentração seja desconhecida, ou que possuam composição desconhecida.

Para classificação de toxicidade de efluentes há um limite para o fator de 1:16, ou seja, um efluente é considerado tóxico se seu fator FT_D for superior a 16. Então, na prática, não são realizados ensaios com diluições maiores que 1:16 (KNIE, 2004). Porém, como ensaios preliminares apontaram altos índices de toxicidade, decidiu-se realizar a avaliação até diluições de 1:128.

Todas as amostras de 40 mg.L⁻¹ de fluoxetina foram submetidas aos tratamentos indicados na Tabela 1 (salvo amostra diluída e armazenada por 5 meses) e levadas imediatamente para realização dos ensaios de toxicidade (todos em triplicata), conforme descrição:

- 1) Fluoxetina 40 mg.L⁻¹;
- 2) Fluoxetina 40 mg.L⁻¹ estocada por 5 meses ao abrigo da luz;
- 3) Fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à presença de 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio;
- 4) Fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à radiação UV;
- 5) Fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à presença de 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio + UV;
- 6) Fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à presença de 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio + 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal + UV;
- 7) Fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à presença 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal;
- 8) Fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à presença de 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio + 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para melhor entendimento, os gráficos de resultados obtidos – a serem apresentados na sequência –, pela quantidade de informação que disponibilizavam, tornar-se-iam de difícil visualização e apreciação caso os experimentos fossem apresentados juntos na mesma análise. Por este motivo, optou-se por realizar os gráficos com as médias das absorvâncias encontradas em cada experimento.

5.1 ANÁLISE DA CURVA DE CONCENTRAÇÃO DO FÁRMACO

Após realização dos ensaios, foi constatado que o espectro encontrado em laboratório para o cloridrato de fluoxetina foi semelhante aos dados encontrados na literatura.

Houve pouca discrepância nos espectros obtidos, após análise individual das amostras. No decorrer do trabalho, pode-se visualizar nos gráficos que as soluções com a mesma concentração de cloridrato de fluoxetina são similares e tem baixa variação entre si. Isto indica que os comprimidos utilizados possuem concentrações muito próximas do fármaco em estudo e que a metodologia para preparação das soluções foi funcional.

Nos espectros a seguir, podem-se observar, respectivamente, os resultados encontrados por MOURA e MOITA (2012) – Gráfico 3 – e os resultados da obtenção da curva de concentração da fluoxetina – Gráfico 4.

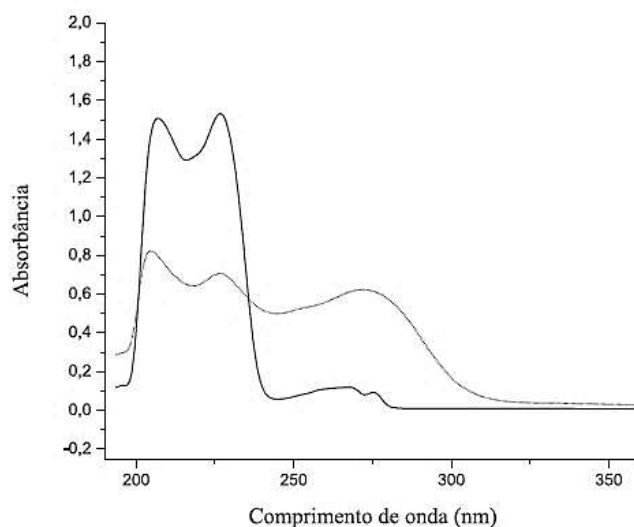


Gráfico 3 - Espectros de absorção da olanzapina (---) e da fluoxetina (—) a 10 mg.L⁻¹ e 40 mg.L⁻¹ respectivamente, em etanol.
Fonte: MOURA e MOITA (2011).

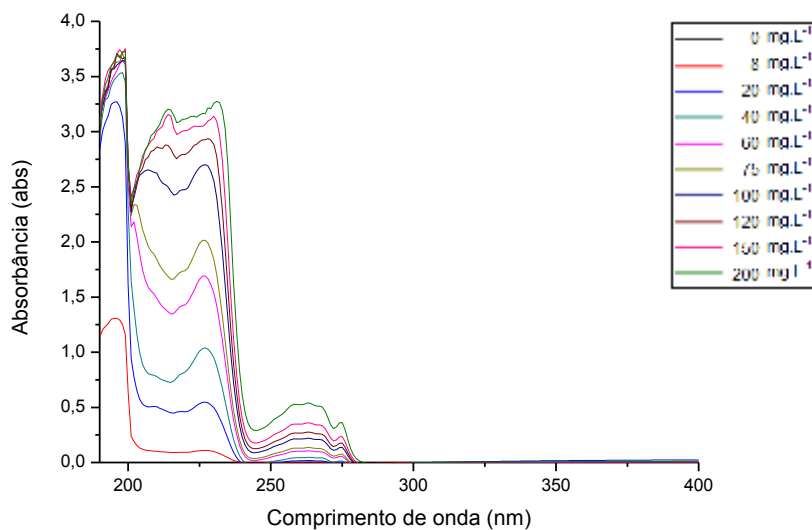


Gráfico 4 - Espectros de diferentes diluições do cloridrato de fluoxetina.
Fonte: Autoria própria (2017).

Apesar da semelhança dos resultados obtidos com a literatura (MOURA e MOITA, 2012), abaixo de 215 nm a curva se diferencia. Ao invés do sinal cair, ele aumenta. Isso pode ser explicado pela presença de agentes utilizados no comprimido para melhorar sua compressibilidade, como celulose microcristalina PH-101 e PH-102, croscarmelose sódica, estearato de magnésio, lactose monohidratada, lauril sulfato de sódio, povidona e carboximetilcelulose (usados para aumentar a absorção dos fármacos em certa etapa da digestão) e carbonato de cálcio ou magnésio e sulfato de cálcio ou magnésio (compostos inertes, utilizados para conferir peso ao fármaco e servir de agentes tamponantes) (FIGUEIREDO, 2012, MOURA e MOITA, 2012, MELO, 2013).

Os espectros encontrados nas concentrações até 100 mg.L⁻¹ possuem o mesmo formato e tem o principal pico, utilizado no controle, em 227 nm, percebido tanto visualmente quanto pelos valores de absorbância. A partir dos 120 mg.L⁻¹ o formato da curva (nesta região) muda e o pico ocorre em diferentes pontos indicando um comportamento diferente do fármaco em solução. Também se percebe uma oscilação nos resultados, provavelmente causada por alguns valores de absorbância estarem próximos aos limites máximos de detecção do equipamento. Acima de 100 mg.L⁻¹, o formato da curva se assemelha ao formato encontrado por MOURA e MOITA (2012), ocasionado pela queda da interferência dos outros compostos dos comprimidos, pois a solubilidade de tais compostos é a mesma a partir de 20 mg.L⁻¹.

O Gráfico 5 a seguir corresponde à curva realizada com os valores de absorvância obtidos pela leitura em 227 nm das amostras.

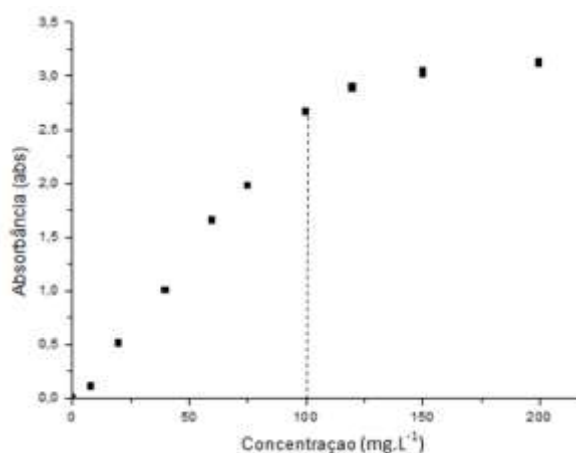


Gráfico 5 - Absorbância das soluções de cloridrato de fluoxetina.
Fonte: Autoria própria (2017).

Visualmente percebe-se que há linearidade dos resultados até a concentração de 100 mg.L⁻¹, indicando que, em concentrações maiores, o sinal obtido em 227 nm não reflete linearmente na concentração do fármaco em água, confirmando a possibilidade de outras interações do fármaco ocorrerem em concentrações superiores a 100 mg.L⁻¹.

Desconsiderando os valores de absorvância das soluções com concentração superior a 100 mg.L⁻¹, a concentração de cloridrato de fluoxetina pode ser encontrada na solução, aplicando-se a fórmula $y = 31,353x - 4,1242$, onde y é a concentração do medicamento e x o sinal de absorvância em 227 nm. O R² encontrado foi de 0,9910.

Em seguida, são apresentados os resultados dos ensaios de diluição do fármaco em álcool etílico absoluto, por meio do Gráfico 6.

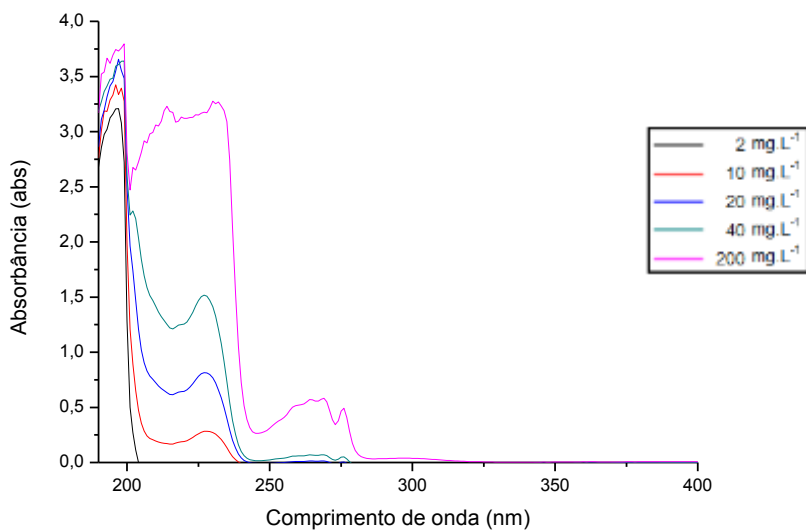


Gráfico 6 - Espectros da diluição do cloridrato de fluoxetina em álcool etílico.
Fonte: Autoria própria (2017).

Não houve mudança significativa no formato da curva, principalmente nas concentrações de 20 mg.L^{-1} e 40 mg.L^{-1} , que se assemelharam às mesmas soluções quando realizadas em água. Pôde-se notar que em todas as soluções houve extrapolação do sinal de absorbância abaixo de 200 nm . Ao contrário da solução de 8 mg.L^{-1} de fármaco em água, que apresentava valores baixos para esta faixa de absorbância, mesmo a solução com menor concentração (de 2 mg.L^{-1}) apresentava altos valores de absorbância nesta faixa, resultado da maior solubilidade dos compostos orgânicos contidos nos comprimidos.

Observa-se que tais compostos, mesmo quando em maior concentração (ocasionada pela maior solubilidade em álcool etílico) não influenciam na resposta de absorbância na faixa de interesse do estudo e, principalmente, em 227 nm .

5.2 ANÁLISE DOS EFEITOS DE ALTERAÇÃO DE PH NA SOLUBILIDADE

Os ensaios de solubilidade e de resposta do espectro do fármaco em relação ao pH são importantes pois, durante os ensaios de degradação, alguns compostos – como substâncias químicas aplicadas para promover o processo, como, por exemplo, o peróxido de hidrogênio – podem promover mudanças no pH. Além disso, devido ao cloridrato de fluoxetina ser sensível a valores baixos de pH e sofrer degradação química em faixas abaixo de 2 (MOURA e MOITA, 2012), caso algum experimento

apresentasse valores abaixo desta faixa, não seria possível identificar se o processo de degradação estaria sendo influenciado pelo pH. Entretanto, durante os experimentos, não foi registrado nenhum valor de pH menor que 6,00 e maior que 7,00. Apesar da adição de peróxido de hidrogênio poder provocar a queda no pH, os agentes contidos nos comprimidos podem ter funcionado como agente tampão, impedindo que grande variações de pH fossem geradas.

A seguir, é apresentado o Gráfico 7, gerado pelos espectros das soluções cujo pH foi modificado, conforme legenda.

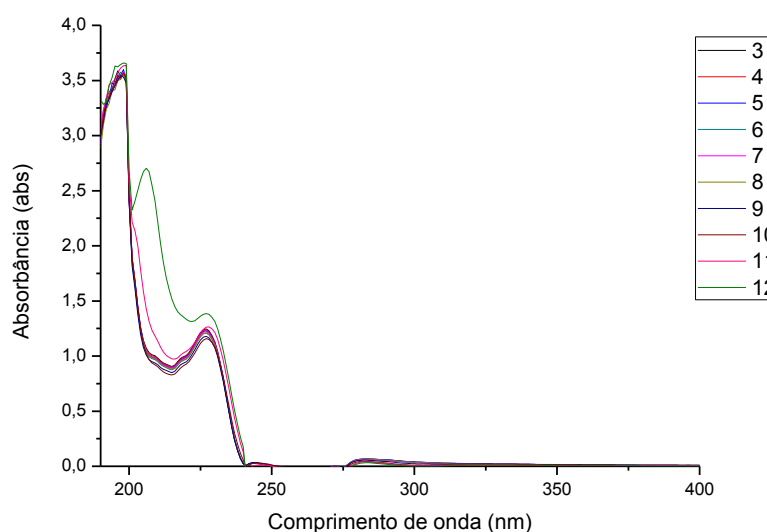


Gráfico 7 - Espectros das soluções de diferente pH.
Fonte: Aatoria própria (2017).

Há um grande aglomerado de curvas, todas correspondentes às soluções de pH 3 a 10. Uma pequena variação do sinal encontrada nestas soluções, apesar da concentração de fármaco ser a mesma, era esperada pela dificuldade de se controlar o volume de ácido clorídrico e hidróxido de sódio para corrigir o pH de cada amostra. Possíveis perdas diferentes na superfície do bulbo do eletrodo do pHmetro também eram esperadas devido ao número de leituras, tempo de exposição, evaporação por correntes de ar, dentre outros.

As duas curvas que se destacam são as correspondentes à faixa de pH entre 11 e 12 pois possuem mudança mais evidente. Não houve acréscimo dos valores de absorbância menores que 227 nm (comprimento de onda usado para controle da concentração da droga), portanto não se pode afirmar que há mudança da solubilidade do fármaco nesta concentração.

Porém, existe a possibilidade que o pH alcalino tenha aumentado a solubilidade dos compostos orgânicos coadjuvantes do comprimido, uma vez que a correção do pH foi realizada antes que o material insolúvel fosse separado da amostra. Ainda, na curva correspondente à faixa de pH 12, pôde-se observar o aparecimento de um novo pico, em 215 nm, devido a um dos compostos cuja solubilidade foi aumentada pelo acréscimo do pH.

Como parte do material insolúvel da amostra era orgânico, havia a possibilidade de que a variação do pH (principalmente em ambiente alcalino) provocasse a solubilização de fármaco que, por ventura, ficasse adsorvido na fase insolúvel, o que não foi constatado.

Portanto, acredita-se que na faixa de pH dos experimentos, não houve influência positiva ou negativa dos efeitos de pH, pois, em nenhuma fase dos experimentos de degradação, saiu da faixa de 6 a 7.

5.3 ANÁLISE DAS CURVAS DE CONCENTRAÇÃO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E DA PRATA EM SOLUÇÃO

A concentração do peróxido de hidrogênio nas soluções foi acompanhada utilizando a reta obtida a partir da leitura de suas diluições, originando o Gráfico 8.

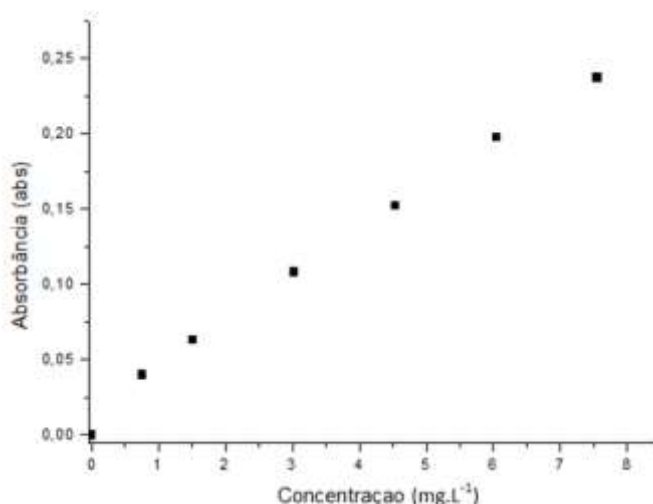


Gráfico 8 - Concentração de peróxido de hidrogênio pela absorbância após adição de reagente Allper.

Fonte: Autoria própria (2017).

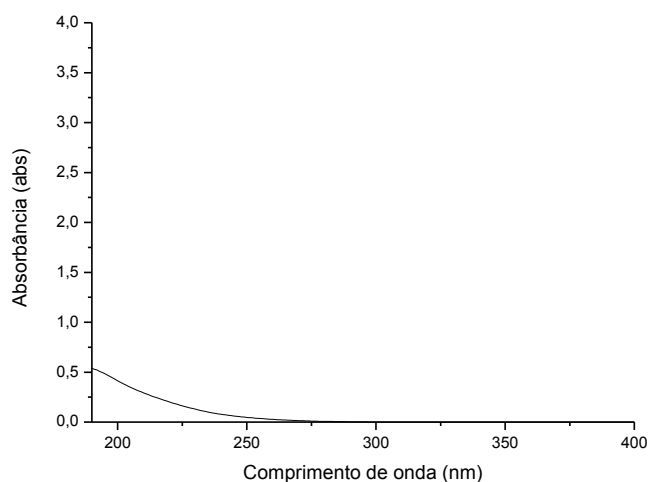
A equação da reta obtida foi a seguinte $y = 32,654x - 0,3721$, sendo x a concentração de peróxido de hidrogênio e y a absorbância, A reta tem um $R^2 = 0,9946$.

No comprimento de onda utilizado para leitura dessa concentração (395 nm) não foi visualizada a curva de absorbância do fármaco. Portanto, não se esperava que houvesse sobreposição das curvas neste comprimento de onda, causando pouca ou nenhuma interferência da presença do medicamento nesta análise.

A concentração de prata encontrada no produto utilizado foi de 640 mg.L^{-1} de prata (interpretado levando-se em consideração a concentração obtida na análise, expressa pelo resultado em nitrato de prata e convertida para prata como íon). Para os experimentos, utilizou-se 1,5 mL da solução em cada experimento em que a prata seria testada, resultando em uma concentração de prata de $0,64 \text{ mg.L}^{-1}$.

5.4 ANÁLISE DA INTERAÇÃO DO FÁRMACO COM OS COMPOSTOS

O peróxido de hidrogênio dissolvido em água possui um espectro de varredura que pode interagir com os resultados obtidos, conforme pode ser visualizado no Gráfico 9.



**Gráfico 9 - Varredura de solução de peróxido de hidrogênio a 60 mg.L^{-1} .
Fonte: Autoria própria (2017).**

Esperava-se, portanto, que após a adição do peróxido, mesmo que não houvesse reação ou interação com os compostos da solução, ocorresse um acréscimo nos valores de absorbância de forma mais acentuada, principalmente abaixo de 250 nm.

Ao se realizar a varredura em uma solução contendo prata coloidal, não houve aparecimento de pico no espectro. Porém, foi constatado um baixo aumento na turbidez da solução.

Para avaliar as mudanças causadas pela adição do peróxido de hidrogênio e da prata coloidal à fluoxetina, isolaram-se as curvas do início de cada experimento e demonstra-se seu comportamento no gráfico a seguir.

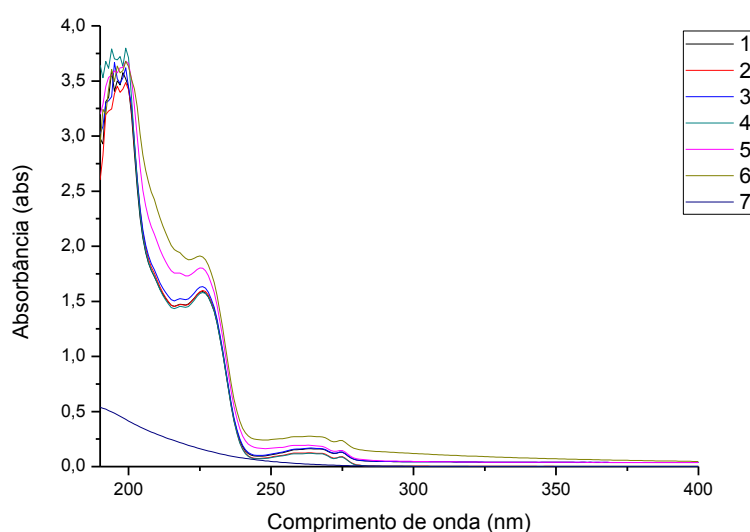


Gráfico 10 - Varredura de 6 amostras de cloridrato de fluoxetina à 40 mg.L⁻¹ e 1 de peróxido de hidrogênio à 60 mg.L⁻¹ em água desmineralizada.

Fonte: Autoria própria (2017).

Em detalhes, no Gráfico 10 é representada a varredura realizada antes do começo de cada processo experimental (sendo uma amostra dentre as três triplicatas, em cinco diferentes procedimentos) e todos possuem a concentração de 40 mg.L⁻¹ de cloridrato de fluoxetina. As curvas correspondem a um experimento de cada fase dos ensaios, conforme Tabela 2.

Tabela 2 - Identificação das curvas apresentadas no Gráfico 10.

Identificação	Fonte de dados
1	Ensaio de solubilidade
2	Degradação por UV (antes de ligar o sistema)
3	Degradação por peróxido de hidrogênio e UV (antes da adição do peróxido)
4	Degradação por peróxido de hidrogênio (antes da adição do peróxido)
5	Degradação por peróxido de hidrogênio (logo após adição do peróxido de de hidrogênio)
6	Degradação por peróxido de hidrogênio, UV e prata coloidal (logo após adição do peróxido e da prata coloidal)
7	Solução contendo 60 mg/L de peróxido de hidrogênio utilizado nos ensaios

Fonte: Autoria própria (2017).

As curvas de 1 a 4 podem ser vistas agrupadas no gráfico e representam as soluções que continuam somente 40 mg.L⁻¹ do fármaco. A semelhança entre os sinais

mostra a linearidade da concentração do fármaco e a repetitividade do método de diluição. Em relação aos dados encontrados na literatura, o formato da curva e o sinal encontrado (para mesma concentração) são semelhantes, com exceção da área cujo comprimento de onda fica abaixo de 200 nm, que difere do resultado encontrado por MOURA e MOITA (2011).

As curvas números 5 e 6 podem ser vistas acima das 4 primeiras aglomeradas. Representam, respectivamente, a solução de fármaco após a adição de 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio e após a adição de 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio com 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal. O acréscimo de sinal ocorrido pela inserção de peróxido de hidrogênio segue o incremento relativo à curva referente à solução de peróxido de hidrogênio em água (curva número 7), indicando baixa reatividade inicial do peróxido de hidrogênio com o fármaco e baixa interação entre ambos quando combinados em resposta de absorbância, provocando um incremento do sinal.

Já o acréscimo da prata coloidal causou um aumento linear em toda a curva, indicando um incremento igual em todos os valores de comprimento de onda, mais notável quando abaixo de 225 nm. Esse incremento tem como principal razão o aumento da turbidez do sistema, visto que, quando a prata coloidal foi adicionada, houve um leve aumento de turbidez na solução (verificado visualmente, mas não controlado por análises).

Embora a concentração inicial de cloridrato de fluoxetina fosse igual em todos os ensaios, o incremento dos valores de absorbância causou um falso aumento dessa concentração. Por este motivo, as leituras iniciais da concentração do fármaco são superiores à concentração de 40 mg.L⁻¹.

5.5 AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO

O circuito apresentou vazão constante, mas abaixo do que indicava no visor da bomba peristáltica. O valor da vazão medido nos experimentos foi de 37 L.h⁻¹, tendo pouca variação. A pequena queda na vazão do sistema pode ser dar ao fato da adaptação realizada para coletar a solução do reservatório. Pelos resultados obtidos com a lâmpada UV desligada, pôde-se perceber que não houve mudanças nos espectros testados, portanto, o isolamento realizado para evitar interação com o UV ambiente teve o resultado esperado.

O tempo das leituras de varredura foi de cerca de 1 min e a leitura da concentração de peróxido foi de menos de 1 min (incluindo o preparo), não prejudicando a leitura de amostras que eram obtidas a cada 5 min, ou seja, nenhuma amostra foi lida fora do prazo estipulado.

O método de acompanhamento da degradação do fármaco por meio de varredura em UV-vis indica que a leitura direta da concentração do fármaco em água pode ignorar a presença de compostos intermediários, demonstrando, por vezes, uma eficiência relativa.

Para elencar o comportamento da solução a 40 mg.L^{-1} que ficou armazenada ao abrigo da luz e à temperatura ambiente por 58 dias, é apresentado a seguir o Gráfico 11.

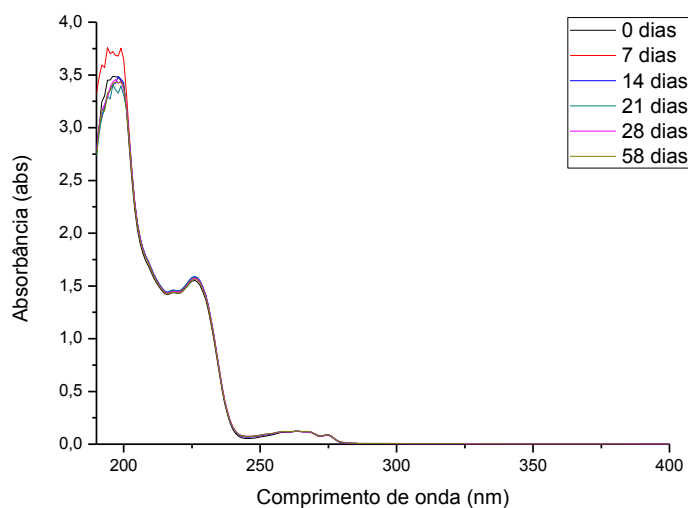


Gráfico 11 - Espectros da solução de 40 mg.L^{-1} de cloridrato de fluoxetina armazenada por 58 dias.
Fonte: Autoria própria (2017).

Após o armazenamento prolongado em solução de 40 mg.L^{-1} não houve mudanças no espectro encontrado para a solução, tampouco alterações nos valores do pH, que estiveram em torno de 6,8. Portanto, mesmo por longos períodos em solução em água, não ocorre mudanças de concentração ou de aspecto no espectro encontrado, salvo pequenas mudanças que podem ocorrer pela evaporação ocorrida durante abertura da embalagem para coleta das amostras e trocas gasosas com o ambiente. Ainda que o material suspenso tenha sido removido (por centrifugação e filtração), os compostos coadjuvantes solúveis podem ter ajudado na estabilização da solução, prevenindo a degradação do medicamento.

A seguir, discorre-se a respeito dos 8 experimentos descritos na Tabela 1, contida no item 4.3.

No ensaio N° 1, em que o cloridrato de fluoxetina foi submetido apenas à circulação, não houve modificação da curva de absorbância, reforçando a hipótese de que não há degradação da fluoxetina ao longo do tempo, mesmo com a presença de agitação e turbilhonamento (inserção de oxigênio dissolvido).

No Gráfico 12 estão contidos os resultados de absorbância encontrados para os ensaios N° 2 e N° 4, realizados com a presença de peróxido ou prata coloidal, após exposição de 180 min.

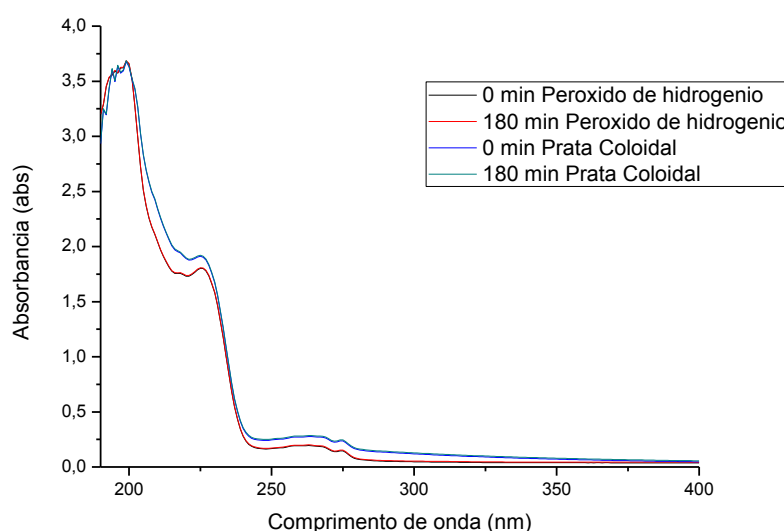


Gráfico 12 - Espectros dos experimentos realizados com peróxido de hidrogênio e prata coloidal com leitura após 180 min.
Fonte: Aatoria própria (2017).

Mesmo após 24 h de circulação, não houve mudança significativa no formato da curva quando a solução do medicamento foi exposta a peróxido de hidrogênio ou prata coloidal, salvo o incremento do sinal causado por ambos os produtos, exposto no Gráfico 10.

Como pode ser observado no Gráfico 12, não houve grande variação no espectro encontrado do fármaco, evidenciando que há pouca interação química, tanto com peróxido de hidrogênio quanto com a prata coloidal. Da mesma forma, não foi constatada interação quando o medicamento foi exposto aos dois produtos (ensaio N° 6), motivo pelo qual não se observou necessidade de fazer a representação gráfica.

A concentração de peróxido de hidrogênio, durante o experimento de exposição apenas a este produto por 180 min (ensaio N° 2), pode ser visualizada no Gráfico 13.

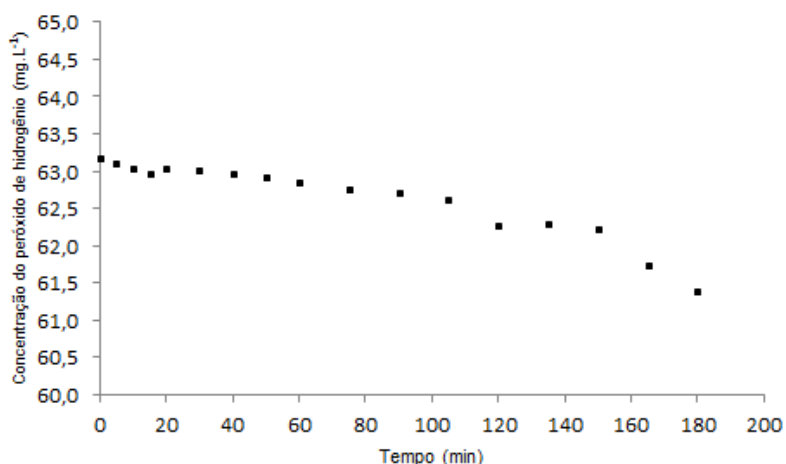


Gráfico 13 - Concentração de peróxido de hidrogênio durante o experimento de exposição do fármaco ao peróxido de hidrogênio.
Fonte: Autoria própria (2017).

Durante o experimento, não houve mudança no espectro encontrado para o cloridrato de fluoxetina e houve baixa queda na concentração de peróxido de hidrogênio, de 63,2 mg.L⁻¹ para 61,4 mg.L⁻¹ (-2,81%). A queda nesta concentração pode ter ocorrido pela instabilidade do produto químico ou pelo consumo devido à reação com outros compostos contidos na formulação – que não são detectados pelo espectro. O acompanhamento da concentração da fluoxetina em 227 nm não mostrou mudança nos valores de absorvância. Acredita-se, portanto, que não há interação entre o composto estudado e a presença de peróxido de hidrogênio ou prata coloidal.

Por meio do Gráfico 14, visualiza-se a degradação do fármaco quando exposto à radiação UV-vis e, no Gráfico 15, é observada a concentração estimada de cloridrato de fluoxetina no comprimento de onda de 227 nm (ambos referentes ao ensaio N^o 3).

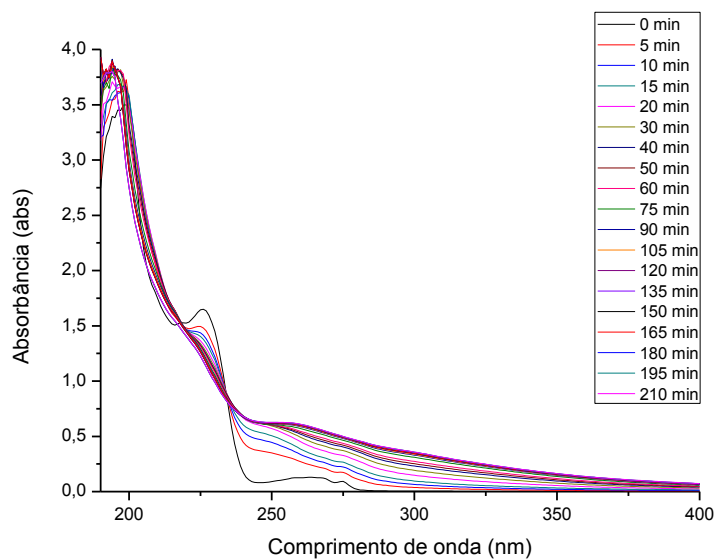


Gráfico 14 - Espectros da exposição da fluoxetina a UV ao decorrer do tempo.
Fonte: Autoria própria (2017).

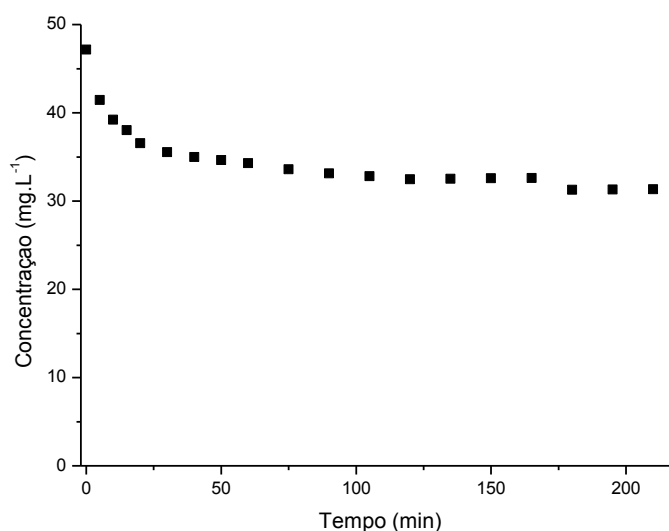


Gráfico 15 - Curva de concentração de fluoxetina por tempo com aplicação apenas de radiação UV.
Fonte: Autoria própria (2017).

Analisando estes dois gráficos, observa-se que há uma notória interação do fármaco com a radiação UV e, a falta de reatividade dele com peróxido de hidrogênio (sem a presença desta radiação), indica que apenas a aplicação de produtos químicos pode não ser suficiente para remoção deste fármaco de maneira adequada em um sistema de tratamento convencional.

Tal interação do fármaco foi percebida de forma mais intensa nos primeiros minutos do experimento e tornou-se menor ao longo do tempo, pois ocorreu a estabilização do sistema e uma diminuição das reações. A concentração também

sofreu uma queda nos primeiros 30 min, de 41,3 mg.L⁻¹ para 35,5 mg.L⁻¹ (-14,1%), mas acabou estabilizando e caindo lentamente após este tempo. Após 180 min, a concentração estimada de fluoxetina decaiu para 31,3 mg.L⁻¹ (-24,2%) da concentração inicial.

É importante denotar que essa interação à radiação UV deve ser considerada quando há presença do fármaco em estudo em meio ambiente, visto que parte da luz solar é composta por este tipo de radiação.

No Gráfico 16, observa-se a degradação do fármaco quando exposto à prata coloidal (1,5 ml.L⁻¹) e radiação UV, no Gráfico 17, a concentração estimada em 227 nm de fluoxetina (ambos referentes ao ensaio N^o 5).

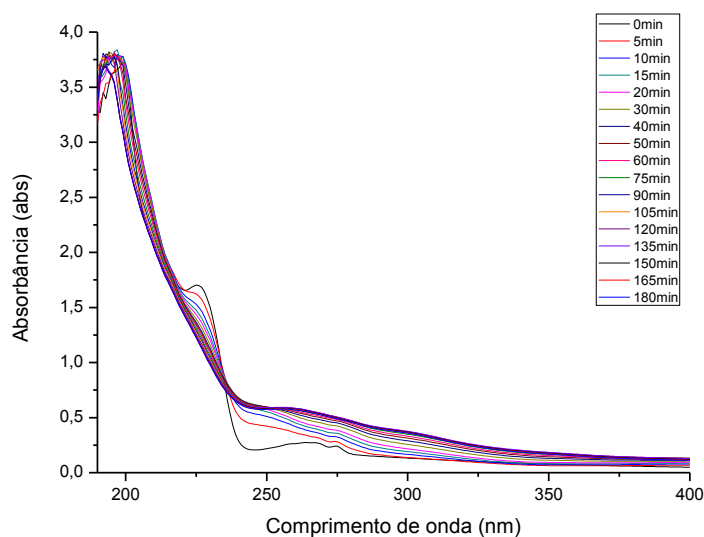


Gráfico 16 - Espectros da exposição de fluoxetina a UV com a presença de prata coloidal.

Fonte: Autoria própria (2017).

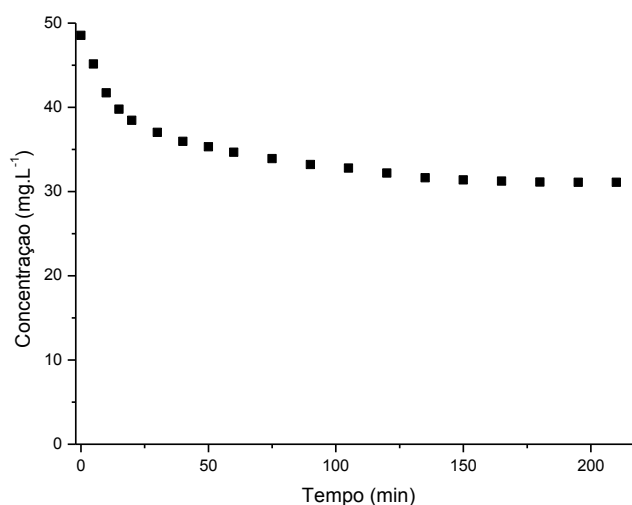


Gráfico 17 - Curva de concentração de fluoxetina por tempo com aplicação de radiação UV e prata coloidal.

Fonte: Autoria própria (2017).

Houve similaridade entre o experimento de exposição à radiação UV (ensaio Nº 3) e o experimento de exposição a esta quando há presença de prata coloidal (ensaio Nº 5), pois, aos 30 min, a redução foi de $48,5 \text{ mg.L}^{-1}$ a $37,0 \text{ mg.L}^{-1}$ (-23,7%). Mesmo apesar de levar o mesmo tempo para alcançar a estabilização, a concentração após os 180 min permaneceu a mesma do experimento em que não se aplicou a prata coloidal, cerca de $31,1 \text{ mg.L}^{-1}$, representando uma redução de 35,8% da concentração inicial.

Esta aparente melhora na degradação pode ser explicada pelo falso aumento inicial da concentração do fármaco, causada pelo incremento na curva de absorbância do Gráfico 10. A concentração final, encontrada para o medicamento, pode estar relacionada à redução da turbidez da solução em decorrência da complexação dos íons de prata por compostos intermediários de degradação.

Referente ao ensaio Nº 7, são apresentados 3 gráficos: o Gráfico 18 em que é mostrada a degradação do fármaco quando exposto ao peróxido de hidrogênio (aproximadamente 60 mg.L^{-1} inicial) e radiação UV; o Gráfico 19, em que é mostrada a concentração estimada em 227 nm de fluoxetina e; o Gráfico 20, em que é mostrada a concentração de peróxido de hidrogênio ao longo do ensaio.

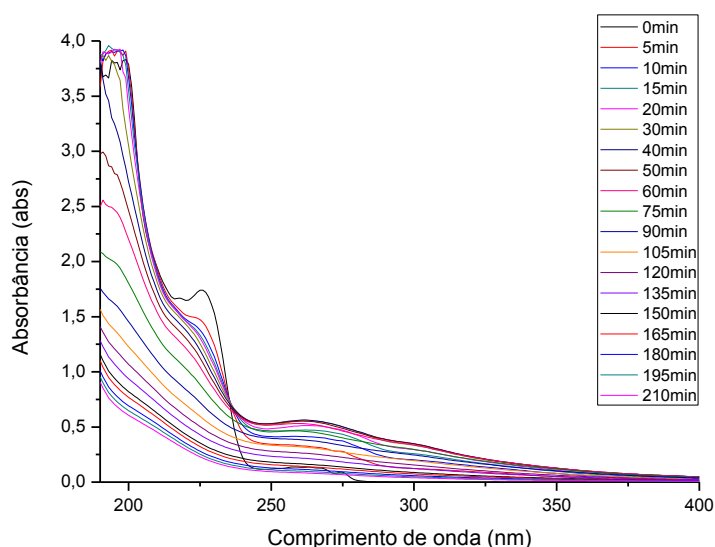


Gráfico 18 - Espectros da exposição da solução de fármaco a UV + peróxido de hidrogênio no decorrer do tempo.
Fonte: Autoria própria (2017).

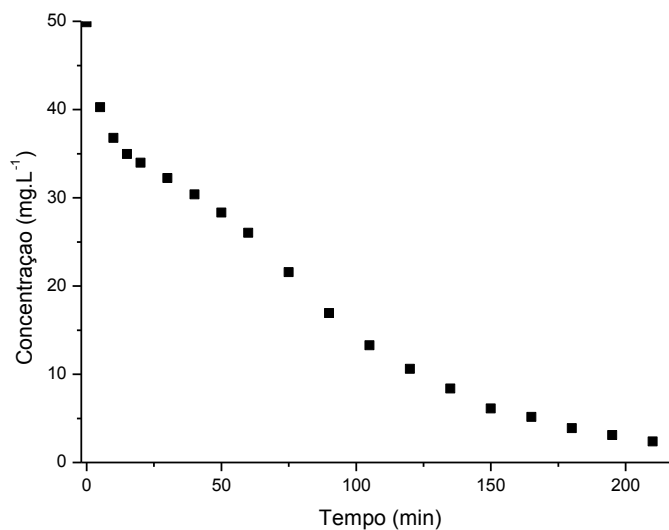


Gráfico 19 - Concentração de fluoxetina no decorrer do tempo quando exposta ao peróxido de hidrogênio e UV.
Fonte: Autoria própria (2017).

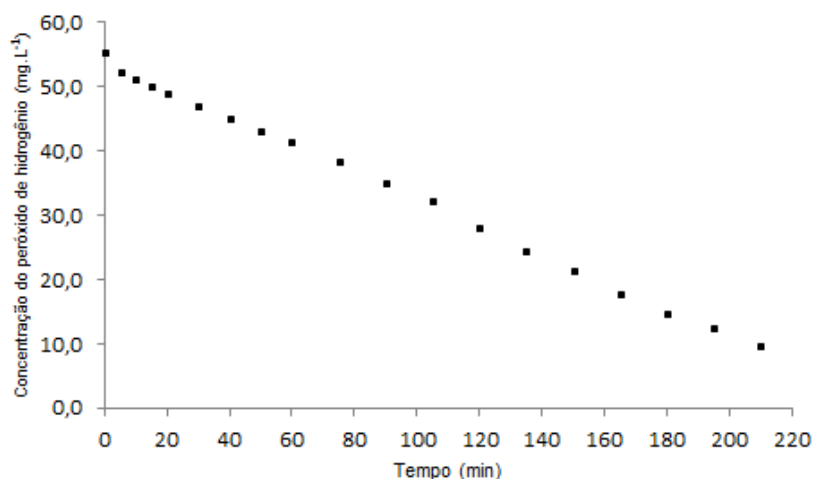


Gráfico 20 - Concentração de peróxido de hidrogênio na exposição de fármaco a este produto e UV.
Fonte: Autoria própria (2017).

A degradação com adição de peróxido mostrou um comportamento parecido com a exposição apenas a UV, mas de forma mais acelerada e com uma evidente redução do sinal do fármaco a partir dos 90 minutos de experimento. A concentração de peróxido de hidrogênio e de fluoxetina encontrada foi de, 55,4 mg.L⁻¹ para 14,6 mg.L⁻¹ (-73,6%) e de 49,9 mg.L⁻¹ para 2,4 mg.L⁻¹ (-95,2%), ambas após 210 min de exposição, indicando que não houve consumo completo do agente oxidante ao final do tempo. O formato da curva de exposição após os 180 min é próximo ao formato da curva do peróxido de hidrogênio em solução, mas de maior intensidade, apontando a

presença de compostos intermediários que absorvem o UV-vis na faixa abaixo de 250 nm.

Houve grande redução na concentração do fármaco (95,2%), evidenciando o método de aplicação de peróxido de hidrogênio e radiação UV como uma ótima metodologia para degradação. Ao contrário da exposição do medicamento apenas ao UV, neste experimento também houve a redução da absorbância na faixa abaixo dos 220 nm, sendo este um forte indício de que o incremento causado nesta faixa seja ocasionado por compostos orgânicos solúveis (contidos na formulação do comprimido).

Mesmo não havendo dados que pudessem confirmar a concentração da fluoxetina – por meio de HPLC – pode-se afirmar que, pelo formato e intensidade das curvas encontradas, houve redução da concentração do fármaco na solução.

No Gráfico 21, observa-se a degradação do fármaco quando exposto ao peróxido de hidrogênio (60 mg.L^{-1} inicial), prata coloidal e radiação UV. No Gráfico 22, é mostrada a concentração estimada em 227 nm de fluoxetina e, no Gráfico 23, a concentração de peróxido durante cada experimento. Os 3 gráficos representam as ocorrências do ensaio N° 8.

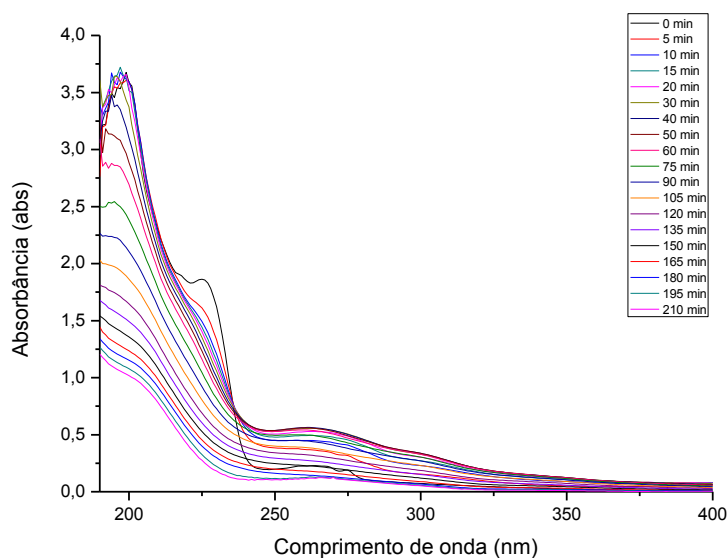


Gráfico 21 - Espectros da exposição da solução de fármaco a UV, peróxido de hidrogênio e prata coloidal no decorrer do tempo.
Fonte: Autoria própria (2017).

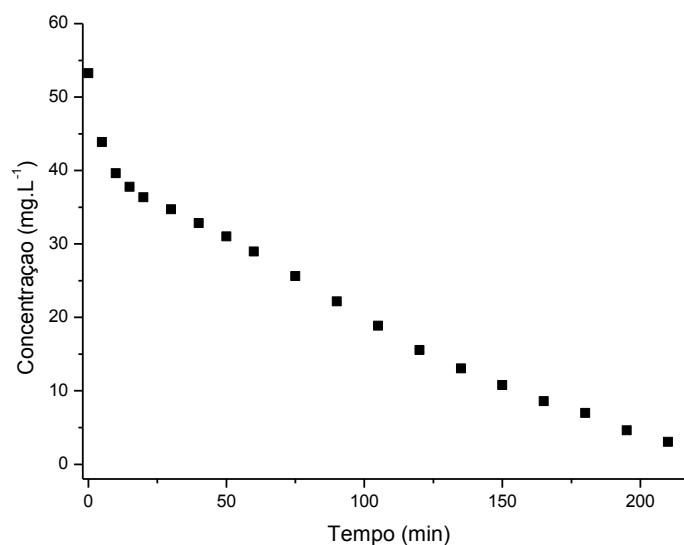


Gráfico 22 - Concentração de fluoxetina no decorrer do tempo quando exposta a peróxido de hidrogênio, prata coloidal e UV.
 Fonte: Autoria própria (2017).

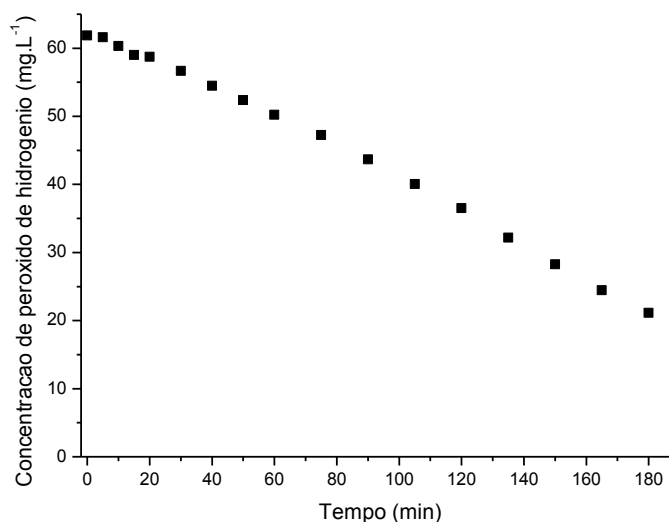


Gráfico 23 - Concentração de peróxido de hidrogênio durante a exposição do fármaco a 40 mg.L⁻¹ a prata coloidal, peróxido de hidrogênio assistido por UV.
 Fonte: Autoria própria (2017).

De forma análoga aos experimentos de exposição à radiação UV com e sem prata coloidal (ensaios N^o 3 e N^o 5), a exposição de fluoxetina à UV, na presença de peróxido de hidrogênio e prata coloidal (ensaio N^o 8), mostra um retardo para o alcance de valores de concentração iguais ao experimento sem prata.

Por exemplo, nos primeiros 60 min de experimento, a concentração média da fluoxetina (quando exposta a peróxido de hidrogênio e UV-vis) era de 26 mg.L⁻¹, para uma concentração inicial de 49,9 mg.L⁻¹ (-47,8%), e de 29 mg.L⁻¹, para uma

concentração inicial de 53,2 mg.L⁻¹ (-45,6%). Ao final do experimento, aos 210 min, a concentração de fluoxetina e de peróxido de hidrogênio foi de, respectivamente, 3,1 mg.L⁻¹ e de 21 mg.L⁻¹, indicando uma eficiência de remoção próxima (92,25% de remoção) e um menor consumo de peróxido de hidrogênio.

Houve, portanto, ao final do ensaio N^o 8 uma remoção pouco inferior do medicamento – se comparado ao ensaio N^o 7 – e, de alguma forma, a cinética de remoção ocorre mais lentamente no começo da exposição ao UV-vis e chega a valores próximos de degradação ao final dos 210 min. Ou seja, na presença da prata coloidal, a degradação é menor, possivelmente causada pelo aumento da turbidez e diminuição da interação da radiação UV com peróxido de hidrogênio.

Para que todos os resultados possam ser melhores visualizados, os valores de concentração em 0 min, 10 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, 180 min e 210 min, podem ser visualizados na Tabela 3, a seguir.

Tabela 3 - Concentrações dos experimentos nos determinados tempos de exposição.

Concentração de cloridrato de fluoxetina (mg.L ⁻¹) durante tempo de todos experimentos								
Tempo	0 min	10 min	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	210 min
UV	41,3	39,2	35,5	34,3	33,1	33,1	31,3	31,3
UV + Peróxido de hidrogênio	49,9	36,8	32,2	26,0	16,9	10,6	3,9	2,4
UV + Prata coloidal	48,5	41,7	37,0	34,6	33,2	32,2	31,1	31,1
UV + Peróxido de hidrogênio + Prata coloidal	53,2	39,6	34,7	29,0	22,2	15,6	7,0	3,1

Fonte: Autoria própria (2017).

A fim de elucidar os valores de remoção relativa à concentração inicial, reescrevem-se os dados da Tabela 3 na Tabela 4.

Tabela 4 - Redução das concentrações nos experimentos conforme tempos de exposição.

Redução na concentração do cloridrato de fluoxetina em relação às concentrações iniciais								
Tempo	0 min	10 min	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	210 min
UV	0,0%	-5,0%	-13,9%	-17,0%	-19,9%	-19,7%	-24,3%	-24,1%
UV + Peróxido de hidrogênio	0,0%	-26,3%	-35,4%	-47,8%	-66,1%	-78,7%	-92,2%	-95,3%
UV + Prata coloidal	0,0%	-14,1%	-23,7%	-28,6%	-31,6%	-33,7%	-35,9%	-36,0%
UV + Peróxido de hidrogênio + Prata coloidal	0,0%	-25,5%	-34,8%	-45,6%	-58,4%	-70,8%	-86,9%	-94,2%

Fonte: Autoria própria (2017).

Utilizando os valores expostos na Tabela 3 e na Tabela 4, pode-se comparar de forma mais rápida a eficiência de todos os métodos utilizados.

Pode-se perceber que, após os 210 min, houve pouca variação nos resultados de degradação quando a fluoxetina exposta nos experimentos com UV + prata coloidal (ensaio N° 5) e sem prata coloidal (ensaio N° 3). O valor encontrado para exposição à radiação UV e prata coloidal (ensaio N° 5) apresenta um valor inicial superior ao de 40 mg.L^{-1} , ocasionado pelo aumento do sinal encontrado nas soluções contendo prata coloidal, fato este que pode indicar que na verdade os valores encontrados para degradação com prata estão acima dos reais. Porém, não há como confirmar este fato já que o efeito de aumento da absorbância – causada pela elevação da turbidez, devido à presença de prata – pode ser reduzido com o tempo, através da formação de complexos de prata.

Mesmo não havendo a confirmação das concentrações do fármaco presente nas amostras com um equipamento de precisão (HPLC), o pico monitorado em 227 nm é o um dos únicos pontos, em todos os ensaios, em que não houve acréscimo dos valores de absorbância. Tal fato permite que se considere que a fluoxetina não degradada apareceria, mesmo que na mistura de outros produtos, no pico neste comprimento de onda.

O incremento de sinal ao longo de toda a curva (salvo região mencionada no parágrafo acima) indica a formação de compostos de uma gama tão grande que a absorção de UV-vis por estes provoca o desaparecimento de sinais em forma de pico e também o aparecimento de rampas – que surgem onde antes não havia sinal de absorbância.

O principal motivo do incremento da prata coloidal seria de provocar novas interações com a radiação UV, possibilitando um aumento de degradação, fato que não foi constatado. Ensaio aplicando quantidades superiores de prata coloidal apenas acabariam resultando em um decréscimo nos resultados de degradação.

Embora apenas uma concentração da prata coloidal tenha sido testada, esperava-se que, caso ela funcionasse como um catalizador, houvesse melhora da degradação, o que também não foi constatado. Concentrações intermediárias, ou superiores, provavelmente não resultariam em melhores resultados.

Quanto ao controle da concentração do cloridrato de fluoxetina, a utilização de UV-vis mostrou-se um método eficiente principalmente quando este detectou a presença de compostos intermediários. Mesmo que este método não tenha sido

comparado com os métodos tradicionalmente utilizados na literatura (como, por exemplo, o HPLC), ele pode ser uma opção viável em ambientes onde se deseja aplicar métodos de menor custo.

5.6 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE

Os resultados da toxicidade podem ser visualizados na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultados dos ensaios de toxicidade, número de organismos imóveis conforme diluição.

FT _D	1		2		3		4		5		6		7		8	
	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis	Organismos Imóveis
1	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
2	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
4	9	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
8	8	8	9	8	9	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
16	2	4	5	2	4	6	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
32	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
64	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	1	0	8	9	10	9
128	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
FT _D	32		32		32		128		128		64		128		128	

Fonte: Autoria própria (2017).

O número indicado para cada amostra segue as referências de acordo com o fluxograma elencado no item 4, sendo as soluções de:

- 1) Cloridrato de fluoxetina 40 mg.L⁻¹;
- 2) Cloridrato de fluoxetina 40 mg.L⁻¹ estocada por 5 meses ao abrigo da luz;
- 3) Cloridrato de fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à presença de 60mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio;
- 4) Cloridrato de fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à radiação UV;
- 5) Cloridrato de fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta a presença de 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio UV;
- 6) Cloridrato de fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta à presença de 60 mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio, 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal e UV;
- 7) Cloridrato de fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta a presença 0,64 mg.L⁻¹ de prata coloidal;
- 8) Cloridrato de fluoxetina 40 mg.L⁻¹ exposta a presença de 60mg.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio e 0,64mg.L⁻¹ de prata coloidal.

De acordo com os dados encontrados, a toxicidade do cloridrato de fluoxetina foi pouco modificada após o armazenamento prolongando, reforçando os dados encontrados nos espectros de UV-vis, que não apontaram mudanças na resposta a absorvância. Como não houve degradação (encontrada na verificação por UV-vis) quando houve apenas exposição ao peróxido e, por este não apresentar toxicidade na concentração utilizada, também não houve aumento da toxicidade, mantendo os valores de FT_D em 32.

Quando a prata coloidal foi adicionada às soluções, tanto de forma isolada quanto na presença de peróxido de hidrogênio, mesmo não sendo evidenciada degradação, houve um aumento significativo na toxicidade, elevando o valor de FT_D para 128. O cloridrato de fluoxetina, de forma isolada, apresentou valores altos de toxicidade, porém, a prata, por conhecido efeito tóxico a microrganismos, provavelmente aumentou a toxicidade da solução, indicando que mesmo sua presença pode provocar aumento da toxicidade ao sistema.

Verificou-se, nos resultados dos ensaios das amostras expostas à radiação UV, que houve aumento da toxicidade em relação à amostra de cloridrato de fluoxetina. Quando exposta isoladamente à radiação UV, houve notória degradação do fármaco e mudanças drásticas nos espectros encontrados, além de um grande salto na toxicidade da solução exposta ao UV.

Este resultado alerta que, mesmo o cloridrato de fluoxetina sendo encontrado em águas superficiais e em concentrações consideradas seguras por ensaios de toxicidade (por não causar modificação comportamental de espécies), o fármaco pode causar sérios danos à biota. Seus intermediários não podem ser controlados pelos métodos encontrados na literatura e, aparentemente, possuem uma toxicidade muito superior ao composto puro.

Deve-se levar em conta que as águas superficiais que recebem efluentes domésticos – e acabam sendo contaminadas com concentrações deste fármaco – sofrem incidência de radiação solar (embora de forma mais amena em relação ao ensaio realizado neste trabalho). Essa incidência acarretará na degradação do fármaco e na formação de compostos ainda mais tóxicos, que não poderão ser monitorados, de maneira eficiente por métodos de detecção tradicionalmente utilizados, devido a sua complexidade.

Além da ocorrência de degradação parcial causada pela incidência solar, há um efeito sinérgico de toxicidade – apontado em literatura para diferentes fármacos,

já que na matriz natural os fármacos não são encontrados isolados (ESCHER, 2010, CLARKE e SMITH 2011) – que pode impactar em taxas de toxicidade ainda mais graves do que a presença isolada do medicamento no ambiente.

O método de detecção utilizado no presente trabalho pode também ser aplicado em matrizes ambientais, de diferentes pontos de um curso de água, para avaliar as mudanças dos espectros encontrados após diferentes tempos de exposição à luz solar ou, ainda, se houver a presença de luz durante o dia ou a ausência desta no período noturno.

A degradação realizada utilizando o peróxido de hidrogênio com exposição ao UV (ensaio N° 7) e peróxido de hidrogênio, prata coloidal com exposição ao UV (ensaio N° 8) apresentaram altos valores de remoção do fármaco. Contudo, também houve um aumento peculiar da toxicidade: mesmo apesar da adição da prata coloidal provocar um aumento da toxicidade (quando as amostras não foram expostas ao UV), o FT_D para a solução que continha peróxido de hidrogênio e prata coloidal teve uma menor toxicidade em relação aos outros ensaios em que a radiação UV foi utilizada junto com a prata coloidal (mesmo sem degradação, como evidenciado quando não houve exposição à radiação UV).

A presença de prata coloidal pode ter causado uma pequena especificidade na degradação da fluoxetina, causando degradação de grupos funcionais específicos e provocando a diminuição (singela em relação às outras amostras) da toxicidade do sistema.

Notou-se também que houve pouca diferença nos valores encontrados na degradação entre experimentos em que a prata foi aplicada. Foi percebido o retardo do tempo de obtenção de valores de degradação similares aos de um experimento análogo sem aplicação da prata. Utilizando o dado aqui encontrado para toxicidade, pode-se supor que esse atraso, para obtenção do mesmo índice de degradação, esteja ligado à maior dificuldade que o sistema composto por prata coloidal e UV tem de provocar certa oxidação, já que deve atuar de forma mais seletiva.

6 CONCLUSÕES

O controle da presença de fármacos, realizado como proposto no trabalho, pode auxiliar em técnicas de tratamento, sendo um processo mais barato e rápido que pode ser aplicado em processos experimentais ou sistemas de tratamento já instalados. Apesar de o controle ter sido realizado apenas para a fluoxetina, e em concentrações muito acima das encontradas no ambiente, este processo pode ser aplicado no controle de tratamento de efluentes industriais de empresas farmacêuticas e de hospitais, cuja concentração dos fármacos alcança os maiores valores antes de chegar ao ambiente, mesmo quando passam por processos convencionais de tratamento de efluente.

Não foram encontradas pesquisas realizadas com o mesmo objetivos deste trabalho, portanto, pode-se considerar os métodos de monitoramento e avaliação utilizados como inovadores.

Os resultados de degradação foram bastante expressivos – principalmente com a aplicação de peróxido de hidrogênio + radiação UV – e a foto atividade do cloridrato fluoxetina mostra que esta substância pode sofrer degradação mesmo sem a presença de agentes oxidantes, sendo possivelmente um ponto de melhoria para outros pesquisadores que utilizam métodos alternativos de degradação com aplicação de radiação.

A presença da prata como possível agente catalisador do processo de degradação não mudou a dinâmica do processo, apenas o deixou mais lento. Portanto, não é indicado seu uso como auxiliar em processos de degradação do cloridrato de fluoxetina utilizando-se radiação UV. O produto pode ser utilizado em misturas contendo os compostos de mais difícil degradação para avaliar sua eficiência, comparando o produto à base de prata e como processos *fenton* ou *foto fenton*. Entretanto, a utilização da prata na degradação, em conjunto com o peróxido de hidrogênio, apontou o menor valor de toxicidade para os ensaios realizados com aplicação de UV, indicando possivelmente uma diferente ação de oxidação quando está presente, podendo provocar uma ação mais seletiva que a simples aplicação de peróxido e UV.

7 SUGESTÃO DE TRABALHOS FUTUROS

A utilização da espectrofotometria, para monitoramento da evolução das reações de oxidação, pode ser aplicada em outras situações para monitoramento de compostos intermediários, evolução da degradação em misturas complexas ou ser aplicado na detecção de diferentes dinâmicas de reação (ocasionadas por mudanças de concentração de fármacos, por compostos oxidantes, ou por alterações de pH).

Os experimentos realizados utilizando o monitoramento por HPLC tem um elevado custo e são praticamente inviáveis caso seja necessário um grande número de amostras, ou retirada de amostras a cada 5 min, como as realizadas neste trabalho. Além do custo elevado, uma série de amostras retiradas a cada 5 min poderia sofrer degradação enquanto aguardam a análise no equipamento de HPLC. Para consagrar os resultados deste trabalho, análises de HPLC realizadas nas fases finais de degradação poderiam permitir a confirmação dos valores de degradação encontrados. A interação de outro fármaco com o cloridrato de fluoxetina pode ser utilizada como exemplo para submeter outros compostos a experimentos de degradação utilizando-se apenas o UV.

A aplicação de diferentes métodos de oxidação, variando a concentração dos produtos utilizados e tempo de exposição, além da aplicação de outros POAs, poderia apresentar melhores resultados de remoção e redução da toxicidade da fluoxetina. Ensaio utilizando mais de um fármaco, quando isolados e degradados simultaneamente, poderiam dar novas perspectivas aos ensaios de toxicidade não só para *Daphnia magna* como para outros organismos utilizados neste tipo de testes, inclusive vertebrados – já que estes possuem sensibilidade e diferentes reações a concentrações pequenas de fármacos.

Este tipo de trabalho não pode se limitar a apenas um bioindicador. Além da *Daphnia magna*, podemos utilizar outros invertebrados e macrófitas aquáticas e terrestres. As macrófitas fornecem resultados mais consistentes e poderiam ser utilizadas em testes de maior escala, inclusive aplicando-se adição de outros compostos para verificar efeitos sinérgicos e interação de medicamentos na toxicidade, efeitos pós-remoção parcial e total, ou mesmo, queda de crescimento e mortalidade.

Para simular a formação de compostos intermediários em ambientes naturais, os experimentos podem ser realizados utilizando amostras complexas em efluentes

reais e expostos a radiação solar. Esta ainda, pode ser aplicada em processos de degradação por POA, com o objetivo de se avaliar a aplicação de métodos mais baratos para degradação de poluentes.

A realização de um planejamento fatorial dos ensaios poderia fornecer dados mais confiáveis e de manipulação de variáveis mais simplificado, visto que está é uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados em pesquisas científicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHERNE, G.W.; ENGLISH, J.; MARKS, V. The role of imunoassay in the analysis of microcontaminants in water samples. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 9 79–83, 1985.

AHERNE, G.W.; HARDCASTLE, A.; NIELD, A.H. Cytotoxic drugs and the aquatic environment: estimation of bleomycin in river and water samples. *J. Pharm. Pharmacol.* 42 741–742, 1990.

ALONSO,S.G; CATALÁ, M; MAROTO, R.R.; GIL, J. R. L; MIGUEL, A.G; VALCÁRCEL, Y. Pollution by psychoactive pharmaceuticals in the Rivers of Madrid metropolitan area (Spain). *Environment International*. V.36, p 195 – 201, 2010

ANDREOLI, C. V.; HOPPEN, C.; FERREIRA, A. C. Avaliação dos Níveis de Agrotóxicos Encontrados na Água de Abastecimento nas Regiões de Curitiba e Londrina. *SANARE – Revista Técnica da Sanepar*, 2000

ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº44 de 26 de outubro de 2010. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias>. Acesso em 18 jan, 2011.

APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20.ed. Washington: AWWA/APHA/WEF, 1998. s.p.

ASHTON, D.; HILTON, M.; THOMAS. K. V. Investigation the Environmental transport of human pharmaceuticals streams in the United Kingdom. *Science of the Total Environment* v.333 p. 167-184, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT. NBR 12713: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp* (*Crustacea, Cladocera*) Rio de Janeiro, 2016.

BAKEL, J.; MINERO, C.; PELIZZETTI, E. Chemical Degradation of chorophenols with Fenton's reagent. *Chemosphere*, v. 16, n. 10-12, p. 2225-2237, 1987

BAUER, B.; FIORONI, P.; SCHULTE-OEHLMANN, U.; OEHLMANN, J.; KALBFUS, W. The use of *Littorina littorea* for tributyltin (TBT) effect monitoring — results from the german TBT survey 1994/1995 and laboratory experiments. *Environ Pollut* 96(3): 299-309, 1997.

BESSE, J. P.; GARRIC, J. Human pharmaceuticals in surface waters Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicology Letters* 176,104–123, 2008.

BLASCO, C.; PICO, Y. Prospects for combining chemical and biological methods for integrated environmental assessment. Trends in Analytical Chemistry, Vol. 28, No. 6, 2009.

BOXALL, A. B. A. The Environmental side effects of medication. EMBO reports v.5 p1110, 2004.

BRASIL, SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE SANEAMENTO, Informações sobre coleta de água para tratamento. Disponível em <<http://www.snis.gov.br/aplicacao-web-serie-historica>> , acesso em 13 de maio de 2016.

BRASIL. Lei Nº 7.802 de 1989 – “Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências”. Data da legislação: 11/07/1989. Disponível em <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L7802.htm>, acesso em 13 de maio de 2016.

BRASIL. CONAMA Nº 357/2005 - "Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências." - Data da legislação: 17/03/2005 - Publicação DOU nº 053, de 18/03/2005, págs. 58-63

BRASIL. CONAMA Nº 430/2011 - "Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA." - Data da legislação: 13/05/2011 - Publicação DOU nº 92, de 16/05/2011, pág. 89

BRASIL. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade

BRATSCH, S. G. Standard electrode potentials and temperature coefficients in water at 289,15K. Journal of Physical and Chemical Reference Data, v. 18 ,n. 1-21, 1989.

BROOKS, B. W.; TURNER, P. K.; STANLEY, J. K.; WESTON, J. J.; GLIDEWELL, E. A.; FORAN, C. M.; SLATTERY, M.; LA POINT, T. W.; HUGGETT, D. B. (A): Waterborne and sediment toxicity of fluoxetine to select organisms. Chemosphere 52(1): 135-142, 2002.

BROOKS, B. W.; TURNER, P.K.; STANLEY, J.K.; WESTON, J.J.; GLIDEWELL, E.A.; FORAN, C.M.; SLATTERY, M.; POINT, T.W.; HUGGETT, D.B. Waterborne and sedimental toxicity of fluoxetine to select organisms. v.52, p135-145, 2003

CALDERON-PRECIADO, D.; JIMENEZ-CARTAGENA, C.; MATAMOROS, V.; BAYONA, J. M. Screening of 47 organic microcontaminants in agricultural irrigation waters and their soil loading. *Water research* 45, 221 e 231, 2011.

CAMINADA, S. M. L. Estudo da biodegradação do Hidrocloridrato de fluoxetina, empregando ensaios de respirometria e toxicidade. Tese de mestrado da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 139p. 2008.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J. M. Comparison of predicted and measured concentrations of selected pharmaceuticals, fragrances and hormones in Spanish sewage. *Chemosphere* 72, 1118–1123, 2008.

CHRISTEN, A. V.; HICKMANN, S.; RECHENBERG, B.; FENTA, K. Highly active human pharmaceuticals in aquatic systems: A concept for their identification based on their mode of action. *Aquatic Toxicology* 96, 167–181, 2010.

CHRISTENSEN, F. M. Pharmaceuticals in the Environment - A Human Risk? *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 28, 212–221, 1998.

CLARKE, B. O.; SMITH, S. R. Review of 'emerging' organic contaminants in biosolids and assessment of international research priorities for the agricultural use of biosolids. *Environment International* 37, 226–247, 2011.

CLEUVERS, M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology letters*, v.142 p. 185-194, 2003.

CLOTFELTER, E.D.; RODRIGUEZ, A.C. Behavioral changes in fish exposed to phytoestrogens. *Environ. Pollut.*, v.144, p.833-839, 2006

DAUGHTON, C.G.; TERNES, T.A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle changes? *Environ. Health Perspect.* 107, 907–938, 1999.

DE-LANGE, H. J.; NOORDOVEN, W.; MURK, A. J.; LURLING, M.; PEETERS, E. T. H. M. Behavioral responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipod) to low concentrations of pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 78, 209–216, 2006.

DEMOLL, R. Viren, Hormone, Wuchsstoffe und Antibiotica in Abwasser. *Gwf Wasser Abwasser. Ausgabe Wasser* 95(4): 97-100, 1954.

DI BERNARDO L., DI BERNARDO, A. Métodos e técnicas de tratamento de água, 2ª edição, volume 1 – SÃO CARLOS: RiMa, 2005, 792 p.

DI BERNARDO L., DI BERNARDO, A. Métodos e técnicas de tratamento de água, 2ª edição, volume 2 – SÃO CARLOS: RiMa, 2005, 792 p.

DUTRA, J.S. Mediar, Mediar, Remediar: aspectos da terapêutica na medicina ocidental. Rio de Janeiro: Editora da UERJ, 1998. 193p.

EDWARDS, M.; TOPP, E.; METCALFE, C. D.; LI, H.; GOTTSCHALL, N.; BOLTON, P.; CURNOE, W.; PAYNE, M.; BECK, A.; KLEYWEGT, S.; LAPEN, D. R. Pharmaceutical and personal care products in tile drainage following surface spreading and injection of dewatered municipal biosolids to an agricultural field. *Science of the Total Environment* 407, 4220–4230, 2009.

ENICK, O. V., MOORE, M. M. (2007). Assessing the assessments: pharmaceuticals in the environment. *Environmental Impact Assessment Review*, 27(8), p. 707-729.

ESCHER, B. I.; BAUMGARTNER, R.; KOLLER, M.; TREYER, K.; LIENERT, J.;MCARDELL, C. S. Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water research* 45, 75 e 92, 2011.

ESCHER, B. I.; BRAMAZ, N.; LIENERT, J.; NEUWOEHNER, J.; STRAUB, J. O. Mixture toxicity of the antiviral drug Tamiflu (oseltamivir ethylester) and its active metabolite oseltamivir acid. *Aquatic Toxicology* 96, 194–202, 2010.

FARRE, M.; PEREZ, S.; KANTIANI, L.; BARCELO, D. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 27, No. 11, 2008

FENT, K.; WESTON, A. A.; CAMINADA D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals *Aquatic Toxicology*, v. 76, p 122-159; 2006

FERNANDES, A.; BRAGA, A.; RUIZ, A. R. Fluoxetina, monografia. Disponível em: <http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g52_fluoxetina/FLUOXETINA/pag2.h>. UNIVERSIDADE DO PORTO Acesso em: 20 de out. de 2009.

FERNANDES, R. Estudos de remoção de 17 α -etinilestradiol de águas para abastecimento, utilizando dióxido de cloro, hipoclorito de sódio, carvão ativado em pó (cap) e tratamento físico-químico. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas, SP. 151p. 2007.

FERNANDES, Roberto Estudos de Remoção de 17 α -Etinilestradiol de Águas para Abastecimento, utilizando Dióxido de Cloro, Hipoclorito de Sódio, Carvão Ativado em Pó (CAP) e Tratamento Físico-químico. Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, UNICAMP, 2007. p.150 Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, UNICAMP, 2007.

FLAHERTY, C. M.; DODSON, S. I. Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction. *Chemosphere* 61, 200–207, 2005.

FOCAZIO, M. J.; KOLPIN, D. W.; BARNES, K. K.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; THURMAN, M. E. A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States — II) Untreated drinking water sources. *Science of the Total Environment* 402, 201 – 216, 2008.

FREGONEZI, M. M.; BARACAT, M. M.; CASAGRANDE, R.; MACHADO, H. T., MIGLIORANZA, B.; GIONOTTO, E. A. S. Validação de métodos para determinação de fluoxetina em cápsulas. *Química Nova* 31. 1665 – 1669. 2008.

GAGNE, F.; BLAISE, C.; ANDRE, C. Occurrence of pharmaceutical products in a municipal effluent and toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 64, 329–336, 2006.

GARDINER, D. M.; HOPPE, D. M. Environmentally induced limb malformations in mink frogs (*Rana septentrionalis*). *J Exp Zool* 284(2): 207-216, 1999.

GARRISON, A. W.; POPE, J. D.; ALLEN, F. R. GC/MS analysis of organic compounds indomestic wastewaters. In: Keith, L. H.: Identification and analysis of organic pollutants in water. Ann Arbor Science Publishers, Inc. Ann Arbor, Michigan. S. 517-556, 1976.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Avaliação da Qualidade das Águas Destinadas ao Abastecimento Público na Região de Campinas: Ocorrência e Determinação dos Interferentes Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal (PFHP). Tese de doutorado. Área de Química Analítica, sistema de bibliotecas da UNICAMP, 2006. Disponível em: <http://cutter.unicamp.br/document/?code=vtls000398476>. Acesso em: 20 out, 2010.

GINEBREDA, A.; MUÑOZ, I.; ALDA, M. L.; BRIX, R.; LÓPEZ-DOVAL, J.; BARCELÓ, D. Environmental risk assessment of pharmaceuticals in rivers: Relationships between hazard indexes and aquatic macro invertebrate diversity indexes in the Llobregat River (Iest of Spain). *Environment International* 36,153–162, 2010.

GIRI, A. S.; GOLDBERGER, A. K.; Fenton, photo-Fenton, H₂O₂ photolysis, and TiO₂ photocatalysis for dipyrone oxidation: Drug removal, mineralization, biodegradability, and degradation mechanism. *Industrial e Engineering Chemistry Research*, v. 53, n. 4, p. 1351-1358.

GUST, M., BURONFOSSE, T., GEFFARD, O., MONS, R., QUEAU, H., MOUTHON, J., GARRIC, J. (2010). In situ biomonitoring of freshwater quality using the New Zealand mudsnail *Potamopyrgus antipodarum* (Gray) exposed to waste water treatment plant (WWTP) effluent discharges. *Water Research*, 44(15), 4517-4528.

GUST, M., BURONFOSSE, T., GIAMBERINI, L., RAMIL, M., MONS, R., GARRIC, J. (2009). Effects of fluoxetine on the reproduction of two prosobranch mollusks: *Potamopyrgus antipodarum* and *Valvata piscinalis*. *Environmental Pollution*, 157(2), 423-429.

HALLING-SØRENSEN, B.; NORS-NIELSEN, S.; LANZKY, P. F.; INGERSLEV, F.; HOLTEN-LUTZHOFT, H. C.; JØRGENSEN, S. E. Occurrence, fate

and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review. *Chemosphere* 36 2, pp. 357–393, 1998.

HAN, G. H.; HUR, H. G.; KIM, S. D. Ecotoxicological risk of pharmaceuticals from wastewater treatment plants in Korea: occurrence and toxicity to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* v.25 p. 265-271, 2006.

HANSEN, L. K.; FROST, P. C.; LARSON, J. H.; METCALFE, C. D. Poor elemental food quality reduces the toxicity of fluoxetine on *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* 86, 99–103, 2008.

HARTKLE, K.; MUTSLER, E. *Deutsches Arzneibuch DAB 10-Kommentar*, 10a ed, v. II e III, 3ed. Supplement, Deutscher Apotheker-Verlag, Stuttgart, 1993.

HAYES, T. B.; COLLINS, A.; LEE, M.; MENDOZA, M.; NORIEGA, N.; STUART, A. A.; VONK, A. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *PNAS* 99(8): 5476-5480, 2002.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data, *Toxicol. Lett.* 131, 5–17, 2002.

HECKMANN, L. H.; CALLAGHAN, A.; HOOPER, H. L.; CONNON, R.; HUTCHINSON, T. H.; MAUND, S. J.; SIBLY, R. M. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology Letters* 172, 137–145, 2007.

HIEMKE, C.; HEARTTER, S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. *Pharmacology and Therapeutics* 85 11–28. Elsevier, 2000.

HIGNITE, C.; AZARNOFF, D.L. Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent, *Life Science*. 20, 337–341, 1977.

HOLM, J.V.; RUGGE, K.; BJERG, P.L.; CHRISTENSEN, T. H. Occurrence and distribution of pharmaceutical organic-compounds in the groundwater down gradient of a landfill (Grindsted, Denmark). *Environ. Sci. Technol.* 29 (5), 1415–1420, 1995.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z.; Advanced chemical oxidation: Its present role and potential future in hazardous waste treatment. *Revista Waste Management*, v. 13, n 5-7, p. 361-377, 1993.

Informações sobre fluoxetina, bula do PROZAC, disponível em: <http://www.medicinanet.com.br/bula/4347/prozac_fluoxetina.htm>, acesso em 5 de janeiro de 2015.

Informações sobre fluoxetina, características físico químicas, disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/fluoxetine#section=Top>> , acesso em 5 de janeiro de 2015.

JOHNSON, D. J.; SANDERSON, H.; BRAIN, R. A.; WILSON, C. J.; SOLOMON, K. R. Toxicity and hazard of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants fluoxetine, fluvoxamine, and sertraline to algae. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67, 128–139, 2007.

KAR, S.; ROY, K. First report on interspecies quantitative correlation of ecotoxicity of pharmaceuticals. *Chemosphere* 81, 738–747, 2010.

KASPRZY-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Research*, Elsevier 42, 3498-3518, 2008.

KATSUMATA, C. P. Degradação de fármacos em meio aquoso por meio de fotólise e peroxidação foto assistida. USP, São Paulo, 166p., 2014.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. FATMA, Florianópolis, 288 p., 2004.

KOLPIN D. W.; SKOPEC, M.; MEYER, M. T.; FURLONG, E.T.; ZAUGG, S. D. Urban contribution of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants to stream during differing flow conditions. *Science of Total Environmental*. 32, 119-130, 2004.

KOLPIN, D.W.; FURLOG, E.T.; MYER, M.T.; THURMAN E.M.; ZAUGG, S.D.; BARBER, L.B.; BUXTON, H.T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environmental Science Technology*. V. 36, 0.1202-1211, 2002.

KUMAR, A.; XAGORARAKI, I. Pharmaceuticals, personal care products and endocrinedisrupting chemicals in U.S. surface and finished drinking waters: A proposed ranking system. *Science of the Total Environment* 408, 5972–5989, 2010.

KUNS, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURAN, N.; Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Química Nova*, vol. 25, n. 1, p. 78-82, 2002.

LAIRD, B. D.; BRAIN, R. A.; JOHNSON, D. J.; WILSON, C. J.; SANDERSON, H.; SOLOMON, K. R. Toxicity and hazard of a mixture of SSRIs to zooplankton communities evaluated in aquatic microcosms. *Chemosphere* 69, 949–954, 2007.

LARSSON, D.G.J.; PEDRO, C.; PAXEUS, N. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. *J. Hazard. Mater.* 148, 751–755, 2007.

LEE, Y. J.; LEE, S. E.; LEE, D. S.; KIM Y. H. Risk Assessment of human antibiotics in Korean aquatic environment. Elsevier B. N., 2008.

LI, W.; NANABOINA, V.; ZHOUR, Q.; KORSHIN, G. V. Effects of Fenton treatment on the properties of effluent organic matter and their relationships with the degradation of pharmaceuticals and personal care products. *Water Research*, v. 46, n.2, p. 403-412, 2012.

LIMA, G. B.; ARAUJO, E. J. F.; SOUSA, K. M. H.; BENVIDO, R. F.; SILVA, W. C. S.; CORREA, R. A. C.; NUNES, L. C. C. Avaliação da utilização de medicamentos armazenados em domicílios por uma população atendida pelo PSF. *Revista brasileira de farmácia*. 89(2). p. 146-149. 2008

LIMA, Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos de águas naturais por clarificação associada à adsorção em carvão ativado em pó. 2013. 125f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2013.

LIN, A.Y.-C.; TSAI, Y. T. Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan's surface waters: impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities, *Sci. Total Environ.* 407 3793–3802, 2002.

LINDQVIST, N.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L.; Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters, *Water Res.* 39 2219–2228, 2005.

LISSEMORE, L.; HAO, C.; YANG, P.; SIBLEY, P. K.; MABURY, S.; SOLOMON, K. R. An exposure assessment for selected pharmaceuticals within a watershed in Southern Ontario. *Chemosphere* 64, 717–729, 2006.

MACLEOD, S.L; WONG, C.S. Loading, trends, comparisons, and fate of achiral and chiral pharmaceuticals in wastewaters from urban tertiary and rural aerated lagoon treatments. *Water Res.* v. 44, p. 533 – 544, 2010.

MADUREIRA, T. V., BARREIRO, J. C., ROCHA, M. J., ROCHA, E., CASS, Q. B., & TIRITAN, M. E. (2010). Spatiotemporal distribution of pharmaceuticals in the Douro River estuary (Portugal). *Science of the total environment*, 408(22), p. 5513-5520.

MALTA, TATIANA SIQUEIRA. Aplicação de lodos de estações de tratamento de esgotos na agricultura: estudo do caso do município de Rio das Ostras - RJ. [Mestrado] Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 2001. 68 p.

MARTINS, A. C. O. Processo oxidativo avançado UV/H₂O₂ na oxidação da cabamazepina: avaliação por ensaios respirométricos e exotoxicológicos. Tese de Mestrado. Universidade Estaduas de Campinas (UNICAMP). 102p. 2009.

MCCLELLAN, K.; HALDEN, R. U. Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey. *Water Research* 44, 658 – 668, 2010.

MELO, F. P. S. Avaliação da qualidade dos medicamento omeprazol e Fluoxetina manipulados em algumas farmácias magistrais de Belo Horizonte. Tese de Mestrado. Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear (CDTN). 96p. 2013.

METCALFE, C. D.; MIAO, X.-S.; KOENIG, B. G.; STRUGER, J.: Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower Great Lakes, Canada. *Environ Toxicol Chem* 22(12): 2881-2889, 2003.

METCALFE, C.D.; MIAO, X.S.; KOENIG, B.G.; STRUGER, J. Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower great lakes, Canada. *Environmental Toxicology and Chemistry*. v. 22, p. 2881 – 2889, 2003.

MOMPELAT, S., LE BOT, B., THOMAS, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment international*, 35(5), p. 803-814.

MORLEY, N. J. Environmental risk and toxicology of human and veterinary waste pharmaceutical exposure to wild aquatic host-parasite relationships. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 27, p. 161–175, 2009.

MORUZZI, R. B.; LIMA, V. B.; COLOMBO, R.; CONCEIÇÃO, F. T.; LANZA, M. R. V. Remoção do ácido mefenâmico em água utilizando carvão ativado em pó, lama vermelha e oxidação com cloro. *Quím. Nova*. 2014, vol.37, n.10 , p.1594-1599.

MOURA, J. I.; MOITA, G. C.; Determinação simultânea de olanzapina e cloridrato de fluoxetina em formulações farmacêutica por espectrofotometria derivativa. *Química Nova*, vol. 35, n. 3, p. 627-633, 2012.

NENTWIG, G.; Arzneimittel als Umweltrisiko? Ökotoxikologische Untersuchung und Risikobewertung für vier in der aquatischen Umwelt nachgewiesene Pharmaka. Universität in Frankfurt am Main. 186p. 2006.

NEUWOEHNER, J.; ZILBERMAN, T.; FENNER, K.; ESCHER, B. I. QSAR-analysis and mixture toxicity as diagnostic tools: Influence of degradation on the toxicity and mode of action of diuron in *algae* and *daphnids*. *Aquatic Toxicology* 97, 58–67. 2010.

NIH, National Institutes of Health, dados históricos, disponível em <<http://www.nih.gov/>> , acesso em 03/01/2016.

NIMH, National institutes of mentais Health, dados históricos e pesquisas, disponível em <<https://www.nimh.nih.gov/>>, acesso em 03/01/2016.

NYENJE, P.M.; FOPPEN, J.W.; UHLENBROOK, S.; KULABAKO, R.; MUWANGA, A. Eutrophication and nutrient release in urban areas of sub-Saharan Africa — A review. *Science of the Total Environment* 408, 447–455, 2010.

OAKS, J. L.; GILBERT, M.; VIRANI, M. Z.; WATSON, R. T.; METEYER, C. U.; RIDEOUT, B. A.; SHIVAPRASAD, H. L.; AHMED, S.; IQBAL CHAUDHRY, M. J.; ARSHAD, M.; MAHMOOD, S.; ALI, A.; AHMED KHAN, A.: Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature* 427(6975): 630-633, 2004.

OEHLMANN, J.; FIORONI, P.; STROBEN, E.; MARKERT, B. Tributyltin (TBT) effects on *Ocinebrina aciculata* (Gastropoda: Muricidae): imposex development, sterilization, sex change and population decline. *Sci Total Environ* 188(2-3): 205-223, 1996.

OETKEN, M.; NENTWIG, G.; LÖFFLER, D.; TERNES, T. A.; OEHLMANN, J. Effects of pharmaceuticals on aquatic invertebrates. Part I: the antiepileptic drug carbamazepine. *Arch Environ Cont Toxicol* 49: 353-361, 2005.

Official Journal of the European Communities (OJEC); Council Directive on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community (76/464/EEC), No L129/23.

OLIVEIRA, M.; DALBONI, M. A.; IIZUKA, J. I.; MANFREDI, S.R.; GUIMARAES, N. K.; ANDREOLI, M. C. C.; MATOS, A. C. C.; BATISTA, M. C.; CARDOSO, B. F. C. S.; NETO, M. C. Um novo método espectrofotométrico para detectar níveis residuais de peróxido após o reprocessamento de filtros de hemodiálise. *Einstein (São Paulo)* [online]. 2011, vol.9, n.1, pp.70-74.

OUELLET, M.; BONIN, J.; RODRIGUE, J.; DESGRANGES, J.; LAIR, S. Hindlimb deformities (ectromelia, ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *J Wildl Dis* 33(1): 95-104, 1997.

PASCOE D.; KARNTANUT W.; MULLER C. T. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere*. v.12 p. 521-528, 2003.

PEREIRA, K. A. A. Formulação de bases de Schiff na quitosana, na ausência de solventes, para remoção de fármacos. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Piauí. 112p. 2013.

PEREZ-MOYA, M.; GRAELLS, M.; CASTELLS, G.; AMIGO, J.; ORTEGA, E.; BUHUGAS, G.; PEREZ, L. M.; MANSILLA, D. Characterization of the degradation performance of the sulfamethazine antibiotic by photo-Fenton process. *Water Research*, v. 44, n. 8, p. 2533-2540, 2010.

PERY, A. R. R.; GUST, M.; VOLLAT, B.; MONS, R.; RAMIL, M.; FINK, G.; TERNES, T.; GARRIC, J. Fluoxetine effects assessment on the life cycle of aquatic invertebrates. *Chemosphere* 73, 300–304, 2008.

POSTIGO, C.; ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. Drugs of abuse and their metabolites in the Ebro River basin: Occurrence in sewage and surface water, sewage treatment plants removal efficiency, and collective drug usage estimation. *Environment International* 36, 75–84, 2010.

REDSHAW, C. H.; WOOTTON, V. G.; STEVEN J. ROWLAND, S. J. Uptake of the pharmaceutical Fluoxetine Hydrochloride from growth medium by Brassicaceae. *Phytochemistry* 69, 2510–2516, 2008.

RENOVATO, R. D. O uso de medicamentos no Brasil: uma revisão crítica. *Revista brasileira de farmácia*. 89 (1). 64-69. Campinas – SP. 2008

RICHARDSON, M. L.; BOWRON, J. M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *J Pharm Pharmacol* 37: p. 1-12, 1985.

ROBERTS, P.H.; THOMAS, K.V. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower. Tyne catchment, *Sci. Total Environ.* 356,143–153, 2006.

ROSSI, C.H. Remoção de micropoluentes na filtração lenta com pré-oxidação com radiação solar. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia (UNESP), 2010.

SANTOS, L. H. M. L. M.; ARAÚJO, A.N.; FACHINIA, A.; PENA, A.; DELERUEMATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials* 175, 45–95, 2010.

SCHNELL, S.; BOLS, N. C.; BARATA, C.; PORTEA, C. Single and combined toxicity of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) on the rainbow trout liver cell line RTL-W1. *Aquatic Toxicology* 93, 244–252, 2009.

SEVALHO, G. O medicamento percebido como objeto híbrido: uma visão crítica do uso racional. In: Acurcio, F.A. *Medicamentos e Assistência Farmacêutica*. Belo Horizonte: Editora COOPMED, p.1-8. 2003

SHEMER, H.; KUNUKCU, Y. K.; LINDEN, K. G.; Degradation of pharmaceutical metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. *Chemosphere*, v. 63, n. 2, p. 269-276, 2006.

SILVA, C. G. A. da, e COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. *Química Nova*, 34(4), 665-676. (2011).

SILVA, J. P., Uso do poli (tereftalato de etileno) no pós-tratamento de água para a remoção de fármacos residuais. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia (UNESP), p.92. 2013.

SILVA, N.C., Remoção de antibióticos da água por meio do processo de adsorção em carvão ativado. Tese de Mestrado, faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, p.97. 2012.

SILVA, V. H. O. Avaliação da toxicidade e da degradação do fármaco cloridrato de fluoxetina, em solução aquosa e em mistura com esgoto doméstico, empregando irradiação com feixe de elétrons. Tese de mestrado. Instituto de pesquisas energéticas e nucleares. 128p. 2014.

SOTOMAYOR, M. D. P. T.; DIAS, I. L. T.; LANZA, M. R. V.; MOREIRA, A. B.; KUBOTA, L. T. Aplicação e avanços da espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas. Química Nova. Sociedade Brasileira de Química, v. 31, n. 7, p. 1755-1774, 2008.

SOUZA, B. S., Avaliação do processo de H₂O₂/UV como pós tratamento e remoção da atrazina de um efluente secundário de ETE para fins de reuso. Tese de mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), 183p. 2011.

STANLEY, J. K.; RAMIREZ, A. J.; CHAMBLISS, C. K.; BROOKS, B. W. Enantiospecific sublethal effects of the antidepressant fluoxetine to a model aquatic vertebrate and invertebrate. Chemosphere 69, 9–16, 2007.

STROBEN, E.; OEHLMANN, J.; FIORONI, P. The morphological expression of imposex in *Hinia reticulata* (Gastropoda: Buccinidae): a potential indicator of tributulin pollution. Mar Biol (Historical Archive) 113(4): 625-636, 1992.

STUMPF, M.; TERNES, T.A.; WILKEN, R. D.; RODRIGUES, S.V.; BAUMANN, W. Polar drug residue in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil, Sci. Total Environ. 225, 135–141, 1999.

TERNES, T. A.; Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers, Water Res. 32, 3245–3260, 1998.

TERZIC, S.; SENTA, I.; AHEL, M.; GROS, M.; PETROVIĆ, M.; BARCELO, D.; MÜLLER, J.; KNEPPER, T.; MARTÍ, I.; VENTURA, F.; JOVANČIĆ, P.; JABUČAR, D. Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region. Science of the total environment 399, 66 – 77, 2008.

THIBAUT, R.; PORTE, C. Effects of fibrates, anti-inflammatory drugs and antidepressants in the fish hepatoma cell line PLHC-1: Cytotoxicity and interactions with cytochrome P450 1A. Toxicology in Vitro 22, 1128–1135, 2008.

TRIEBSKORN, R.; KÖHLER, H.-R.; KÖRTJE, K.-H.; NEGELE, R.-D.; RAHMANN, H.; BRAUNBECK, T. (B): Evaluation of bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO) neurotoxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). II. Ultrastructural diagnosis and tin localization by energy filtering transmission electron microscopy (EFTEM). Aquatic Toxicol 30: 199-213, 1994.

TROVO, A. G. Fotodegradação de fármacos por processos oxidativos avançados utilizando como fonte de irradiação artificial e solar: avaliação química e toxicológica. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista (UNESP). 202p. 2009.

UMWELT, H. L. F. (2004). GEOLOGIE (2001): Umweltatlas Hessen. CD, Stand.

VIEIRA, M. M., OHAYON, P. Inovação em fármacos e medicamentos: estado da arte no Brasil e políticas de P&D - Revista Economia e Gestão, 13 (1), p. 32-55. 2006.

WALTERS, E.; MCCLELLAN, K.; HALDEN, R. U. Occurrence and loss over three years of 72 pharmaceuticals and personal care products from biosolids/soil mixtures in outdoor mesocosms. *Water Research* 44, 6011 – 6020, 2010.

WOLFF, M. A. V., Avaliação ecotoxicológica do antidepressivo cloridrato de fluoxetina. Tese de mestrado, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 78pg., 2011.

ZUCCATO, E.; CASTIGLIONI, S.; FANELLI, R.; REITANO, G.; BAGNATI, R.; CHIABRANDO, C.; POMATI, F.; ROSSETTI, C.; CALAMARI, D.; Pharmaceuticals in the environment in Italy: causes, occurrence, effects and control, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 13 15–21. 2006.

ZWIENER, C.; GREMM, T.J.; FRIMMEL, F.H. Pharmaceutical residues in the aquatic environment and their significance for drinking water production, in: K.Kummerer (Ed.), *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*, Springer, Berlin, 81 – 89, 2001.