

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Instituto de Química

Campus Araraquara

MATHEUS GABRIEL GUARDIANO DOS SANTOS

Cinética de degradação de Azitromicina e Claritromicina presentes em efluentes domésticos por processo foto-Fenton em meio homogêneo e heterogêneo

Araraquara

2023

MATHEUS GABRIEL GUARDIANO DOS SANTOS

Cinética de degradação de Azitromicina e Claritromicina presentes em efluentes domésticos por processo foto-Fenton em meio homogêneo e heterogêneo

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Fernandes Pupo Nogueira

Araraquara

2023

S237c	Santos, Matheus Gabriel Guardiano dos Cinética de degradação de Azitromicina e Claritromicina presentes em efluentes domésticos por processo foto-Fenton em meio homogêneo e heterogêneo / Matheus Gabriel Guardiano dos Santos. -- Araraquara, 2023 113 f. : il. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara Orientadora: Raquel Fernandes Pupo Nogueira 1. Antibióticos. 2. Macrolídeos. 3. Tratamento efluente de águas residuais. 4. Complexos (Química). 5. Cromatografia líquida de alta eficiência. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA
DISSERTAÇÃO:

"Cinética de degradação de Azitromicina e Claritromicina presentes
em efluentes domésticos por processo foto-Fenton em meio
homogêneo e heterogêneo"

AUTOR: MATHEUS GABRIEL GUARDIANO DOS SANTOS

ORIENTADORA: RAQUEL FERNANDES PUPO NOGUEIRA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Química, pela
Comissão Examinadora:

 Documento assinado digitalmente
SUSANNE RATH
Data: 07/08/2023 11:22:02-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.^a, Dr.^a. SUSANNE RATH (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNICAMP - Campinas

Prof.^a Dr.^a CARLA SIRTORI (Participação Virtual)
Departamento de Química Inorgânica / Instituto de Química - UFRGS - Porto Alegre

Prof.^a Dr.^a JULIANA FERREIRA DE BRITO (Participação Virtual)
Departamento de Química Analítica, Físico-Química e Inorgânica / Instituto de Química - UNESP -
Araraquara

Araraquara, 04 de agosto de 2023

Impacto potencial desta pesquisa

A presente pesquisa apresenta contribuições para entendimento do mecanismo de degradação e recalcitrância de antibióticos macrolídeos frente ao processo Fenton, um processo oxidativo avançado. Desta forma, relaciona-se com o ODS 6 (água potável e saneamento). Além disso, entender os efeitos dos macrolídeos no meio ambiente contribui com os ODS 14 (vida na água) e 7 (energia limpa e acessível), devido aos processos fotoquímicos naturais que ocorrem pela radiação solar.

Potential impact of this research

The present research presents contributions to the understanding of the degradation mechanism and recalcitrance of macrolide antibiotics to the Fenton process, an advanced oxidative process (AOP). In this way, it relates to SDG 6 (clean water and sanitation). In addition, understanding the effects of macrolides on the environment contributes to SDGs 14 (life below water) and 7 (affordable and clean energy), due to the natural photochemical processes that occur through solar radiation.

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Matheus Gabriel Guardiano dos Santos

Nome em citações bibliográficas: SANTOS, M. G. G.; GUARDIANO DOS SANTOS, M. G.; SANTOS, MATHEUS GABRIEL GUARDIANO DOS.

e-mail: matheus.guardiano@unesp.br

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

03/2021- Em andamento

Mestrado em Química (andamento)

Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP)

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Fernandes Pupo Nogueira

Bolsa: FAPESP (Processo nº 2021/06348-5)

10/2022-03/2023

Mestrado Sanduíche em Química

Università degli Studi di Torino (University of Turin, Italy).

Título do Projeto: Azithromycin and Clarithromycin degradation products generated in heterogeneous Fenton process using copper-containing magnetites and titanomagnetites as catalysts

Orientador: Prof. Dr. Davide Vittorio Vione

Bolsa: BEPE FAPESP (Processo nº 2022/07727-2)

03/2021-08/2022

Graduação em Licenciatura em Química

Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)

Trabalho de Conclusão de Curso: Semeando Cientistas: propostas de oficinas sobre Educação Ambiental e aplicação da metodologia STEM.

Orientadora: Profa. Dra. Milady Renata Apolinário da Silva

03/2017-12/2020

Graduação em Bacharelado em Química

Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI)

Trabalho de Conclusão de Curso: Aplicação do processo foto-Fenton solar para degradação de resíduos laboratoriais de determinação de dureza da água.

Orientadora: Profa. Dra. Milady Renata Apolinário da Silva

ATUAÇÃO PROFISSIONAL

10/2021-02/2022

Estágio docência realizado no IQ-UNESP/Araraquara na disciplina de Química Ambiental ofertada para os cursos de bacharelado em Química/Química Tecnológica sob a supervisão da Profa. Dra. Raquel Fernandes Pupo Nogueira.

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

1) SANTOS, MATHEUS GABRIEL GUARDIANO DOS; GIMENES, ROSSANO; SILVA, MILADY RENATA APOLINÁRIO DA. Construção de uma sequência didática sobre química dos solos usando a metodologia STEM: Análise das competências da BNCC e dos elementos da abordagem CTS. **RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT**, v. 10, p. e34110515024, 2021.

2) MORETTI, ANA CAROLINA LEITE; DOS SANTOS, MATHEUS GABRIEL GUARDIANO; SOARES, MELINA ESPANHOL; DE FREITAS, JOÃO VICTOR ROCHA; RIOS, LUCIANO; SILVA, FLAVIO SOARES; GIMENES, ROSSANO; KONDO, MÁRCIA MATIKO; DA SILVA, MILADY RENATA APOLINÁRIO. Degradation of Municipal Solid Waste Landfill Leachate Using Ferrites from Spent Batteries as Heterogeneous Solar Photo-Fenton Catalyst. **International Journal of Environmental Research**, v. 17, p. 33, 2023.

Livros e capítulos

1) SANTOS, M. G. G.; SILVA, M. R. A. QUÍMICA DOS SOLOS. In: Milady Renata Apolinário da Silva; Kévila Kelma Nascimento Silva dos Passos. (Org.). SEMEANDO CIENTISTAS: CIÊNCIA CRIATIVA EM SEQUÊNCIAS DIDÁTICAS BASEADAS NAS HABILIDADES E COMPETÊNCIAS DA BNCC. 1ed. Curitiba: CRV, 2022, v. 01, p. 97-109.

Trabalhos publicados em anais de eventos científicos

1) SANTOS, M. G. G.; SOUSA, F. B. Caracterização eletrônica e termodinâmica de compostos de coordenação de metais de transição. In: II Simpósio de Iniciação Científica UNIFEI, 2019,

Itajubá. **Anais do II Simpósio de Iniciação Científica UNIFEI campus Itajubá**, 2019. v. 2. p. 194-195.

2) SANTOS, M. G. G.; SILVA, I. A. D.; SILVA, M. R. A. O ensino de inglês como forma de empoderamento e de motivação para ingresso em carreiras de ciências e engenharia. In: 9º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária, 2021, Belo Horizonte. **Anais do 9º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária - Redes para Promover e Defender os Direitos Humanos**, 2021. v. 1. p. 1603-1604.

3) NOGUEIRA, R. F. P.; GUARDIANO DOS SANTOS, M. G. Clarithromycin degradation applying homogeneous and heterogeneous photo-Fenton process. In: 5th Iberoamerican Conference on Advanced Oxidation Technologies, 2022, Cuzco. **Book of Abstracts - V CIPOA**, 2022 v.1. p. 130-131.

Apresentações de trabalho e/ou palestras

1) SANTOS, M. G. G.; DE SOUSA, F. B. Caracterização eletrônica e estudo termodinâmico de compostos de coordenação de Níquel. **XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG**, 2018.

2) SANTOS, M. G. G.; DE SOUSA, F. B. Caracterização eletrônica e termodinâmica de compostos de coordenação de metais de transição. **II Simpósio de Iniciação Científica da UNIFEI campus Itajubá**, 2019.

3) SANTOS, M. G. G.; SILVA, M. R. A. Aplicação do processo foto-Fenton solar para degradação do complexo entre Cálcio e Negro de Eriocromo-T. **XXXIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG**, 2019.

4) SANTOS, M. G. G.; SILVA, I. A. D.; SILVA, M. R. A. O ensino de inglês como forma de empoderamento e de motivação para ingresso em carreiras de ciências e engenharia. **9º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária (9º CBEU)**, 2021.

5) SANTOS, M. G. G.; SILVA, M. R. A. Treatment of laboratory residue for determining water hardness using the solar photo-Fenton process. **4to. Congreso Colombiano de Procesos Avanzados de Oxidación**, 2021.

6) SANTOS, M. G. G. Compartilhamento de vivências e experiências na construção de um material didático para ensinar Química para o Ensino Médio. **Participação em Roda de Conversa com alunos de graduação em Licenciatura em Química da Universidade Federal de Itajubá como convidado**, 2022.

7) NOGUEIRA, R. F. P.; GUARDIANO DOS SANTOS, M. G. Clarithromycin degradation applying homogeneous and heterogeneous photo-Fenton process. **5th Iberoamerican Conference on Advanced Oxidation Technologies**, 2022.

PARTICIPAÇÃO EM BANCAS

1) SANTOS, M. G. G. Avaliador de trabalhos submetidos ao XXXIII Congresso de Iniciação Científica da Unesp - IQ/Araraquara, 2021. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

- 1) XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG. 2017 (organização).
- 2) XI Ciência em Cena: encontro de teatro e divulgação científica. A fantástica fábrica da química, 2017.
- 3) Bota pra Fazer, Centro de Empreendedorismo UNIFEI, 2017.
- 4) XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG. 2018.
- 5) XII Ciência em Cena: encontro de teatro e divulgação científica. Alice cientificamente comprovada, 2018.
- 6) XXXIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química - MG. 2019.
- 7) V Fim de Semana de Gestão e Liderança, 2019 (organização).
- 8) II Simpósio de Iniciação Científica da UNIFEI campus Itajubá, 2019.
- 9) 5ª Edição da Semana da Química UNIFEI, 2020 (organização).
- 10) 9º Congresso Brasileiro de Extensão Universitária, 2021.
- 11) 6ª Edição da Semana da Química UNIFEI, 2021.
- 12) 4to. Congreso Colombiano de Procesos Avanzados de Oxidación, 2021.

PRÊMIOS E MENÇÃO HONROSA

- 1) Menção Honrosa na 6ª OBMEP, Olimpíada Brasileira de Matemática das Escolas Públicas, 2010.
- 2) Medalhista de Prata na OBA (OBA), Olimpíada Brasileira de Astronomia e Astronáutica, 2010.
- 3) Menção Honrosa na 7ª OBMEP, Olimpíada Brasileira de Matemática das Escolas Públicas, 2011.
- 4) Menção Honrosa na 8ª OBMEP, Olimpíada Brasileira de Matemática das Escolas Públicas, 2012.
- 5) Láurea Acadêmica - Licenciatura em Química, Universidade Federal de Itajubá, 2022.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente aos meus pais, seu José e dona Maria. Vocês são minha maior fonte de inspiração, amor, carinho e apoio durante toda minha vida: Sem vocês chorando minhas conquistas e me ajudando nas minhas crises, nada disso seria possível.

À minha orientadora Profa. Raquel por todo suporte ao longe desses dois anos e meio, por acreditar em mim desde o começo e me acolher tão bem em Araraquara. Não consigo expressar em palavras o tanto que aprendi e mudei nesse tempo, muito menos serei capaz de um dia agradecer por me incentivar viver um dos meus maiores sonhos, um intercâmbio de pesquisa. Obrigado por tanto!

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2021/06348-5 e 2022/07727-2) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 230504/2021-1) pelo financiamento da minha pesquisa por meio de bolsas de estudos. À CAPES pelo financiamento da ciência no Brasil como um todo.

Aos meus amigos do LAPOA: Thais, Jany, Sayna, Karla e David. Obrigado por todos os cafés, almoços e sorvetes pós almoço juntos. Sentirei falta de vocês no meu dia a dia.

Aos meus amigos de graduação e ensino médio que ainda estão presentes na minha vida após tantos anos. Vocês são o verdadeiro significado de para sempre. Um abraço especial para a Mandinha, a qual compartilha comigo as dores e as alegrias do dia a dia.

A todos os amigos que fiz durante esse tempo em Araraquara, os quais me apoiaram e me ajudaram desde o começo. Sou grato por ter vocês em minha vida. Agradecimento em especial para a Isabella, Julia, Lucinha, Pere, Luiza, Micuwin, Coral, Sete, Deboche, Marina, Lucas e Bombs... Torço muito por vocês.

Ao Prof. Davide Vione e ao Dr. Luca Carena por todo suporte durante meu período na Universidade de Turim. Obrigado por sempre me ajudarem a conseguir o que eu precisava.

Ao GFQM-IQ pelas medidas de difração de raios x.

A todos professores que me ajudaram no decorrer de todas as disciplinas e a todos os técnicos do IQ que me ajudaram com as caracterizações dos meus catalisadores.

Ao Instituto de Química e a Universidade de Turim, minhas casas durante esse período.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente tiveram uma contribuição na minha formação e/ou me apoiaram durante esses anos. Muito obrigado! Sentirei saudades.

RESUMO

A presença de antibióticos em efluentes provenientes de estações de tratamento de esgotos (ETE) após processo convencional tem recebido grande atenção atualmente devido à constatação dos problemas que esses contaminantes podem causar tanto ao ambiente quanto à saúde humana, como a resistência bacteriana. O presente trabalho estudou a cinética de degradação de dois antibióticos macrolídeos, a azitromicina (AZT) e a claritromicina (CLA), por processo Fenton em meio homogêneo e heterogêneo e comparou-a com a degradação do sulfametoxazol (SMX), pertencente à classe das sulfonamidas. Desenvolveu-se e validou-se métodos analíticos para separação e quantificação simultânea dos macrolídeos, isoladamente do método de quantificação do SMX. A formação de complexos de ferro e cobre com os macrolídeos e a influência da complexação no ciclo redox Fe(II)/Fe(III) e Cu(I)/Cu(II) foi avaliada utilizando a espectrofotometria. A degradação dos fármacos foi realizada em água ultrapura e efluente da ETE contendo 1% de acetonitrila devido à baixa solubilidade dos macrolídeos. A concentração dos fármacos foi monitorada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), assim como seus produtos de transformação foram identificados por meio do acoplamento da HPLC com um espectrômetro de massas. Para degradação no processo heterogêneo, foram preparados catalisadores à base de óxido de cobre e ferro. Verificou-se a formação dos complexos de ferro e cobre com os macrolídeos, porém com um efeito redutor dos macrolídeos sobre o Cu(II), gerando complexos de Cu(I) em solução. Embora os complexos de macrolídeos com Fe e Cu influenciem o ciclo redox, apenas os complexos de cobre apresentaram comportamento recalcitrante ao processo foto-Fenton homogêneo. Dentre os catalisadores utilizados no processo heterogêneo, observou-se que o aumento do teor de cobre durante a síntese contribuiu para a maior área específica de CAT1 do que de CAT2, resultando em uma maior atividade de CAT1. A variação do pH afetou a degradação dos macrolídeos, assim como a variação da concentração de H₂O₂ inicial. Melhores resultados de aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo foram obtidos usando 0,125 g L⁻¹ de CAT1, 15 mmol L⁻¹ de H₂O₂ em pH 5,4. Nos processos em meio homogêneo e heterogêneo, a constante de degradação de SMX foi superior à dos macrolídeos, indicando uma maior recalcitrância dos macrolídeos. Experimentos realizados em efluente de ETE evidenciaram que a matriz não influenciou a degradação de AZT e CLA, porém afetou a degradação do SMX. A matriz interferiu na degradação do SMX por ela ocorrer por combinação dos mecanismos de adição eletrofílica com abstração do átomo de hidrogênio e transferência eletrônica, enquanto os macrolídeos foram menos afetados pela degradação ocorrer por transferência eletrônica apenas. A identificação de produtos de transformação revelou a formação de produtos hidroxilados para os macrolídeos. Experimentos realizados na presença de sequestrantes de radicais hidroxila evidenciaram a importância do [•]OH na degradação dos macrolídeos, enquanto a degradação do SMX não foi totalmente inibida por não depender apenas do [•]OH, mas sim de outros radicais como o HO₂[•], O₂^{•-} e ¹O₂. Os resultados obtidos contribuem para o entendimento do mecanismo de degradação e recalcitrância dos macrolídeos ao processo Fenton.

Palavras-chave: Antibióticos, Macrolídeos, Tratamento efluente de águas residuais, Complexos (Química), Cromatografia líquida de alta eficiência.

ABSTRACT

The presence of antibiotics in effluents from wastewater treatment plants (WWTP) after a conventional process has received great attention due to problems that these contaminants can cause both to the environment and to human health, such as bacterial resistance. The present work studied the degradation kinetics of two macrolide antibiotics, azithromycin (AZT) and clarithromycin (CLA), by Fenton process in homogeneous and heterogeneous medium and compared it with sulfamethoxazole (SMX) degradation, belonging to sulfonamides class. Analytical methods were developed and validated for simultaneous separation and quantification of macrolides, separately from SMX quantification method. The formation of iron and copper complexes with macrolides and the complexation influence on the Fe(II)/Fe(II) and Cu(I)/Cu(II) redox cycle was evaluated using spectrophotometry. Pharmaceuticals degradation was performed in ultrapure water and WWTP effluent containing 1% acetonitrile due to the low solubility of macrolides. Pharmaceuticals concentrations were monitored by high performance liquid chromatography (HPLC) and their transformation products were identified through the coupling of HPLC with a mass spectrometer. For heterogeneous process degradation, catalysts based on copper and iron oxide were used. The formation of iron and copper complexes with the macrolides was verified with reducing effect of the macrolides on Cu(II), generating Cu(I) complexes in solution. Although the complexes of macrolides with Fe and Cu influenced the redox cycle, only the copper complexes showed a recalcitrant behavior to the homogeneous photo-Fenton process. Among the catalysts used in the heterogeneous process, it was observed that the increase in copper content during the synthesis contributed to the surface area of CAT1 being greater than that of CAT2, resulting in a greater activity of CAT1. Variation in pH affected macrolide degradation, as well initial H₂O₂ concentration. The best results of heterogeneous photo-Fenton process application were obtained using 0.125 g L⁻¹ of CAT1, 15 mmol L⁻¹ of H₂O₂ at pH 5.4. In all processes (homogeneous and heterogeneous media) the degradation constant of SMX was higher than that of macrolides, indicating greater recalcitrance of AZT and CLA. Experiments carried out on the WWTP effluent showed that the matrix did not influence AZT and CLA degradation, however it affected SMX degradation. The matrix interfered with SMX degradation because it occurs by combining the mechanisms of electrophilic addition with abstraction of the hydrogen atom and electronic transfer, while the macrolides were less affected due to the degradation occurring by electronic transfer only. The transformation products identification revealed the formation of hydroxylated products for both macrolides. Experiments carried out in the presence of hydroxyl radical scavengers showed the importance of [•]OH in macrolides degradation. SMX degradation was not completely inhibited because it does not depend only on [•]OH, but also on other radicals such as HO₂[•], O₂^{•-} and ¹O₂. The obtained results contribute to the understanding of the degradation mechanism and the recalcitrance of macrolide antibiotics to the Fenton process.

Keywords: Antibiotics, Macrolides, Wastewater effluent treatment, Complexes (Chemistry), High performance liquid chromatography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Número de publicações das pesquisas realizadas nas bases de dados “Web of Science”, “Science Direct” e “Scopus” no período de 1945 a 2021. Palavras-chave: Fenton AND wastewater AND antibiotic (1); e o refinamento dos resultados anteriores com sulfamethoxazole (2) OR clarithromycin (3) OR azithromycin (4), apresentando os resultados com: a) Escala original; b) Ampliação da escala para observação de (3) e (4).	20
Figura 2: Estrutura química do Sulfametoxazol.....	24
Figura 3: Estrutura química da molécula de a) azitromicina; b) claritromicina. Diferenças estruturais estão indicadas pelas cores similares.....	26
Figura 4: Reações envolvidas no método de quantificação de peróxido de hidrogênio residual utilizado durante o Estágio Pesquisa na Itália. E = peroxidase.....	39
Figura 5: Cromatogramas de CLA nas concentrações de a) 10 mg L ⁻¹ ; b) 5 mg L ⁻¹ . Condições: Coluna REZEX ROA Organic Acid; modo isocrático ACN/tampão fosfato monobásico 0,02 mol L ⁻¹ pH 7,5 (80:20 v/v); Temperatura de 50 °C; λ = 205 nm e vazão = 1,2 mL min ⁻¹	42
Figura 6: Cromatogramas de AZT em diferentes concentrações obtidos após derivatização com FMOC-Cl. Condições: coluna LUNA C ₁₈ 250 mm; modo isocrático metanol/tampão fosfato 0,02 mol L ⁻¹ ; pH 7 (70:30 v/v); 50 °C; vazão = 1,0 mL min ⁻¹ . Preto = AZT 10 mg L ⁻¹ ; Rosa = AZT 1 mg L ⁻¹ ; Azul = AZT 0,3 mg L ⁻¹ ; Marrom = FMOC-Cl. Detecção por fluorescência nos comprimentos de onda de 265 nm (excitação) e 315 nm (emissão), V _{injeção} = 40 µL.....	43
Figura 7: Cromatogramas de AZT e CLA nas concentrações de 50 mg L ⁻¹ . Condições: coluna LUNA C ₁₈ 150 mm; modo isocrático ACN/tampão fosfato monobásico 0,02 mol L ⁻¹ pH 7,5 (80:20 v/v); 50 °C; vazão = 0,5 mL min ⁻¹ . Detecção em 205 nm e V _{injeção} = 40 µL...44	44
Figura 8: Espectros de absorção na região do UV-Vis de a) CLA e b) AZT na presença de diferentes concentrações de [Fe ²⁺] = 0 a 3 mmol L ⁻¹ , 25% acetonitrila/75% água destilada, pH = 2,5.....	52
Figura 9: Dependência da absorbância em 360 nm com a razão molar metal/ligante para o complexo de Ferro (II) com a) CLA e b) AZT.	53
Figura 10: Espectros de absorção na região do UV-Vis de a) CLA e b) AZT na presença de cobre(II) . [Cu(II)] = 0 to 3 mmol L ⁻¹ , 25% acetonitrila/75% água destilada, pH = 2,5...54	54

Figura 11: Dependência da absorbância em 250 nm com a razão molar metal/ligante para o complexo de Cobre (II) com a) CLA e b) AZT	55
Figura 12: Estrutura química das moléculas de a) CLA; b) AZT e pontos de coordenação. .	56
Figura 13: Espectros de absorção na região do UV-Vis para os complexos formados entre a) CLA e b) AZT com ferro(III). $[\text{Fe(III)}] = 0 \text{ to } 3 \text{ mmol L}^{-1}$, 25% acetonitrila/75% água destilada, $\text{pH} = 2,5$	57
Figura 14: Geração de a) Fe(II) e b) Cu(I) nos primeiros minutos do processo foto-Fenton sob lâmpada de luz negra. $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{Fe(III)}] = [\text{FeOx}] = [\text{Cu(II)}] = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,5$	58
Figura 15: Difrátogramas de raios-X obtidos para a magnetita sintetizada, CAT1 e CAT2 comparados com o difratogramas padrão da magnetita comercial e dos óxidos de cobre ou ferro e cobre.	61
Figura 16: Imagens de microscopia eletrônica de varredura para a) MAG-S, b) CAT1, c) CAT2 e d) MAG-C.	63
Figura 17: Estabilidade da azitromicina (laranja) e claritromicina (azul) em diferentes valores de pH. $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 10 \text{ mg L}^{-1}$	64
Figura 18: Degradação de a) AZT e b) CLA por processo foto-Fenton heterogêneo e c) consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, $\text{pH} = 6,5$	65
Figura 19: Degradação de a) AZT e b) CLA aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo e c) Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, $\text{pH} = 5,4$	67
Figura 20: Efeito da concentração de H_2O_2 na degradação de a) AZT e b) CLA; c) consumo de H_2O_2 em razão C/C_0 (símbolos fechados) e em mmol L^{-1} (símbolos abertos). $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, $\text{pH} = 5,4$	69
Figura 21: a) Degradação de AZT, CLA e SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo e b) Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = [\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$ e $\text{pH} = 5,4$	71
Figura 22: Efeito da concentração de acetonitrila na degradação do SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo com CAT1. $[\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $\text{pH} = 5,4$	72

Figura 23: a-c) Degradação de AZT e CLA e consumo de H_2O_2 utilizando $0,125 \text{ g L}^{-1}$ de CAT2 e 15 mmol L^{-1} de H_2O_2 ; d-f) efeito da concentração de H_2O_2 na degradação de AZT e CLA utilizando $0,125 \text{ g L}^{-1}$ de CAT2; g-i) efeito da concentração de CAT2 na degradação de AZT e CLA utilizando 15 mmol L^{-1} de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, pH 5.4.....	73
Figura 24: a) Degradação de AZT, CLA e SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo e b) Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = [\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT2}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$ e pH = 5,4.	74
Figura 25: Efeito da concentração de acetonitrila na degradação do SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo com CAT2. $[\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT2}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$ e pH = 5,4.....	75
Figura 26: a) Degradação de CLA, AZT e SMX pelo processo foto-Fenton homogêneo; b) Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = [\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{Fe(II)}] = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, pH = 2,5.....	76
Figura 27: Efeito da concentração de acetonitrila na degradação do SMX aplicando o processo foto-Fenton homogêneo. $[\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{Fe(II)}] = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$, pH = 2,5.	78
Figura 28: a) Degradação de CLA, AZT e SMX pelo processo foto-Fenton homogêneo; b) Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = [\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{Fe(II)}] = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$, pH = 2,5. $[\% \text{ACN (v/v)}] = 1$ para AZT e CLA e 0 para SMX.....	79
Figura 29: Degradação de a) AZT; b) CLA e c) SMX por fotólise em efluente (-■-) e pelo processo foto-Fenton heterogêneo em água (-●-) e efluente doméstico (-▲-); d) Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = [\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$; pH = 8.	80
Figura 30: Evolução dos produtos de transformação em a) água e b) efluente durante aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo e comparação com evolução das áreas de AZT e CLA. $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = [\text{SMX}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, pH = 8, t_R = tempo de retenção.	83
Figura 31: Espectro de massas da Azitromicina.	84
Figura 32: Cromatogramas obtidos para a AZT antes e após aplicação do processo foto-Fenton homogêneo usando os detectores a-b) DAD $\lambda = 230 \text{ nm}$ e c-d) ESI/MS (base peak). $[\text{AZT}] = 6,6 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{Fe(II)}] = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 0,5\% \text{ (v/v)}$, pH = 2,5. Amostragem em 30 min.	85

Figura 33: Proposta de produtos de degradação identificados para a AZT aplicando o processo foto-Fenton homogêneo. [AZT] = 6,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [Fe(II)] = 0,2 mmol L^{-1} , [H ₂ O ₂] = 2 mmol L^{-1} , [ACN] = 0,5% (v/v), pH = 2,5.....	87
Figura 34: Proposta de produtos de degradação identificados para a AZT aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo. [AZT] = 6,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [CAT1] = 0,125 g L^{-1} , [H ₂ O ₂] = 15 mmol L^{-1} , [ACN] = 0,5% (v/v), pH = 5,4.....	88
Figura 35: Espectro de massas da claritromicina.	89
Figura 36: Cromatogramas obtidos para a CLA antes e após aplicação do processo foto-Fenton homogêneo usando os detectores a-b) UV/DAD $\lambda = 230 \text{ nm}$ e c-d) ESI/MS (base peak). [CLA] = 6,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [Fe(II)] = 0,2 mmol L^{-1} , [H ₂ O ₂] = 2 mmol L^{-1} , [ACN] = 0,5% (v/v), pH = 2,5. Amostragem em 30 min.	90
Figura 37: Proposta de produtos de degradação identificados para a CLA aplicando o processo foto-Fenton homogêneo. [CLA] = 6,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [Fe(II)] = 0,2 mmol L^{-1} , [H ₂ O ₂] = 2 mmol L^{-1} , [ACN] = 0,5% (v/v), pH = 2,5.....	91
Figura 38: Efeito de diferentes sequestrantes de radicais hidroxila na degradação da a) AZT; b) CLA e c) SMX; d) consumo de H ₂ O ₂ . [CLA] = [AZT] = [SMX] = 6,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$; [CAT1] = 0,125 g L^{-1} ; [H ₂ O ₂] = 15 mmol L^{-1} ; [ACN] = 1% (v/v); pH = 8; [sequestrantes] = 100 mmol L^{-1}	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fórmula molecular e propriedades físico-químicas da AZT e CLA.	27
Tabela 2: Reagentes utilizados no Brasil e Itália.....	33
Tabela 3: Condições cromatográficas avaliadas para determinação do método analítico.....	41
Tabela 4: ANOVA para ajuste do modelo de regressão linear para quantificação dos antibióticos. (dados obtidos no Brasil).....	46
Tabela 5: Parâmetros da curva analítica e limites de detecção e quantificação dos fármacos por HPLC/UV em água.	47
Tabela 6: Parâmetros da curva analítica e limites de detecção e quantificação dos fármacos por HPLC/DAD em água na Itália.	48
Tabela 7: ANOVA para ajuste do modelo de regressão linear para quantificação dos antibióticos (dados obtidos na Itália).	49
Tabela 8: Parâmetros de regressão das curvas analíticas (AZT, CLA e SMX inferior) gerados para cada coeficiente de ponderação (W_i) e a soma dos respectivos erros relativos ($\sum \%ER$) para os dados dos ensaios.....	51
Tabela 9: Área superficial específica, porosidade e composição química dos catalisadores sintetizados e da magnetita comercial.....	62
Tabela 10: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos dos fármacos aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo usando CAT1 em pH 6,5.	66
Tabela 11: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos dos fármacos aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo usando CAT1 em pH 5,4.	68
Tabela 12: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos do SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo com CAT2 em pH 5,4 na presença e ausência de ACN no meio.	76
Tabela 13: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos para os fármacos aplicando o processo foto-Fenton homogêneo usando Fe(II) como catalisador em pH 2,5.....	77
Tabela 14: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos dos fármacos aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo (usando CAT1) em efluente da ETE de Araraquara e água (pH ajustado para 8).	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AZT	Azitromicina
CLA	Claritromicina
SMX	Sulfametoxazol
LC-MS/MS	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas
ETE	Estações de tratamento de esgotos
ERI	Eritromicina
ROX	Roxitromicina
log K _{ow}	Coefficiente de partição octanol água
POA	Processos oxidativos avançados
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
UV-Vis	Região do ultravioleta-visível
CAT1	Catalisador 1
CAT2	Catalisador 2
DRX	Difração de raios-X
ED-FRX	Espectrômetro de fluorescência de raios-X de energia dispersiva
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
COT	Carbono orgânico total
CT	Carbono Total
CI	Carbono inorgânico
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
ESI	Ionização por eletrospray
ACN	Acetonitrila
MeOH	Metanol
FMOC-Cl	Cloroformiato de 9-fluorenilmetila
t _R	Tempo de retenção
ANOVA	Análise de variância
LQ	Limite de quantificação
LD	Limite de detecção
FeOx	Ferrioxalato de potássio
MAG-S	Magnetita sintetizada
MAG-C	Magnetita comercial

Sumário

1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	22
2.1 Objetivos Específicos	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1. Antibióticos no Brasil e no mundo	23
3.2. Os antibióticos macrolídeos	25
3.3. O processo Fenton em meio homogêneo e heterogêneo	30
4. PARTE EXPERIMENTAL	33
4.1. Reagentes utilizados	33
4.2. Preparo das soluções padrões, testes de solubilidade e coleta dos efluentes	34
4.3. Caracterização espectrofotométrica dos macrolídeos	35
4.4. Síntese dos catalisadores	36
4.5. Aplicação do processo foto-Fenton homogêneo e heterogêneo	36
4.6. Caracterizações	37
4.6.1. Difração de Raios-X	37
4.6.2. Isotermas de adsorção e dessorção de N ₂	37
4.6.3. Fluorescência de Raios-X (ED-FRX)	37
4.6.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	37
4.7. Análises Químicas	38
4.7.1. Carbono Orgânico Total (COT)	38
4.7.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	38
4.7.3. Determinação de H ₂ O ₂ residual, cobre e ferro	38
4.7.4. Determinação dos produtos de degradação utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a espectrômetro de massas	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1. Desenvolvimento e validação dos métodos analíticos utilizados	41
5.1.1. Quantificação de AZT, CLA e SMX no Brasil	41
5.1.2. Quantificação de AZT, CLA e SMX na Itália	47
5.2. Caracterização espectrofotométrica dos complexos de macrolídeos com ferro e cobre	52
5.3. Influência da complexação com macrolídeos nos processos redox de ferro e cobre na presença de H₂O₂	58

5.4. Caracterização dos catalisadores sintetizados	60
5.5. Degradação dos macrolídeos por processo foto-Fenton heterogêneo	63
5.5.1. Utilização de CAT1 como catalisador	64
5.5.2. Utilização de CAT2 como catalisador	72
5.6. Degradação de AZT, CLA e SMX por processo foto-Fenton homogêneo.....	76
5.7. Degradação de AZT, CLA e SMX em efluente doméstico	80
5.8. Produtos de degradação da Azitromicina em água	84
5.9. Produtos de degradação da Claritromicina em água	89
5.10. Radicais envolvidos na degradação.....	91
6. CONCLUSÕES.....	94
7. PERSPECTIVAS.....	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
ANEXO 1.....	107
ANEXO 2.....	108

1. INTRODUÇÃO

Muita atenção é dada à contaminação do meio ambiente por contaminantes emergentes e seus efeitos, assim como o impacto à saúde humana. Nessa problemática, os antibióticos são contaminantes emergentes muito estudados, tanto quanto à ocorrência como à degradação por diferentes processos, por ocasionarem o desenvolvimento da resistência bacteriana e genes resistentes, gerando um problema de saúde pública grave.

Dentre as diversas classes de antibióticos, uma classe muito utilizada no combate de diversas infecções é a dos macrolídeos, os quais apresentam-se como lactonas cíclicas de 14 a 16 membros no anel ligadas a açúcares, apresentando alta massa molecular e baixa solubilidade em água. Exemplos de antibióticos macrolídeos são a azitromicina (AZT) e a claritromicina (CLA).

Devido à baixa solubilidade em água e alta bioacumulação, os macrolídeos são contaminantes preocupantes do meio ambiente. Entretanto, devido à estrutura química complexa, a baixa absorção na região do UV-Vis e as dificuldades analíticas associadas na análise desses antibióticos, mesmo por técnicas analíticas de cromatografia, estudos sobre o comportamento no ambiente e processos de degradação desses antibióticos são escassos em comparação a outras classes de antibióticos.

Dentre os diferentes processos que podem ser aplicados para remoção dos macrolídeos, como os de oxidação, redução ou adsorção, pouco se estudou sobre a aplicação do processo foto-Fenton (um processo oxidativo avançado) à degradação dessa classe de antibióticos. O processo foto-Fenton apresenta condições operacionais de temperatura e pressão ambiente, apresentando vantagens em comparação a outros processos que requerem materiais ou condições muito específicas. Além disso, o processo foto-Fenton é apresentado na literatura como uma alternativa para a degradação de antibióticos pertencentes a diferentes classes.

Um levantamento realizado na literatura no ano de 2021 (Figura 1) apresenta o número de publicações em três bases de dados diferentes no período de 1945 a 2021. Os artigos que aparecem quando se refinam os resultados por AZT e CLA referem-se a artigos de revisão ou artigos que fazem levantamento de dados sobre a presença de antibióticos em efluentes domésticos, apresentando poucos resultados sobre a utilização do processo Fenton para degradação dessas moléculas. Quando se observa os resultados para o Sulfametoxazol (SMX), um antibiótico muito estudado pertencente à classe das sulfonamidas, o número de publicações é bem mais expressivo devido à sua alta prescrição e estrutura química mais simples.

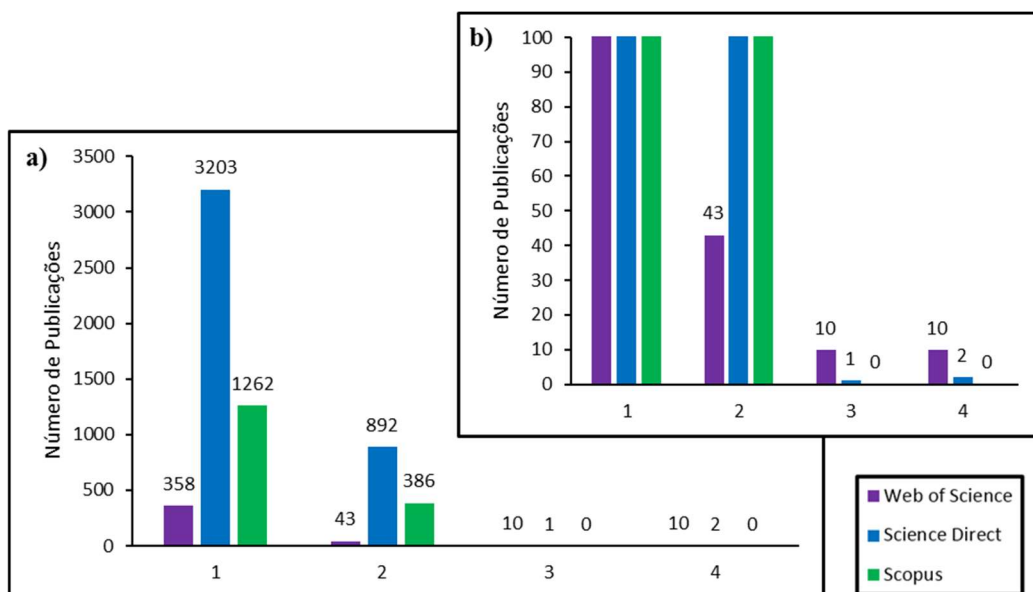


Figura 1: Número de publicações das pesquisas realizadas nas bases de dados “*Web of Science*”, “*Science Direct*” e “*Scopus*” no período de 1945 a 2021. Palavras-chave: Fenton AND wastewater AND antibiotic (1); e o refinamento dos resultados anteriores com *sulfamethoxazole* (2) OR *clarithromycin* (3) OR *azithromycin* (4), apresentando os resultados com: **a)** Escala original; **b)** Ampliação da escala para observação de (3) e (4).

Nos últimos dois anos, durante a realização da pesquisa, o número de dados sobre a degradação de macrolídeos cresceu em comparação ao levantamento realizado em 2021, porém ainda são necessários muitos estudos para compreender o comportamento desses fármacos e sua recalcitrância a diferentes processos, como o foto-Fenton por exemplo. Além disso, os macrolídeos também receberam atenção especial nos últimos anos devido à prescrição de AZT no combate ao COVID-19.

Nessa conjuntura, o presente trabalho apresenta o desenvolvimento e validação de um método analítico para separação e quantificação de AZT e CLA, assim como a degradação desses fármacos por processo foto-Fenton em meio homogêneo (usando cobre ou ferro como catalisadores) e heterogêneo (usando óxidos de cobre e ferro como catalisadores). Ademais, também foram realizados alguns estudos que fomentam a discussão sobre a degradação desses fármacos, como a complexação da AZT e CLA com ferro e cobre e o efeito da formação de complexos na degradação por processo homogêneo.

Todos os resultados obtidos sobre a degradação dos macrolídeos foram comparados com a degradação do SMX, individualmente ou simultaneamente. Essa comparação foi realizada devido ao mecanismo de inibição de atividade bacteriana, estrutura química mais simples, menor massa molar e a alta densidade eletrônica do SMX em comparação aos macrolídeos, os

quais apresentam um diferente mecanismo de inibição, estruturas químicas complexas, altas massas moleculares e baixa densidade eletrônica.

Um estudo realizado na Itália verificou que os antibióticos que mais apresentam riscos para o meio ambiente e foram detectados ao longo do Rio Pó (norte da Itália) são a AZT, CLA e SMX (AL AUKIDY *et al.*, 2012). Esse estudo indica uma relevância na comparação da cinética de degradação desses três fármacos por diferentes processos e em diferentes matrizes, foco central da presente dissertação. Em outro estudo realizado na região da Lombardia (Itália), verificou-se que a maior prescrição de azitromicina para tratamento da COVID-19, assim como outros fármacos, ocasionou em um aumento da ocorrência da AZT nas ETE, principalmente nas que recebiam descarte de efluente hospitalar. Além disso, a AZT e outros fármacos foram apresentados como potenciais riscos para o ambiente, devido à suas toxicidades e possibilidade de indução de resistência bacteriana e viral (CAPPELLI *et al.*, 2022).

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho foi estudar a cinética de degradação dos antibióticos Azitromicina (AZT) e Claritromicina (CLA) presentes em efluentes domésticos aplicando o processo Fenton (homogêneo e heterogêneo).

2.1 Objetivos Específicos

- Estudar a cinética de degradação dos dois antibióticos da classe dos macrolídeos e comparar com um antibiótico de estrutura química mais simples – Sulfametoxazol (SMX);
- Estudar a influência da complexação dos macrolídeos com ferro e cobre na degradação por processo homogêneo;
- Avaliar a degradação dos antibióticos macrolídeos em amostras de efluentes domésticos;
- Identificar os principais produtos da degradação dos antibióticos macrolídeos pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (LC- MS/MS).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Antibióticos no Brasil e no mundo

Antibióticos são compostos usados para tratar doenças infecciosas (ZAINAB *et al.*, 2020). Neste século, o consumo global de antibióticos aumentou consideravelmente devido ao aumento da população mundial, da facilidade de acesso a medicamentos e ao aumento da demanda por proteína animal, processo que requer um maior uso de antibióticos com a finalidade de tratamentos veterinários e como promotores do crescimento (KOVALAKOVA *et al.*, 2020). Cabe ressaltar que o uso de antimicrobianos como promotores do crescimento é uma prática que vem sendo banida em diversos países, como os pertencentes à União Europeia.

Desde a sua descoberta no século XX, os antibióticos são cada vez mais utilizados e possibilitaram o desenvolvimento de muitos procedimentos na medicina moderna (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019). Nesse cenário, a taxa global de consumo de antibióticos cresceu 39% entre 2000 e 2015, sendo os maiores usuários países de alta renda (como os EUA) e, principalmente, países emergentes pertencentes ao grupo denominado BRICS (Brasil, Rússia, Índia, China e África do Sul), os quais foram responsáveis por 75% desse aumento (KOVALAKOVA *et al.*, 2020). De acordo com o relatório da Organização Mundial da Saúde sobre vigilância do consumo de antibióticos (WHO), em 2016 o Brasil foi o maior consumidor de antibióticos do mundo (2225 toneladas por ano) (WHO, 2018).

Dentre todas as classes de antibióticos, as penicilinas são as mais utilizadas no mundo, totalizando 53% dos antibióticos utilizados no Brasil em 2016, 37% dos utilizados na Europa em 2015 e 40% dentre os utilizados na África em 2015. A segunda classe de antibióticos mais utilizados no Brasil e na Europa (15%) são pertencentes à classe dos macrolídeos, lincosamidas e estreptograminas, enquanto na África a segunda classe mais utilizada são antibióticos da classe das sulfonamidas e trimetoprimas. No Brasil, as quinolonas representam 12% e as sulfonamidas e trimetoprimas representam 6% de todo o consumo (WHO, 2018).

Devido ao sucesso da utilização de antibióticos na cura de infecções, estes passaram a ser utilizados em larga escala, porém sem técnicas analíticas disponíveis que permitissem a sua detecção em efluentes. Entretanto, a alta utilização dos antibióticos e o desenvolvimento de equipamentos analíticos modernos implicou na diminuição dos limites de detecção e permitiram que os antibióticos fossem detectados em níveis de concentração de ng L^{-1} , recebendo atenção especial como novos contaminantes no ambiente aquático (PATEL *et al.*, 2019).

Nesse contexto, muitos estudos foram desenvolvidos nos últimos anos visando a remoção e monitoramento desses contaminantes emergentes do ambiente. A principal fonte relatada desses contaminantes em águas provém das estações de tratamento de esgotos (ETE) devido à baixa eficiência dos tratamentos convencionais aplicados à remoção desses contaminantes (REIS *et al.*, 2019). No Brasil, o cenário é ainda mais grave que em países desenvolvidos considerando a carência dos serviços de tratamento de esgotos, tendo em vista que o percentual de esgotos tratados é igual a 51,2% em relação ao volume total gerado (IN046) e 80,8% em relação ao volume coletado (IN016) (SNIS, 2022). Outra fonte dos contaminantes emergentes provém dos efluentes hospitalares, os quais apresentam uma alta concentração de fármacos que varia de acordo com o uso hospitalar (KHAN *et al.*, 2020). Entretanto, no Brasil, os efluentes hospitalares são descartados na rede de esgotos para tratamento posterior nas ETE.

No Brasil, a presença de contaminantes emergentes em diferentes matrizes vem sendo atualizada na literatura (MARSON *et al.*, 2022), entretanto ainda não há uma legislação ambiental específica para esses contaminantes. Aproximando da realidade do estado de São Paulo, um estudo recente realizou o monitoramento da presença de contaminantes emergentes em água potável, superficial e subterrânea durante um período de 10 anos (MONTAGNER *et al.*, 2019). Foi detectada a presença de pesticidas, drogas ilícitas, hormônios, fármacos (como antibióticos) e produtos de cuidados pessoais.

Um antibiótico muito utilizado mundialmente e detectado em diferentes matrizes aquosas é o Sulfametoxazol (SMX), o qual é um antibiótico pertencente à classe das sulfonamidas que apresenta aromaticidade (Figura 2). O SMX é muito estudado devido à sua alta prescrição, ocorrência e estrutura química menos complexa em comparação a outros antibióticos. Além disso, o SMX apresenta alta solubilidade em água (610 mg L^{-1} a 37°C) e um mecanismo de inibição bacteriana dependente de sua estrutura química, ou seja, o SMX apresenta estrutura semelhante ao ácido p-aminobenzoico e atua impedindo a síntese do ácido fólico (necessário para o crescimento bacteriano) através da inibição da enzima di-hidropteroato sintetase (KIELHOFNER, 1990).

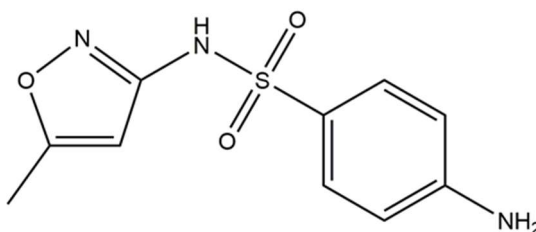


Figura 2: Estrutura química do Sulfametoxazol.

Estudos têm demonstrado que a contaminação de águas por antibióticos pode causar efeitos nocivos para micro-organismos como evolução da estrutura da comunidade bacteriana, alterações gênicas, anormalidade em proteínas e atividades enzimáticas, bem como anomalias animais como no crescimento de peixes, ratos e sapos (FELIS *et al.*, 2020). Dentre esses problemas, atenção especial é dada ao desenvolvimento de resistência bacteriana, um problema muito grave de saúde pública que demanda o desenvolvimento de antibióticos mais complexos devido à adaptação de bactérias no ambiente ocasionada pela presença desses contaminantes. Nesse contexto, infecções bacterianas resistentes a antibióticos resultam em maior mortalidade que infecções comuns, e estima-se que essas infecções possam causar 10 milhões de mortes anuais em todo o mundo em 2050, sendo que a estimativa anual atual é de 700 mil mortes (FELIS *et al.*, 2020; PATEL *et al.*, 2019).

A presença de antibióticos no ambiente ocasiona o desenvolvimento de genes resistentes, assunto que tem recebido maior atenção nos últimos anos devido o desenvolvimento de métodos em biologia molecular para detecção desses genes e a sua maior tolerância ao tratamento secundário realizado nas estações de tratamento de esgotos (ETE) (WANG *et al.*, 2020). Nesse sentido, estudos sobre a ocorrência de resistência bacteriana e genes resistentes no meio ambiente são importantes, assim como ações para prevenir ou minimizar estes problemas pela remoção desses contaminantes de diferentes matrizes.

3.2. Os antibióticos macrolídeos

Os antibióticos macrolídeos contêm uma lactona cíclica de 14, 15 ou 16 membros com açúcares (geralmente desosamina e cladinose) ligados, sendo utilizados na medicina veterinária e humana (KESKAR; JUGADE, 2015). Os macrolídeos são produzidos através da *Saccharopolyspora erythraea* (ou *Streptomyces erythreus*), uma bactéria gram-positiva que produz o macrolídeo eritromicina (ERI), sendo posteriormente modificado por derivatização originando os outros antibióticos desta classe (HU; HU, 2005).

Dessa forma, ERI é conhecida como macrolídeo de primeira geração e seus derivados, como azitromicina (AZT), claritromicina (CLA) e roxitromicina (ROX), são conhecidos como antibióticos macrolídeos de segunda geração. Além disso, também existem os macrolídeos de terceira geração que são conhecidos como cetolídeos, como a espiamicina, formados pela derivatização da ERI, porém com a substituição de um dos açúcares ligados ao anel macrolídeo por um grupo ceto (HU; HU, 2005; KESKAR; JUGADE, 2015; YU *et al.*, 2016).

Estruturalmente, os macrolídeos também são classificados quanto ao tamanho do anel macrolídeo, sendo a ERI, CLA e ROX antibióticos com anel de 14 membros enquanto a AZT apresenta 15 membros no anel macrolídeo. No presente trabalho estudou-se a AZT e CLA (Figura 3), macrolídeos de 2ª geração mais utilizados com diferentes tamanhos de anel, os quais são geralmente prescritos para tratar infecções do trato urinário (para pessoas alérgicas a penicilinas), trato respiratório superior e inferior, infecções de pele e ouvido ou mesmo infecções da boca, olhos e intestino (KESKAR; JUGADE, 2015).

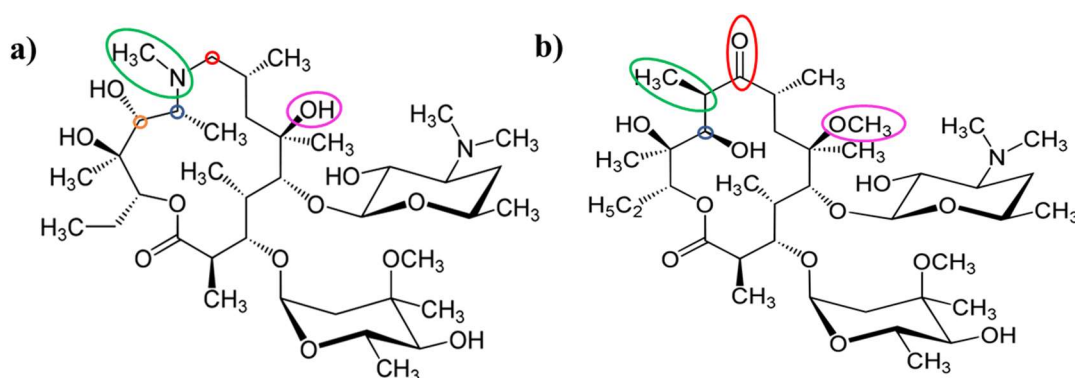


Figura 3: Estrutura química da molécula de **a)** azitromicina; **b)** claritromicina. Diferenças estruturais estão indicadas pelas cores similares.

Observa-se que a AZT apresenta 15 membros no anel macrolídeo após adição de um átomo de N ao anel (marcação em verde), enquanto a CLA apresenta 14 membros, porém apresenta um grupo cetona na estrutura (marcação em vermelho) que a AZT não possui. Além disso, a CLA apresenta um grupo metoxi enquanto a AZT tem na mesma posição um grupo hidroxí (marcação em rosa). Embora ambos macrolídeos apresentem diferentes estruturas químicas, suas massas moleculares são muito próximas assim como outras propriedades físico-químicas (Tabela 1).

Tabela 1: Fórmula molecular e propriedades físico-químicas da AZT e CLA.

	Azitromicina	Clarithromicina
Fórmula Molecular	C ₃₈ H ₇₂ N ₂ O ₁₂	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃
Massa Molar	749 g mol ⁻¹	748 g mol ⁻¹
Ponto de Fusão	113-115 °C	217-220 °C
Solubilidade em água	2,37 mg L ⁻¹ a 25°C	1,693 mg L ⁻¹ a 25°C
pK_a	8,5	8,99
log K_{ow}	4,02	3,16

Fonte: PubChem, 2023.

Ambos macrolídeos apresentam baixa solubilidade em água e alto valor de coeficiente de partição octanol/água (log K_{ow}), o que indica uma alta bioacumulação desses fármacos nos organismos aquáticos. Além disso, a AZT e CLA apresentam valores de pK_a altos, demonstrando que os macrolídeos são fármacos com comportamento de bases fortes. Os macrolídeos também são lipofílicos e uma porção deles são metabolizados no corpo humano, sendo excretados principalmente pelas fezes e podendo ser encontrados na forma parental.

A AZT e CLA, assim como os outros macrolídeos, atuam inibindo a translação entre o tRNA (RNA transportador) do sítio A (aminoacil) para o sítio P (peptidil) no ribossomo ao se ligarem ao receptor 23S do rRNA (RNA ribossomal), presente na subunidade 50S do ribossomo bacteriano. O sítio P contém a cadeia peptídica em crescimento e o sítio A é responsável por se ligar às moléculas de tRNA, destacando que os macrolídeos atuam inibindo a síntese proteica (BOLHUIS *et al.*, 2011; DOUTHWAITE; CHAMPNEY, 2001; PETERS; FRIEDEL; MCTAVISH, 1992). Esse mecanismo de ação é característico dessa classe de antibióticos tendo em vista que o SMX, antibiótico sulfonamida apresentado na seção anterior, atua impedindo a síntese do ácido fólico consequentemente dificultando o crescimento bacteriano (KIELHOFNER, 1990).

Quando presentes no ambiente aquático, os macrolídeos podem formar complexos com os metais de transição como cobre e ferro (SHER *et al.*, 1996; VIONE *et al.*, 2009). A formação desses complexos pode induzir a uma maior estabilidade à degradação por processos naturais, conforme observado em um estudo de fotólise que relatou 40 dias como tempo de meia vida do

complexo Fe(III)-CLA em experimentos realizados em amostras provenientes do rio Arc, sul da França (VIONE *et al.*, 2009).

A maior estabilidade dos macrolídeos no ambiente é preocupante tendo em vista que a AZT e CLA apresentam valores de concentrações inibitórias médias (CI_{50}) equivalentes a, respectivamente, $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,002 \text{ mg L}^{-1}$ em testes realizados utilizando algas verdes, indicando que esses compostos inibem e interferem no metabolismo do cloroplasto (como fotossíntese e síntese de proteínas), afetando o crescimento celular e perturbando todo ecossistema aquático devido ao papel importante das algas como produtores primários. Além disso, a AZT e a CLA também afetam outros organismos, como as diatomáceas, no caso da AZT que apresenta CI_{50} equivalente a $0,214 \text{ mg L}^{-1}$, e a microcrustáceos em testes realizados com *Daphnia magna*, sendo a CI_{50} da AZT equivalente a 120 mg L^{-1} e a EC_{50} (concentração efetiva) da CLA equivalente a $25,72 \text{ mg L}^{-1}$ (FELIS *et al.*, 2020).

Assim como outros antibióticos, a presença de AZT e CLA no meio ambiente já foi detectada. Em um estudo no qual se realizou o monitoramento da entrada e saída do efluente de uma ETE na Bratislava (capital da Eslováquia) verificou-se a entrada de altas concentrações de AZT e CLA ($1800 \pm 200 \text{ ng L}^{-1}$ e $2750 \pm 170 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente) e a saída de ambos os macrolídeos ainda em altas concentrações após tratamento secundário, em comparação com os outros fármacos investigados, sendo observadas concentrações de $919 \pm 140 \text{ ng L}^{-1}$ de AZT e $680 \pm 120 \text{ ng L}^{-1}$ de CLA após tratamento (MACKU'AK *et al.*, 2015).

No Brasil, poucos estudos verificaram a presença de AZT e CLA em águas superficiais, sendo relatado que a faixa de concentração em que foram encontrados os macrolídeos varia de $35,9$ a 158 ng L^{-1} para a AZT e de $39,2$ a 199 ng L^{-1} para a CLA (ARSAND *et al.*, 2020; MONTEIRO *et al.*, 2018; REIS *et al.*, 2019). Entretanto, esses estudos de ocorrência são anteriores ao cenário de pandemia causada pelo coronavírus, em que a AZT foi prescrita como parte do tratamento de COVID-19 no Brasil. Essa alta prescrição pode consequentemente ter aumentado a ocorrência de AZT em águas. Dados fornecidos por uma empresa farmacêutica para o nosso grupo de pesquisa sobre o consumo de antibióticos, indicam um aumento da prescrição da azitromicina entre 2016 e 2020, passando de 4327145 para 5412107 unidades prescritas, respectivamente, um aumento de 25% em 4 anos. Nesse cenário, alguns estudos de remoção de AZT e CLA foram publicados nos últimos anos aplicando diferentes processos de oxidação, redução ou adsorção.

A remoção de AZT já foi investigada aplicando processo sonoquímico utilizando óxido de zinco como catalisador (YAZDANI; SAYADI, 2018), adsorção (MEHRDOOST *et al.*, 2022), UV/H₂O₂ utilizando radiação solar simulada ou lâmpada de vapor de mercúrio (CANO *et al.*, 2020; SHOKRI *et al.*, 2020), UV/SO₄^{•-} (OSPINO-ATEHORTÚA; ZÚÑIGA-BENÍTEZ; PEÑUELA, 2021; SADEGHI *et al.*, 2018), fotocátalise heterogênea (ČIZMIĆ *et al.*, 2019; NARAGINTI *et al.*, 2019) e processo foto-Fenton heterogêneo utilizando um catalisador magnético com estrutura MnFe₂O₄ (QIN *et al.*, 2021).

Dentre esses estudos, cabe ressaltar a degradação por UV/H₂O₂, em que a degradação da AZT foi favorecida em valores de pH maiores, entre 6 e 9, em comparação a valores em meio mais ácido (CANO *et al.*, 2020). Além disso, cabe ressaltar que a degradação aplicando processo foto-Fenton heterogêneo atingiu 92,6% de remoção de AZT (concentração inicial de 100 µg L⁻¹) após 240 min de aplicação do processo em pH 3,0, porém com lixiviação de aproximadamente 5 mg L⁻¹ de Fe²⁺ do catalisador com estrutura MnFe₂O₄ para a solução (QIN *et al.*, 2021).

A remoção de CLA foi menos investigada do que a da AZT, com estudos sobre a degradação de CLA aplicando o processo eletro-Fenton (BASTURK *et al.*, 2021), sono-Fenton (HOSSEINI *et al.*, 2018), foto-Fenton solar (KARAOLIA *et al.*, 2014) e a degradação de CLA utilizando ozônio (LANGE *et al.*, 2006) e por fotólise solar (RODRÍGUEZ-LÓPEZ *et al.*, 2021).

Dentre esses estudos realizados, cabe ressaltar a degradação por foto-Fenton solar que atingiu 70% de remoção de CLA e 95% de SMX em efluente com pH 7,4, simultaneamente, em um reator usando 50 mg L⁻¹ de H₂O₂ e 5 mg L⁻¹ de Fe³⁺, com concentrações iniciais de 100 µg L⁻¹ de cada antibiótico (KARAOLIA *et al.*, 2014).

Os poucos estudos de detecção e degradação dos macrolídeos em comparação a outros antibióticos deve-se provavelmente às dificuldades analíticas de detecção devido à baixa absorção na região do UV-Vis, e propriedades físico-químicas da AZT e CLA, como baixa solubilidade em água. Entretanto, os macrolídeos mostraram-se como antibióticos bioacumuláveis no ambiente e estudos de degradação tornam-se essenciais.

3.3. O processo Fenton em meio homogêneo e heterogêneo

Devido aos problemas que a presença de antibióticos causam ao ambiente, à saúde humana e a não remoção destes contaminantes após tratamento convencional nas ETE, diferentes estudos têm sido realizados visando removê-los após tratamento nas ETE utilizando técnicas como adsorção, nanofiltração, osmose reversa e técnicas avançadas de oxidação (PATEL *et al.*, 2019). Os processos oxidativos avançados (POA), que são definidos como processos em que são formados radicais hidroxila ($\text{HO}^\bullet$) que, devido ao alto potencial padrão de redução ($E^0 = 2,730 \text{ V}$), podem oxidar várias classes de compostos orgânicos a CO_2 , H_2O e íons inorgânicos (MIKLOS *et al.*, 2018; NOGUEIRA *et al.*, 2007).

O processo Fenton é um POA que vem sendo muito usado devido às suas condições de operacionalidade à temperatura e pressão ambiente, alta eficiência de remoção de matéria orgânica e custos baixos devido à utilização de baixas concentrações de reagentes. O processo consiste na oxidação de matéria orgânica em meio aquoso contendo sais ferrosos (que atuam como catalisadores) e peróxido de hidrogênio (Equação 1), o qual inicia o processo de oxidação por mecanismos de adição eletrofílica do radical hidroxila gerado na decomposição de peróxido de hidrogênio, abstração de átomos de hidrogênio ou por transferência eletrônica (RAHIM POURAN; ABDUL AZIZ; WAN DAUD, 2015).



O mecanismo de adição eletrofílica ocorre com compostos com alta densidade eletrônica devido à aromaticidade ou ligações π em sua estrutura química, enquanto a degradação envolvendo a abstração de átomo de hidrogênio ocorre geralmente com hidrocarbonetos alifáticos. Quando a degradação envolvendo esses mecanismos não é favorecida, como em compostos clorados, a degradação pode ocorrer por transferência eletrônica com a geração de diferentes radicais em solução provenientes do composto alvo (NOGUEIRA *et al.*, 2007).

A reação de Fenton apresenta maior eficiência quando irradiada devido a uma foto redução do aquacomplexo de ferro em solução por transferência de carga ligante-metal, reduzindo o íon metálico e oxidando o ligante. Essa foto redução gera íons ferrosos, os quais participam novamente da reação de Fenton, e um radical hidroxila que participa da oxidação da

matéria orgânica (Equação 2), encetando um processo cíclico que é conhecido como processo foto-Fenton (THOMAS; DIONYSIOU; PILLAI, 2021).



A degradação aplicando o processo homogêneo apresenta seu valor ótimo de pH em torno de 3 devido a uma maior presença de Fe(OH)^{2+} nesse valor de pH, o que é confirmado de acordo com o diagrama de especiação de Fe^{2+} e Fe^{3+} em função do pH. Ao aumentar o valor do pH da solução, a tendência é que o ferro seja hidrolisado e precipite como hidróxidos (PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006).

Embora o ferro seja o reagente clássico da reação de Fenton, existe a possibilidade de sua substituição completa ou parcial por outro metal de transição (*Fenton-like*), como cobre (Equações 3-4), manganês, cério e cobalto, os quais também podem reagir com H_2O_2 e participar da reação de Fenton, liberando um radical hidroxila para a solução (BOKARE; CHOI, 2014).



Além disso, os metais utilizados nas reações do tipo Fenton podem complexar com os compostos-alvo e interferir no processo de degradação, seja acelerando ou reduzindo a formação de radicais hidroxila devido à formação ou não de um complexo fotoativo (BATISTA; NOGUEIRA, 2012). Verificou-se, por exemplo, que o complexo de ferro com o herbicida tebutiuron impede a reação de Fenton por formar um complexo não fotoativo (SILVA *et al.*, 2010).

Embora muito eficiente para degradação de diferentes classes de contaminantes emergentes, o processo foto-Fenton homogêneo apresenta algumas desvantagens, como geração de lodo de ferro, necessidade de controle rigoroso do pH do meio e a perda do catalisador no efluente. Nesse sentido, estudos recentes visam o desenvolvimento de um

catalisador sólido para superar as desvantagens do processo convencional, ou seja, processo Fenton heterogêneo (MUNOZ *et al.*, 2015).

Os principais materiais que são aplicados como catalisadores em fase sólida são os óxidos de ferro (como magnetita e hematita) e materiais dopados com óxidos de ferro, tendo alguns trabalhos relatado as vantagens na utilização resíduos que contêm grandes quantidades de ferro (AYALA-DURÁN; HAMMER; NOGUEIRA, 2020; NIDHEESH, 2015). Esses óxidos também permitem a aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo em valores de pH mais próximos de 7 devido a uma utilização de um material à base de ferro ou com imobilização de Fe^{3+} e/ou Fe^{2+} na superfície do catalisador (MIRZAEI *et al.*, 2017).

A magnetita (Fe_3O_4) tem sido muito utilizada devido à sua estrutura octaédrica que acomoda íons de Fe(II) e Fe(III), demonstrando a fácil reversibilidade da oxidação e redução dos íons de ferro na mesma posição e destaque entre outros catalisadores devido a sua aplicabilidade vantajosa de apresentar em sua fase ativa íons ferrosos e férricos, ao contrário da hematita (Fe_2O_3) que contém somente íons férricos (LAI *et al.*, 2021; MUNOZ *et al.*, 2015).

A modificação da magnetita com cobre ($\text{Fe}_{3-x}\text{Cu}_x\text{O}_4$) apresenta vantagens em comparação à magnetita (Fe_3O_4) para a degradação de contaminantes. Um estudo de degradação de medicamentos anticâncer observou uma remoção de mais de 95% de 5-fluorouracil e ciclofosfamida utilizando uma magnetita modificada com cobre por processo Fenton heterogêneo, utilizando-a na concentração de $0,125 \text{ g L}^{-1}$ com valor de x otimizado em 0,25 ($\text{Fe}_{2,75}\text{Cu}_{0,25}\text{O}_4$) e concentração de H_2O_2 igual a 15 mmol L^{-1} durante 150 min de irradiação artificial em pH igual a 6,5 (EMÍDIO; HAMMER; NOGUEIRA, 2020).

Em outro estudo, a imobilização de magnetita modificada com cobre em argila, visando a degradação de SMX e Trimetoprim em efluente da ETE resultou em 41% e 52% de remoção, respectivamente, após 150 min de aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo sob irradiação solar, demonstrando uma boa atividade catalítica do material após 3 ciclos de uso (DE JESUS; LIMA; NOGUEIRA, 2022).

Os mecanismos envolvidos na geração de radicais hidroxila por processo heterogêneo são a reação de Fenton na superfície do catalisador, a lixiviação de ferro do catalisador para o meio com posterior reação do ferro com H_2O_2 em meio homogêneo e a geração de radicais hidroxila por combinação dos processos homogêneo e heterogêneo (HE *et al.*, 2016).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes utilizados

Os reagentes utilizados, companhias fornecedoras e grau de pureza ao longo de toda pesquisa estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Reagentes utilizados no Brasil e Itália.

Reagente	Fornecedor, pureza ou teor	
	Brasil	Itália
Claritromicina	Supelco, Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$	Supelco, Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$
Azitromicina	Supelco, Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$	Supelco, Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$
Sulfametoxazol	Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$	Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$
Peróxido de Hidrogênio	Synth, 29% (v/v)	AppliChem Panreac, 30% (v/v)
Fosfato Monopotássico (KH ₂ PO ₄)	J. T. Baker, $\geq 99\%$	Carlos Erba, $\geq 99\%$
Hidróxido de Potássio (KOH)	Êxodo Científica, $\geq 90\%$	Sigma-Aldrich, 98%
Acetonitrila para HPLC (gradiente)	Êxodo Científica ou Carlo Erba	VWR Chemicals BDH
Metanol para HPLC (gradiente)	Êxodo Científica ou Carlo Erba	VWR Chemicals BDH ou Carlo Erba
Ácido Fórmico	J. T. Baker, 88%	-
Sulfato de Cobre	Fmaia, 98,0 – 102,0%	Carlo Erba
Sulfato de Ferro(II)	Synth, $\geq 99\%$	Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$
Cloreto de Ferro(III) anidro	VETEC, $\geq 98\%$	-
Nitrato de Ferro(III)	Êxodo Científica, $\geq 98\%$	-
Iodeto de Potássio	Synth, $\geq 99\%$	-
Hidróxido de sódio	Êxodo Científica, $\geq 97\%$	-
Hidróxido de Amônio	Synth, 27%	-
Metavanadato de Amônio	VETEC, $\geq 99\%$	-
Ácido Sulfúrico	Synth, 95,0 – 98,0%	Synth, 95,0 – 98,0%

Hidroxilamina	Êxodo Científica, $\geq 96\%$	-
Acetato de sódio	Êxodo Científica, $\geq 98\%$	-
1,10-Fenantrolina	VETEC, $\geq 99,5\%$	-
Ácido clorídrico	Scharlau, 37%	-
Citrato de sódio	Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$	-
Ácido batocuproinodissulfônico	Sigma-Aldrich	-
Cloroformiato de 9-fluorenilmetila (FMOC-Cl)	Sigma-Aldrich	-
Fosfato Monossódico (NaH_2PO_4)	-	Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$
Fosfato Dissódico (Na_2HPO_4)	-	Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$
Fenol 99% pureza	-	VWR Chemicals BDH
4-Aminoantipirina	-	Sigma-Aldrich
Peroxidase(VI)	-	Sigma-Aldrich
Ácido Fosfórico 85%	-	AppliChem Panreac
Acetato de Amônio	-	Carlo Erba

4.2. Preparo das soluções padrões, testes de solubilidade e coleta dos efluentes

Foram realizados testes de solubilidade variando entre 0 a 50% a proporção de acetonitrila/água ultrapura para a dissolução de 500 mg L⁻¹ de AZT e CLA. As soluções padrões de AZT e CLA 500 mg L⁻¹ ($6,67 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) foram preparadas isoladamente utilizando água ultrapura (Millipore *Direct-Q*) e Acetonitrila (grau HPLC) na proporção 50:50 (v/v), seguido por 30 min no ultrassom para completa solubilização. A solução padrão de SMX 100 mg L⁻¹ foi preparada em água ultrapura, seguido por 30 min no ultrassom para completa solubilização. Os experimentos de degradação foram realizados variando a faixa de concentração dos antibióticos entre 5000 e 200 µg L⁻¹, escolhida de acordo com a sensibilidade na análise cromatográfica com o detector DAD.

Para estudo do efeito da matriz na cinética de degradação dos antibióticos foi realizada uma coleta do efluente da Estação de Tratamento de Esgotos de Araraquara

(DAAE/Araraquara) em maio/2023. O tratamento de efluentes da estação de Araraquara baseia-se em lagoa de aeração + lagoa de sedimentação e serve uma população de 242228 habitantes, de acordo com o censo de 2022. O efluente foi coletado em frasco de vidro âmbar e mantido refrigerado até a chegada no laboratório, quando foi filtrado com papel filtro qualitativo para remover sólidos suspensos, e posteriormente armazenado por um máximo de 5 dias a 4 °C até a realização dos experimentos de degradação. Parâmetros como DBO, oxigênio dissolvido, nitrogênio e fósforo totais, entre outros, foram obtidos junto à companhia de saneamento (Anexo 1). A determinação de Carbono Orgânico Total e pH foram feitas no laboratório para caracterização do efluente.

4.3. Caracterização espectrofotométrica dos macrolídeos

Conforme relatado na literatura (KHOSHNOOD; ZAKARIA; ESHAGHI, 2013; VIONE *et al.*, 2009), os macrolídeos podem formar complexos com metais de transição e portanto foi realizado um estudo para avaliar a possível complexação entre os macrolídeos e os metais de transição utilizados no processo Fenton.

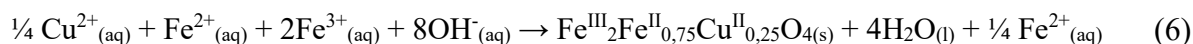
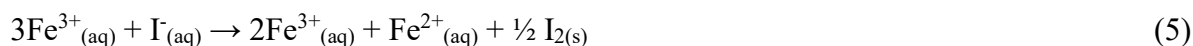
Fixou-se as concentrações dos fármacos (0,5 mmol L⁻¹) e variou-se a concentração dos metais de transição entre 0 e 3 mmol L⁻¹, buscando aumentar gradualmente a concentração dos metais e atingir diferentes proporções estequiométricas. Todos os experimentos foram realizados em balões volumétricos de 5 mL com a mesma concentração das soluções dos fármacos. Os balões continham 50:50 acetonitrila/água ultrapura devido à baixa solubilidade dos macrolídeos (< 2,5 mg L⁻¹) e o pH foi ajustado para 2,5 (pH ótimo de aplicação do processo Fenton).

Diferentes volumes de soluções estoques com concentração de 10 mmol L⁻¹ de FeSO₄.7H₂O, CuSO₄.5H₂O e Fe(NO₃)₃.9H₂O foram adicionadas. Os espectros de absorção molecular foram registrados entre 200 nm e 800 nm em um espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240 utilizando uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm.

Realizou-se uma análise dos dados obtidos com a finalidade de verificar a estequiometria dos complexos a partir de um gráfico que relaciona a razão molar metal/ligante com os comprimentos de onda de absorção máxima dos complexos que foram identificados experimentalmente (POZDNYAKOV *et al.*, 2015).

4.4. Síntese dos catalisadores

A magnetita e magnetitas modificadas com cobre foram sintetizadas pelo método da coprecipitação em condições otimizadas, conforme já relatado (EMÍDIO; HAMMER; NOGUEIRA, 2020). Utilizou-se sal de Fe(III) (0,0119 mol) como precursor e iodeto de potássio (0,004 mol) como agente redutor, sendo as duas soluções misturadas à temperatura ambiente com agitação por uma hora para permitir que fosse atingido o equilíbrio químico (Equação 5). Adicionou-se sal de Cu(II) em proporção estequiométrica Cu/Fe²⁺ de 1:1 (CAT1) ou 1:4 (CAT2) antes da precipitação da magnetita modificada utilizando NaOH 2 mol L⁻¹ (ou NH₄OH 27% v/v, no caso da magnetita pura) até atingir o pH 9,5 (Equação 6). Após precipitação, os materiais foram filtrados, lavados até a água de lavagem atingir um valor próximo de 7 e secos a 80 °C por 12 h em uma mufla. A magnetita pura sintetizada e comercial foi utilizada para comparar suas características com CAT1 e CAT2.



4.5. Aplicação do processo foto-Fenton homogêneo e heterogêneo

A degradação de AZT, CLA e SMX foi estudada por processo foto-Fenton em meio homogêneo e heterogêneo. No processo homogêneo, utilizou-se sais de Fe(II) ou Cu(II) como catalisadores, sendo o pH do meio ajustado para 2,5 antes da aplicação do processo. No processo heterogêneo, utilizou-se CAT1 e CAT2 como catalisadores e o pH foi ajustado para 6,5 ou 5,4. Em ambos os processos, H₂O₂ foi utilizado como agente oxidante.

A degradação, no Brasil, foi realizada em um reator equipado com duas lâmpadas de luz negra de 15 W, com máximo de emissão em 365 nm. O volume inicial de solução foi de 300 mL (contendo 1% v/v de acetonitrila) e alíquotas foram retiradas em 0, 20, 40, 60, 90 e 120 min para análise e filtradas em filtro de seringa de nylon (0,45 µm) antes da injeção no cromatógrafo. O reator utilizado apresenta diâmetro de 10,1 cm (externo) e 9,3 cm (interno). Além disso, a profundidade da solução no reator durante aplicação do processo foi de 4,5 cm, sendo posiciona a 4,5 cm abaixo da lâmpada de luz negra. Além disso, utilizou-se CAT1.

Na Itália, os experimentos foram realizados utilizando CAT2 em um reator equipado com apenas uma lâmpada de luz negra de 15W e as alíquotas para análise foram filtradas em

filtro de seringa de PTFE (0,45 μm) antes da injeção no cromatógrafo. O reator utilizado foi o mesmo do Brasil bem como a distância da solução em relação à lâmpada de luz negra.

4.6. Caracterizações

4.6.1. Difração de Raios-X

Os catalisadores foram caracterizados por difratometria de raios X (DRX) em equipamento modelo *SmartLab* SE (Rigaku) usando a radiação Cu-K α em $\lambda = 1,54186 \text{ \AA}$. Utilizou-se uma voltagem de 40 kV e corrente de 20 mA. Os difratogramas foram coletados com passo de $0,02^\circ$ e velocidade de *scan* de 2° min^{-1} entre os ângulos (2θ) 10° e 100° .

4.6.2. Isotermas de adsorção e dessorção de N₂

A área específica e porosidade das amostras foram determinadas por meio de isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio em um equipamento ASAP 2010 (Micromeritics). As amostras foram previamente degaseificadas à 383 K por 12 horas sob vácuo antes da análise. Os valores de área específica foram calculados por meio do modelo de Brunauer Emmett-Teller (BET).

4.6.3. Fluorescência de Raios-X (ED-FRX)

As análises de FRX foram realizadas em um espectrômetro de fluorescência de raios-X de energia dispersiva da marca PANalytical modelo MiniPal 4 com tubos de raios-X com ânodo de Ródio (Rh). A quantificação foi realizada por meio de métodos de correção de influência, no qual o equipamento de ED-XRF mede as intensidades da emissão dos raios-X dos elementos presentes em amostras-padrão, cujos elementos e suas concentrações são conhecidos, e com o uso de um software dedicado, usa tais intensidades e uma série de interações matemáticas para fornecer as concentrações dos elementos químicos presentes em uma amostra desconhecida por meio da comparação.

4.6.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de MEV dos catalisadores foram obtidas em um equipamento Hitachi Dual - Beam FIB-SEM NB5000.

4.7. Análises Químicas

4.7.1. Carbono Orgânico Total (COT)

A quantificação da matéria orgânica do efluente coletado, após filtração com papel qualitativo, foi determinada por análise de carbono orgânico total em um analisador de carbono Shimadzu TOC-LCSH. Nesse equipamento, a amostra é injetada em um tubo de combustão a 680 °C contendo platina suportada em alumina onde ocorre a oxidação catalítica a CO₂ e determina-se o carbono total (CT). Determina-se também o carbono inorgânico (CI) quando a amostra injetada reage com o reagente CI (ácido fosfórico 10%), sendo todo carbono inorgânico convertido a CO₂ e detectado por absorção no infravermelho. A concentração de COT é dada pela diferença entre CT e CI.

4.7.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

No Brasil, a concentração dos antibióticos durante a degradação foi monitorada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em um instrumento Shimadzu LC-20AT equipado com um detector de arranjo de diodos (SPD-M20A). Na Itália, realizou-se o monitoramento utilizando um equipamento de HPLC VWR-Hitachi LaChrom Elite equipado com desgaseificador à vácuo (Duratec) e detector de arranjo de diodos (L-2455).

4.7.3. Determinação de H₂O₂ residual, cobre e ferro

Em experimentos realizados no Brasil, a decomposição do peróxido do hidrogênio durante aplicação do processo Fenton foi monitorada espectrofotometricamente por meio de uma reação entre metavanadato de amônio e peróxido de hidrogênio, formando peroxovanádio (Equação 7), com máximo de absorção em 450 nm (NOGUEIRA; OLIVEIRA; PATERLINI, 2005). A faixa linear para este método variou de 0,05 a 10 mmol L⁻¹, com limite de quantificação (LQ) de 50 µmol L⁻¹ e limite de detecção (LD) de 20 µmol L⁻¹.



Durante o período de Estágio de Pesquisa na Itália, outro método espectrofotométrico de quantificação de peróxido de hidrogênio foi utilizado (METELITZA; LITVINCHUK; SAVENKOVA, 1991). Esse método utiliza peroxidase, fenol e 4-aminoantipirina para gerar

um cromóforo que, em pH 7 (tamponado com fosfato, no caso dos experimentos realizados), absorve em 505 nm. O método consiste na oxidação do fenol com o peróxido de hidrogênio na presença de peroxidase, formando um radical que se estabiliza por ressonância. Posteriormente, o radical formado reage com a 4-aminoantipirina, gerando o radical 4-aminoantipirina ($\text{Am}\dot{\text{N}}\text{H}_2$). O radical $\text{Am}\dot{\text{N}}\text{H}_2$ reage novamente com o radical formado a partir do fenol por meio da formação de uma ligação C-N entre os radicais, ocasionando na formação de um composto (reagente), que é oxidado na presença de H_2O_2 e forma um produto que apresenta um grupo cromóforo (Figura 4). Utilizou-se um espectrofotômetro Varian CARY 100 Scan de duplo feixe para determinação espectrofotométrica de H_2O_2 residual. A faixa linear para este método variou de 10 a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LQ de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD de 4 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

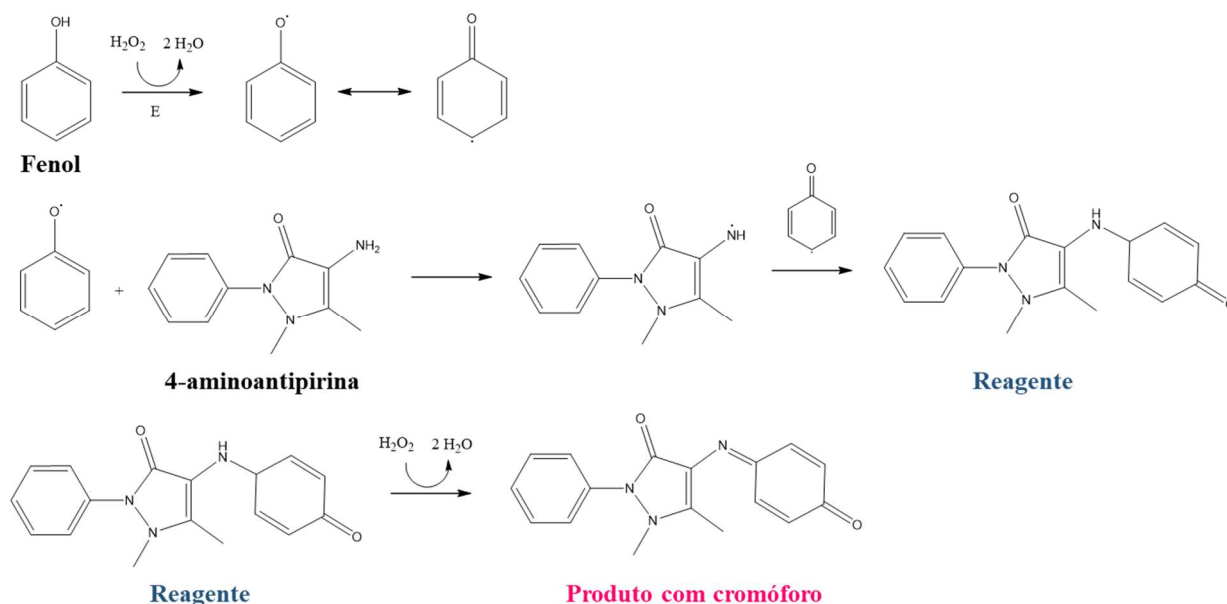


Figura 4: Reações envolvidas no método de quantificação de peróxido de hidrogênio residual utilizado durante o Estágio Pesquisa na Itália. E = peroxidase.

A concentração de íons cobre em solução após aplicação do processo heterogêneo foi determinada por meio do método espectrofotométrico da batocuproína ($\lambda = 484\text{ nm}$), enquanto a concentração dos íons de ferro foi determinada espectrofotometricamente utilizando 1,10-fenantrolina ($\lambda = 510\text{ nm}$) (APHA, 2017). A faixa linear para a curva de cobre variou de 1 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com LQ de 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LD de 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A faixa linear para a curva de ferro variou de 1 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com os mesmos LQ e LD obtidos para a curva de cobre.

4.7.4. Determinação dos produtos de degradação utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a espectrômetro de massas

Os produtos de degradação de AZT e CLA por processos foto-Fenton homogêneo (usando Fe(II)) e heterogêneo (usando CAT1) foram identificados durante estágio na Itália por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos e um espectrômetro de massas (HPLC-DAD-MS, do inglês *high performance liquid chromatography, coupled with diode array detection and mass spectrometry*).

Utilizou-se um equipamento Thermo Scientific Accela equipado com injetor automático (20 µL de volume de injeção), com uma bomba quaternária Accela e com um detector de arranjo de diodos Accela. Utilizou-se uma coluna Luna® C18 100 Å (150 x 3 mm x 3 µm da Phenomenex) em temperatura de 30 °C. A fase móvel consistiu em solução aquosa de acetato de amônio 0,005 mol L⁻¹ em pH 7,5 ajustado com KOH 10% (eluente A) e acetonitrila (eluente B). Realizou-se um gradiente com vazão de 0,2 mL min⁻¹ para identificação dos produtos de transformação (tempo, %A/%B): 0 min, 97%/3%; 3 min, 97%/3%; 25 min, 0%/100%; 30 min, 0%/100%; 30,5 min, 97%/3%; 35 min, 100%/0%. A detecção utilizando o DAD foi realizada em 230 nm devido à instabilidade da linha de base em 205 nm ao se utilizar um gradiente.

O espectrômetro de massas acoplado ao sistema de HPLC foi um Thermo LCQ Fleet (*ion-trap*) equipado com ionização por eletrospray (ESI, do inglês *electrospray ionisation*). A análise inicial “*Full Scan MS-MS*” foi realizada no modo de operação positivo e a energia de colisão foi de 35 eV. O software *Xcalibur* (Thermo Scientific, Milão, Itália) foi utilizado para aquisição e tratamento dos dados, sendo escolhido usar o “*base peak*” no lugar do “*total ion chromatogram (TIC)*” para identificação dos produtos de transformação devido ao melhor sinal obtido.

As amostras foram coletadas após 30 min (homogêneo) e 60 min (heterogêneo) de aplicação dos processos, individualmente para cada fármaco. Esses tempos foram escolhidos por corresponderem a aproximadamente 45% de degradação dos macrolídeos por ambos os processos, o que permite a comparação dos produtos gerados em cada caso. Amostras também foram coletadas após 120 min de aplicação do processo heterogêneo. Cabe ressaltar que o equipamento de massas utilizado foi de baixa resolução, sendo usado o tempo inicial (0 min) dos experimentos como controle.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Desenvolvimento e validação dos métodos analíticos utilizados

5.1.1. Quantificação de AZT, CLA e SMX no Brasil

A concentração dos antibióticos durante a degradação foi monitorada por cromatografia líquida de alta eficiência. Para definir as melhores condições de análise para os macrolídeos de forma simultânea, avaliou-se diferentes colunas e o efeito da variação da composição da fase móvel, temperatura da coluna, pH da amostra, modo de eluição e o detector empregado para separação e quantificação dos macrolídeos (Tabela 3).

Tabela 3: Condições cromatográficas avaliadas para determinação do método analítico.

	DETECTOR	
	DAD	FLU
Colunas	LUNA OMEGA POLAR C ₁₈ 150 x 4,6 mm, 5 µm	
	LUNA C ₁₈ 150 x 4,6 mm, 5 µm	
	LUNA C ₁₈ 250 x 4,6 mm, 5 µm	
	EVO Kinetex C ₁₈ 150 x 4,6 mm, 5 µm	
	REZEX ROA-ORAGANIC ACID H ⁺ (8%) 300 x 7,8 mm	
	GEMINI C ₁₈ 150x4,6 mm, 5 µm	
λ (nm)	205 e 210	Excitação: 265 Emissão: 315
Fase Móvel (FM)	ACN ou MeOH / Ácido Fórmico 0,1% ou tampão fosfato (monobásico / dibásico) nas concentrações 0,01 e 0,02 mol L ⁻¹	ACN ou MeOH / tampão fosfato (monobásico/ dibásico) nas concentrações 0,01 e 0,02 mol L ⁻¹
Temperatura (°C)	30, 40 e 50	
Vazão (mL min⁻¹)	0,3; 0,5; 0,8; 1,0; 1,2	
Modo de Eluição	Isocrático: porcentagens de 50, 60, 70, 80 e 90% de solvente orgânico na composição da FM.	
	Gradiente: de 20% a 90% de solvente orgânico em um intervalo de 1 hora para identificar se apareciam picos e em qual porcentagem aproximada de solvente orgânico, antes de realizar a análise em modo isocrático.	
Concentração dos Fármacos (mg L⁻¹)	1; 2; 10; 50 e 100	0,3; 1 e 10

Os macrolídeos não foram detectados com as colunas Kinetex e GEMINI por UV-DAD, mesmo ao variar a temperatura entre 30 e 50 °C e testar duas fases móveis diferentes: ácido fórmico 0,1% e tampão fosfato 0,02 mol L⁻¹ pH 7. Em todas as colunas avaliadas, a utilização de ácido fórmico na composição da fase móvel prejudicou a detecção pois os cromatogramas não mostraram picos, o que pode ser atribuído à baixa absorção da espécie protonada dos macrolídeos em meio ácido, uma vez que apresentam valores de pKa iguais a 8,5 (AZT) e 8,99 (CLA) (PubChem, 2023). Além disso, métodos oficiais descritos em farmacopeias evidenciam a necessidade da realização das análises em meio básico (*European Pharmacopoeia*, 2016).

Realizou-se testes utilizando tampão fosfato (monobásico ou dibásico) em pH 7,5 (próximo ao pKa da azitromicina) como fase móvel. Os testes nas colunas LUNA POLAR e LUNA 250 mm mostraram-se insatisfatórios após a variação de parâmetros como temperatura, vazão ou aumento da porcentagem de acetonitrila para 90% na composição da fase móvel em modo isocrático. Utilizando a coluna REZEX ROA, foi possível identificar um pico em 210 nm que pode ser atribuído à CLA, porém o método não se mostrou sensível à variação da concentração deste fármaco (Figura 5). Uma particularidade desta coluna é a sua utilização para a separação de açúcares, sendo esperado que tanto a AZT quanto a CLA apresentassem picos com tempos de retenção muito próximos, pois os açúcares ligados ao anel macrolídeo é o mesmo em ambas as moléculas: desosamina e cladinose. Não se observou pico para a AZT utilizando esta coluna e seu uso foi descartado para desenvolvimento e validação do método analítico.

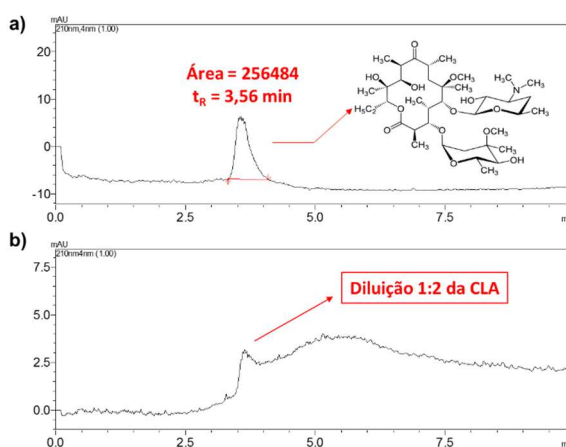


Figura 5: Cromatogramas de CLA nas concentrações de **a)** 10 mg L⁻¹; **b)** 5 mg L⁻¹. Condições: Coluna REZEX ROA Organic Acid; modo isocrático ACN/tampão fosfato monobásico 0,02 mol L⁻¹ pH 7,5 (80:20 v/v); Temperatura de 50 °C; λ = 205 nm e vazão = 1,2 mL min⁻¹.

Utilizando a coluna LUNA 150 mm, foi possível detectar AZT e CLA por UV-DAD em concentrações inferiores a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e em um baixo comprimento de onda (205 nm), próximo do limite do detector do equipamento. Com o objetivo de viabilizar a quantificação dos macrolídeos em concentrações abaixo de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, realizou-se experimentos para a derivatização dos macrolídeos com cloroformiato de 9-fluorenilmetila (FMOC-Cl), seguida da posterior detecção por fluorescência (BAHRAMI; MIRZAEI; KIANI, 2005; WILMS *et al.*, 2005).

O FMOC-Cl é um derivatizante capaz de formar compostos estáveis com grupos funcionais amina e com hidroxilas, sendo um reagente utilizado para derivatização de aminoácidos e macrolídeos (TORAÑO; GUCHELAAAR, 1998). Além disso, a sensibilidade dos métodos que derivatizam macrolídeos com FMOC-Cl é aumentada de acordo com a presença de um maior número de hidroxilas na estrutura do anel macrolídeo, sendo apresentado, por exemplo, uma maior sensibilidade na reação do FMOC-Cl com a AZT do que com a CLA (BAHRAMI; MOHAMMADI, 2007).

O cromatograma com detecção de fluorescência obtido para a AZT após a derivatização mostra o aparecimento de picos cromatográficos sobrepostos (Figura 6). Nenhum desses picos variou linearmente com a variação da concentração de AZT, o que indica que os picos observados são o resultado de uma decomposição do derivatizante e/ou do fármaco durante o processo de derivatização, o qual ocorre a 40°C por 40 min. Variações para vazões na faixa entre $0,3$ e $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ não foram suficientes para a separação destes picos. A derivatização de CLA resultou em comportamento análogo ao observado para a AZT.

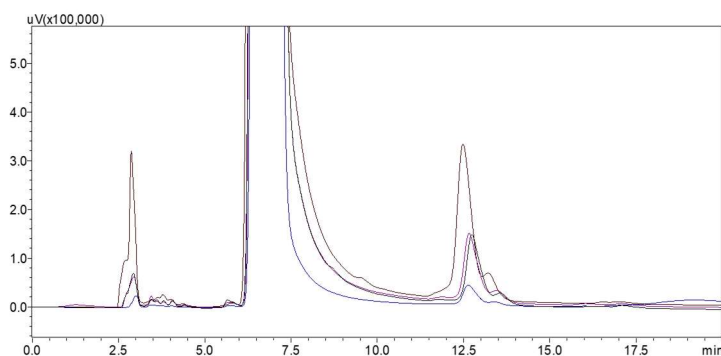


Figura 6: Cromatogramas de AZT em diferentes concentrações obtidos após derivatização com FMOC-Cl. Condições: coluna LUNA C₁₈ 250 mm; modo isocrático metanol/tampão fosfato $0,02 \text{ mol L}^{-1}$; pH 7 (70:30 v/v); 50°C ; vazão = $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. Preto = AZT 10 mg L^{-1} ; Rosa = AZT 1 mg L^{-1} ; Azul = AZT $0,3 \text{ mg L}^{-1}$; Marrom = FMOC-Cl. Detecção por fluorescência nos comprimentos de onda de 265 nm (excitação) e 315 nm (emissão), $V_{\text{injeção}} = 40 \text{ }\mu\text{L}$.

A quantidade de impurezas detectadas dificulta o desenvolvimento de um método analítico simultâneo para detecção de AZT e CLA. Além disso, as impurezas tornam este método inviável para monitoramento da concentração dos macrolídeos durante os experimentos de degradação, os quais podem interferir no método analítico por gerar produtos de degradação.

Optou-se por aumentar a concentração dos macrolídeos para valores acima de 0,5 mg L⁻¹ com a finalidade de permitir a detecção com o detector DAD e descartou-se a possibilidade de derivatização. O melhor resultado foi obtido com a coluna LUNA C₁₈ (150 mm x 3 mm x 5 µm da *Phenomenex*) após variação da temperatura do forno, vazão e porcentagem de ACN na composição da fase móvel. Para detecção dos macrolídeos, realizou-se uma eluição isocrática com ACN/tampão fosfato monobásico 0,02 mol L⁻¹ ajustado para pH 7,5 (80:20). Utilizou-se uma vazão de 0,5 mL min⁻¹, o volume de injeção foi de 40 µL, a temperatura foi fixada em 50 °C e a detecção foi realizada no comprimento de onda de 205 nm. Observou-se um pico com tempo de retenção (t_R) em 9,5 min referente à CLA, e um pico em 11,9 min referente à AZT (Figura 7), o que está coerente com a polaridade dos dois fármacos.

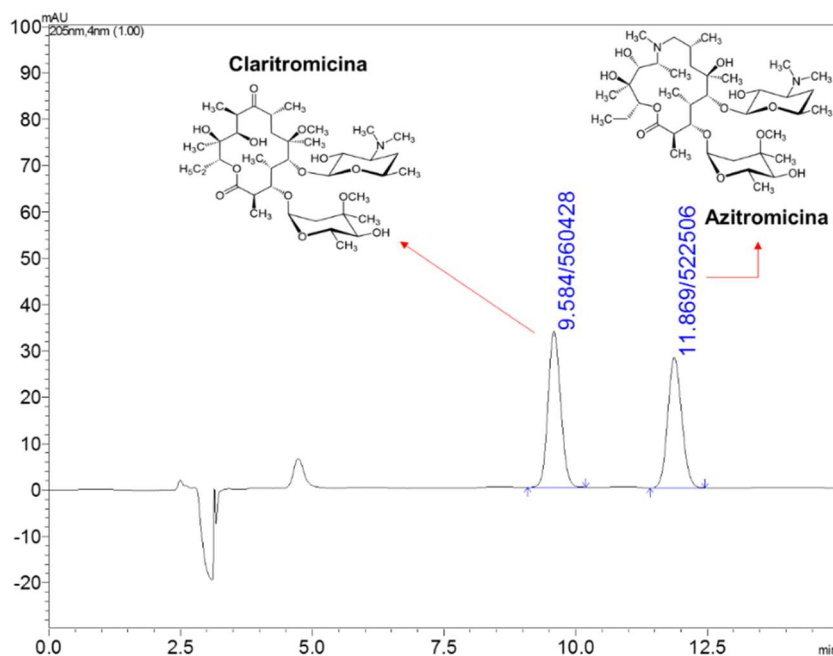


Figura 7: Cromatogramas de AZT e CLA nas concentrações de 50 mg L⁻¹. Condições: coluna LUNA C₁₈ 150 mm; modo isocrático ACN/tampão fosfato monobásico 0,02 mol L⁻¹ pH 7,5 (80:20 v/v); 50 °C; vazão = 0,5 mL min⁻¹. Detecção em 205 nm e V_{injeção} = 40 µL.

Os picos apresentam uma boa separação entre eles (resolução de 2,22) que permitiu o desenvolvimento e validação de um método analítico para detecção desses fármacos. O método desenvolvido permitiu a determinação simultânea de ambos os fármacos, com picos simétricos, baixo tempo de análise e ausência de impurezas nas condições adotadas e no tempo de retenção dos analitos.

Em paralelo, montou-se uma curva analítica para quantificação de SMX segundo um método já desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa (DE JESUS; LIMA; NOGUEIRA, 2022). Utilizou-se a coluna LUNA POLAR C₁₈ (150 mm × 4 mm × 5 µm da Phenomenex). Realizou-se uma eluição isocrática com metanol/ácido fórmico 0,1% (25:75). Utilizou-se uma vazão de 0,8 mL min⁻¹, o volume de injeção foi de 40 µL, a temperatura foi fixada em 40 °C e a detecção foi realizada no comprimento de onda de 270 nm. Observou-se o aparecimento de um pico que pode ser atribuído ao SMX em 11,3 min e construiu-se duas curvas de calibração para o SMX nas faixas de concentração entre 0,05 a 0,6 mg L⁻¹ (inferior) e 0,6 a 2,0 mg L⁻¹ (superior).

A linearidade das curvas analíticas para quantificação de AZT, CLA e SMX foi verificada empregando a análise de variância (ANOVA) que consiste em realizar um teste estatístico para verificar se as variâncias em y são independentes dos níveis de concentração em x (ALMEIDA; CASTEL-BRANCO; FALCÃO, 2002; CHUI; ZUCCHINI; LICHTIG, 2001; PIMENTEL; NETO, 1996). Empregando a ANOVA (Tabela 4), compara-se os valores de F_{tab} (obtido por meio de uma tabela de distribuição F) para o grau de confiança de 95% com o valor de F_{calc} obtido através do cálculo da razão das médias quadráticas para os modelos avaliados.

Tabela 4: ANOVA para ajuste do modelo de regressão linear para quantificação dos antibióticos. (dados obtidos no Brasil).

Fármaco	Fonte	G. L. ^c	Média Quadrática	F _{calc}	F _{tab}
AZT	Regressão	1	1,86x10 ¹⁰	1071,21	4,67
	Resíduo	13	1,74x10 ⁷		
	Falta de Ajuste	3	6,20x10 ⁶	2,19	3,26
	Erro Puro	13	4,09x10 ⁶		
CLA	Regressão	1	2,45x10 ¹⁰	6968,09	4,49
	Resíduo	16	3,51x10 ⁶		
	Falta de Ajuste	4	1,45x10 ⁶	0,34	3,26
	Erro Puro	12	4,20x10 ⁶		
SMX^a	Regressão	1	1,25x10 ¹¹	44186,65	4,67
	Resíduo	13	2,82x10 ⁶		
	Falta de Ajuste	3	6,34x10 ⁶	3,58	3,71
	Erro Puro	10	1,77x10 ⁶		
SMX^b	Regressão	1	2,14x10 ¹⁰	20139,69	4,67
	Resíduo	13	1,06x10 ⁶		
	Falta de Ajuste	3	1,59x10 ⁵	1,06	3,71
	Erro Puro	10	1,50x10 ⁵		

a = curva superior para o SMX; b = curva inferior para o SMX; c = graus de liberdade.

Observa-se que os valores de $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ para todos os fármacos no que se refere à regressão e $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}}$ para todos os fármacos ao analisar a falta de ajuste (Tabela 4). Esse resultado indica que há significância entre os valores experimentais obtidos ao se analisar a linearidade da regressão, indicando que a curva se ajusta a um modelo linear. Além disso, esse resultado indica que não há significância para a variação de variância ao longo de todas as concentrações em x, indicando que os modelos não precisam de ajuste e adequam-se à faixa linear de estudo. A ANOVA indica que as curvas podem ser utilizadas para quantificar a concentração dos antibióticos durante os experimentos de degradação realizados.

A Tabela 5 resume os parâmetros das curvas analíticas e a faixa linear do método, assim como os respectivos limites de detecção e quantificação obtidos experimentalmente. Os LQ foram determinados experimentalmente pela diluição de soluções padrões e observando um desvio padrão menor que 5% entre diferentes padrões (INMETRO, 2016). Os LD foram

determinados dividindo o valor de LQ por 3,3 e verificando experimentalmente se na concentração estabelecida para o LD o equipamento fornecia uma resposta.

Tabela 5: Parâmetros da curva analítica e limites de detecção e quantificação dos fármacos por HPLC/UV em água.

Analitos	Faixa linear (mg L ⁻¹)	Curva analítica			LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
		b ¹	a ²	R ²		
AZT	1,0-15,0	11018,9	-956,7	0,9880	0,30	1,0
CLA	0,6-10,0	11242,6	-1102,5	0,9977	0,18	0,6
SMX	0,05-0,6	185219,6	-695,3	0,9993	0,015	0,05
SMX	0,6-2,0	179731,9	2652,3	0,9997	-	-

1: coeficiente angular; 2: coeficiente linear; R²: coeficiente de correlação; y = a + bx.

5.1.2. Quantificação de AZT, CLA e SMX na Itália

Testou-se duas colunas cromatográficas durante o período de estágio pesquisa em condições similares ao método desenvolvido no Brasil para separação e quantificação dos macrolídeos durante os experimentos de degradação. Também se desenvolveu e validou-se um método para quantificação de SMX. Em todos os métodos foram estudados o efeito da variação de vazão, concentração da fase móvel e volume de injeção.

Para separação e quantificação simultânea dos macrolídeos, os melhores resultados foram obtidos utilizando uma coluna Purospher® STAR RP-18 *endcapped* (250 mm × 4 mm × 5 µm da Merck). Realizou-se uma eluição isocrática com ACN/tampão fosfato monobásico 0,005 mol L⁻¹ pH 7,5 (80:20). Utilizou-se uma vazão de 0,8 mL min⁻¹, o volume de injeção foi de 60 µL, a temperatura foi fixada em 40 °C e a detecção foi realizada no comprimento de onda de 205 nm. O tempo de retenção da CLA e AZT foram, respectivamente, 8,12 e 10,15 min (similares aos valores do método desenvolvido e validado para quantificação no Brasil). Os picos apresentaram boa separação entre eles (resolução de 1,7) que permite o desenvolvimento e validação de um método analítico para detecção desses fármacos.

Em outras condições, como uma vazão de 1,0 mL min⁻¹, observou-se a coeluição dos fármacos. Valores menores de vazão, como 0,5 mL min⁻¹ (mesma utilizada no Brasil) ou 0,7 mL min⁻¹, resultaram em aumento no tempo de retenção dos fármacos. Em concentrações maiores de tampão fosfato, como 0,02 mol L⁻¹ (mesma utilizada no Brasil) ou 0,01 mol L⁻¹,

observou-se o aparecimento de picos duplos para AZT e CLA após dias de utilização da coluna. Esses picos duplos apareceram devido à baixa solubilidade do tampão fosfato em altas concentrações de solvente orgânico e em pH acima de 7 que resultaram na precipitação de fosfato na pré-coluna. A variação do volume de injeção (40 ou 60 μL) apenas aumentou o sinal analítico obtido para as injeções de volume maior.

Para quantificação do SMX, utilizou-se uma coluna LiChroCART RP-18 *cartridge* (125 mm $\times$ 4 mm $\times$ 5 μm da Merck). Realizou-se uma eluição isocrática com metanol/água acidificada (H_3PO_4 , pH 3) (25:75). Utilizou-se uma vazão de 0,8 mL min^{-1} , o volume de injeção foi de 60 μL , a temperatura foi fixada em 40 $^{\circ}\text{C}$ e a detecção foi realizada no comprimento de onda de 270 nm. Observou-se o aparecimento de um pico atribuído ao SMX em 7,8 min. Os resultados obtidos foram muito satisfatórios e próximos aos obtidos no Brasil, não sendo necessário testar outras condições para quantificação do SMX.

Construiu-se curvas de calibração para quantificação dos antibióticos durante os experimentos de degradação (Tabela 6). Optou-se por desenvolver duas curvas diferentes para quantificação de SMX devido à perda de linearidade observada ao variar-se a faixa de concentração de 0,05 até 2,5 mg L^{-1} . Os LQ foram determinados experimentalmente pela diluição de soluções padrões e observando um desvio padrão menor que 5% entre diferentes replicatas de padrões (INMETRO, 2016). Os LD foram determinados dividindo o valor de LQ por 3,3 e verificando experimentalmente se na concentração estabelecida para o LD o equipamento fornecia uma resposta.

Tabela 6: Parâmetros da curva analítica e limites de detecção e quantificação dos fármacos por HPLC/DAD em água na Itália.

Analitos	Faixa linear (mg L^{-1})	Curva analítica			LD (mg L^{-1})	LQ (mg L^{-1})
		b^1	a^2	R^2		
AZT	0,8 - 15	35273	-18873	0,9994	0,23	0,75
CLA	0,5 - 15	40483	-8130	0,9976	0,15	0,50
SMX	0,05 – 0,75	1041440	-29638	0,9884	0,014	0,05
SMX	0,5 – 2,5	1045440	-55170	0,9984	-	-

1: coeficiente angular; 2: coeficiente linear; R^2 : coeficiente de correlação; $y = a + bx$.

Empregou-se a Análise de Variância (ANOVA) com a finalidade de verificar a linearidade dos modelos e a necessidade de ajuste das curvas de calibração. Para todos os analitos obteve-se valores muito superiores, no que se refere à linearidade, para o F calculado (F_{calc}) em comparação aos valores obtidos para o F tabelado (F_{tab}), o que indica que há significância entre os valores e as curvas construídas são lineares (Tabela 7). Também se observa que os valores de $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$ ao analisar-se a falta de ajuste para a AZT, CLA e SMX (inferior) (Tabela 7). Para a falta de ajuste, espera-se que não haja significância entre os valores ($F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}}$) e que a variância, portanto, não seja significativa ao longo de toda a faixa linear. A regressão pelo método dos mínimos quadrados considera que todas as concentrações (x_i) têm a mesma variância no que se refere à resposta (y_i), o que pode não acontecer principalmente em curvas construídas em uma ampla faixa linear (ALMEIDA; CASTEL-BRANCO; FALCÃO, 2002; PIMENTEL; NETO, 1996).

Tabela 7: ANOVA para ajuste do modelo de regressão linear para quantificação dos antibióticos (dados obtidos na Itália).

Fármaco	Fonte	G. L.^c	Média Quadrática	F_{calc}	F_{tab}
AZT	Regressão	1	4,00x10 ¹¹	17794,74	4,96
	Resíduo	10	2,25x10 ⁷		
	Falta de Ajuste	4	5,36x10 ⁷	30,71	4,53
	Erro Puro	6	1,74x10 ⁶		
CLA	Regressão	1	6,04x10 ¹¹	5061,57	4,74
	Resíduo	12	1,19x10 ⁸		
	Falta de Ajuste	5	2,85x10 ⁸	239,71	3,97
	Erro Puro	7	1,19x10 ⁶		
SMX^a	Regressão	1	6,49x10 ¹²	3988,04	4,96
	Resíduo	10	1,63x10 ⁹		
	Falta de Ajuste	4	2,60x10 ⁹	2,66	4,53
	Erro Puro	6	9,78x10 ⁸		
SMX^b	Regressão	1	7,44x10 ¹¹	679,96	5,32
	Resíduo	8	1,09x10 ⁹		
	Falta de Ajuste	3	2,91x10 ⁹	518,60	5,41
	Erro Puro	5	5,61x10 ⁶		

a = curva superior para o SMX; b = curva inferior para o SMX; c = graus de liberdade.

Conclui-se com a ANOVA que apenas a curva de calibração superior do SMX pode ser usada para quantificação durante os experimentos de degradação. Para as outras curvas analíticas (AZT, CLA e SMX inferior), aplicou-se uma regressão linear de mínimos quadrados ponderados (WLSLR, do inglês *weighted least squares linear regression*) com o objetivo de diminuir o erro relativo gerado quando se usa o método dos mínimos quadrados. Idealmente, a melhor forma de ajustar o método analítico seria usar um coeficiente de ponderação (w_i) que é o inverso da variância como forma de ajustar o modelo. A inclusão do coeficiente de ponderação nas equações para determinação dos coeficientes angular (b), linear (a) e de correlação (R^2) de uma regressão linear ($y = a + bx$) gera as equações 8, 9 e 10, respectivamente (ALMEIDA; CASTEL-BRANCO; FALCÃO, 2002).

$$b = \frac{\sum W_i \cdot \sum w_i x_i y_i - \sum w_i x_i \cdot \sum w_i y_i}{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i^2 - (\sum w_i x_i)^2} \quad (8)$$

$$a = \frac{\sum w_i x_i^2 \cdot \sum w_i y_i - \sum w_i x_i \cdot \sum w_i x_i y_i}{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i^2 - (\sum w_i x_i)^2} \quad (9)$$

$$R^2 = \frac{\sum W_i \cdot \sum w_i x_i y_i - \sum w_i x_i \cdot \sum w_i y_i}{\sqrt{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i^2 - (\sum w_i x_i)^2} \cdot \sqrt{\sum w_i \cdot \sum w_i y_i^2 - (\sum w_i y_i)^2}} \quad (10)$$

As ponderações aplicadas relacionam-se com a concentração dos analitos ($1/x^{1/2}$, $1/x$, $1/x^2$) ou com a resposta recebida pelo detector do cromatógrafo ($1/y^{1/2}$, $1/y$ e $1/y^2$) devido ao comportamento variável da variância. Os valores dos coeficientes da curva analítica ponderados e a somatória dos erros relativos encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8: Parâmetros de regressão das curvas analíticas (AZT, CLA e SMX inferior) gerados para cada coeficiente de ponderação (W_i) e a soma dos respectivos erros relativos ($\sum\%ER$) para os dados dos ensaios.

Fármaco	W_i	b	a	R^2	$\sum\%ER$
AZT	1	35171,1714	-17821,1132	0,9994	23,18
	$1/x^{1/2}$	35014,9462	-16678,8357	0,9995	8,96
	$1/x$	34808,6499	-15748,6988	0,9989	$1,35 \times 10^{-13}$
	$1/x^2$	34235,5052	-14608,7425	0,9934	$2,27 \times 10^{-13}$
	$1/y^{1/2}$	35001,1778	-16685,1469	0,9994	9,54
	$1/y$	34786,2498	-16040,8381	0,9986	5,84
	$1/y^2$	34322,9299	-15799,2211	0,9893	17,87
CLA	1	40395,4001	-7664,8464	0,9976	90,19
	$1/x^{1/2}$	39898,2003	-4447,8359	0,9982	27,86
	$1/x$	39380,0409	-2617,0604	0,9966	$4,35 \times 10^{-14}$
	$1/x^2$	38369,5543	-1207,0791	0,9869	$2,01 \times 10^{-13}$
	$1/y^{1/2}$	39894,0475	-4863,3173	0,9980	38,45
	$1/y$	39255,4416	-3111,8913	0,9961	17,09
	$1/y^2$	37198,3682	-1010,7433	0,9854	38,78
SMX	1	1041440	-29638	0,9884	60,01
	$1/x^{1/2}$	1017602,7360	-20462,4151	0,9951	17,52
	$1/x$	998749,0164	-15549,9754	0,9956	$2,15 \times 10^{-13}$
	$1/x^2$	965887,6708	-11148,9023	0,9961	$4,62 \times 10^{-14}$
	$1/y^{1/2}$	1013002,0970	-19656,0212	0,9951	16,19
	$1/y$	990250,1149	-14569,0271	0,9956	1,18
	$1/y^2$	953376,6663	-10426,1355	0,9962	7,46

Observa-se que os menores valores de $\sum\%ER$ para a AZT e CLA foram obtidos aplicando a ponderação $1/x$, enquanto para o SMX inferior a melhor ponderação foi a $1/x^2$. Devido ao baixo erro associado aos parâmetros da regressão linear, as curvas ponderadas podem ser utilizadas para quantificar os antibióticos na faixa linear e com os LD e LQ (obtidos experimentalmente) apresentados na Tabela 6.

5.2. Caracterização espectrofotométrica dos complexos de macrolídeos com ferro e cobre

Os macrolídeos podem formar complexos com íons de metais de transição (KHOSHNOOD; ZAKARIA; ESHAGHI, 2013; VIONE *et al.*, 2009). Portanto, foi realizado um estudo para avaliar a possível complexação entre os macrolídeos e ferro ou cobre, metais de transição utilizados em processos Fenton.

Estudou-se separadamente a complexação dos fármacos com Fe(II), Cu(II) e Fe(III). A Figura 8 apresenta o espectro UV-Vis obtido de soluções contendo AZT e CLA e diferentes concentrações de Fe(II), que resultou em razões molares de Fe ou Cu/CLA ou AZT entre 0,25 e 4.

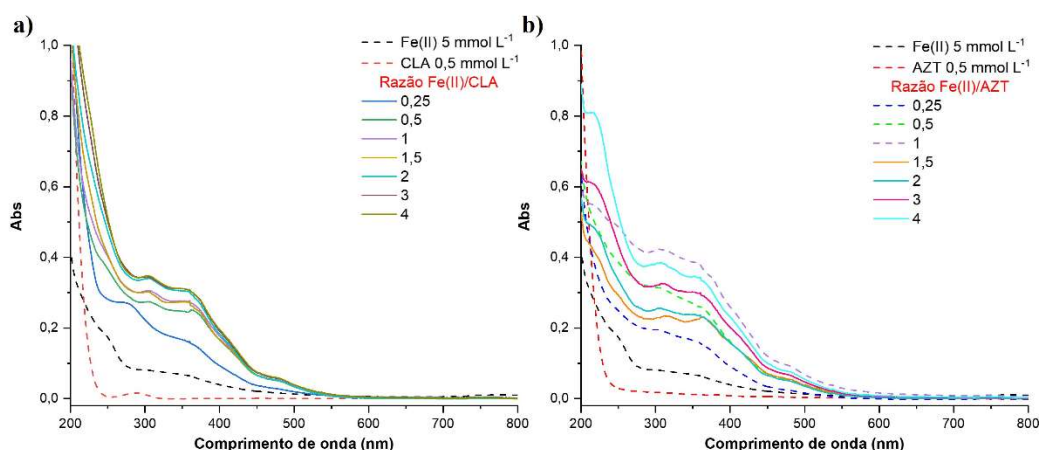


Figura 8: Espectros de absorção na região do UV-Vis de **a)** CLA e **b)** AZT na presença de diferentes concentrações de $[Fe^{2+}] = 0$ a 3 mmol L^{-1} , 25% acetonitrila/75% água destilada, pH = 2,5.

No espectro de Fe(II) observa-se uma banda em 250 nm referente à absorção dos aquocomplexos de ferro em água (SAFARZADEH-AMIRI; BOLTON; CATER, 2017), que com a adição de AZT e CLA desloca-se para 310 nm devido a um efeito batocrômico (Figura 8a-b). Observa-se também que tanto para o complexo Fe(II)-CLA quanto para o Fe(II)-AZT, ocorre o aparecimento de uma banda no comprimento de onda de 360 nm, que não está presente no espectro de Fe(II) ou no dos ligantes em solução. O surgimento dessa banda em 360 nm pode ser atribuída ao complexo formado entre os macrolídeos e o Fe(II) (KETTLE, 1996).

Em estudos espectrofotométricos, analisar a dependência da absorbância dos complexos formados no comprimento de onda de absorção máximo com a razão metal/ligante (Figura 9)

pode fornecer informações sobre a estequiometria do complexo formado (MANSOUR; DANIELSON, 2012).

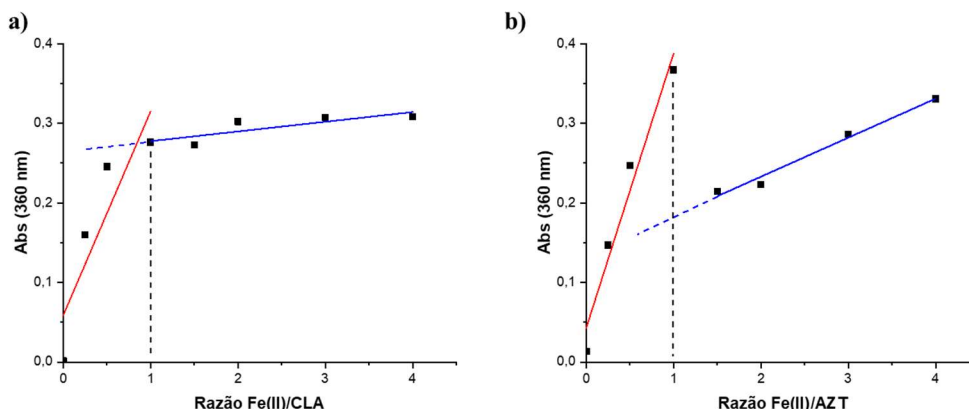


Figura 9: Dependência da absorbância em 360 nm com a razão molar metal/ligante para o complexo de Ferro (II) com **a)** CLA e **b)** AZT.

Os espectros de AZT mostram um aumento de absorbância com o aumento da concentração de Fe(II) até atingir a proporção Fe(II)/AZT de 1:1 (metal:ligante) (Figura 8) e uma diminuição até a proporção 1,5, seguida de aumento gradual da absorbância à medida que aumenta a disponibilidade de Fe em solução. Nesse caso, podem ter sido formados complexos por equilíbrios múltiplos que apresentam diferentes estequiometrias dependendo da quantidade de metal disponível em solução.

A Figura 9b reforça a formação de complexos de Fe(II) com a AZT com diferentes configurações eletrônicas enquanto que com CLA ocorre a formação de um complexo na proporção molar 1:1 com Fe(II), uma vez que é atingido um máximo de absorbância nesta proporção Fe(II)/CLA (Figura 9a).

As diferentes possibilidades de configurações eletrônicas para os complexos de AZT e CLA com metais de transição (como Fe(II) e Cu(II), por exemplo) já foi relatada na literatura em condições clássicas de investigação da formação de compostos de coordenação: em meio saturado de ligantes para favorecer o deslocamento do equilíbrio para a formação do complexo (HAMDAN, 2003; KETTLE, 1996). Naquele estudo, os complexos de Fe(II) com AZT e CLA foram relatados na proporção estequiométrica 1:2, sendo investigados por análises espectrofotométrica e condutométrica. Entretanto, o autor também relata resultados espectrofotométricos que indicaram a possibilidade de formação de complexos com proporção 1:1 em metanol (HAMDAN, 2003).

O excesso de ferro no sistema, no caso do complexo Fe(II)-CLA, favoreceu a formação do complexo com a estequiometria 1:1 (Figura 9a) enquanto no caso do complexo Fe(II)-AZT ainda existe a formação de complexos com diferentes estequiometrias, embora também tenha sido verificada a presença da proporção molar 1:1 (Figura 9b).

Esses resultados indicam que embora a AZT e CLA apresentem estruturas químicas semelhantes, a complexação com Fe(II) pode ocorrer tanto por grupos funcionais semelhantes quanto por grupos funcionais diferentes. Além disso, esse comportamento indica que macrolídeos podem ocorrer no ambiente na forma complexada e que a complexação pode afetar a degradação dos macrolídeos por processos que utilizem metais de transição devido aos diferentes complexos possíveis de serem formados.

No caso dos complexos de cobre com os macrolídeos, os espectros de absorção no UV-Vis é bem similar para ambos os macrolídeos (Figura 10). Observa-se o desaparecimento da banda na faixa de 700-800 nm característica do aquacomplexo de cobre(II) (SÝKORA, 1997), e o aparecimento de uma banda em 250 nm com o aumento da razão entre Cu(II)/AZT ou CLA, que pode ser atribuída aos complexos formados.

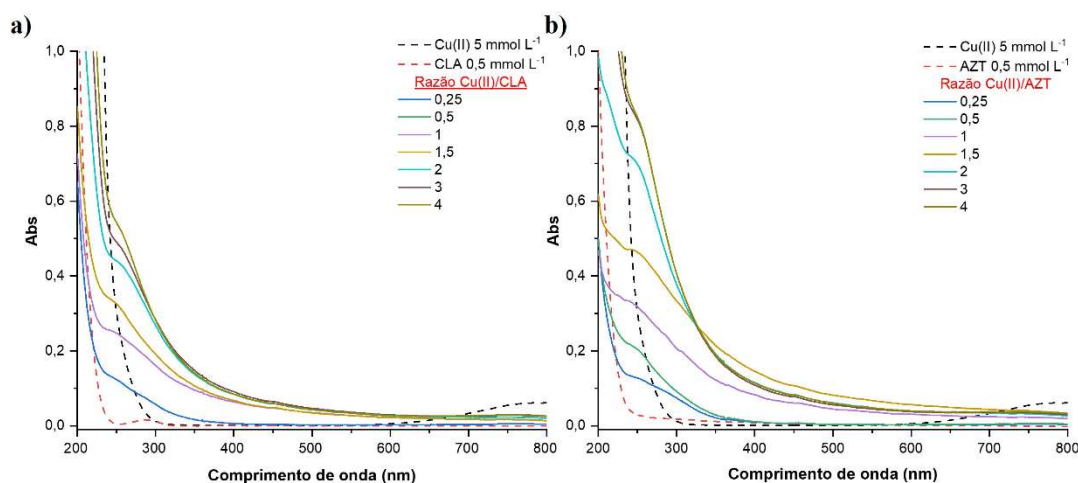


Figura 10: Espectros de absorção na região do UV-Vis de **a)** CLA e **b)** AZT na presença de cobre(II) . $[Cu(II)] = 0$ to 3 mmol L^{-1} , 25% acetonitrila/75% água destilada, pH = 2,5.

Esse comportamento indica que no meio reacional os macrolídeos devem atuar como agentes redutores de Cu(II) a Cu(I) devido à característica fotoquímica dos complexos de cobre: complexos de cobre(II) apresentam absorção na região do visível enquanto os de cobre(I) apresentam absorção na região do ultravioleta (HORVÁTH, 1994).

Um estudo que investigou a formação de complexos de cobre com azitromicina em metanol observou um resultado semelhante: a presença da azitromicina no meio resultou na redução dos íons de Cu(II) a Cu(I) e Cu(0), os quais foram identificados por meio de análises polarográficas (SHER *et al.*, 1996).

O gráfico de dependência da absorvância dos complexos formados com a razão metal/ligante para os complexos de cobre (Figura 11), mostra que nas condições experimentais estudadas, esses complexos podem ser formados com configurações eletrônicas semelhantes.

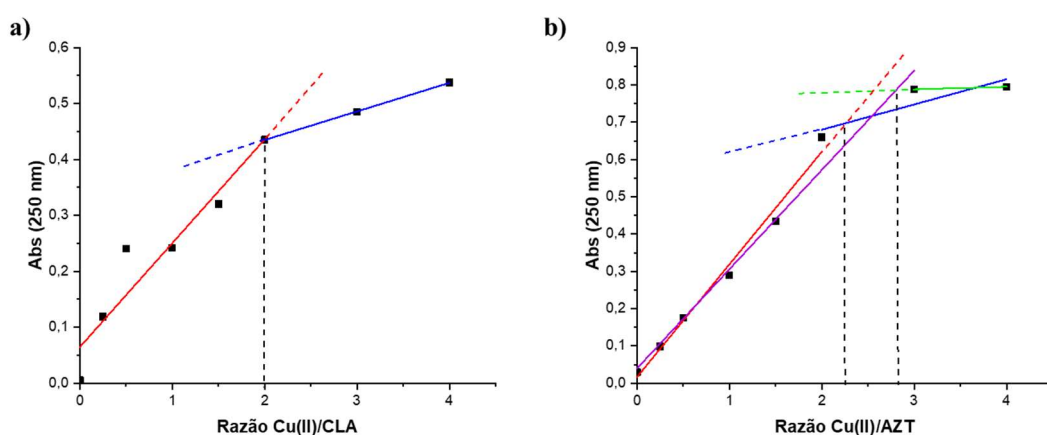


Figura 11: Dependência da absorvância em 250 nm com a razão molar metal/ligante para o complexo de Cobre (II) com **a)** CLA e **b)** AZT

A Figura 11 indica a formação de um complexo com proporção estequiométrica 2:1 para o complexo de cobre com CLA e 2:1 ou 3:1 para o complexo com AZT em um meio saturado de cobre. Nesse caso, pode-se supor que a complexação pode acontecer pelos grupos funcionais em comum (Figura 12) e que nessas condições a razão metal/ligante indica a formação de um complexo na proporção molar de 2:1 (cobre/CLA ou cobre/AZT). Na Figura 12, as marcações em vermelho indicam as diferenças entre as moléculas e as setas em azul os átomos que apresentam pares de elétrons livres presentes em ambas as estruturas que podem ser pontos de coordenação para formação de complexos com a mesma configuração eletrônica entre os diferentes antibióticos e um mesmo metal.

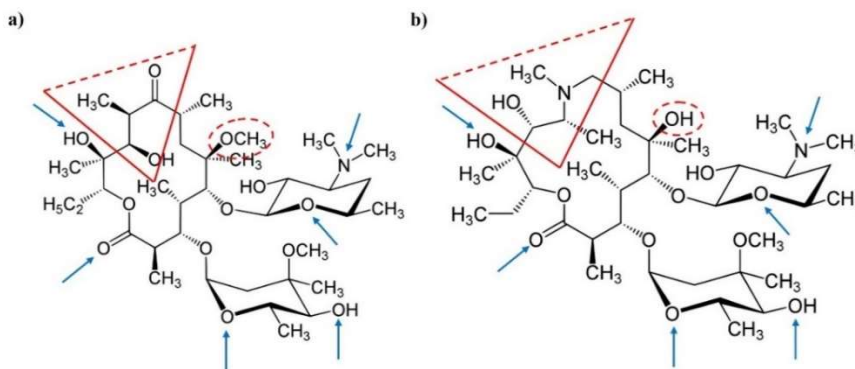


Figura 12: Estrutura química das moléculas de **a)** CLA; **b)** AZT e pontos de coordenação.

No caso do complexo Cu(I)-AZT, também pode ocorrer a formação de complexos com diferentes estequiometrias (3:1, por exemplo), que pode ser atribuída à estrutura química da AZT que é maior que a da CLA e apresenta a inserção de um átomo de N no anel macrolídeo (Figura 12).

Um estudo que verificou a formação de complexos de cobre com AZT e CLA verificou que, em metanol, existe a formação de complexos na proporção estequiométrica 1:1 ou 1:4 para os complexos de AZT e majoritariamente o complexo 1:4 com a CLA, porém podendo ser formado também o complexo 1:1 (HAMDAN, 2003). Cabe ressaltar que esses experimentos foram realizados em excesso de ligante (por isso a escolha de metanol como solvente), diferentemente dos realizados neste trabalho, com excesso de metal.

O resultado obtido para os complexos de cobre neste trabalho são semelhantes aos resultados obtidos para os complexos de Fe(II) ao comparar-se os ligantes: a CLA favorece a formação de um complexo com estequiometria bem definida enquanto a AZT favorece a formação de diferentes complexos em um mesmo sistema. Esse resultado é um indicativo de que, embora apresentem estruturas químicas semelhantes, a complexação dos macrolídeos com metais de transição pode afetar de forma diferente a degradação desses antibióticos por processos Fenton mediados por Fe(II) ou Cu(II).

Ao estudar a complexação da AZT e CLA com Fe(III), nas mesmas condições empregadas para os estudos envolvendo Fe(II) e cobre, não foi formada uma banda definida (Figura 13). Os complexos formados apresentam alta absorvância proveniente do alto coeficiente de absorvidade molar do ferro(III) (BENKELBERG; WARNECK, 1995; FAUST; HOIGNÉ, 1990).

Nesse sentido, para manter as mesmas condições de investigação (excesso de metal e meio majoritariamente aquoso), seria necessário diminuir a concentração de Fe(III) e consequentemente a dos macrolídeos, o que implicou em uma limitação: a baixa absortividade dos macrolídeos em concentrações inferiores a $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ (PUBCHEM, 2023). Portanto, nessas condições, não foi possível realizar o mesmo estudo para o Fe(III).

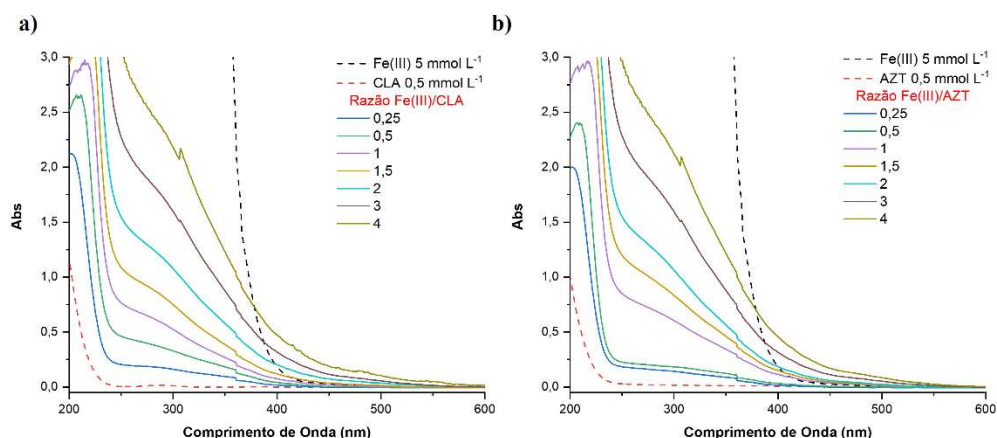


Figura 13: Espectros de absorção na região do UV-Vis para os complexos formados entre **a)** CLA e **b)** AZT com ferro(III). $[\text{Fe(III)}] = 0 \text{ to } 3 \text{ mmol L}^{-1}$, 25% acetonitrila/75% água destilada, $\text{pH} = 2,5$.

Cabe ressaltar que os resultados obtidos para o complexo Fe(II)-CLA é similar ao relatado na literatura em metanol e com excesso de ligantes (HAMDAN, 2003), enquanto os resultados obtidos para os complexos de cobre e o complexo Fe(II)-AZT indicam um comportamento diferente: um mesmo ligante pode complexar mais de um átomo do metal.

Todavia espera-se que se os complexos formados entre os macrolídeos e Fe^{2+} e Cu^{+} apresentarem diferentes fotoatividades, a cinética de degradação da AZT e CLA sob processo foto-Fenton, principalmente homogêneo, sejam diferentes. Nessa conjuntura, entende-se que os múltiplos equilíbrios envolvendo a AZT podem influenciar a decomposição de peróxido de hidrogênio na reação de Fenton em comparação à CLA.

Além disso, o efeito redutor dos macrolídeos sobre o cobre e a formação de um complexo de Cu(I) é outro fator importante a se considerar ao comparar-se a degradação em meio homogêneo utilizando ferro ou cobre. Portanto, é importante entender o efeito da complexação na degradação desses antibióticos para entender o comportamento destes complexos no ambiente e a recalcitrância a ao processo Fenton.

5.3. Influência da complexação com macrolídeos nos processos redox de ferro e cobre na presença de H_2O_2

A complexação dos compostos alvo com ferro ou cobre (catalisadores) pode influenciar nos processos foto-Fenton por estimular ou prejudicar o ciclo redox responsável por gerar os radicais hidroxila no meio reacional (BATISTA; NOGUEIRA, 2012; SILVA *et al.*, 2010). Nesse caso, torna-se importante entender o complexo formado e sua influência no ciclo redox.

Para entender a influência dos complexos de ferro com AZT e CLA no ciclo redox Fe(II)/Fe(III) na presença de H_2O_2 e irradiação (processo foto-Fenton), monitorou-se a formação de Fe(II) a partir de apenas Fe(III) em diferentes sistemas: apenas Fe(III) , apenas Ferrioxalato de potássio (FeOx), e Fe(III) ou FeOx na presença dos macrolídeos individualmente (Figura 14a). Um estudo análogo foi realizado substituindo ferro por cobre (Figura 14b). A comparação dos resultados obtidos utilizando o sal de ferro com o FeOx é interessante para avaliar como o ciclo redox Fe(II)/Fe(III) é influenciado se o ferro em solução já está complexado com outro ligante que apresenta alto rendimento quântico de formação de Fe(III) (BATISTA; NOGUEIRA, 2012).

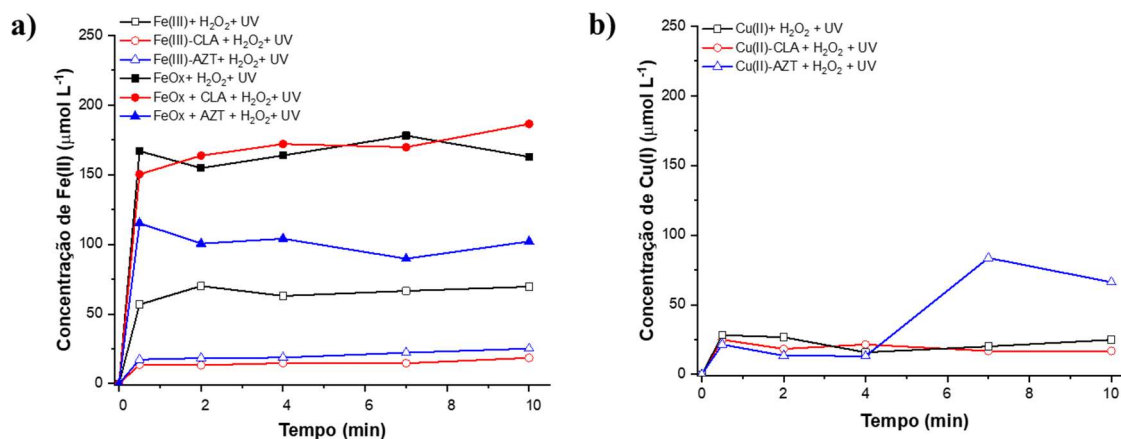


Figura 14: Geração de a) Fe(II) e b) Cu(I) nos primeiros minutos do processo foto-Fenton sob lâmpada de luz negra. $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 5 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{Fe(III)}] = [\text{FeOx}] = [\text{Cu(II)}] = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,5$.

Os complexos Fe(III)-AZT e Fe(III)-CLA reduzem a geração de Fe(II) gerado no meio quando comparados com a concentração de Fe(II) gerado no sistema com apenas os aquocomplexos de Fe(III) , interferindo negativamente o ciclo redox Fe(II)/Fe(III) por reduzirem a geração de Fe(II) em um mesmo intervalo de tempo. Os complexos de Fe(III)-AZT e Fe(III)-CLA geraram 19 e $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(II) , respectivamente, após 10 min . O

aquocomplexo de Fe(III), na ausência dos macrolídeos, gerou $70 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(II) após mesmo período de tempo (Figura 14a). Cabe ressaltar que o Fe(III) livre em solução, quando irradiado, pode ser foto reduzido a Fe(II) (PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006) e também formar complexos com os macrolídeos em solução (VIONE *et al.*, 2009). Portanto, em um mesmo sistema irradiado podem coexistir aquocomplexos de ferro e complexos de Fe(III)-macrolídeos e Fe(II)-macrolídeos, os quais são espécies dependentes do pH do sistema.

Quando o sal de ferro nos sistemas foi substituído por FeOx, observou-se uma concentração gerada de Fe(II) para os sistemas FeOx, FeOx-CLA e FeOx-AZT igual a 163, 186 e $102 \mu\text{mol L}^{-1}$, após 10 min, respectivamente (Figura 14a). Observou-se um alto rendimento quântico na geração de Fe(II), comportamento que era esperado devido à fotoquímica do FeOx (DA SILVA; TROVÓ; NOGUEIRA, 2007). Enquanto nos sistemas FeOx e FeOx-CLA a concentração gerada de Fe(II) é próxima, no sistema FeOx-AZT a concentração gerada é inferior aos outros sistemas. Uma possível explicação para esse comportamento provém do comportamento dos complexos de AZT e CLA com Fe(II): em meio com excesso de ferro, os complexos de Fe(II)-AZT existem em diferentes proporções estequiométricas, enquanto o complexo Fe(II)-CLA é formado principalmente na proporção 1:1. Esse comportamento indica que a presença do complexo Fe(II)-AZT no meio diminui a eficiência do ciclo redox devido à maior possibilidade de complexos que podem ser formadas entre ferro e AZT, mesmo com a presença de FeOx. Cabe ressaltar que nesse meio, devido à irradiação, podem coexistir complexos de FeOx, Fe(III)-macrolídeos, Fe(II)-macrolídeos e aquocomplexos de ferro.

Os resultados obtidos para os complexos Cu(II)-CLA e Cu(II)-H₂O indicam que esses complexos geram concentrações próximas de Cu(I) após 10 min. O complexo Cu(II)-AZT gera mais Cu(I) do que Cu(II)-H₂O, favorecendo o ciclo redox Cu(I)/Cu(II). Esses resultados indicam que mesmo que AZT e CLA possam reduzir Cu(II) a Cu(I), o sistema com AZT gera maior concentração de Cu(I), o que pode ser atribuído à redução do cobre pela AZT e ao equilíbrio entre os complexos Cu-AZT e aquocomplexos. Os complexos Cu(I)-CLA e Cu(II)-H₂O geraram 17 e $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu(I), respectivamente, enquanto o complexo Cu(I)-AZT gerou $84 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu(I) após 7 min (Figura 14b). Esse resultado indica a presença de diferentes equilíbrios químicos associados à oxidação e redução do cobre no meio, os quais são mais notórios quando há AZT em solução.

Os experimentos foram realizados na presença de H₂O₂ sob irradiação, então os complexos formados entre ferro ou cobre com os macrolídeos podem ser responsáveis por

reagir com o peróxido de hidrogênio na reação de Fenton, assim como os aquocomplexos em solução. Entretanto, a interferência no ciclo redox Fe(II)/Fe(III) não é o único fator a ser levado em consideração ao estudar-se o efeito da complexação sobre o processo foto-Fenton. Por conseguinte, a presença de diferentes equilíbrios químicos de complexação, a dependência do sistema com o pH (PIGNATELLO; OLIVEROS; MACKAY, 2006), a fotoquímica dos complexos formados e a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio pelo processo foto-Fenton (JUNG *et al.*, 2009) são os fatores que influenciam diretamente a cinética de degradação dos macrolídeos por processo foto-Fenton.

Além disso, a estrutura química dos macrolídeos e seus pontos de coordenação é outro fator importante a ser levado em consideração ao buscar-se entender os fatores que podem afetar o processo foto-Fenton. As moléculas dos macrolídeos apresentam grandes anéis sem alta densidade eletrônica, o que dificulta a reação de degradação promovida pelo ataque do radical hidroxila gerado na reação de decomposição do peróxido de hidrogênio, em comparação a moléculas com alta densidade eletrônica. Ademais, os pontos com as maiores densidades eletrônicas são os pontos responsáveis pela complexação, o que pode dificultar o processo de degradação.

Levando em consideração os estudos de complexação realizados (caracterização espectrofotométrica e influência da complexação no ciclo redox de ferro e cobre), espera-se que a utilização de íons Fe e Cu apresentem comportamentos diferentes ao serem empregados como catalisadores do processo foto-Fenton homogêneo. Os complexos formados com cada íon metálico apresentam diferentes características, as quais diferem-se devido às diferentes configurações eletrônicas do cobre (Cu^+ d^{10} , Cu^{2+} d^9) e ferro (Fe^{2+} d^6 , Fe^{3+} d^5) e a formação de complexos com ligantes sem alta densidade eletrônica e mais polarizáveis, como os macrolídeos.

5.4. Caracterização dos catalisadores sintetizados

Para aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo, sintetizou-se dois catalisadores com ferro e cobre em diferentes proporções segundo o método da coprecipitação para síntese da magnetita, porém com adição de cobre antes da precipitação do óxido. Os dois catalisadores foram nomeados como CAT1 e CAT2.

O CAT1 foi sintetizado na proporção teórica 1:1 ferro e cobre enquanto o CAT2 foi sintetizado na proporção 3:1, visando a síntese de magnetitas modificadas com cobre em

diferentes proporções. Também foi sintetizada a magnetita (MAG-S) pelo mesmo método para comparar os resultados das caracterizações e, além disso, os resultados obtidos foram comparados com uma amostra de magnetita comercial (MAG-C). Os difratogramas obtidos por meio da difração de raios-x (DRX) para os catalisadores mostra a coincidência entre os picos de CAT1 e CAT2 com o óxido de cobre e ferro (ICSD- 24874) e óxido de cobre (ICSD-16025) (Figura 15).

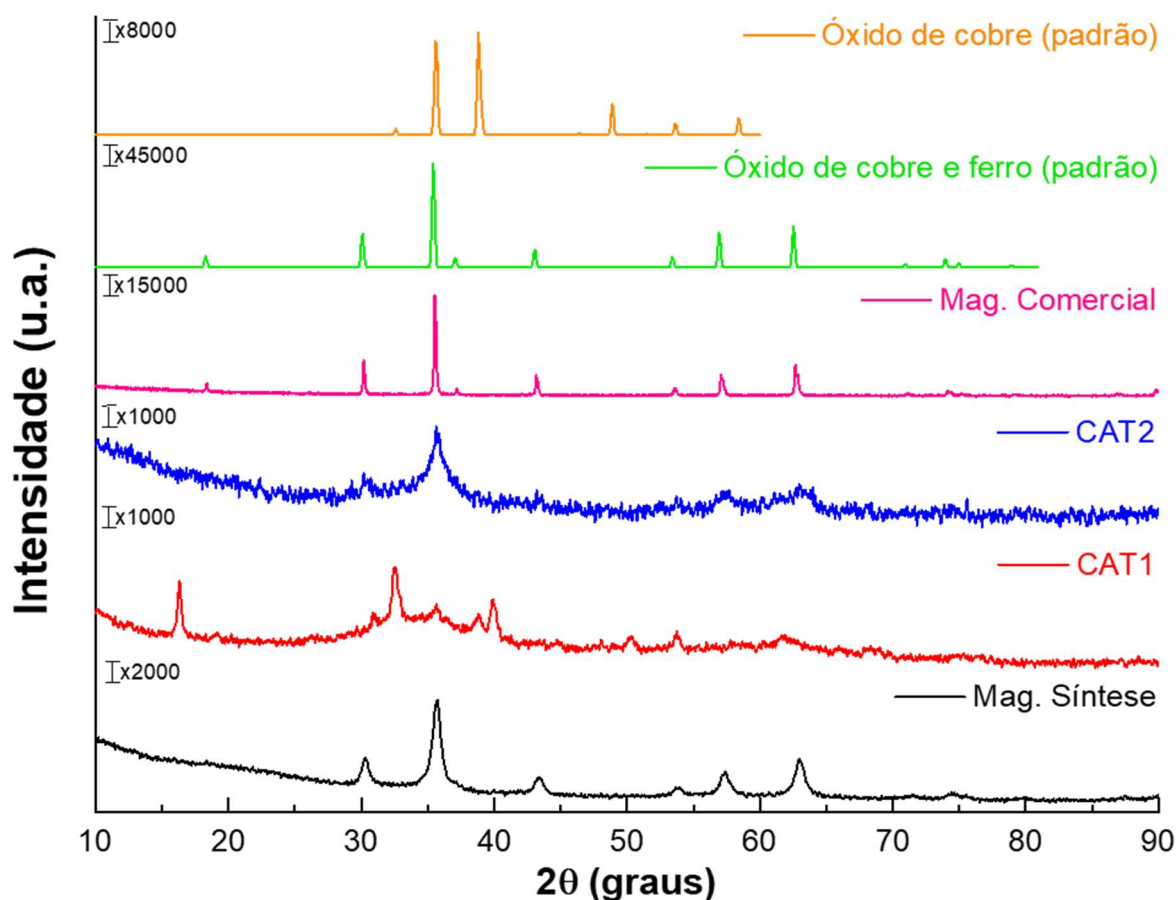


Figura 15: Difratogramas de raios-X obtidos para a magnetita sintetizada, CAT1 e CAT2 comparados com o difratogramas padrão da magnetita comercial e dos óxidos de cobre ou ferro e cobre.

Nesse sentido, CAT1 e CAT2 apresentam estrutura cristalina de ferrita de cobre de espinélio cúbico (óxido de ferro e cobre) com a presença simultânea de óxido de cobre, sendo então considerado um óxido misto e não uma magnetita modificada, conforme esperado. As diferenças nos difratogramas entre MAG-S, CAT1 e CAT2 evidenciam a entrada do cobre na estrutura cristalina da magnetita formando um material $\text{Fe}_{3-x}\text{Cu}_x\text{O}_4$. Além disso, a introdução

do cobre na estrutura cristalina diminuiu o magnetismo dos catalisadores, sendo CAT2 mais magnético que CAT1.

As análises de fluorescência de raios-X (ED-FRX) mostram que as composições químicas de CAT1 e CAT2 estão próximas do valor teórico no que se refere à proporção Fe/Cu: 1/1 para CAT1 e 3/1 para CAT2, demonstrando que o cobre adicionado durante a síntese continua presente no catalisador, seja na forma de óxido de cobre e ferro ou apenas óxido de cobre (Tabela 9).

Tabela 9: Área superficial específica, porosidade e composição química dos catalisadores sintetizados e da magnetita comercial.

Amostra	Área Específica (m ² g ⁻¹)	Tamanho Médio dos poros (nm)	Composição Química (%m/m)	
			Fe	Cu
MAG-C	8,91	4,24	54	-
MAG-S	99,79	6,24	77	-
CAT1	239,58	3,51	32	39
CAT2	148,14	5,84	70	8

A adição de cobre nos catalisadores ocasionou em um aumento da área superficial específica dos materiais sintetizados (Tabela 9), sendo a área superficial do CAT1 superior à do CAT2 por conter mais cobre em sua composição química. Além disso, MAG-S apresentou uma área consideravelmente maior que MAG-C, o que é um indício de que a atividade catalítica dos catalisadores pode ser diferente devido à importância da área superficial específica para o processo Fenton heterogêneo.

O tamanho médio dos poros diminuiu com o aumento da quantidade de cobre na composição química dos catalisadores sintetizados, sendo CAT1 o que apresenta o menor tamanho médio de poros em relação a MAG-S (redução em aproximadamente 50% do tamanho dos poros). Empregou-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para analisar a morfologia dos catalisadores (Figura 16) e verificou-se que os materiais sintetizados não apresentam morfologia tão definida quanto a MAG-C (Figura 16d). Observa-se também que a introdução de cobre no CAT1 aumentou consideravelmente a presença de aglomerados heterogêneos (Figura 16b), os quais podem ser associados à presença de óxido de cobre no material identificado por meio do DRX. Além disso, não se observa muita diferença nas

imagens de MEV entre CAT2 e MAG-S (Figuras 16a e 16c). Os resultados obtidos com MEV e ED-FRX indicam uma menor presença de óxido de cobre em CAT2 e uma maior semelhança no que se refere às propriedades de CAT2 e MAG-S, como área superficial específica e porosidade em valores próximos.

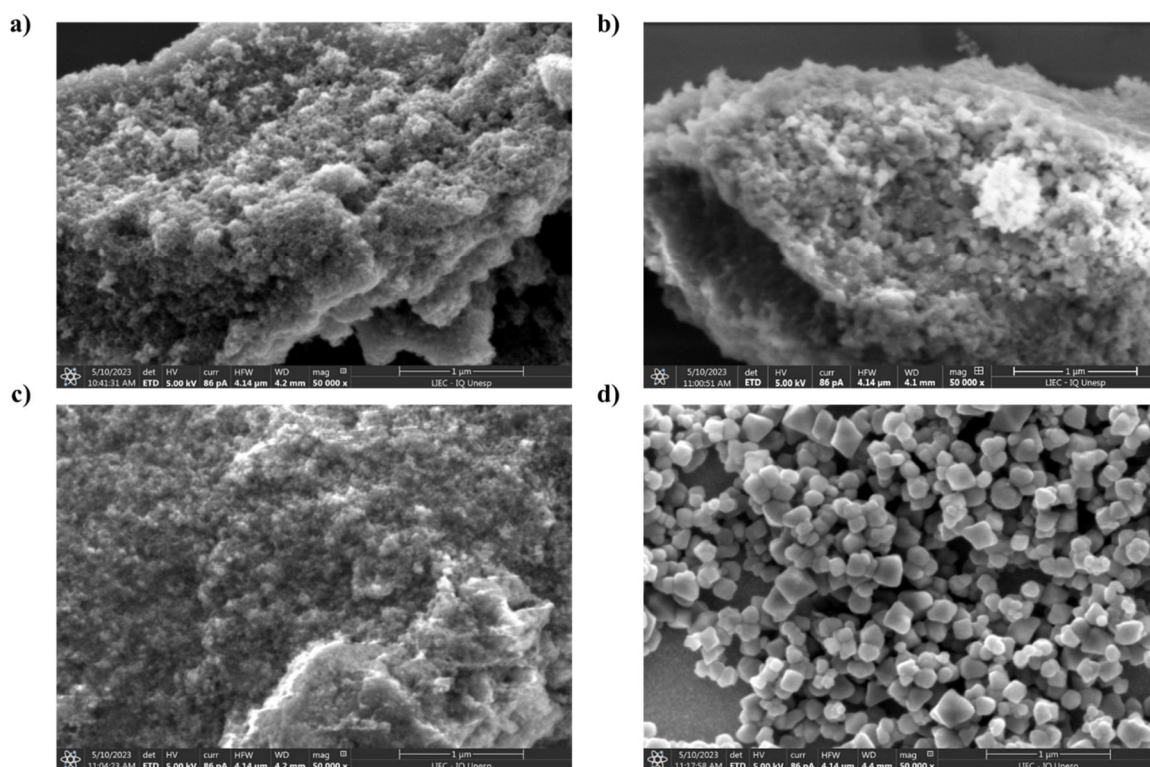


Figura 16: Imagens de microscopia eletrônica de varredura para **a)** MAG-S, **b)** CAT1, **c)** CAT2 e **d)** MAG-C.

5.5. Degradação dos macrolídeos por processo foto-Fenton heterogêneo

Antes de realizar os experimentos de degradação, realizou-se um estudo para verificar a estabilidade dos macrolídeos em diferentes valores de pH (Figura 17). Preparou-se uma solução 10 mg L^{-1} de cada fármaco (pH inicial 6) e realizou-se análises cromatográficas da solução recém preparada, após o ajuste de pH da solução e após 24 horas com o pH ajustado.

Com a mudança de pH de 6 para 2, houve uma redução no sinal analítico de aproximadamente 10%, indicando uma provável hidrólise dos fármacos em meio ácido. O mesmo comportamento foi observado ao alterar-se o pH das soluções para 13, ocorrendo total degradação dos fármacos após 24 h nesse valor de pH. No valor de pH 6 houve uma redução de aproximadamente 15% do sinal analítico após 24 h em temperatura ambiente e nenhuma

redução no sinal quando armazenada em geladeira. Em pH 3,5 ocorreu uma redução de 50% do pico referente apenas à CLA enquanto o pH 11 apresentou redução em 50% do pico referente à AZT após 24 h (Figura 17).

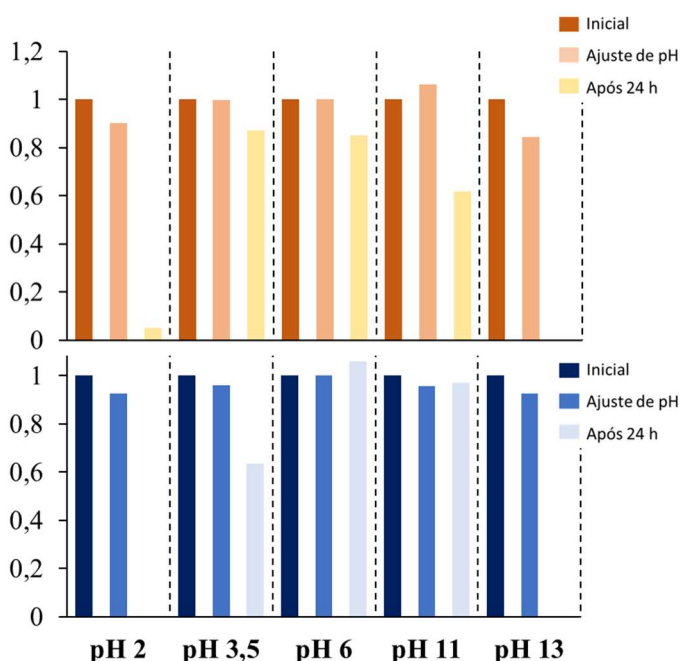


Figura 17: Estabilidade da azitromicina (laranja) e claritromicina (azul) em diferentes valores de pH. $[CLA] = [AZT] = 10 \text{ mg L}^{-1}$.

Nesse sentido, as soluções padrões foram armazenadas em geladeira e o pH 6 (valor de preparo das soluções) foi considerado o ideal para armazenamento das soluções. Experimentos realizados com os fármacos em pH 2,5 e na presença de cobre e ferro, individualmente, não resultaram na degradação observada anteriormente de 10% com o ajuste do pH (Figura 17), provavelmente devido à complexação dos macrolídeos com os metais de transição no meio.

Além disso, antes de iniciar o estudo de degradação dos fármacos realizou-se um estudo de reutilização de filtros de seringa para os 3 antibióticos. Observou-se que o filtro de PVDF 0,45 μm causa retenção dos macrolídeos enquanto o filtro de Nylon 0,45 μm não causa retenção mesmo após 6 ciclos de utilização. Nos experimentos realizados na Itália, o filtro de PTFE 0,45 μm foi avaliado e utilizado por também não causar retenção de AZT, CLA ou SMX.

5.5.1. Utilização de CAT1 como catalisador

Estudou-se a degradação de AZT e CLA em pH 6,5 aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo (Figura 18) utilizando como catalisador o CAT1 e como agente oxidante H_2O_2 .

Experimentos controles foram feitos para avaliar a capacidade de adsorção e a atividade fotocatalítica do CAT1, o qual não apresentou capacidade de adsorção e exibiu baixa atividade fotocatalítica para remoção de AZT e CLA (2% e 10% após 120 min, respectivamente). Essa baixa capacidade de adsorção para magnetitas contendo cobre também foi observada para os fármacos 5-fluorouracil e ciclofosfamida (EMÍDIO; HAMMER; NOGUEIRA, 2020).

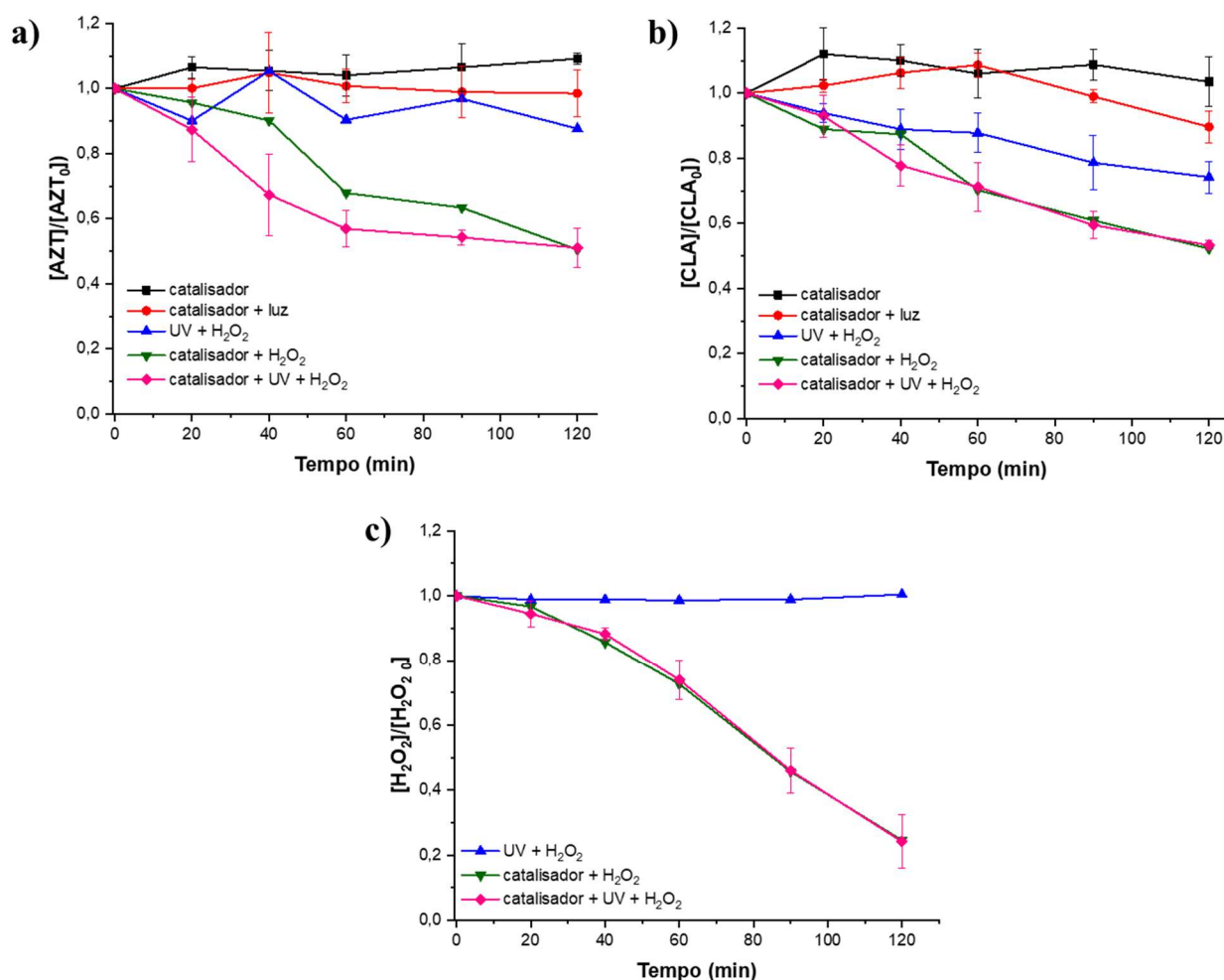


Figura 18: Degradação de **a)** AZT e **b)** CLA por processo foto-Fenton heterogêneo e **c)** consumo de H₂O₂. [CLA] = [AZT] = 6,6 μmol L⁻¹, [CAT1] = 0,125 g L⁻¹, [H₂O₂] = 15 mmol L⁻¹, [ACN] = 1% (v/v), pH = 6,5.

Em experimentos realizados na ausência do catalisador (UV/H₂O₂), evidenciou-se 12% e 26% de contribuição do peróxido de hidrogênio na degradação da AZT e CLA, respectivamente. Experimentos feitos com o catalisador e H₂O₂ na ausência (Fenton) ou presença (foto-Fenton) de irradiação UV-A, mostraram degradação semelhante de ambos os

macrolídeos: a degradação de CLA e AZT atingiu 48% e 50% pelo processo Fenton e 47% e 49% pelo processo foto-Fenton após 120 min, respectivamente. Os experimentos realizados indicam que o catalisador contribui para a degradação da AZT e CLA, mas a irradiação UV-A não influencia diretamente na degradação dos macrolídeos por processo foto-Fenton heterogêneo.

O catalisador apresentou estabilidade em pH 6,5 com $< 1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(II) e $< 30 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cobre lixiviado para a solução, demonstrando uma predominância do processo heterogêneo. Essa avaliação é importante tendo em vista que trabalhos recentes visam o desenvolvimento de catalisadores estáveis e com boa eficiência catalítica (MUNOZ *et al.*, 2015; YIN *et al.*, 2021). O consumo de peróxido de hidrogênio foi de 76% para os processos Fenton e foto-Fenton, o que demonstra que a geração de radicais por ambos os processos é similar e que a fonte de irradiação não influencia na degradação dos macrolídeos. Além disso, o catalisador desenvolvido apresenta uma boa atividade catalítica no escuro, o que implica em uma maior aplicabilidade.

A obtenção dos parâmetros cinéticos de degradação dos macrolídeos foi realizada ajustando os dados obtidos aos modelos de primeira e segunda ordem (Tabela 10). Os valores das constantes cinéticas de degradação (k) são muito próximos ao comparar-se aos valores apenas para primeira ou segunda ordem devido à similaridade na degradação dos macrolídeos utilizando o catalisador e H_2O_2 na presença e ausência de luz. Entretanto, os coeficientes de correlação (R^2) indicam que a degradação de AZT e CLA aplicando o processo Fenton ajusta-se melhor a um modelo de primeira ordem enquanto a degradação por processo foto-Fenton ajusta-se melhor a um modelo de segunda ordem.

Tabela 10: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos dos fármacos aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo usando CAT1 em pH 6,5.

Fármaco	Processo	Primeira Ordem		Segunda Ordem	
		$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	R^2	$k \text{ (M}^{-1} \text{ min}^{-1}\text{)}$	R^2
AZT	Fenton	0,0058	0,9517	0,0080	0,9432
	Foto-Fenton	0,0056	0,8759	0,0080	0,9092
CLA	Fenton	0,0055	0,9770	0,0078	0,9718
	Foto-Fenton	0,0055	0,9870	0,0076	0,9925

Esse melhor ajuste a diferentes modelos ocasiona em uma diferença na magnitude das constantes de cinética de degradação, as quais eram próximas para os processos Fenton e foto-Fenton ao analisar-se apenas um modelo específico. Nesse sentido, a degradação de AZT e CLA por processo foto-Fenton heterogêneo é aproximadamente 1,5 vezes mais rápida que a degradação por processo Fenton heterogêneo, mas atinge valores de degradação muito próximos após 120 min de aplicação do processo.

A diminuição do pH para 5,4 aumentou a degradação dos macrolídeos, que atingiu 57% e 68% para AZT e CLA após 120 min, respectivamente (Figura 19). Experimentos realizados apenas com o CAT1 em solução, na presença e ausência de luz, demonstraram a baixa atividade catalítica e capacidade adsorptiva do CAT1 neste valor de pH, enquanto experimentos realizados com o catalisador + H_2O_2 (Fenton) resultou em valores próximos de degradação dos macrolídeos em comparação aos resultados obtidos aplicando o processo foto-Fenton. Nesse caso, a irradiação não influenciou a degradação dos macrolídeos ao analisar-se apenas a remoção após 120 min de aplicação do processo.

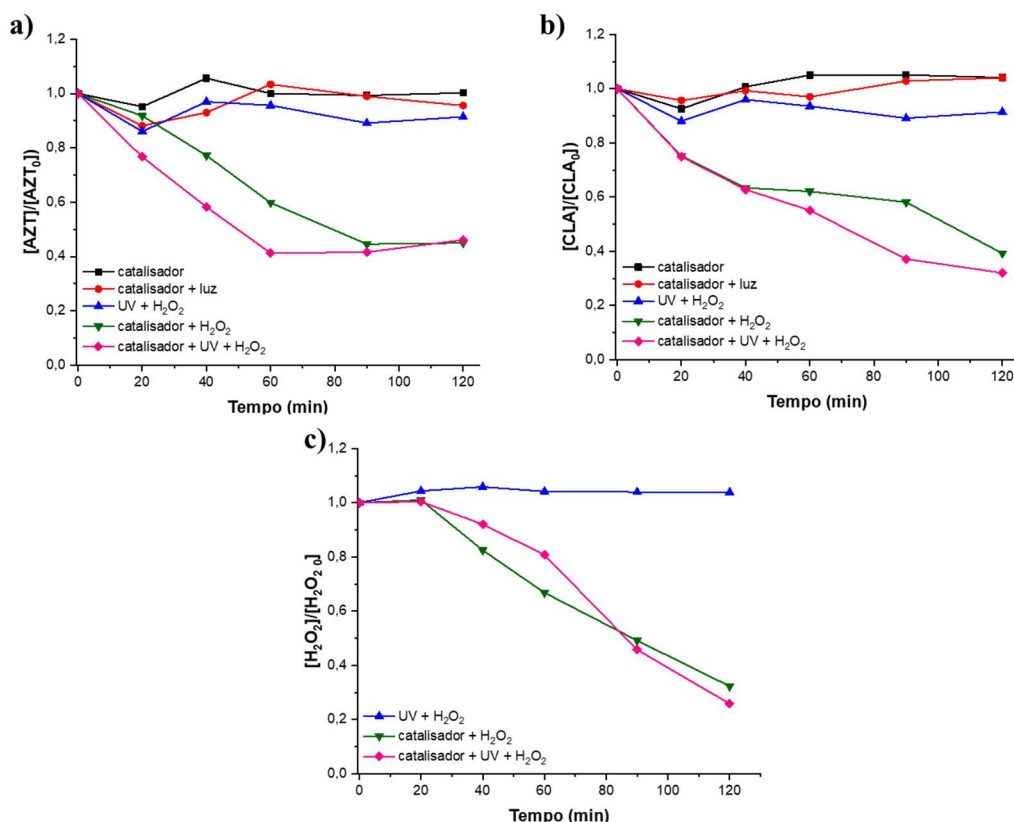


Figura 19: Degradação de **a)** AZT e **b)** CLA aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo e **c)** Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, $\text{pH} = 5,4$.

A degradação de AZT e CLA utilizando H_2O_2 na presença de irradiação (UV/ H_2O_2) ocasionou em remoção de, respectivamente, 13% e 9% após 120 min de aplicação do processo. Essa remoção é menor (CLA) e próxima (AZT) em comparação aos resultados obtidos em pH 6,5 (12% e 26% para AZT e CLA, respectivamente), o que geralmente não acontece porque espera-se que mais radicais hidroxilas sejam gerados em valores mais baixos de pH e acelere o processo de degradação. Outro autor obteve resultados similares ao estudar a degradação de AZT utilizando a radiação solar como fonte de irradiação (CANO *et al.*, 2020). O consumo de H_2O_2 foi próximo para os processos Fenton (68%) e foto-Fenton (75%) em pH 5,4, idem aos resultados obtidos em pH 6,5.

Ao ajustar-se os dados obtidos com os experimentos de degradação aos modelos de primeira e segunda ordem para obtenção das constantes cinéticas de degradação (Tabela 11) observa-se que o modelo de primeira ordem melhor se ajusta a todos os processos. Os valores das constantes também variam entre os processos Fenton e foto-Fenton para a CLA, não sendo permitido tirar conclusões sobre o mesmo resultado para a AZT devido ao valor baixo de R^2 obtido para o processo foto-Fenton.

Tabela 11: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos dos fármacos aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo usando CAT1 em pH 5,4.

Fármaco	Processo	Primeira Ordem		Segunda Ordem	
		k (min ⁻¹)	R ²	k (M ⁻¹ min ⁻¹)	R ²
AZT	Fenton	0,0079	0,9391	0,0126	0,9327
	Foto-Fenton	0,0071	0,7122	0,0118	0,6925
CLA	Fenton	0,0066	0,9047	0,0109	0,8854
	Foto-Fenton	0,0095	0,9820	0,0181	0,9793

A constante de velocidade de degradação de CLA é 1,5 vezes maior no processo foto-Fenton em comparação ao processo Fenton, sendo evidenciada uma contribuição da irradiação na degradação do antibiótico, análogo ao resultado obtido em pH 6,5. Entretanto, em pH 5,4, o processo foto-Fenton ajustou-se melhor a um modelo de primeira ordem, diferente dos resultados em pH 6,5 em que o processo foto-Fenton ajustou-se melhor a um modelo de segunda ordem. Isso ocorre devido a uma maior taxa de geração de radicais hidroxila que contribuem para que a degradação ocorra segundo o modelo linear de primeira ordem.

Estudou-se em pH 5,4 o efeito da concentração de H_2O_2 na degradação dos macrolídeos para otimizar as condições de aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo (Figura 20). A concentração de 15 mmol L^{-1} de H_2O_2 favoreceu a degradação de ambos os macrolídeos com degradação de 56% (AZT) e 68% (CLA) após 120 min de aplicação do processo. A degradação de AZT e CLA utilizando 5 mmol L^{-1} de H_2O_2 foi de, respectivamente, 24% e 34% enquanto utilizando 10 mmol L^{-1} foi de 30% e 36%, valores próximos. Além disso, o consumo de H_2O_2 em todas as concentrações foi alto, demonstrando que a degradação dos macrolídeos está condicionada à concentração de peróxido de hidrogênio no meio. Nesse sentido, os 25% de H_2O_2 residual após 120 min de aplicação do processo, utilizando 15 mmol L^{-1} de concentração inicial, indicam a disponibilidade de $3,75 \text{ mmol L}^{-1}$ ainda no meio reacional, valor equivalente ao H_2O_2 residual após 20 min de aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo utilizando 5 mmol L^{-1} de H_2O_2 como concentração inicial. Após 120 min de aplicação do processo, o consumo de H_2O_2 foi de 72% e 80% utilizando como concentração inicial 10 e 5 mmol L^{-1} de H_2O_2 , respectivamente.

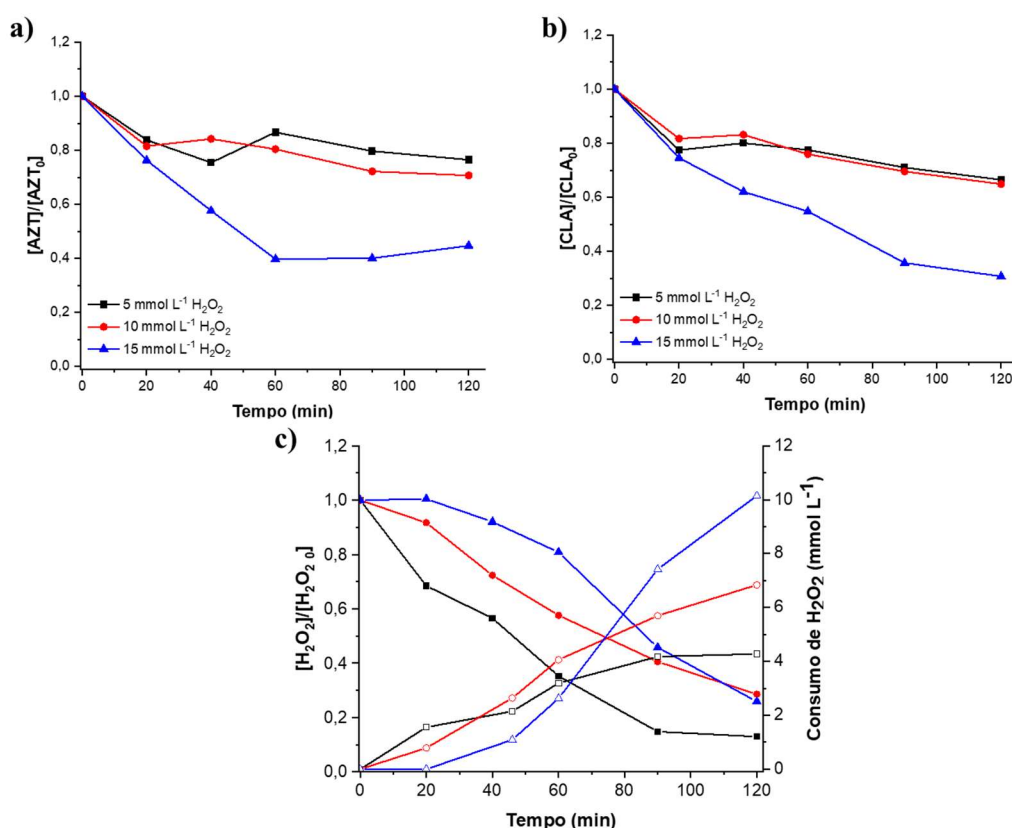


Figura 20: Efeito da concentração de H_2O_2 na degradação de **a)** AZT e **b)** CLA; **c)** consumo de H_2O_2 em razão C/C_0 (símbolos fechados) e em mmol L^{-1} (símbolos abertos). $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, $\text{pH} = 5,4$.

Os valores em porcentagens, embora próximos ao observar-se a razão C/C_0 , destoam entre si após 60 min de reação ao observar-se o consumo de H_2O_2 em $mmol\ L^{-1}$ (Figura 20c). O consumo, após 120 min de aplicação do processo, foi de 4,3, 6,8 e 10,1 $mmol\ L^{-1}$ para os experimentos iniciando com 5, 10 e 15 $mmol\ L^{-1}$ de H_2O_2 , respectivamente. Esses resultados evidenciam a importância da concentração inicial de H_2O_2 na degradação dos macrolídeos.

Os catalisadores sintetizados com cobre geralmente consomem altas concentrações de H_2O_2 (DE JESUS *et al.*, 2022; EMÍDIO *et al.*, 2020), o que indica que altas concentrações de H_2O_2 favorecem a degradação pela função do H_2O_2 como reagente limitante e a dependência da degradação com a taxa de radicais hidroxila gerados na reação de Fenton. Além disso, a presença de ACN 1% (v/v) no meio reacional (concentração de 5,88 $g\ L^{-1}$ em solução e carbono orgânico total teórico de 3,44 $g\ L^{-1}$) é muito superior à concentração dos macrolídeos (6,6 $\mu mol\ L^{-1}$, equivalente a 5 $mg\ L^{-1}$ de cada antibiótico), o que demanda uma maior concentração de H_2O_2 para a degradação dos macrolídeos devido à oxidação simultânea da ACN no meio (MICARONI; BUENO; JARDIM, 2004).

Com o objetivo de comparar a degradação dos macrolídeos com outro antibiótico de estrutura mais simples e pertencente a uma diferente classe, experimentos de degradação foram realizados utilizando CAT1 como catalisador para degradar Sulfametoxazol (SMX). O SMX foi escolhido por ser muito utilizado (CHEN; WANG, 2021; OYEKUNLE *et al.*, 2022; TROVÓ *et al.*, 2009) e apresentar um anel com alta densidade eletrônica em sua estrutura química, o que implica que sua degradação aconteça de forma favorável aplicando o processo foto-Fenton devido à facilidade de o radical hidroxila se ligar a moléculas com alta densidade eletrônica por adição eletrofílica, ao contrário dos macrolídeos.

A degradação de SMX (mesma concentração de 6,6 $\mu mol\ L^{-1}$) atingiu 91% após 120 min de aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo (Figura 21a) com um menor consumo de H_2O_2 , mesmo na presença de ACN (Figura 21b) em comparação com os macrolídeos. Essa diferença no consumo de peróxido provavelmente aconteceu devido ao fato da degradação dos macrolídeos ocorrer de forma simultânea enquanto a do SMX foi realizada individualmente.

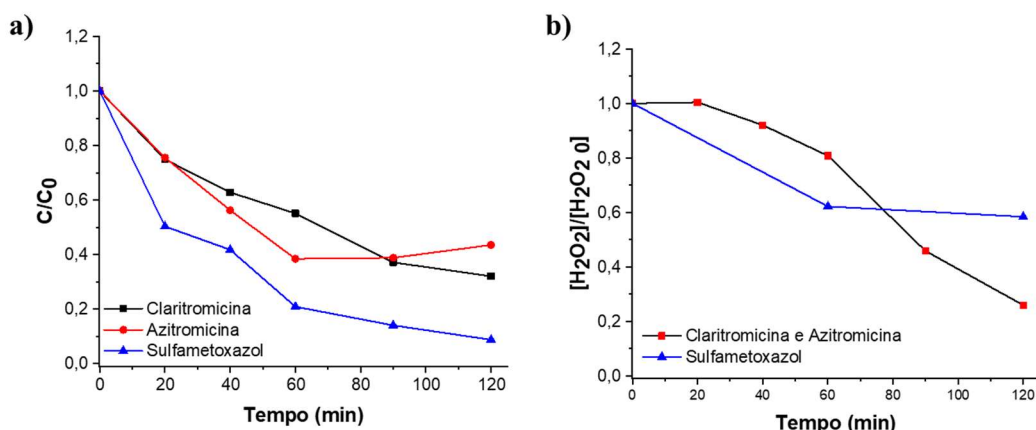


Figura 21: a) Degradação de AZT, CLA e SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo e **b)** Consumo de H_2O_2 . $[CLA] = [AZT] = [SMX] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[CAT1] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[H_2O_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[ACN] = 1\% \text{ (v/v)}$ e $\text{pH} = 5,4$.

A degradação do SMX apresenta uma constante de cinética de degradação igual a $0,0203 \text{ min}^{-1}$ ($R^2 = 0,9791$) quando ajustada a um modelo de primeira ordem enquanto apresenta constante de cinética de degradação igual a $0,0925 \text{ min}^{-1}$ ($R^2 = 0,9518$) quando ajustada a um modelo de segunda ordem. O modelo de primeira ordem foi o que apresentou melhor ajuste para a degradação do SMX, entretanto o modelo de segunda ordem também mostrou um ajuste próximo devido à alta taxa de degradação nos primeiros minutos de aplicação do processo foto-Fenton, ocasionando aproximação entre os ajustes dos modelos de primeira e segunda ordem.

A velocidade de degradação do SMX é aproximadamente 2,5 vezes superior à da CLA e AZT aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo usando $0,125 \text{ g L}^{-1}$ de CAT1 e 15 mmol L^{-1} de H_2O_2 (Tabela 11). Esse resultado indica uma boa atividade catalítica do CAT1 em $\text{pH} 5,4$ para degradação dos antibióticos e um comportamento recalcitrante dos macrolídeos em comparação ao SMX. O comportamento mais recalcitrante dos macrolídeos ao processo foto-Fenton era esperado devido a sua estrutura química que não apresenta alta densidade eletrônica para reagir com o radical hidroxila, o qual é um forte aceptor de elétrons e reage mais rapidamente com compostos com alta densidade eletrônica como o SMX (YILDIZ *et al.*, 2022).

Cabe ressaltar que todos os experimentos foram realizados de forma simultânea para ambos os macrolídeos e individualmente para o SMX, adicionando-se 1% de ACN no meio. A presença de ACN pode influenciar a degradação dos fármacos e, por isso, estudou-se o efeito da concentração de ACN na degradação do SMX (Figura 22). Observou-se que a presença de ACN não afetou a degradação do SMX utilizando CAT1, o que indica uma boa aplicabilidade do catalisador mesmo na presença de uma alta concentração de carbono no meio.

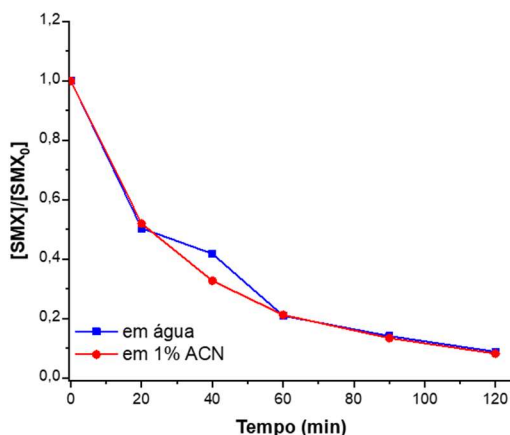


Figura 22: Efeito da concentração de acetonitrila na degradação do SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo com CAT1. $[SMX] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[CAT1] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[H_2O_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $\text{pH} = 5,4$.

5.5.2. Utilização de CAT2 como catalisador

O estudo da atividade catalítica do CAT2 foi realizado na Universidade de Turim na Itália, sendo inicialmente aplicadas as melhores condições determinadas nos experimentos de degradação realizados no Brasil (experimentos com CAT1): 15 mmol L^{-1} de H_2O_2 , $0,125 \text{ g L}^{-1}$ de catalisador e $\text{pH} 5,4$. O CAT2 foi sintetizado com uma menor concentração de cobre visando reduzir a lixiviação de cobre que foi verificada utilizando CAT1 ($< 30 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Entretanto, CAT2 não apresentou atividade para degradar os antibióticos macrolídeos após 120 min de aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo (nas melhores condições verificadas para CAT1) e apresentou 23% de consumo de H_2O_2 (Figura 23a-c). Portanto, o efeito da concentração de H_2O_2 e de catalisador na degradação dos macrolídeos foi estudado utilizando CAT2 (Figura 23d-e, 23g-h). O consumo de H_2O_2 aumentou para 38% usando 10 ou 5 mmol L^{-1} de concentração inicial de H_2O_2 (Figura 23f), porém sem degradar a AZT e CLA. Verificou-se então que CAT2 apresenta uma menor atividade catalítica para degradação dos macrolídeos, mesmo com maior quantidade de catalisador em solução, o que aumentou apenas o consumo de H_2O_2 para 51% e 85% após 150 min usando $0,250$ e $0,500 \text{ g L}^{-1}$ de catalisador, respectivamente (Figura 23g -i).

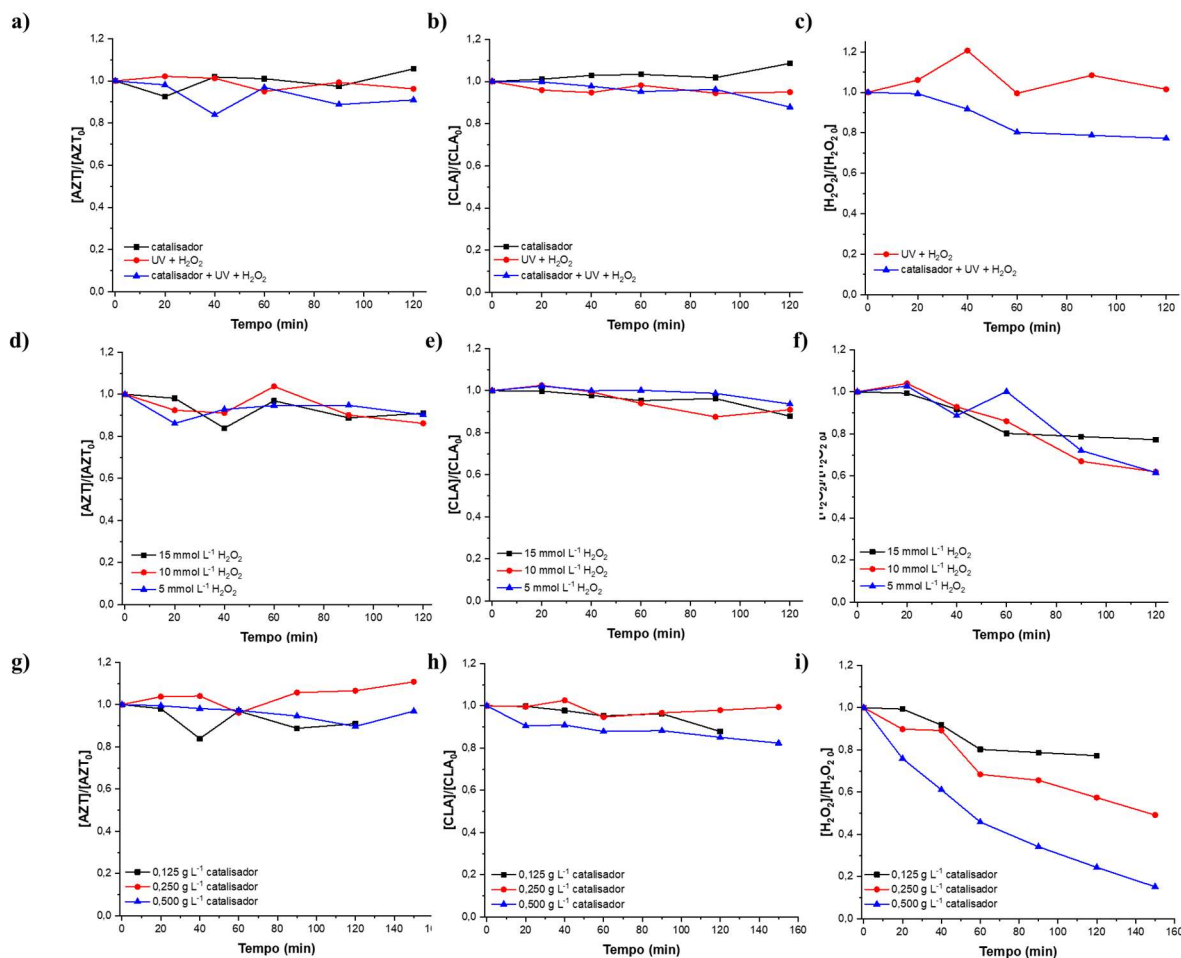


Figura 23: a-c) Degradação de AZT e CLA e consumo de H_2O_2 utilizando $0,125 \text{ g L}^{-1}$ de CAT2 e 15 mmol L^{-1} de H_2O_2 ; d-f) efeito da concentração de H_2O_2 na degradação de AZT e CLA utilizando $0,125 \text{ g L}^{-1}$ de CAT2; g-i) efeito da concentração de CAT2 na degradação de AZT e CLA utilizando 15 mmol L^{-1} de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$, pH 5.4.

Para verificar a atividade catalítica de CAT2 para a degradação de SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo, realizou-se experimentos nas mesmas condições usadas no experimento com os macrolídeos (CAT2 $0,125 \text{ g L}^{-1}$, H_2O_2 15 mmol L^{-1} e pH 5,4). A degradação de SMX atingiu 49% após 120 min de aplicação do processo (Figura 24), valor inferior comparado ao de 91% obtido com CAT1 (Figura 21).

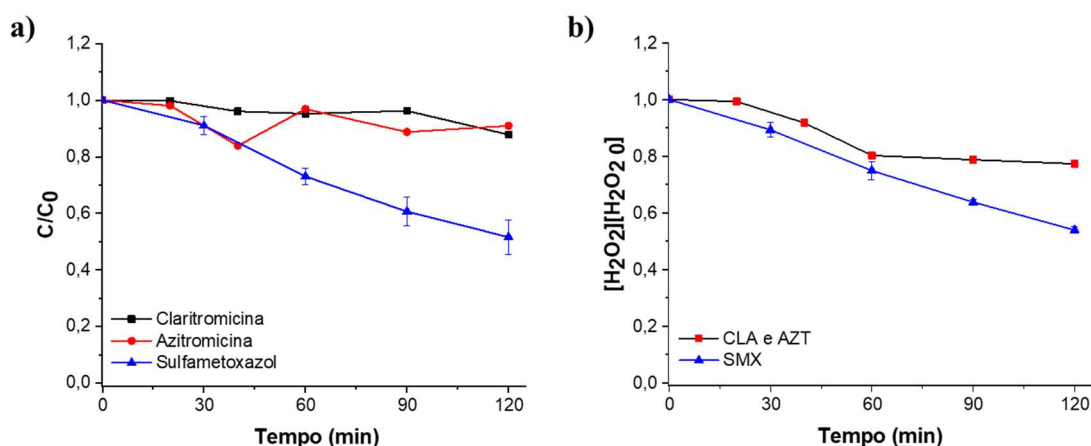


Figura 24: a) Degradação de AZT, CLA e SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo e b) Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = [\text{SMX}] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{CAT2}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$ e $\text{pH} = 5,4$.

Observa-se que CAT2 apresenta uma baixa atividade catalítica para degradação de todos os antibióticos, mas especialmente para a AZT e CLA, os quais degradaram apenas 5% em relação aos 49% do SMX. A menor atividade catalítica de CAT2 em relação a CAT1 foi associada inicialmente à menor lixiviação de cobre em relação a CAT1. Entretanto, experimentos realizados com $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de cobre (superior às concentrações lixiviadas próximas de $30 \mu\text{mol L}^{-1}$) aplicando o processo foto-Fenton homogêneo em $\text{pH} 5,4$ e $2,5$ revelaram uma recalcitrância dos macrolídeos a esse processo (resultado que será apresentado na próxima seção), descartando a possibilidade de a degradação ocorrer em meio homogêneo após a lixiviação de cobre.

Nesse sentido, a baixa atividade catalítica de CAT2 pode ser relacionada com suas propriedades, como a área superficial específica ($148,14 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) muito menor que de CAT1 ($239,58 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$). Foi também observado que CAT1 apresenta a formação de mais aglomerados em sua superfície (Figura 16) com uma menor porosidade (Tabela 9) e é composto por um óxido misto de cobre e ferro com óxido de cobre (Figura 15) com uma maior presença de cobre na composição (Tabela 9). Essas propriedades de CAT1 implicam em uma maior superfície para promover a decomposição do H_2O_2 com mais aglomerados contendo ferro e cobre, o que aumenta a atividade catalítica de CAT1 em relação ao CAT2.

A degradação de AZT e CLA utilizando ambos os catalisadores foi muito semelhante. A inserção do átomo de N no aumento do anel macrolídeo da AZT, responsável por aumentar a atividade antimicrobiana em comparação à outros antibióticos da mesma classe (PETERS;

FRIEDEL; MCTAVISH, 1992), não influenciou a velocidade de degradação da AZT. Esse resultado indica que o mecanismo inicial de degradação da AZT e CLA está condicionado à parte em comum dos fármacos: maior parte da extensão do anel macrolídeos e açúcares ligados ao anel. Resultado análogo foi obtido com os experimentos de complexação.

A degradação de SMX foi superior à de AZT e CLA utilizando ambos os catalisadores, o que indica uma menor recalcitrância do SMX em relação aos macrolídeos, conforme esperado. Com esse resultado é possível inferir que a degradação de AZT e CLA em meio contendo o SMX pode indicar a degradação simultânea de ambos os fármacos por processo foto-Fenton heterogêneo. De modo análogo, apenas a degradação da AZT pode indicar a degradação de CLA (e vice-versa), resultando que o fato de um macrolídeo degradar no meio indica a degradação de outros macrolídeos com estrutura química semelhante e alguns outros antibióticos, como o SMX.

Além disso, os experimentos foram realizados na concentração 1% (v/v) de ACN e o efeito da presença desse solvente na degradação de SMX foi estudado utilizando CAT2 (Figura 25). Observa-se que a presença de ACN no meio influenciou a degradação de SMX utilizando o CAT2, diminuindo a degradação de 72% em água para 49% em meio contendo ACN. Esse resultado é diferente do observado para CAT1, no qual a presença de ACN não influenciou a degradação de SMX. Esses resultados reforçam a menor atividade catalítica de CAT2 em comparação ao CAT1.

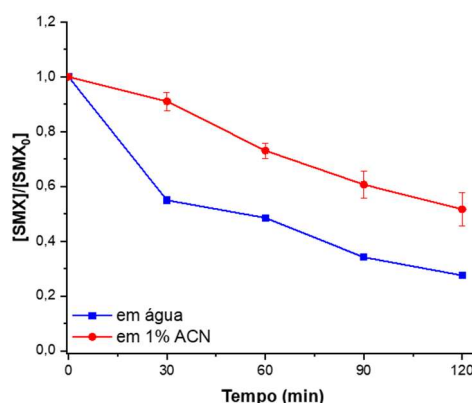


Figura 25: Efeito da concentração de acetonitrila na degradação do SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo com CAT2. $[SMX] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[CAT2] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[H_2O_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$ e $\text{pH} = 5,4$.

As constantes cinéticas de degradação do SMX em ACN e em água usando o CAT2 foram obtidas por meio de um ajuste dos dados obtidos aos modelos de primeira e segunda

ordem (Tabela 12). Na presença de ACN, o modelo de primeira ordem apresenta um melhor ajuste e enquanto na ausência de ACN observa-se um melhor ajuste ao modelo de segunda ordem. Os resultados obtidos indicam que a degradação do SMX em água é 3,8 vezes mais rápida do que na presença de ACN no meio, resultando em uma alta influência do meio na degradação do SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo utilizando CAT2.

Tabela 12: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos do SMX aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo com CAT2 em pH 5,4 na presença e ausência de ACN no meio.

[ACN] %	Primeira Ordem		Segunda Ordem	
	k (min ⁻¹)	R ²	k (M ⁻¹ min ⁻¹)	R ²
0	0,0094	0,9567	0,0222	0,9869
1	0,0058	0,9900	0,0082	0,9784

5.6. Degradação de AZT, CLA e SMX por processo foto-Fenton homogêneo

Com o objetivo de comparar a degradação dos macrolídeos com a do SMX excluindo a limitação da transferência de massa e as características da superfície dos catalisadores sintetizados, aplicou-se o processo foto-Fenton homogêneo em pH 2,5. Usando Fe(II) como catalisador (Figura 26), ambos os macrolídeos apresentaram uma degradação semelhante enquanto o SMX mostrou ser mais degradável.

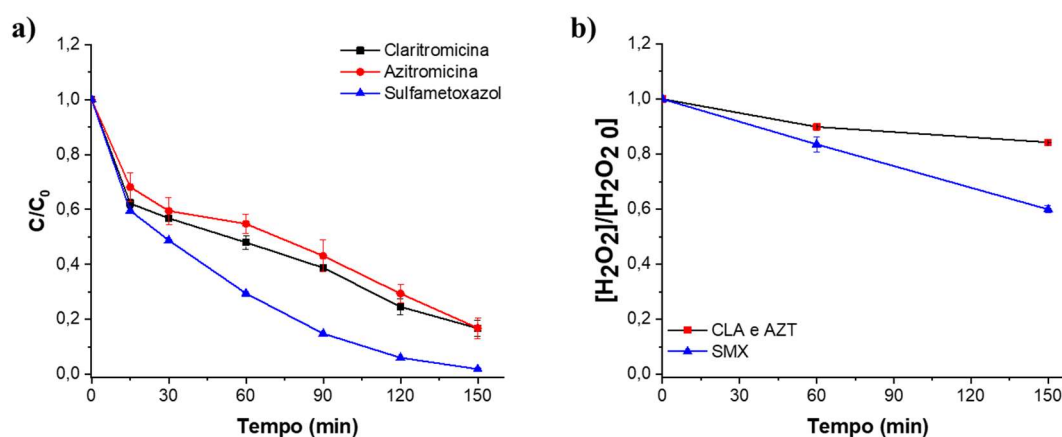


Figura 26: a) Degradação de CLA, AZT e SMX pelo processo foto-Fenton homogêneo; b) Consumo de H_2O_2 . [CLA] = [AZT] = [SMX] = 6,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [Fe(II)] = 0,2 mmol L^{-1} , [H_2O_2] = 2 mmol L^{-1} , [ACN] = 1% (v/v), pH = 2,5.

Mesmo com a formação de complexos de Fe(II), os macrolídeos mostraram-se degradáveis pelo processo foto-Fenton homogêneo atingindo 83% de degradação dos fármacos após 150 min, enquanto a degradação de SMX atingiu 99% após o mesmo período. Nos primeiros 15 min de reação, a degradação de AZT, CLA e SMX foi similar (35-40%) e, após esse período, a degradação do SMX passou a aumentar em comparação com a dos macrolídeos. Usando Fe(II) como catalisador, os primeiros minutos de degradação são mais rápidos do que usando Fe(III) devido à uma maior velocidade de reação com H_2O_2 na reação de Fenton (Equação 1) para liberar um radical hidroxila que vai encetar o processo de degradação. Além disso, a fotoredução de Fe(III) a Fe(II) na reação de Fenton (Equação 2) é prejudicada na presença de complexos de AZT e CLA com ferro em solução, como demonstrado anteriormente.

A menor degradação dos macrolídeos em comparação com o SMX pode ser atribuída à estrutura química dos macrolídeos, que não apresentam anéis com alta densidade eletrônica para favorecer o ataque do radical hidroxila gerado na reação de Fenton. Os valores das constantes de cinética de degradação de primeira ordem foram que melhor se ajustaram para ambos os fármacos (AZT, CLA e SMX) (Tabela 13).

Tabela 13: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos para os fármacos aplicando o processo foto-Fenton homogêneo usando Fe(II) como catalisador em pH 2,5.

Fármaco	Primeira Ordem		Segunda Ordem	
	k (min ⁻¹)	R ²	k (M ⁻¹ min ⁻¹)	R ²
AZT	0,0102	0,9444	0,0275	0,8341
CLA	0,0104	0,9587	0,0292	0,9000
SMX	0,0246	0,9786	0,2698	0,6869

Observa-se uma degradação 2,3 vezes mais lenta para os macrolídeos em comparação ao SMX, o que pode estar associado não apenas à estrutura química mais complexa da AZT e CLA, mas também a um efeito de complexação dos macrolídeos com ferro, sua maior massa molar ou devido ao principal mecanismo envolvido na fotodegradação dos fármacos. Espera-se que a degradação de SMX ocorra por meio da adição eletrofílica do radical hidroxila gerado na reação de Fenton ao anel aromático, enquanto espera-se que a degradação dos macrolídeos ocorra por transferência eletrônica. A complexação do ferro com os macrolídeos reduz a

geração de Fe(II) no meio, porém a quantidade gerada ainda é suficiente para reagir com H_2O_2 e degradar os macrolídeos.

Ao aumentar a concentração de ferro para 1 mmol L^{-1} , a degradação de todos os fármacos ocorreu em apenas 5 min de aplicação do processo homogêneo. Porém, nesses experimentos realizados, a concentração de catalisador era 150 vezes superior que a concentração dos fármacos.

Cabe ressaltar que todos os experimentos foram realizados de forma simultânea para os macrolídeos e individualmente para o SMX, adicionando-se 0,1% (v/v) de ACN no meio. Ao estudar-se a influência da concentração de ACN na degradação do SMX aplicando o processo foto-Fenton homogêneo (Figura 27), verificou-se uma alta interferência na degradação do SMX à medida que se aumentou a concentração de ACN no meio.

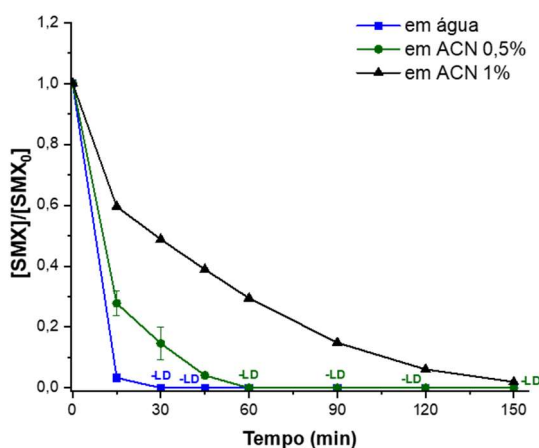


Figura 27: Efeito da concentração de acetonitrila na degradação do SMX aplicando o processo foto-Fenton homogêneo. $[\text{SMX}] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{Fe(II)}] = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,5$.

A degradação do SMX atingiu 97% após 15 min e ficou abaixo do LD após 30 min em experimentos realizados na ausência da ACN, o que significa que $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de Fe(II) gerou $\cdot\text{OH}$ suficiente para degradar o SMX após 30 min em água. Ao aumentar a concentração de ACN para 0,5 % (v/v), a degradação do SMX ficou abaixo do LD após 60 min de aplicação do processo, enquanto ao aumentar a concentração para 1% (v/v) a degradação de SMX atingiu 99% somente após 150 min de aplicação do processo. A degradação na presença de ACN ocorre mais lentamente devido ao alto teor de carbono no meio ($4,6 \text{ g L}^{-1}$), tendo em vista que em

outros estudos realizados evidenciou-se a baixa reatividade da ACN como sequestrador do radical hidroxila (BRIZZOLARI *et al.*, 2017).

A degradação de AZT, CLA e SMX também foi estudada utilizando Cu(II) como catalisador em pH 2,5 (Figura 28). Nos estudos realizados sobre a complexação de cobre com os macrolídeos, verificou-se que a AZT e CLA são agentes redutores do cobre e formam complexos estáveis com Cu(I) em solução. Entretanto, mesmo com uma maior geração de Cu(I) a partir de Cu(II), a degradação de AZT e CLA utilizando cobre como catalisador não foi significativa, enquanto a degradação de SMX atingiu 54% após 150 min de aplicação do processo em água. A adição de ACN 1% (v/v) reduziu a degradação de SMX para 25%.

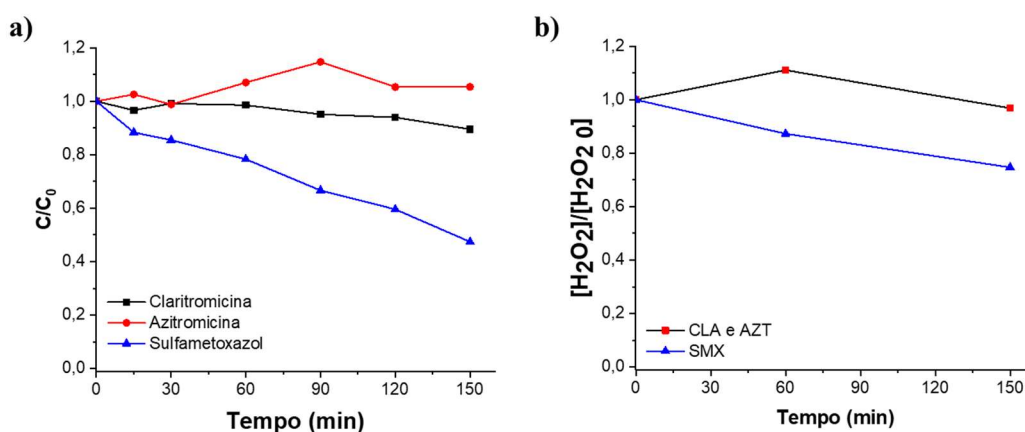


Figura 28: a) Degradação de CLA, AZT e SMX pelo processo foto-Fenton homogêneo; b) Consumo de H_2O_2 . $[CLA] = [AZT] = [SMX] = 6,6 \mu mol L^{-1}$, $[Fe(II)] = 0,2 mmol L^{-1}$, $[H_2O_2] = 2 mmol L^{-1}$, pH = 2,5. [%ACN (v/v)] = 1 para AZT e CLA e 0 para SMX.

O consumo de H_2O_2 foi de aproximadamente 4% para os experimentos realizados com os macrolídeos, enquanto foi de 26% para os experimentos com o SMX (Figura 25b). A formação de complexos de cobre com os macrolídeos pode ser responsável pela recalcitrância observada aplicando o processo foto-Fenton homogêneo. Em experimentos realizados com cobre e alterando o pH do meio para 5,4, os macrolídeos também apresentaram recalcitrância ao processo, o que infere que a lixiviação de cobre nos catalisadores heterogêneos (CAT1 e CAT2) e a posterior degradação por processo homogêneo não é o principal mecanismo de degradação, reforçando a importância da atividade catalítica dos catalisadores desenvolvidos.

5.7. Degradação de AZT, CLA e SMX em efluente doméstico

O estudo da degradação simultânea de AZT, CLA e SMX foi realizada em um efluente doméstico com a finalidade de avaliar o efeito da matriz. O efluente coletado apresentava carbono orgânico total igual a $68,52 \text{ mg L}^{-1}$ (CT $115,8 \text{ mg L}^{-1}$ e CI $47,27 \text{ mg L}^{-1}$) e pH igual a 8. Além disso, parâmetros como DBO, oxigênio dissolvido, nitrogênio e fósforos totais, entre outros, podem ser consultados no Anexo 1.

Estudou-se a degradação dos antibióticos por processo foto-Fenton heterogêneo (utilizando CAT1) em efluente e em água (pH ajustado para 8), assim como a degradação por fotólise no efluente para estudar a influência de outros fotossensibilizadores e da luz na degradação dos antibióticos (Figura 29).

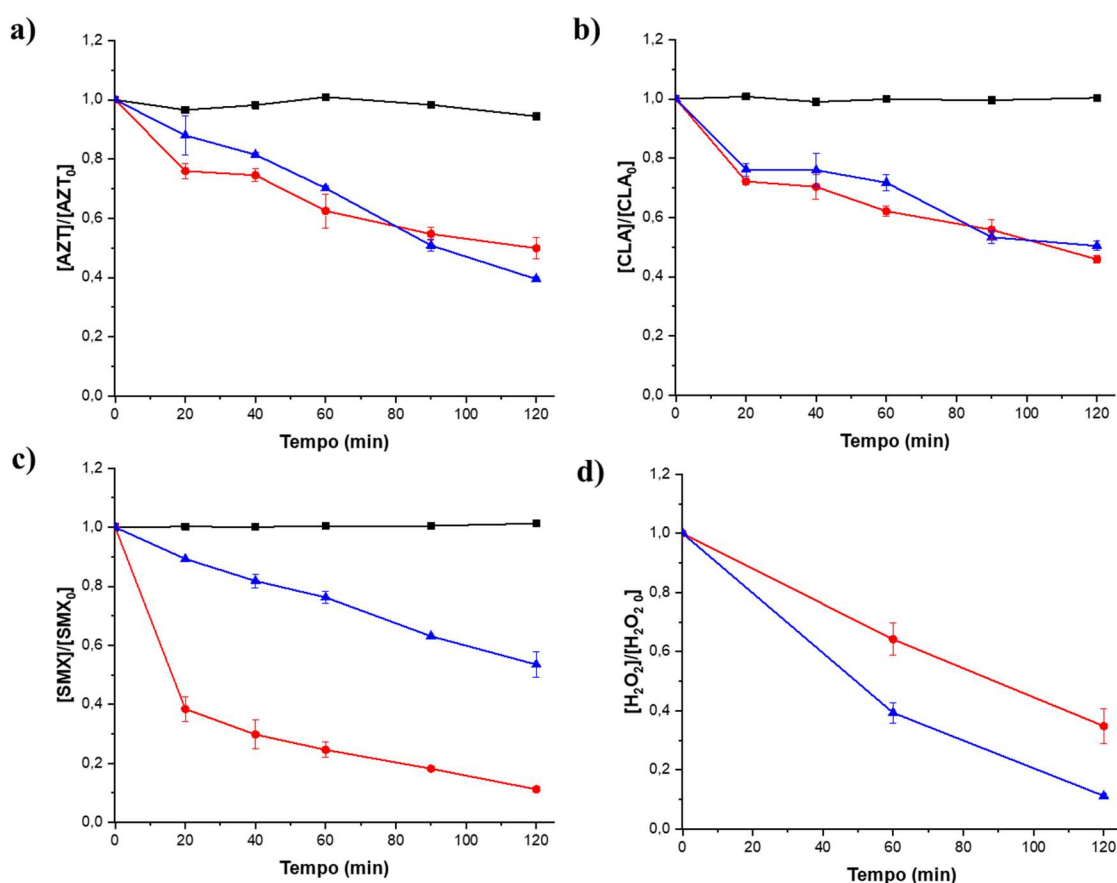


Figura 29: Degradação de a) AZT; b) CLA e c) SMX por fotólise em efluente (-■-) e pelo processo foto-Fenton heterogêneo em água (-●-) e efluente doméstico (-▲-); d) Consumo de H_2O_2 . $[\text{CLA}] = [\text{AZT}] = [\text{SMX}] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{CAT1}] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$; $[\text{H}_2\text{O}_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{ACN}] = 1\% \text{ (v/v)}$; pH = 8.

Em experimentos realizados em efluente e na presença de luz não se observou degradação dos antibióticos, o que indica que os fármacos não são fotolizados e nem degradados indiretamente pela geração de radicais na presença de luz por fotossensibilizadores, como nitrato, presentes no efluente. Além disso, o efluente apresentava uma turbidez de 80 NTU, o que ocasiona em menor penetração da luz, prejudicando a fotorredução de Fe^{3+} .

A degradação de AZT atingiu 61% (em efluente) e 51% (em água) e a degradação de CLA atingiu 50% (em efluente) e 55% (em água), enquanto a degradação do SMX foi de 47% (em efluente) e 89% (em água), após 120 min. A degradação de AZT, após 120 min, foi maior em efluente do que em água, o que indica que outros radicais podem ter sido formados no efluente e favorecido a degradação. A degradação da CLA foi 5% menor em efluente do que em água, o que evidencia uma influência da matriz na degradação da CLA ao considerar-se apenas a remoção de fármaco. Para o SMX, a matriz prejudicou significativamente a degradação do fármaco, o que pode ser também verificado pelas constantes de velocidade, que foram ajustadas aos modelos de primeira e segunda ordem para obtenção dos valores das constantes de cinética de degradação (Tabela 14).

Tabela 14: Parâmetros cinéticos de degradação obtidos dos fármacos aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo (usando CAT1) em efluente da ETE de Araraquara e água (pH ajustado para 8).

Fármaco	Meio ^a	Primeira Ordem		Segunda Ordem	
		k (min ⁻¹)	R ²	k (M ⁻¹ min ⁻¹)	R ²
AZT	Água	0,0055	0,9357	0,0081	0,9702
	Efluente	0,0079	0,9764	0,0128	0,9414
CLA	Água	0,0057	0,9281	0,0088	0,9603
	Efluente	0,0055	0,9256	0,0081	0,9354
SMX	Água	0,0157	0,9031	0,0588	0,9524
	Efluente	0,0052	0,9944	0,0072	0,9784

a = todos os experimentos foram realizados com 1% ACN (v/v) no meio.

Observa-se que a degradação de AZT em água ajustou-se melhor ao modelo de segunda ordem enquanto a degradação em efluente ajustou-se melhor ao modelo de primeira ordem, resultando em valores de magnitude próxima para as constantes. Também se observa que a degradação de CLA ajustou-se melhor ao modelo de segunda ordem, sendo os valores das

constantes de cinética obtidos de magnitude próxima. Esses resultados mostram que a matriz estudada não influenciou na degradação da AZT e CLA por processo foto-Fenton heterogêneo.

A degradação do SMX em água (pH ajustado para 8) ajustou-se melhor ao modelo de segunda ordem enquanto a degradação em efluente ajustou-se melhor ao modelo de primeira ordem. Com isso, observa-se que a degradação do SMX em água é 11,4 vezes mais rápida do que no efluente, mostrando uma influência considerável da matriz na degradação do SMX.

A degradação do SMX foi afetada consideravelmente enquanto a dos macrolídeos não foi afetada pela matriz devido ao mecanismo envolvido na degradação dos fármacos. A degradação do SMX é dependente da adição eletrofílica do radical hidroxila gerado na reação de Fenton ao anel aromático, o que é dificultado na presença de outros fotossensibilizadores presentes no efluente. Além disso, a alta concentração de orgânicos no efluente contribui para uma polarização da densidade eletrônica do meio, o que pode diminuir a taxa de degradação dos fármacos que dependem da densidade eletrônica para a reação com o radical hidroxila, ou seja, fármacos que reagem mais rapidamente com $\cdot\text{OH}$ devido a sua alta nucleoficidade e a boa aceção de elétrons pelo radical hidroxila (YILDIZ *et al.*, 2022).

O mesmo efeito não é observado para os macrolídeos devido ao principal mecanismo de degradação envolvido ser a transferência eletrônica. Nesse caso, a cinética de degradação dos fármacos não depende essencialmente do ataque do radical hidroxila a uma região da molécula com alta densidade eletrônica, embora a degradação ainda seja dependente da taxa de geração de radicais hidroxila no meio. Estudos destacam a substituição do peróxido de hidrogênio por outros agentes oxidantes que gerem radical sulfato $\text{SO}_4^{\cdot-}$ que apresenta menor reatividade do que com a matéria orgânica natural e íons presente em efluentes. Essa menor reatividade ocorre devido ao mecanismo de degradação promovido pelo $\text{SO}_4^{\cdot-}$ por transferência eletrônica (STARLING *et al.*, 2021).

Dessa forma, observou-se neste trabalho que a degradação dos macrolídeos não foi afetada no efluente, enquanto a do SMX foi significativamente afetada por ocorrer através de uma combinação entre os mecanismos de transferência eletrônica, abstração do átomo de hidrogênio e adição eletrofílica, a qual é significativamente afetada devido à polarizabilidade do meio e a menor reatividade do radical hidroxila com substâncias menos nucleofílicas e com baixa capacidade de doação de elétrons (YILDIZ *et al.*, 2022).

O consumo de H_2O_2 foi de 89% em efluente e de 66% em água. Esse resultado era esperado devido à presença de uma maior concentração de matéria orgânica no meio. Ademais,

o efluente foi coletado após tratamento secundário e pode conter a presença de outros contaminantes emergentes, o que não foi verificado por não ser o objetivo da pesquisa.

Também se realizou um monitoramento dos produtos de degradação gerados em efluente e em água por HPLC-DAD ($\lambda = 205$ nm) (Figura 30). Observou-se a formação de 4 produtos de degradação com mesmo t_R (C1-C4) e a formação de outros dois produtos diferentes no efluente e em água, totalizando mais 4 produtos de degradação.

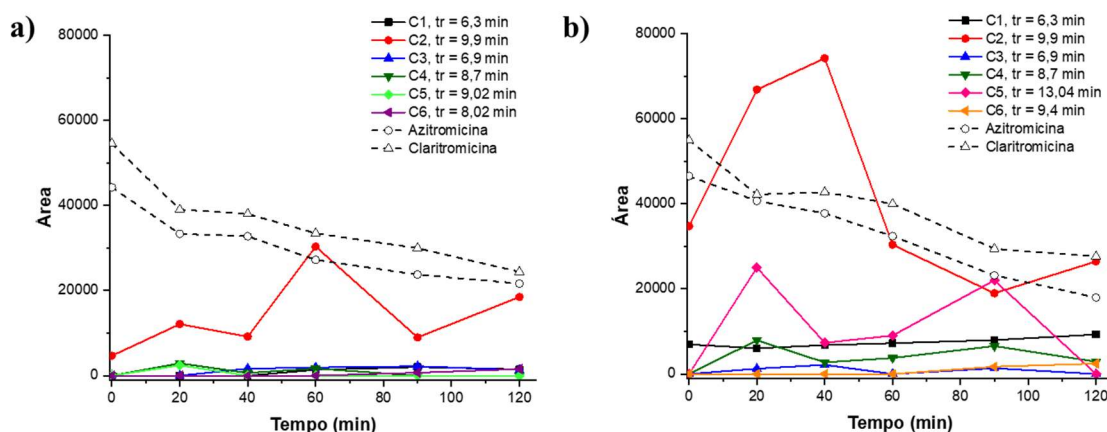


Figura 30: Evolução dos produtos de transformação em a) água e b) efluente durante aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo e comparação com evolução das áreas de AZT e CLA. [CLA] = [AZT] = [SMX] = $6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, [CAT1] = $0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]$ = 15 mmol L^{-1} , [ACN] = 1% (v/v), pH = 8, t_R = tempo de retenção.

A área dos produtos de transformação gerados é em água (Figura 30a) menor que a gerada em efluente (Figura 30b). Além disso, o efluente também apresenta absorção em 205 nm e alguns compostos, os quais não foram identificados, aparecem no tempo 0 min (branco). Cabe ressaltar que embora a área inicial do SMX não esteja representada na Figura 30 por ser muito superior (aproximadamente 310000), alguns produtos podem ser associados diretamente ao SMX, como o C2, que aumenta em experimentos de degradação realizados na presença de SMX.

Supõe-se que o produto C5 no efluente seja um produto de degradação da CLA por sua área aumentar apenas quando a área da CLA diminui. Após aplicação do processo, observa-se a presença de alguns produtos diferentes dos fármacos em solução ainda, indicando a não mineralização da solução após aplicação do processo.

5.8. Produtos de degradação da Azitromicina em água

Os produtos de degradação da AZT gerados nos processos foto-Fenton homogêneo em pH 2,5 (usando Fe(II)) e heterogêneo em pH 5,4 (usando CAT1) foram determinados. Realizou-se a análise em amostras coletadas após 30 min (homogêneo) e 60 min (heterogêneo) devido ao fato de que nesses intervalos de tempo 45% de degradação foram observados para a AZT aplicando ambos os processos. Esses tempos foram escolhidos visando comparar os produtos de transformação gerados em cada processo e obter informações sobre o mecanismo de degradação dos fármacos.

O espectro de massas obtido por meio de um espectrômetro de massas com ionização por electrospray operado em modo positivo (ESI/MS) referente ao padrão de AZT tem íon molecular $[M+H]^+$ de relação massa carga (m/z) 749 e um íon m/z 787 referente ao aduto com potássio $[M+K]^+$ (Figura 31). A presença de potássio se deve ao ajuste do pH da fase móvel para 7,5 com KOH.

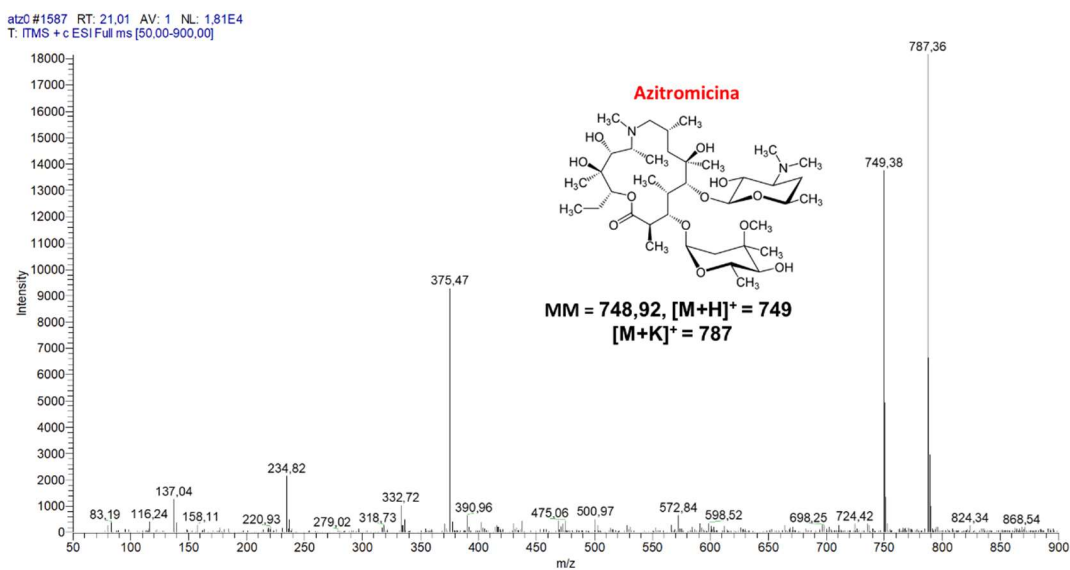


Figura 31: Espectro de massas da Azitromicina.

Os cromatogramas obtidos antes e após aplicação do processo foto-Fenton homogêneo usando o detector UV/DAD (Figura 32a-b) e o detector ESI/MS (Figura 32c-d) indicam a formação de 4 produtos de degradação nomeados como **AZT-A**, **AZT-B**, **AZT-C** e **AZT-D**. Observa-se no cromatograma a diminuição do pico relativo a AZT após aplicação do processo,

indicando que houve a degradação da AZT. Todos os espectros de massas dos produtos de degradação identificados encontram-se no Anexo 2 desta dissertação.

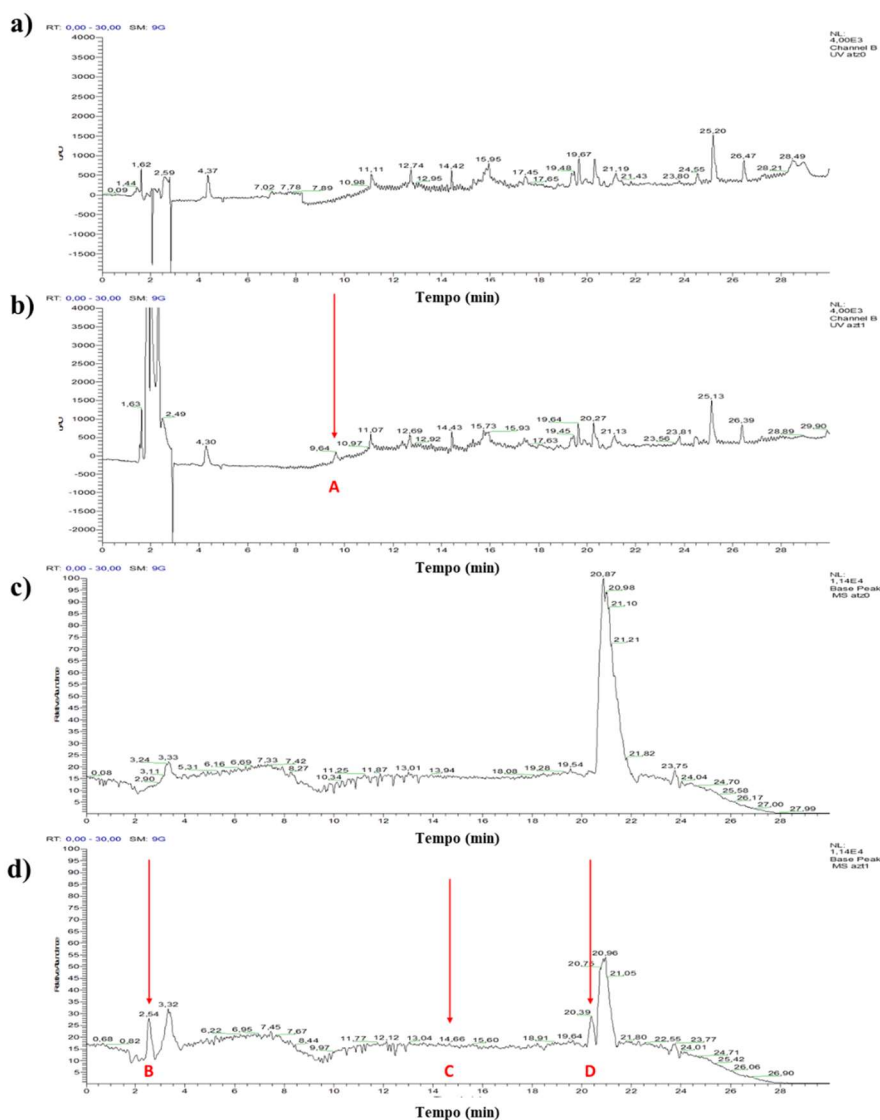


Figura 32: Cromatogramas obtidos para a AZT antes e após aplicação do processo foto-Fenton homogêneo usando os detectores **a-b)** DAD $\lambda = 230$ nm e **c-d)** ESI/MS (*base peak*). [AZT] = 6,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [Fe(II)] = 0,2 mmol L^{-1} , [H₂O₂] = 2 mmol L^{-1} , [ACN] = 0,5% (v/v), pH = 2,5. Amostragem em 30 min.

Dentre os produtos de degradação identificados, **AZT-A** e **AZT-C** $[\text{M}+\text{H}]^+ m/z$ 430 são isômeros. As perdas dos açúcares ligados ao anel macrolídeo (cladinose e desosamina) durante a degradação podem gerar um íon molecular m/z 434, o qual foi relatado na literatura como um produto de transformação da AZT em meio ácido (ČIZMIĆ *et al.*, 2019), ou seja, um produto da hidrólise da AZT que ocorre ao mudar o pH do meio para ácido. Outro estudo identificou um intermediário com m/z 432 referente ao anel macrolídeo da AZT sem os açúcares com a

oxidação de uma hidroxila a um grupo carbonila (NARAGINTI *et al.*, 2019). O íon $[M+H]^+$ m/z 430 sugere que 2 grupos hidroxila no anel lactona foram oxidados a um grupos carbonila após a perda dos açúcares e geraram os isômeros **AZT-A** e **AZT-C** (Figura 33).

O intermediário **AZT-D**, com m/z $[M+H]^+$ 763 é produto da hidroxilação da AZT e oxidação de uma hidroxila a um grupo carbonila na estrutura química do fármaco. No sistema de cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas utilizado não foi possível determinar a estrutura deste produto de degradação devido à presença de muitos grupos hidroxila na estrutura química da AZT. Nesse sentido, desenhou-se três possíveis isômeros para a **AZT-D** (Figura 30).

Outro produto identificado após aplicação do processo foto-Fenton homogêneo foi o **AZT-B**, $[M+H]^+$ m/z 528, foi detectado em 2,54 min de retenção no cromatograma. Este curto tempo de retenção sugere que este produto tem uma polaridade mais alta do que outros produtos de transformação, que apresenta um pico com sinal alto em comparação com os outros produtos de transformação identificados (Figura 32). Nesse caso, a estrutura proposta para **AZT-B** pode ser produto da sêxtupla hidroxilação do anel macrolídeo e oxidação de um grupo hidroxila após as perdas de açúcares cladinose e desosamina (Figura 33). Além disso, o meio ácido favorece perda da desosamina e a cladinose ligadas ao anel macrolídeo, provavelmente influenciando a formação de **AZT-B** em concentração maior que os demais produtos de transformação já mencionados e aumentando a polaridade do produto formado devido à entrada múltipla de grupos -OH no anel macrolídeo. Cabe ressaltar que foi utilizado um espectrômetro de massas de baixa resolução para obtenção dos produtos de transformação propostos neste trabalho. Seria necessário um estudo mais detalhado e específico utilizando espectrômetro de massas de alta resolução para elucidação mais exata dos produtos de transformação.

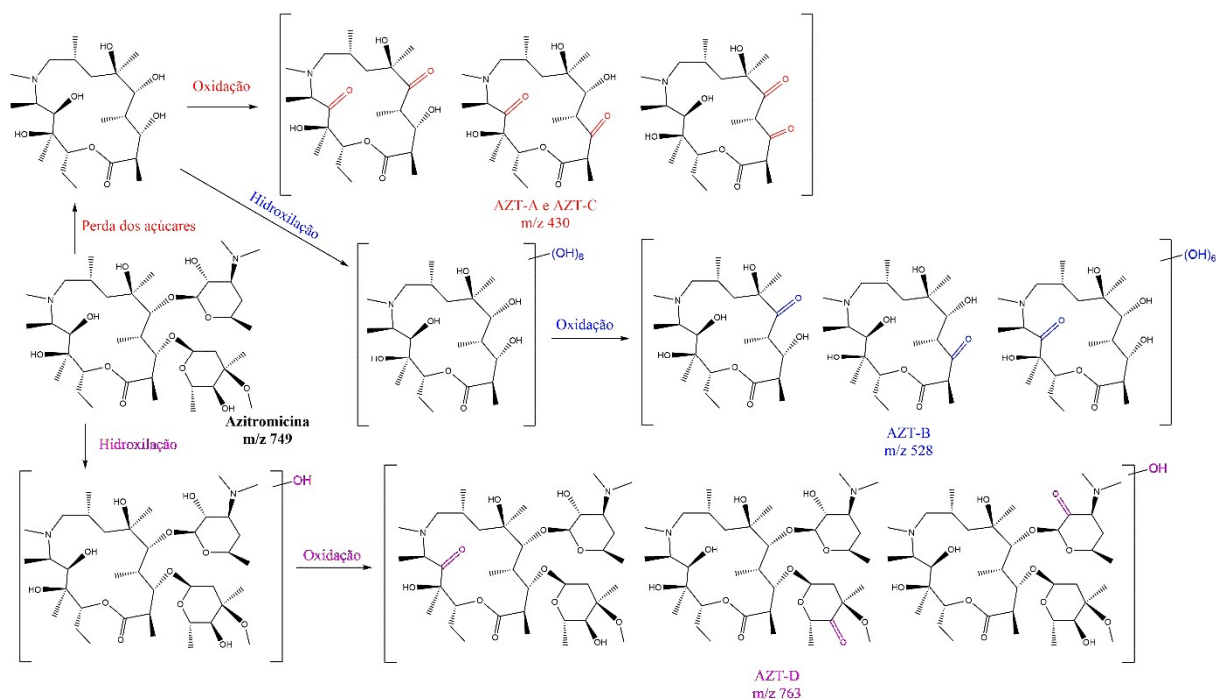


Figura 33: Proposta de produtos de degradação identificados para a AZT aplicando o processo foto-Fenton homogêneo. [AZT] = 6,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$, [Fe(II)] = 0,2 mmol L^{-1} , [H₂O₂] = 2 mmol L^{-1} , [ACN] = 0,5% (v/v), pH = 2,5.

Após 60 min de aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo usando CAT1 0,125 g L⁻¹ e 15 mmol L⁻¹ de H₂O₂ em pH 5,4, foi atingida a mesma degradação da AZT que no processo homogêneo após 30 min (45%). No entanto, nenhum intermediário foi detectado nessas condições, devido possivelmente à baixa concentração formada, inviabilizando a detecção pelo analisador de massas, ou adsorção no catalisador. Nesse sentido, o resultado obtido sugere que a degradação da AZT ocorre por mecanismo ou cinética diferente aplicando os processos homogêneo e heterogêneo. A fim de investigar os produtos de degradação gerados no processo foto-Fenton heterogêneo, analisou-se amostras coletadas após 120 min de aplicação do processo e detectou-se 5 produtos de degradação. Todos os espectros de massas dos produtos identificados encontram-se disponíveis no Anexo 2.

Um dos produtos de transformação detectados apresentou um espectro de massas com baixa intensidade, ou seja, todos os picos dos íons no espectro apresentam intensidades próximas entre si e do branco injetado no sistema, o que impossibilita a proposição de uma estrutura química para o sinal detectado.

Os outros quatro produtos de degradação identificados têm íon molecular protonado $[M+H]^+$ m/z 638, 763, 765 e 767. O produto de degradação $[M+H]^+$ m/z 763 é o produto **AZT-**

D, já identificado no processo foto-Fenton homogêneo (mesmo tempo de retenção, 19,8 min). Os outros três produtos foram nomeados como **AZT-E**, **AZT-F** e **AZT-G**.

O intermediário **AZT-E**, $[M+H]^+$ m/z 765, é um produto gerado pela hidroxilação da AZT sem perda dos açúcares desosamina e cladinose, considerando que em pH 5,4 não ocorre o favorecimento da perda dos açúcares ligados ao anel macrolídeo (Figura 34). Enquanto isso, o intermediário **AZT-F** $[M+H]^+$ m/z 638 foi gerado após a perda do açúcar desosamina do anel macrolídeo seguida da tripla hidroxilação e uma oxidação de um grupo hidroxila a um grupo carbonila (Figura 34).

O intermediário **AZT-G** $[M+H]^+$ 767 já foi relatado na literatura como uma impureza da AZT, o que representa a entrada da molécula de H_2O na estrutura química do antibiótico (SAITA *et al.*, 2018). A identificação desses produtos sugere que a degradação de AZT por processo foto-Fenton homogêneo e heterogêneo ocorre por diferentes vias com a formação de um intermediário comum (**AZT-D**), sendo influenciada pelo pH do meio e iniciando com uma hidroxilação seguida da perda de um (heterogêneo) ou dois (homogêneo) açúcares.

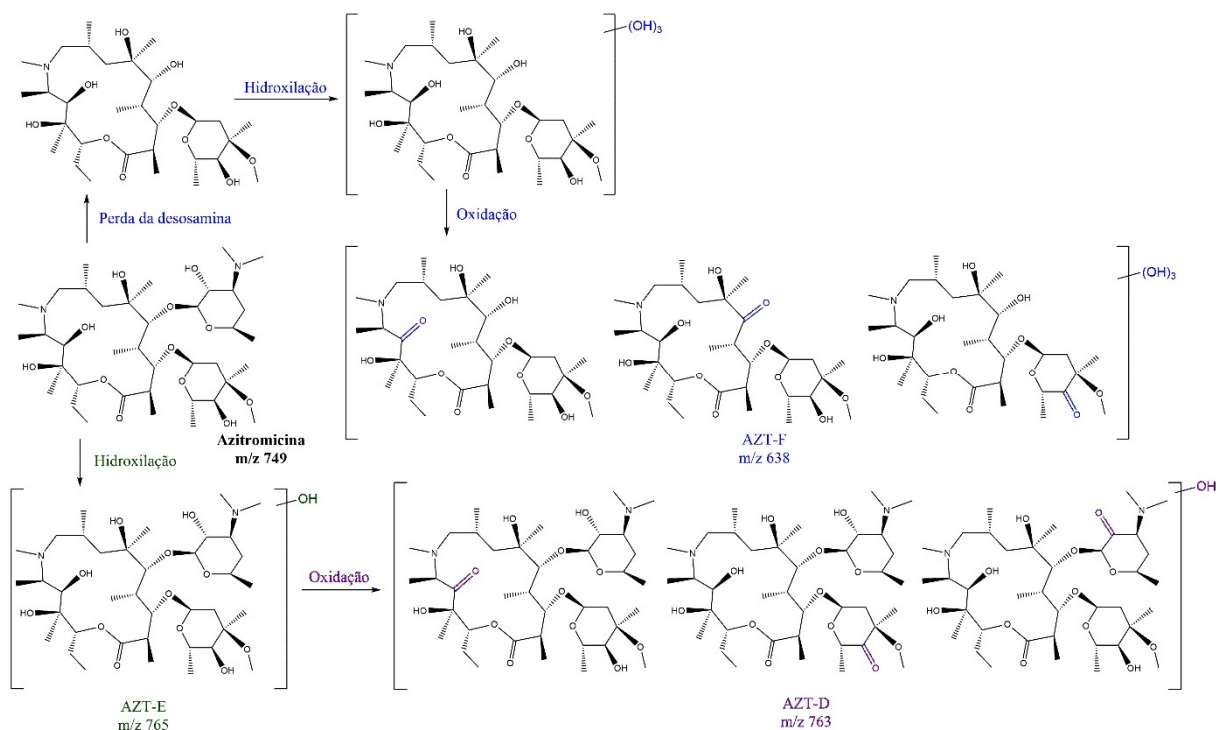


Figura 34: Proposta de produtos de degradação identificados para a AZT aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo. $[AZT] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[CAT1] = 0,125 \text{ g L}^{-1}$, $[H_2O_2] = 15 \text{ mmol L}^{-1}$, $[ACN] = 0,5\% \text{ (v/v)}$, $\text{pH} = 5,4$.

5.9. Produtos de degradação da Claritromicina em água

Os produtos de degradação da CLA gerados nos processos foto-Fenton homogêneo em pH 2,5 (usando Fe(II)) e heterogêneo (usando CAT1) em pH 5,4 foram investigados. Realizou-se a análise em amostras coletadas após 30 min (homogêneo) e 60 min (heterogêneo) devido ao fato de que nesses intervalos de tempo 45% de degradação foi observado para a CLA aplicando ambos os processos. Da mesma forma que AZT, esses tempos foram escolhidos visando comparar os produtos de transformação de degradação gerados em cada processo e obter informações sobre o mecanismo de degradação dos fármacos. O espectro ESI/MS referente ao padrão de CLA tem íon molecular $[M+H]^+$ m/z 748 e um íon m/z 786 referente ao íon $[M+K]^+$ (Figura 35).

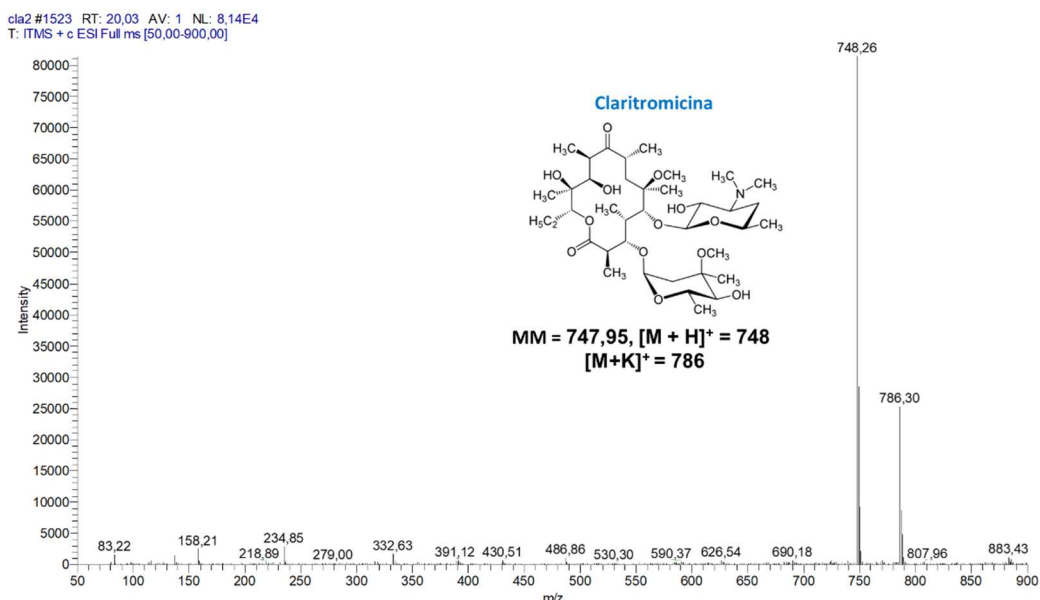


Figura 35: Espectro de massas da claritromicina.

Os cromatogramas obtidos antes e após aplicação do processo foto-Fenton homogêneo usando o detector DAD (Figura 36a-b) e o detector ESI/MS (Figura 36c-d) indicam a formação de 5 produtos de degradação nomeados como **CLA-A**, **CLA-B**, **CLA-C**, **CLA-D** e **CLA-E**. Observa-se no cromatograma a diminuição do pico relativo à CLA após aplicação do processo, indicando que houve a degradação da CLA. Todos os espectros de massas dos produtos de degradação identificados encontram-se no Anexo 2 desta dissertação.

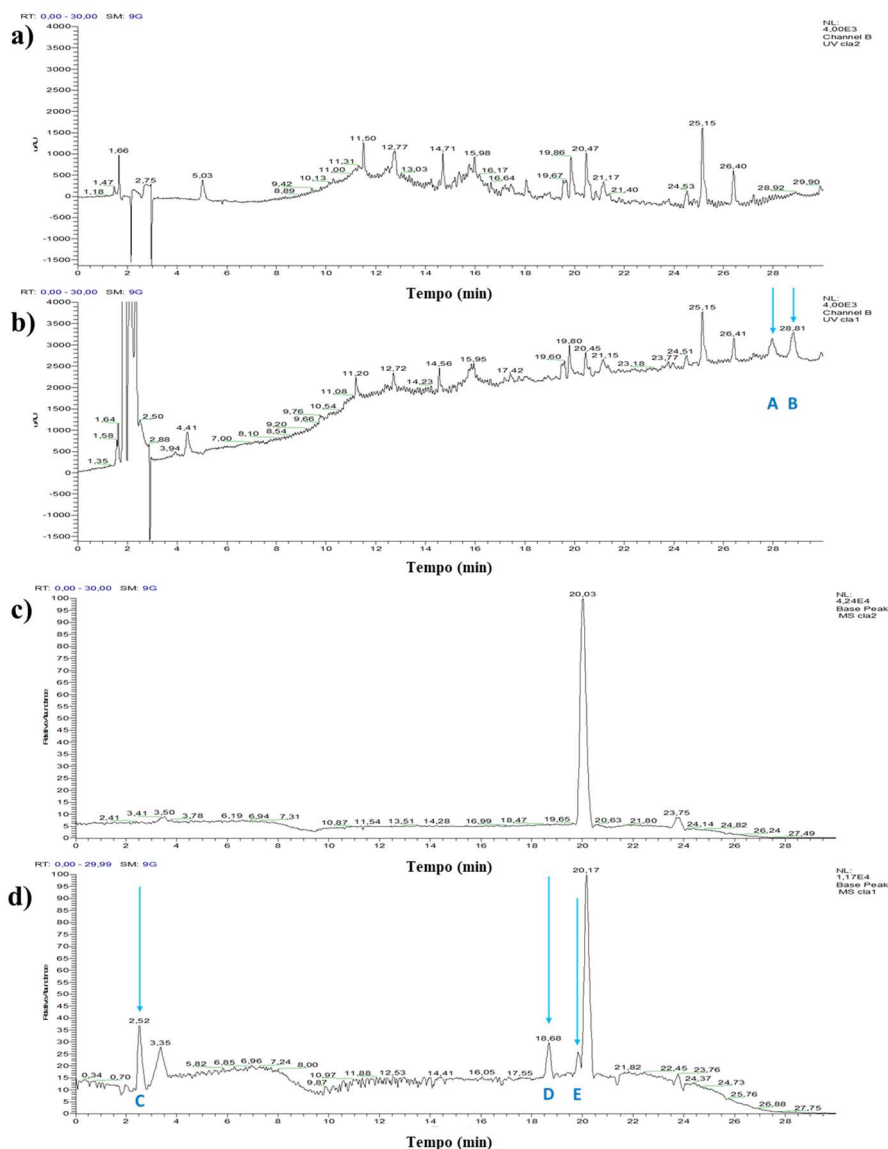


Figura 36: Cromatogramas obtidos para a CLA antes e após aplicação do processo foto-Fenton homogêneo usando os detectores **a-b)** UV/DAD $\lambda = 230$ nm e **c-d)** ESI/MS (*base peak*). [CLA] = $6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, [Fe(II)] = $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, [H₂O₂] = 2 mmol L^{-1} , [ACN] = $0,5\%$ (v/v), pH = 2,5. Amostragem em 30 min.

Dentre os produtos de degradação identificados, dois produtos de fragmentação (**CLA-A** e **CLA-B**) mostraram sinais baixos e próximos ao do branco, dificultando a determinação da estrutura química. Os outros produtos de degradação **CLA-D** e **CLA-E** $[\text{M}+\text{H}]^+ 762$ são isômeros. A estrutura desses produtos de transformação é análoga à estrutura proposta para o produto **AZT-D**, ou seja, produtos de hidroxilação e subsequente oxidação do grupo hidroxila ao grupo carbonila (Figura 37). Além disso, esses produtos também foram identificados em estudo anterior (CALZA *et al.*, 2012).

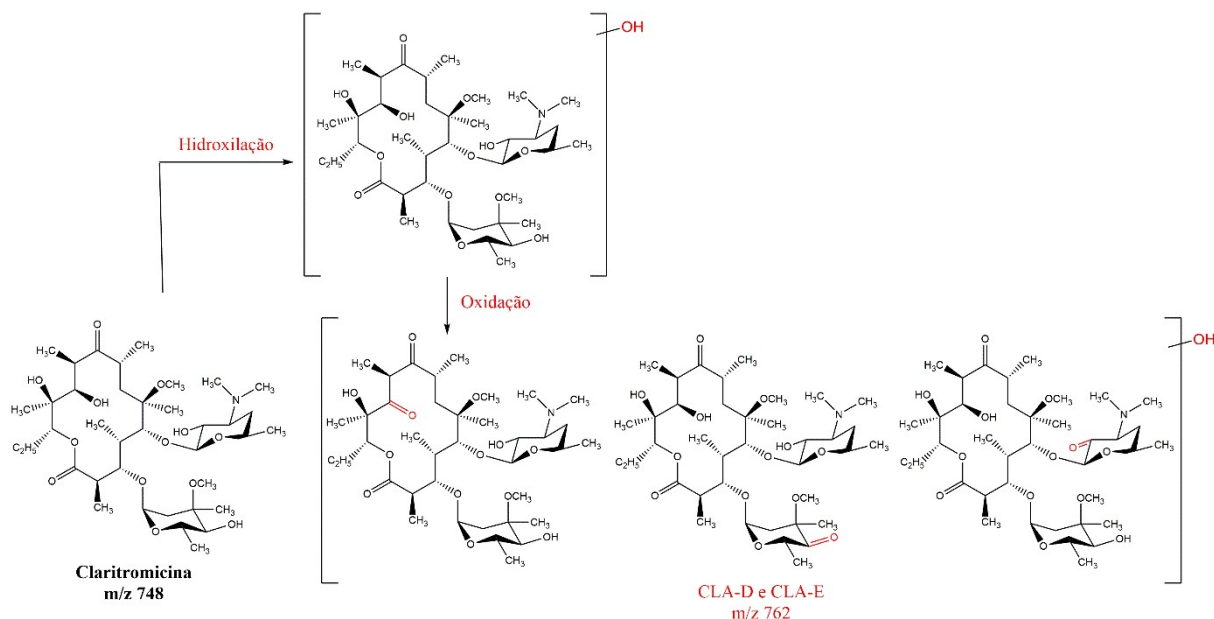


Figura 37: Proposta de produtos de degradação identificados para a CLA aplicando o processo foto-Fenton homogêneo. $[CLA] = 6,6 \mu\text{mol L}^{-1}$, $[\text{Fe(II)}] = 0,2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2 \text{ mmol L}^{-1}$, $[\text{ACN}] = 0,5\% \text{ (v/v)}$, $\text{pH} = 2,5$.

O produto **CLA-C** ($t_r = 2,32 \text{ min}$) apresenta alta polaridade, de forma análoga ao produto **AZT-B**, porém não foi possível identificar o pico do íon molecular para este composto devido ao sinal baixo dos picos em m/z superior a 430. Entretanto, esse produto deve ser resultado de uma constante hidroxilação do anel macrolídico após perda dos açúcares devido à similaridade dos resultados obtidos entre os produtos de degradação da AZT e CLA por processo foto-Fenton homogêneo em $\text{pH} 2,5$. Aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo, não foi possível identificar produtos da degradação de CLA após 60 ou 120 min de aplicação do processo.

5.10. Radicais envolvidos na degradação

Realizou-se experimentos utilizando sequestrantes do radical hidroxila (Figura 38) visando identificar a contribuição dos radicais hidroxila na degradação simultânea de AZT, CLA e SMX em $\text{pH} 8$, assim como avaliar a contribuição de outros radicais que podem ser gerados no processo Fenton, como $\text{HO}_2^\bullet$, $\text{O}_2^{\bullet-}$ e $^1\text{O}_2$. Observa-se que a degradação do SMX não foi inibida na presença do propanol atingindo 90% de degradação após 120 min de aplicação

do processo, enquanto na presença de terc-butanol o SMX atingiu 73% de degradação após 120 min. A degradação de AZT e CLA foi inibida na presença de propanol e terc-butanol.

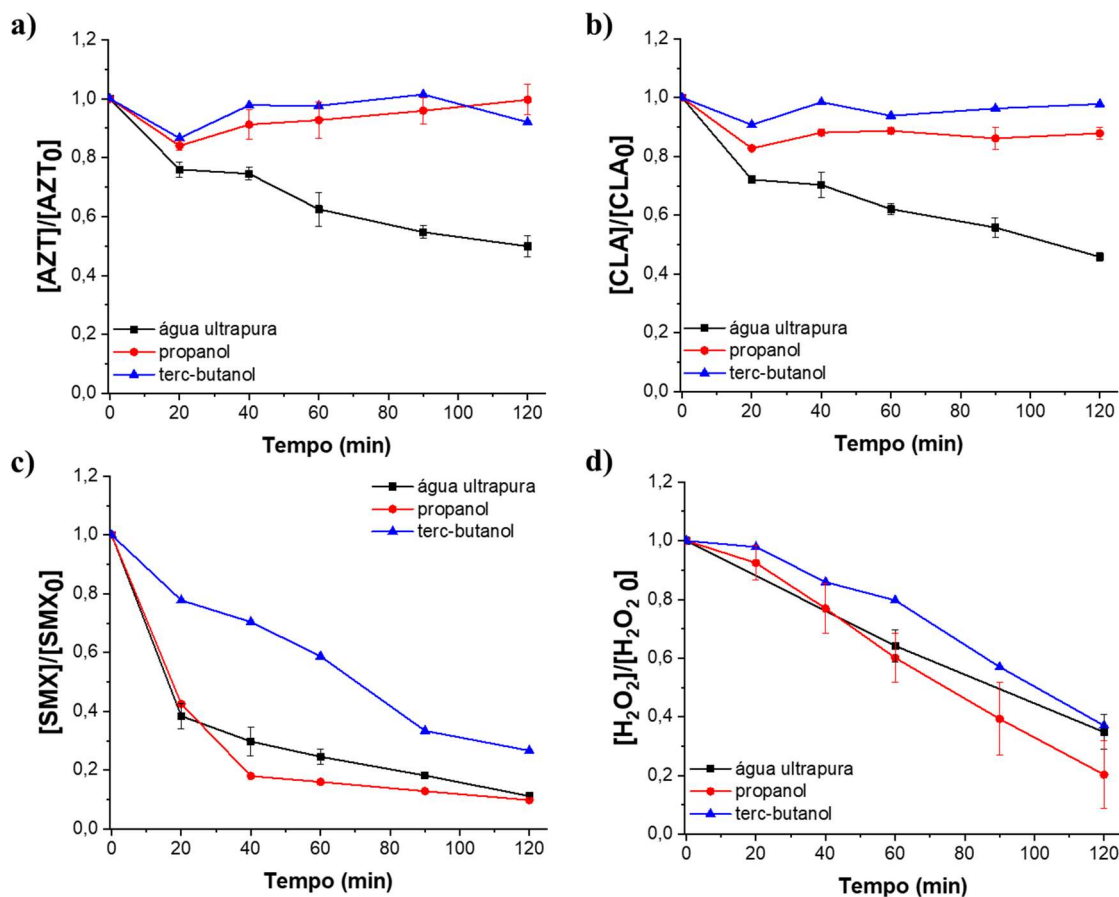


Figura 38: Efeito de diferentes sequestrantes de radicais hidroxila na degradação da **a)** AZT; **b)** CLA e **c)** SMX; **d)** consumo de H_2O_2 . $[CLA] = [AZT] = [SMX] = 6,6 \mu mol L^{-1}$; $[CAT1] = 0,125 g L^{-1}$; $[H_2O_2] = 15 mmol L^{-1}$; $[ACN] = 1\% (v/v)$; $pH = 8$; $[sequestrantes] = 100 mmol L^{-1}$.

Os resultados evidenciam uma dependência na degradação dos macrolídeos com a presença de radicais hidroxila no meio, os quais são os principais radicais envolvidos no mecanismo de transferência eletrônica para degradação de AZT e CLA. Enquanto isso, para o SMX é sugere-se a contribuição de outros radicais no meio para degradação, sendo a degradação inibida apenas quando utilizado o terc-butanol como sequestrante de radical hidroxila no meio. Esse resultado indica que na presença de um sequestrante que não reage tão rapidamente com o radical hidroxila, a reação entre o radical e o SMX ocorre rapidamente e não é inibida, enquanto quando utilizado um sequestrante de radical hidroxila que reage mais rapidamente, observa-se uma redução na taxa de degradação durante a aplicação do processo

foto-Fenton heterogêneo. A contribuição de outros radicais para a degradação do SMX é esperada devido aos diferentes mecanismos envolvidos no processo foto-Fenton.

O consumo de H_2O_2 foi próximo em todos os experimentos, indicando que a decomposição do peróxido de hidrogênio pelo CAT1 na reação de Fenton ocorreu. As outras espécies radicalares envolvidas no processo de degradação do SMX não foram investigadas, porém já foi verificado que outras espécies radicalares participam do processo utilizando diferentes catalisadores (HANG *et al.*, 2022; LI *et al.*, 2021).

Embora seja uma pequena diferença, é possível observar que a degradação de CLA, análoga à degradação do SMX, foi mais inibida na presença de terc-butanol do que na presença de propanol devido à velocidade de reação dos álcoois com o $\cdot OH$. A degradação de AZT foi inibida de forma igual utilizando ambos os sequestrantes, indicando uma maior dependência da degradação da AZT com a presença de radicais hidroxila no meio.

Conforme discutido, o SMX é degradado por processo foto-Fenton heterogêneo através de uma combinação dos mecanismos de adição eletrofílica, abstração do átomo de hidrogênio e transferência eletrônica enquanto o mecanismo de degradação dos macrolídeos é apenas a transferência eletrônica. Os produtos de degradação identificados para os macrolídeos estão de acordo com o observado na contribuição do radical hidroxila para a degradação, sendo os produtos de transformação identificados produtos hidroxilados. Os resultados obtidos contribuem para a compreensão do mecanismo de degradação dos macrolídeos e SMX, as espécies radicalares envolvidas no processo e a recalcitrância desses antibióticos ao processo Fenton.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, desenvolveu-se e validou-se dois métodos analíticos para separação e quantificação da AZT e CLA, assim como para quantificação do SMX. Também foi verificado que a AZT forma complexos em equilíbrios múltiplos com o ferro e cobre, enquanto a CLA forma complexos com proporções estequiométricas definidas. Além disso, observou-se o efeito redutor de ambos os macrolídeos sobre o cobre, formando complexos estáveis de Cu(I) em solução mesmo com a adição de Cu(II) ao meio.

Os complexos formados com ferro diminuem a formação de Fe(II) sob irradiação em um mesmo intervalo de tempo, em comparação aos aquacomplexos de ferro em solução. Entretanto, mesmo prejudicando a formação de Fe(II), os complexos de AZT e CLA com ferro ainda são degradáveis aplicando o processo foto-Fenton homogêneo, porém 2,3 vezes mais lento que a degradação do SMX pelo mesmo processo. A presença de ACN no meio, necessária devido à baixa solubilidade dos macrolídeos, prejudicou a degradação.

Por outro lado, o complexo e Cu(I)-AZT gera mais Cu(I) em solução que os aquacomplexos de cobre em solução. Entretanto, foi observada uma recalcitrância dos complexos de cobre e macrolídeos ao processo Fenton-like homogêneo em pH 5,4 e 2,5, destacando que a complexação não é o único fator que afeta a fotodegradação, mesmo sendo importante devido ao seu papel como redutor de cobre.

Dois catalisadores foram sintetizados para aplicação do processo foto-Fenton heterogêneo com composições diferentes de cobre e ferro, os quais são óxidos de ferro e cobre com a presença de óxido de cobre na composição química, apresentando comportamento de óxido misto (32% e 39%, para o CAT1, e 70% e 8%, para o CAT2, de Fe e Cu, respectivamente). Foi observado que o maior teor de cobre na composição (CAT1) aumentou a área superficial e diminuiu o tamanho médio dos poros dos catalisadores em comparação a MAG-S, aumentando na atividade catalítica dos materiais desenvolvidos.

A degradação de AZT e CLA foi influenciada pelo pH da solução e dependente da concentração de H₂O₂ no meio aplicando o processo foto-Fenton heterogêneo usando CAT1 como catalisador, sendo verificado um aumento na taxa de degradação dos macrolídeos em maiores concentrações de peróxido de hidrogênio. Os processos Fenton e foto-Fenton apresentaram a mesma remoção de AZT e CLA após 120 min de aplicação do processo heterogêneo, entretanto com velocidade de degradação 1,5 vezes maior sob irradiação (processo foto-Fenton heterogêneo), verificado pelas constantes de degradação.

O SMX apresentou uma velocidade de degradação 2,5 vezes maior que os macrolídeos usando CAT1 como catalisador no processo foto-Fenton heterogêneo, não sendo verificado um efeito da presença de ACN no meio em sua degradação. A redução da concentração de cobre na síntese do catalisador (CAT2) resultou em uma baixa atividade catalítica de CAT2 em comparação ao CAT1, provavelmente por CAT2 apresentar menor área superficial e tamanho médio de poros. Nesse cenário, destaca-se a alta atividade catalítica de CAT1 para AZT, CLA e SMX em água e em diferentes valores de pH, atingindo remoções próximas ao processo foto-Fenton heterogêneo após 120 min de aplicação do processo. Além disso, a presença de ACN não prejudicou a degradação por processo Fenton heterogêneo quando se utilizou CAT1.

A degradação de AZT e CLA não foi influenciada pela matriz devido ao mecanismo de degradação de transferência eletrônica, enquanto a degradação do SMX foi muito influenciada devido a uma polarizabilidade do meio e diminuição de sua densidade eletrônica, afetando o mecanismo de degradação por adição eletrofílica ao anel aromático presente em sua estrutura química.

Verificou-se a formação de produtos de transformação para ambos os macrolídeos, sendo alguns não relatados na literatura. Além disso, propõe-se que o mecanismo de degradação possa ocorrer por transferência eletrônica e deva iniciar com hidroxilação seguida da posterior perda de um dos açúcares (processo heterogêneo) ou ambos (processo homogêneo), sendo os produtos identificados influenciados pelo pH do meio e pelas condições oxidantes dos processos.

Todos os resultados obtidos contribuíram para entendimento do mecanismo de degradação dos macrolídeos e o seu comportamento em diferentes valores de pH. A comparação com SMX demonstra uma alta taxa de degradação de SMX em água, sendo que em efluente doméstico a degradação dos macrolídeos foi menos influenciada. Além disso, a degradação dos macrolídeos mostrou uma alta dependência com a presença do radical hidroxila no meio, enquanto a do SMX mostrou contribuição de outros radicais para a degradação. A degradação obtida aplicando os processos homogêneo e heterogêneo foi similar para os macrolídeos, porém com a formação de diferentes produtos de transformação que sugerem um diferente mecanismo de degradação, que também pode ser influenciado pelo pH do meio.

7. PERSPECTIVAS

A partir dos resultados descritos no presente trabalho, pode-se observar que ainda existem possibilidades a serem exploradas relacionadas ao mecanismo de degradação e a eficiência do processo foto-Fenton para degradação de antibióticos macrolídeos. Dessa forma, um estudo sobre a utilização de radical $\text{SO}_4^\cdot$ como agente oxidante pode fornecer informações complementares sobre o mecanismo de degradação dos macrolídeos. Além disso, a realização de experimentos utilizando um espectrômetro de massas de alta resolução em diferentes matrizes pode fornecer mais informações sobre os produtos de transformação gerados e consequentemente o mecanismo envolvido na degradação dos macrolídeos.

A realização de testes de atividades antimicrobianas, a qual era um dos objetivos iniciais do projeto de pesquisa, pode ser empregada para verificar como a geração de subprodutos dos macrolídeos influencia na atividade antimicrobiana e consequentemente inferir a viabilidade de aplicação do processo foto-Fenton para degradação desta classe de antibióticos.

Além disso, experimentos com outras classes de antibióticos podem ser realizadas para comparar com a degradação dos macrolídeos, buscando verificar qual classe apresenta um comportamento mais persistente ao processo foto-Fenton em meio homogêneo e heterogêneo. Outra possibilidade é estudar a presença e comportamento dos macrolídeos no lodo das ETE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL AUKIDY, M.; VERLICCHI, P.; JELIC, A.; PETROVIC, M.; BARCELÒ, D. Monitoring release of pharmaceutical compounds: Occurrence and environmental risk assessment of two WWTP effluents and their receiving bodies in the Po Valley, Italy. **Science of The Total Environment**, v. 438, p. 15–25, nov. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.08.061>>.

ALMEIDA, A. M.; CASTEL-BRANCO, M. M.; FALCÃO, A. C. Linear regression for calibration lines revisited: Weighting schemes for bioanalytical methods. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 774, n. 2, p. 215–222, 2002.

APHA. American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21.ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2017.

ARSAND, J. B.; HOFF, R. B.; JANK, L.; BUSSAMARA, R.; DALLEGRAVE, A.; BENTO, F. M.; KMETZSCH, L.; FALCÃO, D. A.; DO CARMO RUARO PERALBA, M.; DE ARAUJO GOMES, A.; PIZZOLATO, T. M. Presence of antibiotic resistance genes and its association with antibiotic occurrence in Dilúvio River in southern Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 738, p. 139781, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139781>>.

AYALA-DURÁN, S. C.; HAMMER, P.; NOGUEIRA, R. F. P. Surface composition and catalytic activity of an iron mining residue for simultaneous degradation of sulfonamide antibiotics. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 2, p. 1710–1720, 2020.

BAHRAMI, G.; MIRZAEI, S.; KIANI, A. High performance liquid chromatographic determination of azithromycin in serum using fluorescence detection and its application in human pharmacokinetic studies. **Journal of Chromatography B**, v. 820, n. 2, p. 277–281, 25 jun. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1570023205002047>>.

BAHRAMI, G.; MOHAMMADI, B. Determination of clarithromycin in human serum by high-performance liquid chromatography after pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate: Application to a bioequivalence study. **Journal of Chromatography B**, v. 850, n. 1–2, p. 417–422, maio 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S157002320601035X>>.

BASTURK, I.; VARANK, G.; MURAT-HOCAOGLU, S.; YAZICI-GUVENC, S.; CAN-GÜVEN, E.; OKTEM-OLGUN, E. E.; CANLI, O. Simultaneous degradation of cephalexin, ciprofloxacin, and clarithromycin from medical laboratory wastewater by electro-Fenton process. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 1, p. 104666, fev. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104666>>.

BATISTA, A. P. S.; NOGUEIRA, R. F. P. Parameters affecting sulfonamide photo-Fenton degradation - Iron complexation and substituent group. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 232, p. 8–13, 2012. Disponível em:

<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochem.2012.01.016>>.

BENKELBERG, H. J.; WARNECK, P. Photodecomposition of iron(III) hydroxo and sulfato complexes in aqueous solution: Wavelength dependence of OH and 804- quantum yields. **Journal of Physical Chemistry**, v. 99, n. 14, p. 5214–5221, 1995.

BOKARE, A. D.; CHOI, W. Review of iron-free Fenton-like systems for activating H₂O₂ in advanced oxidation processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 275, p. 121–135, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.04.054>>.

BOLHUIS, M. S.; PANDAY, P. N.; PRANGER, A. D.; KOSTERINK, J. G. W.; ALFFENAAR, J. W. C. Pharmacokinetic drug interactions of antimicrobial drugs: A systematic review on oxazolidinones, rifamycines, macrolides, fluoroquinolones, and beta-lactams. **Pharmaceutics**, v. 3, n. 4, p. 865–913, 2011.

BRASIL. **Sistema nacional de informações sobre saneamento: diagnóstico dos serviços de água e esgotos – 2022**. Brasília, DF, 2022.

BRIZZOLARI, A.; CAMPISI, G. M.; SANTANIELLO, E.; RAZZAGHI-ASL, N.; SASO, L.; FOTI, M. C. Effect of organic co-solvents in the evaluation of the hydroxyl radical scavenging activity by the 2-deoxyribose degradation assay: The paradigmatic case of α -lipoic acid. **Biophysical Chemistry**, v. 220, p. 1–6, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bpc.2016.10.005>>.

CALZA, P.; MEDANA, C.; PADOVANO, E.; GIANCOTTI, V.; BAIOCCHI, C. Identification of the unknown transformation products derived from clarithromycin and carbamazepine using liquid chromatography/high-resolution mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 26, n. 15, p. 1687–1704, 2012.

CANO, P. A.; JARAMILLO-BAQUERO, M.; ZÚÑIGA-BENÍTEZ, H.; LONDOÑO, Y. A.; PEÑUELA, G. A. Use of simulated sunlight radiation and hydrogen peroxide in azithromycin removal from aqueous solutions: Optimization & mineralization analysis. **Emerging Contaminants**, v. 6, p. 53–61, 2020.

CAPPELLI, F.; LONGONI, O.; RIGATO, J.; RUSCONI, M.; SALA, A.; FOCHI, I.; PALUMBO, M. T.; POLESELLO, S.; ROSCIOLI, C.; SALERNO, F.; STEFANI, F.; BETTINETTI, R.; VALSECCHI, S. Suspect screening of wastewaters to trace anti-COVID-19 drugs: Potential adverse effects on aquatic environment. **Science of the Total Environment**, v. 824, p. 153756, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153756>>.

CHEN, H.; WANG, J. Degradation of sulfamethoxazole by ozonation combined with ionizing radiation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 407, n. August 2020, p. 124377, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124377>>.

CHUI, Q. S. H.; ZUCCHINI, R. R.; LICHTIG, J. Qualidade de medições em química analítica. Estudo de caso: determinação de cádmio por espectrofotometria de absorção atômica com

chama. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 374–380, jun. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422001000300014&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

ČIZMIĆ, M.; LJUBAS, D.; ROŽMAN, M.; AŠPERGER, D.; ČURKOVIĆ, L.; BABIĆ, S. Photocatalytic degradation of azithromycin by nanostructured TiO₂ film: Kinetics, degradation products, and toxicity. **Materials**, v. 12, n. 6, 2019.

DA SILVA, M. R. A.; TROVÓ, A. G.; NOGUEIRA, R. F. P. Treatment of 1,10-phenanthroline laboratory wastewater using the solar photo-Fenton process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 146, n. 3, p. 508–513, 2007.

DE JESUS, J. H. F.; LIMA, K. V. L.; NOGUEIRA, R. F. P. Copper-containing magnetite supported on natural clay as a catalyst for heterogeneous photo-Fenton degradation of antibiotics in WWTP effluent. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, n. 3, p. 107765, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107765>>.

DOUTHWAITE, S.; CHAMPNEY, W. S. Structures of ketolides and macrolides determine their mode of interaction with the ribosomal target site. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. TOPIC T1, p. 1–8, 2001.

EMÍDIO, E. S.; HAMMER, P.; NOGUEIRA, R. F. P. Simultaneous degradation of the anticancer drugs 5-fluorouracil and cyclophosphamide using a heterogeneous photo-Fenton process based on copper-containing magnetites (Fe₃-xCu_xO₄). **Chemosphere**, v. 241, p. 124990, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124990>>.

European Pharmacopoeia. **European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM)**. Council of Europe; 9^a edição, 2016.

FAUST, B. C.; HOIGNÉ, J. Photolysis of Fe (III)-hydroxy complexes as sources of OH radicals in clouds, fog and rain. **Atmospheric Environment Part A, General Topics**, v. 24, n. 1, p. 79–89, 1990.

FELIS, E.; KALKA, J.; SOCHACKI, A.; KOWALSKA, K.; BAJKACZ, S.; HARNISZ, M.; KORZENIEWSKA, E. Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment - occurrence and environmental implications. **European Journal of Pharmacology**, v. 866, n. August 2019, 2020.

HAMDAN, I. I. Comparative in vitro investigations of the interaction between some macrolides and Cu(II), Zn(II) and Fe(II). **Pharmazie**, v. 58, p. 223–224, 2003.

HANG, J.; YI, X. H.; WANG, C. C.; FU, H.; WANG, P.; ZHAO, Y. Heterogeneous photo-Fenton degradation toward sulfonamide matrix over magnetic Fe₃S₄ derived from MIL-100(Fe). **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, n. PB, p. 127415, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127415>>.

HE, J.; YANG, X.; MEN, B.; WANG, D. Interfacial mechanisms of heterogeneous Fenton reactions catalyzed by iron-based materials: A review. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 39, p. 97–109, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jes.2015.12.003>>.

HORVÁTH, O. Photochemistry of copper(I) complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 135–136, n. C, p. 303–324, 1994.

HOSSEINI, M.; KAHKHA, M. R. R.; FAKHRI, A.; TAHAMI, S.; LARICHE, M. J. Degradation of macrolide antibiotics via sono or photo coupled with Fenton methods in the presence of ZnS quantum dots decorated SnO₂ nanosheets. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 185, n. December 2017, p. 24–31, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.022>>.

HU, M.; HU, C. Q. Identification of the components of 16-membered macrolide antibiotics by LC/MS. **Analytica Chimica Acta**, v. 535, n. 1–2, p. 89–99, 2005.

HUTCHINGS, M.; TRUMAN, A.; WILKINSON, B. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, v. 51, n. Figure 1, p. 72–80, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>>.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). **Orientação sobre validação de métodos analíticos**, 5ª ed., 2016.

JUNG, Y. S.; LIM, W. T.; PARK, J. Y.; KIM, Y. H. Effect of pH on Fenton and Fenton-like oxidation. **Environmental Technology**, v. 30, n. 2, p. 183–190, 2009.

KARAOLIA, P.; MICHAEL, I.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, I.; AGÜERA, A.; MALATO, S.; FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, P.; FATTA-KASSINOS, D. Reduction of clarithromycin and sulfamethoxazole-resistant Enterococcus by pilot-scale solar-driven Fenton oxidation. **Science of The Total Environment**, v. 468–469, p. 19–27, jan. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.027>>.

KESKAR, M. R.; JUGADE, R. M. Spectrophotometric Investigations of Macrolide Antibiotics : A Brief Review. **Analytical Chemistry Insights**, v. 10, p. 29–37, 2015.

KETTLE, S. F. A. **Physical Inorganic Chemistry: A Coordination Chemistry Approach**. London: Spektrum Academic Publishers, 1996. 503 p.

KHAN, N. A.; AHMED, S.; FAROOQI, I. H.; ALI, I.; VAMBOL, V.; CHANGANI, F.; YOUSEFI, M.; VAMBOL, S.; KHAN, S. U.; KHAN, A. H. Occurrence, sources and conventional treatment techniques for various antibiotics present in hospital wastewaters: A critical review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 129, p. 115921, 1 ago. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993620301503>>. Acesso em: 23 mar. 2021.

KHOSHNOOD, R. S.; ZAKARIA, T. L.; ESHAGHI, Z. Spectrophotometric and

conductometric investigation of azithromycin with Ca^{2+} cation and determination of azithromycin in dosage form by spectrophotometric method. **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, n. 3, p. 1237–1240, 2013.

KIELHOFNER, M. A. Trimethoprim-sulfamethoxazole: Pharmacokinetics, clinical uses, and adverse reactions. **Texas Heart Institute Journal**, v. 17, n. 2, p. 86–93, 1990.

KOVALAKOVA, P.; CIZMAS, L.; MCDONALD, T. J.; MARSALEK, B.; FENG, M.; SHARMA, V. K. **Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review** *Chemosphere* Elsevier Ltd, 1 jul. 2020.

LAI, L.; HE, Y.; ZHOU, H.; HUANG, B.; YAO, G.; LAI, B. Critical review of natural iron-based minerals used as heterogeneous catalysts in peroxide activation processes: Characteristics, applications and mechanisms. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, n. December 2020, p. 125809, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125809>>.

LANGE, F.; CORNELISSEN, S.; KUBAC, D.; SEIN, M. M.; VON SONNTAG, J.; HANNICH, C. B.; GOLLOCH, A.; HEIPIEPER, H. J.; MÖDER, M.; VON SONNTAG, C. Degradation of macrolide antibiotics by ozone: A mechanistic case study with clarithromycin. **Chemosphere**, v. 65, n. 1, p. 17–23, set. 2006. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653506003110>>.

LI, T.; GE, L.; PENG, X.; WANG, W.; ZHANG, W. Enhanced degradation of sulfamethoxazole by a novel Fenton-like system with significantly reduced consumption of H_2O_2 activated by g-C $_3\text{N}_4$ /MgO composite. **Water Research**, v. 190, p. 116777, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116777>>.

MACKU'AK, T.; NAGYOVÁ, K.; FABEROVÁ, M.; GRABIC, R.; KOBÁ, O.; GÁL, M.; BIROŠOVÁ, L. Utilization of Fenton-like reaction for antibiotics and resistant bacteria elimination in different parts of WWTP. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 40, n. 2, p. 492–497, 2015.

MANSOUR, F. R.; DANIELSON, N. D. Ligand exchange spectrophotometric method for the determination of mole ratio in metal complexes. **Microchemical Journal**, v. 103, p. 74–78, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2012.01.008>>.

MARSON, E. O.; PANIAGUA, C. E. S.; GOMES JÚNIOR, O.; GONÇALVES, B. R.; SILVA, V. M.; RICARDO, I. A.; MARIA, M. C.; AMORIM, C. C.; TROVÓ, A. G. A review toward contaminants of emerging concern in Brazil: Occurrence, impact and their degradation by advanced oxidation process in aquatic matrices. **Science of the Total Environment**, v. 836, n. February, 2022.

MEHRDOOST, A.; YENGEJEH, R. J.; MOHAMMADI, M. K.; HAGHIGHATZADEH, A.; BABAEI, A. A. Adsorption removal and photocatalytic degradation of azithromycin from aqueous solution using PAC/Fe/Ag/Zn nanocomposite. **Environmental Science and Pollution Research**, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11356-021-18158-y>>.

METELITZA, D. I.; LITVINCHUK, A. V.; SAVENKOVA, M. I. Peroxidase-catalyzed co-oxidation of halogen-substituted phenols and 4-aminoantipyrine. **Journal of Molecular Catalysis**, v. 67, n. 3, p. 401–411, 1991.

MICARONI, R. C. D. C. M.; BUENO, M. I. M. S.; JARDIM, W. D. F. Degradation of acetonitrile residues using oxidation processes. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 4, p. 509–513, 2004.

MIKLOS, D. B.; REMY, C.; JEKEL, M.; LINDEN, K. G.; DREWES, J. E.; HÜBNER, U. Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. **Water Research**, v. 139, p. 118–131, 2018.

MIRZAEI, A.; CHEN, Z.; HAGHIGHAT, F.; YERUSHALMI, L. **Removal of pharmaceuticals from water by homo/heterogenous Fenton-type processes – A review** *Chemosphere* Elsevier Ltd, 1 maio 2017.

MONTAGNER, C. C.; SODRÉ, F. F.; ACAYABA, R. D.; VIDAL, C.; CAMPESTRINI, I.; LOCATELLI, M. A.; PESCARA, I. C.; ALBUQUERQUE, A. F.; UMBUZEIRO, G. A.; JARDIM, W. F. Ten years-snapshot of the occurrence of emerging contaminants in drinking, surface and ground waters and wastewaters from São Paulo State, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 3, p. 614–632, 2019.

MONTEIRO, M. A.; SPISSO, B. F.; FERREIRA, R. G.; PEREIRA, M. U.; GRUTES, J. V.; DE ANDRADE, B. R. G.; D'AVILA, L. A. Development and validation of liquid chromatography-Tandem mass spectrometry methods for determination of beta-lactams, macrolides, fluoroquinolones, sulfonamides and tetracyclines in surface and drinking water from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 4, p. 801–813, 2018.

MUNOZ, M.; DE PEDRO, Z. M.; CASAS, J. A.; RODRIGUEZ, J. J. Preparation of magnetite-based catalysts and their application in heterogeneous Fenton oxidation - A review. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 176–177, p. 249–265, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.04.003>>.

NARAGINTI, S.; YU, Y. Y.; FANG, Z.; YONG, Y. C. Visible light degradation of macrolide antibiotic azithromycin by novel ZrO₂/Ag@TiO₂ nanorod composite: Transformation pathways and toxicity evaluation. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 125, p. 39–49, 2019.

National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Database**. 2023. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

NIDHEESH, P. V. Heterogeneous Fenton catalysts for the abatement of organic pollutants from aqueous solution: A review. **RSC Advances**, v. 5, n. 51, p. 40552–40577, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C5RA02023A>>.

NOGUEIRA, R. F. P.; OLIVEIRA, M. C.; PATERLINI, W. C. Simple and fast spectrophotometric determination of H₂O₂ in photo-Fenton reactions using metavanadate. **Talanta**, v. 66, n. 1, p. 86–91, 2005.

NOGUEIRA, R. F. P.; TROVÓ, A. G.; DA SILVA, M. R. A.; VILLA, R. D.; DE OLIVEIRA, M. C. Fundaments and environmental applications of Fenton and photo-Fenton processes. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 400–408, 2007.

OSPINO-ATEHORTÚA, B. A.; ZÚÑIGA-BENÍTEZ, H.; PEÑUELA, G. A. Potential application of persulfate and simulated sunlight radiation on azithromycin removal. **Environmental Engineering Research**, v. 26, n. 3, p. 0–2, 2021.

OYEKUNLE, D. T.; GENDY, E. A.; IFTHIKAR, J.; CHEN, Z. Heterogeneous activation of persulfate by metal and non-metal catalyst for the degradation of sulfamethoxazole: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 437, n. P1, p. 135277, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135277>>.

PATEL, M.; KUMAR, R.; KISHOR, K.; MLSNA, T.; PITTMAN, C. U.; MOHAN, D. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, and removal methods. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 6, p. 3510–3673, 2019.

PETERS, D. H.; FRIEDEL, H. A.; MCTAVISH, D. Azithromycin: a Review of its Antimicrobial Activity, Pharmacokinetic Properties and Clinical Efficacy. **Drugs**, v. 44, n. 5, p. 750–799, nov. 1992. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.2165/00003495-199244050-00007>>.

PIGNATELLO, J. J.; OLIVEROS, E.; MACKAY, A. Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the fenton reaction and related chemistry. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 1–84, 2006.

PIMENTEL, M. F.; NETO, B. de B. Calibração: Uma Revisão Para Químicos Analíticos. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 268–277, 1996.

POZDNYAKOV, I. P.; PLYUSNIN, V. F.; GRIVIN, V. P.; OLIVEROS, E. Photochemistry of Fe(III) complexes with salicylic acid derivatives in aqueous solutions. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 307–308, p. 9–15, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotochem.2015.03.018>>.

QIN, H.; YANG, Y.; SHI, W.; SHE, Y.; WU, S. Heterogeneous Fenton degradation of azithromycin antibiotic in water catalyzed by amino/thiol-functionalized MnFe₂O₄ magnetic nanocatalysts. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, n. 5, p. 1–10, 2021.

RAHIM POURAN, S.; ABDUL AZIZ, A. R.; WAN DAUD, W. M. A. Review on the main advances in photo-Fenton oxidation system for recalcitrant wastewaters. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 21, p. 53–69, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jiec.2014.05.005>>.

REIS, E. O.; FOUREAUX, A. F. S.; RODRIGUES, J. S.; MOREIRA, V. R.; LEBRON, Y. A. R.; SANTOS, L. V. S.; AMARAL, M. C. S.; LANGE, L. C. Occurrence, removal and seasonal variation of pharmaceuticals in Brazilian drinking water treatment plants. **Environmental Pollution**, v. 250, n. 2019, p. 773–781, 2019.

RODRÍGUEZ-LÓPEZ, L.; CELA-DABLANCA, R.; NÚÑEZ-DELGADO, A.; ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, E.; FERNÁNDEZ-CALVIÑO, D.; ARIAS-ESTÉVEZ, M. Photodegradation of Ciprofloxacin, Clarithromycin and Trimethoprim: Influence of pH and Humic Acids. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3080, 21 maio 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/26/11/3080>>.

SADEGHI, M.; SADEGHI, R.; MARDANI, B. G. G.; AHMADI, A. Removal of azithromycin from aqueous solution using UV-light alone and UV plus persulfate (UV/Na₂S₂O₈) processes. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, n. Special Issue 2, p. 54–64, 2018.

SAFARZADEH-AMIRI, A.; BOLTON, J. R.; CATER, S. R. The Use of Iron in Advanced Oxidation Processes. **Journal of Advanced Oxidation Technologies**, v. 1, n. 1, p. 18–26, 2017.

SAITA, M. G.; ALEO, D.; MELILLI, B.; MANGIAFICO, S.; CRO, M.; SANFILIPPO, C.; PATTI, A. pH-Dependent stability of azithromycin in aqueous solution and structure identification of two new degradation products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 158, p. 47–53, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.05.042>>.

SHER, A.; RAU, H.; GREINER, G.; HAUBOLD, W. Spectroscopic and polarographic investigations of copper(II)-azithromycin interactions under equilibrium conditions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 133, n. 1–2, p. 237–244, maio 1996. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/037851739604450X>>.

SHOKRI, R.; JALILZADEH YENGEJEH, R.; BABAEI, A. A.; DERIKVAND, E.; ALMASI, A. UV activation of hydrogen peroxide for removal of azithromycin antibiotic from aqueous solution: determination of optimum conditions by response surface methodology. **Toxin Reviews**, v. 39, n. 3, p. 284–291, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1517803>>.

SILVA, M. R. A.; VILEGAS, W.; ZANONI, M. V. B.; PUPO NOGUEIRA, R. F. Photo-Fenton degradation of the herbicide tebuthiuron under solar irradiation: Iron complexation and initial intermediates. **Water Research**, v. 44, n. 12, p. 3745–3753, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2010.04.025>>.

STARLING, M. C. V. M.; COSTA, E. P.; SOUZA, F. A.; MACHADO, E. C.; DE ARAUJO, J. C.; AMORIM, C. C. Persulfate mediated solar photo-Fenton aiming at wastewater treatment plant effluent improvement at neutral PH: emerging contaminant removal, disinfection, and elimination of antibiotic-resistant bacteria. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 14, p. 17355–17368, 4 abr. 2021. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11356-020-11802-z>>.

SÝKORA, J. Photochemistry of copper complexes and their environmental aspects. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 159, p. 95–108, mar. 1997. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0010854596012994>>.

THOMAS, N.; DIONYSIOU, D. D.; PILLAI, S. C. **Heterogeneous Fenton catalysts: A review of recent advances** **Journal of Hazardous Materials** 2021.

TORAÑO, J. S.; GUCHELAAAR, H. J. Quantitative determination of the macrolide antibiotics erythromycin, roxithromycin azithromycin and clarithromycin in human serum by high-performance liquid chromatography using pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride and flu. **Journal of Chromatography B**, v. 720, p. 89–97, 1998.

TROVÓ, A. G.; NOGUEIRA, R. F. P.; AGÜERA, A.; FERNANDEZ-ALBA, A. R.; SIRTORI, C.; MALATO, S. Degradation of sulfamethoxazole in water by solar photo-Fenton. Chemical and toxicological evaluation. **Water Research**, v. 43, n. 16, p. 3922–3931, 2009.

VIONE, D.; FEITOSA-FELIZZOLA, J.; MINERO, C.; CHIRON, S. Phototransformation of selected human-used macrolides in surface water: Kinetics, model predictions and degradation pathways. **Water Research**, v. 43, n. 7, p. 1959–1967, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2009.01.027>>.

WANG, J.; CHU, L.; WOJNÁROVITS, L.; TAKÁCS, E. Occurrence and fate of antibiotics , antibiotic resistant genes (ARGs) and antibiotic resistant bacteria (ARB) in municipal wastewater treatment plant : An overview. **Science of the Total Environment**, v. 744, p. 1–12, 2020.

WILMS, E.; TRUMPIE, H.; VEENENDAAL, W.; TOUW, D. Quantitative determination of azithromycin in plasma, blood and isolated neutrophils by liquid chromatography using pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl-chloride and fluorescence detection. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 814, n. 1, p. 37–42, 2005.

World Health Organization. **WHO report on surveillance of antibiotic consumption: 2016-2018 early implementation**. 2018. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/277359>.

YAZDANI, A.; SAYADI, M. H. Sonochemical degradation of azithromycin in aqueous solution. **Environmental Health Engineering and Management**, v. 5, n. 2, p. 85–92, 2018.

YILDIZ, S.; TOPAL CANBAZ, G.; KAYA, S.; MASLOV, M. M. A Combined Study on Degradation Mechanism of Reactive Orange 16 through Fenton-like Process: Experimental Studies and Density Functional Theoretical Findings. **ChemistrySelect**, v. 7, n. 48, 2022.

YIN, Y.; LV, R.; ZHANG, W.; LU, J.; REN, Y.; LI, X.; LV, L.; HUA, M.; PAN, B. Exploring mechanisms of different active species formation in heterogeneous Fenton systems by regulating iron chemical environment. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 295, n. May,

p. 1–9, 2021.

YU, F.; LI, Y.; HAN, S.; MA, J. Adsorptive removal of antibiotics from aqueous solution using carbon materials. **Chemosphere**, v. 153, p. 365–385, jun. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653516303861>>.

ZAINAB, S. M.; JUNAID, M.; XU, N.; MALIK, R. N. Antibiotics and antibiotic resistant genes (ARGs) in groundwater: A global review on dissemination, sources, interactions, environmental and human health risks. **Water Research**, v. 187, 2020.

ANEXO 1

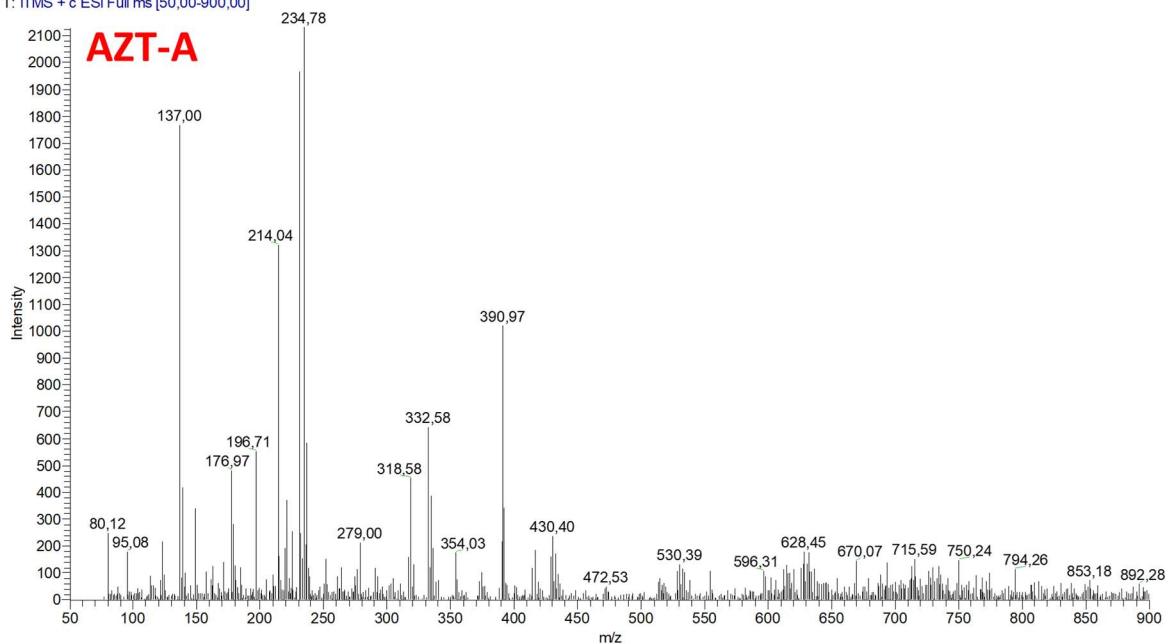
Principais parâmetros físicos e químicos do efluente da estação de tratamento de esgotos de Araraquara referente ao dia 9 de maio de 2023.

Parâmetro	Unidade	Resultado
pH	-	7,21
Temperatura	°C	26
Turbidez	NTU	80
Demanda química de oxigênio	mg L ⁻¹	259,3
Demanda bioquímica de oxigênio	mg L ⁻¹	46,4
Oxigênio dissolvido	mg L ⁻¹	2,43
Cor	Pt L ⁻¹	80
Cloretos	mg L ⁻¹	66,7
Nitratos	mg L ⁻¹	1,8
Nitritos	mg L ⁻¹	0,06
Fósforo total	mg L ⁻¹	6,95
Carbono Orgânico Total	mg L ⁻¹	68,52

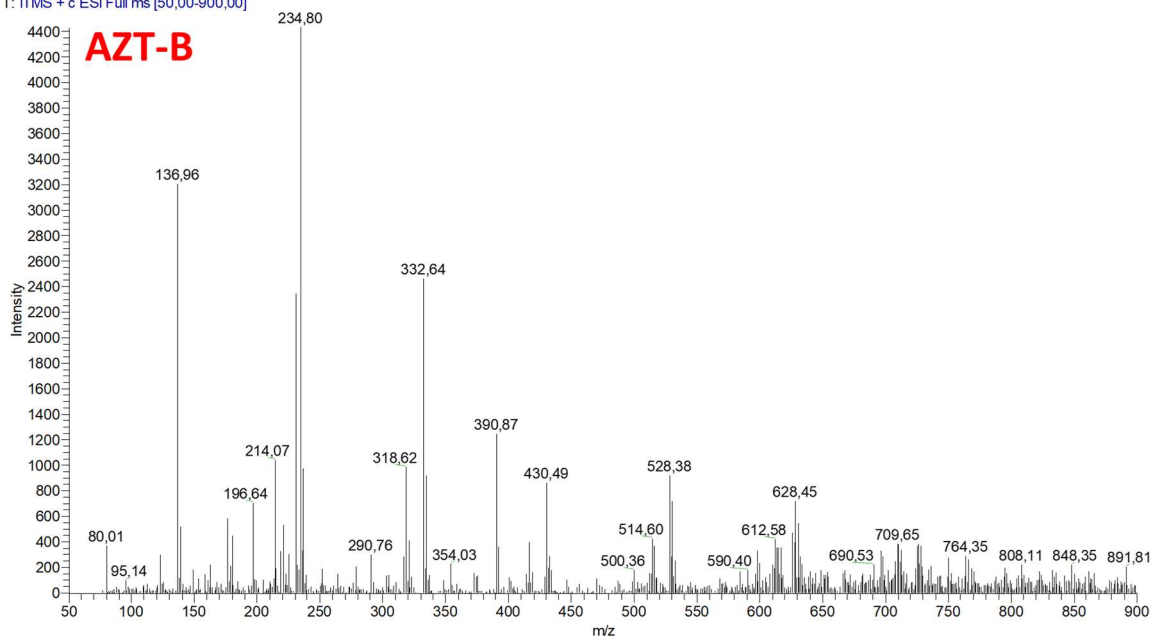
ANEXO 2

Espectros de massas dos produtos de degradação da AZT e CLA por processo foto-Fenton homogêneo e heterogêneo.

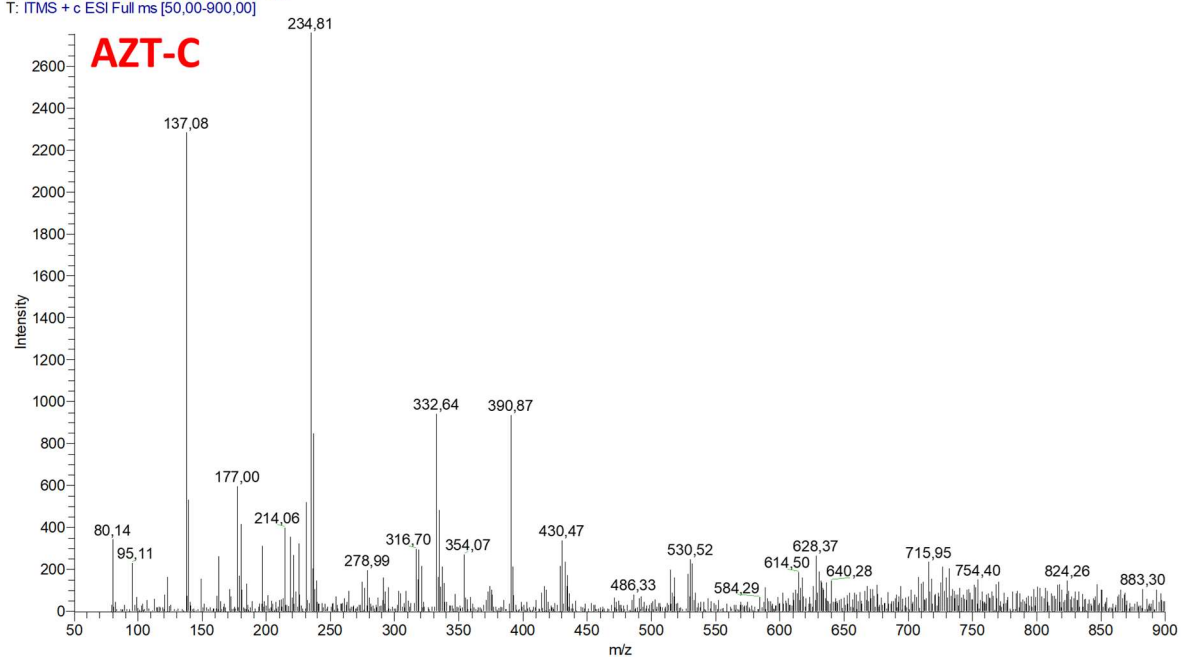
azt1 #695 RT: 9,63 AV: 1 NL: 2,13E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50,00-900,00]



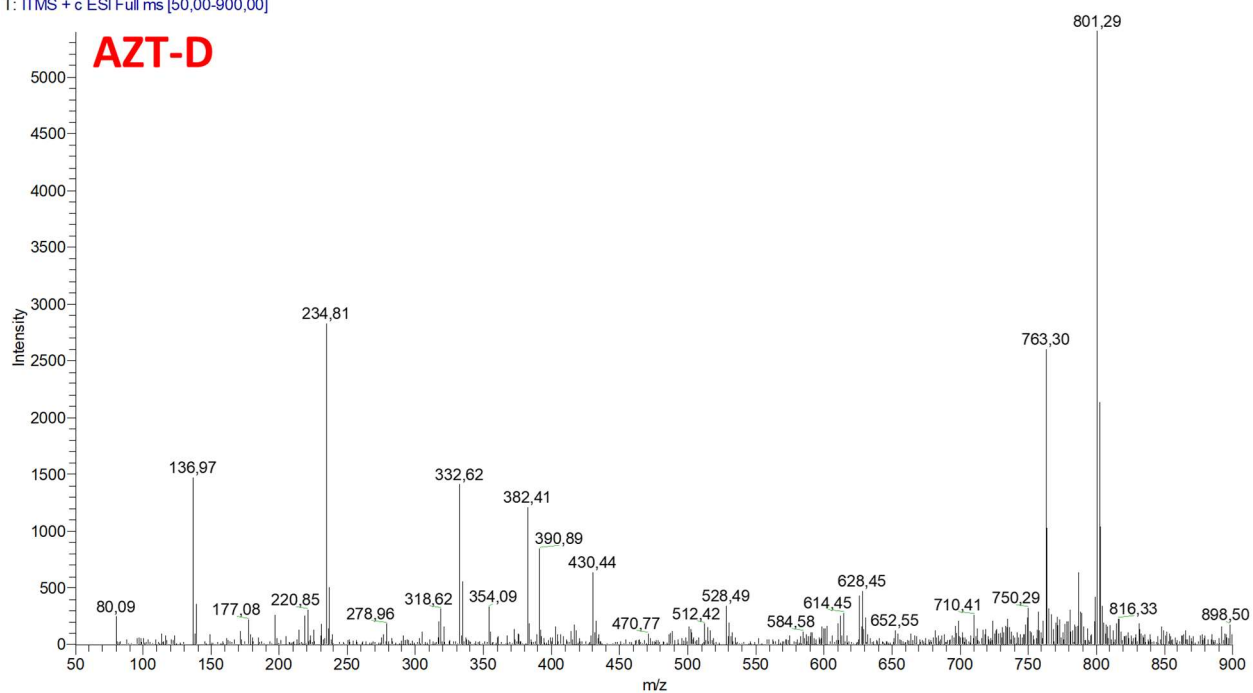
azt1 #189 RT: 2,54 AV: 1 NL: 4,43E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50,00-900,00]



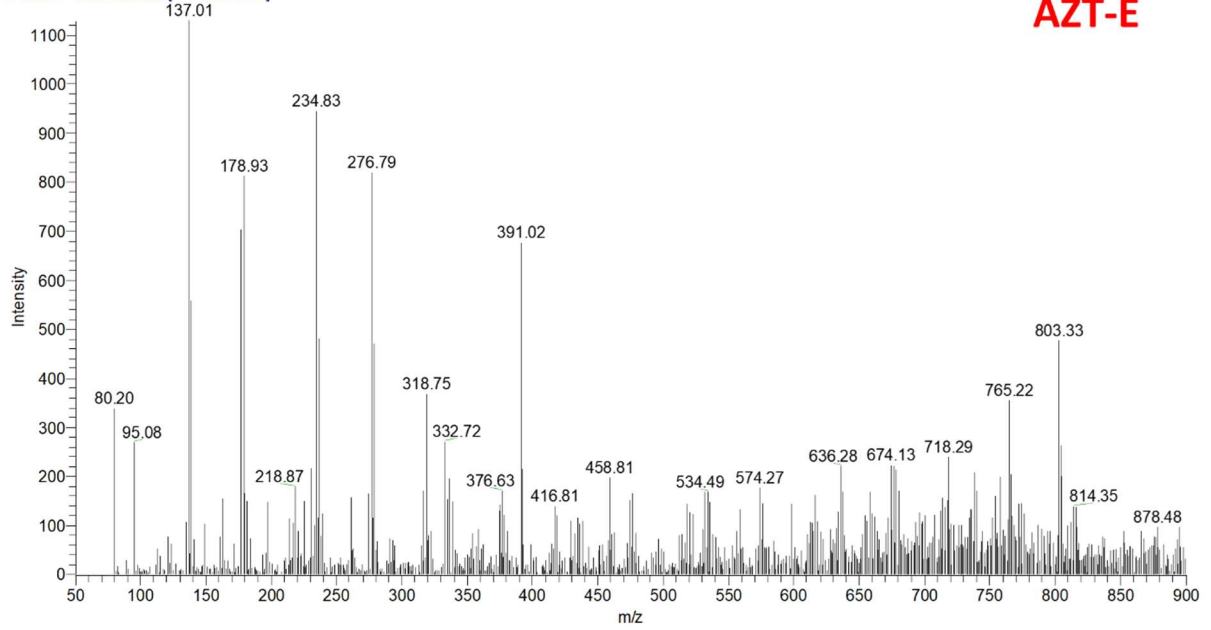
azt1 #1089 RT: 14.65 AV: 1 NL: 2.75E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50,00-900,00]



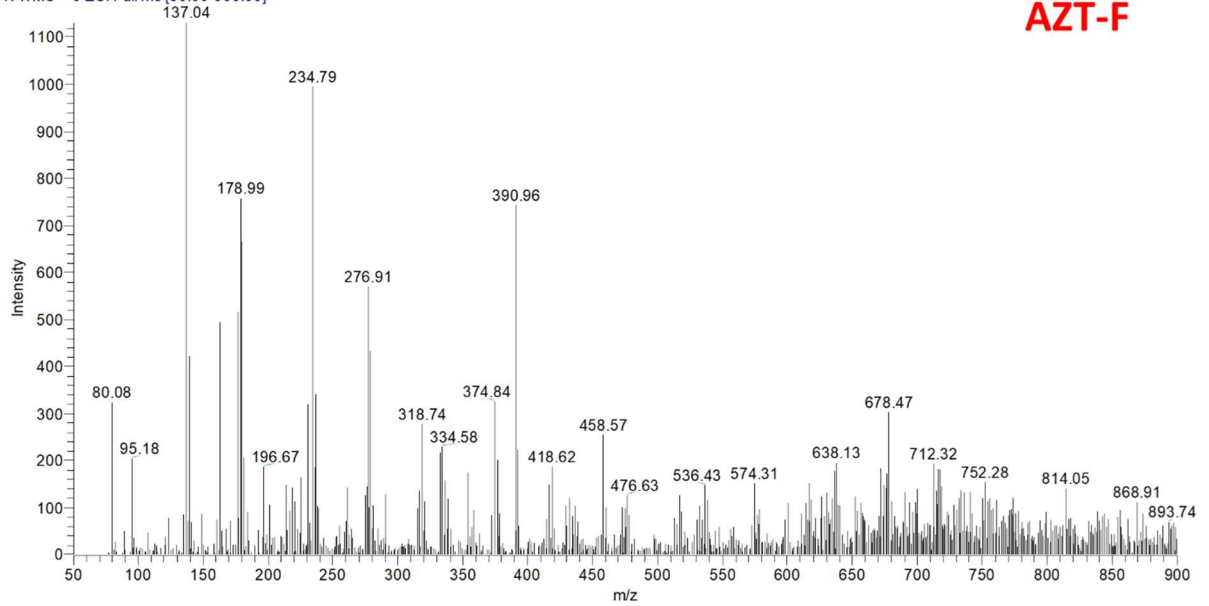
azt1 #1537 RT: 20.38 AV: 1 NL: 5.39E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50,00-900,00]



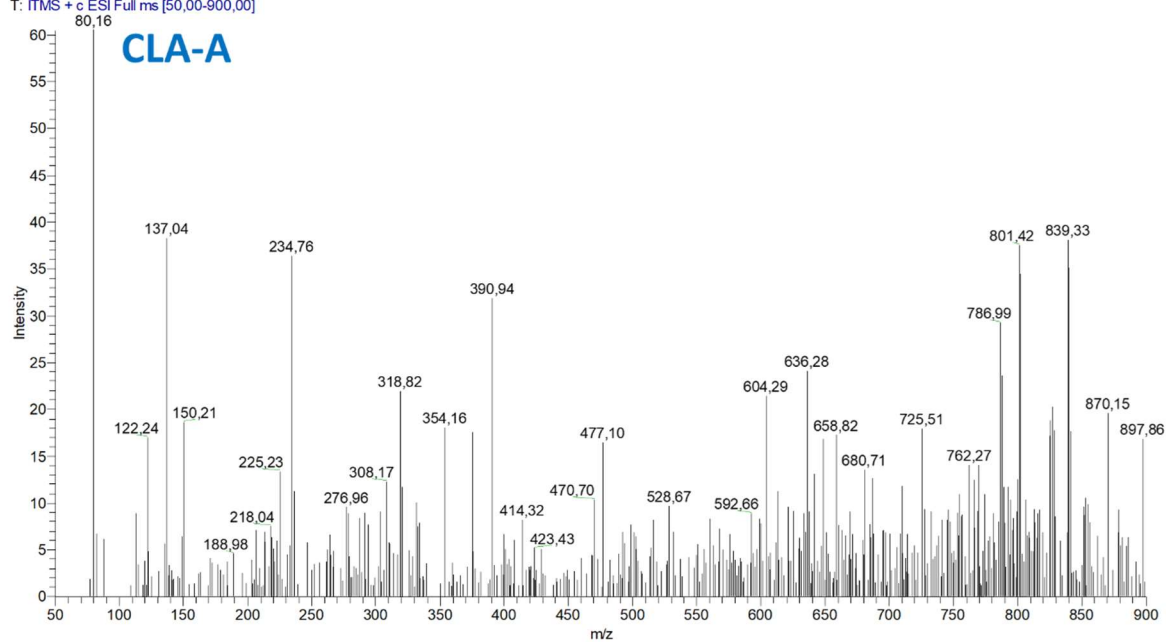
azt2 #1225 RT: 16.41 AV: 1 NL: 1.13E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50.00-900.00]



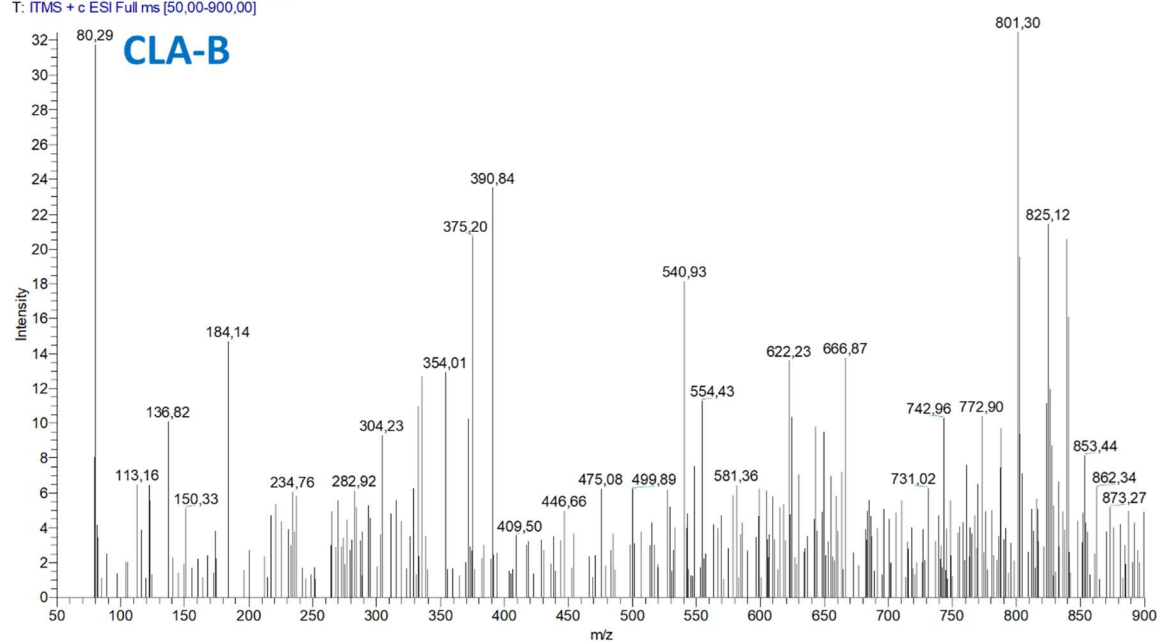
azt2 #1025 RT: 13.81 AV: 1 NL: 1.13E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50.00-900.00]



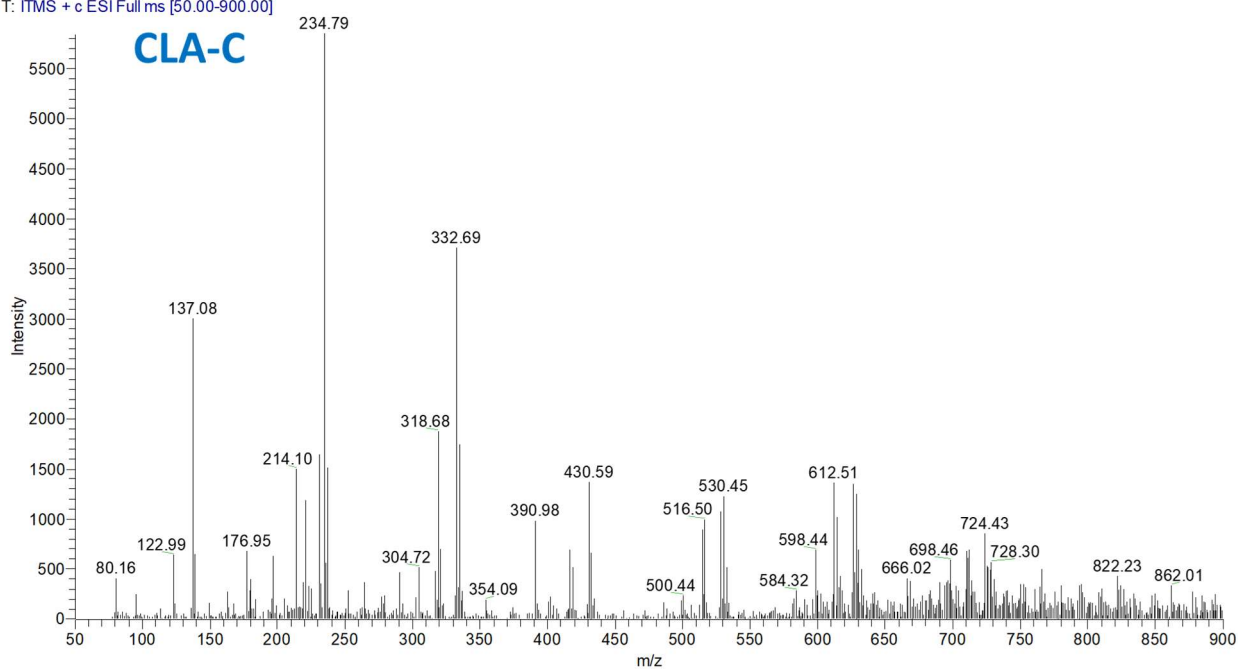
cla1 #2094 RT: 27.96 AV: 1 NL: 6,04E1
T: ITMS + c ESI Full ms [50,00-900,00]



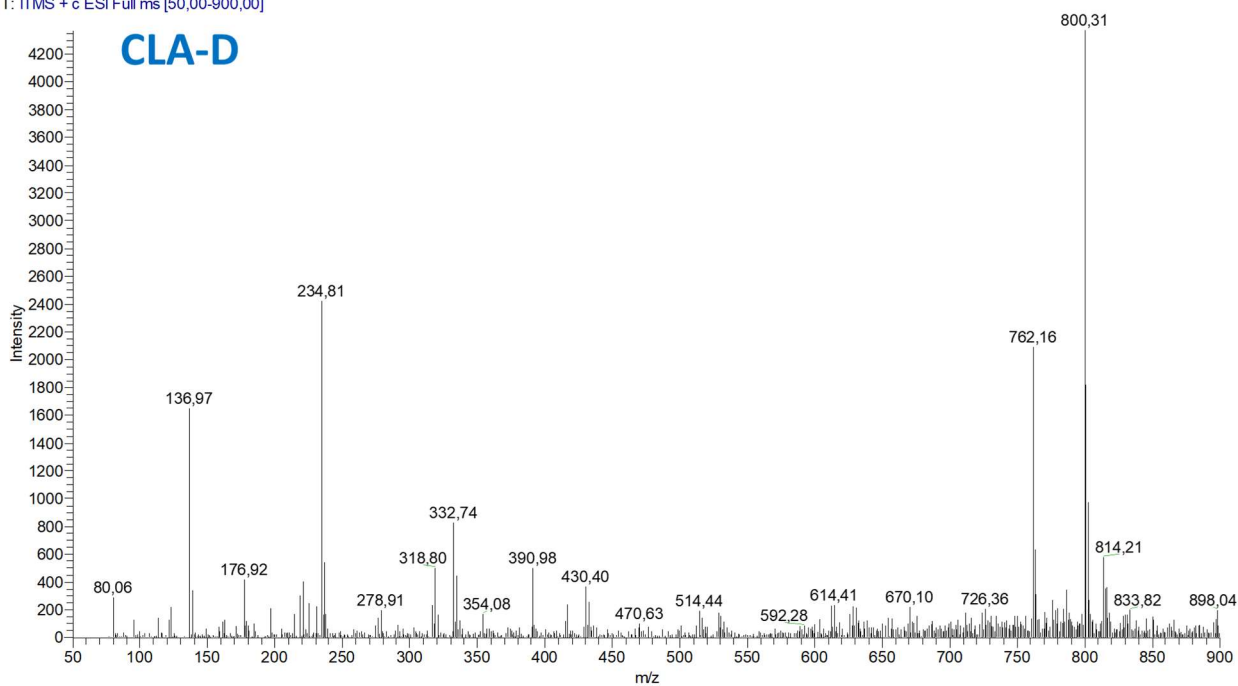
cla1 #2160 RT: 28.80 AV: 1 NL: 3,24E1
T: ITMS + c ESI Full ms [50,00-900,00]



cla1 #187 RT: 2.52 AV: 1 NL: 5.84E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50.00-900.00]



cla1 #1403 RT: 18.68 AV: 1 NL: 4.37E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50.00-900.00]



cla1 #1495 RT: 19.83 AV: 1 NL: 5,37E3
T: ITMS + c ESI Full ms [50,00-900,00]

