

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS - UFPEL
Centro de Engenharias
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
Mestrado em Ciências Ambientais



Degradação de Diclofenaco de sódio pelos processos de ozonização e fotocatalise heterogênea

Jéssica Torres dos Santos

Pelotas
2022

Jéssica Torres dos Santos

Degradação de Diclofenaco de sódio pelos processos de ozonização e fotocatalise heterogênea

Projeto de Dissertação apresentado(a) ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, do Centro de Engenharias da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Silveira Quadro
Co-orientador: Prof. Dr. Cícero Coelho Escobar

Pelotas
2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S237d Santos, Jéssica Torres dos

Degradação de diclofenaco de sódio pelos processos de ozonização e fotocatalise heterogênea / Jéssica Torres dos Santos ; Maurício Silveira Quadro, orientador ; Cícero Coelho Escobar, coorientador. — Pelotas, 2022.

90 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Centro de Engenharias, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Diclofenaco de sódio. 2. Ozônio. 3. Fotocatálise heterogênea. 4. Ozonização fotocatalítica. I. Quadro, Maurício Silveira, orient. II. Escobar, Cícero Coelho, coorient. III. Título.

CDD : 363.7

Degradação de Diclofenaco de sódio pelos processos de ozonização e fotocatalise heterogênea

por

JÉSSICA TORRES DOS SANTOS

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, PPGCAmb, do Centro de Engenharias da Universidade Federal de Pelotas, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de

Mestre em Ciências Ambientais

Data da Defesa: 29/04/2022

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Maurizio Silveira Quadro – Orientador (UFPel)

Prof. Dr. Cícero Coelho Escobar – Co-Orientador (UFPel)

Prof. Dr. Tito Roberto Sant’Anna Cadaval Jr (FURG)

Profa. Dra. Catiane Pelissari (UNOESC)

Profa. Dra. Gizele Ingrid Gadotti (UFPel)

Agradecimentos

Aos meus pais, Cristina e Douglas, por todo amor, apoio e incentivo no decorrer de todo mestrado, que sempre estiveram me auxiliando no que era possível e pelos incontáveis momentos de silêncio em casa para que eu pudesse assistir aulas, apresentar trabalhos e fazer reuniões que foram necessários ao enfrentar esse período de pandemia.

À minha irmã Natália e a minha afilhada Laurinha, por todo amor, companheirismo, pela amizade, por todos os momentos de distrações e risadas necessárias.

Ao meu noivo, Rafael, pelo amor, carinho, atenção, paciência e grande apoio e incentivo nos momentos decisivos.

Ao meu orientador Professor Maurizio Silveira Quadro, pelo acolhimento, pelos ensinamentos e por toda confiança em meu trabalho e por me ajudar nesse projeto sempre com muita leveza e bom humor.

Ao meu coorientador Professor Cícero Coelho Escobar, por toda ajuda e ensinamentos, pela disposição e disponibilidade de me auxiliar durante o desenvolvimento deste trabalho.

À professora Vera Lucia Bobrowski por ter posto o laboratório de Genética-*LabGen* a disposição para que os testes pudessem ser realizados, por toda confiança e pelos ensinamentos.

À Jéssica Rocha, pela amizade, companheirismo, diversas reflexões, incontáveis horas de laboratório e todo cuidado e preocupação comigo. E a Alice, por tornar tudo mais leve, acompanhar essa pequena crescer esse tempo foi um enorme prazer.

À Louise Hoss, pela sua amizade e auxílio em todos os momentos que precisei, obrigada por sempre achar um tempinho para ajudar.

À Luiza e a Dienifer, pelo companheirismo, pela amizade, pelos surtos divididos, pelo apoio e todos os momentos divididos, ter vocês por perto foram um presente que tornou os dias de laboratório melhores.

Aos meus braços direito e esquerdo nesse processo, Júlia e Carolzinha, sem vocês nada disso seria possível, obrigada por todos os dias eternos no laboratório, por me ajudarem sem qualquer ressalva, por todas risadas, histórias contadas e momentos divididos.

À Manoela, Julinha e Larinha, por também me ajudarem nessa caminhada, contando células ou medindo raízes, vocês sempre serão lembradas!

Ao programa de pós graduação em Ciências Ambientais e a CAPES, pela oportunidade e bolsa concedida para a realização deste trabalho.

Obrigada!

Resumo

SANTOS, Jéssica Torres dos. **Degradação de Diclofenaco de sódio pelos processos de ozonização e fotocatalise heterogênea** Orientadores: Maurizio Silveira Quadro e Cícero Coelho Escobar. 2022. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Centro de Engenharias. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Uma das cadeias de consumo que mais vem comprometendo a qualidade dos recursos hídricos, com um aumento na geração de resíduos e descartes inadequados, são os fármacos. Apesar de possuírem função vital, os fármacos quando ministrados em dose e prescrição incorretas, podem ser prejudiciais aos seres humanos e animais, pois estes, geralmente, apresentam baixa capacidade de absorção dos compostos. A principal rota de entrada de resíduos de fármacos no ambiente é o lançamento de esgotos domésticos, tratados ou *in natura*, nos cursos d'água. Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) tem recebido destaque como processo de tratamento alternativo de águas residuárias, por se tratar de métodos eficientes que reduzem os impactos ambientais. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o uso do Processos Oxidativos Avançados (POAs) de Ozonização Catalítica, Fotocatálise Heterogênea e Ozonização Fotocatalítica, utilizando TiO_2 , na degradação do fármaco diclofenaco de sódio, além de analisar a toxicidade dos efluentes, bem como outros parâmetros químicos, antes e após os tratamentos. Como resultados foram alcançadas altas eficiências de degradação com a utilização da ozonização catalítica e ozonização fotocatalítica, alcançando eficiências de remoção de cerca de 95 e 99%, respectivamente. O tratamento de Fotocatálise Heterogênea foi o que alcançou menores eficiências de remoção deste fármaco, chegando a cerca de 20%. Em geral, os processos envolvendo a utilização de ozônio tiveram o pH diminuído gradualmente enquanto a condutividade foi aumentada, enquanto a fotocatalise heterogênea se manteve em pH neutros. Em relação a DQO, foi alcançada uma remoção de até 70,58% utilizando somente ozônio, enquanto a Fotocatálise Heterogênea e a Ozonização Fotocatalítica obtiveram uma eficiência de remoção de até cerca de 40%. Apesar de alguns tratamentos diminuírem os índices mitóticos na espécie *Allium cepa*, não foram observados alterações cromossômicas e mutações estatisticamente diferentes do controle negativo, portanto não se pode afirmar que os tratamentos causaram efeitos citotóxicos, genotóxicos ou mutagênicos nesta espécie. Para a fitotoxicidade, também não foi verificado que os tratamentos tenham produzidos efeitos tóxicos para as sementes, somente um dos bioindicadores analisados apontou diferença estatística em um dos tratamentos utilizados, demonstrando que a espécie *Lactuca Sativa* foi a mais sensível de todas para o índice de germinação.

Palavras-chave: Diclofenaco de sódio; Ozônio; Fotocatálise Heterogênea; Ozonização Fotocatalítica;

Abstract

SANTOS, Jéssica Torres dos. **Degradation of Sodium Diclofenac by the processes of ozonation and heterogeneous photocatalysis.** Orientadores: Maurizio Silveira Quadro e Cícero Coelho Escobar. 2022. 90f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Centro de Engenharias. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

One of the consumption chains that has been most compromising the quality of water resources, with an increase in the generation of waste and inadequate disposal, are drugs. Despite having a vital function, drugs when administered in the wrong dose and prescription, can be harmful to humans and animals, as they generally have a low absorption capacity of the compounds. The main entry route of drug residues into the environment is the discharge of domestic sewage, treated or fresh, into water courses. Advanced Oxidative Processes (POAs) have received prominence as an alternative wastewater treatment process, as they are efficient methods that reduce environmental impacts. Therefore, the objective of this study was to evaluate the use of Advanced Oxidative Processes (POAs) of Catalytic Ozonation, Heterogeneous Photocatalysis and Photocatalytic Ozonation, using TiO_2 , as treatment of effluents containing the drug diclofenac sodium, in addition to analyzing the toxicity of effluents, as well as other chemical parameters, before and after treatments. As a result, high removal efficiencies were achieved with the use of catalytic ozonation and photocatalytic ozonation, reaching efficiencies between 95~99%. The Heterogeneous Photocatalysis treatment was the one that reached the lowest efficiencies of removal of this drug, reaching about 20%. In general, the processes involving the use of ozone had the pH gradually decreased while the conductivity was increased, while heterogeneous photocatalysis remained at neutral pH. Regarding COD, a removal of up to 70.58% was achieved using only ozone, while Heterogeneous Photocatalysis and Photocatalytic Ozonation obtained a removal efficiency of up to about 40%. Although some treatments reduced mitotic indices in *Allium cepa*, there were no chromosomal alterations and mutations statistically different from the negative control, so it cannot be said that the treatments caused cytotoxic, genotoxic or mutagenic effects in this species. For phytotoxicity, it was also not verified that the treatments had produced toxic effects for the seeds, only one of the analyzed bioindicators showed a statistical difference in one of the treatments used, demonstrating that the *Lactuca Sativa* species was the most sensitive of all for the germination index.

Keywords: Sodium diclofenac; Ozone; Photocatalysis; Photocatalytic Ozonation;

Lista de Figuras

Figura 1	Possíveis vias de entradas de fármacos no ambiente.....	21
Figura 2	Estrutura molecular do Diclofenaco.....	23
Figura 3	Esquema representativo da partícula de um semicondutor....	26
Figura 4	Esquema do mecanismo de degradação de superfície por ozonização fotocatalítica.....	29
Figura 5	Fluxograma Experimental.....	30
Figura 6	Reator de Fotocatálise Heterogênea.....	32
Figura 7	Reator de Ozonização Fotocatalítica.....	33
Figura 8	Espectros do diclofenaco de sódio e seu derivado do ácido nítrico.....	36
Figura 9	Comportamento da concentração do diclofenaco de sódio pelo tratamento com Ozonização Catalítica, sem utilização de radiação UV.....	43
Figura 10	Comportamento da concentração do diclofenaco de sódio pelo tratamento com Fotocatálise Heterogênea.....	44
Figura 11	Comportamento da concentração do diclofenaco de sódio pelo tratamento com Ozonização Fotocatalítica utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV (b); e 180 minutos de radiação UV (c).....	44
Figura 12	Comportamento do pH pelo tratamento com Ozonização Catalítica.....	47
Figura 13	Comportamento do pH pelo tratamento com Fotocatálise Heterogênea.....	48
Figura 14	Comportamento da DQO pelo tratamento com Ozonização Catalítica.....	51
Figura 15	Comportamento da DQO pelo tratamento Fotocatálise Heterogênea.....	52
Figura 16	Comportamento da DQO pelo tratamento com Ozonização Fotocatalítica utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120	53

	minutos de radiação UV (b); e 180 minutos de radiação UV (c).....	
Figura 17	Índice Mitótico para o Tratamento de Ozonização Catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	55
Figura 18	Índice Mitótico para o Tratamento de Fotocatálise Heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	55
Figura 19	Índice Mitótico para o Tratamento de Ozonização Fotocatalítica utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV (b); e 180 minutos de radiação UV (c), sendo “CN” o valor do controle negativo.....	56
Figura 20	Alterações Cromossômicas encontradas nos tratamentos.....	60
Figura 21	Presença de formação de micronúcleos encontrados nos tratamentos.....	62
Figura 22	Citocinese encontrada para o tratamento de Ozonização Catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	63
Figura 23	Citocinese encontrada para o tratamento de fotocatálise heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	63
Figura 24	Citocinese encontrada para o tratamento de ozonização fotocatalítica com aplicação de 60 minutos de radiação UV, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	64
Figura 25	Índice de Germinação para <i>Lactuca sativa</i> , com aplicação do tratamento de ozonização catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	66
Figura 26	Índice de Germinação para <i>Lactuca sativa</i> , com aplicação do tratamento de fotocatálise heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.	66
Figura 27	Índice de Germinação para <i>Lactuca sativa</i> , com aplicação do tratamento de ozonização fotocatalítica, utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV; e 180 minutos de radiação UV; sendo “CN” o valor do controle negativo.....	67

Figura 28	Índice de Germinação para <i>Allium cepa</i> , com aplicação do tratamento de ozonização catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	69
Figura 29	Índice de Germinação para <i>Allium cepa</i> , com aplicação do tratamento de fotocatalise heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	70
Figura 30	Índice de Germinação para <i>Allium cepa</i> , com aplicação do tratamento de ozonização fotocatalítica utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV (b); e 180 minutos de radiação UV; sendo “CN” o valor do controle negativo.....	70
Figura 31	Índice de Germinação para <i>Cucumis sativus</i> , com aplicação do tratamento de ozonização catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	73
Figura 32	Índice de Germinação para <i>Cucumis sativus</i> , com aplicação do tratamento de fotocatalise heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.....	73
Figura 33	Índice de Germinação para <i>Cucumis sativus</i> , com aplicação do tratamento de ozonização fotocatalítica, com a utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV; e 180 minutos de radiação UV; sendo “CN” o valor do controle negativo.....	74

Lista de Tabelas

Tabela 1	Tratamentos e doses aplicados.....	35
Tabela 2	Caracterização da amostra inicial de diclofenaco de sódio	41
Tabela 3	Análise de variância para a remoção de diclofenaco.....	41
Tabela 4	Eficiência de remoção de diclofenaco em cada tratamento	45
Tabela 5	Análise de variância para o parâmetro de pH.....	46
Tabela 6	Valores de pH obtidos após os experimentos em laboratório	48
Tabela 7	Análise de variância para o parâmetro de condutividade....	49
Tabela 8	Valores de condutividade obtidos após os experimentos em laboratório.....	50
Tabela 9	Análise de variância para o parâmetro de DQO.....	50
Tabela 10	Valores de eficiência de remoção de DQO obtidos após os experimentos em laboratório.....	53
Tabela 11	Análise de variância para o parâmetro de citotoxicidade.....	54
Tabela 12	Análise de variância para o parâmetro de genotoxicidade....	57
Tabela 13	Alterações cromossômicas encontradas após os experimentos em laboratório.....	59
Tabela 14	Análise de variância para o parâmetro de mutagenicidade...	60
Tabela 15	Efeitos mutagênicos encontrados após os experimentos em laboratório.....	61
Tabela 16	Análise de variância para o parâmetro de citocinese.....	62
Tabela 17	Análise de variância para os parâmetros de avaliação da <i>Lactuca sativa</i>	65
Tabela 18	Parâmetros avaliados para o biodicador <i>Lactuca sativa</i>	68
Tabela 19	Análise de variância para os parâmetros de avaliação da <i>Allium cepa</i>	69
Tabela 20	Parâmetros avaliados para o biodicador <i>Allium cepa</i>	71
Tabela 21	Análise de variância para os parâmetros de avaliação da <i>Cucumis sativus</i>	72
Tabela 22	Parâmetros avaliados para o biodicador <i>Cucumis sativus</i> .	75

Lista de Abreviaturas e Siglas

AC	Alterações cromossômicas
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroides
BC	Banda de condução
BV	Banda de valência
CNS	Conselho Nacional da Saúde
DCF	Diclofenaco de sódio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ETEs	Estações de Tratamento de Esgoto
IM	Índice Mitótico
Interfama	Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa
MPEs	Micropoluentes Emergentes
OMS	Organização Mundial da Saúde
POAs	Processos de Oxidativos Avançados

Sumário

1. Introdução	16
2. Objetivos	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivo específicos.....	18
3. Hipóteses	19
4. Revisão bibliográfica	20
4.1 Fármacos.....	20
4.2 Diclofenaco de sódio.....	23
4.3 Processos oxidativos avançados (POAs)	25
4.3.1 Fotocatálise heterogênea	26
4.3.2 Ozonização.....	27
4.3.3 Ozonização fotocatalítica.....	28
5. Material e métodos.....	30
5.1 Solução inicial.....	30
5.2 Tratamentos utilizados.....	31
5.2.1 Fotocatálise heterogênea	31
5.2.2 Ozonização fotocatalítica.....	32
5.2.3 Ozonização catalítica.....	33
5.2.3.1 Determinação da geração de ozônio	33
5.2.4 Delineamento experimental	34
5.3 Análises	35
5.3.1 Determinação da concentração de diclofenaco	35
5.3.2 Análises químicas	36
5.3.3 Análise de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade.....	37
5.3.4 Análise de fitotoxicidade	38
5.4 Análise estatística.....	40
6. Resultados e discussão.....	41

6.1 Degradação de diclofenaco de sódio.....	41
6.2 pH.....	46
6.3 Condutividade.....	49
6.4 Demanda química de oxigênio (DQO).....	50
6.5 Análise utilizando o bioteste <i>Allium cepa</i>	54
6.5.1 Citotoxicidade.....	54
6.5.2 Genotoxicidade e mutagenicidade.....	57
6.5.3 Citocinese.....	62
6.6 Análise de fitotoxicidade.....	64
6.6.1 Análises utilizando o bioindicador <i>Lactuca Sativa</i>	64
6.6.2 Análises utilizando o bioindicador <i>Allium cepa</i>	68
6.6.3 Análises utilizando o bioindicador <i>Cucumis sativus</i>	72
7. Considerações finais.....	76
REFERÊNCIAS.....	78
Apêndices.....	86

1. Introdução

O aumento nos padrões de produção e consumo nos últimos tempos, estão levando ao surgimento de novas substâncias contaminantes (TAOUFIK et al., 2020). Os contaminantes emergentes são produtos químicos sintéticos, naturais ou quaisquer microrganismos que não são comumente monitorados no meio ambiente, mas têm o potencial de entrar e causar efeitos adversos nos ecossistemas e/ou à saúde humana. Dentre estes produtos podemos destacar os produtos químicos industriais, pesticidas, compostos farmacêuticos, surfactantes e produtos de cuidados pessoais (SUI et al., 2015).

As principais preocupações com relação a esses contaminantes são devidas a pelo menos três ameaças potenciais (ROSENFELD & FENG, 2011): i) A toxicologia ambiental e humana da maioria desses compostos ainda não foi totalmente estudada; ii) esses compostos geralmente não são tratados em sistemas de tratamento de água e esgotos dos municípios e iii) a presença desses contaminantes em sistemas de água pode gerar subprodutos cujas propriedades químicas ainda não foram determinadas.

Uma das cadeias de consumo que mais vem comprometendo a qualidade dos mananciais, são os fármacos, uma vez que milhares de produtos farmacêuticos têm sido encontrados em ambientes aquáticos, e seu número continua a aumentar gradativamente (CARVALHO FILHO et al., 2018; TAOUFIK et al., 2020). No Brasil, de acordo com dados do Conselho Nacional de Saúde (CNS), os medicamentos de maior uso pela população são: anticoncepcionais, analgésicos, descongestionantes nasais, anti-inflamatórios e alguns antibióticos, adquiridos em farmácias sem qualquer dificuldade.

Os componentes farmacêuticos se enquadram em uma categoria de poluentes difíceis de remover e/ou eliminar de efluentes residuais usando métodos convencionais de tratamento de águas residuárias (JOHN et al., 2021). Portanto, fica evidente a necessidade de buscar sistemas capazes de remover satisfatoriamente os fármacos de matrizes ambientais (BISOGNIN, 2018).

Conforme Araújo et al. (2016), os Processos Oxidativos Avançados (POAs) tem recebido destaque como processo de tratamento alternativo de águas residuárias, por se tratar de métodos eficientes que reduzem os impactos ambientais. Sua eficácia depende da geração de radicais livres reativos, sendo o mais importante o radical hidroxila (HO●). Segundo Pignatello et al. (2006), os POAs se caracterizam por

transformar, parcial ou totalmente, os poluentes em substâncias mais simples como dióxido de carbono, água, ânions inorgânicos ou substâncias menos tóxicas e de fácil degradação por tecnologias comuns.

Entre os POA, a fotocatalise é amplamente estudada para o tratamento de águas residuárias, uma vez que um progresso significativo foi feito no campo da utilização deste para a remoção de contaminantes de preocupação emergente da água, principalmente na categoria de produtos farmacêuticos (RUEDA-MARQUEZ et al., 2020; MURGOLO et al., 2021). Aguinaco et al. (2012) afirmam que, em comparação com outros POAs, a ozonização fotocatalítica possui a vantagem do maior rendimento de radicais hidroxila devido ao caráter oxidante mais poderoso do ozônio em comparação com o oxigênio.

Entretanto, é conhecido que durante a decomposição fotocatalítica dos poluentes alvo na água, pode ocorrer a geração de subprodutos mais tóxicos que os originais, sendo assim de grande importância avaliar a toxicidade do efluente tratado (RUEDA-MARQUEZ et al., 2020). Existem inúmeros teste toxicológicos que podem ser utilizados para avaliar as concentrações e o tempo de exposição necessário para que os agentes tóxicos possam produzir efeitos adversos sobre os organismos (BRAGA et al., 2015).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de degradação do fármaco diclofenaco de sódio através da utilização de ozonização catalítica, fotocatalise heterogênea e ozonização fotocatalítica, bem como avaliar a redução de toxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade e fitotoxicidade.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral

Este estudo visa avaliar os efeitos dos processos de ozonização catalítica, fotocatalise heterogênea e ozonização fotocatalítica, utilizando dióxido de titânio (TiO_2) como catalisador, na degradação do fármaco diclofenaco de sódio, assim como avaliar a redução da fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade pelo uso dos referidos sistemas.

2.2 Objetivo específicos

- Avaliar os usos dos sistemas de ozonização catalítica, fotocatalise heterogênea e ozonização fotocatalítica, na degradação do fármaco diclofenaco de sódio;
- Avaliar o uso do catalisador TiO_2 nos processos de tratamento utilizados;
- Avaliar as doses de ozônio na degradação do diclofenaco de sódio;
- Avaliar o tempo de radiação no processo de degradação;
- Avaliar a redução de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade da solução contendo fármaco diclofenaco de sódio com o uso dos sistemas propostos;
- Avaliar a redução de fitotoxicidade do diclofenaco de sódio com os bioindicadores *Lactuca sativa*, *Cucumis sativus* e *Allium cepa*;
- Comparar os processos de ozonização catalítica, fotocatalise heterogênea e ozonização fotocatalítica, quanto a diminuição de citotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade e fitotoxicidade;
- Avaliar o comportamento das características químicas das soluções com diclofenaco após a aplicação dos tratamentos indicados;
- Determinar a melhor dose de ozônio e o melhor tempo de radiação UV para a redução na concentração do diclofenaco de sódio;

3. Hipóteses

- As técnicas de ozonização catalítica e fotocatalise heterogênea, utilizando TiO_2 , são eficientes na degradação do fármaco diclofenaco;
- As soluções contendo diclofenaco de sódio, após serem submetidos ao tratamento de fotocatalise heterogênea e ozonização catalítica, têm sua toxicidade reduzida;
- O processo de fotocatalise heterogênea reduz a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade das soluções;
- A toxicidade das soluções contendo diclofenaco de sódio é melhor reduzida no tratamento utilizando ozonização fotocatalítica.

4. Revisão bibliográfica

4.1 Fármacos

A evolução tecnológica e o crescimento industrial trazem consequências, como por exemplo, os impactos ambientais negativos originados das emissões antropogênicas de contaminantes presentes em concentrações muito baixas, em nível traço (ng/L ou µg/L) - denominados microcontaminantes ou micropoluentes (MPEs) - no meio ambiente (LIMA et al., 2017). Estes compostos não possuem consequências suficientemente conhecidas aos seres vivos e ao meio ambiente. Portanto, identifica-se na atualidade uma emergente preocupação com os efeitos da incidência e permanência de tais compostos nos ecossistemas (VERGEYNST et al., 2015; TIJANI et al., 2016; SALIMI et al., 2017). Estes compostos não estão atualmente protegidos pela legislação, entretanto são considerados perigosos para o ecossistema e a saúde humana (JOHN et al., 2021).

Do extenso rol de microcontaminantes comumente detectados nos corpos d'água superficiais, destacam-se os desreguladores endócrinos e os fármacos, que a despeito da sua baixa concentração ambiental, têm o potencial de causar significativos efeitos adversos. Recentemente, o monitoramento de fármacos residuais no meio ambiente vem chamando atenção devido ao fato de muitas dessas substâncias serem frequentemente encontradas em efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e águas naturais, em concentrações na faixa de µg/L e ng/L (BILA; DEZOTTI, 2003; LIMA et al., 2017).

Ueda et al. (2009) ressaltam que a relevância dos fármacos na sociedade é inquestionável, uma vez que se estende desde o combate às enfermidades até funções como de proporcionar cada vez mais o prolongamento da longevidade humana. Geralmente, os fármacos são absorvidos pelo organismo e estão sujeitos a reações metabólicas, entretanto, após a administração, uma quantidade significativa dessas substâncias originais e seus metabólitos são excretados na urina, fezes ou esterco animal, sendo frequentemente encontrados no esgoto doméstico (BILA; DEZOTTI, 2003).

O avanço do mercado farmacêutico é notório, como por exemplo, o Brasil em cinco anos migrou do 10º para o 6º lugar no mercado mundial em vendas de

medicamentos devendo ainda subir duas posições no ranking mundial de mercados farmacêuticos até 2023 (INTERFARMA, 2019).

Com o aumento de publicações identificando a presença de fármacos e seus metabólitos no meio ambiente (TERNES, 1998; KOLPIN et al., 2002), bem como o aumento na produção e diversidade desses compostos (BROWN et al., 2006; SEBASTINE; WAKERMAN, 2003), essa passou a ser considerada uma das maiores preocupações das ciências ambientais (CALISTO e ESTEVES, 2009). De acordo com John et al. (2021), os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs), frequentemente prescritos para dor e inflamação, estão entre os fármacos mais comumente detectados no meio ambiente.

A principal porta de entrada de fármacos no meio aquático é através do efluente oriundo das estações de tratamento de esgotos, uma vez que as tecnologias convencionais de tratamento apresentam limitações na remoção de uma variedade de fármacos (CARVALHO et al., 2009). Além desta, podem existir outras rotas possíveis que um fármaco segue no meio ambiente depois da sua produção e consumo pelos seres vivos, como mostrado na Figura 1.

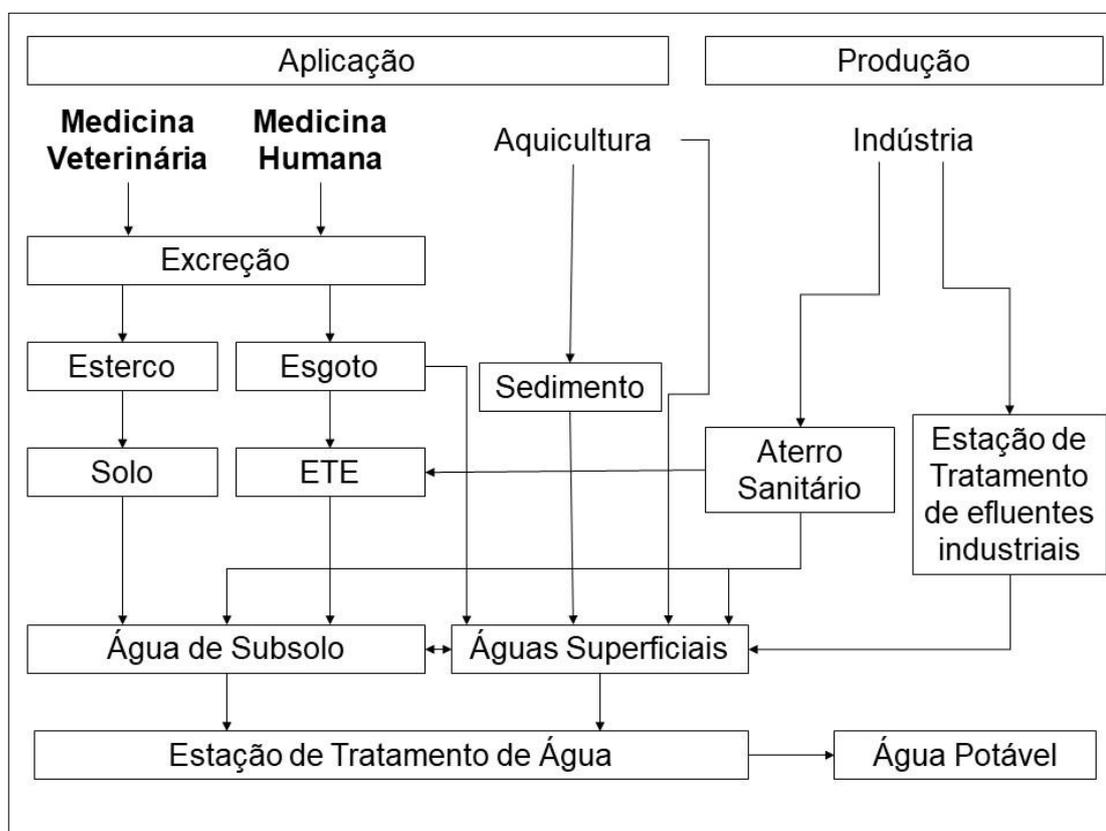


Figura 1. Possíveis vias de entradas de fármacos no ambiente (Adaptado de Bila e Dezotti et al., 2003)

Caminhos alternativos de fármacos residuais no ambiente aquático, como descritos por Bila e Dezotti (2003), podem ser: devido ao esterco ser usado como fertilizantes e, dessa forma, ocorre a contaminação das águas de subsolo; a contaminação pode ser pelo uso do lodo digestivo proveniente das ETEs na agricultura; ou ainda, a disposição ou deposição de resíduos provenientes de indústrias farmacêuticas em aterros sanitários, contaminando as águas de subsolo nas cercanias do aterro.

Em comparação com o consumo humano de fármacos, a medicina veterinária representa um problema agravado, uma vez que comumente são administradas doses maiores, além dos efluentes agropecuários que são depositados no solo, muitas vezes sem qualquer tipo de tratamento prévio, poluindo diretamente as águas subterrâneas (CALIMAN e GAVRILESCU, 2009). Acresce, ainda, que alguns fármacos não são metabolizados pelo organismo, o que origina a sua excreção como forma ativa aumentando assim o seu possível impacto nas cadeias tróficas (FENT et al., 2006).

Algumas investigações apontam os efluentes hospitalares como uma das principais fontes poluidoras para a presença de fármacos no meio ambiente devido às descargas efetuadas nas redes de águas residuárias públicas sem qualquer pré-tratamento ou com pré-tratamentos insuficientes, uma vez que estes efluentes são habitualmente descarregados em ETE municipais (KUMMERER, 2009; VERLICCHI et al., 2012b; SANTOS et al., 2013). Além disso, um efluente hospitalar pode ter uma composição bastante variável, que geralmente resulta em altos níveis de toxicidade, genotoxicidade e carga orgânica, causando um impacto considerável no ecossistema e risco inerente à saúde humana (KERN et al., 2013).

Os fármacos constituem substâncias químicas biologicamente ativas sintetizadas com o intuito de produzir respostas fisiológicas em humanos, animais e plantas. Há grande preocupação em relação à presença destas substâncias na água e seus potenciais efeitos adversos para a saúde humana, animal e de organismos aquáticos, uma vez que podem elas apresentar efeitos nesses organismos mesmo em concentrações traço. (CARVALHO et al., 2009; LIMA et al., 2017; CARVALHO FILHO et al., 2018).

Um ponto crítico neste tema é saber se existe um nível elevado dessas substâncias no meio ambiente, que sejam suficientes para exercer efeitos adversos

em seres vivos, uma vez que, embora a presença de fármacos no ambiente tenha sido relatada por diferentes grupos de pesquisa em diversos países, informações sobre os seus efeitos adversos em diferentes organismos e, principalmente, as concentrações consideradas limiares são ainda incipientes (BILA e DEZOTTI, 2003; SOUZA et al., 2020).

A poluição dos corpos d'água por fármacos e a ampla distribuição desses compostos no ambiente podem aumentar o risco de toxicidade, principalmente aos organismos aquáticos (SOUZA et al., 2020). Em um trabalho realizado por Souza et al. (2020), foram apresentadas as concentrações de fármacos quantificados em águas e efluentes brasileiros e compiladas informações sobre a toxicidade de tais contaminantes em nível aquático, celular e genético. Com base nos ensaios citotóxicos e genotóxicos, em sua maioria, viu-se que os fármacos na concentração usualmente encontrada no ambiente não apresentaram toxicidade significativa.

4.2 Diclofenaco de sódio

O diclofenaco (DCF), conforme representado na Figura 2, é um anti-inflamatório popular, não esteroide comum (AINE) usado como comprimidos orais ou gel tópico (GARCÍA- ARAYA et al., 2010; VIENO E SILLANPA, 2014), que consiste na classe do ácido fenilacético com propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas e geralmente é usado para tratar a dor (JOHN et al., 2021). Este medicamento pode ser adquirido em farmácias sem a necessidade de receita médica, fato que contribui para seu alto consumo (PENHA et al., 2021).

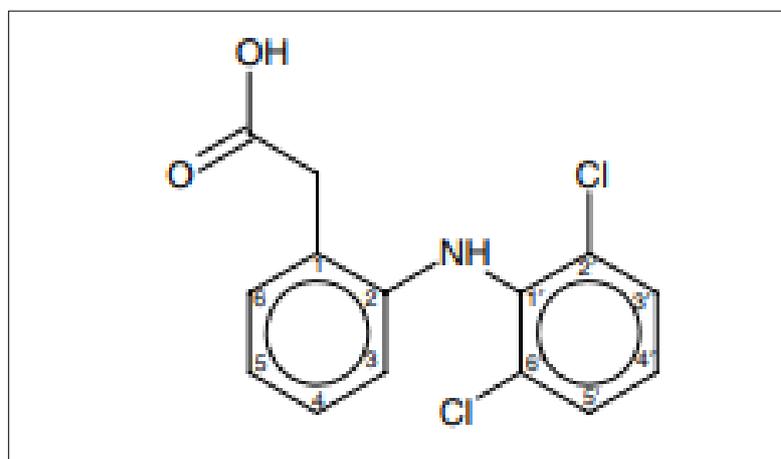


Figura 2. Fórmula estrutural do Diclofenaco
Fonte: GARCÍA- ARAYA et al., 2010

Um dos casos mais famosos envolvendo este fármaco é o referente ao declínio de espécies de abutres do sul da Ásia em consequência do uso veterinário do anti-inflamatório não esteroidal, uma vez que os abutres ficam expostos a esse fármaco quando se alimentaram de carcaças de animais que foram tratados com diclofenaco antes da morte (GREEN et al., 2006).

Sathishkumar et al. (2020), após uma extensa pesquisa de revisão de estudos de monitoramento ambiental global, puderam comprovar que o diclofenaco e seus metabólitos estão onipresentes em quase todos os compartimentos ambientais relacionados à água e ao solo, bem como na biota (animais e plantas). As concentrações máximas medidas de DCF em águas residuárias municipais variam entre 0,44 e 7,1 µg/L e as concentrações médias estão entre 0,11 e 2,3 µg/L (VIENO E SILLANPA, 2014). As concentrações de águas residuárias municipais refletem o consumo de DCF pelos residentes no sistema de esgoto específico, logo as taxas de consumo variam muito entre os países e também dentro dos países, o que torna difícil determinar as concentrações típicas de águas residuárias (VIENO E SILLANPA, 2014).

A partir dos estudos de ecotoxicologia apresentados por Sathishkumar et al. (2020), os autores confirmam que o diclofenaco pode causar efeitos adversos em mamíferos, animais aquáticos, plantas, artrópodes e minhocas, sendo importante ressaltar que o estresse oxidativo induzido por esta substância foi descrito em diferentes animais aquáticos, que é a fonte de várias doenças. Em plantas, este fármaco demonstrou efeitos citotóxicos e genotóxicos. Além disso, os autores ainda ressaltam que a exposição de longo prazo ao diclofenaco também desempenha um papel crítico na toxicidade para organismos não-alvo, enfatizando o problema ecológico da exposição a este medicamento para espécies não-alvo, incluindo seres humanos, durante a exposição crônica.

De acordo com Verlicchi et al. (2012b), o DCF está entre os fármacos mais frequentemente detectado em efluentes de estações de tratamento de águas residuárias municipais, uma vez que 73 produtos farmacêuticos revisados, DCF teve a oitava maior carga de massa média no efluente secundário das estações de tratamento de águas residuárias municipais.

O diclofenaco é um composto de difícil biodegradação e a sua eliminação no tratamento convencional de águas residuárias é limitada e incompleta porque essas plantas geralmente não são projetadas para eliminar micro poluentes como os

produtos farmacêuticos (GERBALDO et al., 2021). Portanto, é necessário desenvolver uma tecnologia avançada para alcançar uma degradação satisfatória do diclofenaco (BI et al., 2021). Vieno e Sillanpa (2014) também afirmaram que para ocorrer um aumento na eliminação dessa substância, é preciso investigar e desenvolver métodos de tratamento terciário eficazes e econômicos, como por exemplo, métodos baseados em oxidação ou adsorção.

Existem muitos estudos focados em melhorar a eficiência de conhecidas tecnologias de tratamento do esgoto ou reduzir custos, fundindo-as com métodos mais sustentáveis e ecológicos. A aplicação de diferentes tecnologias com o título geral de Processos de Oxidação Avançada (POAs) é um destes métodos (MURGOLO et al., 2021).

4.3 Processos oxidativos avançados (POAs)

Os POAs têm sido extensivamente estudados devido ao seu potencial como alternativas ou complementos aos processos convencionais de tratamento de efluentes, uma vez que os radicais hidroxila gerados são altamente reativos e pouco seletivos, podendo atuar na oxidação química de uma vasta gama de substâncias (MELO et al., 2009).

Ao contrário de outras tecnologias de descontaminação, como por exemplo: adsorção, coagulação, floculação, sedimentação, bio-filtração e remoção de gás, que muitas vezes transferem os problemas de poluição da água para outro meio, a utilização de POAs leva à decomposição e mineralização de contaminantes em água, ou seja, a molécula é convertida para o seu maior estado de oxidação possível, convertendo-a em água, dióxido de carbono, em ânions inorgânicos oxidados ou em qualquer outra molécula que torne viável a remoção por processos biológicos, nesse caso, qualquer processo que favoreça o aumento da biodegradabilidade. Esse processo ocorre em consequência da geração de reagentes oxidantes ativos, como radical hidroxila ($\text{HO}\bullet$), superóxido, ozoneto, pares elétron-buraco fotoproduzidos. Essas espécies oxidativas atacam os poluentes existentes na água e os oxidam gradualmente em substâncias menos nocivas (MEHRJOUËI et al., 2015).

Os POAs são conhecidos como métodos promissores para a remoção de contaminantes de preocupação emergente de efluentes de águas residuárias (RUEDA-MARQUEZ et al., 2020; TAOUIK et al., 2020). Dentre os POAs clássicos

estão o reagente Fenton, foto-Fenton, a ozonização, a fotocatalise heterogênea além de outros, sendo que todos eles são conhecidos pela capacidade em degradar compostos recalcitrantes.

4.3.1 Fotocatálise heterogênea

O processo de fotocatalise heterogênea é baseado na irradiação de raios UV em semicondutores inorgânicos visando desencadear reações catalíticas, de forma a converter a energia de fótons em energia química, que auxiliam no processo de descontaminação de poluentes orgânicos (MERG et al., 2010; XIÃO et al., 2015). Neste processo é feita a ativação de um semicondutor por uma radiação solar ou artificial. A caracterização do semicondutor é composta por uma banda de valência (BV) e uma banda de condução (BC), com uma separação entre elas definida como “bandgap”, conforme a Figura 3. Quando a absorção de fótons é maior que a energia dessa região, o elétron é promovido da banda de valência para a banda de condução, deixando por consequência, uma lacuna (h+) na banda de valência, essa lacuna é potencialmente positiva, quando a água passa pelo semicondutor são facilmente gerados radicais de $\bullet\text{OH}$ (NOGUEIRA; JARDIM, 1998). Conforme Xião et al. (2015), a geração de de pares elétron-lacuna auxiliam a desencadear uma série de reações de oxidação/redução dos substratos adsorvidos.

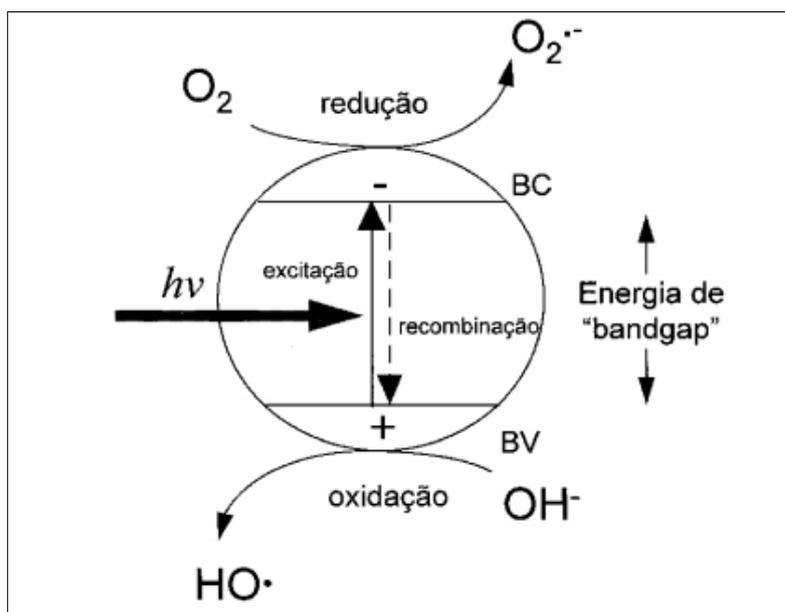


Figura 3. Esquema representativo da partícula de um semicondutor.
Fonte: Nogueira e Jardim, 1998

O dióxido de titânio (TiO_2) é o semicondutor mais utilizado neste processo, devido a sua estabilidade química, alta atividade fotocatalítica e baixa toxicidade (MEHRJOUEI et al., 2015). Porém, apesar das suas vantagens dentre elas o seu custo relativamente baixo, o uso de catalisadores para aplicações práticas em águas residuárias reais e tratamento de água pode ser limitado devido às dificuldades que surgem quando o fotocatalisador em pó deve ser separado da água tratada (MURGOLO et al., 2021). Rueda-Marquez et al. (2020) também afirmam que de forma geral, apesar da alta eficiência relevante dos fotocatalisadores usados na forma de pó disperso para a degradação de poluentes orgânicos emergentes e redução da toxicidade, a aplicação prática deste processo é dificilmente viável devido aos desafios técnicos que surgem quando o fotocatalisador deve ser separado da água para mais reuso.

É conhecido que durante a decomposição fotocatalítica dos poluentes, pode ocorrer a geração de subprodutos mais tóxicos que os originais, portanto é de grande importância avaliar a toxicidade do efluente de esgoto tratado (RUEDA-MARQUEZ et al., 2020). Além disso, de acordo com Murgolo et al. (2021), são necessárias pesquisas futuras no sentido de avaliar a aplicabilidade dos processos fotocatalíticos em termos de sustentabilidade e custos do processo, passando de uma escala de laboratório, a uma escala piloto até uma escala real, de forma a preencher essa lacuna entre testes e aplicações em escala real, também de forma comparativa com as melhores tecnologias disponíveis para a remoção de contaminantes emergentes de águas residuárias.

4.3.2 Ozonização

O ozônio (O_3) é um gás formado por três átomos de oxigênio, sendo que dois constituem a base do oxigênio presente no ar e o terceiro, muito instável, pode se desligar facilmente do ozônio para se ligar a moléculas de outras substâncias orgânicas, alterando sua composição química. Caracteriza-se por ser um gás instável e de alto poder oxidante, sendo essas duas qualidades importantes na desinfecção de esgotos domésticos. A instabilidade ocorre porque quando o efluente é lançado no meio ambiente não haverá residual oxidante que possa ser danoso à biota aquática e o alto poder de oxidação para a eficiente remoção de compostos, microrganismos e nutrientes (RODRIGUES et al., 2012).

O ozônio é um agente oxidante capaz de reagir com uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, além de ser capaz de promover a desinfecção de numerosos microrganismos. Associado a estas vantagens, pode-se destacar ainda que o ozônio é capaz de reduzir consideravelmente as concentrações de compostos químicos como os desreguladores endócrinos, os medicamentos e os produtos para cuidados pessoais, tornando-o propício para o tratamento de água de abastecimento e águas residuárias, além de efluentes industriais (ONEBY et al., 2010).

Para Wang e Chen (2020), a adição de um catalisador pode melhorar a eficiência do ozônio, uma vez que pode facilitar a decomposição do ozônio para formar os radicais livres mais ativos, resultando em uma rápida degradação e mineralização efetiva dos poluentes orgânicos.

4.3.3 Ozonização fotocatalítica

A ozonização fotocatalítica é um sistema fotocatalítico gás-líquido complexo que envolve etapas de transferência de massa, fotólise direta, reações químicas e catalíticas e fotocatalíticas, com um vasto número de variáveis para investigar (AGUINACO et al., 2012). Este processo ocorre na presença de fotocatalisador, radiação UV-vis e ozônio (RUEDA-MARQUEZ et al., 2020).

A adição de ozônio à fotocatalise aborda um dos principais fatores limitantes da eficiência da fotocatalise heterogênea, que é a recombinação elétron-buraco, uma vez que o ozônio presente sequestra os elétrons fotoexcitados formados na superfície do catalisador, o que, conseqüentemente, aumenta a eficiência do catalisador e contribui para a formação de oxidantes adicionais, como radicais hidroxila, que reagem com os compostos orgânicos a serem removidos, conforme a Figura 4 (LASHUK e YARGEAU, 2021). Portanto, a combinação de ozônio com fotocatalisadores e seus efeitos sinérgicos resultantes são considerados uma técnica promissora para a decomposição de microrganismos refratários e compostos orgânicos em água (MEHRJOUEI et al., 2015).

A principal vantagem da ozonização fotocatalítica é seu maior rendimento de radicais hidroxila devido ao caráter oxidante mais poderoso do ozônio em comparação com o oxigênio. Essa vantagem, minimiza a indesejável reação de recombinação de elétrons e buracos oxidantes positivos na banda de valência que resultam na inibição da velocidade do processo. Como consequência, taxas de oxidação mais altas são

esperadas ao usar a ozonização fotocatalítica (AGUINACO et al., 2012; GARCÍA-ARAYA et al., 2010; AGUSTINA et al., 2005). Entretanto, de acordo com Mehrjouei et al. (2015), o aumento da temperatura do sistema reduz a meia-vida e a solubilidade do ozônio em uma solução aquosa, e qualquer escassez na concentração de ozônio afetará negativamente a produção de ozonização fotocatalítica.

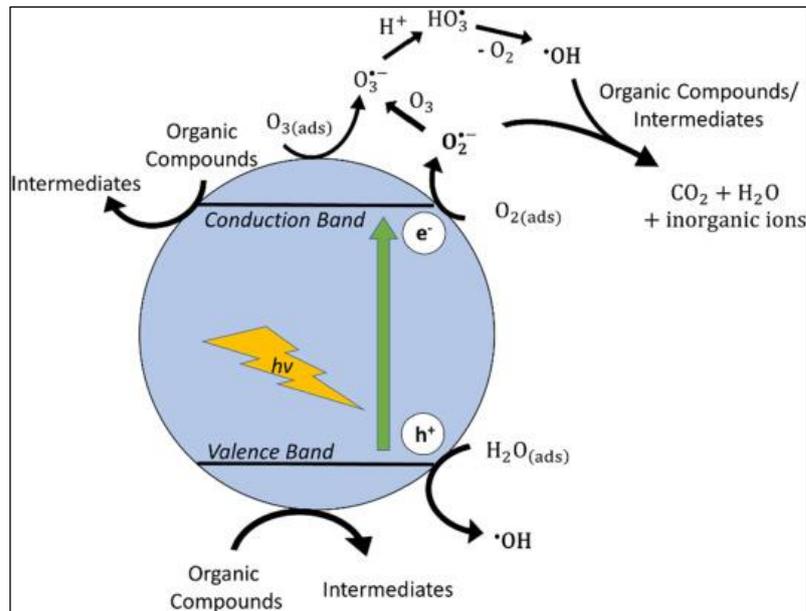


Figura 4. Mecanismo de degradação de superfície por ozonização fotocatalítica. Fonte: Lashuk e Yargeau, 2021

Um estudo desenvolvido por Valério et al. (2020) comparou o desempenho de degradação da tetraciclina usando três diferentes sistemas, sendo eles a fotocatalise (UV), ozonização (O_3) e ozonização fotocatalítica (UV + O_3), usando partículas de titânio (P25) como fotocatalisador suportado em uma estrutura macroporosa, e concluiu os processos separados resultaram em eficiência de degradação limitada, exibindo valores de degradação semelhantes para tratamentos com UV ou O_3 . No entanto, o processo combinado apresentou uma degradação favorável atingindo quase a degradação total da tetraciclina.

5. Material e métodos

Os experimentos e as análises foram realizados no Laboratório de Análise de Águas e Efluentes, localizado no Centro de Engenharias (CEng) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

A pesquisa decorreu conforme o fluxograma experimental (Figura 5) apresentado abaixo, no qual os itens serão melhor detalhados nos tópicos a seguir.

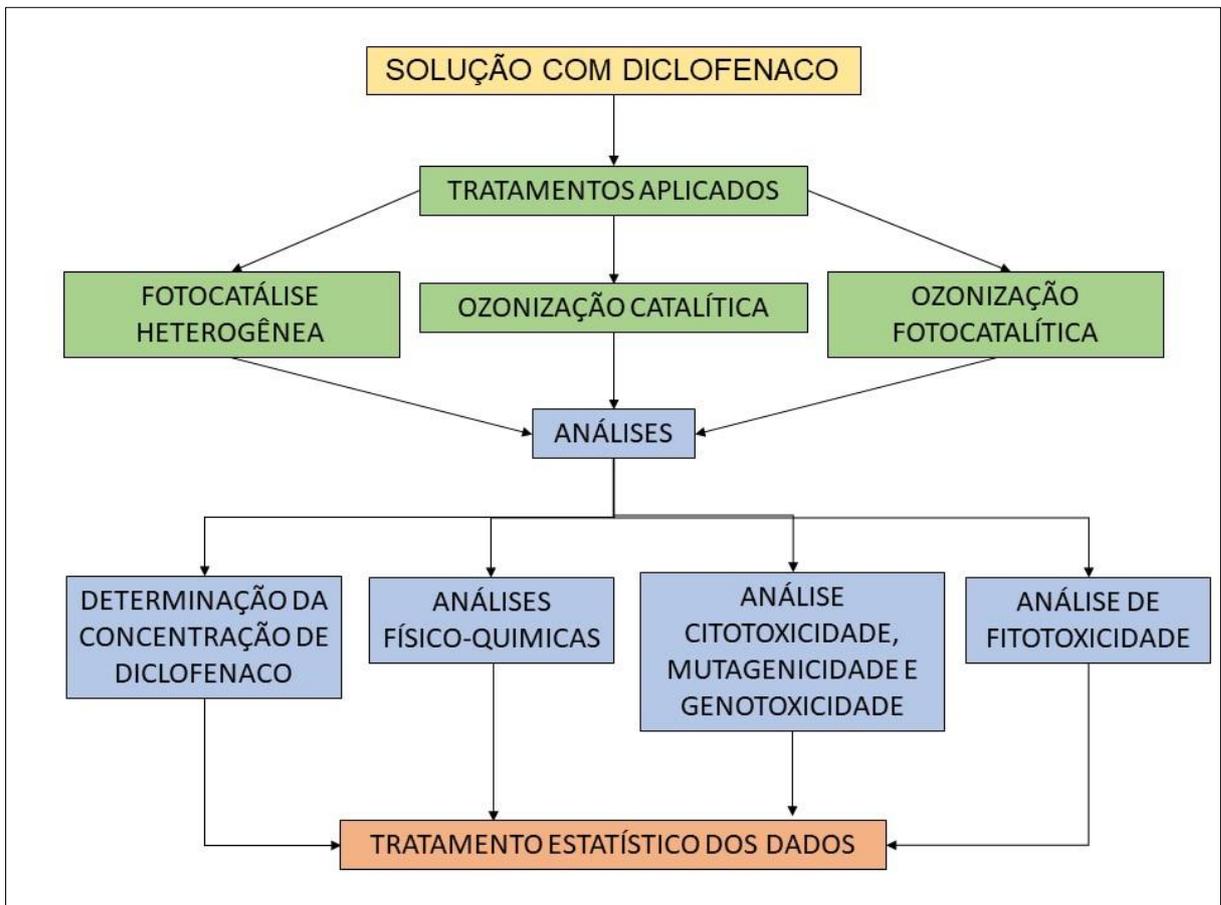


Figura 5. Fluxograma Experimental

5.1 Solução inicial

A solução utilizada neste trabalho foi produzida com comprimidos comerciais do fármaco diclofenaco de sódio da marca Neoquímica® diluídos em água destilada. A concentração utilizada foi de 25 mg/L. Esta concentração foi adotada com o objetivo de testar a capacidade dos sistemas de tratamentos de degradar o diclofenaco de

sódio, uma vez que utilizando concentrações menores ou usualmente encontrados no meio ambiente, não seria possível ter um limite de detecção após os tratamentos.

Todas as amostras foram armazenadas na geladeira durante todo período em que foi realizado os tratamentos e as análises.

5.2 Tratamentos utilizados

Os tratamentos utilizados neste trabalho foram a fotocatalise heterogênea, ozonização fotocatalítica e o processo de ozonização catalítica. Para a realização dos experimentos, foi adotado o processo em bateladas. Para isso, foram utilizados 250mL de solução para cada tratamento, os quais foram feitos em duplicatas.

Os tratamentos foram submetidos a duas etapas, sendo ambas sob agitação magnética. Inicialmente, elas permaneceram 20 minutos, no escuro de forma a promover a adsorção inicial e atingir o equilíbrio e, posteriormente, foram submetidas a aplicação dos tratamentos de acordo com o delineamento experimental.

No processo de ozonização fotocatalítica, o ozonizador foi ligado após os 20 minutos iniciais, ou seja, após o período no escuro. Em ambos tratamentos, de fotocatalise heterogênea e ozonização fotocatalítica, a lâmpada também foi ligada 20 minutos antes de entrar em contato com a solução, de forma a atingir sua máxima potência.

Após cada tratamento, as amostras foram centrifugadas por 10 min a 3600 rpm, com o objetivo de separar o catalisador da amostra. Os aparatos utilizados em cada tratamentos, bem como o delineamento experimental serão descritos nos tópicos a seguir.

5.2.1 Fotocatálise heterogênea

O sistema de fotodegradação foi feito utilizando um reator em formato retangular, tendo as seguintes dimensões: comprimento de 40 cm, largura de 30 cm e altura de 50 cm. A parte interna do reator foi totalmente forrada com papel alumínio, a fim de evitar perdas e dissipação de energia luminosa (luz). A lâmpada utilizada foi do tipo UV de 300 W, da marca OSRAM, a qual emiti UV-A na faixa entre 315-400 nm e UV-B na faixa entre 280-315 nm (diâmetro de 127 cm e largura de 185 cm).

O aparato experimental utilizado neste trabalho é mostrado na Figura 6. Foram utilizados um agitador magnético (a) de forma a manter o catalisador em suspensão

na solução, um injetor de O_2 com um difusor poroso (b), um béquer de capacidade 250 mL (c) onde foram colocadas as amostras, um banho-maria (d) com entrada e saída constante de água (cujo béquer foi colocado dentro), um sistema de exaustão de ar (e) buscando evitar o super aquecimento no interior da unidade, uma lâmpada UV (f) conforme as descrições citadas acima.

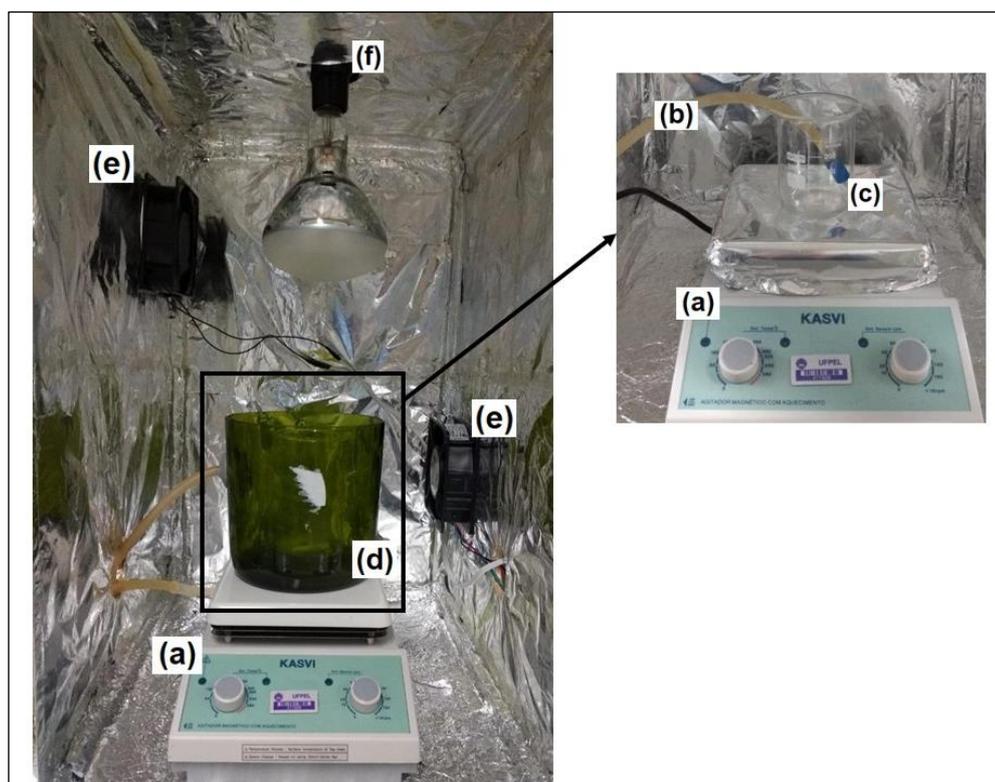


Figura 6. Reator de Fotocatálise Heterogênea

5.2.2 Ozonização fotocatalítica

A Ozonização Fotocatalítica foi realizada utilizando o mesmo aparato apresentado na Figura 6, porém com a adição do equipamento necessário para a geração de ozônio, como mostrado na figura 7. Foram adicionados um compressor de ar (g) e um gerador de ozônio (h), sendo também substituído a mangueira que com difusor poroso com O_2 , por outra também com difusor poroso, mas levando ozônio (c). Neste tratamento foi utilizado um ozonizador da marca Panozon, modelo 053308 P+70 (g), juntamente de um compressor de ar (f) para a inserção de ozônio no sistema.

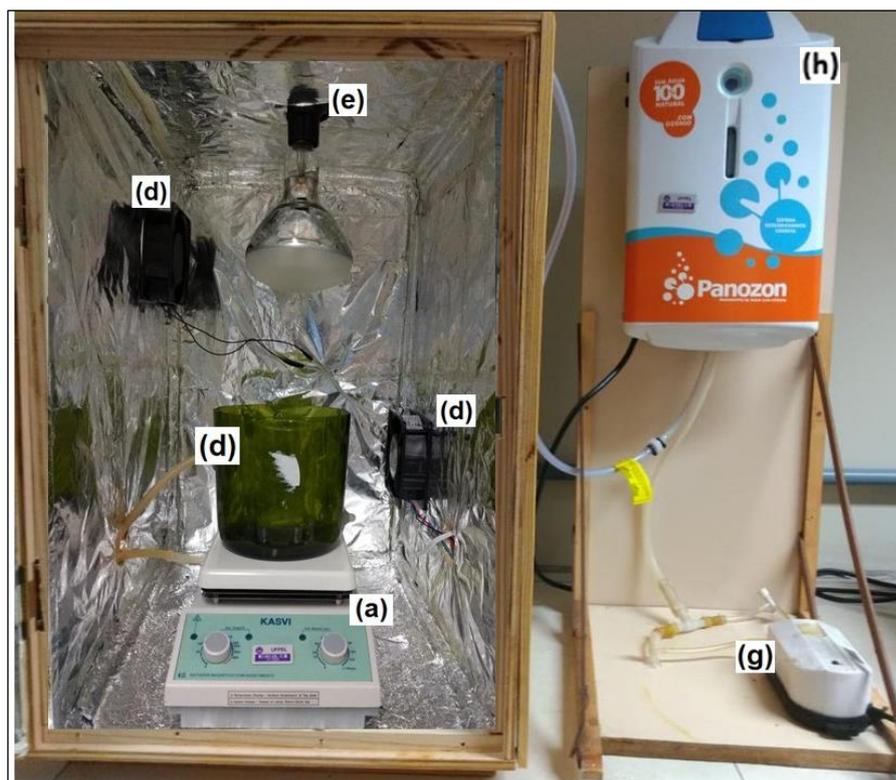


Figura 7. Reator de Ozonização Fotocatalítica

5.2.3 Ozonização catalítica

A Ozonização Catalítica foi realizada no mesmo aparato mostrado na Figura 6, entretanto para este tratamento não foi ligada a lâmpada UV. Todas as doses de ozônio aplicadas serão conduzidas no escuro, sem interferência de qualquer luz.

5.2.3.1 Determinação da geração de ozônio

Foi realizado um teste a fim de confirmar a capacidade real de ozonização, uma vez que a geração de ozônio pode ser diferente da informada pelo fabricante, através do método iodométrico adaptados de APHA (2005), RAKNESS et al. (1996) e HOSS (2020).

Foram utilizados dois frascos lavadores de gás, com 400 mL de iodeto de potássio 2% em cada frasco. Durante 10 minutos foram borbulhado ozônio na sequência de frascos. Após desligar a injeção de ozônio, foram adicionados 10 mL de H_2SO_4 2N às soluções, as quais serão transferidas para um Erlenmeyer de 1L.

Por fim, a solução foi titulada com tiosulfato de sódio até adquirir coloração amarelo pálido. Logo após, foi adicionado em torno de 5 mL de indicador amido, obtendo coloração azulada, prosseguindo com a titulação até a cor azul desaparecer. A dose de ozônio então é dada pela Equação 1:

$$Dose\ de\ oz\ônio\ (mg/min) = \frac{(A+B).N.24}{T} \quad (1)$$

Onde:

A = volume de titulante do frasco A, em mL

B = volume de titulante do frasco B, em mL

N = normalidade do $Na_2S_2O_3$, e

T = tempo de ozonização, min

Para este estudo, a análise foi realizada e através desta, foi determinada a geração de ozônio de 88,2 mgO₃/h, ou então, 1,47 mg/min.

5.2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi um fatorial de 2⁴, ou seja, foram utilizados 2 fatores resposta (dose de ozônio aplicada e tempo de radiação), com 4 níveis (doses de ozônio – 0 mg O₃/L; 88,2 mg O₃/L; 176,4 mg O₃/L; 352,8 mg O₃/L; tempo de radiação – 0 minutos; 60 minutos; 120 minutos e 180 minutos), conforme a Tabela 1.

Foram utilizadas as mesmas concentrações de diclofenaco de sódio na solução inicial, sem tratamento. Foram utilizados 0,6 g/L de dióxido de titânio (TiO₂), como fotocatalisador, como recomendado por Aguinaco et al. (2012).

Tabela 1. Tratamentos e doses aplicados

Tempos de Radiação UV (min)	Tempos de Ozonização (min)	Quantidade de Ozônio (mg O ₃)	Dose de ozônio aplicada (mg O ₃ /L)
0	0	0	0
0	15	22,05	88,2
0	30	44,1	176,4
0	60	88,2	352,8
60	0	0	0
60	15	22,05	88,2
60	30	44,1	176,4
60	60	88,2	352,8
120	0	0	0
120	15	22,05	88,2
120	30	44,1	176,4
120	60	88,2	352,8
180	0	0	0
180	15	22,05	88,2
180	30	44,1	176,4
180	60	88,2	352,8

5.3 Análises

5.3.1 Determinação da concentração de diclofenaco

A determinação da concentração do diclofenaco foi realizada pelo método espectrofotométrico adaptando-se a metodologia de Martin et al., (2005), a qual baseia-se na reação entre o diclofenaco sódico e o ácido nítrico em temperatura ambiente (25° C) produzindo um composto amarelado (um derivado nitrato de Diclofenaco de Sódio) com absorvância máxima a 380 nm. Conforme a Figura 8 a seguir, onde “a” corresponde ao espectro do Diclofenaco de sódio e “b” corresponde ao espectro do produto da reação entre Diclofenaco de sódio e ácido nítrico.

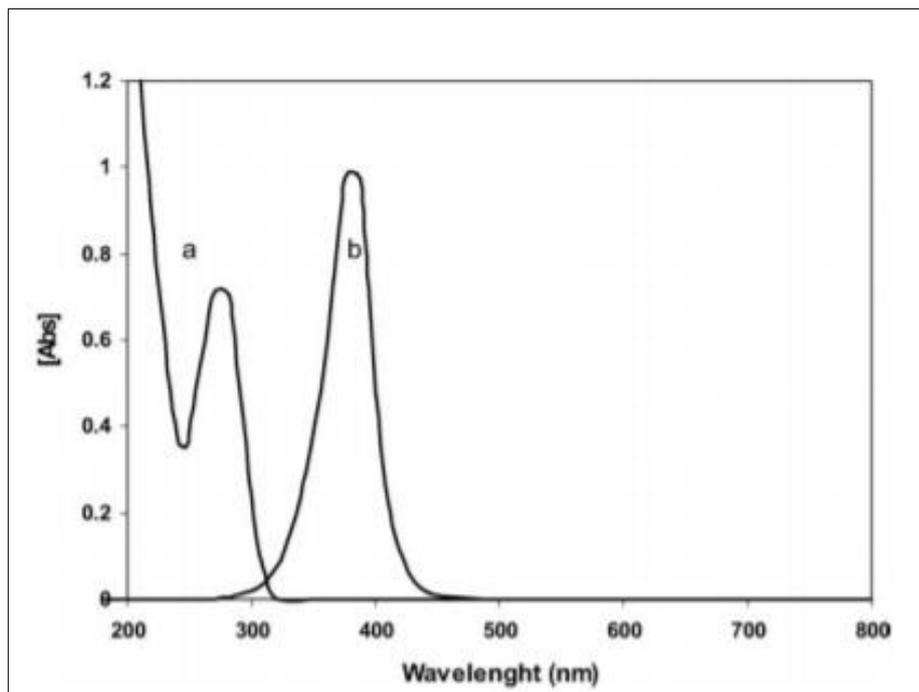


Figura 8. Espectros do diclofenaco de sódio e seu derivado do ácido nítrico.
Fonte: Matin et al., (2005)

Foram utilizados comprimidos de diclofenaco de sódio macerados com um almofariz e pistilo até que adquiram o aspecto de pó. Foram produzidas 10 soluções com concentrações diferentes, utilizando-se o fármaco contido nos comprimidos, partindo-se do princípio de que cada comprimido possui 50 mg de diclofenaco de sódio.

As amostras das soluções foram coletadas e, em um balão volumétrico de 10mL foram avolumadas com 1ml de ácido nítrico a 63% e 9mL de amostra, adquirindo a cor amarelada para que posteriormente seja submetida à leitura no espectrofotômetro.

Após realizadas as várias leituras foi determinada a nova curva padrão produzida então com as amostras das novas soluções, bem como também foram determinados seus limites de detecção e quantificação bem como o valor de “R2” característico da curva analítica.

5.3.2 Análises químicas

A solução contendo o fármaco diclofenaco de sódio foi caracterizada antes e depois da realização dos ensaios de laboratório, sendo determinados os parâmetros:

pH, Condutividade Elétrica e Demanda Química de Oxigênio (DQO). As análises foram realizadas de acordo com a metodologia apresentada no Manual de Análise de Águas e Efluentes (QUADRO et al., 2016). O pH foi aferido em medidor de pH de bancada da marca MS Tecnopon, e a condutividade foi medida em um condutivímetro microprocessado AT – 255 Alfakit. A DQO foi realizada por refluxo fechado.

5.3.3 Análise de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade

Para a realização destas análises, o tecido meristemático foi obtido através das raízes germinadas de sementes orgânicas de cebola (*Allium cepa* L.) da variedade baia periforme, orgânicas, livres de agrotóxicos e fungicidas, da marca ISLA®, lote 132868. As sementes foram germinadas a (20 ± 5 ° C), em contato com os efluentes testados em conformidade com o processo de germinação realizado por Cuchiara et al. (2012).

Foram utilizadas placas de petri de plástico de 90 cm de diâmetro, onde foram colocadas 25 sementes sobre duas folhas de papel filtro qualitativo, (14µm de porosidade), em contato com 4 ml do efluente.

As raízes foram coletadas ao quarto e quinto dia de germinação, de acordo com o tamanho alcançado, sendo aquelas que atingiram cerca de 1 centímetro de comprimento ao quarto dia já foram coletadas, e as restantes permaneceram incubadas por mais 24 horas e coletadas ao quinto dia. Após coletadas, as raízes foram fixadas em solução de Carnoy (Etanol e Ácido acético glacial 3:1), por no mínimo 24 horas em frascos de vidro devidamente identificados, sendo armazenadas freezer a -4° C até a finalização do trabalho.

Antes da preparação das lâminas, as raízes foram lavadas em água destilada (por 5 minutos), hidrolisadas em HCl a 5N (por 10 minutos) e lavadas novamente em água destilada (5 minutos), sendo posteriormente separada apenas a parte meristemática da raiz e preparada uma lâmina citológica conforme a técnica de esmagamento de Guerra e Souza (2002) aplicando-se uma gota deorceína acética a 2% como corante. Foram utilizadas duas raízes em cada lâmina, sendo analisadas 1000 células por lâmina, as mesmas serão observadas ao microscópio óptico sob objetivas de 40X aplicando-se a técnica de varredura.

Os efeitos citotóxicos foram avaliados considerando o Índice Mitótico – IM (%), pois este é o parâmetro básico usados para aferir a citotoxicidade e está relacionado à avaliação da aceleração, inibição ou parada do processo de divisão celular (CUCHIARA et al., 2012). Para tanto, foi utilizada a fórmula descrita por Caritá (2010) (Equação 2):

$$IM\% = \frac{n^{\circ} \text{ de células em divisão}}{n^{\circ} \text{ total de células observadas}} \times 100 \quad (2)$$

A genotoxicidade foi determinada através da frequência de alterações cromossômicas - AC (%), as quais foram identificadas nas diferentes fases de divisão da mitose: prófase, metáfase, anáfase e telófase, nas células meristemáticas de *A. cepa*, considerando, neste caso, como alterações cromossômicas fragmentos cromossômicos, perdas e pontes, cromossomos retardatários ou soltos e outras alterações. Para o cálculo da frequência de AC foi utilizado a fórmula de acordo com Brandalise (2018) (Equação 3):

$$AC\% = \frac{n^{\circ} \text{ de aberrações cromossômicas observadas}}{n^{\circ} \text{ total de células observadas}} \times 100 \quad (3)$$

A mutagenicidade foi avaliada a partir da presença de micronúcleos pois estes resultam de danos, não reparados ou erroneamente, nas células parentais, sendo facilmente observados nas células filhas como uma estrutura semelhante ao núcleo principal, mas em tamanho reduzido (LEME & MARIN-MORALES, 2009).

5.3.4 Análise de fitotoxicidade

Os ensaios de fitotoxicidade foram realizados para avaliar o efeito tóxico das amostras, conforme adaptação das metodologias indicadas por Zucconi et al. (1981), Mendes et al. (2016) e Brandalise (2018). Os ensaios foram realizados em quadruplicata utilizando como bioindicadores as sementes: pepino (*Cucumis sativus*), da variedade pepino caipira, orgânicas, livres de agrotóxicos e fungicidas, da marca ISLA®, lote 147206; alface (*Lactuca sativa*), da variedade regina de verão, orgânicas, livres de agrotóxicos e fungicidas, da marca ISLA®, lote 132174; e cebola (*allium*

cepa), da variedade baia periforme, orgânicas, livres de agrotóxicos e fungicidas, da marca ISLA®, lote 132868.

Todos os experimentos foram realizados em quadruplicatas, nos quais foram colocados 5 ml de amostra em cada placa de Petri, incluindo três controles para cada tipo de semente, sendo um deles com pH 3, outro com pH 7 e outro com pH 10, de forma a investigar se o pH também interferiu na germinação das sementes. As placas foram cobertas com parafilme para facilitar as trocas gasosas e diminuir as perdas por umidade.

Para a alface foram utilizadas 20 sementes por placa (80 por tratamento no total), sendo incubadas a uma temperatura de $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ por um período de 48 horas, de acordo com a metodologia de Mendes et al. (2016).

Para o pepino foram utilizadas 10 sementes por placa (40 por tratamento no total), sendo incubadas a uma temperatura de $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ por um período de 72 horas, de acordo com a metodologia de Mendes et al. (2016).

Para a cebola foram utilizadas 20 sementes por placa (80 por tratamento no total), sendo incubadas a uma temperatura de $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ por um período de 120 horas, de acordo com a metodologia de Brandalise et al. (2018).

O número de sementes germinada e o comprimento das radículas foi contabilizado com o auxílio de um paquímetro digital e o índice de germinação foi calculado através da fórmula descrita por Zucconi et al. (1981) (Equação 4):

$$IG = G \frac{Lm}{Lc} \quad (4)$$

Onde:

IG= índice de germinação;

G= número de sementes germinadas na amostra, dividido por número de sementes germinadas no controle;

Lm= longitude média das raízes germinadas da amostra (mm);

Lc= longitude média das raízes germinadas do controle (mm).

Um índice de germinação inferior a 100% indica que a germinação da raiz foi prejudicada pelo contato com a solução, enquanto valores superiores a 100% indicam que as características foram melhoradas.

Para o parâmetro de germinação relativa (GR) foi contabilizado o número total de sementes germinadas por tratamento, enquanto para o parâmetro de alongamento médio das raízes (AR) foi feita a média do comprimento radicular encontrado em cada tratamento.

5.4 Análise estatística

Antes de todas as análises, os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk ($p < 0,05$) para verificar a normalidade dos mesmos. Os resultados foram analisados através da análise de variância das interações e efeito simples dos fatores pelo programa Análises Estatísticas com R Shiny (SAIS) e pelo teste de regressão em pedaços (piecewise) pelo programa SigmaPlot versão 14.5. As equações geradas para cada uma das regiões dos gráficos gerados podem ser encontradas no Apêndice A deste trabalho.

Os dados referentes aos parâmetros de citotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade, citocinese e aos índices de germinação foram submetidos à análise de variância e posterior comparação com o controle negativo pelo teste de Bonferroni pelo programa Graph Pad Prism, versão 8.0.

6. Resultados e discussão

A caracterização da amostra inicial, contendo diclofenaco de sódio produzida e utilizada antes dos tratamentos é apresentada na Tabela 2. Antes de ser submetida aos tratamentos foram adicionados 0,6 g/L de TiO₂.

Tabela 2. Caracterização da amostra inicial de diclofenaco de sódio

Efluente	Concentração	pH	Condutividade	DQO
Diclofenaco de sódio diluído em água destilada	25 mg/L	7,32	23,18 µS	108,47 mg/L

6.1 Degradação de diclofenaco de sódio

O aumento das doses de ozônio, bem como o aumento no tempo de radiação aplicado durante a fotocatalise heterogênea, promoveram uma diminuição significativa dos teores de diclofenaco de sódio presente na solução, como mostrado na Tabela 3. O quadro de análise da variância (Tabela 3) mostra uma interação significativa (0,05% de probabilidade) entre as doses de ozônio e o tempo de radiação aplicados. Se a interação entre os dois fatores aplicados não for significativa, isso evidencia que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação do outro fator. No entanto, se uma interação for significativa, como ocorre neste parâmetro analisado, isso indica que a resposta de um fator depende da presença ou ausência do outro. Desta forma, necessita-se apresentar o comportamento de um fator dentro de cada nível do outro fator (BARBIN, 2003; GOMES, 2000; STORCK et al., 2006), ou seja, deve-se analisar os efeitos simples dos fatores.

Tabela 3 – Análise de variância para a degradação do diclofenaco

Análise de variância	Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,0017298
Doses de ozônio	0,0000000
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,0241441

A análise do sistema de ozonização catalítica simples (sem a utilização da radiação UV) é mostrada na Figura 9. Pode-se perceber que ocorre uma rápida degradação do diclofenaco de sódio com a aplicação da primeira dose de ozônio e,

na sequência, ocorre uma estabilização (platô) nas concentrações de diclofenaco em solução.

A curva que melhor se adaptou ao comportamento apresentado pelo diclofenaco com a aplicação de ozônio foi a Linear – Platô, como pode ser observado na Figura 9. Este modelo de resposta linear-platô (PRL) foi aplicado inicialmente em ensaios sobre fertilidade do solo (BRAGA, 1983). Sua principal vantagem é que na presença de doses muito elevadas de algum elemento torna-se possível estimar a diminuição do desempenho ocasionado pelo excesso. Segundo Coelho et al. (1987), o modelo descontínuo PRL permite a comparação de combinações alternativas de retas e platôs permitindo escolher como melhor opção de ajuste a combinação que melhor apresente a soma de quadrados dos desvios.

Utilizando o processo de ozonização em seu trabalho, Beltrán et al. (2009) afirmam que após os primeiros 10 minutos de reação, com uma concentração de 20 mg O₃/L, foi observado que o diclofenaco foi totalmente eliminado, permanecendo na solução apenas uma mistura de ácidos carboxílicos saturados e insaturados e outros intermediários. Os autores afirmaram, entretanto, que esse processo não foi capaz de remover os compostos gerados nos primeiros minutos da ozonização, uma vez que a maioria deles é de natureza ácido carboxílico, por serem refratários ao ataque do ozônio.

GARCÍA-ARAYA et al. (2010) afirmaram que, a uma concentração de entrada de 10 mg O₃/L, o ozônio não foi detectado nas soluções aquosas de diclofenaco durante os primeiros 5 minutos de reação, o que demonstra que todo ozônio consumido nesse período de tempo reage diretamente com o diclofenaco e provavelmente os primeiros subprodutos da oxidação.

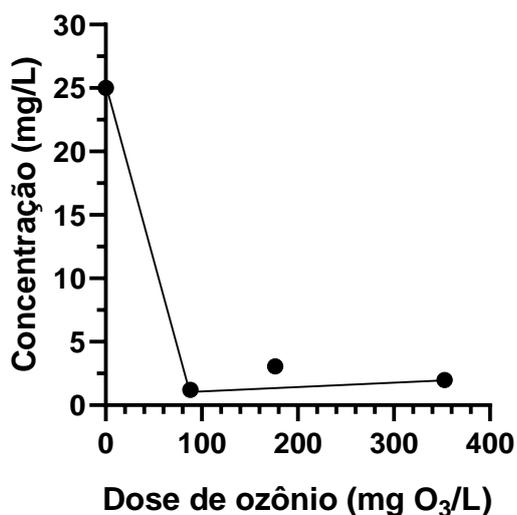


Figura 9. Comportamento da concentração do diclofenaco de sódio pelo tratamento com Ozonização Catalítica, sem utilização de tempo de radiação UV.

A análise do sistema de fotocatalise heterogênea simples (sem a aplicação de ozônio), é mostrada na Figura 10. Pode ser observado que nos tempos de radiação menores as concentrações de diclofenaco se mantiveram constantes. Somente a partir dos 120 minutos de exposição à radiação UV que inicia um processo de diminuição da concentração de diclofenaco em solução. Neste caso, também a curva que melhor se adaptou ao comportamento apresentado pelo diclofenaco com a aplicação de radiação UV foi a Linear – Platô, como pode ser observado na Figura 10.

Utilizando o processo de fotocatalise heterogênea, Rizzo et al. (2009) também observou em seu estudo que a mineralização do diclofenaco foi aprimorada pelo aumento do tempo de radiação. Calza et al. (2006), utilizando uma concentração inicial de 15mg/L de diclofenaco e 0,2 g/L de TiO₂, observou o desaparecimento total deste fármaco após 1 hora de radiação UV, entretanto utilizando uma lâmpada de maior potência (1500W).

Esta diferença na degradação do diclofenaco em comparação ao observado na Figura 10 pode ser explicada porque a taxa de mineralização do diclofenaco, depende de algumas variáveis importantes que afetam diretamente as taxas de reação química e fotocatalítica, ou seja, a taxa do processo, sendo elas: a concentração inicial do composto alvo, nesse caso o diclofenaco de sódio, a carga do fotocatalisador e o tempo de radiação (AGUINACO et al., 2012; RIZZO et al., 2009).

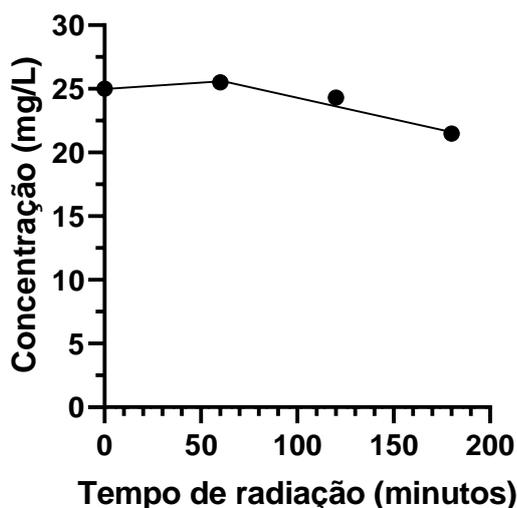


Figura 10. Comportamento da concentração do diclofenaco de sódio pelo tratamento com Fotocatálise Heterogênea.

A análise do sistema de ozonização fotocatalítica é mostrada na Figura 11, onde pode-se observar o efeito simples da fotocatalise no processo de ozonização. Observa-se um comportamento semelhante ao encontrado no processo de ozonização catalítica simples sem a utilização de radiação UV (Figura 9), apresentando uma rápida degradação inicial do diclofenaco na primeira dose de ozônio aplicada, seguido de uma estabilização e formação de platô, com o aumento das doses. Neste caso, também foi observado que a curva que melhor se adaptou ao comportamento do diclofenaco foi a Linear-Platô, como pode ser observado na Figura 11.

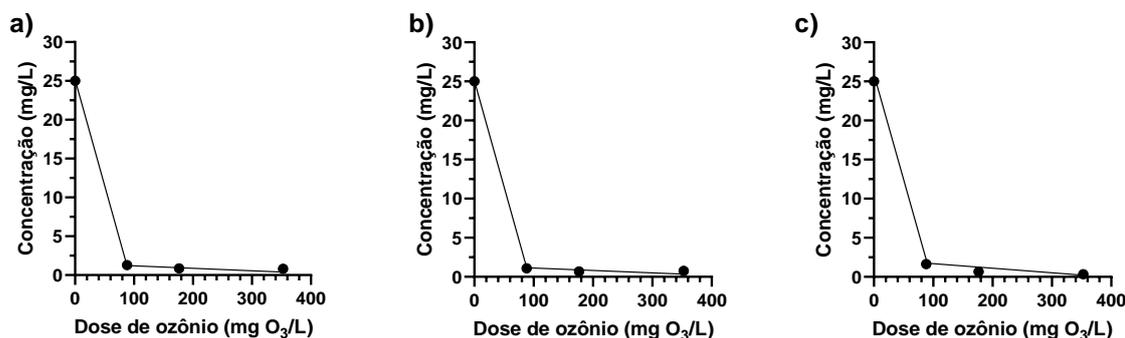


Figura 11. Comportamento da concentração do diclofenaco de sódio pelo tratamento com Ozonização Fotocatalítica utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV (b); e 180 minutos de radiação UV (c).

Pode-se perceber que o tratamento de fotocatalise heterogênea foi o que menos conseguiu remover o diclofenaco de sódio, ao contrário dos processos envolvendo a utilização de ozônio que obtiveram uma grande remoção já na primeira

dose aplicada, o que corrobora com a pesquisa de GARCÍA-ARAYA et al. (2010), que afirmaram que a ozonização do diclofenaco é uma reação rápida e a eliminação completa é alcançada em cerca de 7 minutos.

Segundo Holanda (2022), o ozônio promove uma rápida quebra na molécula de diclofenaco, entretanto o aumento das doses de ozônio pode não ter sido eficiente na quebra total da molécula, uma vez que passa a degradar os seus metabólitos, diminuindo assim a fitotoxicidade, citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade da solução final. Dessa forma, o uso de processos combinados (ozonização e fotocatalise heterogênea) pode promover uma maior eficiência na degradação da molécula de diclofenaco, bem como, uma diminuição dos indicadores de toxicidade nos tratamentos combinados.

Os tratamentos utilizando o processo de ozonização catalítica (simples sem utilização de radiação UV) tiveram uma eficiência de remoção da molécula de diclofenaco em torno a 95%. Enquanto o tratamento de fotocatalise heterogênea (simples sem aplicação de ozônio), teve uma eficiência de remoção de até 20% da molécula de diclofenaco. Os processos combinados tiveram eficiência de remoção de até 98,61% na degradação da molécula, conforme pode ser observado na Tabela 3.

A remoção de 98,61% da molécula de diclofenaco foi alcançado com tempo de 180 minutos de radiação combinado com uma dose de 352,8 mg O₃/L. Esse resultado pode ser explicado pois uma combinação de dois ou mais POA's pode aumentar a geração de radicais livres altamente reativos que conseqüentemente leva a taxas de oxidação mais altas (AGUSTINA et al., 2005).

Tabela 4 – Eficiência de remoção de diclofenaco em cada tratamento

Radiação (minutos)	Dose de O ₃ (mg/L)	%E	Radiação (minutos)	Dose de O ₃ (mg/L)	%E
0	0	-	60	88,2	94,79%
0	88,2	94,79%	60	176,4	96,52%
0	176,4	94,09%	60	352,8	96,87%
0	352,8	94,44%	120	88,2	95,48%
60	0	0%	120	176,4	97,22%
120	0	2,84%	120	352,8	97,57%
180	0	19,7%	180	88,2	93,92%
-	-	-	180	176,4	97,74%
-	-	-	180	352,8	98,61%

Os tratamentos utilizando a fotocatalise heterogênea combinada com a ozonização obteve eficiências de remoções superiores quando comparadas aos efeitos simples do processo de ozonização e fotocatalise.

Para a remoção de diclofenaco de sódio, quando realizado o desdobramento do fator “tempo de radiação” dentro do fator “doses de ozônio”, pode-se observar que a dose ideal a ser utilizada é a de 176,4 mg O₃/L, uma vez que a utilização das doses de 88,2 mg O₃/L e 352,8 mg O₃/L.

De acordo com Aguinaco et al. (2012), quando se trata do diclofenaco de sódio, diferentemente dos outros sistemas oxidantes estudados na sua pesquisa (radiação UVA, ozonização simples, ozonização catalítica de TiO₂, fotólise de ozônio e oxidação fotocatalítica), a ozonização fotocatalítica gerou apenas um intermediário não identificado, o qual também foi detectado em outros sistemas oxidantes juntamente com alguns ácidos, o que pode ser apontado como uma consequência da maior capacidade de oxidação desse processo.

6.2 pH

O aumento das doses de ozônio, bem como o aumento no tempo de radiação, promoveu modificações significativas no pH das amostras (Tabela 5). Entretanto, não foi observado uma interação significativa entre os fatores tempo de radiação e doses de ozônio no quadro da análise de variância (Tabela 5), isso evidencia que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação de outro fator.

Tabela 5 – Análise de variância para o parâmetro de pH.

Análise de variância	Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,010534
Doses de ozônio	0,000000
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,084326

A análise do sistema de ozonização catalítica (simples) é mostrado na Figura 12. Pode-se perceber que existe uma rápida diminuição no valor do pH com a aplicação da primeira dose, e na sequência é observado uma estabilização (platô) nos valores de pH da solução. A curva que melhor se adaptou ao comportamento do pH

com a aplicação das doses de ozônio foi a Linear-Platô, como pode ser observado na Figura 12.

Coelho et al. (2009), trabalhando com o processo de ozonização, também observaram que o pH diminuiu rapidamente de 7 para 3,9 - 4,3 e, após 20 minutos de reação permaneceu constante em torno de 3, indicando por este perfil de variação que são formados compostos ácidos durante este processo. O ozônio tem a capacidade de degradar poluentes orgânicos através do ataque direto ou pela reação indireta com os radicais livres (fortemente dependente do pH), além disso, na ausência de luz UV o ozônio ainda pode reagir diretamente com compostos orgânicos (em condições ácidas ou neutras) contribuindo para a formação de ácidos carboxílicos como produtos finais, que dificilmente podem ser mineralizados (OYAMA, 2000). Portanto, pode-se deduzir que o pH da solução desempenha um papel crucial na determinação da eficiência da ozonização, uma vez que pode alterar as vias de reação (XIAO et al., 2015).

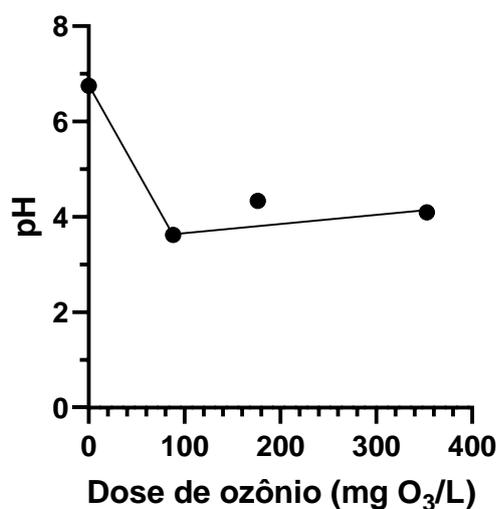


Figura 12. Comportamento do pH pelo tratamento com Ozonização Catalítica.

A análise do sistema de fotocatalise heterogênea (simples) é mostrado na Figura 13. Pode ser observado que os valores de pH apresentaram um comportamento constante durante os tempos de radiação aplicados, mantendo-se neutro, com valores próximos ao pH da solução de entrada no sistema. Estes resultados discordam do encontrado por Rizzo et al. (2009), uma vez que utilizando fotocatalise heterogênea, afirma que em seus experimentos o pH variou de 5,5 a 4,0 em temperatura ambiente, demonstrando uma diminuição em relação ao observado na Figura 13.

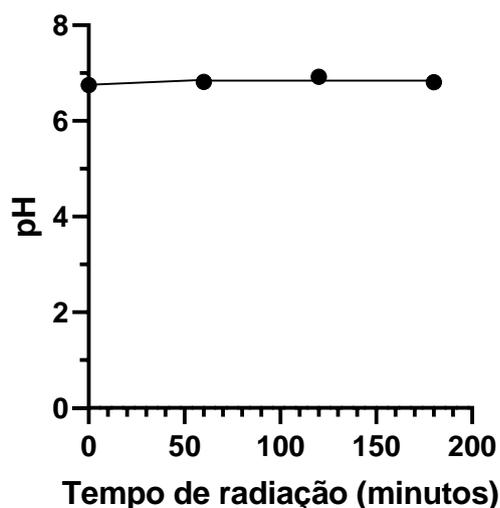


Figura 13. Comportamento do pH pelo tratamento com Fotocatálise Heterogênea.

Foi observado uma diminuição do pH de 7 para cerca de 3,5 em todos os tratamentos com a utilização do gás ozônio, enquanto os tratamentos envolvendo somente o uso de fotocatalise mantiveram um pH um pouco mais neutro, próximo ao pH de entrada da solução de entrada, como mostrado na Tabela 6. Essa diminuição de pH pode ser explicada pela ozonização fotocatalítica levar à geração de ácidos orgânicos e inorgânicos durante a oxidação (MEHRJOUEI et al., 2015).

Tabela 6 – Valores de pH obtidos após experimentos em laboratório

Radiação (minutos)	Dose de O ₃ (mg/L)	pH	Radiação (minutos)	Dose de O ₃ (mg/L)	pH
0	0	7,32	60	88,2	3,6
0	88,2	3,73	60	176,4	3,4
0	176,4	3,75	60	352,8	3,4
0	352,8	4,19	120	88,2	3,3
60	0	6,8	120	176,4	3,1
120	0	6,9	120	352,8	2,9
180	0	6,8	180	88,2	3,1
-	-	-	180	176,4	2,9
-	-	-	180	352,8	2,6

Mehrjouei et al. (2015) afirmaram que a maioria dos estudos publicados nessa área demonstram que o pH ácido é preferido para os tratamentos de ozonização fotocatalítica devido à uma maior oxidação e eficiência de mineralização.

Entretanto, Bhadra et al. (2016), afirmam que o diclofenaco tem um pka (constante de dissociação) de 4,15, o que indica que em valores menores que este de pH, o diclofenaco tem uma forma neutra e então tem a sua solubilidade reduzida, causando a precipitação do fármaco nestas condições, o que pode justificar porque a remoção atinge um platô e não consegue 100% de remoção nos tratamentos que foram utilizados ozônio, pois o pH da amostra fica abaixo do valor estipulado de pka do composto.

6.3 Condutividade

O aumento das doses de ozônio, bem como o aumento no tempo de radiação, promoveu modificações significativas na condutividade das amostras (Tabela 7). O quadro de análise de variância (Tabela 7), mostra uma interação significativa (0,05% de probabilidade) entre as doses de ozônio aplicadas e o tempo de radiação UV.

Tabela 7 – Análise de variância para o parâmetro de condutividade.

Análise de variância	Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,00000200
Doses de ozônio	0,00000129
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,00084502

A análise do comportamento dos valores de condutividade é mostrada na Tabela 8. Analisando os valores obtidos para a condutividade, é possível perceber que em todos os tratamentos, no primeiro momento ocorre o aumento deste parâmetro de forma gradual, entretanto, para a ozonização catalítica ocorre um decaimento brusco logo em seguida. Já para os tratamentos de fotocatalise heterogênea e ozonização fotocatalítica (utilizando 60 minutos de radiação UV) esse decaimento no segundo momento acontece de forma mais gradual.

No tratamento de Ozonização Catalítica (simples), a condutividade apresentou um valor mais alto quando aplicada a dose de 88,2 mg O₃/L, que logo foi reduzido nas doses seguintes. As alterações nos valores de condutividade, e também pH, podem estar relacionadas à formação de ácidos e sais orgânicos resultantes da oxidação de poluentes e interferência do uso de catalisador no processo (KERN et al., 2013).

De forma geral, para a Ozonização Fotocatalítica, foi observado um aumento gradual da condutividade conforme as doses de ozônio e tempo de radiação também foram aumentados, diferente da Fotocatalise Heterogênea que apresentou um

comportamento ao contrário, ou seja, a condutividade diminuiu com o aumento do tempo de radiação.

Nos tratamentos de ozonização fotocatalítica (utilizando 120 e 180 minutos de radiação UV) pode-se perceber que os valores de condutividade continuam aumentando de forma mais lenta após um tempo de reação.

Tabela 8 – Valores de condutividade obtidos após experimentos em laboratório

Radiação (minutos)	Dose de O ₃ (mg/L)	Condutividade (μS)	Radiação (minutos)	Dose de O ₃ (mg/L)	Condutividade (μS)
0	0	23,18	60	88,2	166,2
0	88,2	228	60	176,4	290,6
0	176,4	54	60	352,8	288,4
0	352,8	69,79	120	88,2	304,2
60	0	36,12	120	176,4	421,4
120	0	29,27	120	352,8	506,3
180	0	21,76	180	88,2	545,5
-	-	-	180	176,4	783
-	-	-	180	352,8	1045

6.4 Demanda química de oxigênio (DQO)

O aumento das doses de ozônio, bem como o aumento no tempo de radiação, não promoveu modificações significativas na DQO das amostras (Tabela 9). Neste caso, não foi observado uma interação significativa entre os fatores tempo de radiação e doses de ozônio no quadro da análise de variância (Tabela 9), isso evidencia que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação de outro fator.

Tabela 9 – Análise de variância para o parâmetro de DQO.

Análise de variância	Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,96484
Doses de ozônio	0,53045
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,70258

A análise do sistema de ozonização catalítica (simples) é mostrado na Figura 14. Pode-se perceber que nas primeiras doses aplicadas ocorre uma diminuição

gradual (com a aplicação das duas primeiras doses) e, em seguida, uma tendência a uma estabilização dos valores e formação de um platô. A curva que melhor se adaptou ao comportamento da DQO, com a aplicação de ozônio foi a Linear – Platô, como pode ser observado na Figura 14.

Béltran et al. (2009), trabalhando com o processo de ozonização observou que o ozônio sozinho leva a uma rápida taxa de remoção do carbono orgânico total (TOC) durante os primeiros 20 minutos de reação, e logo após diminui mais lentamente até atingir um valor estacionário após 2 horas de reação, sendo encontrada uma remoção de 43, 46 e 50% após 120 minutos de reação em pH 5, 7 e 9, respectivamente. Ao contrário da remoção rápida do diclofenaco em processos de ozonização, a remoção de carbono total orgânico (TOC) é um processo mais lento (GARCÍA-ARAYA et al., 2010).

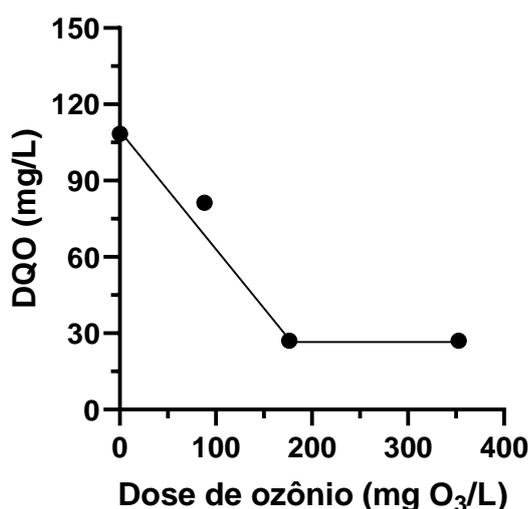


Figura 14. Comportamento da DQO pelo tratamento com ozonização catalítica

A análise do sistema de fotocatalise heterogênea simples (sem a aplicação de ozônio), é mostrada na Figura 15. Pode ser observado que ocorre uma diminuição gradual da DQO durante todos os tempos de radiação UV aplicados.

Rizzo et al. (2009), trabalhando com a fotocatalise heterogênea também observou que a remoção do diclofenaco é maior em comparação com a porcentagem de remoção de DQO, o que pode ser explicado pela formação de intermediários orgânicos aromáticos durante o processo. Calza et al. (2006), entretanto, relataram a remoção quase completa de TOC para uma concentração inicial de Diclofenaco de 15mg/L e 0,2 g/L de TiO₂ após 120 minutos de radiação (usando, no entanto, uma lâmpada de maior potência).

Em seu estudo, Rizzo et al. (2009) também observou que uma remoção progressivamente maior (78 e 85%) de DQO foi detectada quando a carga de TiO_2 aumentou para 0,4g/L e 0,8 g/L após 120 minutos de radiação com uma concentração inicial de 15 mg/L de diclofenaco.

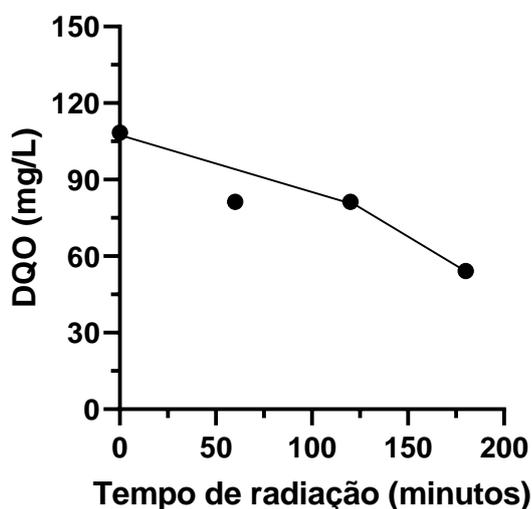


Figura 15. Comportamento da DQO pelo tratamento com fotocatalise heterogênea.

A Figura 16 traz o efeito simples da fotocatalise no processo de ozonização catalítica. Observa-se um comportamento semelhante ao encontrado no processo de ozonização simples (sem aplicação de radiação UV), com exceção da curva que demonstra o comportamento da utilização de 120 minutos de radiação, com uma diminuição inicial dos valores de DQO na primeira dose aplicada, seguido de uma estabilização e formação de platô, com o aumento das doses de ozônio. Esse comportamento também foi descrito por Rocha et al. (2009), que avaliou a degradação do diclofenaco de sódio utilizando H_2O_2 /fenton em um reator eletroquímico, onde ocorre uma diminuição na DQO nos primeiros 20 minutos da eletrólise e em seguida ocorre uma estabilização da DQO em função do tempo.

Aguinaco et al. (2012), trabalhando com ozonização fotocatalítica, afirma que com relação a remoção de TOC o melhor processo em termos de taxa de mineralização para tempos menores que 50 minutos foi a ozonização fotocatalítica, uma vez que, a conversão de TOC aumentou de 45% (sem ozônio) para 62-68% quando foi aplicada uma concentração de ozônio de 20-30 mg/L.

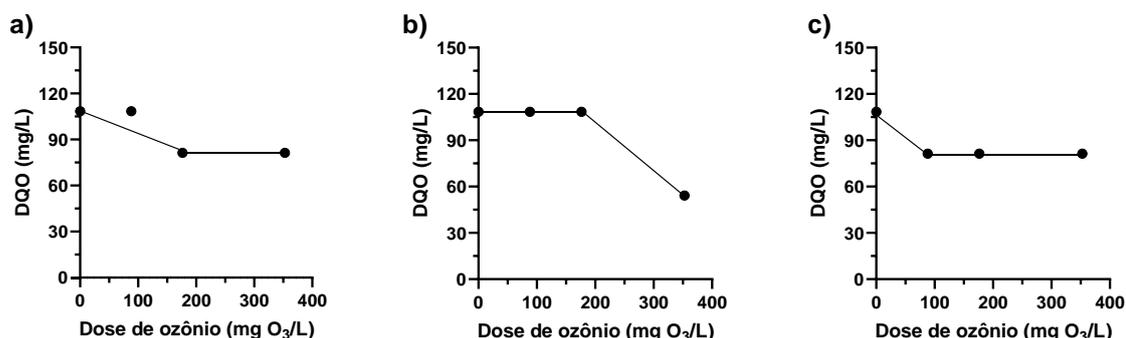


Figura 16. Comportamento da DQO pelo tratamento com Ozonização Fotocatalítica utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV (b); e 180 minutos de radiação UV (c).

Os tratamentos com processo de ozonização catalítica simples tiveram eficiência em torno de 70% na remoção de DQO. O tratamento com fotocatalise heterogênea simples (sem ozônio), teve uma eficiência de remoção de até 41,76%. E os processos combinados tiveram uma eficiência de remoção de DQO de até 41,76%, conforme pode ser observado na Tabela 10.

Com base nos dados de DQO encontrados é possível perceber que o tratamento de ozonização catalítica foi o que mais removeu DQO, ao contrário do que foi encontrado por Fernandes et al. (2020) que afirmou que todas as reações fotocatalíticas atingiram maiores remoções de DQO em comparação com a ozonização simples.

Tabela 10 – Valores de eficiência de remoção de DQO obtidos após experimentos em laboratório

Radiação (minutos)	Dose de O ₃ (mg/L)	E%	Radiação (minutos)	Dose de O ₃ (mg/L)	E%
0	0	-	60	88,2	0
0	88,2	11,74	60	176,4	11,74
0	176,4	70,58	60	352,8	11,74
0	352,8	70,58	120	88,2	0
60	0	11,74	120	176,4	0
120	0	11,74	120	352,8	41,16
180	0	41,16	180	88,2	11,74
-	-	-	180	176,4	11,74
-	-	-	180	352,8	11,74

6.5 Análise utilizando o bioteste *Allium cepa*

Os testes utilizando o biondicador *Allium cepa* permitem a avaliação de diferentes *endpoints* genéticos (LEME e MARIN-MORALES, 2009), os quais serão apresentados e discutidos nos próximos tópicos.

6.5.1 Citotoxicidade

O aumento nas doses de ozônio, assim como o aumento no tempo de radiação aplicados, não promoveram modificações significativas na citotoxicidade das amostras (Tabela 11). Não foi observada uma interação significativa entre os fatores tempo de radiação e doses de ozônio no quadro de análise de variância (Tabela 11), o que evidencia que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação de outro fator.

Tabela 11 – Análise de variância para o parâmetro de citotoxicidade.

Análise de variância	Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,68437
Doses de ozônio	0,33378
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,99929

A análise do sistema de ozonização catalítica é mostrada na Figura 17. Pode ser observado que existe primeiramente um aumento do índice mitótico com a aplicação da primeira dose de ozônio, de 88,2 mg O₃/L, elevando o índice acima do encontrado no controle negativo, entretanto nas doses seguintes ele decai, voltando a aumentar na última dose de ozônio aplicada, de 352,8 mg O₃/L, ficando com valores menores que o encontrado no controle negativo. A curva que melhor se adaptou ao comportamento do diclofenaco, com a aplicação de ozônio foi a Linear – platô, como pode ser observado na Figura 17.

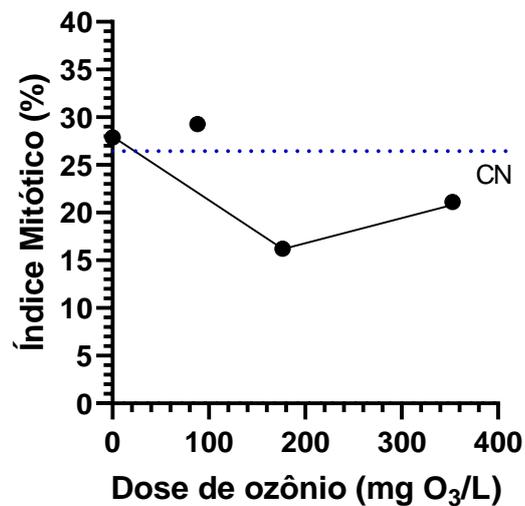


Figura 17. Índice Mitótico para o Tratamento de Ozonização Catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A análise do sistema de fotocatalise heterogênea simples (sem a aplicação de ozônio), é mostrado na Figura 18. Pode ser observado que na aplicação do primeiro tempo de radiação UV ocorreu uma diminuição do índice mitótico. Entretanto a partir dos 120 minutos de exposição à radiação UV, o índice começa a subir, chegando ao último tempo com um índice mitótico mais alto que o encontrado no controle negativo.

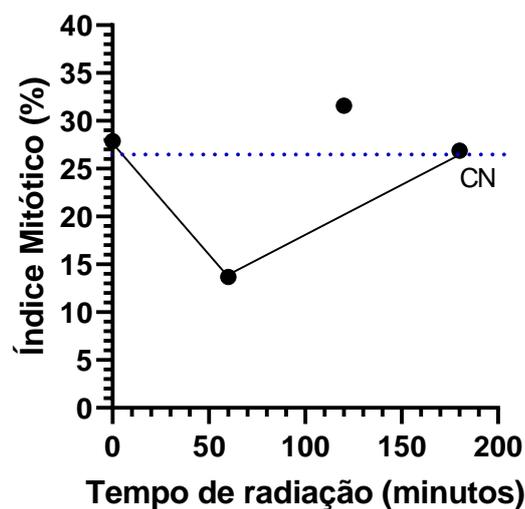


Figura 18. Índice Mitótico para o Tratamento de Fotocatálise Heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A Figura 19 traz o efeito simples da fotocatalise no processo de ozonização. Pode-se observar um comportamento semelhante ao processo de ozonização

catalítica (Figura 17), com uma diminuição do índice mitótico nas primeiras doses aplicadas seguido de um aumento das doses aplicadas.

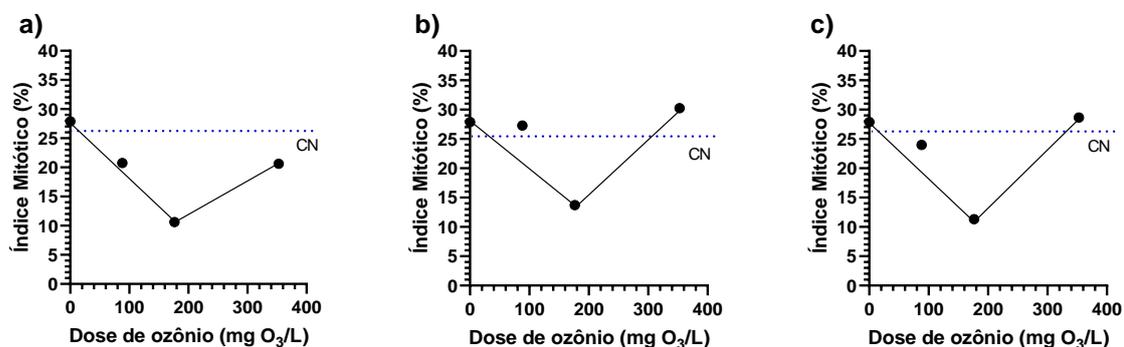


Figura 19. Índice Mitótico para o Tratamento de Ozonização Fotocatalítica utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV (b); e 180 minutos de radiação UV (c), sendo “CN” o valor do controle negativo.

Para Brandalise (2018) O índice mitótico é o parâmetro básico usado para aferir a citotoxicidade e está relacionado à avaliação da aceleração, inibição ou parada do processo de divisão celular. Pode ser observado que de maneira geral, todos os índices mitóticos dos tratamentos envolvendo o uso de ozônio, apresentaram um comportamento semelhante, sendo reduzidos até a terceira dose de ozônio aplicada (de 176,4 mg O₃/L) e apresentando um aumento no último ponto, referente a maior dose aplicada de 352,8 mg O₃/L.

De acordo com Souza (2010), a redução do índice mitótico - IM pode fornecer informações sobre a atividade citotóxica das substâncias. Porém, esse mesmo autor destaca que o aumento do IM pode ser prejudicial, pois pode indicar processos tumorais. Uma que teve redução acentuada do seu índice mitótico foi no tratamento de fotocatalise heterogênea, no tempo de radiação de 60 minutos, que também se encontra com uma redução próxima de 50%. Entretanto, pode-se perceber que nos tempos seguintes esse índice é corrigido e volta a crescer, alcançando valores mais altos ou próximos do controle negativo em nos pontos seguintes.

Para Fiskesjo (1993) uma substância só é considerada citotóxica quando a redução do seu índice mitótico é superior a 50%. De acordo com essa classificação, pode-se considerar citotóxico todos os pontos que receberam a dose de ozônio de 176,4 mg O₃/L, independentemente do tempo de radiação UV adotado (60, 120 e 180 minutos), pois todos os tratamentos de ozonização fotocatalítica cujos quais foram aplicadas essa dose de ozônio tiveram uma redução maior que 50% do seu índice mitótico. Porém, nas doses maiores aplicadas, pode-se perceber que este índice volta

a aumentar, sendo em dois casos (120 e 180 minutos de radiação UV) nas maiores doses de ozônio aplicada, de 352,8 mg O₃/L acabando com um índice mitótico maior que o controle negativo.

6.5.2 Genotoxicidade e mutagenicidade

O aumento nas doses de ozônio, assim como o aumento no tempo de radiação aplicados, não promoveram modificações significativas na genotoxicidade das amostras (Tabela 12). Não foi observada uma interação significativa entre os fatores tempo de radiação e doses de ozônio no quadro de análise de variância (Tabela 12), o que evidencia que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação de outro fator.

Tabela 12 – Análise de variância para o parâmetro de genotoxicidade.

Análise de variância	Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,54657
Doses de ozônio	0,09712
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,25146

Na avaliação dos efeitos genotóxicos são apurados o potencial de promover alterações nocivas ao material genético de um agente tóxico e que necessariamente não são fixadas uma vez que podem ser recompostas pelo sistema de reparo celular (BRANDALISE, 2018).

A Tabela 13 apresenta os efeitos genotóxicos produzidos pelas amostras no bioindicador *Allium cepa*. Embora não tenha sido observado diferença estatística significativa, pode-se perceber que a solução de diclofenaco sem tratamento (bruta) foi a que produziu um maior efeito genotóxico. Beltrán et al. (2009) observou que utilizando a solução inicial de diclofenaco na concentração de 30 mg/L foi atingindo a morte total do crustáceo *Daphnia magna* após 48h de exposição. Aguinaco et al. (2012) também observou que uma solução de diclofenaco a 30 mg/L levou a morte de 65% dos organismos de *Daphnia magna* após 48h de exposição.

Um estudo conduzido por Guiloski et al. (2017) observou que diclofenaco não foi genotóxico no sangue e no fígado de *Rhamdia quelen*, entretanto a autora destaca que os dados disponíveis sobre a genotoxicidade do diclofenaco em peixes não são tão conclusivos, uma vez que dependem do tempo de exposição, espécie e concentração adotados.

Analisando os tratamentos que tiveram a aplicação apenas de doses de ozônio é possível ver que a primeira dose aplicada não produziu nenhum efeito genotóxico para esta espécie. Entretanto, na segunda dose aplicada apareceram algumas alterações cromossômicas, que logo foi diminuído com a aplicação da dose mais alta do ozônio aplicada. Beltrán et al. (2009), trabalhando com ozonização, observou que após 10 minutos de ozonização (20 mgO₃/L) a solução apresentou uma alta toxicidade, porém após 2 horas de reação foi significativamente reduzida a toxicidade da água, sendo observado que após as 48h de exposição a solução final, apenas 15% dos organismos morreram.

Para o processo de fotocatalise heterogênea simples, foi observado que somente o primeiro ponto não apresentou nenhum efeito genotóxico para esta espécie. A partir dos 120 minutos de exposição à radiação UV existiu a presença de algumas alterações cromossômicas. Rizzo et al. (2009) relataram que, trabalhando com fotocatalise heterogênea, a toxicidade leve apresentada pela solução de 15 mg/L de diclofenaco não tratado em *D. magna* diminuiu gradualmente e desapareceu completamente após 60 minutos de radiação com uma carga de 0,2 g/L de TiO₂. Calza et al. (2006), trabalhando com o processo de fotocatalise heterogênea, observou que durante esse tratamento, no período de 0 a 20 minutos de radiação são formados compostos mais tóxicos que o diclofenaco utilizando o bioensaio com *Vibrio fischeri* Microtox baseado na inibição de bactérias luminescentes

Analisando o processo de ozonização fotocatalítica, com aplicação de doses de ozônio e tempos de radiação UV, pode ser observado que o tratamento que recebeu 176,4 mg O₃/L junto a um tempo de radiação de 60 minutos de UV, também teve um aumento das alterações cromossômicas próximo ao encontrado na amostra sem tratamento, entretanto todas as outras apresentaram um menor índice de efeitos genotóxicos. Conforme Aguinaco et al. (2012), em seu trabalho com ozonização fotocatalítica, essa combinação de dois POAs foi o que mais conseguiu reduzir a toxicidade do diclofenaco pra a *D. magna*, quando comparado aos efeitos isolados dos tratamentos.

O uso de três controles, um com pH ácido, um com pH neutro e um com pH básico, permitiu observar ainda que este fator não interferiu no aumento de alterações cromossômicas, uma vez que este efeito não foi observado em nenhum dos três controles. Portanto, as alterações que apareceram nos tratamentos provavelmente aconteceram devido aos intermediários oxidados formados no processo,

especialmente ácidos carboxílicos, formados a partir da mineralização incompleta de compostos orgânicos podem ter efeitos tóxicos (LASHUK e YARGEAU, 2021).

Tabela 13. Alterações cromossômicas encontradas após os experimentos em laboratório

Alterações Cromossômicas		
Tempo de radiação UV (minutos)	Dose de ozônio (mg O ₃ /L)	Alterações Cromossômicas (AC%)
0	0	0,15
0	88,2	0
0	176,4	0,08
0	352,8	0,05
60	0	0
60	88,2	0
60	176,4	0,13
60	352,8	0,05
120	0	0,03
120	88,2	0,03
120	176,4	0,05
120	352,8	0,08
180	0	0,05
180	88,2	0
180	176,4	0,03
180	352,8	0,05

A presença de alterações cromossômicas observadas nas células meristemáticas dos bioindicadores não foram significativas, porém houve o aparecimento de ponte cromossômica na anáfase e a perda de cromossomo (Figura 20). Conforme as alterações cromossômicas, como perdas cromossômicas, atrasos, aderências, multipolaridade e metáfases C resultam de efeitos aneugênicos, enquanto as pontes e quebras cromossômicas, são indicadores de uma ação clastogênica. Quando as alterações genotóxicas de efeitos clastogênicos não são devidamente reparadas pelo sistema celular, podem levar a mutações herdáveis cujos efeitos podem ser desde a inviabilidade celular até o desenvolvimento de processos carcinogênicos (BRANDALISE, 2018; LEME E MARIN-MORALES, 2009).



Figura 20. Alterações Cromossômicas encontradas nos tratamentos: 1) Anáfase com ponto cromossômica encontrada na amostra sem tratamento; 2) Anáfase com ponte cromossômica encontrada no tratamento de Ozonização Catalítica, 352,8 mg O₃/L; 3) Metáfase com cromossomo solto encontrada no tratamento de Ozonização Fotocatalítica com 60 minutos de radiação e 176,4 mg O₃/L; 4) Anáfase com perda de cromossomo encontrada no tratamento de Ozonização Fotocatalítica com 120 minutos de radiação UV e 176,4 mg O₃/L.

Leme e Marin-Morales (2009) afirmam que o teste de *A. cepa* é vantajoso por ser um ensaio rápido e sensível para detectar genotóxicos e mutagênicos ambientais, bem como, pela possibilidade de avaliar diversos desfechos genéticos, permitindo a avaliação dos mecanismos de ação dos agentes testados no DNA dos organismos expostos.

Com relação a mutagenicidade das amostras, o aumento nas doses de ozônio, assim como o aumento no tempo de radiação aplicados, não promoveram modificações significativas (Tabela 14). Não foi observada uma interação significativa entre os fatores tempo de radiação e doses de ozônio no quadro de análise de variância (Tabela 14), o que evidencia que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação de outro fator.

Tabela 14 – Análise de variância para o parâmetro de mutagenicidade.

Análise de variância	Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,55378
Doses de ozônio	0,41594
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,11253

Foi detectado a presença de algum índice de mutagenicidade nos tratamentos de ozonização catalítica na dose de 88,2 mg O₃/L de ozônio, na fotocatalise heterogênea no tempo de radiação de 60 minutos e na ozonização fotocatalítica em dois tratamentos, na dose de 352 mg O₃/L de ozônio e 120 minutos de radiação UV e na dose de 352 mg O₃/L de ozônio e 180 minutos de radiação UV, como pode ser observado na Tabela 15.

Os tratamentos que apontaram algum efeito, estes podem ter ocorrido como consequência de algum subproduto formado durante os tratamentos, uma vez que na amostra contendo o diclofenaco sem tratamento não foi identificado nenhum efeito mutagênico nas células em divisão mitótica do *Allium cepa*. Este comportamento também foi encontrado por Diniz et al. (2015) que investigou a ecotoxicidade do diclofenaco (entre outros fármacos) e seus subprodutos da fotólise UV em peixes-zebra (*Danio rerio*) e os resultados demonstraram que os subprodutos gerados a partir da degradação do diclofenaco foram significativamente mais tóxicos do que o composto original.

Tabela 15. Efeitos mutagênicos encontrados após os experimentos em laboratório

Mutagenicidade		
Tempo de radiação UV (minutos)	Dose de ozônio (mg O3/L)	Mutagenicidade (MUT%)
0	0	0
0	88,2	0,15
0	176,4	0
0	352,8	0
60	0	0,08
60	88,2	0
60	176,4	0
60	352,8	0
120	0	0
120	88,2	0
120	176,4	0
120	352,8	0,05
180	0	0
180	88,2	0
180	176,4	0
180	352,8	0,13

A presença de efeitos mutagênicos observadas nas células meristemáticas dos bioindicadores não foram significativos, porém houve o aparecimento de micronúcleos nas células (Figura 21), e destes tratamentos, somente os últimos dois (de ozonização fotocatalítica) também apresentaram alterações cromossômicas.

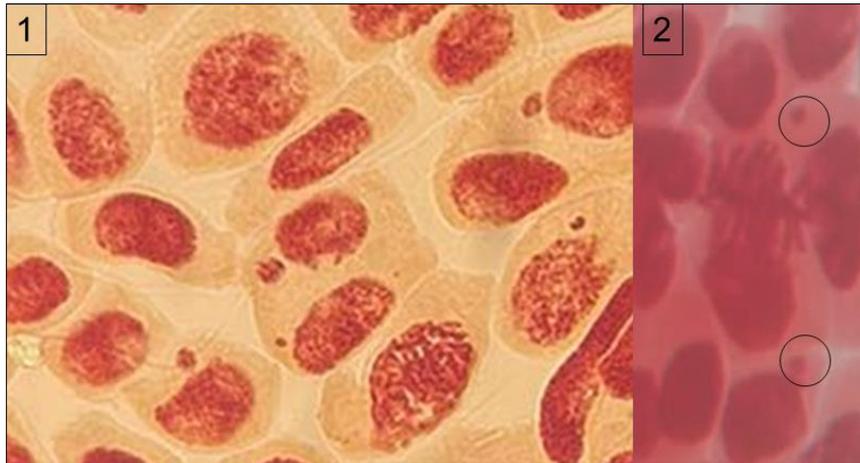


Figura 21. Presença de formação de micronúcleos encontrados nos tratamentos: 1) Presença de diversos micronúcleos detectados no tratamento de Ozonização Fotocatalítica com 60 minutos de radiação UV e 88,2 mg O₃/L de ozônio aplicado; 2) Presença de dois micronúcleos encontrados no tratamento de 180 minutos de radiação UV e 352,8 mg O₃/L de ozônio aplicado.

6.5.3 Citocinese

A citocinese é o processo pelo qual uma célula mãe se divide em duas células filhas, onde a célula em divisão sofre uma série de mudanças, envolvendo processos biológicos complexos que garantem a segregação igual do material genético nas células filhas. A divisão celular é importante para as funções celulares normais e erros de citocinese podem promover muitas doenças (SRIVASTAVA et al., 2021).

O aumento nas doses de ozônio, assim como o aumento no tempo de radiação aplicados, não promoveram modificações significativas na citocinese das amostras (Tabela 16). Não foi observada uma interação significativa entre os fatores tempo de radiação e doses de ozônio no quadro de análise de variância (Tabela 16), o que evidencia que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação de outro fator.

Tabela 16 – Análise de variância para o parâmetro de citocinese

Análise de variância	Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,71634
Doses de ozônio	0,38167
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,99240

A análise do sistema de ozonização simples, é mostrado na Figura 22. Pode-se perceber que os valores de citocinese se mantiveram todos próximo ao valor

encontrado como controle negativo, ocorrendo uma diminuição inicial desse índice até a segunda dose de ozônio aplicada, e por último a tendência a aumentar.

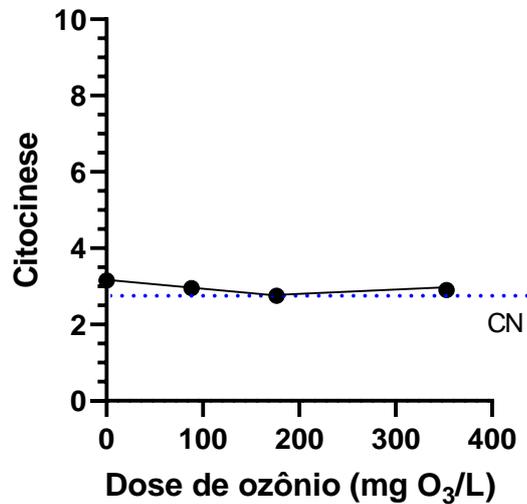


Figura 22. Citocinese encontrada para o tratamento de Ozonização Catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A análise do sistema de fotocatalise heterogênea simples (sem a aplicação de ozônio), é mostrado na Figura 23. Pode ser observado que no primeiro tempo de radiação ocorre uma diminuição deste índice de citocinese. A partir dos 120 minutos de radiação UV, inicia um processo de aumento do índice de citocinese.

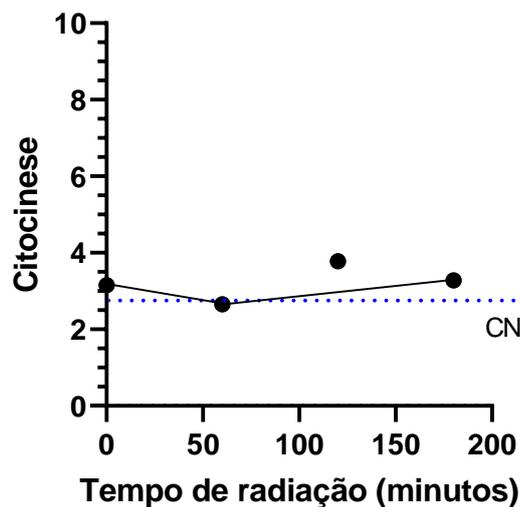


Figura 23. Citocinese encontrada para o tratamento de fotocatalise heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A Figura 24 traz o efeito simples da fotocatalise no processo de ozonização. Observa-se um comportamento semelhante ao processo de ozonização catalítica

simples (Figura 22), com uma diminuição do índice de citocinese nas primeiras doses de ozônio aplicadas e, um aumento do índice na aplicação de 352,8 mg O₃/L aplicado.

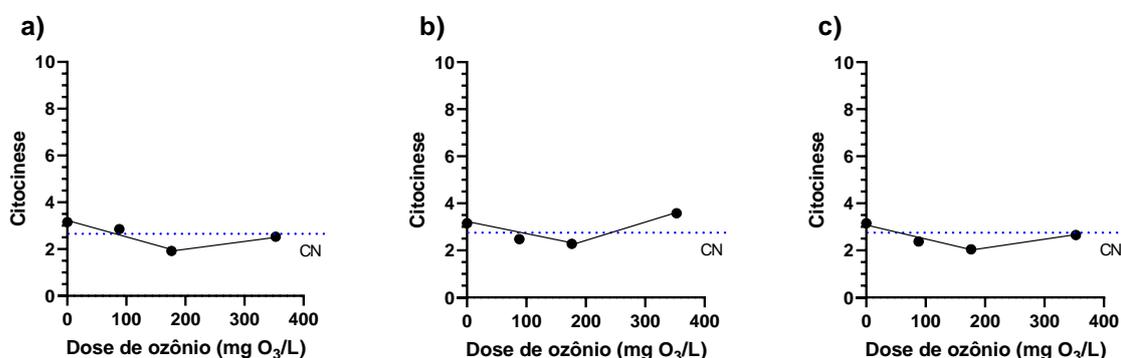


Figura 24. Citocinese encontrada para o tratamento de ozonização fotocatalítica com aplicação de 60 minutos de radiação UV, sendo “CN” o valor do controle negativo.

Com relação a citocinese, pode-se observar que todos os tratamentos apresentaram primeiramente uma redução gradual dos seus valores, até abaixo do controle negativo, para voltarem a subir na última dose de ozônio aplicada de 352,8 mg O₃/L. Nos tratamentos de ozonização fotocatalítica com 60 e 180 minutos de radiação UV, a última dose de ozônio aplicada não foi suficiente para elevar o índice de citocinese acima do controle negativo, embora tenha sido observado esse aumento. Já o tratamento de ozonização fotocatalítica com 120 minutos de radiação UV, na última dose de ozônio aplica conseguiu elevar o índice de citocinese a um nível maior que o controle. O mesmo efeito pode ser observado no tratamento de fotocatalise heterogênea, sendo o tratamento de fotocatalise heterogênea com 120 minutos que radiação o que apresentou o maior efeito de citocinese de todos.

6.6 Análise de fitotoxicidade

Os testes de fitotoxicidade envolvem a avaliação de efeitos tóxicos em plantas ou algas, podendo utilizar diversos parâmetros, tais como: crescimento (por exemplo, comprimento da raiz, germinação, biomassa), atividade enzimática e cor (LASHUK e YARGEAU, 2021).

6.6.1 Análises utilizando o bioindicador *Lactuca Sativa*

O aumento das doses de ozônio, bem como o aumento no tempo de radiação aplicado durante a fotocatalise heterogênea, promoveram uma diferença significativa na fitotoxicidade para o bioindicador *Lactuca sativa*, como mostrado na Tabela 17. O

quadro de análise da variância (Tabela 16) mostra uma interação significativa (0,05% de probabilidade) entre as doses de ozônio e o tempo de radiação aplicados.

Para o bioindicador *Lactuca sativa* pode-se observar que para o Índice de Germinação houve uma interação significativa entre os fatores (Tabela 17). Portanto foi observado primeiramente o desdobramento do fator “tempo de radiação” dentro de cada nível do fator ozônio, e pode-se notar que somente a dose 88,2 mg O₃/L não teve médias significativamente diferentes. Enquanto os outros níveis, 176,4 mg O₃/L e 352,8 mg O₃/L obtiveram uma estatística significativamente diferente. Já no desdobramento do “ozônio” dentro de cada um dos níveis do fator tempo de radiação não foi observado nenhuma diferença significativa entre as médias.

Para o parâmetro de alongamento médio das raízes, também foi observado uma interação significativa para este bioindicador (Tabela 17). Neste caso, foi observado que quando o fator de tempo de radiação foi desdobrado dentro de cada um dos níveis de ozônio, em todas as doses foi possível observar uma diferença estatística. Entretanto, ao fazer o desdobramento do ozônio dentro de cada um dos níveis de tempo de radiação, as médias foram estatisticamente iguais para o tempo de 60 minutos. Porém, houve diferença estatística na interação de ozônio com os tempos de 120 e 180 minutos.

No parâmetro de germinação relativa não foi observada interação entre os fatores, bem como o efeito simples obteve médias estatisticamente consideradas iguais (Tabela 17).

Tabela 17 – Análise de variância para os parâmetros de avaliação da *Lactuca sativa*

Análise de variância	Índice de Germinação Pr>Fc	Alongamento médio Pr>Fc	Germinação relativa Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,00000	0,000000	0,61068
Doses de ozônio	0,35436	0,279904	0,51289
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,00030	0,000019	0,76122

A análise do sistema de ozonização simples, é mostrado na Figura 25. Pode - se perceber que quando exposta a solução de diclofenaco, sem tratamento, os valores do índice de germinação se encontraram acima do que foi encontrado no controle (água destilada). A aplicação da primeira dose de ozônio fez com que esse índice

diminuísse, voltando a subir a partir da aplicação da segunda dose de ozônio em diante. Cabe salientar que mesmo ocorrendo essa diminuição no índice, o mesmo não ficou abaixo do encontrado no controle.

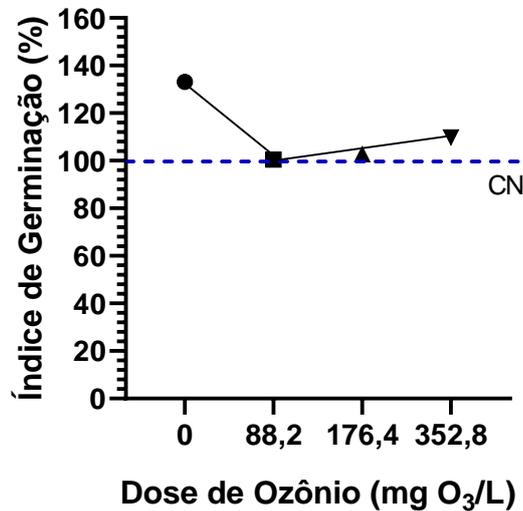


Figura 25. Índice de Germinação para *Lactuca sativa*, com aplicação do tratamento de ozonização catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A análise do sistema de fotocatalise heterogênea simples (sem a aplicação de ozônio), é mostrado na Figura 26. Pode ser observado que com a aplicação dos tempos de radiação UV houve uma diminuição gradual do índice de germinação. Neste caso, a aplicação do último tempo de radiação obteve um índice significativamente diferente dos valores encontrados no controle (água destilada).

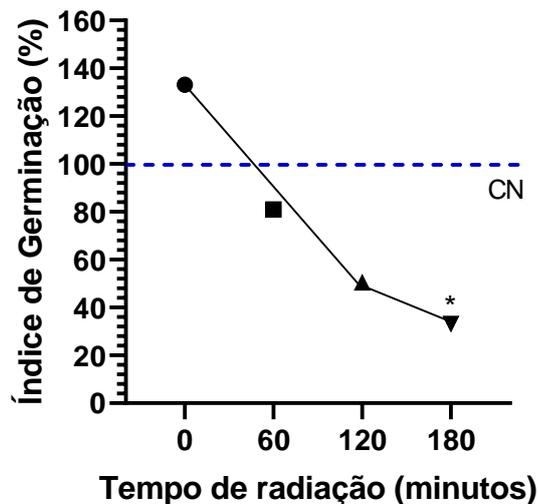


Figura 26. Índice de Germinação para *Lactuca sativa*, com aplicação do tratamento de fotocatalise heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A Figura 27 traz o efeito simples da fotocatalise no processo de ozonização. Pode-se observar um comportamento semelhante ao encontrado no processo de ozonização catalítica simples (Figura 25). Primeiramente é observado uma diminuição dos índices de germinação e, em seguida, pode-se notar um aumento a partir da aplicação da segunda dose de ozônio. Entretanto, com a utilização de processos combinados, os índices se mantiveram menores do que o encontrado no controle negativo (água destilada).

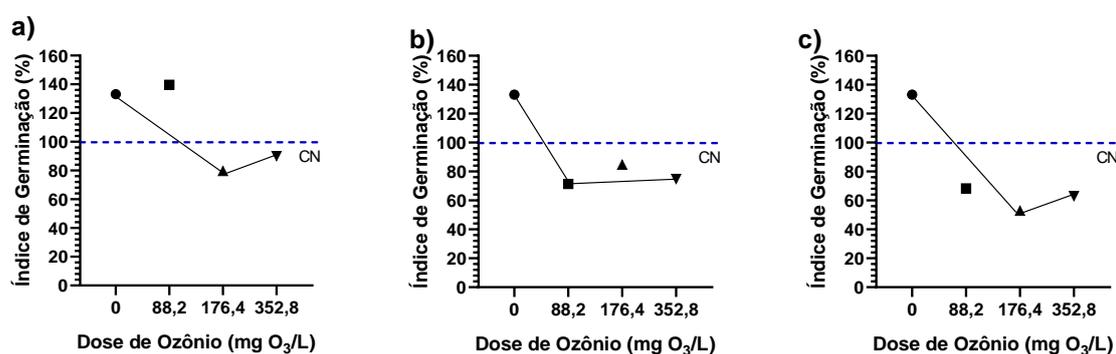


Figura 27. Índice de Germinação para *Lactuca sativa*, com aplicação do tratamento de ozonização fotocatalítica, utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV; e 180 minutos de radiação UV; sendo "CN" o valor do controle negativo.

Analisando o índice de germinação da espécie *Lactuca sativa* de forma geral, pode-se observar que o primeiro ponto de todas as curvas (amostra sem tratamento) se encontra um pouco acima do valor do índice encontrado para o controle negativo. Diferentemente dos resultados encontrados por Kummerová et al. (2016), o qual observou que, dos *endpoints* usualmente analisados do teste de fitotoxicidade de lentilha (*Lemna minor*), ocorreu uma inibição considerável dos parâmetros de crescimento (número de plantas em 70%, peso seco em 86% e área foliar em 18%) após 10 dias de cultivo foi encontrada em 100 µg/L Diclofenaco.

A partir de quando foram aplicados os tratamentos, houve uma diminuição gradual em todos os tratamentos para o índice de germinação - IG%, sendo que na fotocatalise heterogênea, no último tempo aplicado, de 180 minutos, esse ponto diferiu estatisticamente do controle negativo também. A Tabela 18 a seguir apresenta os parâmetros de Índice de Germinação (IG), Germinação relativa (GR) e Alongamento médio das raízes (AR) para o bioindicador *Lactuca sativa*.

Tabela 18 – Parâmetros avaliados para o biodicador *Lactuca sativa*

Parâmetros avaliados para <i>Lactuca sativa</i>				
Tempo de radiação	Dose de ozônio (mg O3/L)	Índice de Germinação (%)	Germinação relativa (GR)	Alongamento médio das raízes (AR) (mm)
0	0	133,2	68	28,42
0	88,2	100,4	67	21,75
0	176,4	102,7	72	20,69
0	352,8	109,8	71	22,44
60	0	81,0	65	18,09
60	88,2	139,7	71	28,56
60	176,4	79,7	65	17,80
60	352,8	90,0	67	19,49
120	0	50,4	63	11,61
120	88,2	71,4	65	15,94
120	176,4	84,7	69	17,82
120	352,8	74,8	73	14,87
180	0	33,1	65	07,39
180	88,2	68,3	66	15,01
180	176,4	52,9	69	12,21
180	352,8	63,0	64	14,28

*Para o controle foi encontrado um alongamento médio relativo de 21,98mm e uma germinação relativa de 66 sementes germinadas.

É possível notar que esta espécie foi a que demonstrou menores índices de germinação em relação as outras estudadas, sendo a única a apresentar índices de germinação menores que 80% em mais de um dos tratamentos, bem como uma maior inibição nos alongamentos médios das raízes. Este fato pode ser explicado por Torres et al. (2018), que afirma que as sementes de alface apresentam uma elevada de sensibilidade as mais diversas substâncias.

Diferentemente das outras espécies testadas, a *L.sativa* apresentou uma diminuição nas médias de alongamento radicular. Em sua pesquisa, Sousa et al. (2020) também registraram uma redução no comprimento da raiz em resposta à exposição de *Solanum lycopersicum L.* na dose de 10mg/L comparada as raízes não expostas, apesar de não verificar efeito na germinação desta espécie quando exposta ao diclofenaco de sódio.

6.6.2 Análises utilizando o bioindicador *Allium cepa*

O aumento nas doses de ozônio, assim como o aumento no tempo de radiação aplicados, não promoveram modificações significativas na fitotoxicidade para o

bioindicador *Allium cepa* (Tabela 19). Não foi observada uma interação significativa entre os fatores tempo de radiação e doses de ozônio no quadro de análise de variância (Tabela 19), o que evidencia que os fatores são independentes, ou seja, o comportamento de um fator independe da variação de outro fator.

Tabela 19 – Análise de variância para os parâmetros de avaliação da *Allium cepa*.

Análise de variância	Índice de Germinação Pr>Fc	Alongamento médio Pr>Fc	Germinação relativa Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,96026	0,12733	0,05998
Doses de ozônio	0,34078	0,26120	0,66738
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,93831	0,84504	0,69085

A análise do sistema de ozonização simples é mostrada na Figura 28. Pode-se perceber que os valores do índice de germinação se mantiveram abaixo do encontrado no controle negativo. Entretanto, pode-se perceber que com a aplicação da primeira e da terceira dose de ozônio, este valor ficou muito próximo ao do controle. Somente a aplicação da dose 176,4 mg O₃/L pareceu causar uma diminuição no índice.

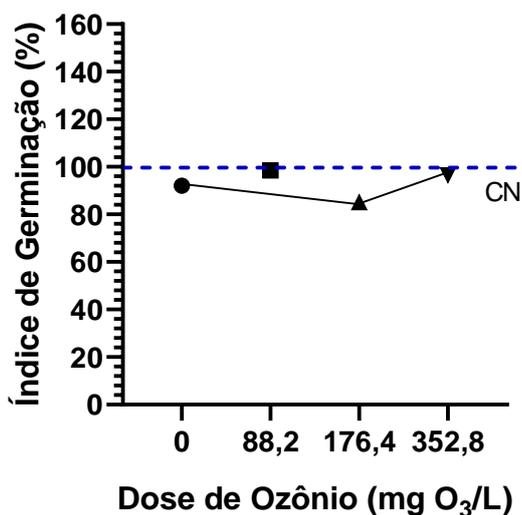


Figura 28. Índice de Germinação para *Allium cepa*, com aplicação do tratamento de ozonização catalítica, sendo "CN" o valor do controle negativo.

A análise do sistema de fotocatalise heterogênea simples (sem a aplicação de ozônio), é mostrado na Figura 29. Pode ser observado que na aplicação do primeiro tempo de radiação houve uma diminuição no índice de germinação. A partir do tempo

de 120 minutos pode ser observado um aumento gradual. Entretanto todos os valores se encontram abaixo do encontrado no controle negativo.

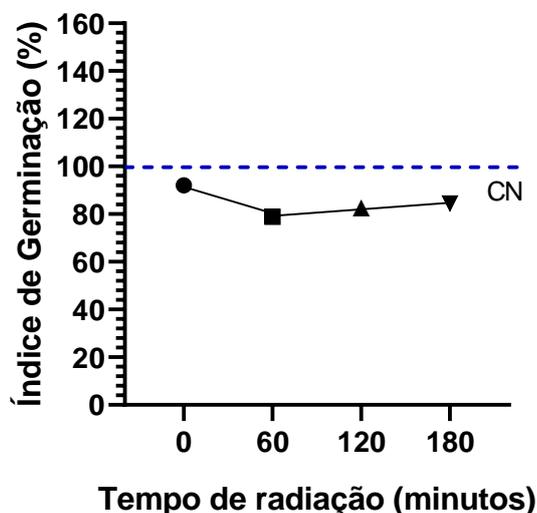


Figura 29. Índice de Germinação para *Allium cepa*, com aplicação do tratamento de fotocatalise heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A Figura 30 traz o efeito simples da fotocatalise no processo de ozonização. Pode-se observar um comportamento similar ao encontrado nos efeitos simples de ozonização e fotocatalise heterogênea (Figuras 28 e 29, respectivamente), porém para o uso combinado pode-se observar que alguns pontos o índice de germinação consegue superar o encontrado no controle negativo. Para este bioindicador, somente a ozonização fotocatalítica promoveu valores de índice de germinação maiores que o controle.

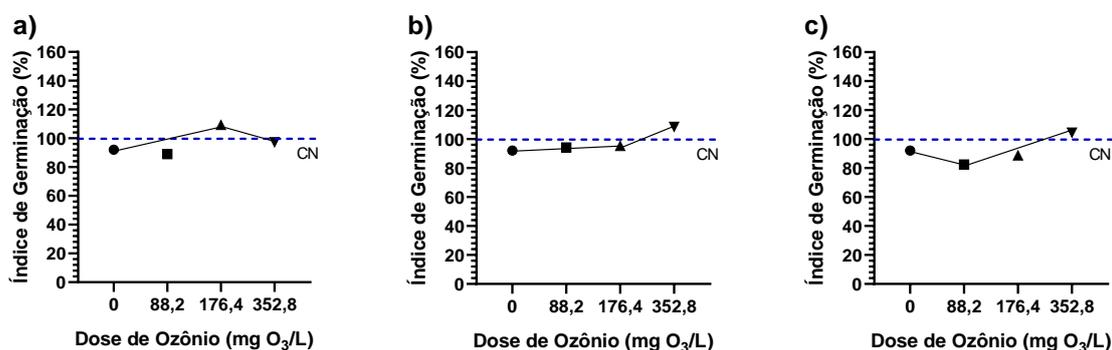


Figura 30. Índice de Germinação para *Allium cepa*, com aplicação do tratamento de ozonização fotocatalítica utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV (b); e 180 minutos de radiação UV; sendo “CN” o valor do controle negativo

Analisando as curvas do índice de germinação da espécie *Allium cepa*, pode-se observar que o primeiro ponto, sem tratamento, se encontra abaixo do controle

negativo, embora não tenho diferido estatisticamente. Para os tratamentos de ozonização fotocatalítica, a tendência é de o índice subir à medida que as doses aumentam gradualmente. Enquanto nos outros tratamentos (fotocatálise heterogênea e ozonização catalítica) a tendência é de o índice diminuir na primeira dose aplicada, de 88,2 mg O₃/L, e voltar a aumentar somente na maior dose aplicada.

A Tabela 20 a seguir apresenta os parâmetros de Índice de Germinação (IG), Germinação relativa (GR) e Alongamento médio das raízes (AR) para o bioindicador *Allium cepa*.

Tabela 20 – Parâmetros avaliados para o bioindicador *Allium cepa*

Parâmetros avaliados para <i>Allium cepa</i>				
Tempo de radiação	Dose de ozônio (mg O ₃ /L)	Índice de Germinação (%)	Germinação relativa (GR)	Alongamento médio das raízes (AR) (mm)
0	0	92,7	55	29,12
0	88,2	100,9	57	30,59
0	176,4	87,2	52	28,97
0	352,8	100,1	58	29,84
60	0	79,8	57	24,18
60	88,2	94,2	59	27,60
60	176,4	108,9	62	30,36
60	352,8	97,9	60	28,20
120	0	83,2	60	23,96
120	88,2	91,1	64	24,58
120	176,4	97,4	71	23,75
120	352,8	111,0	62	30,94
180	0	84,5	61	23,94
180	88,2	97,3	54	31,13
180	176,4	87,0	60	25,06
180	352,8	106,1	64	28,64

*Para o controle foi encontrado um alongamento médio relativo de 27,87mm e uma germinação relativa de 62 sementes germinadas.

Esta espécie se mostrou menos sensível as amostras, que a *Lactuca sativa*, sendo observado que os tratamentos que obtiveram alguma diminuição no crescimento radicular em comparação com o controle foram aqueles em que foram aqueles utilizando 120 minutos de radiação, nas doses 0, 88,2 e 176,4 mg O₃/L de ozônio bem como, utilizando 180 minutos de radiação, nas doses 0 e 176,4 mg O₃/L de ozônio. Santos et al. (2021) confirmaram que a menor concentração de diclofenaco testada em seus estudos, igual a 7,5 mg/L, já foi capaz de causar alterações no crescimento de raízes de *A. cepa*, entretanto observou-se uma redução de toxicidade,

com melhores resultados após 3 horas de exposição, o que corrobora com o uso da radiação UV na degradação de compostos químicos, como o diclofenaco, e a redução do seu potencial tóxico.

6.6.3 Análises utilizando o bioindicador *Cucumis sativus*

O aumento das doses de ozônio, bem como o aumento no tempo de radiação aplicado durante a fotocatalise heterogênea, promoveram uma diferença significativa na fitotoxicidade para o bioindicador *Cucumis sativus*, como mostrado na Tabela 21. O quadro de análise da variância (Tabela 21) mostra uma interação significativa (0,05% de probabilidade) entre as doses de ozônio e o tempo de radiação aplicados.

Analisando o parâmetro de índice de germinação, é possível inferir que a interação dos fatores de tratamento não teve uma interação significativa quando utilizados combinados. O parâmetro de germinação relativa também não apresentou interação significativa entre os fatores, bem como o efeito simples deles também não obteve médias estatisticamente diferentes. O parâmetro de alongamento médio das raízes foi possível observar uma interação significativa entre os fatores, indicando que a resposta de um fator depende da presença ou ausência do outro.

Tabela 21 – Análise de variância para os parâmetros de avaliação do *Cucumis sativus*.

Análise de variância	Índice de Germinação Pr>Fc	Alongamento médio Pr>Fc	Germinação relativa Pr>Fc
Tempo de Radiação	0,45980	0,0145864	0,65359
Doses de ozônio	0,00831	0,0000002	0,19334
Interação entre Tempo de radiação e as Doses de Ozônio	0,32227	0,0311703	0,68172

A análise do sistema de ozonização simples, é mostrado na Figura 31. Pode - se perceber que a aplicação de doses de ozônio foi capaz de aumentar de forma gradual o índice de germinação para esta espécie.

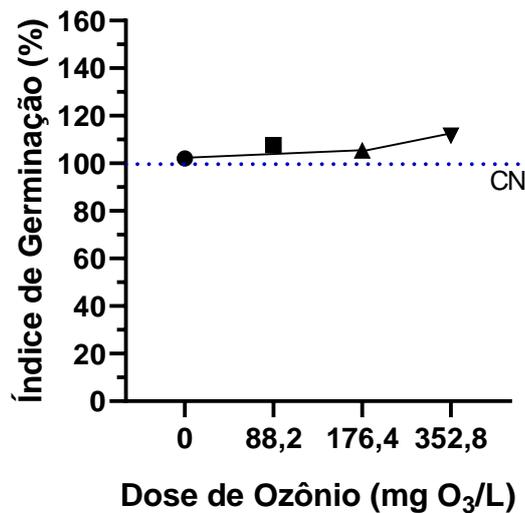


Figura 31. Índice de Germinação para *Cucumis sativus*, com aplicação do tratamento de ozonização catalítica, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A análise do sistema de fotocatalise heterogênea simples (sem a aplicação de ozônio), é mostrado na Figura 32. É possível observar que houve uma diminuição gradual do índice de germinação utilizando este processo, da mesma forma que foi encontrado pra *Lactuca sativa*. Todos os índices de germinação apresentaram um valor abaixo do encontrado no controle (água destilada).

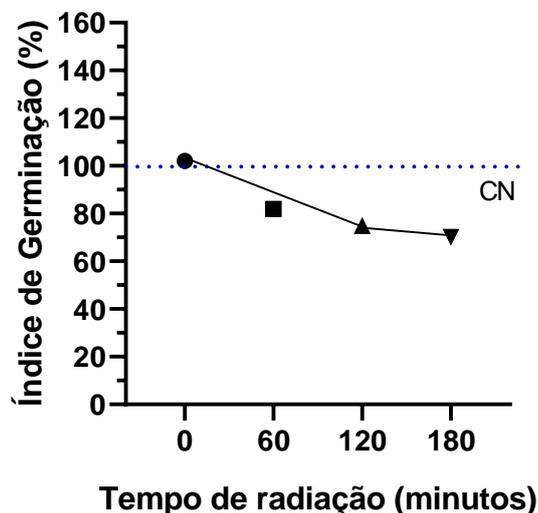


Figura 32. Índice de Germinação para *Cucumis sativus*, com aplicação do tratamento de fotocatalise heterogênea, sendo “CN” o valor do controle negativo.

A Figura 33 traz o efeito simples da fotocatalise no processo de ozonização. Pode-se observar um comportamento semelhante ao que foi visto no processo de ozonização catalítica simples (Figura 31). Existe um aumento no índice de germinação para esta espécie com a aplicação de doses de ozônio, podendo ser observado que

a combinação de doses de ozônio combinados com a exposição de 60 e 120 minutos a radiação UV manteve os índices acima do encontrado no controle negativo.

Nos estudos de Lashuk e Yargeau (2021) viram que 86% dos resultados de toxicidade não mostraram aumento da toxicidade após o tratamento de ozonização fotocatalítica, o que se correlaciona com as altas porcentagens de remoção de contaminantes observadas, uma vez que os autores afirmam que o produto final raramente é mais tóxico que a solução original.

Testes de toxicidade também podem ser utilizados para monitorar os tratamentos e otimizar os processos. O maior nível de degradação e produção de radicais hidroxila que ocorre no processo de ozonização fotocatalítica pode promover mecanismos de reação que levam a uma maior formação de moléculas ainda tóxicas (FERNANDES et al., 2020; LASHUK; YARGEAU, 2021).

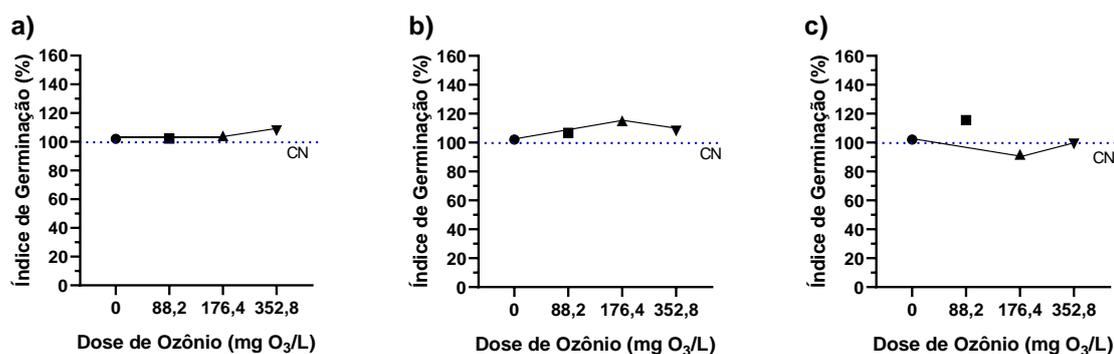


Figura 33. Índice de Germinação para *Cucumis sativus*, com aplicação do tratamento de ozonização fotocatalítica, com a utilizando: 60 minutos de radiação UV (a); 120 minutos de radiação UV; e 180 minutos de radiação UV; sendo “CN” o valor do controle negativo.

Analisando o índice de germinação da espécie *Cucumis sativus* de forma geral, pode-se observar que o primeiro ponto, que representa a amostra sem tratamento, se encontra próximo ao valor do índice de germinação do controle, demonstrando que para esta espécie o diclofenaco não afetou diretamente no índice. Os tratamentos envolvendo a utilização de doses de ozônio mantiveram os índices próximos ao valor do controle negativo, não sendo encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa. Já na utilização de fotocatalise heterogênea, sem o uso de ozônio, pode-se perceber uma diminuição gradual nos valores do índice de germinação.

A Tabela 22 a seguir apresenta os parâmetros de Índice de Germinação (IG), Germinação relativa (GR) e Alongamento médio das raízes (AR) para o bioindicador *Cucumis sativus*.

Tabela 22 – Parâmetros avaliados para o biodidicador *Cucumis sativus*

Parâmetros avaliados para <i>Cucumis sativus</i>				
Tempo de radiação	Dose de ozônio (mg O ₃ /L)	Índice de Germinação (%)	Germinação relativa (GR)	Alongamento médio das raízes (AR) (mm)
0	0	102,1	39	28,43
0	88,2	107,7	39	30,00
0	176,4	105,4	39	29,37
0	352,8	111,6	38	31,92
60	0	81,9	38	23,42
60	88,2	102,2	38	29,22
60	176,4	103,9	40	28,22
60	352,8	107,9	39	30,07
120	0	74,8	39	20,85
120	88,2	106,7	40	29,00
120	176,4	114,8	40	31,19
120	352,8	108,2	39	30,15
180	0	70,2	37	20,61
180	88,2	115,5	39	32,17
180	176,4	91,7	40	24,92
180	352,8	99,3	40	26,98

*Para o controle foi encontrado um alongamento médio relativo de 27,86mm e uma germinação relativa de 40 sementes germinadas.

Para a espécie *C. sativus* foi observado que a maioria dos tratamentos elevou o índice de germinação, além do controle. Dentre estes, os processos de ozonização catalítica e ozonização fotocatalítica foram os que mais elevaram esse índice, enquanto os menores índices dizem respeito aos tratamentos de Fotocatálise Heterogênea.

Em todas as espécies testadas, houveram tratamentos que obtiveram um índice de germinação mais alto que o encontrado no controle (sem diclofenaco), sendo que na amostra considerada bruta ou sem tratamento, tanto a *L. sativa* quanto *C. sativus* apresentaram esse índice mais alto que o controle. Sousa et al. (2020) também verificou em seu trabalho que a exposição de *Solanum lycopersicum L.* as concentrações de diclofenaco de 15 µg/L, 30 µg/L, 1 mg/L e 10 mg/L não afetou a germinação da mesma, não sendo registradas diferenças considerando o peso fresco total e o comprimento da parte aérea para qualquer concentração de diclofenaco utilizada.

7. Considerações finais

Após a realização dos experimentos, nas condições testadas, pode-se concluir que a utilização de processos de tratamento envolvendo o uso de luz UV e ozônio são promissores para o tratamento de efluentes contendo o fármaco diclofenaco de sódio, uma vez que foi possível alcançar altas eficiências de remoção deste poluente através do uso destas técnicas.

No caso dos processos de ozonização simples, os resultados demonstram uma eliminação rápida e praticamente completa do diclofenaco, com cerca de 95% de eficiência de remoção, com pequenas diferenças nas taxas de remoção que provavelmente dependem do pH e das condições de tamponamento. A reação direta do ozônio é a principal responsável pela eliminação do diclofenaco de sódio. Uma vez que o diclofenaco tenha desaparecido, seus subprodutos são removidos pela reação com os radicais hidroxila formados na decomposição do ozônio e também pela reação do diclofenaco com o ozônio.

No que diz respeito aos processos fotocatalíticos heterogêneos, o diclofenaco não foi completamente removido, nas condições aplicadas neste trabalho, chegando a uma remoção máxima de cerca de 20% apenas. Entretanto, nestes tratamentos parâmetros como pH e condutividade se mantiveram constantes, não sofrendo grandes alterações ao final dos tratamentos. Nestes casos, provavelmente são os radicais hidroxila formados que são as espécies oxidantes responsáveis pela remoção do diclofenaco, bem como subprodutos.

Quando ao efeito do uso combinado destes dois tratamentos, denominado como Ozonização Fotocatalítica, pode se considerar que foi o processo que chegou a maiores eficiências de remoção do diclofenaco de sódio, com cerca de 99% de remoção, entretanto também foi proporcionado uma diminuição nos valores de pH da amostra, indo valores de 7 até cerca de 4 - 3. Neste tratamento também foi observado um aumento gradual nos valores de condutividade das amostras.

As análises de citotoxicidade, genotoxicidade, mutagenicidade e citocise utilizando o bioindicador *Allium cepa*, não apontaram efeitos tóxicos quando em contato com as amostras tratadas, bem como com a amostra inicial contendo apenas diclofenaco diluído. Os testes de fitotoxicidade utilizados neste trabalho também não apontaram efeitos fitotóxicos nos bioindicadores utilizados, sob os diferentes tratamentos utilizados, nem mesmo quanto a solução contendo diclofenaco de sódio,

sendo uma única dose apontando diferença estatística significativa em uma única espécie utilizada.

Os efeitos tóxicos diretos e indiretos do contato com efluentes contendo fármacos ainda estão sendo estudados e, portanto, esta pesquisa se torna importante, uma vez que as plantas se constituem como fontes alimentares humanas, conhecer o efeito produzido pelos efluentes contendo fármacos nestes organismos pode ser o primeiro passo para traçar medidas de mitigação e controle de contaminação deste no ambiente.

Após os estudos conduzidos, pode-se considerar o uso do processo de ozonização é eficaz no tratamento de efluentes contendo diclofenaco de sódio, uma vez que somente com esse tratamento foi possível alcançar altas eficiências na remoção deste poluente, chegando a remover até 95%. Foi verificado ainda que a dose mais indicada na maioria dos parâmetros foi de 88,2 mgO₃/L.

A utilização deste processo combinado dos processos também pode ser eficaz, uma vez que a utilização dos dois chegou a uma eficiência de remoção de quase 100% do diclofenaco nas doses mais altas, e ambos, não apresentaram efeito tóxico aos bioindicadores utilizados.

Apesar do grande avanço em pesquisas dentro da temática da degradação de fármacos utilizando diferentes técnicas, questões relacionadas aos intermediários formados durante os processos de tratamento que podem ser ainda mais perigosos do que o composto original devem ser melhor avaliadas, uma vez que neste trabalho não foi abordado este aspecto.

REFERÊNCIAS

AGUINACO, Almueda; BELTRÁN, Fernando J.; GARCÍA-ARAYA, Juan F.; OROPESA, Ana. Photocatalytic ozonation to remove the pharmaceutical diclofenac from water: Influence of variables. **Chemical Engineering Journal**, v. 189–190, p. 275-282, 2012.

AGUSTINA, T.E.; ANG, H.M.; VAREEK, V.K. A review of synergistic effect of photocatalysis and ozonation on wastewater treatment. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 6, p. 264-273, 2005.

APHA – American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th ed. Washington, DC, USA: APHA, AWWA, WPCF. 2005.

ARAUJO, Karla Santos de; ANTONELLI, Raissa; GAYDECZKA, Beatriz; GRANATO, Ana Claudia; MALPASS, Geoffroy Roger Pointer. Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuárias urbanas e efluentes industriais. **Revista Ambiente & Água**, v. 11, nº2. 2016.

BARBIN, D. **Planejamento e análises estatística de experimentos agronômicos**. Arapongas: Midas, 2003.

BELTRÁN, Fernando J.; POCOSTALES, Pablo; ALVAREZ, Pedro; OROPESA, Ana. Diclofenac removal from water with ozone and activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, p. 768-776, 2009.

BHADRA, Biswa Nath; SEO, Pill Won; JHUNG, Sung Hwa. Adsorption of diclofenac sodium from water using oxidized activated carbon. *Chemical Engineering Journal*, v.301, p. 27-34, 2016.

BI, Lanbo; CHEN, Zhonglin; LI, Linghan; KANG, Jing; ZHAO, Shengxin; WANG, Binyuan; YAN, Pengwei; LI, Yabin; ZHANG, Xiaoxiao; SHEN, Jimin. Selective adsorption and enhanced photodegradation of diclofenac in water by molecularly imprinted TiO₂. **Journal of Hazardous Materials**, v. 407, 124759, 2021.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia; 2003. Fármacos no ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, São Paulo.

BISOGNIN, Ramiro Pereira; WOLFF, Delmira Beatriz; CARISSIMI, Elvis; Revisão sobre fármacos no ambiente. **Revista DAE**, v. 66, n. 210, 2018.

BRAGA, J.M. **Avaliação da fertilidade do solo: ensaios de campo**. Viçosa: UFV, 1983.

BRAGA, Jacqueline Ramos Machado; LOPES, Diêgo Menezes. Citotoxicidade e genotoxicidade da água do rio Subaé (Humildes, Bahia, Brasil) usando *Allium cepa* L. como bioindicador. **Revista Ambiente & Água**, v. 10, n. 1, p. 130-140, 2015.

BRANDALISE, João Nelci. Avaliação ecotoxicológica da cinza de casca de arroz. **Dissertação (Programa de Pós-Graduação em ciência e tecnologia de alimentos)**. Universidade Federal de Pelotas. 2018.

BROWN Kathryn D.; KULIS Jerzy; THOMSON, Bruce; CHAPMAN, Timothy H.; MAWHINNEY Douglas B. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. **Science of the Total Environment**., v.366, p.772-783, 2006.

CALIMAN, Florentina Anca, GAVRILESCU, Maria. Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment – A Review, **CLEAN – Soil, Air, Water**, v.37, p. 277-303, 2009.

CALISTO, Vânia; ESTEVES, Valdemar I. Psychiatric pharmaceuticals in the environment. **Chemosphere**, v. 77, p.1257-1274, 2009.

CALZA, P.; SAKKAS, V.A.; MEDANA, C.; BAIOCCHI, C.; DIMOU, A.; PELIZZETTI, E.; ALBANIS, T. Photocatalytic degradation study of diclofenac over aqueous TiO₂ suspensions. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.67, p. 197-205, 2006.

CARVALHO, Eduardo Viviani; FERREIRA, Elena; MUCINI, Luciano; SANTOS, Carmenlucia. Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.22, n.1-2, pg. 1-8. 2009.

CARITÁ, Renata. Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico de amostras de águas de recursos hídricos que recebem efluentes urbanos e industriais do polo ceramista da cidade de Santa Gertrudes – SP. 187 f. **Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas e Biologia Celular e Molecular)** - Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, 2010.

CARVALHO FILHO, José Adson Andrade de; ALBUQUERQUE, Tatiane Barbosa Veras de; SILVA, Natália Batista do Nascimento; FREITAS, Jonathas Barbosa de Araújo; PAIVA, Anderson Luiz Ribeiro de; Gestão de resíduos farmacêuticos, descarte inadequado e suas consequências nas matrizes aquáticas. **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v.4, p. 228-240, 2018.

COELHO, Alessandra; SANS, Carmem; AGUERA, Ana; GOMES, Maria José; ESPLUGAS, Santiago; DEZOTTI, Márcia. Effects of ozone pre-treatment on diclofenac: Intermediates, biodegradability and toxicity assessment. *Science of The Total Environment*, v.407, p. 3572-3578, 2009.

COELHO, L.S.S.; COSTA, P.M.A.; SILVA, M.A.; PEREIRA, J.A.A.; ROSTAGNO, H.S.; BARBOSA, H.P. Modelos para estimar exigências nutricionais em suínos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.16, n.1, p.102-110, 1987.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE (CNS). " Consumo de medicamentos: um autocuidado perigoso". 2005. Disponível em: "http://www.conselho.saude.gov.br/ultimas_noticias/2005/medicamentos.htm". Acesso em: "10 de maio de 2020".

CUCHIARA, Cristina Copstein; BORGES, Clarissa de Souza; BOBROWSKI, Vera Lucia. Sensibilidade de sementes de hortaliças na avaliação da qualidade da água em bioensaios. **Biotemas**, 25 (3), 19-27, 2012.

DINIZ, M.S.; SALGADO, R.; PEREIRA, V.J.; CARVALHO, G.; OEHMEN, A.; REIS, M.A.M.; NORONHA, J.P. Ecotoxicity of ketoprofen, diclofenac, atenolol and their photolysis byproducts in zebrafish (*Danio rerio*). **Science of The Total Environment**, v. 505, p. 282-289, 2015.

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

FERNANDES, Eryk; CONTRERAS, Sandra; MEDINA, Francesc; MARTINS, Rui C.; GOMES, João. N-doped titanium dioxide for mixture of parabéns degradation based on ozone action and toxicity evaluation: Precursor of nitrogen and titanium effect. **Process Safety and Environmental**, v. 138, p. 80-89, 2020.

FISKESJO, Geirid. The Allium test – an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mechanisms of Mutagenesis**, v. 197, p. 243-260, 1988.

GARCÍA-ARAYA, Juan F.; BELTRÁN, Fernando J.; AGUINACO, Almudena. Diclofenac removal from water by ozone and photolytic TiO₂ catalysed processes. **Journal Chemical Technology & Biotechnology**, v.85: p.798–804, 2010.

GERBALDO, Maria Verónica; MARCHETTI, Sérgio Gustavo; ELÍAS, Verônica Rita; MENDIETA, Silvia; CRIVIELLO, Mónica Elsie. Degradation of anti-inflammatory drug diclofenac using cobalt ferrite as photocatalyst. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 166, p. 237-247, 2021.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 14 ed. Piracicaba: Nobel, 2000.

GREEN, Rhys; TAGGART, Mark; DEVOJIT, D; PAIN, Deborah; KUMAR, Sashi; CUNNINGHAM, Andrew; CUTHBERT, Richard; Collapse os Asian vulture populations: risk of mortality from residues of the veterinary drug diclofenac in carcasses of treated cattle. **Journal of Applied Ecology**, v.43, 2006.

GUERRA, Marcelo; SOUZA, Maria José. Como observar cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana. **Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto**, 2002. Ribeirão Preto, SP.

GUILOSKI, Izonete Cristina; PIANCINI, Laercio Dante Stein; DAGOSTIM, Carolina; CALADO, Sabrina Loise Moraes; FÁVARO, Luis Fernando; BOSCHEN, Suelen Lúcio; CESTARI, Margarete; CUNHA, Cláudio; ASSIS, Helen Cristina da Silva. Effects of environmentally relevant concentrations of the anti-inflammatory drug diclofenac in freshwater fish *Rhamdia quelen*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 139, pg. 291-300, 2017.

HOLANDA, Jéssica da Rocha Alencar Bezerra de. Ozonização aplicada ao tratamento de diclofenaco e avaliação toxicológica utilizando bioensaios vegetais. Dissertação

(Mestrado em Ciências Ambientais) – Centro de Engenharias. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

HOSS, Louise. Ozonização convencional e catalítica como pré e pós tratamento de lixiviado de aterro. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 78p. 2020.

INTERFARMA. Associação da Indústria Farmacêutica de Pesquisa, Guia Interfarma 2019. Disponível em: <<https://www.interfarma.org.br/public/files/biblioteca/guiainterfarma-2019-interfarma2.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2020.

JOHN, Prasenna; JOHARI, Khairiraihanna; GNANASUNDARAM, Nirmala; APPUSAMY, Arunagiri; THANABALAN, Murugesan. Enhanced photocatalytic performance of visible light driven TiO₂/g-CN₄ for degradation of diclofenac in aqueous solution. **Environmental Technology & Innovation**, v. 22, 101412, 2021.

KERN, Deivid I.; SCHWAICKHARDT, Rômulo de O.; MOHR, Geane; LOBO, Eduardo A.; KIST, Lourdes T.; MACHADO, Ênio L. Toxicity and genotoxicity of hospital laundry wastewaters treated with photocatalytic ozonation. **Science of The Total Environment**, v. 443, p. 566-572, 2013.

KOLPIN, Dana W.; SKOPEC, Maria; MEYER, Michael T.; FURLONG, Edward T.; ZAUG, Steven D. Urban contribution of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants to streams during differing flow conditions. **Science of the Total Environment**, v. 328, p. 119–130, 2002.

KUMMEROVÁ, Marie; ZEZULKA, Stepán; BABULA, Petr; TRÍSKA, Jan. Possible ecological risk of two pharmaceuticals diclofenac and paracetamol demonstrated on a model plant *Lemna minor*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 302, p. 351-361, 2016.

KÜMMERER, Klaus. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part II, **Chemosphere**, v.75, p.435-441, 2009.

LASHUK, Brent; YARGEAU, Viviane. A review of ecotoxicity reduction in contaminated waters by heterogeneous photocatalytic ozonation. **Science of The Total Environment**, v. 787, 2021.

LIMA, Diego Roberto Sousa; TONUCCI, Marina Caldeira; LIBÂNO, Marcelo; AQUINO, Sérgio Francisco de; Fármacos e desreguladores endócrinos em águas brasileiras: ocorrência e técnicas de remoção. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.22, 2017.

LEME, Daniela Moraes.; MARIN-MORALES, Maria Aparecida. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, Issue 1, p. 71-81, 2009.

MATIN, A.A.; FARAJZADEH, M.A.; JOUYBAN, A. A simple spectrophotometric method for determination of sodium diclofenac in pharmaceutical formulations. **II Farmaco**, v. 60. Pg. 855-858. 2005.

MEHRJOUEI, Mohammad; MULLER, Siegfried; MOLLER, Detlev. A review on photocatalytic ozonation used for the treatment of water and wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 263, p. 209-219, 2015.

MELO, Silene Alessandra Santos; TROVÓ, Alam Gustavo; BAUTITZ, Ivonete Rossi; NOGUEIRA, Raquel Fernandes Pupo. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, v. 32, nº1, 2009.

MENDES, P.M.; BECKER, R.; CORRÊA, L.B.; BIANCHI, L.; DAI PRÁ, M.A.; LUICA JR, T.; CORRÊA, E.K. Phytotoxicity as an indicator of stability of broiler production residues. **Journal of Environmental Management**. v. 167, p. 156-159, 2016.

MERG, Jean C., ROSSET, Franciele, PENHA, Fábio G., PERGHER, Sibebe B. C.; PETKOWICZ, Diego I.; SANTOS, João H. Z. dos. Incorporação de Dióxido de Titânio em Zeólitas para Emprego Fotocatálise Heterogênea. **Química Nova**, v. 33, n. 7. 2010.

MURGOLO, Sapia; CEGLIE, Cristina; LACONI, Claudio; MASCOLO, Giuseppe. Novel TiO₂-based catalysts employed in photocatalysis and photoelectrocatalysis for effective degradation of pharmaceuticals (PhACs) in water: a short review. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, 2021.

NOGUEIRA, Raquel., JARDIM, Wilson. A Fotocatálise Heterogênea E Sua Aplicação Ambiental. **Química Nova. Sociedade Brasileira de Química**. v. 21, p. 69-75. 1998.

ONEBY, Michael A.; BROMLEY, Charles O.; BORCHARDT, James H.; HARRISON, Davis S. Ozone Treatment of Secondary Effluent at U.S. Municipal Wastewater Treatment Plants. **Ozone: Science & Engineering**, v. 32, n. 1, p. 43-55, 2010.

OYAMA, S.T. Chemical and catalytic properties of ozone. **Catal. Rev.: Sci. Eng.**, 42, pp. 279-322, 2000.

PENHA, Larissa Cristine de Carvalho; ROLA, Regina Coimbra; MARTINEZ, Claudia Bueno dos Reis; MARTINS, Camila de Martinez Gaspar. Effects of anti-inflammatory diclofenac assessed by toxicity tests and biomarkers in adults and larvae of Danio rerio. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 242, 2021.

PIGNATELLO, Joseph J.; OLIVEROS, Ester; MACKAY, Allison. Advanced oxidation processes of organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 36, p. 1-84, 2006.

QUADRO et al. **Manual de análises de águas e efluentes**. Pelotas: Editora UFPEL, 2016.

RAKNESS, Kerwin; GORDON, Gilbert; LANGLAIS, Bruno; MASSCHELEIN, Willy; MATSUMOTO, Nubuo; RICHARD, Yves; ROBSON, C.Michael; SOMIYA, Isao. Guideline for measurement of ozone concentration in the process gas from an ozone

generator. **Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association**. v.18.1996, p. 209-229, 1996.

RIZZO, L.; MERIC, S.; KASSINOS, D.; GUIDA, M.; RUSSO, F.; BELGIORNO, V. Degradation of diclofenac by TiO₂ photocatalysis: UV absorbance kinetics and process evaluation through a set of toxicity bioassays. **Water Research**, v. 43, p. 979-988, 2009.

ROCHA, Robson; BEATI, André; OLIVEIRA, Joaquim, LANZA, Marcos. Avaliação da degradação do diclofenaco sódico utilizando H₂O₂/fenton em reator eletroquímico. **Química nova**, v. 32, 2009.

RODRIGUES, Eduardo Bello. Tratamento de esgoto por zona de raízes: experiências vivenciadas numa escola rural no município de Campos Novos/SC. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental)**. Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

ROSENFELD, Paul F.; FENG, Lydia. Risks of Hazardous Wastes, **William Andrew Publishing**, Boston, p. 215-222, 2011.

RUEDA-MARQUEZ, Juan José; LEVCHUK, Irina; IBAÑEZ, Pilar Fernández; SILLANPÄÄ, Mika. A critical review on application of photocatalysis for toxicity reduction of real wastewaters. **Journal of Cleaner Production**, v. 258, 120694, 2020.

SALIMI, Maryam; ESRAFILI, Ali; GHOLAMI, Mitra; JAFARI, Ahmad Jonidi; KALANTARY, Roshanak Rezaei; FARZADKIA, Mahdi; KERMANI, Majid; SOBHI, Hamid Reza. Contaminants of emerging concern: a review of new approach in AOP technologies. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 8, p. 1-22, 2017.

SANTOS, Lúcia H. M. L. M.; GROS, Meritxell; RODRIGUEZ-MOZAZ, Sara; DELERUE-MATOS, Cristina; PENA, Angelina; BARCELÓ, Damià; MONTENEGRO, M. Conceição B. S. M.; Contribution of Hospital Effluents to the Load of Pharmaceuticals in Urban Wastewaters: Identification of Ecologically Relevant Pharmaceuticals. **Science of The Total Environment**., v. 302, p.461-462, 2013.

SANTOS, Nathália Sanches dos; MARQUIZA, Laura Fernanda; CALHEIROS, Cristina Sousa Coutinho; CAVALHERI, Priscila Sabioni; MACHADO, Beatriz Santos; CAVAZZANA, Guilherme Henrique; MAGALHÃES FILHO, Fernando Jorge Correa. Diclofenac Toxicity abatement in wastewater with solar disinfection: A study in the rural area of Brazil's Central-West Region. **Water Management: New Paradigms for Water Treatment and Reuse**, v.13, 2021.

SATHISHKUMAR, Palanivel; MEENA, Ramakrishnan Anu Alias; PALANISAMI, Thavamani; ASHOKKUMAR, Veeramuthu; PALVANNAN, Thayumanavan; GU, Feng Long. Occurrence, interactive effects and ecological risk of diclofenac in environmental compartments and biota - a review. **Science of The Total Environment**, v. 698, 134057, 2020.

SEBASTINE, I. M.; WAKERMAN, R. J. Consumption and Environmental Hazards of Pharmaceutical Substances in the UK. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 81, p. 229-235, 2003.

SOUSA, Bruno; LOPES, Jorge; LEAL, André; MARTINS, Maria; SOARES, Cristiano; VALENTE, Inês; RODRIGUES, José; FIDALGO, Fernanda; TEIXEIRA, Jorge. Response of *Solanum lycopersicum* L. to diclofenaco – Impacts on the plant's antioxidant mechanisms. **Environmental Pollution**, v.258. 2020.

SOUZA, Luccas Fernando Bittencourt; LAUGHINGHOUSE, Haywood Dail; PASTORI, Tamara; TEDESCO, Marília; KUHN, Andrielle Wouters; CANTO-DOROW, Thais Scotti; TEDESCO, Solange Bosio. Genotoxic potential of aqueous extracts of *Artemisia vertolorum* on the cell cycle of *Allium cepa*. **International Journal of Environmental Studies**, v. 67, 2010.

SOUZA, Cássia Cabral; AQUINO, Sergio Francisco; SILVA, Silvana de Queiroz; Ensaio toxicológico aplicado à análise de águas contaminadas por fármacos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**. v.25, n.2, 2020.

SRIVASTAVA, Vasudha; BALABAN, Amanda; ROBINSON, Douglas. Cell Division | Cytokinesis. **Encyclopedia of Biological Chemistry III** (Third Edition), v. 5, p. 42-48, 2021.

STORCK, L. GARCIA, D.C.; LOPES, S.J.; ESTEFANEL, V. **Experimentação vegetal**. 2ed. Santa Maria: UFSM, 2006.

SUI, Qian; CAO, Xuqi; LU, Shuguang; ZHAO, Wentao; QIU, Zhaofu; YU, Gang. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review, **Emerging Contaminants**, v. 1, p. 14-24, 2015.

TAOUFIK, Nawal; BOUMYA, Wafaa; JANANI, F.Z; ELHALIL, Aladdine; MAHJOURI, Fátima Zahra; BARKA, Noureddine. Removal of emerging pharmaceutical pollutants: A systematic mapping study review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, 2020.

TERNES, Thomas A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. **Water Res.**, v. 32, n. 11, p. 3245–3260. 1998.

TIJANI, Jimoh; FATOBA, Ojo; BABAJIDE, Omotola; PETRIK, Leslie. Pharmaceuticals, endocrine disruptors, personal care products, nanomaterials and perfluorinated pollutants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 14, n. 1, p. 27-49, 2016.

TORRES, Priscila; SANTOS, Janaína; NOVAES, Paula; FUNGYI, Chow. Protocolo para avaliação dos efeitos de extratos vegetais sobre a germinação e crescimento inicial de alface em microplacas de seis poços. **Instituto de Biociências**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

UEDA, Joe; TAVERNARO, Roger; MAROSTEGA, Victor; PAVAN, Wesley. Impacto Ambiental do descarte de fármacos e estudo da conscientização da população a

respeito do problema.; TAVERNARO, R.; MAROSTEGA, V.; PAVAN, W. **Revista Ciências do Ambiente Online**, v. 5, n. 1., 2009.

VALÉRIO, Alexsandra; WANG, Jingfeng; TONG, Sherry; SOUZA, Antônio Augusto Ulson; HOTZA, Dachamir; GONZÁLEZ, Sérgio. Synergetic effect of photocatalysis and ozonation for enhanced tetracycline degradation using highly macroporous photocatalytic supports. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, v. 149, 2020.

VERGEYNST, Leendert; HAECK, Ashley; DE WISPELAERE, Patrick; VAN LANGENHOVE, Herman; DEMEESTERE, Kristof. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-magnetic sector mass spectrometry: method quality assessment and application in a Belgian case study. **Chemosphere**, v. 119, p. S2-S8, 2015.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment - A review. **Science of the Total Environment**, v.429, p. 123-155, 2012a.

VERLICCHI, P.; AUKIDY, M; GALLETTI, A.; PETROVIC, M.; BARCELO, D. Hospital Effluent: Investigation of the Concentrations and Distribution of Pharmaceuticals and Environmental Risk Assessment. **Science of the Total Environment**, v.430, p. 109-118, 2012b.

VIENO, Niina; SILLANPAA, Mika. Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant — A review. **Environment International**, v. 69, p. 28-39, 2014.

WANG, Jianlong; Chen, Hai. Catalytic ozonation for water and wastewater treatment: Recent advances and perspective. **Science of The Total Environment**, v. 704, 2020.

XIAO, Jiadong; XIE, Yougbing; CAO, Hongbin. Organiz pollutants removal in wasterwater by heterogeneous photocatalytic ozonation. **Chemospere**, v.121, p.1-17, 2015

ZUCCONI, F.; PERA, A.; FORTE, M.; DE BERTOLDI, M., 1998. Evaluating toxicity of immature compost. **Biocycle** 22, 54-57.

Apêndices

Apêndice A: Lista com as equações dos gráficos Linear-Platô

Identificação	Equações
Figura 9	$\text{região 1}(t) = \frac{(24,06 * (1,22e^{-7} - t) + 1,68 * (t - t1))}{(1,22e^{-7} - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(1,68 * (t2 - t) + 1,99 * (t - 1,22e^{-7}))}{(t2 - 1,22e^{-7})}$
Figura 10	$\text{região 1}(t) = \frac{(25 * (89,5 - t) + 25,74 * (t - t1))}{(89,5 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(25,74 * (t2 - t) + 21,48 * (t - 89,5))}{(t2 - 89,5)}$
Figura 11 – a)	$\text{região 1}(t) = \frac{(24,21 * (7,61e^{-9} - t) - 0,53 * (t - t1))}{(7,61e^{-9} - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(-0,53 * (t2 - t) + 0,92 * (t - 7,61e^{-9}))}{(t2 - 7,61e^{-9})}$
Figura 11 – b)	$\text{região 1}(t) = \frac{(24,21 * (7,72e^{-9} - t) - 0,75 * (t - t1))}{(7,72e^{-9} - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(-0,75 * (t2 - t) + 0,75 * (t - 7,72e^{-9}))}{(t2 - 7,72e^{-9})}$
Figura 11 – c)	$\text{região 1}(t) = \frac{(24,17 * (2,5e^{-8} - t) - 0,59 * (t - t1))}{(2,5e^{-8} - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(-0,59 * (t2 - t) + 0,43 * (t - 2,5e^{-8}))}{(t2 - 2,5e^{-8})}$
Figura 12	$\text{região 1}(t) = \frac{(7,31 * (7,01e^{-9} - t) + 3,45 * (t - t1))}{(7,01e^{-9} - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(3,45 * (t2 - t) + 4,16 * (t - 7,01e^{-9}))}{(t2 - 7,01e^{-9})}$
Figura 13	$\text{região 1}(t) = \frac{(6,74 * (123,57 - t) + 6,92 * (t - t1))}{(123,57 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(6,92 * (t2 - t) + 6,81 * (t - 123,57))}{(t2 - 123,57)}$
Figura 14	$\text{região 1}(t) = \frac{(112,99 * (181,30 - t) + 29,37 * (t - t1))}{(181,30 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(29,37 * (t2 - t) + 27,12 * (t - 181,30))}{(t2 - 181,30)}$
Figura 15	$\text{região 1}(t) = \frac{(103,95 * (125,44 - t) + 75,61 * (t - t1))}{(125,44 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(75,61 * (t2 - t) + 54,24 * (t - 125,44))}{(t2 - 125,44)}$
Figura 16 – a)	$\text{região 1}(t) = \frac{(112,98 * (191,12 - t) + 83,61 * (t - t1))}{(191,12 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(83,61 * (t2 - t) + 81,36 * (t - 191,12))}{(t2 - 191,12)}$

Figura 16 – b)	$\text{região 1}(t) = \frac{(108,47 * (176,40 - t) + 108,47 * (t - t1))}{(176,40 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(108,47 * (t2 - t) + 54,24 * (t - 176,40))}{(t2 - 176,40)}$
Figura 16 – c)	$\text{região 1}(t) = \frac{(107,58 * (1,83e^{-9} - t) + 79,65 * (t - t1))}{(1,83e^{-9} - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(79,65 * (t2 - t) + 81,49 * (t - 1,83e^{-9}))}{(t2 - 1,83e^{-9})}$
Figura 17	$\text{região 1}(t) = \frac{(30,29 * (194,73 - t) + 17,4 * (t - t1))}{(194,73 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(17,4 * (t2 - t) + 21,12 * (t - 194,73))}{(t2 - 194,73)}$
Figura 18	$\text{região 1}(t) = \frac{(27,73 * (60 - t) + 18,32 * (t - t1))}{(60 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(18,32 * (t2 - t) + 29,73 * (t - 60))}{(t2 - 60)}$
Figura 19 – a)	$\text{região 1}(t) = \frac{(28,37 * (178,97 - t) + 10,85 * (t - t1))}{(178,97 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(10,85 * (t2 - t) + 82,40 * (t - 178,97))}{(t2 - 178,97)}$
Figura 19 – b)	$\text{região 1}(t) = \frac{(30,03 * (189,87 - t) + 14,77 * (t - t1))}{(189,87 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(14,77 * (t2 - t) + 30,25 * (t - 189,87))}{(t2 - 189,87)}$
Figura 19 – c)	$\text{região 1}(t) = \frac{(29,33 * (184,18 - t) + 12,03 * (t - t1))}{(184,18 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(12,03 * (t2 - t) + 28,65 * (t - 184,18))}{(t2 - 184,18)}$
Figura 22	$\text{região 1}(t) = \frac{(3,15 * (157,76 - t) + 2,79 * (t - t1))}{(157,76 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(2,79 * (t2 - t) + 2,9 * (t - 157,76))}{(t2 - 157,76)}$
Figura 23	$\text{região 1}(t) = \frac{(3,07 * (60 - t) + 3,02 * (t - t1))}{(60 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(3,02 * (t2 - t) + 3,49 * (t - 60))}{(t2 - 60)}$
Figura 24 – a)	$\text{região 1}(t) = \frac{(3,25 * (183,87 - t) + 1,98 * (t - t1))}{(183,87 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(1,98 * (t2 - t) + 2,53 * (t - 183,87))}{(t2 - 183,87)}$
Figura 24 – b)	$\text{região 1}(t) = \frac{(3,15 * (144,99 - t) + 2,04 * (t - t1))}{(144,99 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(2,04 * (t2 - t) + 3,58 * (t - 144,99))}{(t2 - 144,99)}$

Figura 24 – c)	$\text{região 1}(t) = \frac{(3,15 * (140,13 - t) + 1,92 * (t - t1))}{(140,13 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(1,92 * (t2 - t) + 2,65 * (t - 140,13))}{(t2 - 140,13)}$
Figura 25	$\text{região 1}(t) = \frac{(133,2 * (25,42 - t) + 97,77 * (t - t1))}{(25,42 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(97,77 * (t2 - t) + 109,62 * (t - 25,42))}{(t2 - 25,42)}$
Figura 26	$\text{região 1}(t) = \frac{(133,2 * (82,86 - t) + 61,10 * (t - t1))}{(82,86 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(61,10 * (t2 - t) + 33,10 * (t - 82,86))}{(t2 - 82,86)}$
Figura 27 – a)	$\text{região 1}(t) = \frac{(144,20 * (194,70 - t) + 85,20 * (t - t1))}{(194,70 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(85,20 * (t2 - t) + 90 * (t - 194,70))}{(t2 - 194,70)}$
Figura 27 – b)	$\text{região 1}(t) = \frac{(130,97 * (2,75 - t) + 78,10 * (t - t1))}{(2,75 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(78,10 * (t2 - t) + 76,51 * (t - 2,75))}{(t2 - 2,75)}$
Figura 27 – c)	$\text{região 1}(t) = \frac{(133,2 * (113,98 - t) + 49,32 * (t - t1))}{(113,98 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(49,32 * (t2 - t) + 63 * (t - 113,98))}{(t2 - 113,98)}$
Figura 28	$\text{região 1}(t) = \frac{(96,35 * (235,23 - t) + 89,01 * (t - t1))}{(235,23 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(89,01 * (t2 - t) + 100,10 * (t - 235,23))}{(t2 - 235,23)}$
Figura 29	$\text{região 1}(t) = \frac{(92,70 * (53,88 - t) + 79,91 * (t - t1))}{(53,88 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(79,91 * (t2 - t) + 84,85 * (t - 53,88))}{(t2 - 53,88)}$
Figura 30 – a)	$\text{região 1}(t) = \frac{(90,50 * (188,39 - t) + 107,80 * (t - t1))}{(188,39 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(107,80 * (t2 - t) + 97,90 * (t - 188,39))}{(t2 - 188,39)}$
Figura 30 – b)	$\text{região 1}(t) = \frac{(91,38 * (201,16 - t) + 96,74 * (t - t1))}{(201,16 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(96,74 * (t2 - t) + 111 * (t - 201,16))}{(t2 - 201,16)}$
Figura 30 – c)	$\text{região 1}(t) = \frac{(95,18 * (214,96 - t) + 88,23 * (t - t1))}{(214,96 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(88,23 * (t2 - t) + 106,10 * (t - 214,96))}{(t2 - 214,96)}$

Figura 31	$\text{região 1}(t) = \frac{(103,41 * (197,55 - t) + 107,11 * (t - t1))}{(197,55 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(107,11 * (t2 - t) + 111,60 * (t - 197,55))}{(t2 - 197,55)}$
Figura 32	$\text{região 1}(t) = \frac{(102,10 * (69,61 - t) + 78,66 * (t - t1))}{(69,61 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(78,66 * (t2 - t) + 70,20 * (t - 69,61))}{(t2 - 69,61)}$
Figura 33 – a)	$\text{região 1}(t) = \frac{(101,83 * (189,48 - t) + 103,76 * (t - t1))}{(189,48 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(103,76 * (t2 - t) + 107,90 * (t - 189,48))}{(t2 - 189,48)}$
Figura 33 – b)	$\text{região 1}(t) = \frac{(101,51 * (180,45 - t) + 114,50 * (t - t1))}{(180,45 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(114,50 * (t2 - t) + 108,20 * (t - 180,45))}{(t2 - 180,45)}$
Figura 33 – c)	$\text{região 1}(t) = \frac{(108,30 * (229,23 - t) + 94,78 * (t - t1))}{(229,23 - t1)}$
	$\text{região 2}(t) = \frac{(94,78 * (t2 - t) + 99,30 * (t - 229,23))}{(t2 - 229,23)}$