

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

FERNANDA KILL DE SOUZA

**USO DA ESPECTROFLUORIMETRIA COMO TÉCNICA
ALIADA À MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO
DISPERSIVA E AO MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO
POR OZONÓLISE DO IBUPROFENO**

Dourados, MS

2016

FERNANDA KILL DE SOUZA

**USO DA ESPECTROFLUORIMETRIA COMO TÉCNICA
ALIADA À MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO
DISPERSIVA E AO MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO
POR OZONÓLISE DO IBUPROFENO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II, e como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel e licenciada em Química, pela Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias da Universidade Federal da Grande Dourados

Orientador: Prof. Dr. Heberth Juliano Vieira

Dourados, MS

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S729u Souza, Fernanda Kill De

Uso da espectrofluorimetria como técnica aliada à microextração líquido-líquido dispersiva e ao monitoramento da degradação por ozonólise de ibuprofeno / Fernanda Kill De Souza -- Dourados: UFGD, 2016.

57f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Heberth Juliano Vieira

TCC (Graduação em Química) - Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados.

Inclui bibliografia

1. Produtos farmacêuticos. 2. Validação. 3. Métodos analíticos. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

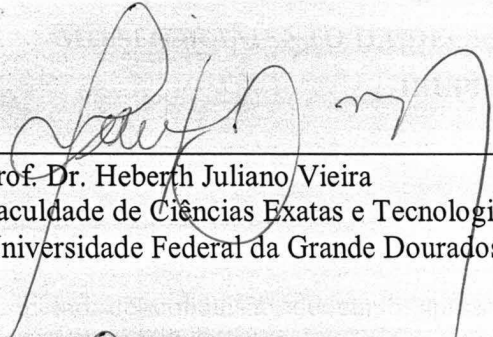
FERNANDA KILL DE SOUZA

**USO DA ESPECTROFLUORIMETRIA COMO TÉCNICA ALIADA À
MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA E AO
MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO POR OZONÓLISE DO
IBUPROFENO**

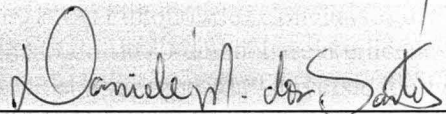
Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito para aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II, e como requisito parcial para a obtenção do título de bacharela e licenciada em Química, pela Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias da Universidade Federal da Grande Dourados

Aprovação em 22 de Setembro de 2016.

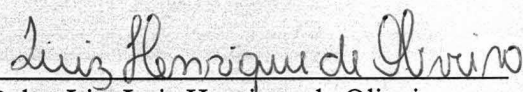
Componentes da banca examinadora:



Prof. Dr. Heberth Juliano Vieira
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia
Universidade Federal da Grande Dourados



Profa. Dra. Daniele Mignolo dos Santos
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia
Universidade Federal da Grande Dourados



Bel. e Lic. Luiz Henrique de Oliveira
Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia
Universidade Federal da Grande Dourados

*Com carinho, dedico este trabalho ao meu pai
Ivanildo, a minha mãe Mariana e a minha
irmã Karoline.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por toda graça concedida, por estar presente em todas as etapas envolvidas na concretização deste trabalho, por me amparar em todas as minhas necessidades e em toda circunstância;

A minha mãe Mariana, ao meu pai Ivanildo e a minha irmã Karoline, por todo cuidado, todo carinho, toda compreensão, toda orientação, todo auxílio e por todos os seus ensinamentos que sempre me concederam;

Ao meu cunhado Waires, por seu apoio e consideração;

Ao meu orientador Prof. Heberth Juliano Vieira, por cada uma das muitas oportunidades concedidas, por sua paciência, por sua disponibilidade, por todo direcionamento e apoio, por todo conhecimento partilhado e por todo aprendizado que me possibilitou;

À Profa. Daniele Mignolo dos Santos, pela simpatia de sempre, por toda disponibilidade, atenção e orientação;

Aos colegas de laboratório, por sua convivência e troca de conhecimentos, mas principalmente ao Herbert Lee Barbosa Veríssimo de Barros, por todo auxílio, instrução e conhecimento disponibilizado;

A todos os colegas de graduação, de modo especial ao Alison, à Criscieli, à Caren, à Camila, ao Iago, ao Jean, à Joice, à Kátia e à Tainara, por todos os momentos que juntos vivenciamos e por toda experiência e saberes partilhados;

A todos os professores que muito contribuíram para minha formação acadêmica;

A cada um dos meus familiares e amigos que me acompanharam ao longo da caminhada que me trouxe até aqui;

E a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho;

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica.

Muito obrigada!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do ibuprofeno. _____	18
Tabela 2. Condições de variação dos fatores para os ensaios realizados no planejamento fatorial 2 ³ . _____	27
Tabela 3. Níveis máximos e mínimos em que as condições de cada um dos fatores foram avaliadas no planejamento fatorial 2 ³ . _____	28
Tabela 4. Equações de regressão de curvas analíticas obtidas em diferentes dias (volume de 0,70 mL). _____	36
Tabela 5. Matriz de planejamento 2 ³ com os níveis dos fatores avaliados na extração de ibuprofeno empregando MELLD. _____	37
Tabela 6. Efeitos principais dos ensaios para extração de ibuprofeno empregando MELLD.	38
Tabela 7. Estudo da eficiência de pré-concentração de ibuprofeno. _____	41
Tabela 8. Comparação do procedimento desenvolvido com procedimentos de extração líquido-líquido e detecção por métodos cromatográficos. _____	42
Tabela 9. Estudo de recuperação de ibuprofeno em amostra de água de abastecimento utilizando o procedimento de MELLD e espectrofluorimétrico propostos. _____	43

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Estrutura do ibuprofeno. _____ 17
- Figura 2. Gráfico da distribuição das espécies (α_0 e α_1) do ibuprofeno de acordo com o pH. HA: ácido protonado; A⁻: ácido desprotonado. _____ 26
- Figura 3. Etapas referentes à técnica de DLLME e posterior preparo de solução para análise. _____ 26
- Figura 4. Espectros de excitação e emissão de uma solução de ibuprofeno $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em meio a solução de hidróxido de sódio a $0,10$ mol L⁻¹. Fendas de excitação e emissão = 5 nm (ambas). _____ 30
- Figura 5. Efeito da variação do pH na emissão de uma solução padrão de ibuprofeno $4,2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em 285 nm. $\lambda_{excitação}=226$ nm; fendas de excitação e emissão=5 nm (ambas). _____ 31
- Figura 6. Intensidades de emissão de soluções de padrão de ibuprofeno no intervalo de concentração de $2,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. _____ 32
- Figura 7. Curva analítica para a determinação de ibuprofeno empregando procedimento espectrofluorimétrico. _____ 33
- Figura 8. Gráfico dos resíduos dos dados utilizados para a construção da curva analítica (a linha tracejada indica o limite aceitável de variação dos resíduos). _____ 33
- Figura 9. (a) Curva analítica para a determinação de ibuprofeno empregando espectrofluorimetria; (b) gráfico dos resíduos dos dados utilizados para a construção da curva analítica (a linha tracejada indica o limite aceitável de variação dos resíduos). _____ 34
- Figura 10. Estudo da variação da sensibilidade na faixa de concentração de ibuprofeno empregada para a obtenção da curva analítica. _____ 35
- Figura 11. Gráfico de Pareto indicado os efeitos das variáveis avaliadas no processo de extração MELLD para a determinação e ibuprofeno. _____ 39

Figura 12. Gráfico de contorno obtido para a otimização das variáveis avaliadas na otimização do procedimento MELLD para a quantificação de ibuprofeno. Variância explicada de 98,76%.

_____ 40

Figura 13. Espectros de emissão do estudo de microextração de solução padrão de ibuprofeno $1,53 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ adicionada em amostra de água de abastecimento (∇ : água de abastecimento sem adição de padrão; \circ : solução obtida com a extração MELLD).

$\lambda_{\text{excitação}}=226$ nm; fendas de excitação e emissão=5 nm (ambas). _____ 43

Figura 14 Espectros de emissão de solução padrão de ibuprofeno $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ submetidas a ozonólise. Os espectros foram obtidos nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min de exposição. $\lambda_{\text{excitação}}=226$ nm. Fenda de excitação e emissão = 5 nm (ambas); $[\text{O}_3]=0,52 \pm 0,04$ mg L⁻¹. _____ 45

Figura 15. Gráfico de contorno de uma solução padrão de ibuprofeno submetida ao processo de ozonização. (a) tempo = 0 min e (b) tempo = 30 min de ozonização. $[\text{O}_3] = 0,52 \pm 0,04$ mg L⁻¹. _____ 47

Figura 16. Espectros de emissão de solução padrão de sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ exposto a ozonólise e obtidos nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min. $\lambda_{\text{excitação}}=260$ nm; fenda de excitação = 5 nm; fenda de emissão= 10 nm. $[\text{O}_3] = 0,52 \pm 0,04$ mg/L. _____ 49

Figura 17. Gráfico de contorno da solução de sulfametoxazol submetido ao processo de ozonização. (a) tempo = 0 min e (b) tempo = 30 min. $[\text{O}_3] = 0,52 \pm 0,04$ mg/L. _____ 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COX-1	Ciclo-oxigenase 1
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
ELL	Extração líquido-líquido
GAC	Química analítica verde
IBU	Ibuprofeno
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MELLD	Microextração líquido-líquido dispersiva
POA	Processo de Oxidação Avançado
SD	Solvente dispersor
SE	Solvente extrator

LISTA DE SÍMBOLOS

n	orbital sigma
π	orbital pi
π^*	orbital pi antiligante
K_a	coeficiente de ionização
K_D	coeficiente de distribuição
A_{org}	fração de espécies na fase orgânica
A_{aq}	fração de espécies na fase aquosa
pH	potencial hidrogeniônico
OH^\bullet	radical hidroxila
ε	absortividade molar
s_y	desvio padrão do coeficiente linear da curva analítica
b	coeficiente angular da curva analítica
DP	desvio padrão
DPR	desvio padrão relativo
\bar{x}	média
IC	intervalo de confiança
g.l.	graus de liberdade
p	probabilidade de significância
$t_{crítico}$	valor de t tabelado
t	valor de t calculado

n	número de observação
r^2	coeficiente de correlação
r	coeficiente de regração

RESUMO

Micropoluentes emergentes são compostos que têm sido encontrados em quantidades muito baixas no meio ambiente e que, em muitos casos, apresentam tendência a se acumularem. Não há ainda conhecimento suficiente com relação a todos os seus efeitos, no entanto há indícios de que os mesmos podem representar uma fonte de riscos à saúde pública e aos diversos sistemas biológicos a eles relacionados. Dentre essa classe de compostos, se encontram fármacos e seus metabólicos, os quais têm como fonte de emissão resíduos gerados pela ação humana. Neste sentido, diversos estudos têm relatado a presença de ibuprofeno, um importante medicamento antiinflamatório não esteróide, com propriedades analgésicas e antitérmicas, em meios como águas de rios e afluentes de estações de tratamento de água. É necessário, portanto, o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de identificar micropoluentes. Por outro lado, é necessário considerar a diversidade da composição química de matrizes de amostras envolvidas neste tipo de análise. Deste modo, o presente trabalho propôs a otimização de um procedimento de preparo de amostra por microextração líquido-líquido dispersiva, empregando um planejamento fatorial do tipo 2^3 , em que foram avaliadas as influências dos volumes de ácido clorídrico $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, de solvente dispersor, acetona, e de solvente extrator, diclorometano, adicionados. Para quantificação de ibuprofeno foi utilizada a técnica de espectrofluorimetria, a qual teve seus parâmetros avaliados e ajustados para os devidos fins. Propôs-se também o monitoramento da degradação, por ozonólise em meio básico, de ibuprofeno, e também de sulfametoxazol para comparação de seus comportamentos. A partir do método espectrofluorimétrico, para a faixa de concentração de $1,58 \times 10^{-6}$ e $1,73 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, foi possível obter uma curva analítica com a equação $I = 3,39 \times 10^6 (\pm 7,3 \times 10^4) \times [\text{IBU}] - 1,64 (\pm 0,88)$, em que I é a intensidade de emissão e [IBU] é a concentração de ibuprofeno, com coeficiente de regressão (r) de 0,998, com limite de detecção e de quantificação de $8,77 \times 10^{-7}$ e $2,92 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente e desvio padrão de 0,95. Foram estabelecidos então, os volumes de 1,0 mL de ácido clorídrico $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, 0,5 mL de diclorometano e 1,0 mL de acetona para os procedimentos da técnica de preparo da amostra, a partir da qual foram obtidos fatores de enriquecimento de 67 a 99% e recuperação de até 69,2%. Por fim verificou-se baixa degradação para ibuprofeno, no entanto observou-se indicativos da formação de produtos de degradação com características de excitação e emissão similares as do ibuprofeno. Por outro lado, verificou-se maior degradação para o sulfametoxazol, além do que, não foram observados efeitos de excitação e emissão decorrentes de produtos de degradação, tornando viável o monitoramento de sua degradação pela técnica proposta.

Palavras chaves: produtos farmacêuticos, validação, métodos analíticos

ABSTRACT

Micropollutants emerging are compounds that have been found in very low quantities in the environment and, in many cases, have a tendency to accumulate. There are not yet sufficient knowledge about all its effects, although there are indications that they may be a source of public health risks and the various biological systems related to them. In this compounds class drugs and their metabolites are founded which have emission source as waste generated by human action. In this sense, several studies have reported the presence of ibuprofen, an important non-steroidal anti-inflammatory drug with analgesic and antipyretic properties in media such as water rivers and streams from water treatment plants. It is necessary therefore the development of simple and fast analytical procedures capable of identifying and quantify these micropollutants. On the hand, it is necessary to consider the diversity of chemical composition of sample matrices involved in this type of analysis. Thus, this paper proposed the optimization of sample preparation procedure for liquid-liquid microextraction dispersive by employing a factorial design 2^3 , in which we evaluated the volumes influence of hydrochloric acid 2.0 mol L^{-1} , disperser solvent, acetone, and extractor solvent, dichloromethane added. For quantification of ibuprofen was used spectrofluorimetric procedure, which had its parameters evaluated and adjusted for analytical application. It was proposed the use of proposed developed procedure for also monitoring the degradation of ibuprofen, by ozonolysis in a basic medium. The sulfamethoxazole degradation was monitored to compare its behavior. An analytical curve with the concentration range of ibuprofen between 1.58×10^{-6} e $1.73 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ was obtained and can be described by equation $I = 3.39 \times 10^6 (\pm 7.3 \times 10^4) \times [\text{IBU}] - 1.64 (\pm 0.88)$, where I is the intensity of emission and [IBU] is the concentration of ibuprofen, the regression coefficient (r) of 0.998 to limit detection and quantitation of 8.77×10^{-7} e $2.92 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, respectively and standard deviation of 0.95. The conditions established using the factorial design 2^3 were volumes of 1.0 mL of hydrochloric acid 2.0 mol L^{-1} , 0.5 mL of dichloromethane and 1.0 mL of acetone to the procedures of sample preparation technique, from which were obtained enrichment factors of 67–99% and recovery to 69,2%. Finally, it has been found for ibuprofen low degradation, however it was observed indicating the formation of degradation products with similar excitation and emission characteristics of the ibuprofen. Moreover, it was found most degradation of sulfamethoxazole, besides, no effects were observed excitation and emission, resulting from degradation products, making possible the monitoring of their degradation by the proposed technique.

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	IBUPROFENO	18
1.2	MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (MELLD).....	19
2	PROCESSOS DE OXIDAÇÃO AVANÇADOS (POA)	20
3	METODOLOGIAS	22
3.1	MATERIAIS	22
3.1.1	Método espectrofluorimétrico para quantificação de ibuprofeno	22
3.1.2	Ozonização	22
3.1.3	Procedimento de extração líquido-líquido dispersiva (MELLD).....	22
4	MÉTODO ESPECTROFLUORIMÉTRICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE IBUPROFENO	23
4.1	OTIMIZAÇÃO DO PROCEDIMENTO	23
4.2	ESTIMATIVA DE FIGURAS DE MÉRITO	23
4.3	LINEARIDADE, LD E LQ	24
4.4	PRECISÃO.....	24
4.5	MÉTODO ESPECTROFLUORIMÉTRICO PARA A QUANTIFICAÇÃO DE SULFAMETOXAZOL... 25	
4.6	PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (MELLD).....	25
4.7	PLANEJAMENTO FATORIAL	27
4.8	CÁLCULO DO FATOR DE ENRIQUECIMENTO DE IBUPROFENO NO PROCEDIMENTO MELLD 28	
4.9	PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE IBUPROFENO PARA AMOSTRA DE ÁGUA DE ABASTECIMENTO..	28
4.10	PROCEDIMENTO DE OZONIZAÇÃO	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
5.1	MÉTODO ESPECTROFLUORIMÉTRICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE IBUPROFENO.....	30
5.1.1	Otimização do procedimento	30
5.1.2	Linearidade, faixa de trabalho, LD e LQ	31
5.1.3	Precisão	36
5.2	PROCEDIMENTO DE MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA (MELLD).....	37
5.2.1	Planejamento fatorial	37

5.2.2	Avaliação do fator de enriquecimento de ibuprofeno empregando o procedimento MELLD otimizado	41
5.2.3	Extração de ibuprofeno em amostra de água de abastecimento.....	42
5.3	MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO POR OZONÓLISE DO IBUPROFENO EMPREGANDO A ESPECTROFLUORIMETRIA DE EMISSÃO MOLECULAR	45
5.4	MONITORAMENTO DA DEGRADAÇÃO DO SULFAMETOXAZOL EMPREGANDO A ESPECTROFLUORIMETRIA DE EMISSÃO MOLECULAR	48
6	CONCLUSÃO	51
7	REFERÊNCIAS.....	52

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento industrial e o aumento do consumismo observado em nossa sociedade trazem consigo a elevação de produtos residuais. Medicamentos, desenvolvidos e empregados com a finalidade de promover a saúde, o bem-estar e o prolongamento da vida de seus consumidores representa uma classe de produtos importante em tal contexto. O descarte inadequado destas substâncias, tanto por parte de consumidores, como por parte das indústrias e comércio vinculados ao setor farmacêutico pode ocasionar a poluição do solo e das águas. Além disso, a excreção destes produtos e de seus metabolitos por seus usuários constitui outra via de emissão destes poluentes ao meio ambiente, fator este que se agrava a partir do uso indiscriminado de medicamentos (BILLA, DEZOTTI, 2003).

Sendo assim, medicamentos, também conhecidos por fármacos, compõem a classe dos chamados micropoluentes ou poluentes emergentes. Estes são substâncias químicas, com potencial cumulativo, que têm sido encontradas no meio ambiente em pequenas quantidades, sobre as quais não se tem conhecimento suficiente sobre seus efeitos. Estudos indicam, no entanto, que estes podem ocasionar danos aos ecossistemas em que se encontram e representar riscos à saúde pública (FENT, WESTON, CAMINADA, 2006).

Tem aumento em todo o mundo o número de pesquisas relacionadas à identificação destes compostos em rios e estações de tratamento de água. Entretanto, Borger et al. (2015) nos indicam a escassez de publicações neste sentido para o cenário brasileiro. Enquanto isto, dentre trabalhos encontrados na literatura Américo et al. (2012), Montagner e Jardim (2011) e Stumpf et al. (1999) relatam a presença de ibuprofeno águas naturais e estações de tratamento de água no Brasil, realidade que se verifica também em outros países conforme os resultados apresentados por Ternes (1998) e Santos et al. (2013).

O ibuprofeno (IBU), ácido 2-(4-isobutilfenil)-propiónico, é um importante medicamento anti-inflamatório não-esteróide e também analgésico. É portanto, amplamente empregado no tratamento de inflamações, febre e dores. Um de seus principais mecanismos de ação consiste na inibição da produção de prostaglandinas (CARVALHO, 2015).

A estrutura molecular do ibuprofeno, Figura 1, é composta um anel benzênico e um grupo carboxílico em ressonância, o que nos remete ao propósito deste trabalho em avaliar o potencial da utilização da espectrofluorimetria para a determinação deste fármaco, considerando a alta sensibilidade apresentada em muitos casos por esta técnica de análise. Na referida técnica o analito de interesse assume um estado de energia excitado, a partir da

absorção de radiação, e ao retornar ao seu estado fundamental emite radiação específica. A intensidade da radiação emitida é então empregada para fins analíticos. Transições energéticas dos tipos $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$ são as mais propícias a ocorrência do fenômeno de excitação seguida de fluorescência, sendo este favorecido então por moléculas com sistemas de conjugação (HOLLER, SKOOG, CROUCH, 2009).

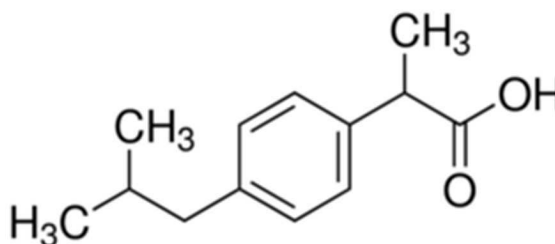


Figura 1. Estrutura do ibuprofeno.

Além disso, pretende-se neste trabalho definir parâmetros adequados para um procedimento de preparo de amostra de água. Assim, tendo em vista a remoção de substâncias interferentes e a pré-concentração de ibuprofeno, propomos a utilização da técnica de Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (MELLD). De simples execução, baixo custo e ambientalmente segura a mesma tem como uma de suas principais características o uso de quantidades mínimas de solventes. Sendo que, a transferência do analito de interesse da amostra para o solvente extrator (SE) ocorre por partição, a partir da dispersão entre estas duas fases, promovida por um solvente dispersor (SD). É importante que amostra e solvente extrator sejam imiscíveis, enquanto que o solvente dispersor deve apresentar considerável solubilidade em ambas as fases (MARTINS et al., 2006).

Por fim, o presente trabalho almeja ainda monitorar o processo de degradação de ibuprofeno por ozonização em meio alcalino. Este por sua vez, representa um dos tipos de Processos de Oxidação Avançados (POA), que têm sido propostos para o tratamento complementar ou alternativo de efluentes que contém micropoluentes, uma vez que processos convencionais têm se mostrado ineficazes para sua remoção. Neste processo ocorre a formação de radicais hidroxila, $\bullet\text{OH}$, altamente reativos e oxidantes, os atuam majoritariamente na decomposição de compostos orgânicos, especialmente daqueles que apresentam sistemas aromáticos e ligações múltiplas em sua estrutura molecular. Além disso, o ozônio pode atuar como agente oxidante e então ocasionar a degradação de micropoluentes adicionalmente (HUANG, DONG, TANG, 1993; KLAVARIOTI, MANTZAVINOS, KASSINOS, 2009; MELO et al. 2009).

1.1 Ibuprofeno

O ibuprofeno é classificado como um analgésico não opióide, ou seja, não derivado da morfina, e como anti-inflamatório não esteróide. Compõe o grupo dos derivados do ácido propiônico, que atuam de forma não seletiva na inibição das duas vias enzimáticas, ciclo-oxigenase-1 (COX-1) e ciclo-oxigenase-2 (COX-2), responsáveis pela formação de prostaglandinas, a partir da metabolização do ácido araquidônico. Dentre as funções atribuídas às prostaglandinas produzidas pela COX-1 se insere sua contribuição para a proteção da mucosa gástrica e manutenção da função renal, ao que se relacionam os efeitos colaterais do referido fármaco. Enquanto isso, ao inibir a formação de prostaglandinas produzidas a partir da COX-2 o ibuprofeno age minimizando processos inflamatórios e exercendo propriedades analgésicas e antipiréticas. Adicionalmente, ibuprofeno exerce efeitos sobre outros sistemas e mecanismos que contribuem para a atenuação do processo inflamatório (CARVALHO, 2015).

O ibuprofeno possui odor característico, é encontrado na forma de um pó branco e tem suas características físico-químicas apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Propriedades físico-químicas do ibuprofeno.

Propriedade físico-química	Valor
Massa molar (g mol ⁻¹)	206,28
Solubilidade em água (g L ⁻¹ a 25 °C)	21
pK _a	4,9
log K _D	3,97

Fonte: MONTAGNER, JARDIM, 2011.

1.2 Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (MELLD)

A etapa de preparo de amostra em uma análise química é um dos passos mais importantes para a obtenção de resultados satisfatórios. Com esta finalidade uma das metodologias convencionais que pode ser empregada é a extração líquido-líquido (ELL), no entanto a mesma requerer etapas morosas, demoradas, envolvendo alto consumo de solventes tóxicos e de amostra. Suas desvantagens são opostas aos objetivos propostos pela química analítica verde (GAC, do inglês Green analytical chemistry), a qual almeja o desenvolvimento de metodologias de análise sustentáveis e com a redução ou extinção de impactos sobre o meio ambiente e sobre a vida humana. Deste modo, pesquisas foram e continuam sendo desenvolvidas no sentido do desenvolvimento, da melhoria e da aplicação de técnicas miniaturizadas para o pré-tratamento de amostra (ARMENTA, GARRIGUES, GUARDIA, 2008;PENA-PEREIRA, LAVILLA, BENDICHO, 2010).

Neste sentido a microextração líquido-líquido dispersiva foi então primeiramente proposta por Rezaee e colaboradores (2006). Nesta técnica a rápida injeção de uma mistura de pequeno volume de solvente extrator e de solvente dispersor na amostra aquosa, contida em um tubo, desencadeia a formação de microbolhas, ocasionando a formação de uma solução turva. Assim, a criação de uma grande área superficial entre a fase extratora e a amostra permite que a transferência do analito entre as duas fases ocorra rapidamente. Após a sedimentação da fase extratora a mesma é recolhida para posterior análise.

A transferência do analito da amostra para a fase extratora é possível devido a sua maior afinidade por esta, por conta da semelhança de polaridade entre elas. Tal comportamento pode ser estimado a partir do coeficiente de distribuição do analito, K_D , o qual é uma constante determinada pela quantidade de espécie do analito que se distribui pela fase orgânica, A_{org} , e pela fase aquosa, A_{aq} , de acordo com a equação (1) (HARRIS, 2005).

$$K_D = A_{org} / A_{aq} \quad (1).$$

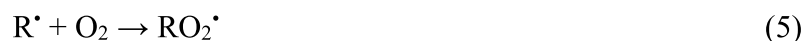
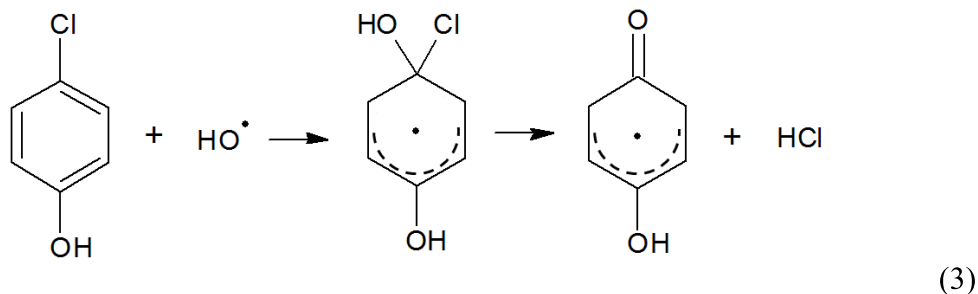
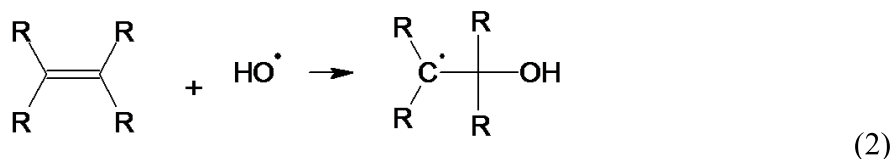
O solvente extrator deve apresentar baixa solubilidade em água e maior densidade que esta, tendo em vista sua separação da fase aquosa ao final do processo, sendo que hidrocarbonetos halogenados são comumente empregados. Por outro lado, o solvente dispersor deve ser miscível tanto no solvente extrator como na amostra. A natureza e a quantidade de solvente extrator e solvente dispersor exercem grande influência sobre os

valores de fator de enriquecimento a serem alcançados por esta técnica, de modo que é importante que tais parâmetros sejam otimizados. Além disso, a presença de sal na amostra e o devido controle de seu pH, também podem ser determinantes para a eficiência de extração do analito alvo (REZAEI, YAMINI, FARAJI, 2010; MARTINS et al. 2012).

2 Processos de Oxidação Avançados (POA)

Os processos de oxidação avançados (POAs) consistem no emprego de espécies com altos valores de potencial de oxidação, principalmente radicais hidroxila, $\bullet\text{OH}$, em meio aquoso, os quais reagem com moléculas de compostos poluentes, decompondo-os e gerando produtos como dióxido de carbono, CO_2 , e água, H_2O (KLAVARIOTI, MANTZAVINOS, KASSINOS, 2009).

Radicais hidroxila, $\bullet\text{OH}$, apresentam um potencial de oxidação de 2,73, e são muito pouco seletivos, reagindo, portanto, com uma grande variedade de compostos. As reações que ocasionam a degradação de compostos orgânicos são: adição de hidroxila, equações (2) e (3), em compostos aromáticos ou com ligações múltiplas, que desencadeiam a formação de radicais orgânicos; abstração de hidrogênio, em que os radicais orgânicos formados, equação (4), reagem com moléculas de oxigênio formando radicais peróxidos, equação (5); e por fim, quando as duas primeiras são desfavorecidas, ou na presença de íons metálicos, ocorre a transferência de elétrons, equações (6) e (7) (HUANG, DONG, TANG, 1993; NOGUEIRA et al. 2007).



Os POAs empregam, de forma isolada ou por combinação, ferramentas como a utilização de agentes oxidantes fortes, principalmente ozônio e peróxido de hidrogênio, catalise a partir semicondutores e íons metálicos, incidência de radiação e emissão feixes de elétrons, para promover a formação de espécies oxidantes. Assim, podem ser classificados sistemas homogêneos ou heterogêneos, sendo que neste último caso são utilizados catalizadores em suspensão ou imobilizados (HUANG, DONG, TANG, 1993).

No POA de ozonização o próprio ozônio, agente oxidante forte, pode atuar diretamente na degradação de compostos poluentes. No entanto devido a seu caráter seletivo, e as baixas cinéticas de reação de decomposição, o principal meio de degradação envolvido nestes processos se deve a sua decomposição em meio à água, formando radicais hidroxila. A geração destes radicais pode ser favorecida pelo aumento dos valores de pH do meio, pela adição de peróxido de hidrogênio e pela incidência de radiação ultravioleta. Além disso, o ozônio é considerado importante agente desinfetante (KLAVARIOTI, MANTZAVINOS, KASSINOS, 2009).

3 METODOLOGIAS

3.1 Materiais

3.1.1 Método espectrofluorimétrico para quantificação de ibuprofeno

Para as medidas realizadas utilizou-se um espectrofluorímetro Varian, modelo Cary[®] Eclipse, bem como cubetas de quartzo de 3,50 mL e 0,70 mL, ambas com caminho óptico de 10 mm. Foram utilizados reagentes padrão ibuprofeno (Sigma-Aldrich, Brasil, 98%), hidróxido de sódio (NaOH) (Sigma-Aldrich, Brasil, 97%) e tampões.

3.1.2 Ozonização

Os reagentes ibuprofeno (Sigma-Aldrich, Brasil, 98%), sulfametoxazol (Sigma-Aldrich, Brasil, 98%) e NaOH (Sigma-Aldrich, Brasil, 97%) utilizados. Foi utilizado um ozonizador Ozone Generator, GL-3189 A. A concentração de 0,52 mg L⁻¹ de ozônio dissolvido em solução foi calculada utilizando a absorvidade molar $\epsilon = 3150 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (SONNTAG, GUNTEN, 2012).

3.1.3 Procedimento de extração líquido-líquido dispersiva (MELLD)

Levando em consideração as características requeridas dos solventes empregados na técnica de MELLD, para o procedimento de proposto neste trabalho foram utilizados diclorometano (Dinâmica, Brasil, 99,5%) e acetona (Pró Químicos, Brasil, 99,5%) como solvente extrator e dispersor, respectivamente.

Empregou-se solução de ácido clorídrico (HCl) (Vetec, Brasil, 37%).

As soluções padrão de ibuprofeno (Sigma-Aldrich, Brasil, 98%) foram preparadas em concentrações apropriadas a partir de soluções estoque de maior concentração, preparadas em meio a NaOH (Sigma-Aldrich, Brasil, 97%) 0,10 mol L⁻¹.

A amostra de água de abastecimento utilizada foi obtida a partir da rede de abastecimento do Laboratório de Espectroscopia e Cromatografia Aplicada, localizado no prédio da Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologias, na Unidade II da Universidade Federal da Grande Dourados.

Ao longo do procedimento de MELLD foram também utilizados tubos de ensaio de vidro e um agitador vórtex (Biomixer, QL-901).

4 Método espectrofluorimétrico para quantificação de ibuprofeno

4.1 Otimização do procedimento

Obteve-se os espectros de emissão e excitação para a determinação dos comprimentos de onda de mais apropriados para a obtenção de dados analíticos.

Para verificar a influência do pH na intensidade de emissão do ibuprofeno, foram preparadas soluções de padrão de ibuprofeno com concentração de $4,20 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, cada uma em meio a uma determinada solução tampão. Foram empregadas soluções tampões com pH 1 (ácido clorídrico/ cloreto de potássio), pH 3 (ácido acético/ácido fosfórico/ácido bórico), pH 5 (acetato de potássio), pH 7 (fosfato de potássio), pH 9 (cloreto de potássio/ ácido bórico) e pH 11 (fosfato dissódico).

4.2 Estimativa de figuras de mérito

Tendo em vista a garantia da segurança e eficácia de um determinado método analítico no cumprimento das finalidades para o qual é proposto, é necessário que o mesmo atenda a determinados parâmetros de confiabilidade, os quais são denominados figuras de mérito. Os procedimentos e interpretação de resultados em torno da estimativa das figuras de mérito para um método analítico constituem um conjunto de ações conhecido como validação. Assim, as figuras de mérito especificidade/seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão, precisão e robustez são parâmetros que devem ser estudados para a validação de um método analítico. Em consonância com órgãos e normas internacionais, no Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Instrumental (INMETRO) fornecerem orientações para a realização de tais estudos. (ANVISA, 2003; INMETRO, 2016).

Neste trabalho foram estimados a linearidade, o LD, o LQ e a precisão para o método espectrofluorimétrico proposto.

4.3 Linearidade, LD e LQ

Foram medidas as intensidades de emissão de soluções de ibuprofeno padrão preparadas com concentrações de $2,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. A partir da relação observada entre o sinal analítico e a concentração do analítico, restringiu-se o intervalo de concentração, tendo em vista a obtenção de uma faixa de trabalho apropriada, que fornecesse uma curva analítica de regressão linear (MILLER, MILLER, 2010).

Após determinadas as concentrações da faixa de trabalho, avaliou-se a variação da sensibilidade do método quando utilizadas cubetas de volumes internos diferentes.

O LD e o LQ foram estimados a partir da curva analítica pelas equações (8) e (9), respectivamente.

$$LD = 3,3 \times s_y / b \quad (8)$$

$$LQ = 10 \times s_y / b \quad (9)$$

Onde:

s_y = desvio padrão do coeficiente linear da curva analítica

b = coeficiente angular da curva analítica

4.4 Precisão

A precisão do procedimento foi calculada em termos de sua repetibilidade e precisão intermediária. Para expressar a repetibilidade, calculou-se o desvio padrão relativo entre os valores de intensidade de emissão de 10 soluções de padrão com concentração de $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A precisão intermediária foi estimada a partir do desvio padrão relativo (DPR) dos valores dos coeficientes angulares de curvas analíticas obtidas em diferentes dias. O DPR foi calculado pela relação entre o desvio padrão (DP) e a média (\bar{x}) dos valores empregados, conforme a equação (10).

$$DPR = (DP / \bar{x}) \times 100 \quad (10)$$

4.5 Método espectrofluorimétrico para a quantificação de sulfametoxazol

O procedimento espectrofluorimétrico empregado para a quantificação do antibiótico sulfametoxazol, desenvolvido em nosso grupo de pesquisa, foi descrito por Barros (2014). O procedimento é baseado na medida da intensidade de emissão de solução de sulfametoxazol em 350 nm, quando excitado em 260 nm e em solução tampão fosfato 0,10 mol L⁻¹ (pH 8,0). A curva analítica obtida variou entre $2,4 \times 10^{-7}$ a $5,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹

4.6 Procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva (MELLD)

Todos os ensaios de extração foram realizados em tubos de ensaio de vidro para um volume de 10,0 mL de solução padrão de ibuprofeno, ao qual foi adicionado determinado volume de solução de HCl, e em seguida os devidos volumes de solvente extrator e solvente dispersor. Após, os tubos de ensaio foram submetidos à agitação vórtex. Quando então separadas as fases aquosa e orgânica, coletou-se esta última. Por fim, o solvente da fase coletada foi evaporado em atmosfera inerte de nitrogênio, após 30 min.

A adição de ácido clorídrico à solução se fez necessária pois o ibuprofeno apresenta a distribuição das espécies protonadas em pH abaixo de 5,1, conforme Figura 2. A espécie protonada presente na solução apresenta um caráter mais apolar. Assim, esta espécie química favorece a partição do ibuprofeno da fase aquosa para a fase orgânica, de caráter também apolar.

A partir dos extratos obtidos das extrações MELLD foram preparadas soluções, utilizando-se solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹ como solvente, as quais tiveram sua intensidade de emissão mensuradas posteriormente.

Todas as etapas empregadas na técnica de DLLME até o preparo de soluções para análise são representadas na Figura 3.

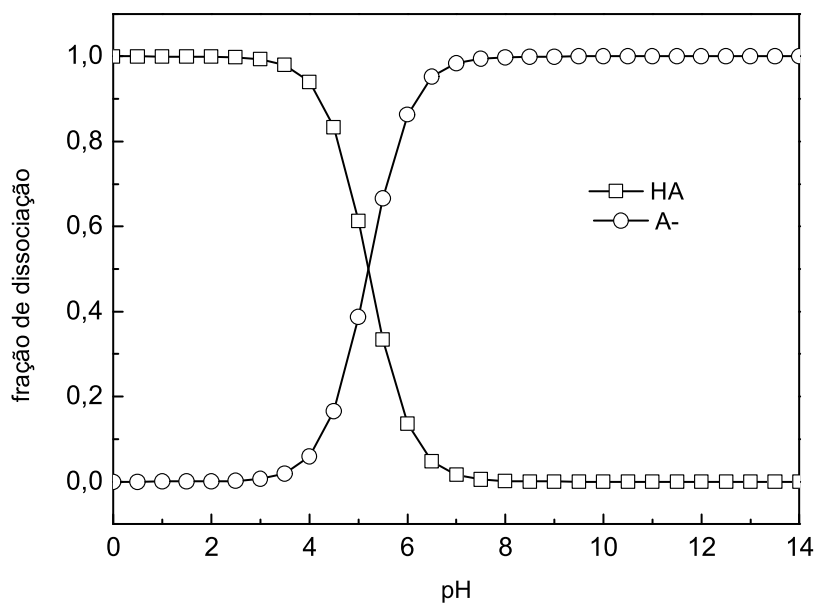


Figura 2. Gráfico da distribuição das espécies (α_0 e α_1) do ibuprofeno de acordo com o pH. HA: ácido protonado; A⁻: ácido desprotonado.

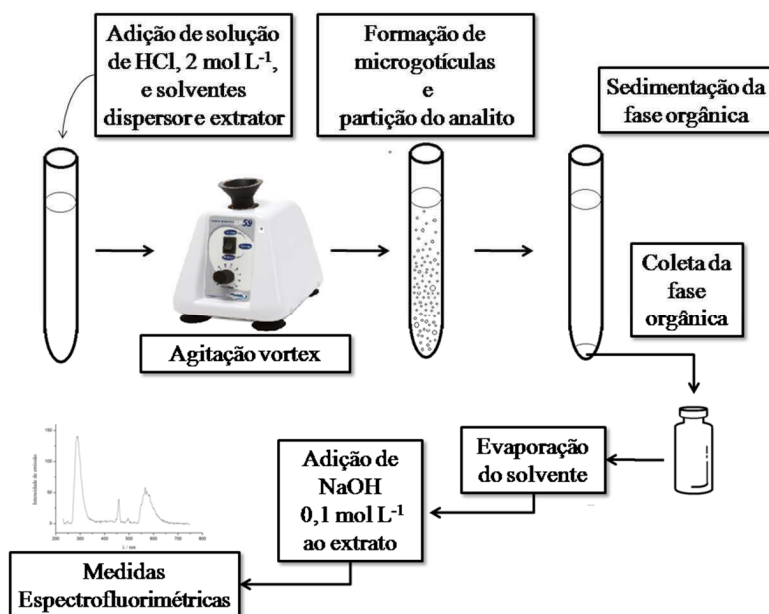


Figura 3. Etapas referentes à técnica de DLLME e posterior preparo de solução para análise.

4.7 Planejamento fatorial

Levando em consideração os diversos fatores que podem influenciar a eficiência deste procedimento, para sua otimização do procedimento realizou-se um planejamento fatorial do tipo 2^3 , em que uma vez que foram avaliadas as influências 3 variáveis em 2 níveis, máximo (+) e mínimo (-). Esta ferramenta nos permite estimar simultaneamente possíveis efeitos tanto individualmente para cada fator, quanto da combinação entre fatores. Para tanto, devem ser realizados experimentos que contemplem todas as possíveis variações de níveis de todos os fatores que estejam sendo controlados (BARROS, SCARMINIO, BRUNS, 2010).

As variáveis estudadas neste trabalho foram: (1) volume de ácido clorídrico $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, (2) volume de solvente extrator, e (3) volume de solvente dispersor.

Foram utilizadas soluções de padrão de ibuprofeno com concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. As condições dos fatores em cada um dos 8 ensaios realizados foram alternadas de acordo com a Tabela 2, levando em consideração os níveis máximos e mínimos da Tabela 3. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Empregou-se um volume de $0,60 \text{ mL}$ de solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ para o preparo das soluções dos extratos obtidos.

Tabela 2. Condições de variação dos fatores para os ensaios realizados no planejamento fatorial 2^3 .

Ensaio	1 (HCl)	2 (diclorometano)	3 (acetona)
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

1 – volume de solução de ácido clorídrico $2,0 \text{ mol L}^{-1}$; 2 – volume de diclorometano; 3 – volume de acetona.

Tabela 3. Níveis máximos e mínimos em que as condições de cada um dos fatores foram avaliadas no planejamento fatorial 2^3 .

Fatores	Máximo (+) / μL	Mínimo (-) / μL
1 (HCl)	1000	500
2 (diclorometano)	500	300
3 (acetona)	1500	1000

1–volume de solução de ácido clorídrico $2,0 \text{ mol L}^{-1}$; 2 – volume de diclorometano; 3 – volume de acetona.

4.8 Cálculo do fator de enriquecimento de ibuprofeno no procedimento MELLD

Empregando as condições estabelecidas a partir da otimização da técnica, procedeu-se uma MELLD, em triplicata, para solução de padrão de ibuprofeno de concentração $9,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, a qual foi extraída 2 vezes. Na sequência, evaporou-se o extrato do solvente do total de fase orgânica das 2 extrações. Ao final, os extratos obtidos de cada replicata foram reconstituídos com um volume de $0,600 \text{ mL}$ de solução de $\text{NaOH } 0,10 \text{ mol L}^{-1}$.

4.9 Pré-concentração de ibuprofeno para amostra de água de abastecimento

Preparou-se uma solução de padrão de ibuprofeno com concentração de $4,60 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ em meio a solução de $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Desta solução, transferiu-se uma alíquota de $10,0 \text{ mL}$ para um balão volumétrico de $50,0 \text{ mL}$ e outra alíquota de $1,0 \text{ mL}$ para outro balão volumétrico de $50,0 \text{ mL}$. Os volumes dos balões foram então completados com água de abastecimento, obtendo soluções de amostra contendo ibuprofeno nas concentrações de $9,20 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $9,20 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ respectivamente. Para cada uma das soluções preparadas empregando-se água de abastecimento realizou-se o procedimento de DLLME em triplicata, nas condições previamente estabelecidas na etapa de otimização, extraindo-se as fases aquosas 2 vezes. E ainda, o mesmo procedimento foi realizado para um volume de $10,0 \text{ mL}$ de água de abastecimento isenta de ibuprofeno.

4.10 Procedimento de ozonização

Preparou-se 100,0 mL de uma solução com concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de ibuprofeno e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH, para que fosse garantida a alcalinidade do meio. Tal solução foi submetida à passagem de fluxo de ozônio. Foram retiradas alíquotas de 0,10 mL de solução, do tempo de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min de ozonização. Foram adicionados a estas alíquotas 0,90 mL de solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ para posterior medida de intensidades de emissão da solução resultante. Foram ainda obtidas as matrizes de emissão e excitação para as soluções obtidas nos tempos de 0, 5 e 30 min.

Para fins comparativos, preparou-se 100,0 mL de uma solução com concentração de sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e NaOH $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a qual foi submetida à passagem do fluxo de ozônio. Foram retiradas alíquotas de 1,0 mL de solução, do tempo de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min de ozonização, para posterior medida de suas intensidades de emissão. Foram ainda obtidas as matrizes de emissão e excitação para as soluções obtidas nos tempos de 0, 10 e 30 min.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Método espectrofluorimétrico para quantificação de ibuprofeno

5.1.1 Otimização do procedimento

Com base nos picos de emissão dos espectros de excitação e emissão apresentados na Figura 4, selecionou-se o comprimento de onda de 226 nm para a excitação. Enquanto isto, os dados de intensidade de emissão foram obtidos em 285 nm.

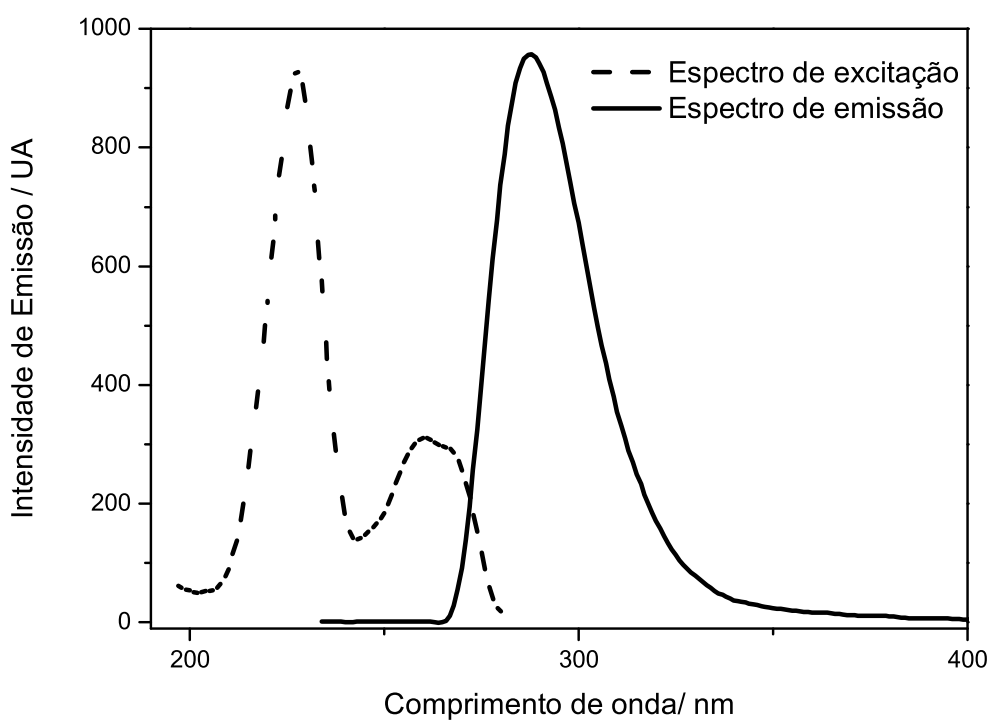


Figura 4. Espectros de excitação e emissão de uma solução de ibuprofeno $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ em meio a solução de hidróxido de sódio a 0,10 mol L⁻¹. Fendas de excitação e emissão = 5 nm (ambas).

Na sequência, avaliou-se o efeito do pH da solução na emissão de uma solução de ibuprofeno $4,2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Conforme a representação da Figura 5, foi possível verificar que

em valores de pH acima de 7,0, quando o ibuprofeno desprotonado é predominante, ocasionando um aumento da intensidade de emissão. Sendo assim, determinou-se a utilização de solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹ como solvente para a quantificação de ibuprofeno no procedimento proposto.

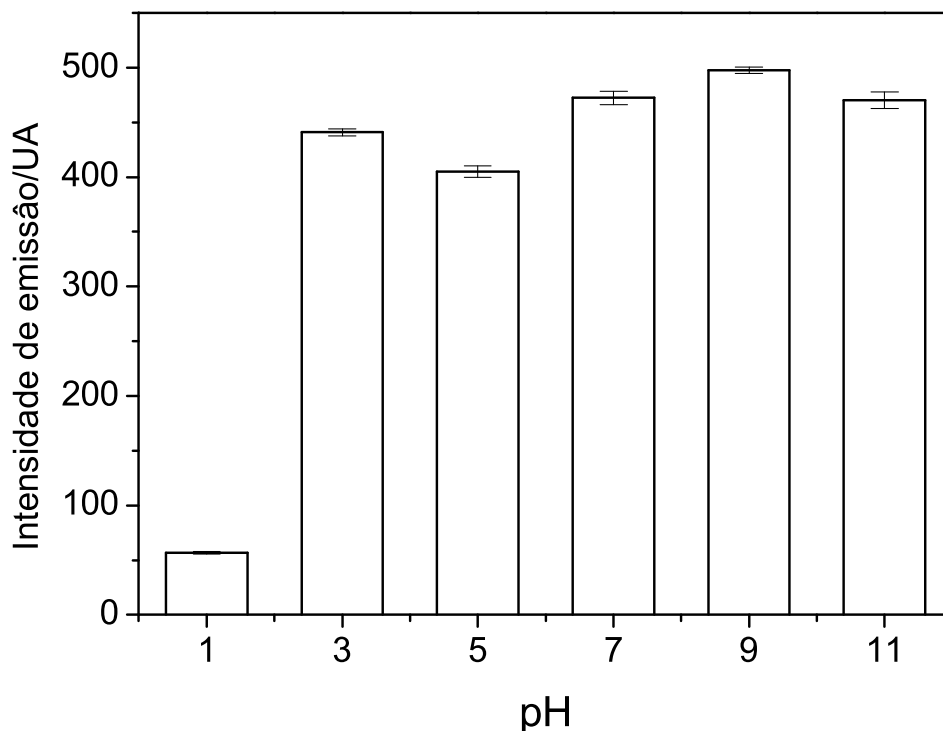


Figura 5. Efeito da variação do pH na emissão de uma solução padrão de ibuprofeno $4,2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em 285 nm. $\lambda_{\text{excitação}}=226$ nm; fendas de excitação e emissão=5 nm (ambas).

5.1.2 Linearidade, faixa de trabalho, LD e LQ

A variação da intensidade de emissão em função da variação de concentração de ibuprofeno ao longo do intervalo de concentração de $2,5 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ é ilustrado na Figura 6. A curva obtida nesta faixa de concentração apresenta um comportamento polinomial com baixa correlação ($r < 0,9$). Verifica-se nos dados apresentados uma correlação linear entre sinal de emissão e concentração de ibuprofeno para concentrações abaixo de 5×10^{-4} mol L⁻¹.

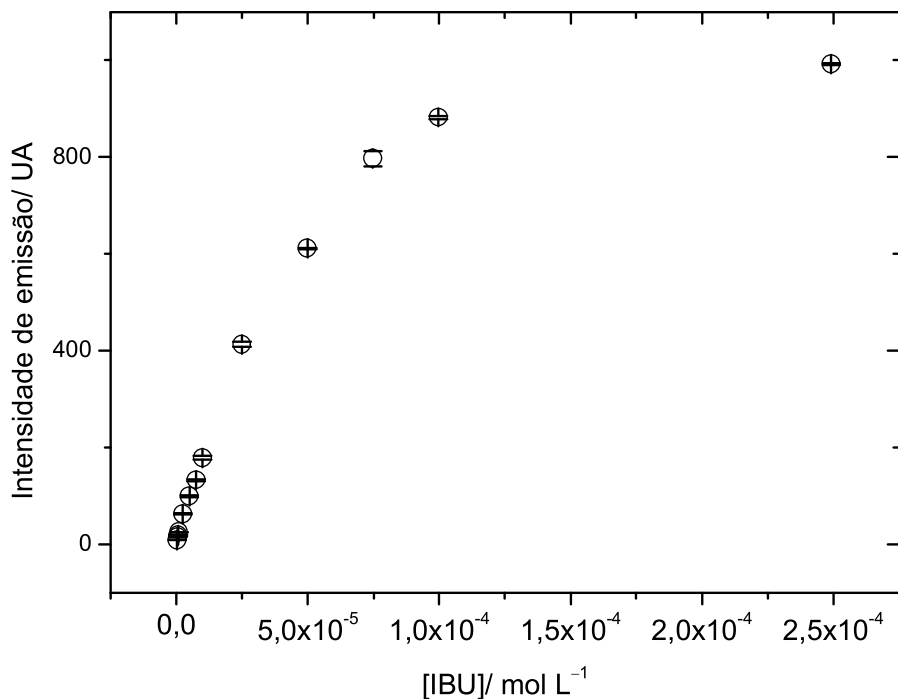


Figura 6. Intensidades de emissão de soluções de padrão de ibuprofeno no intervalo de concentração de $2,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Utilizando uma cubeta de quartzo de volume interno de 3,5 mL, a curva analítica foi então avaliada na faixa de concentração entre $5,8 \times 10^{-6}$ a $1,95 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Assim, foi possível obter uma regressão linear, conforme podemos verificar na Figura 7 que pode ser descrita pela equação (11), com coeficiente de regressão (r) igual a 0,9992 e desvio padrão da curva analítica (s_y) encontrado foi de 3,68. Foram obtidos um LD de $8,07 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e um LQ de $2,90 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. O gráfico de resíduos está apresentado na Figura 8 e apresenta a distribuição dos resíduos ao redor da reta da curva analítica. Verifica-se que os resíduos na faixa de concentração estudada são menores que $2 \times s_y$, indicando que não existe outliers nesta faixa estudada (MILLER, MILLER, 2010)

$$I = 1,31 \times 10^7 (\pm 1,7 \times 10^5) \times [\text{IBU}] + 22,87 (\pm 2,29) \quad (11)$$

Onde:

I = intensidade de emissão obtida em 285 nm

$[\text{IBU}]$ = concentração de ibuprofeno em mol L^{-1} .

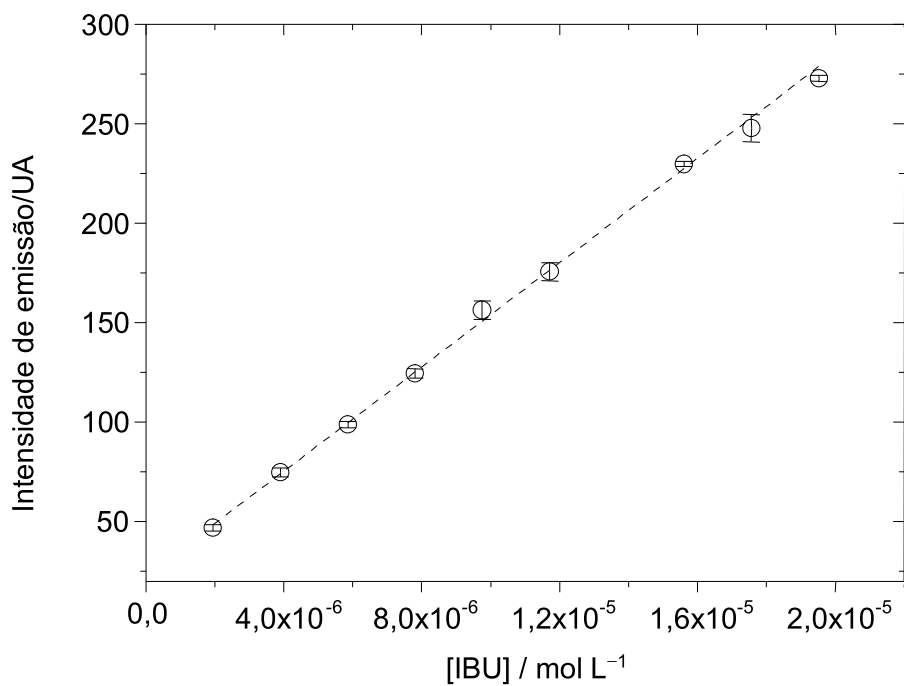


Figura 7. Curva analítica para a determinação de ibuprofeno empregando procedimento espectrofluorimétrico.

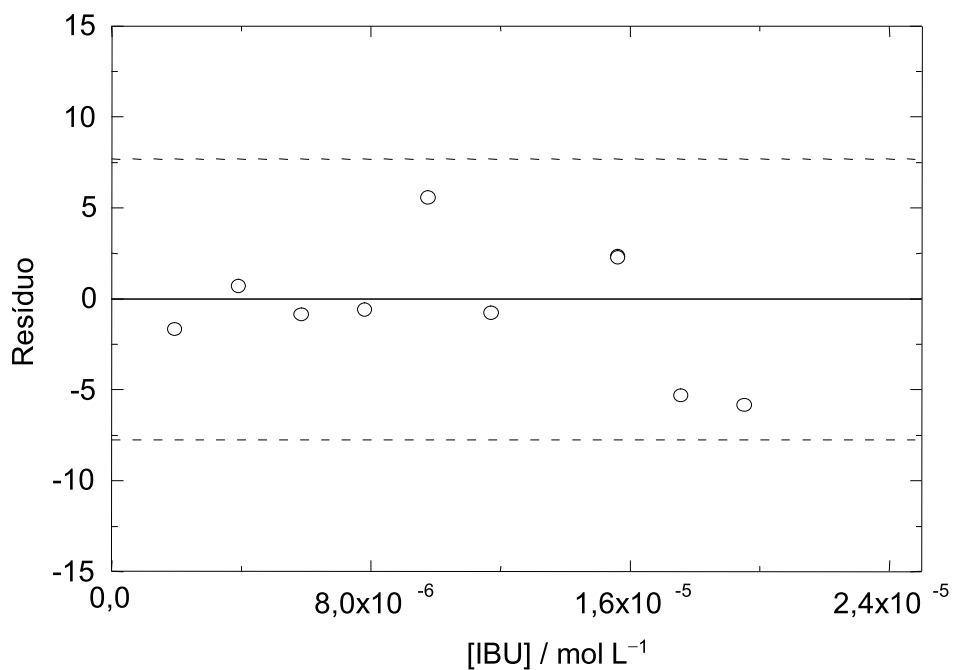


Figura 8. Gráfico dos resíduos dos dados utilizados para a construção da curva analítica (a linha tracejada indica o limite aceitável de variação dos resíduos).

Por outro lado, empregando uma cubeta de quartzo de 0,7 mL de volume interno a curva analítica foi avaliada entre $1,58 \times 10^{-6}$ e $1,73 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. A reta obtida, com coeficiente de regressão (r) de 0,998, é apresentada na Figura 9 e pode ser descrita pela equação (12), onde I é a intensidade de emissão obtida em 285 nm e [IBU] é a concentração de ibuprofeno em mol L⁻¹. O LD e o LQ obtidos foram de $8,77 \times 10^{-7}$ e $2,92 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, respectivamente. O desvio padrão da curva analítica (s_y) obtido foi de 0,95. Pode-se verificar que os resíduos encontrados se encontram dentro da faixa aceitável de $2 \times s_y$ (MILLER, MILLER, 2010).

$$I = 3,39 \times 10^6 (\pm 7,3 \times 10^4) \times [\text{IBU}] - 1,64 (\pm 0,88) \quad (12)$$

Onde:

I = intensidade de emissão obtida em 285 nm

[IBU] = concentração de ibuprofeno em mol L⁻¹

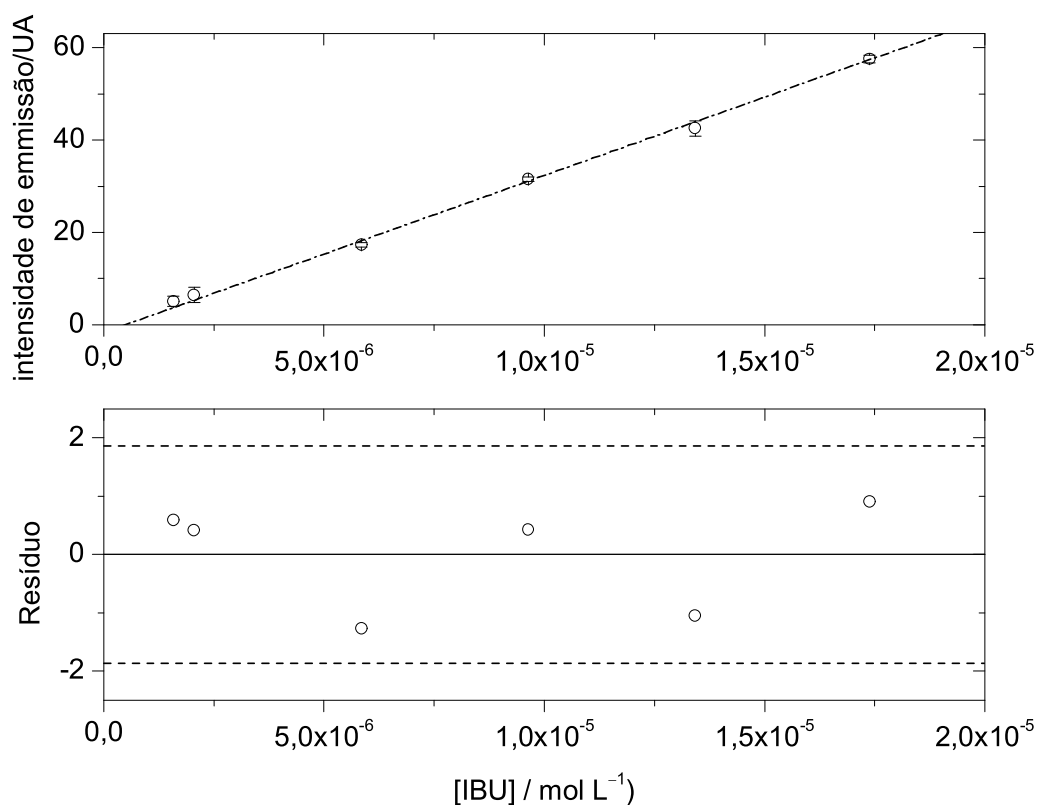


Figura 9. (a) Curva analítica para a determinação de ibuprofeno empregando espectrofluorimetria; (b) gráfico dos resíduos dos dados utilizados para a construção da curva analítica (a linha tracejada indica o limite aceitável de variação dos resíduos).

Podemos observar que o coeficiente angular da equação (12) é inferior àquele da equação (11) ($p < 0,05$). Isto se deve provavelmente ao espalhamento da radiação devido a maior espessura das paredes da cubeta de 0,7 mL de volume interno. Ainda assim, é pertinente o uso da cubeta com volume interno de 0,70 mL, em função da menor demanda de solução para análise, o que permite a redução do consumo de solvente e de amostra, no caso da extração MELLD. Além disso, o uso da cubeta de menor volume interno possibilita o aumento do fator de pré-concentração para procedimento de preparo de amostra.

Verifica-se também que o coeficiente linear da equação (12) é significativamente diferente da origem (graus de liberdade=4; $p=0,007$; $t_{\text{calculado}}=-4,16$; $t_{\text{crítico, 90\%}}=3,74$), indicando certa intensidade de erro aleatório no procedimento obtido.

A linearidade da curva analítica foi confirmada avaliando-se a sensibilidade em cada concentração empregada para a obtenção da curva e apresentada na Figura 10. Pode-se verificar que a sensibilidade varia de acordo com a concentração de ibuprofeno, mas a variação apresentada se encontra dentro de uma faixa aceitável.

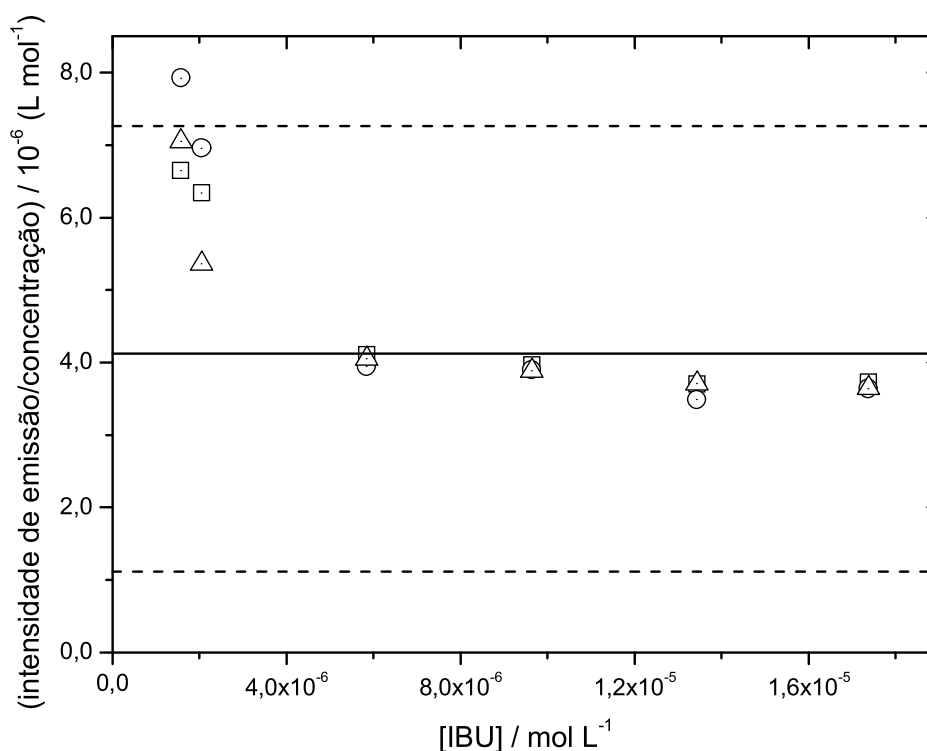


Figura 10. Estudo da variação da sensibilidade na faixa de concentração de ibuprofeno empregada para a obtenção da curva analítica.

5.1.3 Precisão

Um desvio padrão relativo de 2,9% foi obtido a partir valores de intensidade de emissão das soluções padrão de ibuprofeno $2,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ preparadas em mesmas condições em um mesmo dia (n=10), atestando a repetibilidade do procedimento.

A Tabela 4 apresenta os coeficientes angulares e lineares, com seus respectivos desvios padrão, e também o coeficiente de regressão linear das equações obtidas a partir de curvas analíticas realizadas em diferentes dias. O desvio padrão relativo calculado para os valores de coeficiente angular foi de 12,3%, indicando a boa precisão intermediária. Verifica-se que não há diferença estatística entre as curvas analíticas obtidas nos dias 1 e 2 a um nível de confiança de 95% (p=0,100). Verifica-se também que não há diferença significativa entre as curvas obtidas entre os dias 2 e 3.

Tabela 4. Equações de regressão de curvas analíticas obtidas em diferentes dias (volume de 0,70 mL).

Dia	Coefficiente angular	Coefficiente linear	r
1	$3,78495 \times 10^6 (\pm 5,97 \times 10^5)$	6,90 ($\pm 2,01$)	0,992
2	$3,39368 \times 10^6 (\pm 3,47 \times 10^5)$	4,65 ($\pm 0,88$)	0,998
3	$2,95677 \times 10^6 (\pm 1,77 \times 10^5)$	6,22 ($\pm 0,82$)	0,999

IC = $s_y \times t_{\text{crítico}}$; g.l=6; p=0,01; t=3,71.

5.2 Procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva (MELLD)

5.2.1 Planejamento fatorial

O planejamento fatorial foi elaborado para a determinação do ibuprofeno baseado na emissão intrínseca em 285 nm, quando excitado em 226 nm. Inicialmente foi realizado um planejamento fatorial completo para avaliar três variáveis: Volume de HCl (μL), Volume de diclorometano (μL) e Volume de acetona (μL).

Os experimentos foram efetuados de forma aleatória para evitar erros sistemáticos e a resposta monitorada foi a intensidade de emissão do extrato da MELLD reconstituído com solução de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. A Tabela 5 apresenta os fatores estudados e seus respectivos níveis, bem como as respostas obtidas em duplicata.

Tabela 5. Matriz de planejamento 2^3 com os níveis dos fatores avaliados na extração de ibuprofeno empregando MELLD.

Fatores		-	+
1:	Volume de HCl (μL)	500	1000
2:	Volume de diclorometano (μL)	300	500
3:	Volume de acetona (μL)	1000	1500

Ensaio	1	2	3	Resposta		Média
1	-	-	-	86,45	61,18	73,81
2	+	-	-	117,08	143,12	130,10
3	-	+	-	34,17	15,03	24,60
4	+	+	-	222,14	256,59	239,36
5	-	-	+	26,25	19,45	22,85
6	+	-	+	11,60	8,41	10,00
7	-	+	+	11,67	16,16	13,91
8	+	+	+	224,07	212,59	218,33

Resposta: intensidade de emissão em 285 nm, quando excitado em 226 nm.

A partir da matriz de planejamento e dos resultados dos experimentos obtidos de maneira aleatória mostrados na Tabela 5. Matriz de planejamento 2^3 com os níveis dos fatores avaliados na extração de ibuprofeno empregando MELLD., podemos obter a tabela com os coeficientes de contrastes, obtendo-se assim os três efeitos principais 1 (volume do HCl), 2

(volume extrator) e 3(volume do dispersor). Ainda, podemos obter três interações de dois fatores 12, 13 e 23, bem como o efeito de interação entre os três fatores avaliados 123, como apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Efeitos principais dos ensaios para extração de ibuprofeno empregando MELLD.

Média	91,62 ± 3,46
Efeitos principais:	
1	115,65 ± 6,93
2	64,86 ± 6,93
3	-50,69 ± 6,93
Interação entre dois fatores	
12	93,93 ± 6,93
13	-19,87 ± 6,93
23	34,83 ± 6,93
Interação entre três fatores	
123	14,69 ± 6,93

Os resultados obtidos no planejamento fatorial 2^3 mostraram que as variáveis volume de HCl (μL) e volume de diclorometano (μL) e a interação entre eles apresentaram maiores efeitos ao nível de confiança de 95%. Já o efeito volume de acetona (μL) apresentou efeito principal ou de interação menos significativos, conforme verificado no gráfico de Pareto apresentado na Figura 11

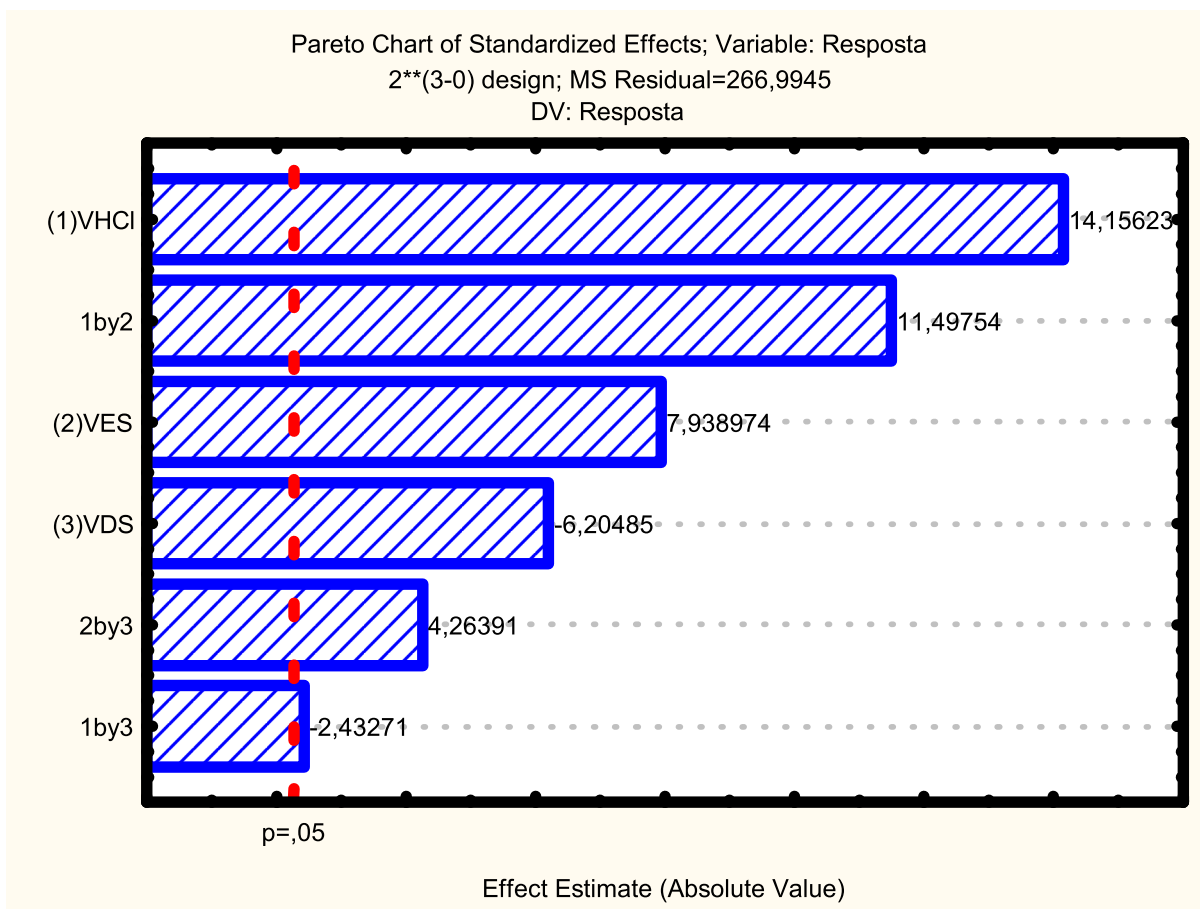


Figura 11. Gráfico de Pareto indicado os efeitos das variáveis avaliadas no processo de extração MELLD para a determinação e ibuprofeno.

Os dados deste planejamento foram submetidos à análise de variância (ANOVA), mostrando que o modelo utilizado para análise da intensidade de emissão do ibuprofeno extraído para o solvente apresentou bom ajuste. Isto pode ser verificado pela média quadrática da regressão que foi de 192,38 e resultou em um coeficiente de correlação, $r^2=0,9876$.

Assim foi possível obter uma equação ajustada, equação (13), de segunda ordem que rege o modelo,

$$Y=b_0 + b_1 \times V_{HCl} + b_2 \times V_{ES} + b_3 \times V_{HCl} \times V_{ES} \quad (13)$$

Onde Y é a intensidade de emissão em 283 nm e b_i são os coeficientes de interação calculados do volume de HCl e volume de solvente extrator e $V_{HCl} \times V_{ES}$ é a interação entre os dois parâmetros.

Assim foi possível obter a equação ajustada, equação (14), que rege o modelo:

$$Y = 91,62 (\pm 3,46) + 115,65 (\pm 6,93) \times x_1 + (64,86 \pm 6,93) \times x_2 + (93,93 \pm 6,93) \times x_1 \times x_2 \quad (14)$$

Com a equação (14) construiu-se um gráfico de contorno apresentado na Figura 12.

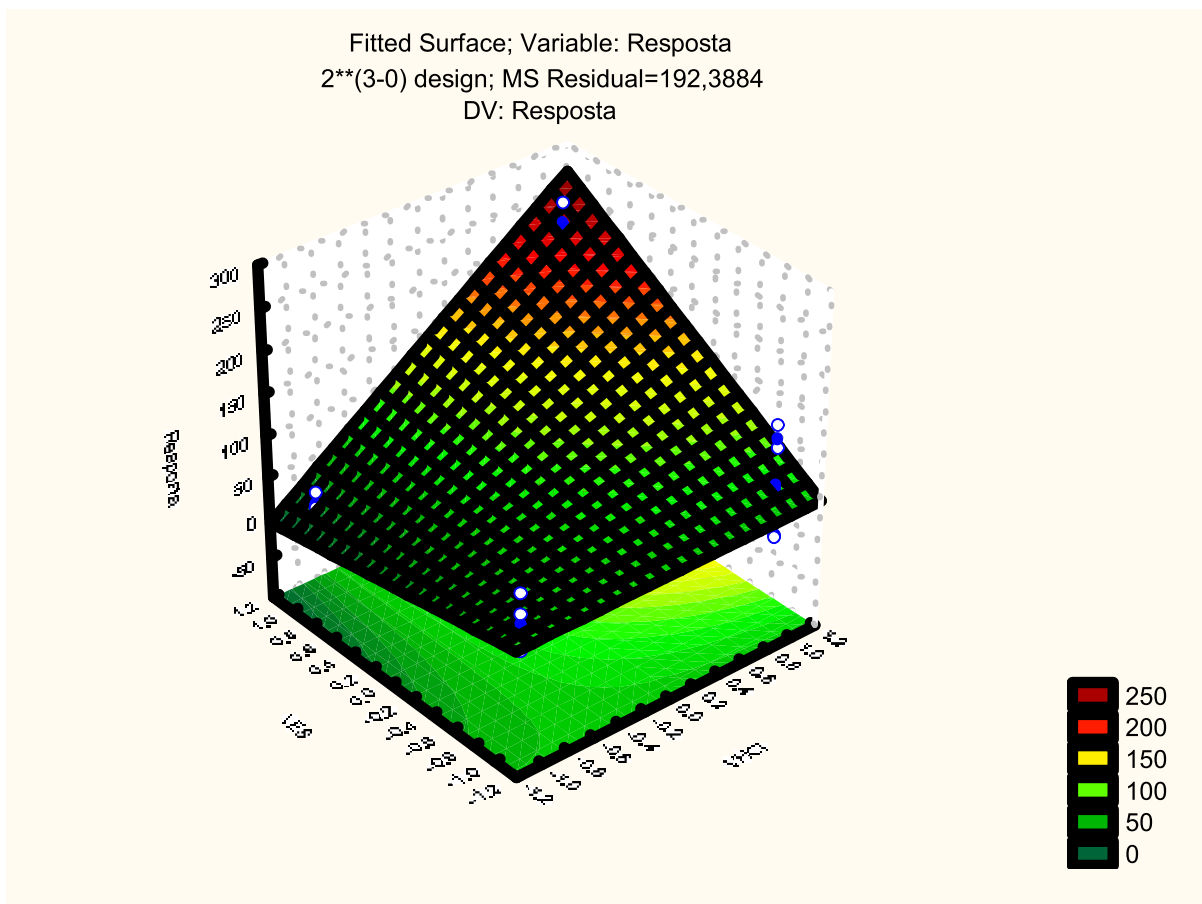


Figura 12. Gráfico de contorno obtido para a otimização das variáveis avaliadas na otimização do procedimento MELLD para a quantificação de ibuprofeno. Variância explicada de 98,76%.

Com a ajuda da equação (14) e da Figura 12 podemos identificar uma região na qual ocorre maior transferência do ibuprofeno da solução aquosa para o solvente, encontrando como melhores parâmetros o maior nível de volume de HCl (VHCl) de 1000 μ L, maior volume de solvente extrator (VES) 500 μ L e menor nível de volume do solvente dispersor (VDS) que é de 1000 μ L.

Desta maneira, estabeleceu-se os parâmetros de 1000 μ L de solução de HCl, 500 μ L de solução de diclorometano e 1000 μ L de acetona para a extração de ibuprofeno de cerca de 10,0 mL de solução de amostra.

5.2.2 Avaliação do fator de enriquecimento de ibuprofeno empregando o procedimento MELLD otimizado

A Tabela 7 apresenta a porcentagem ibuprofeno recuperada a partir de uma solução padrão $9,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ($0,186 \text{ } \mu\text{g/mL}$) empregando o procedimento de microextração líquido-líquido proposto. Os valores sugerem elevada capacidade de pré-concentração do analito com precisão adequada para o nível de concentração avaliado. Vale ressaltar, entretanto, que aspectos referentes ao manuseio do procedimento precisam ser aprimorados para garantir sua repetibilidade. Foi possível então pré-concentrar a solução final, aumentando 16,5 vezes sua concentração.

Tabela 7. Estudo da eficiência de pré-concentração de ibuprofeno.

Replicata	Intensidade de emissão	Concentração encontrada / mol L^{-1}	DPR/%	% extraída
1	46,8691	$1,37 \times 10^{-5}$	8,8	92,4
2	35,6476	$9,95 \times 10^{-6}$	8,6	66,9
3	39,3186	$1,12 \times 10^{-5}$	2,3	75,3

[IBU]= $1,49 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($3,07 \text{ } \mu\text{g/mL}$)

Comparou-se os resultados obtidos com alguns procedimentos empregados para a determinação de ibuprofeno empregando métodos cromatográficos, como mostrado na Tabela 8. Verifica-se que o procedimento proposto apresenta um fator de enriquecimento semelhante aos descritos, mas com maior LD.

Tabela 8. Comparação do procedimento desenvolvido com procedimentos de extração líquido-líquido e detecção por métodos cromatográficos.

ibuprofeno	Coefficiente de enriquecimento	DPR%	Referências
0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$	96%	15%	
0,7 $\mu\text{g L}^{-1}$	98%	6 %	JIMENEZ (2013)
2,3 $\mu\text{g L}^{-1}$	103%	11%	
0,5 – 500 $\mu\text{g L}^{-1}$	99%	ni	BEIRAGHI, et al. (2014)
50 $\mu\text{g L}^{-1}$	75%	ni	MADIKIZELA e CHIMUKA (2016)
185 $\mu\text{g L}^{-1}$	67 – 99%	8%	Proposto

ni=não informado.

5.2.3 Extração de ibuprofeno em amostra de água de abastecimento

Soluções com concentrações de $1,53 \times 10^{-6}$ e $1,53 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ foram obtidas pela adição de alíquotas de solução padrão de ibuprofeno em amostra de água. Na Figura 13 são apresentados os espectros de emissão das soluções dos extratos do procedimento de MELLD, tanto da amostra isenta de adição de padrão, quanto da amostra contendo a adição de ibuprofeno na concentração de $1,53 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

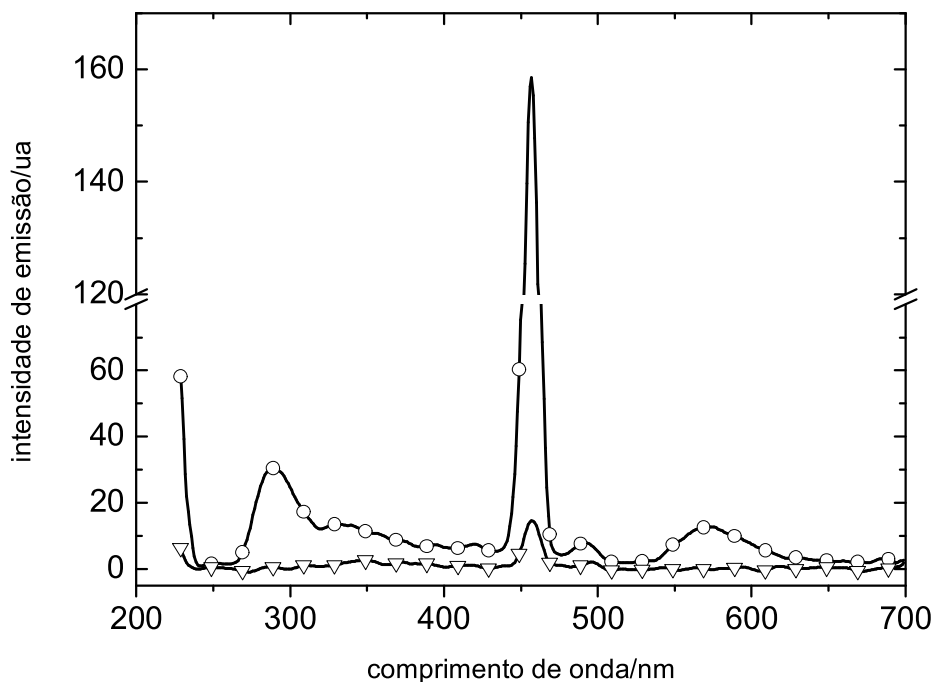


Figura 13. Espectros de emissão do estudo de microextração de solução padrão de ibuprofeno $1,53 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ adicionada em amostra de água de abastecimento (∇ : água de abastecimento sem adição de padrão; \circ : solução obtida com a extração MELLD). $\lambda_{\text{excitação}}=226 \text{ nm}$; fendas de excitação e emissão=5 nm (ambas).

As recuperações de ibuprofeno adicionados na amostra de água de abastecimento estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Estudo de recuperação de ibuprofeno em amostra de água de abastecimento utilizando o procedimento de MELLD e espectrofluorimétrico propostos.

Adicionado/ mol L⁻¹	Encontrado/ mol L⁻¹	Recuperação/%
$1,53 \times 10^{-6}$	$1,06 \times 10^{-6} \pm 9,60 \times 10^{-7}$	69,2
$1,53 \times 10^{-5}$	$7,00 \times 10^{-6} \pm 2,00 \times 10^{-6}$	45,7

Média \pm desvio padrão, n=4.

Podemos verificar na Tabela 9 que os valores encontrados não apresentaram diferença significativa ao nível de 95% de confiança (graus de liberdade= 3; $p=0,399$; $t=-0,97$) para a adição de $1,53 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ de solução padrão de ibuprofeno e recuperação média de 69,2%. Para a adição de uma concentração de $1,53 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ verificamos uma diferença significativa ao nível de confiança de 95% confiança (graus de liberdade= 3; $p=0,003$; $t=-0,83$) com uma recuperação média de 45,7 %. Desta maneira recomenda-se a extração de ibuprofeno empregando-se concentrações próximas ao LQ do procedimento.

5.3 Monitoramento da degradação por ozonólise do ibuprofeno empregando a espectrofluorimetria de emissão molecular

Na Figura 14 são apresentados os espectros de emissão da solução padrão de ibuprofeno submetida a ozonólise. Pode se verificar as bandas de emissão em 285 nm e 570 nm características do ibuprofeno. A banda em 485 nm refere-se a banda da água obtida devido ao fato do filtro de emissão do aparelho estar aberto.

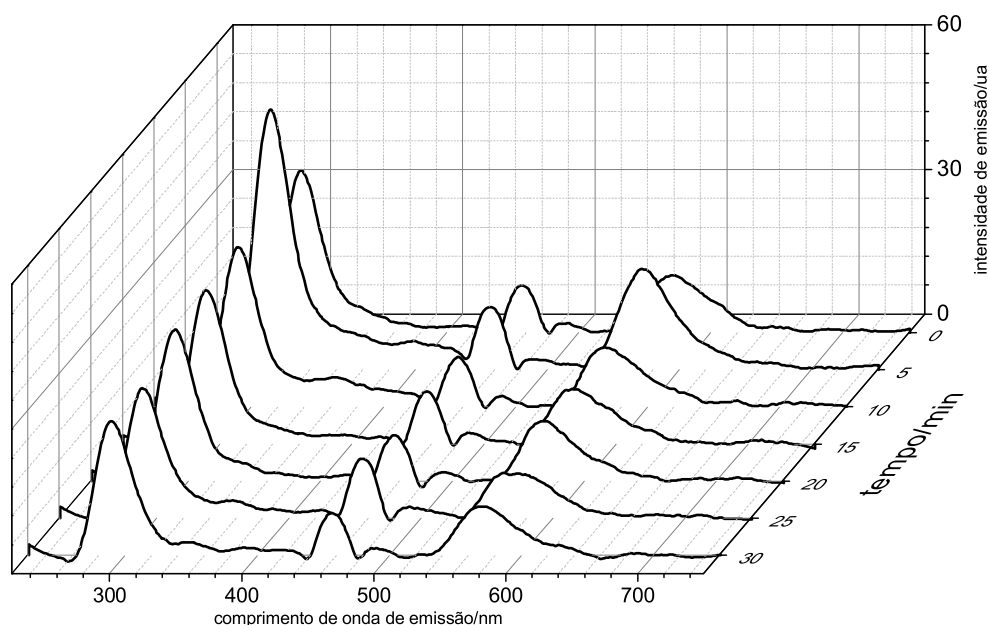


Figura 14 Espectros de emissão de solução padrão de ibuprofeno $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ submetidas a ozonólise. Os espectros foram obtidos nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min de exposição. $\lambda_{\text{excitação}}=226$ nm. Fenda de excitação e emissão = 5 nm (ambas); $[\text{O}_3]=0,52 \pm 0,04$ mg L⁻¹.

No período de ozonização verifica-se pouca alteração do perfil do espectro de emissão da solução padrão de ibuprofeno. Ocorre um aumento significativo na emissão da solução no tempo de 5 min de ozonização, mas verifica-se uma tendência na diminuição da intensidade de emissão após 30 min de ozonização. Ocorre uma diminuição de apenas 18% do sinal da intensidade de emissão monitorada em 284 nm durante o período. Desta maneira, o procedimento espectrofluorimétrico para quantificação de ibuprofeno otimizado não é

adequado para a avaliação da degradação de ibuprofeno envolvendo ozonólise, pois não se consegue identificar os diferentes produtos formados, que apresentam eficiência quântica semelhante ao da molécula de ibuprofeno.

Quero-Pastor et al. (2014) concluíram em seus estudos sobre a degradação do ibuprofeno empregando ozonólise que a reação com o ozônio não produz a mineralização da substância, pois no período estudado o teor de carbono orgânico total não varia consideravelmente. Contudo, verificou-se a formação de hidróxi-ibuprofeno e carbóxi-ibuprofeno como metabólitos intermediários, que são comumente encontrados em efluentes e águas naturais. O comportamento verificado na Figura 14, se deve provavelmente a formação destes intermediários que apresentem maior eficiência quântica (ϕ) de emissão que o ibuprofeno. Entretanto, com a continuidade do processo de ozonização é ocasionada uma leve diminuição branda da intensidade de emissão durante todo o processo (30 min). Na Figura 15 pode-se verificar que não ocorre aparecimento de bandas diferentes daquelas originadas pelo ibuprofeno, indicando que as substâncias intermediárias apresentam comportamento espectroscópico semelhante ao do ibuprofeno intacto.

Desta maneira, o procedimento espectrofluorimétrico para quantificação de ibuprofeno otimizado não é adequado para a avaliação da degradação de ibuprofeno envolvendo ozonólise, pois não se consegue identificar os diferentes produtos formados, que apresentam eficiência quântica semelhante ao da molécula de ibuprofeno.

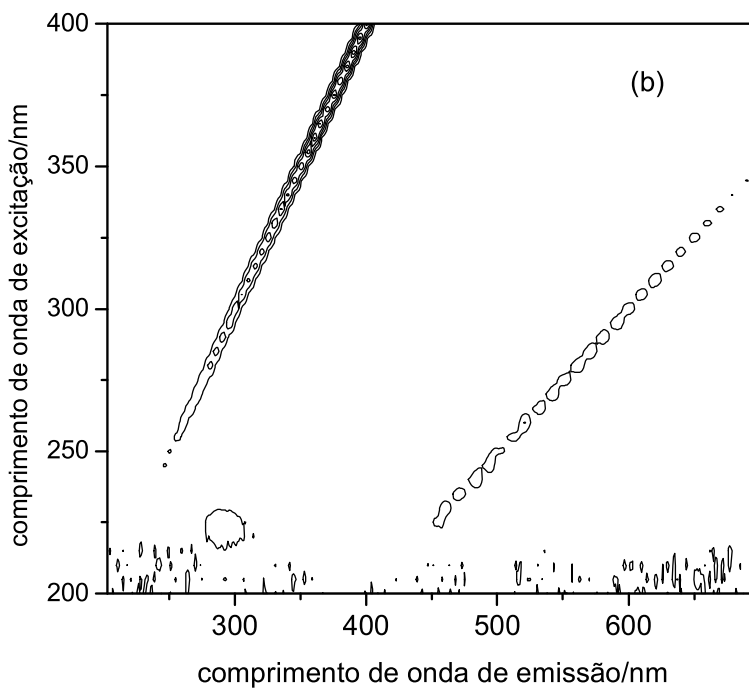
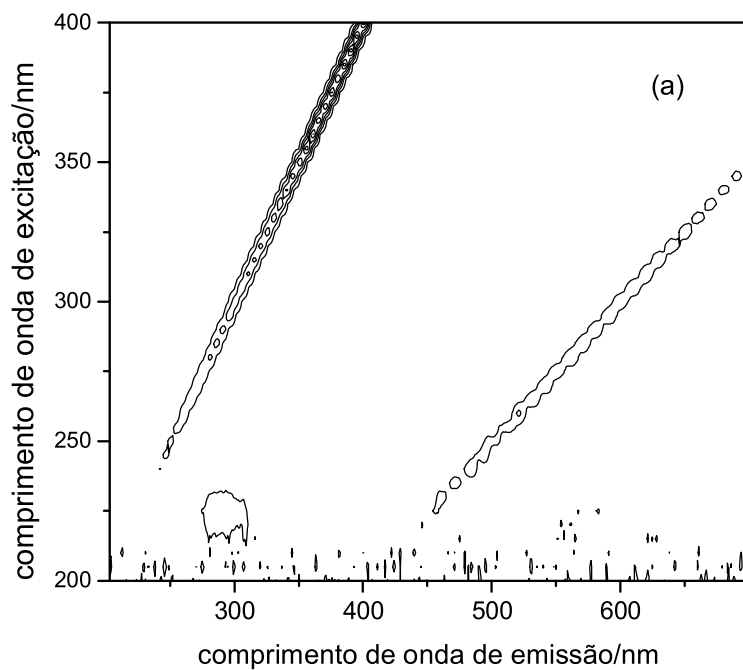


Figura 15. Gráfico de contorno de uma solução padrão de ibuprofeno submetida ao processo de ozonização. (a) tempo = 0 min e (b) tempo = 30 min de ozonização. $[O_3] = 0,52 \pm 0,04 \text{ mg L}^{-1}$.

5.4 Monitoramento da degradação do sulfametoxazol empregando a espectrofluorimetria de emissão molecular

Neste trabalho, para avaliação da eficiência da degradação do ibuprofeno na degradação por ozonólise, realizou-se a degradação do antibiótico sulfametoxazol por ozonólise para comparação dos resultados. Na Figura 16 são apresentados os espectros de emissão da solução padrão de sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ submetida ao processo de ozonólise obtidos nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min.

Podemos verificar nos espectros da Figura 16 que, após os 10 min iniciais, verifica-se uma queda acentuada da intensidade de emissão da banda em 350 nm, referente à emissão do sulfametoxazol. Este fato indica o consumo do antibiótico devido à reação com O₃ em solução. Ao final de 30 min de ozonização, verifica-se uma queda de 80% da banda de emissão, indicando uma diminuição acentuada da concentração de sulfametoxazol inicial. Estes dados concordam com os experimentos de Dantas et al. (2008), que verificaram uma queda na concentração de sulfametoxazol nos 30 min iniciais, mas sem a perda da matéria orgânica total da solução, indicando pouca mineralização. Segundo estes autores, após 60 min apenas 18% do carbono orgânico total foi removido.

Beltan et al. (2008) também avaliaram a decomposição do sulfametoxazol empregando O₃ como agente oxidante. Neste trabalho, observaram a decomposição do antibiótico em 20 min, com perda de 10% do carbono orgânico total. Este fato se deve a formação de intermediários como ácidos oxálico e maléico, os quais não reagem com ozônio e não apresentam características espectroscópicas na faixa avaliada.

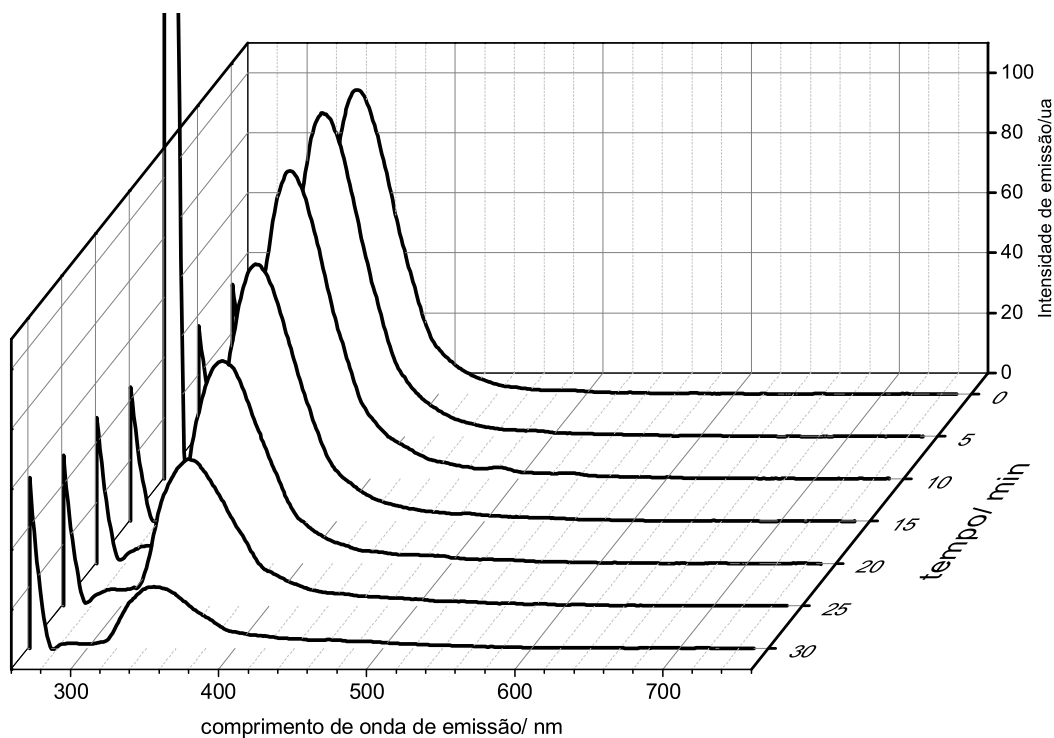


Figura 16. Espectros de emissão de solução padrão de sulfametoxazol $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ exposto a ozonólise e obtidos nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min. $\lambda_{\text{excitação}}=260 \text{ nm}$; fenda de excitação = 5 nm; fenda de emissão= 10 nm. $[\text{O}_3] = 0,52 \pm 0,04 \text{ mg/L}$.

No caso do emprego do procedimento espectrofluorimétrico para monitoramento da degradação de sulfametoxazol utilizando ozônio, foi possível acompanhar a decomposição da substância, pois os intermediários formados nos processos de ozonização não apresentaram características espectroscópicas na faixa avaliada, como pode ser verificado na Figura 17. Nesta figura, verifica-se que não ocorre o aparecimento de bandas diferentes daquela originada pela presença de sulfametoxazol, ocorrendo apenas a diminuição da intensidade da banda.

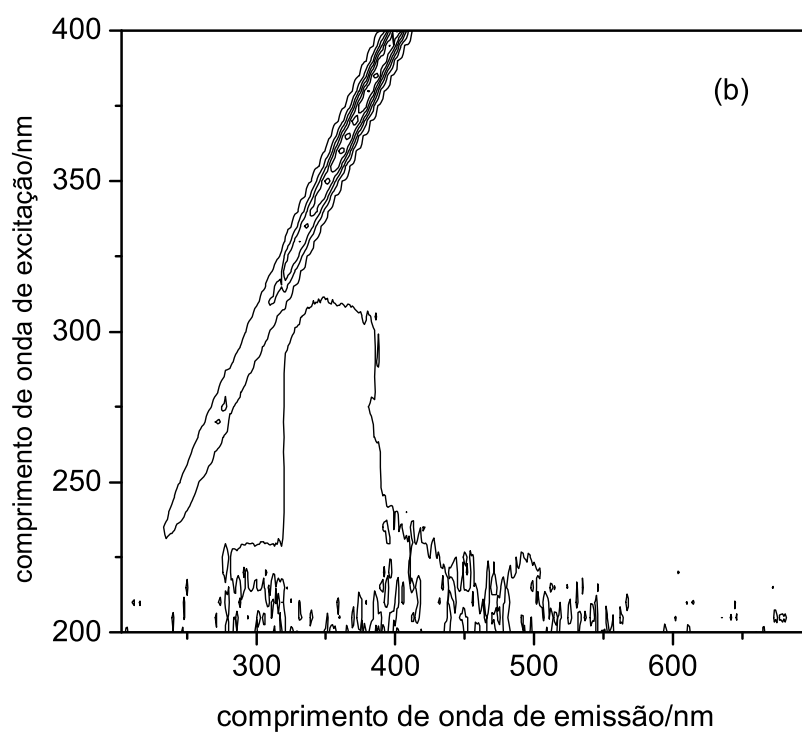
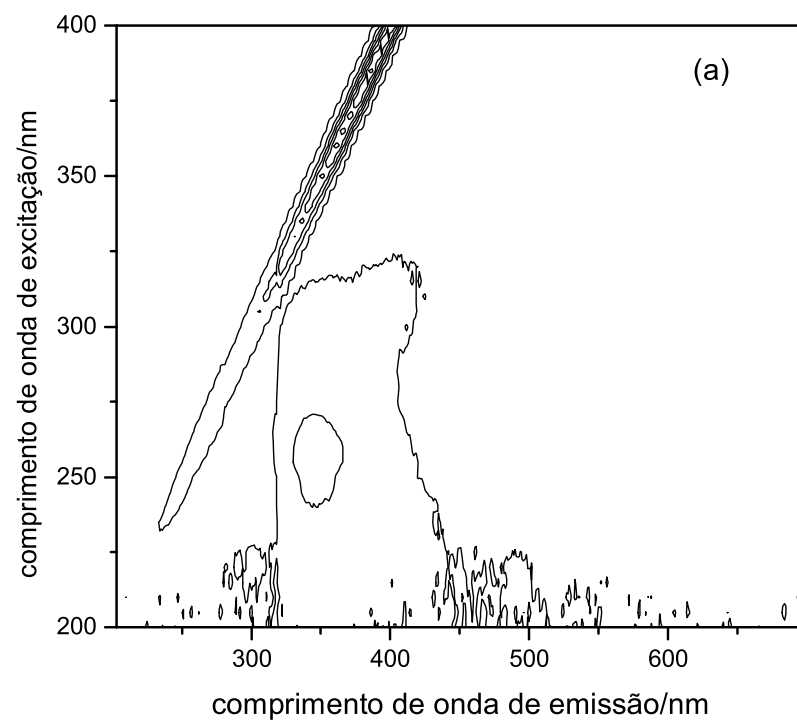


Figura 17. Gráfico de contorno da solução de sulfametoxazol submetido ao processo de ozonização. (a) tempo = 0 min e (b) tempo = 30 min. $[O_3] = 0,52 \pm 0,04$ mg/L.

6 CONCLUSÃO

A partir do estudo das figuras de mérito para o método espectrofluorimétrico proposto verificou-se sua potencialidade para a quantificação, uma vez que o mesmo apresentou linearidade satisfatória, boa sensibilidade e repetibilidade. Vale ressaltar que a utilização de uma cubeta de 0,7 mL tanto não compromete, como permite a redução do consumo de matéria prima e viabiliza o uso da técnica de pré-concentração empregada neste estudo.

O planejamento fatorial realizado para a otimização da técnica de microextração líquido-líquido dispersiva foi de significativa contribuição, permitindo que as condições adequadas fossem estabelecidas a partir de um estudo multivariado.

Atribuiu-se a adição de ácido clorídrico à amostra a ser tratada à necessidade protonação das moléculas de ibuprofeno, contribuindo para a obtenção de um caráter mais apolar e conseqüentemente favorecendo sua transferência para a fase extratora.

Com relação ao solvente dispersor e ao solvente extrator constatou-se a possibilidade da realização de um procedimento de preparo de amostra eficaz, com baixo consumo e exposição à toxicidade de solvente.

Apesar da necessidade do desenvolvimento medidas que assegurem maior repetibilidade à técnica de microextração realizadas, é importante destacar que a combinação desta com a técnica de espectrofluorimetria foi favorável a determinação de baixas quantidades de ibuprofeno, uma vez que aliando o LD do método e um aumento na concentração de ibuprofeno por pré-concentração de pouco mais de 16 vezes, tornou-se possível a quantificação de ibuprofeno em concentrações na ordem de $5,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.

Contudo, a monitoração da degradação de ibuprofeno não se mostrou viável a partir do método analítico proposto, uma vez que produtos de degradação apresentam características energéticas similares às do ibuprofeno. Entretanto foi possível verificar a baixa velocidade deste processo, em acordo com resultados disponíveis na literatura. Por outro lado, empregando a mesma técnica de degradação, verificou-se maior velocidade de degradação para o sulfametoxazol, para a qual o método espectrofluorimétrico apresentou maior adequação para fins de monitoramento.

7 REFERÊNCIAS

- AMÉRICO, J. H. P.; ISIQUE, W. D.; MINILLO, A.; CARVALHO, S. L. Fármacos em Uma Estação de Tratamento de Esgoto na Região Centro-Oeste do Brasil e os Riscos aos Recursos Hídricos. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, v. 17, n.3, 2012, p. 61–67.
- ANVISA. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. *Diário – Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 02. jun. 2003.
- ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. de la. Green analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 27, n. 6, 2008 p. 497–511.
- BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como variar tudo ao mesmo tempo. In: _____ *Como fazer experimentos*. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010, p. 99–144.
- BARROS, H. L. B. V. de. *Desenvolvimento de procedimentos espectrofluorimétricos para a determinação de diclofenaco e sulfametoxazol em amostras de águas*. 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- BELTRAN, F.J; AGUINACO, A.; GARCÍA-ARAYA, J.F.; OROPESA, A. Ozone and photocatalytic processes to remove the antibiotic sulfamethoxazole from water, *Water Research*, v. 42, 2008, p.3799–3808.
- BEIRAGHI, A.; POURGHAZIN, K.; AMOLI-DIVA, M. Mixed supramolecular hemimicelles aggregates and magnetic carrier technology for solid phase extraction of ibuprofen in environmental samples prior to its HPLC-UV determination. *Chemical Engineering Science*, v. 108, 2014, p. 103–11.
- BILLA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. *Química Nova*, v. 26, n. 4, 2003, p. 523–530
- BORGER, B.; TONIN, F. S.; ZAMORA, P. G. P.; WAGNER, R.; GOMES, E. C. Micropoluentes emergentes de origem farmacêutica em matrizes aquosas do Brasil: uma revisão sistemática. *Ciência e Natura*, v. 37, n. 4, 2015, p. 725–739.
- CARVALHO, W. A. Anti-inflamatórios não-esteróides, analgésicos, antipiréticos e drogas utilizadas no tratamento da Gota. In: SILVA, P. *Farmacologia*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015, p. 439–484.
- CROUCH, R. S.; HOLLER, F. J. *Applications of microsoft excel in Analytical chemistry*. Thomson, Belmont: Brooks/Cole--Thomson Learning, 2004. 325 p.
- DANTAS, R.F; CONTRERAS, S.; SANS, C.; ESPULGAS, S. Sulfamethoxazole abatement by means of ozonation *Journal of Harzadous Materials*, v. 150, 2008, p. 790–794.

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

HARRIS, Daniel C. *Análise química quantitativa*. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2005. 876p.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. Espectrometria de luminescência molecular. In: _____. *Princípios de análise instrumental*. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009, p. 413–443.

HOLLER, F. J.; WEST, D. M.; CROUCH, S. R.; SKOOG, D. A. *Fundamentos de química analítica*. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2007, .999 p .

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z. Advanced chemical oxidation: its present role and potential future in hazardous waste treatment. *Waste Management*, v. 13, 1993, p. 361–377

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Instrumental. Orientação sobre validação de métodos analíticos, DOR-CGCRE-008. Revisão 05, ago. 2016.

JIMÉNEZ, J. J. Simultaneous liquid–liquid extraction and dispersive solid-phase extraction as a sample preparation method to determine acidic contaminants in river water by gas chromatography/mass spectrometry. *Talanta*, v. 116, 2013, p. 678–687.

KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D.; KASSINAS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment International*, v. 35, 2009, p. 402–417.

MADIKIZELA, L.M.; CHIMUKA, L. Determination of ibuprofen, naproxen and diclofenac in aqueous samples using a multi-template molecularly imprinted polymer as selective adsorbent for solid-phase extraction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 128, 2016, p. 210–215.

MARTINS, M. L.; PRIMEL, E. G.; CALDAS, S. S.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. *Scientia Chromatographica*. v. 4, 2012, p. 35–51.

MELO, S. A. S.; TROVÓ, A. G.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Química Nova*, v. 32, n. 1, 2009, p. 188–197.

MILLER, J.; MILLER, J.C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 6. Ed., Prentice Hall, 2010, 226 p.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal Variations of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 22, n. 8, p. 1452–1462

PENA-PEREIRA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Liquid-phase microextraction techniques within the framework of green chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 29, n. 7, 2010, p. 617-627

QUERO-PASTOR, M.J.; GARRIDO-PÉREZ, C.; ACEVEDO, A.; QUIROGA, J.M. Ozonation of ibuprofen: A degradation and toxicity study. *Science of the Total Environment*. 466–467, 2014, p. 957–964.

SANTOS, L. H. M. L. M.; GROS, M.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; DELURE-MATOS, C.; PENA, A. BARCELÓ; MONTENEGRO, M. C. B. S. M. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urbanwastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*. v. 461–462, 2013, p. 302–316.

SONNTAG, C. V.; GUNTEN, U. V. *Chemistry of Ozone in Water and Wastewater Treatment*, London: IWA Publishing, 2012, 322 p.

STUMPF, M.; TERNESA, T. A.; WILKENA, R.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *The Science of the Total Environment*, v. 225, 1999, p. 135–141.

TERNES, T. A. Occurrence of drugs in german sewage treatment plants end rivers. *Water Research*, v. 32, n. 11, 1998, p. 3245–3260.