



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE ADSORÇÃO DO METRONIDAZOL EM
CARVÃO ATIVADO DA CASCA DO COCO BABAÇU**

FRANCIMEIRI PIVA BORSATO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE ADSORÇÃO DO METRONIDAZOL EM
CARVÃO ATIVADO DA CASCA DO COCO BABAÇU**

FRANCIMEIRI PIVA BORSATO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste/Campus Toledo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Fernando R. Espinoza Quiñones

Coorientador: Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Essa é versão final da Defesa de Mestrado em Química apresentada por Francimeiri Piva Borsato em julho de 2018.

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones

Orientador

Prof. Dr. Douglas Dragunsk

Membro 1

Prof. Dr. Fabiano Bisinela Scheufele

Membro 2

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Borsato, Francimeiri
AVALIAÇÃO DO MECANISMO DE ADSORÇÃO DO METRONIDAZOL EM CARVÃO ATIVADO DA CASCA DO COCO BABAÇU : n/a / Francimeiri Borsato; orientador(a), Prof. Dr. Fernando R. Espinoza Quiñones; coorientador(a), Prof. Dr. Aparecido Nivaldo Módenes, 2018.
102 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Toledo, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Graduação em Química Programa de Pós-Graduação em Química, 2018.

1. biomassa. 2. isoterma de BET. 3. cinética de adsorção. I. R. Espinoza Quiñones, Prof. Dr. Fernando . II. Módenes, Prof. Dr. Aparecido Nivaldo . III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

FRANCIMEIRI PIVA BORSATO

“Avaliação do mecanismo de adsorção do metronidazol em carvão da casca do coco babaçu”.

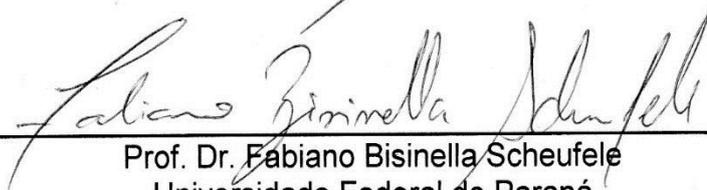
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química, pela Comissão Examinadora composta pelos membros:



Prof. Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones (Presidente-Orientador)
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski
Universidade Estadual do Oeste do Paraná



Prof. Dr. Fabiano Bisinella Scheufele
Universidade Federal do Paraná

Aprovada em: 25 de julho de 2018.

Local de defesa: Miniauditório do Gerpel – Unioeste/Campus de Toledo.

Aos meus pais: Carlos Aparecido de Aguiar Borsato e Neide Piva da Silva Borsato e ao meu esposo Wander Douglas Pires de Camargo.

Dedico

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente a Deus, pela minha vida e pela paz nos momentos em que me encontrei sem coragem de prosseguir.

Aos meus heróis Carlos e Neide, que sempre me apoiaram, sempre me incentivaram a nunca desistir, por mais difícil e complicada que fosse o meu caminho, agradeço por terem me ensinado sempre ser uma pessoa melhor.

Agradeço as minhas queridas irmãs Franciele e Francileide, que sempre me encorajaram a estudar e seguir os meus sonhos.

Ao meu orientador Professor Dr. Fernando Rodolfo Espinoza Quiñones, pela excelente orientação e ao meu coorientador Professor Dr. Aparecido Nivaldo Módenes, pela amizade e por estar sempre disposto a ajudar e tirar minhas dúvidas.

Agradeço a indústria Prati-Donaduzzi® pelo apoio, pelos materiais doados e por todo o suporte nas análises para que esse trabalho se concretizasse.

Agradeço também a Vanessa Pagno, que sempre estava disponível para me ajudar com os experimentos, obrigada por todas as coletas de amostras realizadas nos horários em que o meu trabalho me impedia de estar presente no laboratório.

E por último e não menos importante, meu amigo e companheiro, Wander Douglas Pires de Camargo que me aguentou, escutou todas as minhas reclamações e sempre estava disponível para me ajudar me acompanhando em todas as etapas do mestrado, me dando coragem para seguir em frente e jamais desistir.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	15
ABSTRACT	16
INTRODUÇÃO	17
CAPÍTULO 1	19
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
1.1 Medicamentos no meio ambiente.....	19
1.2 Metronidazol.....	22
1.2.1 Remoção de fármacos do meio ambiente	25
1.3 Adsorção	25
1.3.1 Cinética de adsorção.....	27
1.3.2 Isotermas de adsorção	30
1.3.3 Teorias de equilíbrio de adsorção.....	31
1.3.1 Adsorventes utilizados na remoção de fármacos.....	32
1.3.2 Avaliação do ponto de carga zero do adsorvente	33
1.4 Técnicas de quantificação/ identificação do metronidazol.....	33
1.4.1 Espectrofotometria UV-Vis	33
1.4.2 Cromatografia Líquida de alta eficiência.....	34
1.4.3 Espectrometria Infravermelho	34
1.4.4 Fisissorção de N ₂	35
CAPÍTULO 2.....	37
2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	37
2.1 Preparo da Solução de Metronidazol	37
2.2 Testes iniciais de adsorção	37
2.2.1 Calibração do Espectrofotômetro UV-Vis	37
2.2.2 Seleção do adsorvente.....	38
2.2.3 Avaliação de pH, temperatura e agitação.....	39
2.3 Ponto de carga zero.....	40
2.4 Fississorção de N ₂	40
2.5 Testes cinéticos	40
2.6 Estudo de equilíbrio	41
2.1 Metodologia de análise: Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	42
2.1.1 Validação do método de análise	42
2.1.2 Linearidade	43
2.1.3 Precisão	44
2.1.4 Exatidão	44
2.1.5 Seletividade	45
2.1.6 Limite de quantificação.....	45

2.1.7	Estabilidade da amostra	46
CAPÍTULO 3	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
3.1	Testes iniciais.....	47
3.1.1	Calibração do Espectrofotômetro UV-Vis- avaliação estatística.....	47
3.1.2	Seleção do adsorvente.....	49
3.1.3	Avaliação do pH da solução/ pH_{pcz}	50
3.1.4	Avaliação da Temperatura e Agitação na adsorção.....	52
3.2	Avaliação do adsorvato/ adsorvente por IR	53
3.3	Caracterização do carvão da casca do coco babaçu	55
3.4	Testes cinéticos	58
3.4.1	Comportamento da adsorção com a concentração inicial do metronidazol	59
3.4.2	Comportamento de adsorção com a temperatura	62
3.5	Zonas de adsorção	66
3.5.1	Constante de difusão (K_i) em função da concentração e temperatura	71
3.6	Estudo de equilíbrio	75
3.7	Validação da metodologia de análise por HPLC	80
3.7.1	Seletividade	80
3.7.2	Precisão	82
3.7.3	Precisão intermediária.....	83
3.7.1	Linearidade	84
3.7.2	Exatidão	88
3.7.3	Limite de quantificação.....	89
3.7.4	Estabilidade do MTN em solução aquosa.	89
CAPÍTULO 4	91
4. CONCLUSÕES	91
CAPÍTULO 5	92
5. ELEMENTOS PÓS-TEXTUAIS	92
5.1	Apêndices	92
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1: Diferenças entre a adsorção química e física.	27
Tabela 1.2: Equações das principais Teorias de Equilíbrio.	32
Tabela 2.1: Preparo da curva de calibração para cálculos da concentração do metronidazol adsorvida no carvão da casca do coco babaçu por UV-Vis.	38
Tabela 2.2: Massa pesada do CCCB no preparo das amostras para a análise da isoterma de adsorção nas concentrações de 200, 400 e 600 mg L ⁻¹ de metronidazol.	42
Tabela 2.3: Diluições das amostras para avaliação da linearidade do método de análise de metronidazol por HPLC.	43
Tabela 3.1: Capacidade de adsorção do metronidazol em diferentes carvões, utilizando 40°C, 150 rpm 50 mL da solução de MTN a 200 mg L ⁻¹ e 0,05 g do carvão.	50
Tabela 3.2: Resultado dos testes de Agitação e de temperatura	53
Tabela 3.3: Propriedades físicas do CCCB obtidas pela análise de fisissorção de N ₂	55
Tabela 3.4: Taxas de adsorção obtidas no tempo de equilíbrio para as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L ⁻¹ nas temperaturas de 30, 40 e 45°C.	60
Tabela 3.5: Resultados da taxa de adsorção para cada concentração nas regiões I, II e III em temperatura de 30°C.	70
Tabela 3.6: Resultados da taxa de adsorção para cada concentração nas regiões I, II e III em temperatura de 40°C.	70
Tabela 3.7: Resultados da taxa de adsorção para cada concentração nas regiões I, II e III em temperatura de 45°C	71
Tabela 3.8: Valores estimados para parâmetros dos modelos das isotermas de Langmuir e Langmuir + BET ajustados aos dados da adsorção do metronidazol no CCCB para as concentrações iniciais de 200, 400 e 600 mg L ⁻¹	78
Tabela 3.9: Resultados obtidos para a precisão primeiro dia para metronidazol.	82
Tabela 3.10: Precisão Segundo Dia para metronidazol.	83
Tabela 3.11: Comparação entre os resultados da precisão primeiro dia e segundo dia	84
Tabela 3.12: Resultados da Estatística de regressão para a linearidade do metronidazol.	85
Tabela 3.13: Resultados de variância - Teste de Grubbs para a linearidade de metronidazol.	87
Tabela 3.14: Resultados para a exatidão da metodologia analítica de HPLC.	88
Tabela 3.15: Limite de quantificação calculado para a metodologia analítica por HPLC.	89

Tabela 3.16: Porcentagem de degradação da molécula de metronidazol no estudo de estabilidade do metronidazol em solução.....	90
Tabela 5.1: Valores Crítico para o Teste de Cochran ao nível de significância de 5%.....	92
Tabela 5.2: Precisão (repetibilidade) esperada em função da concentração do analito. (Adaptado de AOAC) [54]	96
Tabela 5.3: Desvio padrão relativo previsto para a reprodutibilidade. (Adaptado de AOAC).	96
Tabela 5.4: Recuperação esperada em função da concentração do analito. (Adaptado de AOAC).....	97

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Ciclo dos antibióticos- Adaptado de Carvalho, I.T e Santos, L. [17].	20
Figura 1.2: Transporte de antibióticos e hormônios da fazenda suína para o meio ambiente. Adaptado de Cheng, D. L, et al [18].	20
Figura 1.3: Estrutura molecular do Metronidazol. Adaptado de Chemicalize.Com [27].	22
Figura 1.4: Reação de obtenção do metronidazol.	23
Figura 1.5: Gráfico de distribuição de microespécies da molécula de metronidazol Adaptado de Chemicalize.com [27].	24
Figura 1.6: Forma neutra e protonada do metronidazol dependendo do pH da solução Adaptado de Chemicalize.com [27].	24
Figura 1.7: Esquema de adsorção. Adaptado de Butt, H. J. e Colaboradores [31].	26
Figura 1.8: Tipos de isothermas. Adaptado de Thomas, J. W. e Crittenden, B [33].	30
Figura 2.1: Processo utilizado na realização do estudo de adsorção. A) Dissolutor Sotax utilizado para a realização das cinéticas; B) Procedimento de filtragem da amostra antes de ser analisada em HPLC.	41
Figura 2.2: Estrutura molecular; A) secnidazol; B) tinidazol.	45
Figura 3.1: Resposta analítica da absorção do metronidazol em relação com a concentração no espectrofotômetro UV-Vis e a equação da reta obtida.	47
Figura 3.2: Gráfico da análise de resíduos da curva analítica para quantificação das amostras de metronidazol.	48
Figura 3.3: Comportamento da quantidade adsorvida q (mg g^{-1}) como função do pH da solução quando a temperatura e agitação foram fixadas a 40°C e 150 rpm, respectivamente.	51
Figura 3.4: Análise do ponto de carga zero para o carvão da casca do coco babaçu.	52
Figura 3.5: Espectro de absorção no infravermelho, A) carvão antes da adsorção; B) molécula do metronidazol; C) carvão após a adsorção.	54
Figura 3.6: Classificação IUPAC para os tipos de isothermas [49].	57
Figura 3.7: Isotherma de adsorção obtida pelo método de BET na análise de fisissorção de N_2 .	57
Figura 3.8: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para 4 concentrações: 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} , mantendo controlados a temperatura de 30°C e agitação de 150 rpm.	60
Figura 3.9: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para 4 concentrações: 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} , mantendo controlados a temperatura de 40°C e agitação de 150 rpm.	61

Figura 3.10: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para 4 concentrações: 200, 400, 650 e 850 mg L ⁻¹ , mantendo controlados a temperatura de 45°C e agitação de 150 rpm.....	61
Figura 3.11: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para a concentração de 200 mg L ⁻¹ , mantendo controlado a agitação de 150 rpm e variando a temperatura de 30, 40 e 45°C.....	64
Figura 3.12: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para a concentração de 400 mg L ⁻¹ , mantendo controlado a agitação de 150 rpm e variando a temperatura de 30, 40 e 45°C.....	64
Figura 3.13: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para a concentração de 650 mg L ⁻¹ , mantendo controlado a agitação de 150 rpm e variando a temperatura de 30, 40 e 45°C.....	65
Figura 3.14: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para a concentração de 850 mg L ⁻¹ , mantendo controlados a agitação de 150 rpm e variando a temperatura de 30, 40 e 45°C.....	65
Figura 3.15: Comportamento temporal da difusão intrapartícula para as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L ⁻¹ com agitação de 150 rpm e temperatura de 30°C.....	67
Figura 3.16: Comportamento temporal da difusão intrapartícula para as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L ⁻¹ com agitação de 150 rpm e temperatura de 40°C.....	68
Figura 3.17: Comportamento temporal da difusão intrapartícula para as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L ⁻¹ com agitação de 150 rpm e temperatura de 45°C.....	69
Figura 3.18: Relação da constante de difusão (K _i) para cada região de adsorção nas concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L ⁻¹ utilizando as temperaturas de: 30°C; 40°C e 45°C.....	73
Figura 3.19: Relação da constante de difusão (K _i) para cada região de adsorção, nas temperaturas de 30, 40 e 45°C nas concentrações de: 200 mg L ⁻¹ ; 400 mg L ⁻¹ ; 650 mg L ⁻¹ e 850 mg L ⁻¹	74
Figura 3.20: Aplicação do modelo de Langmuir na isoterma de 200 mg L ⁻¹	78
Figura 3.21: Aplicação do modelo de Langmuir na isoterma de 400 mg L ⁻¹	79
Figura 3.22: Aplicação do modelo de Langmuir na isoterma de 600 mg L ⁻¹	79
Figura 3.23: Sobreposição dos cromatogramas da matéria-prima e do padrão de metronidazol.	81
Figura 3.24: Sobreposição dos cromatogramas de secnidazol, tinidazol e solução contendo os três compostos.	81
Figura 3.25: Curva da Linearidade para metronidazol.	85

Figura 3.26: Gráfico dos resíduos da linearidade de metronidazol.....	86
Figura 3.27: Sobreposição dos cromatogramas das amostras de metronidazol para avaliação da estabilidade da molécula em solução.	90
Figura 5.1: Certificado do padrão de metronidazol.	94
Figura 5.2: Solubilidade tinidazol	95
Figura 5.3: Solubilidade secnidazol	95

Borsato, Francimeiri P. Avaliação do mecanismo de adsorção do metronidazol em carvão ativado da casca do coco babaçu. 102. 2018. Defesa de Mestrado em Química. Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

RESUMO

Neste trabalho, avaliou-se a capacidade de adsorção de três carvões produzidos na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (carvão do resíduo ósseo de tilápia, carvão da casca da soja e o carvão da casca da castanha do Pará) e um carvão obtido comercialmente (carvão da casca do coco babaçu) para remoção do antibiótico metronidazol de solução aquosa. O carvão que melhor adsorveu o metronidazol foi o carvão da casca do coco babaçu (CCCB) com temperatura de 40°C, 150 rpm de agitação e sem ajuste de pH. Dessa forma, os testes cinéticos foram realizados com o auxílio de um dissolutor (Sotax), utilizando 1000 mL de solução de metronidazol, variando a concentração (200, 400, 650 e 850 mg L⁻¹) e a temperatura (30, 40 e 45°C), 1 g do carvão e 150 rpm de agitação. O tempo de equilíbrio observado foi de aproximadamente 20 horas e nas primeiras 4 horas uma maior quantidade de metronidazol foi adsorvida, essa quantidade inicial corresponde à adsorção do metronidazol na camada externa do CCCB. Os dados obtidos a partir da cinética de adsorção foram descritos pelo modelo de difusão intrapartícula, no qual verificou-se o aparecimento de quatro regiões bem definidas correspondendo respectivamente a adsorção na camada externa, nos macroporos, nos mesoporos do CCCB e por último o equilíbrio. No estudo de equilíbrio, apresentou dois mecanismos de adsorção: monocamada e multicamadas com o aumento da concentração do adsorvato, correspondendo ao modelo híbrido de Langmuir+ BET. O processo de remoção de metronidazol utilizando o CCCB é economicamente viável visto o baixo custo na obtenção ou fabricação do adsorvente por ser extraído da biomassa do coco babaçu, além de possuir uma excelente capacidade máxima adsortiva para o antibiótico estudado.

Palavras-chave: biomassa, isoterma de BET, cinética de adsorção.

Borsato, Francimeiri P. Avaliação do mecanismo de adsorção do metronidazol em carvão ativado da casca do coco babaçu. 102. 2018. Defesa de Mestrado em Química. Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

ABSTRACT

This work has evaluated the adsorption capability of three coal produced in the Universidade Estadual do Oeste do Paraná (tilapia bone residual coal, soybean bark coal and chestnut from Pará) and other kind of coal commercially obtained (babaçu coconut peeling coal) to remove the metronidazole from aqueous solution. The coal which better absorbed the metranidazole was the babaçu coconut peel one (CCCB) with temperature from 40°C, 150 rpm of stirring and with no pH adjustment. Thus, the kinetic tests were performed by using the SOTAX dissolution apparatus, with 1000 mL of metronidazole solution, varying the concentration (200, 400, 650 and 850 mg/ L) and the temperature (30, 40, 45°C), 1 g of the coal and 150 rpm of stirring. The equilibrium time observed was around 20 hours and in the first 4 hours a bigger amount of metranidazole was adsorbed, this inicial amount corresponds to the metranidazole adsorption in the outer layer of the CCCB. The results obtained from the adsorption kinetics were described by the intraparticule diffusion in which were verified the appearing of four well defined regions corresponding to the adsorption in the outer layer, in the macropores, in the CCCB mesopores and the equilibrium, respectively. In the equilibrium studies, were presented two adsorption mechanisms: monolayer and multilayer with increasing concentration of the adsorbate, corresponding to the hybrid model of Langmuir + BET. The removing process of metranidazole by using CCCB became economically viable due to the low cost in the obtention or production of the adsorbent, the easily extraceton of the babaçu coconut biomass and the excellent capability of maximum adsorptive to the metranidazole.

Keywords: Biomass, BET isotherm, adsorption kinetic.

INTRODUÇÃO

Atualmente, uma grande variedade de medicamentos tem sido utilizados pela população mundial sendo essenciais para a manutenção da saúde e da qualidade de vida dos cidadãos. Esses fármacos são divididos em classes terapêuticas e uma delas é a classe dos antibióticos que são muito utilizados para a prevenção e tratamento de doenças causadas por bactérias e para melhorar o crescimento e a produção de animais [1]. A intensificação na produção e utilização dos antibióticos no mundo, tornou-se uma preocupação global uma vez que os agentes patogênicos estão cada vez se tornando mais resistentes a múltiplos fármacos [2]. Os antibióticos em geral não são completamente metabolizados pelo organismo humano e nem pelos animais, conseqüentemente são expelidos para o meio ambiente através da urina e das fezes [3-5]. Embora a concentração liberada para o meio ambiente seja baixa (ng. L^{-1} e $\mu\text{g. L}^{-1}$), a liberação contínua desses medicamentos é preocupante [6]. Uma grande quantidade destes fármacos é descartada inadequadamente pela população por estarem vencidos ou mesmo pelo seu excesso [7]. Estudos recentes relatam que há uma grande variedade de antibióticos presentes em efluentes de águas residuais [8-10], e em plantas de tratamento de esgoto, que chega aos níveis de concentração de mg L^{-1} [11].

Atualmente, várias técnicas de tratamento de efluentes contaminados por fármacos, como por exemplo: oxidação avançada, degradação fotocatalítica [12], UV/ H_2O_2 [13], Fenton ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$), Foto-Fenton (UV/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$) [14,15], entre outras. Esses tratamentos são geralmente efetivos, entretanto são técnicas que envolvem a utilização de reagentes que encarecem o processo e ainda são capazes de gerar subprodutos tóxicos durante o processo.

Outro tratamento que costuma ser eficiente e que vem sendo muito estudado [9,3,7,16], podendo ser empregado na remoção de fármacos de águas residuais, é o processo de adsorção. Essa técnica utiliza apenas um adsorvente que pode ser um polímero sintético, sílica gel, alumina ativada, materiais argilosos, zeólitas ou mesmo um carvão ativado. O último é muito utilizado para remover poluentes ambientais orgânicos e inorgânicos de águas residuais e são geralmente produzidos

partir de biomassas de resíduos agrícolas, como por exemplo: casca de frutas, sementes, folhas, etc, que acaba diminuindo o custo de aplicação da técnica na retirada de poluentes de águas residuais.

O objetivo deste trabalho foi o reaproveitamento da biomassa da casca do coco babaçu para a remoção do antibiótico metronidazol de águas residuais por meio da adsorção e também caracterizar o carvão utilizando métodos analíticos e espectrofotométricos, avaliar as melhores condições de pH, temperatura e agitação na adsorção do metronidazol, realizar os testes cinéticos e testes de equilíbrio durante a adsorção do fármaco e descrever por meio de modelos matemáticos a isoterma obtida e as cinéticas de adsorção.

Para uma melhor apresentação do assunto o presente trabalho foi dividido em 5 Capítulos. No Capítulo 1 apresenta-se uma revisão da literatura trazendo o embasamento teórico necessário para o estudo e alguns conceitos pertinentes para o melhor entendimento do assunto estudado. O Capítulo 2, apresenta a abordagem da metodologia utilizada para o estudo cinético, para o estudo de equilíbrio, quantificação do fármaco e a caracterização do carvão. No Capítulo 3, são apresentados os resultados obtidos em todos os experimentos realizados neste trabalho, o Capítulo 4 traz a conclusão obtida após a realização de todos os experimentos e por último no Capítulo 5 os elementos pós-textuais trazem os complementos que foram utilizados durante todo o estudo de adsorção do metronidazol no carvão ativado da casca do coco babaçu.

CAPÍTULO 1

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 *Medicamentos no meio ambiente*

O crescimento acelerado da população mundial, impulsionou a indústria de alimentos e a produção de animais e para suprir este crescimento, diversas drogas e aditivos alimentares vem sendo utilizados para tratar infecções e melhorar o crescimento e a produção dos animais [3]. O desenvolvimento dos antibióticos no século XX foi marcada pela redução significativa na taxa da mortalidade da população que era causada por doenças infecciosas como tuberculose, sífilis, pneumonia, gonorreia e doenças transmissíveis na infância [3].

A grande utilização de antibióticos pela população, faz com que esses fármacos cheguem ao meio ambiente de várias formas, a principal delas são pelas fezes e urina excretados, uma vez que esses fármacos não são totalmente metabolizados pelo organismo dos seres humanos e dos animais, em que apenas uma parte desses medicamentos são metabolizados pelo organismo e o restante é eliminado sem nenhuma alteração ou como um metabólito ativo [3-5]. Essas drogas também podem atingir o meio aquático através do descarte inadequado dos medicamentos vencidos ou a sobra da dose em pias, vasos sanitários, ou diretamente nos efluentes. Esses medicamentos chegam até as estações de tratamentos que por sua vez não são projetadas para remoção destes poluentes, que por fim acabam sendo descartados nos lagos, rios, mares, etc. A Figura 1.1 e Figura 1.2, mostram mais detalhadamente os ciclos em que os antibióticos estão envolvidos chegando até as águas de lagos, rios, mares, etc.

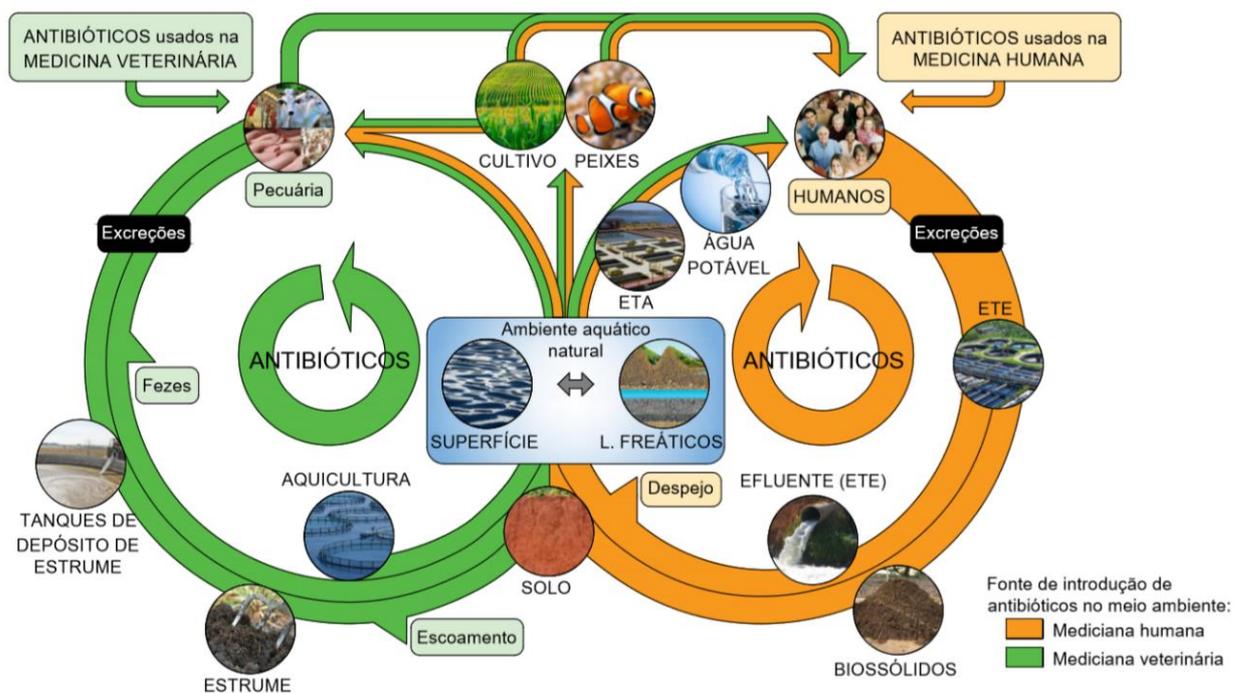


Figura 1.1: Ciclo dos antibióticos- Adaptado de Carvalho, I.T e Santos, L. [17].

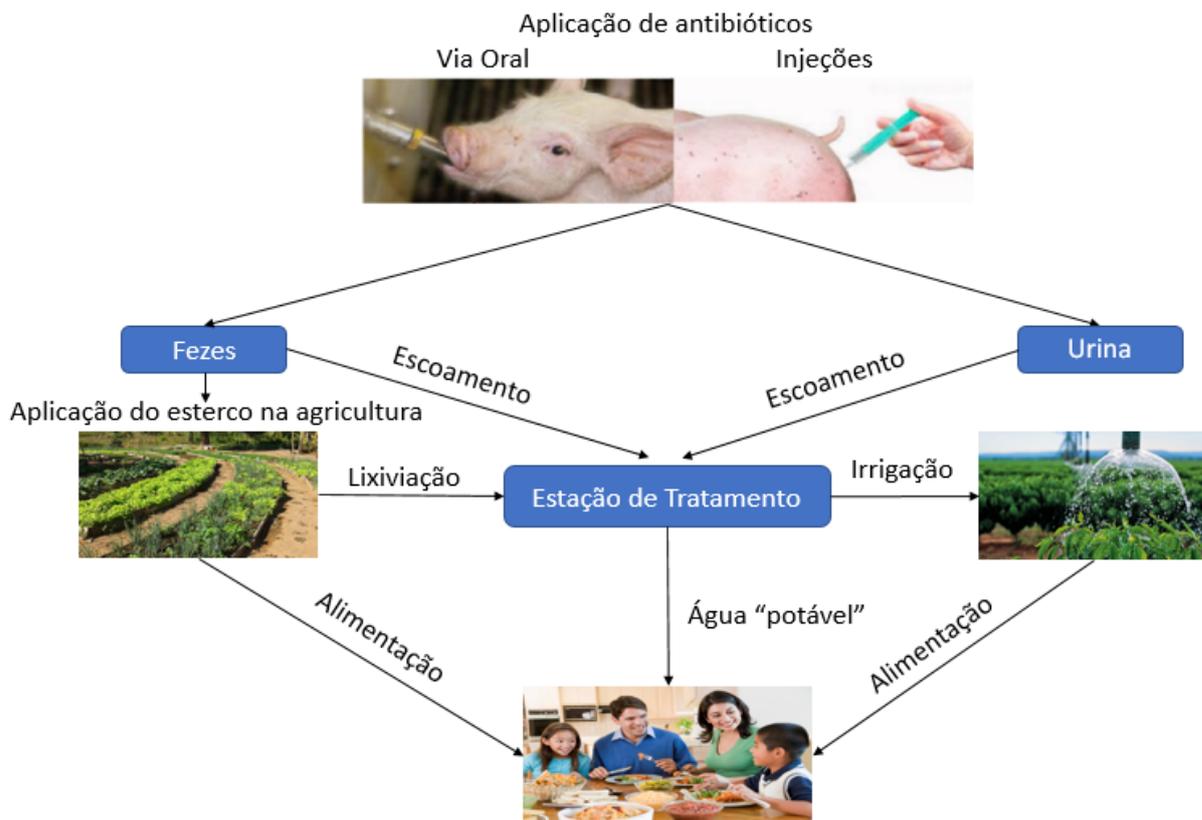


Figura 1.2: Transporte de antibióticos e hormônios da fazenda suína para o meio ambiente. Adaptado de Cheng, D. L, et al [18].

Nas últimas décadas houve um aumento mundial de bactérias resistentes a um ou mais antibióticos em que não respondem ao tratamento convencional, causando grande preocupação e o crescente consumo de medicamentos em excesso e alimentos contaminados contribui para essa resistência das bactérias [19].

O desenvolvimento nos últimos anos de técnicas instrumentais mais sensíveis, possibilitam que estudos sobre a ocorrência e efeitos de diversos contaminantes no meio ambiente em níveis traços sejam realizados [17]. As maiores concentrações encontradas de antibióticos são geralmente em áreas como efluentes hospitalares [20], águas residuais, solos tratados com estrume de animais e espaços de criação de gados ou porcos, etc. O resultado das análises vem causando grande preocupação da comunidade científica.

O metronidazol (MTN) é um antibiótico a base de nitroimidazol utilizado à mais de 50 anos [21] como antibactericida, antiprotozoário, contra vermes foliculares, doenças da acne [22], e amplamente utilizado no tratamento de infecções intestinais e abdominais causadas por bactérias anaeróbicas e protozoárias [16], como por exemplo as *Trichomonas vaginalis* e a *Giardia lamblia*. Ele atua nas cadeias de ADN (ácido desoxirribonucleico) das respectivas bactérias/ protozoários, levando-as a morte. O MTN é também ilegalmente utilizado como aditivos em materiais cosméticos [23]. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA),

“O principal representante do grupo dos nitroimidazólicos é o metronidazol, que foi introduzido em 1959 para o tratamento da tricomoníase vaginal. O metronidazol é um bactericida potente, com excelente atividade contra bactérias anaeróbicas estritas (cocos gram-positivos, bacilos gram-negativos, bacilos gram-positivos) e certos protozoários como amebíase, tricomoníase e giardíase.” [24]

O metronidazol possui alta toxicidade, alto potencial de mutagenicidade e ainda um alto poder de carcinogenicidade. Este antibiótico é muito solúvel em água e muito resistente, podendo permanecer no ambiente durante vários dias sem sofrer nenhum tipo de degradação [25]. A irradiação UV também não é capaz de eliminar ou degradar o MTN de solução aquosa [26], por isso as águas que contêm MTN representam um risco ao meio ambiente e para a saúde humana [21].

1.2 Metronidazol

O MTN é um nitrocomposto de fórmula molecular relativamente simples (Figura 1.3), possuindo um anel aromático com uma anina secundária e uma terciária de apenas um grupo funcional álcool e um NO₂, sua massa molar é equivalente à 171,16 g mol⁻¹. Segundo a IUPAC o MTN é nomeado como: 2-(2-methyl-5-nitro-1H-imidazol-1-yl) ethan-1-ol, [27]. O Fabricante Unichem Laboratories Ltd obtém a molécula a partir de uma reação de hidroxietilação do 2-metil-5nitro-imidazol com epoxietano, essa reação é apresentada na Figura 1.4.

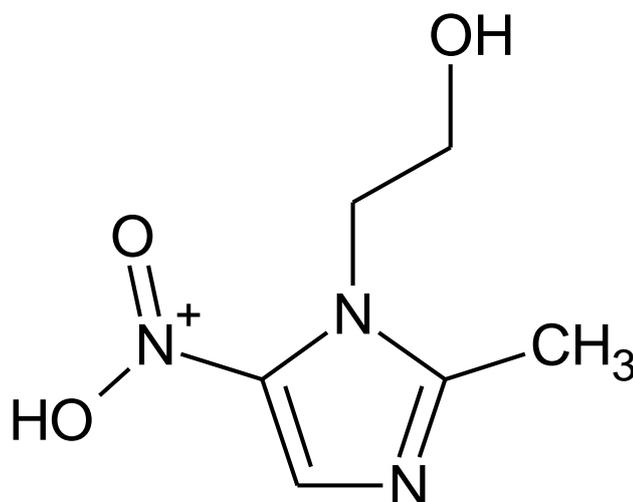


Figura 1.3: Estrutura molecular do Metronidazol. Adaptado de Chemicalize.Com [27].

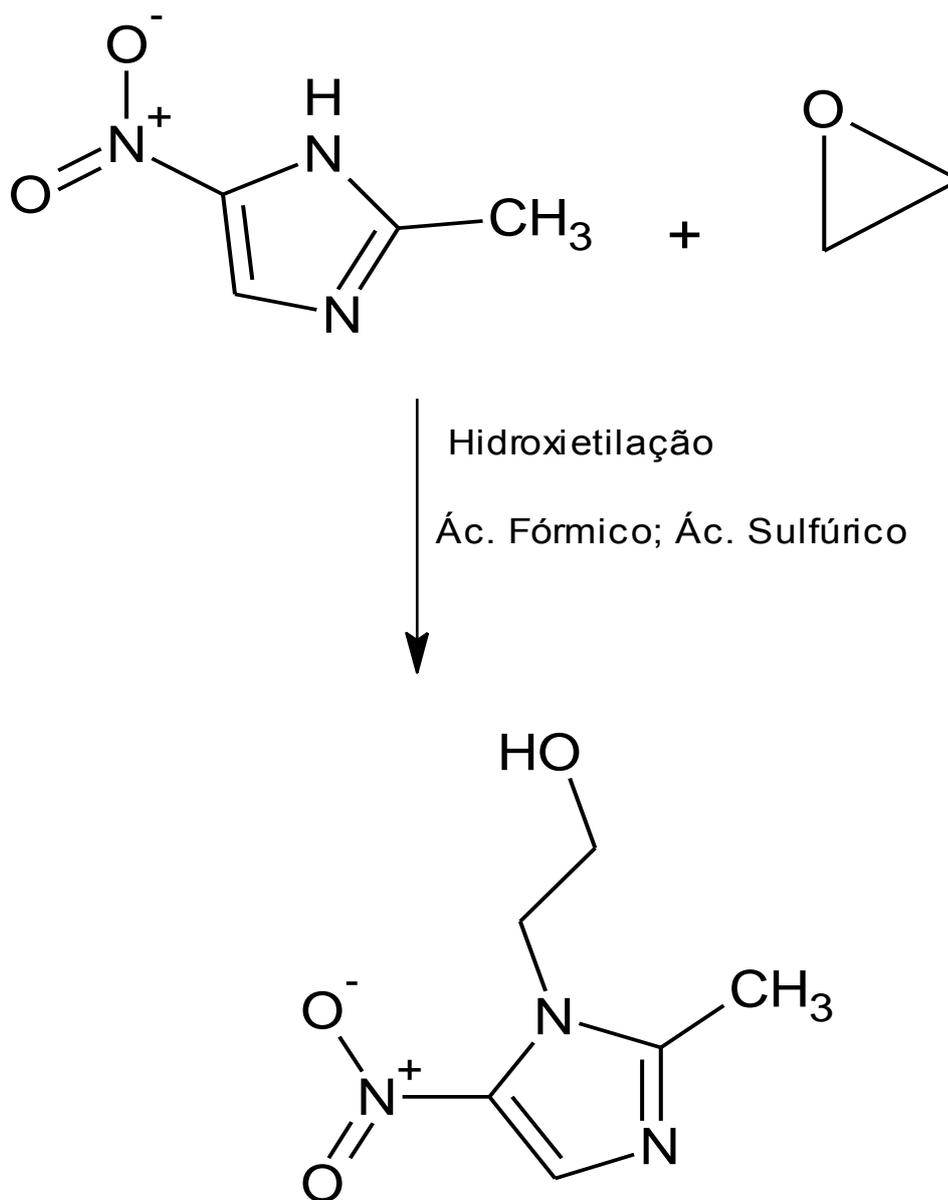


Figura 1.4: Reação de obtenção do metronidazol.

A molécula do MTN, é uma base fraca com dois valores de pKa: 3,03 e 15,41 (Figura 1.5), dependendo do meio que ela se encontra o comportamento da molécula é alterado. Quando o pH da solução é 3,03 o MTN se distribui igualmente em duas formas: neutra (Figura 1.6-A) e protonada (Figura 1.6-B) no qual o nitrogênio da amina secundária fica com carga positiva (NH^+). Em pH acima de 5,0 a única forma existente da molécula é a forma neutra conforme mostrado no gráfico de distribuição das espécies, Figura 1.5 [27].

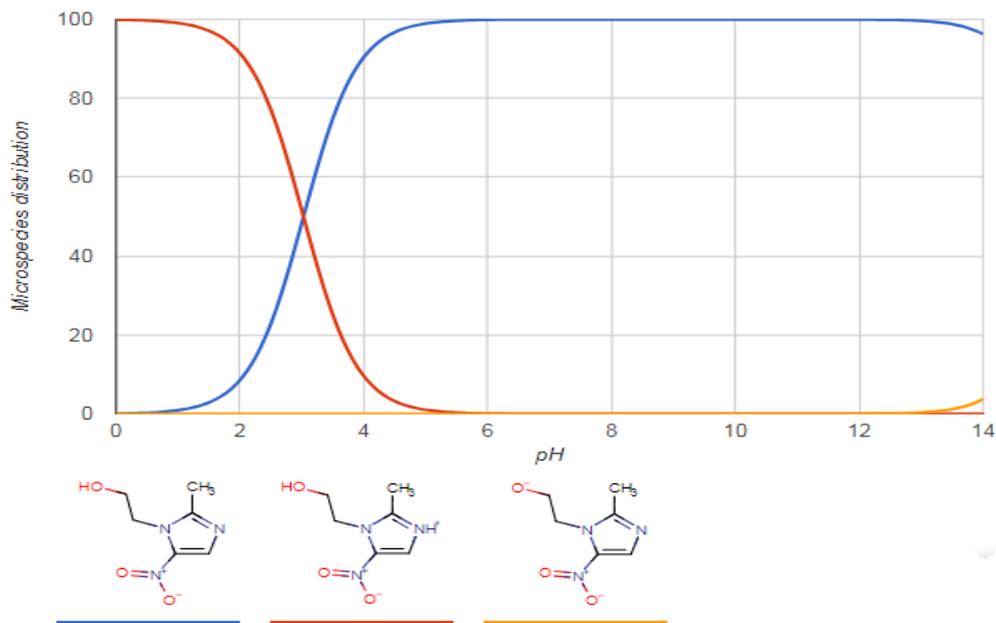


Figura 1.5: Gráfico de distribuição de microespécies da molécula de metronidazol Adaptado de Chemicalize.com [27].

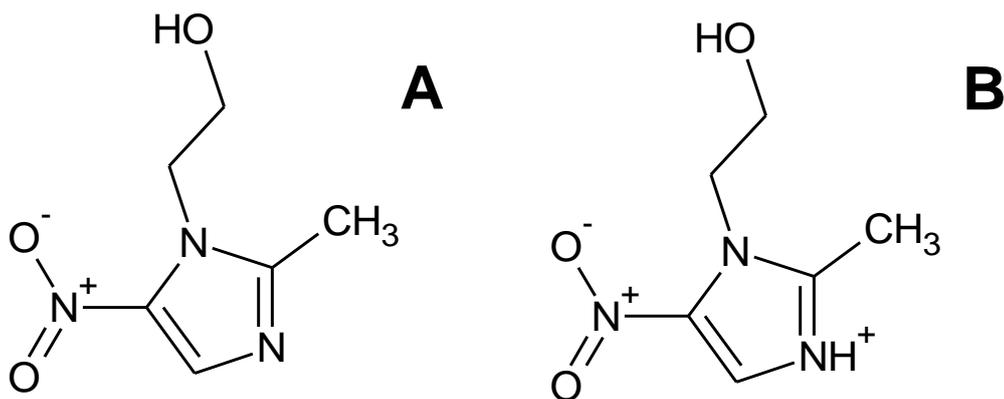


Figura 1.6: Forma neutra e protonada do metronidazol dependendo do pH da solução Adaptado de Chemicalize.com [27].

As soluções de metronidazol foram preparadas nas concentrações de 100, 200, 400, 600, 650 e 850 mg L⁻¹, através da pesagem do IFA de metronidazol utilizando balança analítica (Shimatzu AY 220), posteriormente adicionada em balão volumétrico, diluída em água destilada e agitada manualmente até se obter uma solução homogênea.

1.2.1 Remoção de fármacos do meio ambiente

Atualmente, existem várias técnicas de remoção de medicamentos do meio ambiente. Uma técnica muito aplicada é a degradação fotocatalítica, segundo Di Li, essa técnica é uma tecnologia barata, eficiente e verde para degradação dos antibióticos, utilizando a luz UV ou solar e condições naturais do ambiente, entretanto os antibióticos são muitas vezes resistentes à decomposição, por isso é necessário a aplicação de fotocatalisadores (FC). A descoberta de novos FC de luz UV estão sendo fortemente estudados para aumentar a capacidade de degradação de fármacos, assim como *doping* de FC de Luz UV com metais e não metais, FC de heterojunção e construção de ressonância de plasma de superfície (sistemas fotocatalíticos avançados) [28].

Tratamento de águas contaminadas com fármacos também estão sendo realizadas pela utilização de técnicas de foto-fenton para sua decomposição, no caso de Giannakis e colaboradores, utilizaram H_2O_2 reutilizado, mas em muitos casos esse reagente não é reaproveitado, acarretando um maior custo para a aplicação da técnica [15].

O estudo recente de Santana e colaboradores, aplica a técnica de oxidação avançada para tratamento de águas residuais contaminadas com o antibiótico metronidazol, um resultado de 40% de degradação foi obtido neste estudo utilizando uma solução de 40 mg.L^{-1} , esse resultado não dependeu do pH do meio, os autores também concluíram que o metronidazol não é suscetível à degradação por hidrólise, eles também estudaram a fotocatalise aplicando catalisadores, em que obtiveram os melhores resultados [29].

1.3 Adsorção

O estudo de adsorção não é nada recente, essa técnica vem sendo estudada e utilizada desde o século XVIII, mas o primeiro estudo desenvolvido foi em 1916 quando o Físico-químico Irving Langmuir publica um artigo mencionando a sua Teoria de Adsorção em Monocamadas [30]. Esse método é eficaz para remover poluentes de solução aquosas e muito viável devido ao baixo custo [11]. A técnica tem

vido também aplicada com sucesso para remoção de fármacos do organismo nos casos em que acontecem contaminação por medicamentos ou sobre dosagem [16].

A adsorção é um processo físico-químico onde componentes de uma fase gasosa ou líquida são adsorvidos para a superfície de um sólido. Um esquema do processo de adsorção é mostrado na Figura 1.7.

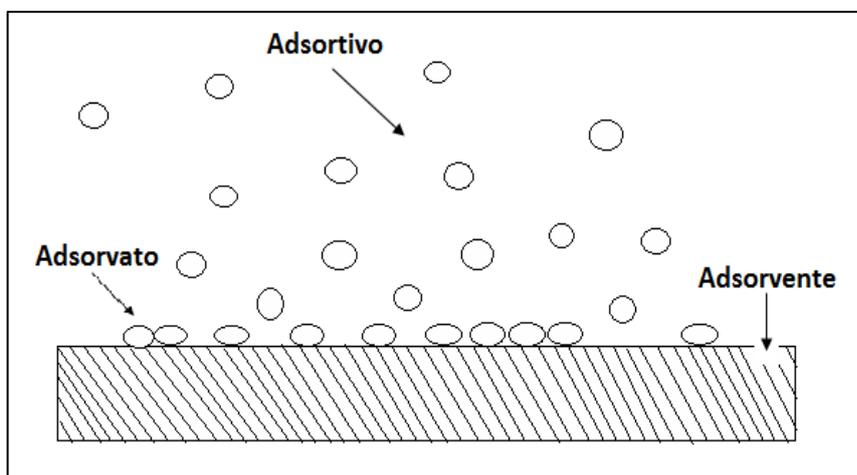


Figura 1.7: Esquema de adsorção. Adaptado de Butt, H. J. e Colaboradores [31]

O material em que a adsorção ocorre é o chamado de adsorvente e este é um sólido, a substância que ainda não está em contato com a superfície é chamada de adsortivo e adsorvato e é a substância retirada do meio gasoso ou líquido, pela superfície do adsorvente. A adsorção pode ocorrer de duas formas, sendo elas, adsorção física (fisissorção) ou adsorção química (quimissorção), dependendo da força de interação entre a espécie que está sendo adsorvida e o adsorvente. O processo vem sendo fortemente estudado para a retirada de antibióticos do meio ambiente [9,3,7,16].

A quimissorção acontece quando há ligações químicas entre as moléculas de adsorvente e o adsorvato, envolvendo transferência de elétrons entre eles [32], esse tipo de adsorção ocorre em uma única camada molecular envolto ao adsorvente é chamado de adsorção em monocamada. O processo de dessorção é praticamente irreversível, mas ocorre quando aplicado uma grande quantidade de energia promovida por aquecimento, pois a energia entre as ligações do adsorvente e o adsorvato é alta.

A fisissorção, acontece quando as forças intermoleculares de atração entre o adsorvente e o adsorvato é maior do que a atração entre o adsorvato e a fase fluida. A energia envolvida é considerada fraca, geralmente do tipo Van der Waals, dipolo-dipolo e polarização das moléculas [32], o calor é liberado quando a adsorção ocorre, pois, o processo é exotérmico [33]. A adsorção física acontece em várias camadas, e o processo de dessorção é facilmente atingido com o aumento da temperatura. A Tabela 1.1, mostra as principais diferenças entre a adsorção química e a física.

Tabela 1.1: Diferenças entre a adsorção química e física.

Adsorção química	Adsorção física
Alto calor de adsorção	Baixo calor de adsorção
Superfície do adsorvente é modificada	Adsorvente quase não é modificado
Adsorção ocorre em monocamada	Monocamada e multicamadas
Possível em uma grande faixa de temperaturas	Possível em baixas temperaturas
Reação lenta e irreversível	Reação rápida e reversível
Necessita de ativação	Não necessita de ativação
Pode haver transferência de elétrons	Sem transferência de elétrons

O processo de adsorção tem se mostrado favorável devido a elevada capacidade de remoção de diferentes contaminantes, facilidade de operação e possibilidade de reutilização do adsorvente através de ciclo de adsorção-dessorção e recuperação / concentração do adsorvato.

1.3.1 Cinética de adsorção

A cinética tem como principal objetivo determinar as leis de velocidade de uma reação química [34], e a cinética de adsorção descreve a velocidade com que o adsorvato é retirado do meio pelo adsorvente, fazendo a relação entre o decaimento da concentração do adsorvato no meio em função do tempo. A velocidade de adsorção é dependente de diversos fatores, tais como as características físico-

químicas do adsorvato e do adsorvente, pH da solução, a temperatura e a velocidade de agitação.

A adsorção faz com que a concentração do adsorvato na solução vai diminuindo com o passar do tempo até alcançar o equilíbrio, que é o ponto em que todos os sítios ativos do adsorvente estão saturados não sendo capaz de retirar mais o adsorvente do fluido.

Um modelo muito utilizado para descrever o processo cinético de adsorção é o modelo de pseudoprimeira ordem, que foi proposto por Lagergren em 1898 e é representado pela Equação 1.1 [35].

$$\frac{dq_t}{dt} = k_s(q_{eq} - q_t) \quad \text{Equação 1.1}$$

Sendo o k_s a constante da taxa de adsorção do modelo de pseudoprimeira ordem (min^{-1}), q_{eq} representa a quantidade adsorvida (mg g^{-1}).

Integrando a Equação 1.1, com as condições iniciais em que, $q = 0$, $t = 0$ e $q_t = q_t$ quando o $t = t$, chega-se na Equação 1.2

$$\ln\left(\frac{q_e}{q_{eq} - q_t}\right) = K_s \cdot t \quad \text{Equação 1.2}$$

Outro modelo cinético muito utilizado para descrever o comportamento das reações é o modelo de pseudosegunda ordem, que pode ser representado pela Equação 1.3

$$\frac{dq_t}{dt} = K_s(q_{eq} - q_t)^2 \quad \text{Equação 1.3}$$

Na qual o K_s é a constante da taxa de adsorção de pseudosegunda ordem em ($\text{g. mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), q_{eq} é a quantidade de adsorvato adsorvido no equilíbrio (mg. g^{-1}).

Essa equação pode ser integrada considerando que $q_t = 0$ quando $t = 0$ e $q_t = q_t$ em $t = t$:

$$\frac{1}{(q_{eq} - q_t)} = \frac{1}{q_{eq}} + k_s \cdot t$$

Equação 1.4

Rearranjando a Equação 1.4, tem-se a Equação 1.6:

$$q_t = \frac{k_s \cdot k_{eq}^2 \cdot t}{1 + k_s \cdot q_{eq} \cdot t}$$

Equação 1.5

Existem outros modelos cinéticos tais como o Modelo de Difusão Intrapartícula (Equação 1.6), Modelo de pseudoprimeira ordem modificado (Equação 1.7), Modelo de Elovich (Equação 1.8), Modelo de difusão de filme (Equação 1.9) e Modelo de Avrami (Equação 1.10).

$$q_t = K_i t^{1/2} + C$$

Equação 1.6

$$\ln\left(1 - \frac{q_t}{q_{eq}}\right) + \frac{q_t}{q_{eq}} = -k_m t$$

Equação 1.7

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln t$$

Equação 1.8

$$\ln\left(1 - \frac{q_t}{q_{eq}}\right) = -k_F t + A$$

Equação 1.9

$$q_t = q_e (1 - e^{-K_{av} t})^{n_{av}}$$

Equação 1.10

Onde, k_m é a constante de pseudoprimeira ordem modificado dado em min^{-1} , α é a taxa inicial do Modelo de Elovich dado em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, β é a constante de Elovich, dada em $\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$, k_i é a constante de difusão de partículas em $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-0,5}$, k_F e A são as constantes de difusão do filme dados em min^{-1} [36].

Todos esses modelos são comumente utilizados para verificar o comportamento da cinética de adsorção, entretanto os mais aplicados são pseudoprimeira ordem, pseudosegunda ordem e difusão intrapartícula.

1.3.2 Isotermas de adsorção

Uma isoterma é dada pela função da concentração do adsorvato pela quantidade que foi adsorvida que é calculada conforme a Equação 1.11.

$$q \text{ (mg.g}^{-1}\text{)} = \frac{(C_0 - C_f)}{m} * V \quad \text{Equação 1.11}$$

Em que o q é a quantidade do material adsorvido em mg.g^{-1} do adsorvente, o C_0 e C_f são as concentrações inicial e final do adsorvato na solução, V é o volume da solução e m é a massa do adsorvente adicionado.

A Figura 1.8, mostra os perfis das isotermas dos tipos I, II, III, IV e V que podem ser obtidas, quando é feito um gráfico da concentração C_f pelo q .

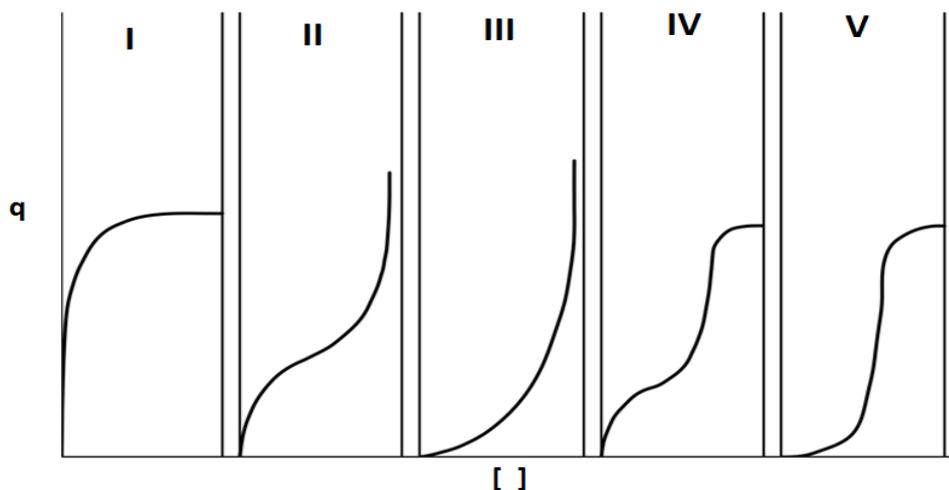


Figura 1.8: Tipos de isotermas. Adaptado de Thomas, J. W. e Crittenden, B [33].

A Isotherma do Tipo I, acontece quando a adsorção é dada por uma única camada na superfície do adsorvente. Essa é mais frequente em adsorção de gases

sob a superfície de sólidos microporosos, cujo os poros não são maiores do que o diâmetro da molécula, limitando a adsorção em uma única camada. A Isoterma do Tipo II, não apresenta um limite de saturação, o primeiro ponto de inflexão é quando acaba os sítios de adsorção em monocamada, mas posteriormente a reação continua acontecendo em multicamadas. Já na adsorção do tipo III há um aumento constante na capacidade de adsorção com o aumento da concentração. As isotermas do tipo IV são semelhantes às do tipo II, mas elas atingem um ponto onde a adsorção é interrompida e a concentração se mantém constante. E o tipo V é semelhante ao tipo III, mas um ponto de inflexão é atingido e uma saturação limite é alcançada [33].

1.3.3 Teorias de equilíbrio de adsorção

Vários modelos de isotermas são utilizados para representar dados de equilíbrio de adsorção, o mais conhecido é o modelo de isoterma de Langmuir. Existem outros modelos como Freundlich e BET. Modelos como o Radke-Prausnitz, Toth, Temkin são modificações da isoterma de Langmuir, que foi proposta inicialmente em 1918, ela é mais apropriada para a definição de adsorção química, na qual há a formação de ligações iônica ou covalentes entre o adsorvente e o adsorvato e há formação de uma única camada adsorvida [33].

A equação de Freundlich é empregada para descrever a heterogeneidade em sistemas de adsorção reversível e que não se restringe a formação de monocamadas [37]. Para muitos sistemas o calor de adsorção diminui com o aumento da adsorção, e quando esse declínio é logarítmico, implica que a adsorção é distribuída exponencialmente em relação a energia de adsorção [33].

O modelo de Brunauer-Emmett-Teller, mais conhecido como BET, foi proposto em 1938, este é aplicado para a formação de multicamadas na adsorção. Hoje este modelo é amplamente utilizado como ferramenta semi-empírica para a investigação de características de adsorventes, a equação pode ser aplicada as isotermas do tipo II, III, IV e V, também é usada para determinação de área superficial de adsorventes porosos [33]

A Tabela 1.2, mostra todas as equações dos modelos citados, e os respectivos parâmetros ajustáveis.

Tabela 1.2: Equações das principais Teorias de Equilíbrio.

Modelo	Equação	Parâmetros ajustáveis	Equação
Langmuir	$q_{eq} = \frac{q_{máx} * b * C_{eq}}{1 + b * C_{eq}}$	q_{max}, b	Equação 1.12
Freundlich	$q_{eq} = k_f * (C_{eq})^{1/n_f}$	k_f, n	Equação 1.13
BET	$q_{eq} = \frac{q_{max} * B * C}{(C_s - C)[1 + (B - 1)(C/C_s)]}$	q_{max}, B, C_s	Equação 1.14
Toth	$q_{eq} = \frac{q_{max} * K * C_{eq}}{(1/K + C_{eq}^n)^{1/n}}$	q_{max}, n, K	Equação 1.15
Temkin	$q_{eq} = \frac{R * T}{b} \ln(K_t C_{eq})$	K_t, b	Equação 1.16
Radke-Prausnitz	$q_{eq} = \frac{q_{max} * K * C_{eq}}{(1 + K * C_{eq})^n}$	q_{max}, n, K	Equação 1.17

1.3.1 Adsorventes utilizados na remoção de fármacos

Atualmente é empregado uma grande variedade de adsorventes para a remoção de fármacos de águas residuais. Um bom adsorvente deve ter algumas propriedades, tais como: alto volume interno para acomodar os componentes que estão sendo removidos do fluido, ser altamente poroso, deve ter alta resistência, ter boas propriedades cinéticas e baixo custo, podendo ser um material orgânico ou inorgânico de natureza sintética ou não [33], a área superficial de um adsorvente pode variar de 100 m².g⁻¹ até 3000 m².g⁻¹. Existe uma vasta gama de adsorventes que podem ser empregados para a remoção de várias substâncias, como por exemplo, carvão proveniente de ossos de animais, polímeros sintéticos, argila, sílica gel, alumina ativada, materiais argilosos, zeólitas, entre outros [33]. Os carvões ativados, há muito tempo começaram a ser utilizados para remover cores, odores e gostos de águas [33].

Recentemente, métodos de remoção físico-químicos, oxidação avançada, tratamento biológicos entre outros, estão sendo testados para remoção destes medicamentos das águas fluviais. Porém, essas técnicas podem gerar compostos

intermediários, diferentemente do processo de adsorção, no qual há a transferência do adsorvato de uma fase gasosa ou líquida para a superfície do adsorvente, sem gerar intermediários tóxicos [38].

1.3.2 Avaliação do ponto de carga zero do adsorvente

A superfície de carga zero ou ponto de carga zero (pH_{pcz}) de qualquer carvão ativado é muito importante para indicar a acidez ou a basicidade do adsorvente. O pH_{pcz} , é definido como o valor do pH no qual a carga líquida de prótons é igual a zero [39].

Sistemas que apresentam valores de pH em solução menores do que o pH_{pcz} levam à uma carga superficial positiva no sólido, aumentando a adsorção de moléculas carregadas negativamente, enquanto valores maiores que o pH_{pcz} conferem a superfície da material carga negativa, aumentando a adsorção de moléculas carregadas positivamente [40].

1.4 Técnicas de quantificação/ identificação do metronidazol

1.4.1 Espectrofotometria UV-Vis

A espectrofotometria é uma técnica muito utilizada para a identificação e a quantificação de moléculas por meio dos seus espectros característicos ao ultravioleta, visível, ou infravermelho, essa quantificação é dada pela diferença de energia adsorvida ou transmitida pelo analito. Com o resultado da absorção de energia, a molécula passa do seu estado fundamental para um estado excitado de maior energia [41].

O espectrofotômetro é composto por uma lâmpada que fornece a luz, um prisma ou rede de difração onde a luz é fracionada nos comprimentos de onda que as compõem, o comprimento de onda ou a faixa de comprimento de onda selecionado é orientado para a amostra que fica em um recipiente transparente (cubeta). Uma porção da luz é transmitida e outra é absorvida e a intensidade de luz que chega ao

detector é medida. O sinal elétrico é visualizado no galvanômetro em números e é lido como absorvância [41].

A espectrofotometria é fundamentada pela lei de Lambert-Beer, (Equação 1.19),

$$A = \log(I_0/I) = \epsilon bc$$

Equação 1.18

Em que, A é a absorvância, I_0 é a intensidade da radiação monocromática que incide na amostra e I é a intensidade da radiação que emerge da amostra. A absorvidade molar (ϵ) é uma grandeza característica da espécie absorvente, cuja magnitude depende do comprimento de onda da radiação incidente. O termo c é a concentração da espécie absorvente e b é a distância percorrida pelo feixe através da amostra.

1.4.2 Cromatografia Líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida é capaz de separar vários componentes muito semelhantes e misturas complexas antes de sua quantificação [42].

“A cromatografia é um poderoso método de separação que encontra aplicação em todos os ramos da ciência. Foi inventada e denominada pelo botânico russo Mikhail Tswett no início do século 20. Ele empregou a técnica para reparar vários pigmentos de plantas como clorofila e xantofila, passando soluções desses componentes através de uma coluna de vidro empacotada com carbonato de cálcio finamente dividido. As espécies separadas apareciam como bandas coloridas na coluna, o que colaborou para a escolha do nome do método” [42].

A separação dos compostos na cromatografia líquida é dada através de uma ou mais bombas, um injetor, a fase móvel, a fase estacionária e o detector. A fase móvel é bombeada carregando a amostra para dentro da fase estacionária, onde ocorre a separação de todos os componentes presentes na matriz e por fim o sinal analítico é gerado e detectado por um certo detector, gerando um sinal analítico que é conhecido como cromatograma e a partir da área ou da altura do pico cromatográfico o analito pode ser quantificado.

1.4.3 Espectrometria Infravermelho

A Espectrometria no infra vermelho (IR), proporciona um aumento na amplitude de vibração das ligações covalentes entre átomos e grupos de átomos.

Cada grupo funcional possui absorção de energia na região do IR de modo característico, formando bandas distintas para cada composto, podendo assim ser identificado [42].

A região espectral do infravermelho é dividida em radiação no infravermelho próximo, médio e distante e compreende a faixa de 12800 a 10 cm^{-1} ou o comprimento de onda de 0,78 a 1000 μm^{-1} . Medidas na região do infravermelho próximo são feitas com espectrofotômetros na região do ultravioleta/ visível [42].

A espectrofotometria no infravermelho médio tem apresentado muitas aplicações e principalmente para amostras sólidas como filmes de polímeros, fibras, alimentos, fármacos, borrachas, produtos agrícolas entre outros. Já a espectrofotometria no infravermelho distante é mais utilizada para análises de compostos inorgânicos [42].

1.4.4 Fisissorção de N_2

A área superficial e o volume de poro de um sólido é determinado por meio da técnica de Fisissorção de N_2 , essa análise é realizada incorporando nitrogênio sobre a amostra resfriada à temperatura de nitrogênio líquido (77,3 k), utilizando pressão de até 2 atm e pressões relativas $\frac{P}{P_0}$ inferiores a 0,3. O N_2 adsorvido fisicamente em cada pressão produz uma alteração na composição de saída, registrada por um detector de condutividade térmica, ligado a um registrador potenciométrico. Ao aquecer a amostra, pela perda de contato do N_2 líquido com a célula de amostragem, o N_2 é dessorvido. A área dos picos é proporcional à massa de N_2 dessorvida. A partir do volume de N_2 obtido no ensaio e utilizando a equação de BET, determina-se o volume de nitrogênio necessário para recobrir a superfície adsorvente com uma monocamada. Este equipamento é fundamental para a caracterização textural de diferentes materiais, como por exemplo, sílicas mesoporosas, zeólitas, polímeros de coordenação, catalisadores, carvões, dentre outros. [43]

A determinação da área superficial pode ser realizada pelo método de BET, no qual constrói-se um gráfico a partir da Equação 1.19.

$$\frac{\frac{P}{P_0}}{Q_m(1 - \frac{P}{P_0})} = \frac{1}{Q_m C} + \frac{C - 1}{Q_m C} \left(\frac{P}{P_0}\right) \quad \text{Equação 1.19}$$

Na qual $\frac{P}{P_0}$ é a pressão relativa do gás, Q_m é a capacidade máxima de adsorção e C é a concentração do adsorvato. O gráfico apresenta uma linha reta, em que o coeficiente angular é $\frac{C-1}{Q_m C}$ e o intercepto é $\frac{1}{Q_m C}$. A capacidade máxima de adsorção é dada por $Q_m = \frac{1}{\frac{C-1}{Q_m C} + \frac{1}{Q_m C}}$ e $C = \frac{\frac{C-1}{Q_m C}}{\frac{1}{Q_m C} + 1}$.

CAPÍTULO 2

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 *Preparo da Solução de Metronidazol*

O matéria-prima ou insumo farmacêutico ativo (IFA) de metronidazol (MTN) utilizado neste estudo de adsorção, possui pureza equivalente à 99,8% (CAS: 443-48-1), este foi cedido pela Indústria de medicamentos genéricos Prati-Donaduzzi, Ltda, e fabricado na Índia pelo laboratório Unichem Laboratories Ltd.

2.2 *Testes iniciais de adsorção*

Para a determinação das melhores condições de pH, temperatura, velocidade de adsorção e para a escolha do melhor adsorvente na adsorção do metronidazol, inicialmente foi utilizado um espectrofotômetro UV-Vis (Shimatzu UV 1800) para a quantificação do metronidazol por ser uma técnica barata e acessível.

2.2.1 *Calibração do Espectrofotômetro UV-Vis*

Para a quantificação dos testes iniciais, foi utilizado o espectrofotômetro UV-Vis, sendo necessário construir uma curva de calibração do metronidazol no equipamento. Ela foi preparada conforme preconizado na Resolução da Diretoria Colegiada RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA, em que preconiza o preparo da linearidade com no mínimo 5 pontos e 3 réplicas cada ponto. Dessa forma foram preparados 6 amostras nas concentrações de 1, 5, 10, 15, 20 e 24 mg L⁻¹, diluídas a partir de uma solução estoque de 200 mg L⁻¹, que foi preparada pela pesagem de 20 mg de metronidazol em balão volumétrico de 100 mL, diluída em água destilada e agitada até se obter uma solução homogênea. Esse procedimento foi realizado em triplicata e as diluições são mostradas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1: Preparo da curva de calibração para cálculos da concentração do metronidazol adsorvida no carvão da casca do coco babaçu por UV-Vis.

Volume da Solução estoque (mL)	Diluição (mL)	Concentração final (mg L⁻¹)
0,5	100	1
2,5	100	5
5,0	100	10
7,5	100	15
10,0	100	20
12,0	100	24

Para a quantificação das amostras, foi realizado a varredura no Espectrofotômetro UV-Vis de 200 a 400 nm, utilizando uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm. As absorvâncias das soluções foram avaliadas no comprimento de onda de 319 nm, este é onde o metronidazol possui uma banda de absorção intensa característica do composto.

2.2.2 Seleção do adsorvente

Inicialmente, foram realizados testes de adsorção do metronidazol utilizando os carvões provenientes do resíduo ósseo de tilápia, da casca da soja e da casca da castanha do Pará, esses carvões foram produzidos pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná, por último foi testado o carvão da casca do coco babaçu que foi obtido comercialmente. O carvão do resíduo ósseo de tilápia foi produzido pelo processo de calcinação a 900°C 5°C / min e tratado com solução de HCl 0,5 M para retirar as cinzas no interior dos poros e em seguida com solução de NaOH 0,5 M para remover o excesso de ácido, garantindo a menor carga superficial possível para o adsorvente. Os materiais obtidos foram lavados com água destilada em abundância até pH constante, secos a 100°C e armazenados em sacos plásticos a temperatura ambiente para posterior utilização. O carvão da casca da soja foi obtido pela calcinação a 900°C 5°C / minuto e tratado com H₃PO₄ 1M e NaOH 1M e lavados

conforme o preparo anterior. O carvão da casca da castanha do Pará foi obtido apenas pela calcinação a 900°C 5°C/min sem nenhum tratamento posterior.

Os testes foram conduzidos à temperatura e agitação constante de 40°C e 150 rpm (agitador mecânico TE 421- Tecnal) e utilizando 0,05 g de carvão em 50 mL de solução de metronidazol a 200 mg L⁻¹.

2.2.3 Avaliação de pH, temperatura e agitação

Após a escolha do melhor carvão na adsorção do metronidazol, realizou-se testes para avaliar o pH, a temperatura e a agitação para serem utilizados no decorrer dos experimentos cinéticos. A adsorção do metronidazol no carvão da casca do coco babaçu foi realizada em batelada, na qual uma massa de 0,05 g do carvão foi adicionada em Erlenmeyer de 125 mL e adicionado 50 mL da solução de metronidazol e o frasco foi vedado com papel filme. Essa mistura permaneceu em agitador mecânico (TE 421- Tecnal) durante 24 horas mantendo fixa duas condições para a avaliação de apenas uma condição isolada.

Uma solução de metronidazol na concentração de 200 mg L⁻¹ foi dividida em 9 partes e em cada uma delas o pH foi ajustado para 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10, utilizando HCl 1 mol L⁻¹ ou NaOH 1 mol L⁻¹ com auxílio de um pHmetro (Marte MB10). Primeiramente o pH das soluções foram avaliados sob a velocidade de agitação de 150 rpm e a temperatura de 40°C para avaliar a influência apenas dos pHs da solução na adsorção do metronidazol no CCCB.

A influência das temperaturas de 40°C e 50°C na adsorção do metronidazol foi avaliada, neste teste o pH da solução do metronidazol não foi ajustado e a velocidade de agitação foi fixada a 150 rpm.

Por último a velocidade de agitação, que também é um dos fatores que altera a adsorção, foi variada de 100 rpm e 150 rpm, sem ajuste de pH e com temperatura de 40°C, a fim de estudar a influência da agitação na adsorção do metronidazol.

As condições em que a taxa de adsorção foi mais eficiente, foram escolhidas para realização do estudo cinético e de equilíbrio de adsorção.

2.3 Ponto de carga zero

Utilizou-se o “experimento dos 11 pontos” [44] para a determinação do ponto de carga zero do carvão da casca do coco babaçu. O experimento foi realizado ajustando o pH de 50 mL de 11 soluções de cloreto de sódio a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11. Em cada solução foi adicionado 0,05 g do CCCB, elas permaneceram sob agitação a 150 rpm e 40°C durante 24 horas, posteriormente o pH final dessas amostras foi avaliado com o auxílio de um pHmetro (Marte MB10).

2.4 Fissiorção de N_2

A área superficial do carvão da casca do coco babaçu foi determinada pela fissiorção de N_2 utilizando o equipamento BET NOVA 1200e, da marca Quantachrome, as isotermas de adsorção e dessorção de N_2 foram obtidas na temperatura do nitrogênio líquido em ebulição a 77,3 K, com um tempo de equilíbrio de 60 segundos e uma massa de 0,0279 g da amostra. O modelo utilizado para o ajuste dos dados da isoterma foi BET (Brunauer-Emmet-Teller), Barret, Joynere, Halenda (BJH) DubininRadushkevich (DR).

2.5 Testes cinéticos

Os testes cinéticos foram conduzidos utilizando um dissolutor (Sotax) Figura 2.1- A, nas temperaturas de 30, 40 e 45°C e com as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} de metronidazol e com velocidade de agitação constante de 150 rpm.

Foi adicionado 1000 mL de cada solução de metronidazol nas concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} em quatro cubas do dissolutor e após atingir a temperatura desejada, adicionou-se 1,0 g de carvão em cada cuba para dar início na realização das cinéticas. Uma alíquota de cada amostra nas variadas concentrações foi coletada nos tempos de 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 12, 15, 17, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 75, 90, 105, 120, 150, 180, 360, 540, 780, 781, 1200, 1440, 1800 e 2280 minutos. Todas as amostras após a coleta foram filtradas em filtro PET de $0,45 \mu\text{m}$ (Figura 2.1- B) e analisadas em HPLC (Shimadzu, modelo Prominence,

série 20). Para cada amostra, foi calculado a capacidade de adsorção em mg g^{-1} do metronidazol adsorvido no CCCB em todos os tempos de coletas, utilizando a Equação 1.13

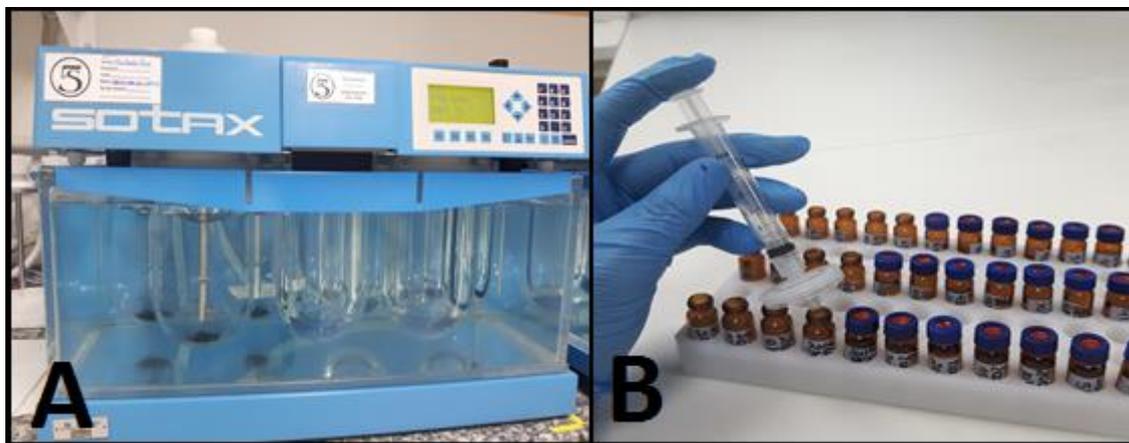


Figura 2.1: Processo utilizado na realização do estudo de adsorção. A) Dissolutor Sotax utilizado para a realização das cinéticas; B) Procedimento de filtragem da amostra antes de ser analisada em HPLC.

2.6 *Estudo de equilíbrio*

A obtenção de das isotermas de adsorção foram feitas mantendo fixos os parâmetros: concentração do adsorvato, volume de amostra, temperatura e agitação do meio. Apenas a quantidade de adsorvente adicionada em cada amostra foi variada. Sendo assim, foram realizados três isotermas de adsorção em batelada, nas concentrações de 200, 400 e 600 mg L^{-1} de metronidazol, utilizando temperatura de 40°C, agitação de 150 rpm e um volume de 50 mL de solução. Para cada concentração de metronidazol massa do carvão foi variada conforme é apresentado na Tabela 2.2. Para as concentrações de 200 e 400 mg L^{-1} foram pesadas massas do CCCB que variaram no intervalo de 0,05 até 0,50 g, já para a concentração de 600 mg L^{-1} o intervalo de massa pesada foi de 0,01 até 0,50 g.

As amostras permaneceram sob agitação e temperatura constante durante 24 horas, após esse período foram filtradas em filtro PET de 0,45 μm e analisadas utilizando um HPLC da Shimadzu.

Tabela 2.2: Massa pesada do CCCB no preparo das amostras para a análise da isoterma de adsorção nas concentrações de 200, 400 e 600 mg L⁻¹ de metronidazol.

Massa do carvão (g)	Volume da Solução de Metronidazol (mL)	Solução (200 mg L ⁻¹)	Solução (400 mg L ⁻¹)	Solução (600 mg L ⁻¹)
0,01	50	-	-	Sim
0,02		-	-	Sim
0,03		-	-	Sim
0,04		-	-	Sim
0,05		Sim	Sim	Sim
0,07		Sim	Sim	Sim
0,10		Sim	Sim	Sim
0,15		Sim	Sim	Sim
0,20		Sim	Sim	Sim
0,25		Sim	Sim	Sim
0,30		Sim	Sim	Sim
0,35		Sim	Sim	Sim
0,40		Sim	Sim	Sim
0,45		Sim	Sim	Sim
0,50		Sim	Sim	Sim

2.1 Metodologia de análise: Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

A quantificação do metronidazol nas análises cinéticas foi realizada utilizando metanol 20% como fase móvel, fluxo de 0,9 mL minuto⁻¹ e coluna cromatográfica do tipo C18 x 150 mm x 4,6 mm x 5,0 µm da marca Agilent XDB, sem temperatura no forno e com volume de injeção de 5 µL, o equipamento utilizado para as análises foi um Shimadzu, modelo Prominence, série 20.

2.1.1 Validação do método de análise

A metodologia para a quantificação do metronidazol por HPLC, foi desenvolvida e validada conforme exigido pela RDC 166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA, em que preconiza a realização dos testes de precisão, exatidão, linearidade,

seletividade e limite de quantificação. Adicionalmente foi realizado o teste para verificação da estabilidade da molécula em solução. Estes testes de validação de método analítico devem demonstrar que o mesmo produz resultados confiáveis e é adequado para a quantificação de metronidazol em solução aquosa. Para as análises da validação, utilizou-se o padrão de referência da farmacopeia americana USP, lote J1I272 (certificado Apêndice 3) para quantificação das amostras, o padrão foi cedido pela Empresa Prati Donaduzzi.

2.1.2 Linearidade

A linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra [45], ou seja, ao aumentar a concentração do analito a resposta deve aumentar na mesma proporção.

Esse teste foi avaliado na faixa de 10 a 950 mg L⁻¹ de metronidazol em solução aquosa. Realizou-se as diluições conforme a Tabela 2.3, a partir de três soluções estoque de concentração igual a 1000 mg L⁻¹ que por sua vez foram preparadas a partir da pesagem de 50 mg do padrão de metronidazol para balão volumétrico de 50 mL, diluído em água destilada e agitado até se obter uma solução homogênea.

Tabela 2.3: Diluições das amostras para avaliação da linearidade do método de análise de metronidazol por HPLC.

Solução Estoque (mg L⁻¹)	Volume da Sol Estoque (mL)	Balão volumétrico (mL)	Concentração (µg/mL)
1000	0,1	10	10
	1,0		100
	2,0		200
	3,0		300
	5,0		500
	7,5		750
	9,5		950

2.1.3 Precisão

A precisão deve avaliar a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado [45], neste trabalho a precisão da metodologia de quantificação do metronidazol por HPLC foi avaliada a partir de seis soluções de MTN a 400 mg L^{-1} preparadas pela pesagem independente de 40 mg da matéria-prima de metronidazol e diluídas em 100 mL de água destilada. A recuperação destas amostras foi calculada comparando com um padrão de referência farmacopeico (USP) que também foi preparado na concentração de 400 mg L^{-1} pela pesagem de 4 mg do padrão para balão volumétrico de 10 mL e diluído em água destilada. Em um segundo dia os padrões e as amostras foram preparados novamente por analista diferente e analisadas em equipamento diferente, para verificação da precisão intermediária.

2.1.4 Exatidão

A exatidão de um método analítico deve ser obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. Deve ser verificada a partir de no mínimo nove determinações contemplando o intervalo linear do método, ou seja, três concentrações, baixa, média e alta [45].

Foram preparados dois padrões (USP) a partir da pesagem de 4 mg para balão volumétrico de 10 mL e diluído em água destilada. E a avaliação da exatidão foi feita pelo preparo soluções de metronidazol nas concentrações de 10, 500 e 950 mg L^{-1} , preparadas em triplicata a partir de três soluções estoque de metronidazol que foram preparadas pela pesagem de 50 mg do padrão de metronidazol para balão volumétrico de 50 mL sendo diluída em água destilada.

As amostras em baixa concentração foram preparadas pela diluição de 0,1 mL da solução estoque para balão volumétrico de 10 mL. As amostras na concentração média foram diluídas a partir de 5 mL da solução estoque para balão volumétrico de 10 mL. As amostras na concentração alta foram preparadas pela

diluição de 9,5 mL da solução estoque para balão volumétrico de 10 mL. Todos os balões volumétricos foram avolumados com água destilada.

Todas as amostras foram filtradas em filtro PET 0,45 um e analisadas em HPLC.

2.1.5 Seletividade

A seletividade da metodologia foi verificada utilizando dois compostos semelhantes: o secnidazol Figura 2.2- A e o tinidazol Figura 2.2-B, estes dois compostos possuem estruturas moleculares muito parecidas com a estrutura molecular do metronidazol, podendo assim avaliar a seletividade do método, ou seja, a capacidade do método cromatográfico de separar estes compostos que são estruturalmente semelhantes.

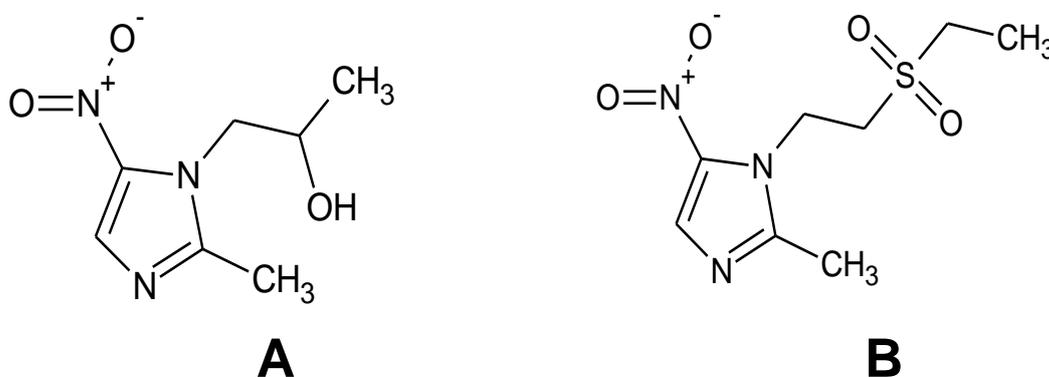


Figura 2.2: Estrutura molecular; A) secnidazol; B) tinidazol.

2.1.6 Limite de quantificação

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. A relação do sinal *versus* o ruído do limite de quantificação deve ser de no mínimo 10:1. Esse parâmetro foi avaliado através do resultado de sinal ruído obtido das amostras de menor concentração da linearidade.

2.1.7 Estabilidade da amostra

Foi avaliada a estabilidade de duas soluções de metronidazol na concentração de 400 mg L⁻¹, durante 45 dias, uma solução permaneceu por todo o período sob radiação de luz Led, a segunda amostra permaneceu por 15 dias sob radiação de luz UV e mais 30 dias sob radiação de luz Led. Ao final dos 45 dias as amostras foram analisadas juntamente com uma solução de MTN na mesma concentração preparada no mesmo dia da análise e as áreas dos picos de metronidazol em todas as amostras foram comparadas.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Testes iniciais

3.1.1 Calibração do Espectrofotômetro UV-Vis- avaliação estatística

Para os testes preliminares de adsorção, foi necessário construir uma curva de calibração do metronidazol no Espectrofotômetro UV-Vis, essa curva foi utilizada para os cálculos da quantidade de metronidazol adsorvida no CCCB, que foi construída a partir de três curvas analíticas com seis níveis de concentração (1, 5, 10, 15, 20 e 24 mg L⁻¹) que foram diluídos a partir de três soluções estoque de 200 mg L⁻¹, compreendendo o intervalo de 1 a 24 mg L⁻¹ de metronidazol em solução aquosa.

Para avaliar a resposta linear do intervalo de concentração estudado, foi feito a verificação da curva pelo método da ANOVA, posteriormente os testes estatísticos de Cochran e Grubbs também foram aplicados. A Figura 3.1 apresenta a curva analítica e a equação da reta obtida para o metronidazol.

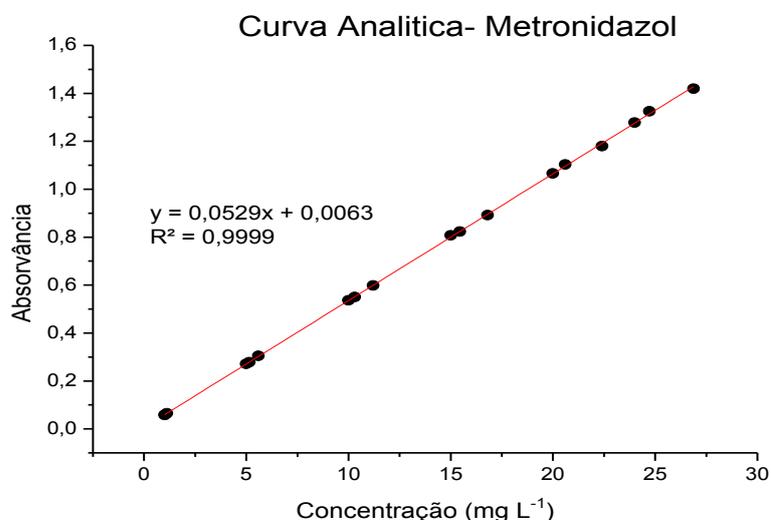


Figura 3.1: Resposta analítica da absorção do metronidazol em relação com a concentração no espectrofotômetro UV-Vis e a equação da reta obtida.

O coeficiente de determinação (R^2) para a curva de calibração foi maior do que 0,99, demonstrando a existência de uma correlação linear entre os valores de concentração e de absorvância das amostras de metronidazol, evidenciando que o método de quantificação por espectrofotômetro UV-Vis foi linear até o valor 1,5 para a absorvância da molécula de metronidazol.

A equação obtida ($y = 0,0529x + 0,0063$), foi utilizada para a avaliação da concentração das amostras de metronidazol no estudo inicial de adsorção, no qual y é o valor de absorvância obtido pela leitura no espectrofotômetro UV-Vis e o x é o valor da concentração.

Para avaliar estatisticamente a curva analítica, aplicou-se o teste de ANOVA, depois o teste de Cochran e por último o teste de Grubbs. A Figura 3.2, mostra o gráfico de resíduos.

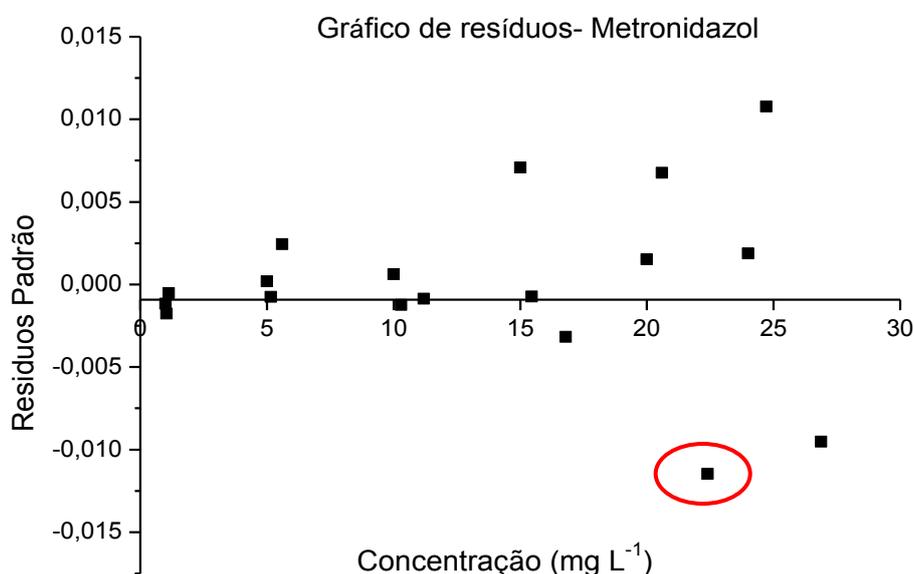


Figura 3.2: Gráfico da análise de resíduos da curva analítica para quantificação das amostras de metronidazol.

O gráfico de resíduos visualmente apresenta tendência de aumentar com o aumento da concentração, entretanto, para avaliar a distribuição normal dos dados,

aplicou-se o teste estatístico de Grubbs em que compara a distância medida em desvios padrão do valor suspeito em relação à média do conjunto de valores. (o valor suspeito é incluído no cálculo da média e do desvio padrão). Se essa distância for maior que um certo limite crítico tabelado, o valor suspeito é considerado anômalo [46], ou seja, o ponto é considerado um outlier.

Aplicando o teste para o ponto 14 (destacado na Figura 3.2), em que visualmente é o ponto com o maior valor de resíduo, encontrou-se um valor de G_{cal} igual a 2,2, o G_{Tab} ao nível de significância de 5% para um número de amostras igual a 18, é 2,5 conforme apresentado na tabela de Grubbs no Apêndice 2. Dessa forma rejeita-se a hipótese de que o ponto 14 é um ponto anômalo.

Para provar a homocedasticidade da curva analítica, foi realizado o teste de Cochran, no qual o mesmo determina se existe uma diferença entre as variâncias de um grupo de amostras. O C_{cal} encontrado para a curva foi de 0,264 que é um valor menor do que o C_{Tab} ao nível de significância de 5% que é 0,6161, conforme apresentado na tabela de Cochran no Apêndice 1, mostrando a inexistência de pontos fora da curva analítica, assim provando que a curva analítica é adequada para os cálculos da concentração adsorvida de metronidazol no CCCB utilizados nos testes iniciais deste trabalho.

3.1.2 Seleção do adsorvente

Flores-Cano e colaboradores, realizaram a adsorção do metronidazol em batelada no carvão produzido pelo resíduo de café e no carvão da casca de amêndoa, utilizando 100 mL das soluções de metronidazol nas concentrações de 25, 50, 100 e 250 mg L⁻¹, 0,1 g do carvão, agitação constante e temperatura de 25°C [47]. Esse trabalho foi utilizado como base inicial para os experimentos de adsorção do metronidazol nos carvões da casca da castanha, casca da soja, resíduo ósseo de tilápia e da casca do coco babaçu. Entretanto, para diminuir a quantidade de resíduos gerados, utilizou-se apenas 50 mL da solução de MTN a 200 mg L⁻¹ sem ajuste de pH e 0,05 g dos carvões. Após de 24 horas sob temperatura de 40°C e 150 rpm de agitação constante, as amostras foram centrifugadas à 1500 rpm por 5 minutos, retirado alíquotas do sobrenadante, diluídas para ficar dentro da faixa da concentração linear do método (1 a 24 mg L⁻¹). As amostras foram analisadas por meio do

espectrofotômetro UV-Vis e a capacidade de adsorção de cada carvão foi calculada através da curva analítica ($y = 0.0529x + 0.0063$) e da Equação 1.11. Os resultados da quantidade de metronidazol adsorvida em cada carvão estão descritos na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Capacidade de adsorção do metronidazol em diferentes carvões, utilizando 40°C, 150 rpm 50 mL da solução de MTN a 200 mg L⁻¹ e 0,05 g do carvão.

Tipo do carvão	q (mg g⁻¹)	DPR (%)¹
Casca castanha	67	2,3
Casca da soja	47	1,5
Resíduo ósseo de Tilápia	6	4,2
Casca do coco babaçu	118	3,5

1- Desvio padrão relativo

O carvão que apresentou menor eficiência na remoção do MTN foi o carvão do resíduo ósseo de Tilápia, já o melhor resultado observado foi utilizando o carvão da casca do coco babaçu que foi escolhido para dar continuidade aos experimentos de adsorção.

A capacidade de adsorção encontrada por Flores-Cano e colaboradores variou de aproximadamente 65 a 152 mg g⁻¹ de carvão (0,38 a 089 mM g⁻¹) [47]. Já para Carrales-Alvarado e colaboradores, a capacidade de adsorção do metronidazol nos carvões ativados F400, ACF, CMK-3, MWCNT, variaram de 49,8 a 249,2 mg g⁻¹ do carvão, utilizando pH= 7 e temperatura de 25°C [11]. Com os resultados encontrados na literatura observa-se que a capacidade de adsorção do carvão do CCCB está dentro da faixa dos resultados encontrados na literatura.

3.1.3 Avaliação do pH da solução/ pH_{pCZ}

O processo de adsorção é completamente dependente do pH da solução, pois o pH influencia a carga superficial do adsorvente e o equilíbrio de ionização do soluto. Para avaliar a relação entre a adsorção e o pH da solução, realizou-se testes com alteração do pH da solução do metronidazol a 200 mg L⁻¹, utilizando HCl 1 M e NaOH 1 M, até atingir os pHs de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12. A adsorção foi realizada utilizando temperatura de 40° C e 150 rpm de agitação durante 24 horas e

os resultados da variação do pH em função da quantidade de mg de metronidazol adsorvida a cada grama do carvão são mostrados na Figura 3.3.

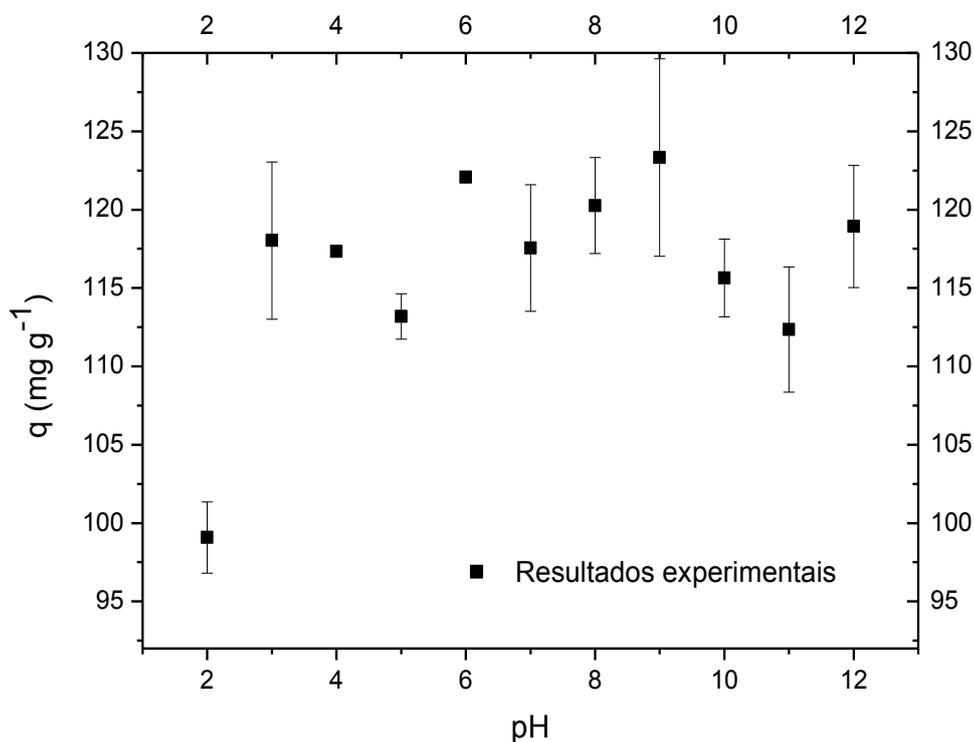


Figura 3.3: Comportamento da quantidade adsorvida q (mg g^{-1}) como função do pH da solução quando a temperatura e agitação foram fixadas a 40°C e 150 rpm, respectivamente.

Podemos observar que a eficiência de remoção do metronidazol pelo CCCB não foi afetada significativamente quando o pH varia na faixa de 3 a 11. Entretanto uma menor eficiência de remoção foi observada em solução de pH 2, o que poderia ser causado pela protonação do MNZ e pela interação eletrostática repulsiva entre as superfícies positivas / negativas do adsorvente [36], pois a molécula de metronidazol quando em solução com $\text{pH} = 2$, fica carregada positivamente com o grupo amina na forma protonada (NH^+). Essa variação, pode ser justificada pelo pH_{pcz} do carvão (Figura 3.4), no qual foi obtido um valor de 5,3, esse resultado é necessário para avaliar o comportamento da carga superficial do carvão.

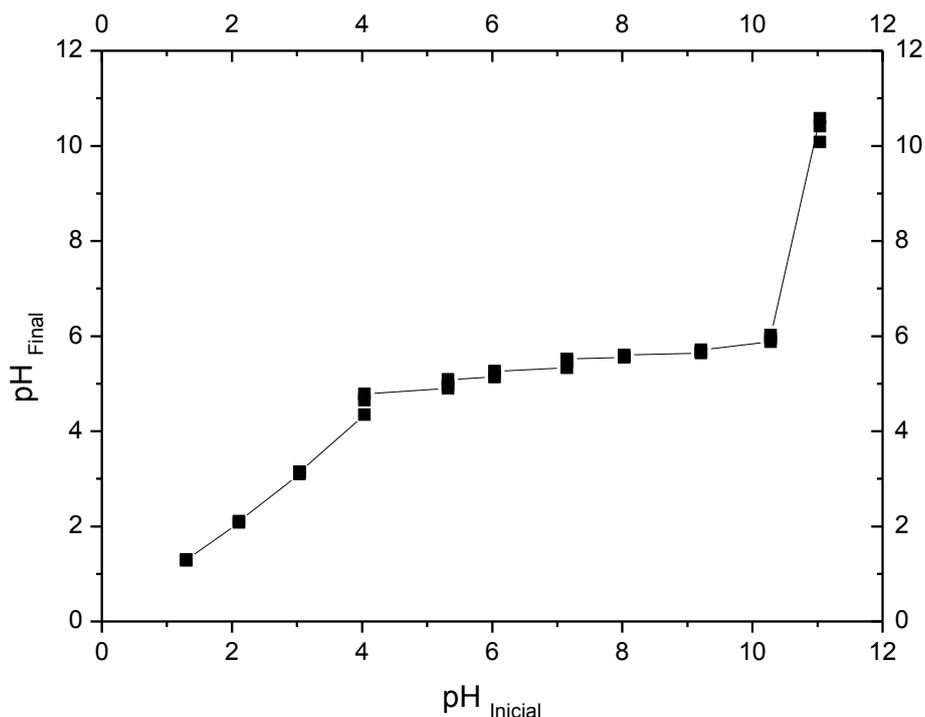


Figura 3.4: Análise do ponto de carga zero para o carvão da casca do coco babaçu.

O carvão da casca do coco babaçu, quando em contato com uma solução aquosa com $\text{pH} \leq \text{pH}_{\text{pcz}}$, tende a adsorver moléculas carregadas negativamente, pois a superfície do carvão está carregada positivamente, e quando o $\text{pH} \geq \text{pH}_{\text{pcz}}$ o carvão fica com a superfície carregada negativamente e tende a adsorver moléculas carregadas com carga positiva [40], justificando a menor adsorção quando a solução está com $\text{pH} = 2$, ou seja, menor do que o pH_{pcz} .

Tendo em vista que o pH da solução do metronidazol sem ajuste fica na faixa de 7.5 a 8.5 dependendo da concentração e que para este valor foi obtido um bom resultado na adsorção, os testes posteriores foram realizados utilizando a solução de metronidazol sem ajuste de pH.

3.1.4 Avaliação da Temperatura e Agitação na adsorção

O teste de temperatura (40 e 50°C) foi realizado utilizando agitação de 150 rpm, 50 mL da solução de metronidazol (200 mg L⁻¹) sem ajuste de pH e 0,05 g do carvão. E o teste de agitação (100 e 150 rpm) foi realizado utilizando a temperatura

de 40°C, 50 mL da solução de metronidazol (200 mg L⁻¹) sem ajuste de pH e 0,05 g do carvão.

Os resultados para a variação da temperatura e para a velocidade de agitação são mostrados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Resultado dos testes de Agitação e de temperatura

Condição fixa	Varição	q (mg g ⁻¹)	DPR (%)
Temperatura 40°C	100 rpm	112	± 2,5
	150 rpm	123	± 3,0
Agitação 150 rpm	40° C	119	± 1,9
	50° C	126	± 4,4

A variação dos resultados de q (mg g⁻¹) entre as amostras foi muito pequena, obtendo uma menor taxa de adsorção para a condição de 40°C e 100 rpm. As demais condições testadas não são significativamente diferentes, dessa forma, optou-se por utilizar o pH normal da solução de metronidazol que varia de 7,5 a 8,5 dependendo da sua concentração e uma temperatura de 40°C e 150 rpm de agitação.

3.2 Avaliação do adsorvato/ adsorvente por IR

Estudar os grupos funcionais presentes nos materiais adsorventes é de extrema importância para possibilitar uma melhor verificação dos mecanismos de adsorção, pois os grupos funcionais orgânicos podem atuar como sítios de adsorção. Utiliza-se para a caracterização de adsorventes por IR a região do infravermelho médio que equivale aos números de onda de 4000 até 400 cm⁻¹ [49].

Para avaliar efetividade da adsorção do metronidazol no CCCB, foi realizado a avaliação da absorção no infravermelho do carvão antes da adsorção da molécula de metronidazol (Figura 3.5- A), apenas da molécula do antibiótico (Figura 3.5- B) e por último do carvão após a adsorção do metronidazol (Figura 3.5- C). O IR do carvão sem adsorver (Figura 3.5- A), não traz informação de grupos funcionais, já a absorção no IR do metronidazol (Figura 3.5-B), mostra claramente todas as bandas características de absorção da molécula do metronidazol. A banda larga em 3200 cm⁻¹

¹, mostra o estiramento do OH (Álcool) da molécula de metronidazol, a banda fina em aproximadamente 3100 cm^{-1} , é característica do estiramento da ligação entre hidrogênio e carbono Sp^2 . A banda em 870 cm^{-1} é característica do estiramento entre carbono e nitrogênio, já as bandas em 1300 e 1550 cm^{-1} , estão relacionadas ao estiramento entre nitrogênio e oxigênio (NO_2) [48,41]. O espectro de IR do carvão após a adsorção do metronidazol (Figura 3.5-C), mostra as bandas características da molécula de metronidazol em uma intensidade bem pequena, devido à baixa concentração do metronidazol presente no carvão, entretanto as bandas que foram observadas mostra que a adsorção do metronidazol foi efetiva no carvão da casca do coco babaçu. Para uma melhor visualização das bandas características existentes no carvão sem adsorvem e após a adsorção do metronidazol, seria necessário a realização da análise de IR utilizando pastilha com KBr.

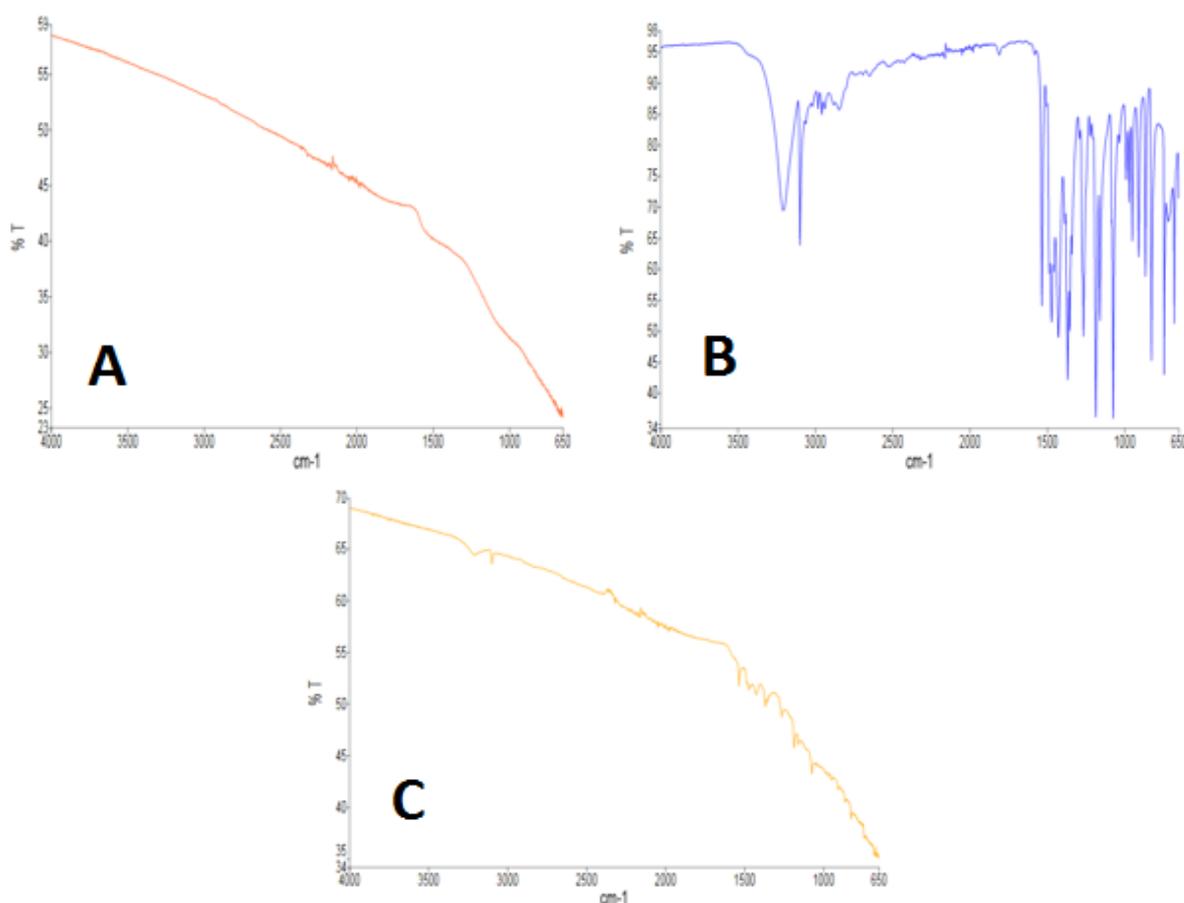


Figura 3.5: Espectro de absorção no infravermelho, A) carvão antes da adsorção; B) molécula do metronidazol; C) carvão após a adsorção.

3.3 Caracterização do carvão da casca do coco babaçu

No desenvolvimento de materiais adsorventes, a caracterização é essencial e importante tanto para avaliar o potencial da estrutura do material adsorvente na sua capacidade adsorptiva quanto para averiguar as possíveis interações físicas e/ou químicas entre o adsorvente e o adsorvato, entre outras. Sendo assim, foi realizada a análise de fisissorção de N₂ para o CCCB, no qual, foram obtidas isotermas por meio da adsorção não específica do nitrogênio pelo CCCB. O objetivo é estimar indiretamente o raio médio e volume total de poros e a área superficial total pela quantidade de gás adsorvida pelo seu volume, em condição padrão de temperatura e pressão, enquanto que a pressão é expressa pela pressão relativa P/P₀, que é a relação entre pressão de trabalho e a pressão de vapor do gás na temperatura utilizada. Os métodos de Brunauer-Emmet-Teller (BET), Barret, Joynere, Halenda (BJH) e Dubinin-Radushkevich (DR) são utilizados na determinação da área superficial, do volume do poro e do diâmetro do poro do adsorvente [49]. Os resultados obtidos na análise de fisissorção de N₂ do CCCB, são mostrados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Propriedades físicas do CCCB obtidas pela análise de fisissorção de N₂.

Parâmetro	Resultado
Área Superficial específica (S _{BET})	803 (m ² g ⁻¹)
Volume de poros (BJH)	52x10 ⁻³ (cm ³ g ⁻¹)
Diâmetro médio de poros (BJH)	3,1 (nm)

Observa-se pela Tabela 3.3, que o valor encontrado para a área superficial do CCCB foi de 803 m²g⁻¹, sendo uma área relativamente elevada dentro da faixa de valores (100-900 m²g⁻¹) encontrados para outros carvões na literatura [47], [11]. Flores-Cano e colaboradores, encontraram um valor de área superficial para o adsorvente do resíduo de café da ordem de 222 m² g⁻¹, para o carvão da casca de amêndoa tratada com H₂PO₄ e sem tratamento, o valor de área superficial encontrado foi de 104 m² g⁻¹ e 143 m² g⁻¹, respectivamente [47]. Valores de 919 m² g⁻¹ e 823 m² g⁻¹, foram encontrados para o carvão ativado F-400 por Carrales-Alvarado e colaboradores. Entretanto, esse carvão foi fabricado pela *Calgon Carbon Corporation* e comprado pelos autores, incrementando o custo para fins de tratamentos ambientais

[11]. Destas informações prévias, pode-se dizer que o CCCB pode ser amplamente aplicado na adsorção de fármacos entre outros.

A IUPAC faz uma classificação de materiais adsorventes por meio do diâmetro do poro encontrado em cada material. Quando esse valor é menor do que 2 nm significa que o material é microporoso; quando o valor encontrado está dentro da faixa de 2 à 50 nm o material é classificado como mesoporoso e quando o diâmetro do poro é maior do que 50 nm o material é macroporoso [50].

A análise de fisissorção de N_2 , gera isotermas de adsorção e dessorção, as quais podem ser classificadas segundo a IUPAC em 6 tipos, eles são apresentados na Figura 3.6. A isoterma do tipo I é característica de sólidos com microporos. A isoterma do tipo II é típica de materiais não porosos. A isoterma do tipo IV é dada por materiais mesoporosos. As isotermas do tipo III e V, são obtidas para sistemas em que moléculas do adsorvato apresentam maior interação entre si do que com o adsorvente. A isoterma do tipo VI acontece quando o adsorvente é um sólido não poroso de superfície quase uniforme [49]. A Figura 3.7, apresenta a isoterma de adsorção e dessorção do N_2 no CCCB.

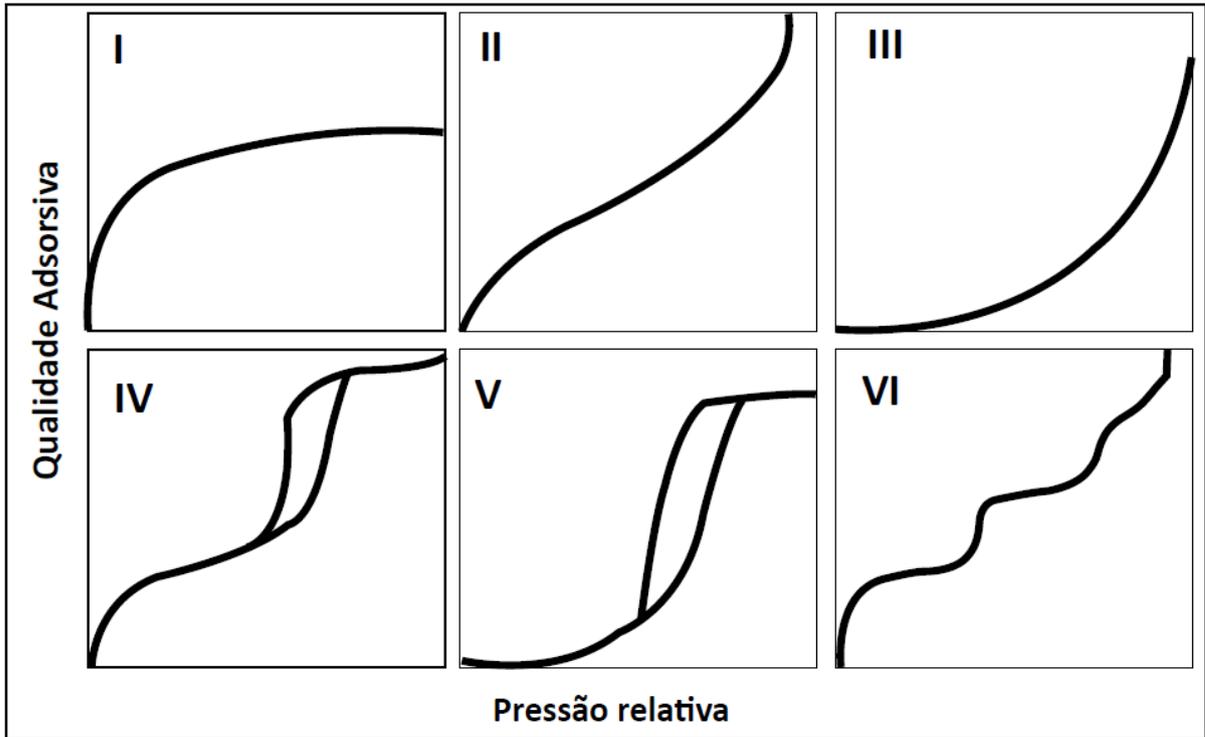


Figura 3.6: Classificação IUPAC para os tipos de isotermas [49].

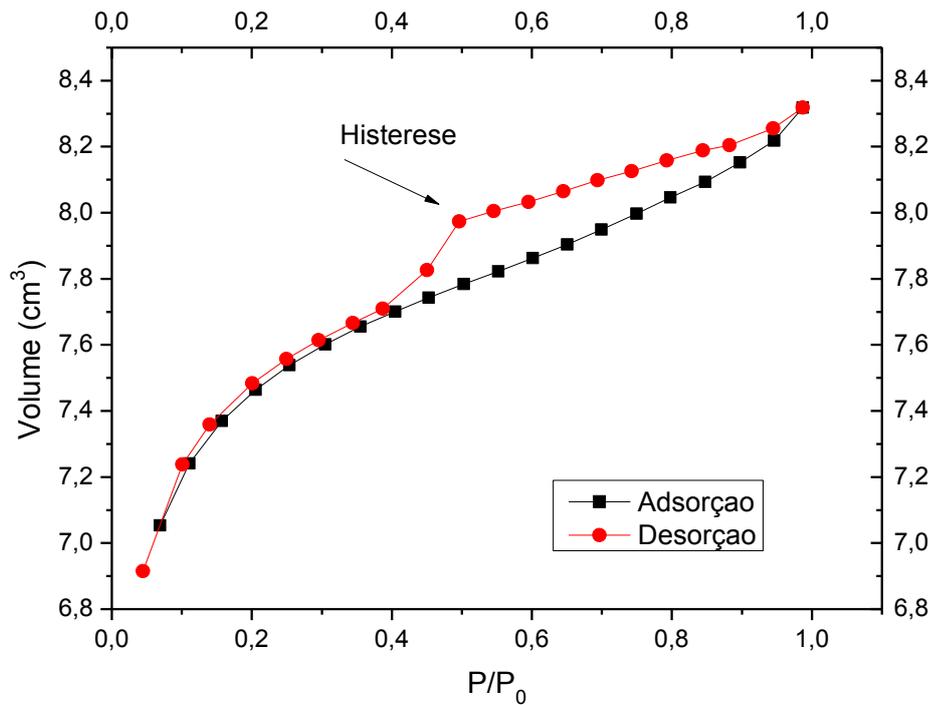


Figura 3.7: Isoterma de adsorção obtida pelo método de BET na análise de fissuração de N₂.

Por meio das classificações IUPAC para o diâmetro de poro e também para a característica da isoterma de adsorção/ dessorção de N₂, pode-se sugerir que o CCCB apresenta caráter de material mesoporoso, pois o mesmo possui um diâmetro de poro de 3,1 nm que está dentro da faixa que caracteriza a presença de mesoporos (2-50 nm) e também apresenta uma isoterma que se encaixa no tipo IV da classificação IUPAC (Figura 3.6), no qual aparece uma sobreposição das curvas de adsorção e dessorção (histerese) que também é uma particularidade destes materiais (Figura 3.7).

3.4 Testes cinéticos

A partir da análise dos dados de fissiosorção por N₂, o adsorvente testado mostrou grande área superficial que inclui a área externa e interna que correspondem aos macros e mesoporos. Essa porosidade se mostrou não uniforme com diâmetro de poros médio de 3,1 nm. Neste adsorvente há evidências de mesoporos e macroporos dentro da estrutura do CCCB, sugerindo que as superfícies internas desses diferentes tamanhos de poros têm a possibilidade de abrigar sítios onde possa acontecer o processo de adsorção física ou química. Porém, o acesso a todos os possíveis sítios do adsorvato e sua possível adsorção pode ser dependente de fatores tais como a temperatura do meio, a agitação e a concentração inicial do adsorvato.

Para reduzir a complexidade do estudo de adsorção do adsorvato metronidazol, foi necessário fixar a temperatura e a velocidade de agitação de modo a estudar a dependência puramente da concentração. Como o processo de adsorção nessas condições é extremamente dinâmico, isto é, há diferentes velocidades de difusão acontecendo nas diferentes zonas de adsorção que tornam a análise mais complexa, foi necessário fazer um estudo cinético do processo de adsorção. Mediante diversos experimentos cinéticos em diferentes condições de adsorção (temperatura, agitação e concentração) é possível descrever o processo de adsorção do metronidazol em diferentes perspectivas.

Sabe-se que o processo pode ocorrer através de três etapas, a primeira etapa é chamada de transferência de massa externa, que corresponde a transferência das moléculas da fase fluida para a superfície externa do adsorvente, a segunda etapa é a difusão no poro, onde ocorre a difusão das moléculas do fluido para o interior dos

poros e a terceira etapa a é difusão na superfície, que corresponde à difusão das moléculas totalmente adsorvidas para as camadas mais internas do adsorvente [49].

Foi feito o estudo do comportamento cinético da difusão das moléculas de metronidazol no CCCB, considerando um conjunto de 12 experimentos nos quais os parâmetros temperatura e concentração inicial do adsorvato foram variados. A partir de testes preliminares, a melhor resposta de adsorção do metronidazol pelo CCCB foi encontrada na velocidade de agitação de 150 rpm, sendo esta utilizada em todos os experimentos cinéticos. Foram testadas 12 condições no processo de adsorção, combinando três temperaturas (30, 40 e 45°C) e quatro concentrações (200, 400, 650 e 850 mg L⁻¹). Em todos os experimentos foram considerados tempos bem longos de até 40 h, de modo a garantir estar bem acima do tempo mínimo que se atinge o equilíbrio. Para cada temperatura, foram obtidos os dados cinéticos de adsorção para cada concentração inicial do metronidazol pelo CCCB.

3.4.1 Comportamento da adsorção com a concentração inicial do metronidazol

Na Figura 3.8, Figura 3.9 e Figura 3.10 observa-se que há uma adsorção muito rápida nas primeiras 4 horas de reação para as quatro concentrações iniciais consideradas e para as três temperaturas, evidenciando uma taxa de adsorção muito rápida do metronidazol no CCCB e decaindo com o decorrer do tempo de contato do adsorvato com o adsorvente até atingir um patamar de taxa quase nula para tempos acima de 20 h que deve corresponder ao mesmo tempo de equilíbrio para as quatro concentrações. No entanto, as quantidades de metronidazol em cada intervalo de tempo de contato, são relativamente diferentes quando levadas em conta as quatro concentrações testadas. Além disso, os valores máximos de metronidazol acumulados no CCCB até o tempo de equilíbrio dependeram da concentração inicial de metronidazol conforme apresentado na Tabela 3.4, de modo que há uma maior quantidade acumulada para a condição de maior concentração inicial do adsorvato. Isto pode ser explicado se houver uma limitação interna (macro e mesoporos) à adsorção do metronidazol, enquanto a camada externa não é limitante e oferece maior possibilidade de adsorção em multicamadas, cujo efeito seria o deslocamento do patamar de equilíbrio conforme aumenta a concentração inicial testada.

Tabela 3.4: Taxas de adsorção obtidas no tempo de equilíbrio para as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L⁻¹ nas temperaturas de 30, 40 e 45°C.

Concentração (mg L ⁻¹)	q (mg g ⁻¹) 30°C	q (mg g ⁻¹) 40°C	q (mg g ⁻¹) 45°C
200	87	85	87
400	97	106	109
650	105	114	112
850	102	138	101

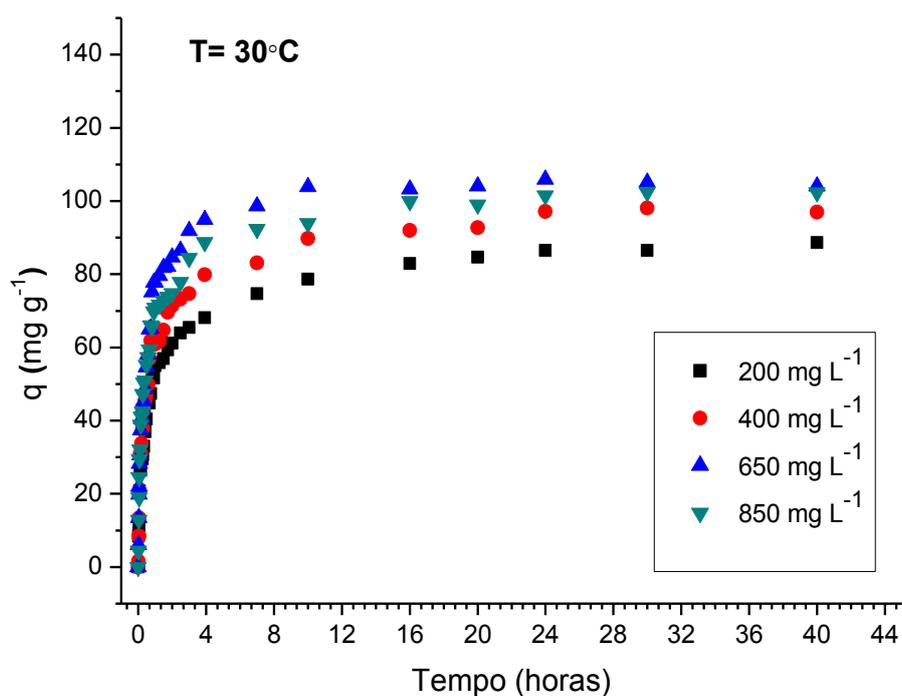


Figura 3.8: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para 4 concentrações: 200, 400, 650 e 850 mg L⁻¹, mantendo controlados a temperatura de 30°C e agitação de 150 rpm.

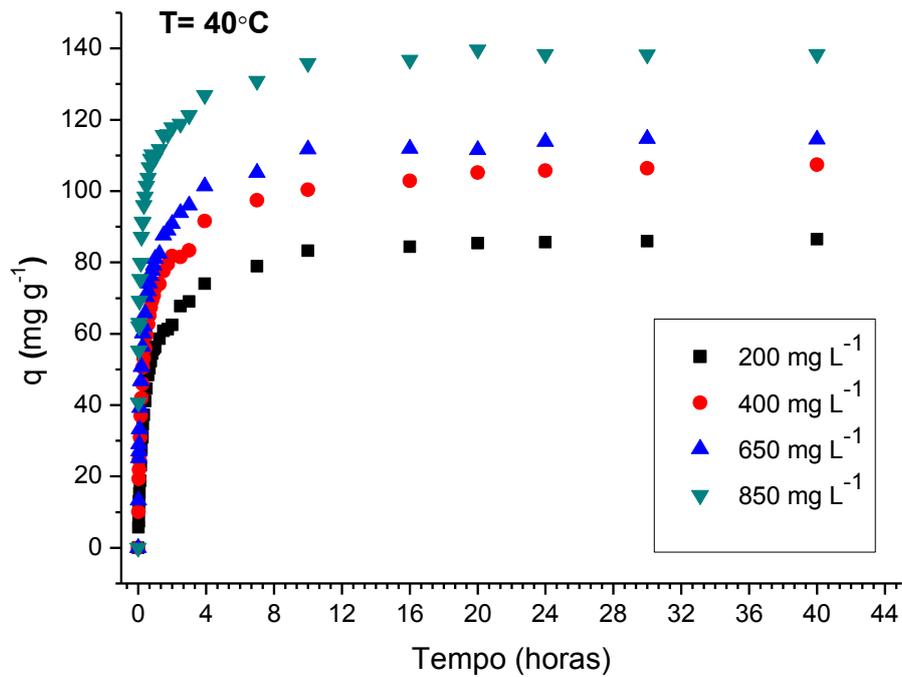


Figura 3.9: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para 4 concentrações: 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} , mantendo controlados a temperatura de 40°C e agitação de 150 rpm.

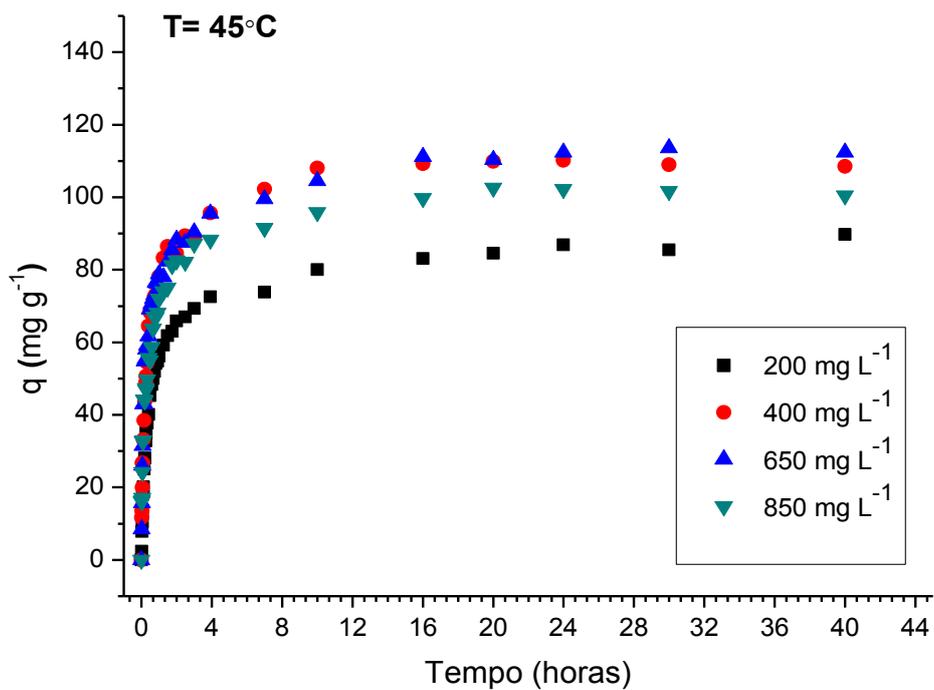


Figura 3.10: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para 4 concentrações: 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} , mantendo controlados a temperatura de 45°C e agitação de 150 rpm.

Fazendo uma comparação entre as Figuras apresentadas acima e também pela avaliação dos resultados apresentados na Tabela 3.4, pode-se dizer que para as cinéticas realizadas à 30°C o aumento da concentração inicial de metronidazol acarretou em um acréscimo da taxa de adsorção até a concentração de 650 mg L⁻¹ e quando a concentração é ainda maior (850 mg L⁻¹) foi observado que a adsorção manteve-se praticamente constante, isso pode ser justificado pela baixa energia que o sistema oferece para a reação de adsorção, sendo insuficiente para melhorar a taxa de metronidazol adsorvida no CCCB. Para os dados cinéticos obtidas sob temperatura de 40°C, houve um significativo acréscimo na taxa de adsorção com o aumento da concentração inicial do metronidazol, podendo ser facilmente observado pelo comportamento apresentado na Figura 3.9. O estudo cinético executado com a temperatura constante de 45°C, apresentou um pior resultado para a concentração inicial mais elevada de metronidazol (850 mg L⁻¹), isso pode ser justificada pelo aumento na energia cinética do sistema causando uma maior desordem entre as moléculas de metronidazol afetando negativamente a capacidade adsortiva do CCCB.

A partir destes resultados fica evidente que a temperatura de 40°C apresentou maior eficiência entre as temperaturas estudadas (30, 40 e 45°C) na remoção do metronidazol pelo CCCB. Para essa temperatura a primeira etapa da adsorção (transferência de massa externa) foi afetada pela concentração do adsorvato, ou seja, com o aumento das concentrações iniciais de metronidazol foi observado um aumento na difusão das moléculas da solução para a superfície do carvão da casca do coco babaçu.

3.4.2 Comportamento de adsorção com a temperatura

A Figura 3.11, à Figura 3.14 relatam a mudança do comportamento da cinética de adsorção do metronidazol no CCCB com a alteração da temperatura do meio, mantendo fixa a concentração inicial do adsorvato em 200, 400, 650 e 850 mg L⁻¹ respectivamente.

Para a concentração 200 mg L⁻¹ (Figura 3.11), observou-se que não houve mudança na taxa de adsorção com a variação da temperatura, em que a taxa máxima de adsorção se manteve constante em aproximadamente 86 mg g⁻¹ para as três

temperaturas (30, 40 e 45°C), mostrando que para essa concentração a temperatura não foi um fator que afetou a taxa de adsorção.

Para as concentrações de 400 mg L⁻¹ (Figura 3.12), foi observado uma pequena melhora na adsorção com o aumento da temperatura, em que a taxa de adsorção máxima obtida para a concentração de 400 mg L⁻¹ foi de aproximadamente 97 mg g⁻¹ com temperatura de 30°C e quando a temperatura aplicada foi de 40 e 45°C a adsorção máxima obtida foi de aproximadamente 108 mg g⁻¹.

Para a alteração das temperaturas (30, 40 e 45°C) na concentração de 650 mg L⁻¹ (Figura 3.13) de metronidazol, praticamente não houve mudança na taxa de adsorção com o acréscimo da temperatura do sistema, no qual obteve-se uma taxa máxima de adsorção do metronidazol no CCCB de aproximadamente 105 mg g⁻¹ para a temperatura de 30°C e aproximadamente 108 mg g⁻¹ para as temperaturas de 40 e 45°C.

Já para a concentração de 850 mg L⁻¹ (Figura 3.14), obteve-se um significativo aumento na adsorção do metronidazol quando a temperatura aplicada ao sistema foi de 40°C, em que a quantidade adsorvida foi de 138 mg g⁻¹ de CCCB, enquanto que para as temperaturas de 30 e 45°C a adsorção foi de aproximadamente 101 mg g⁻¹, sugerindo que para grandes concentrações a adsorção pode estar ocorrendo na forma de aglomerados de moléculas de metronidazol e que a temperatura ótima para a formação dos aglomerados é de 40°C.

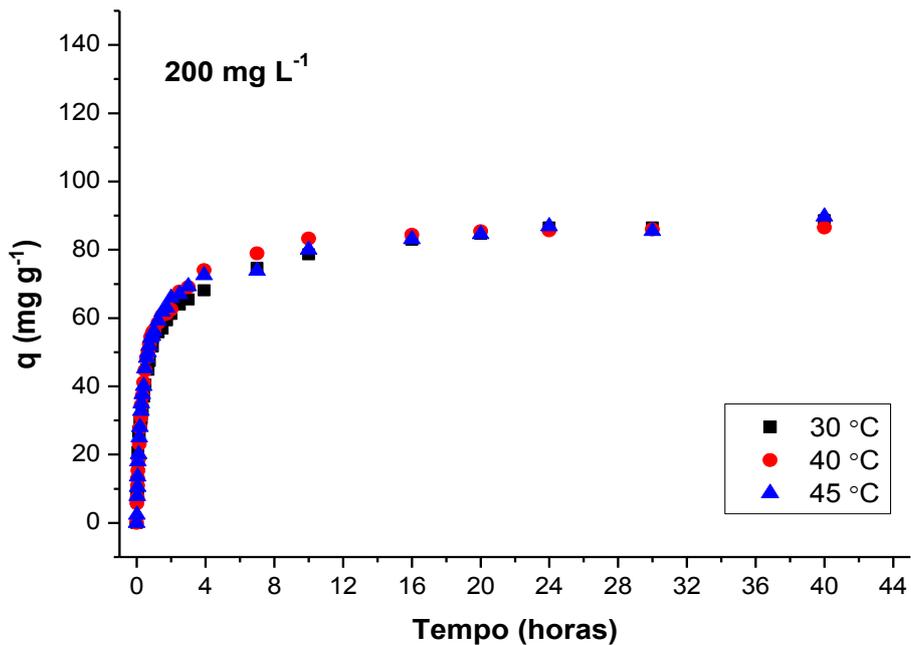


Figura 3.11: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para a concentração de 200 mg L⁻¹, mantendo controlado a agitação de 150 rpm e variando a temperatura de 30, 40 e 45°C.

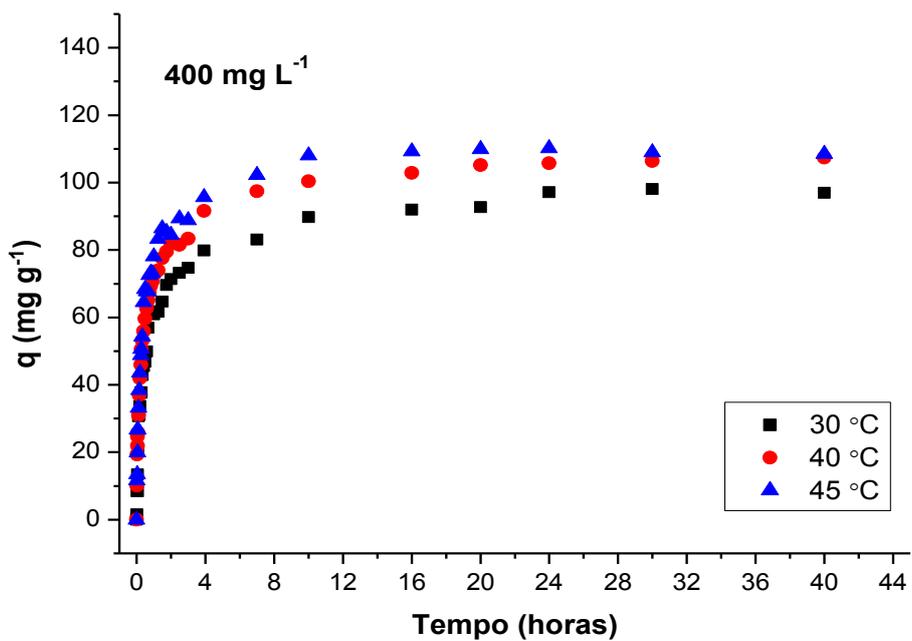


Figura 3.12: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para a concentração de 400 mg L⁻¹, mantendo controlado a agitação de 150 rpm e variando a temperatura de 30, 40 e 45°C.

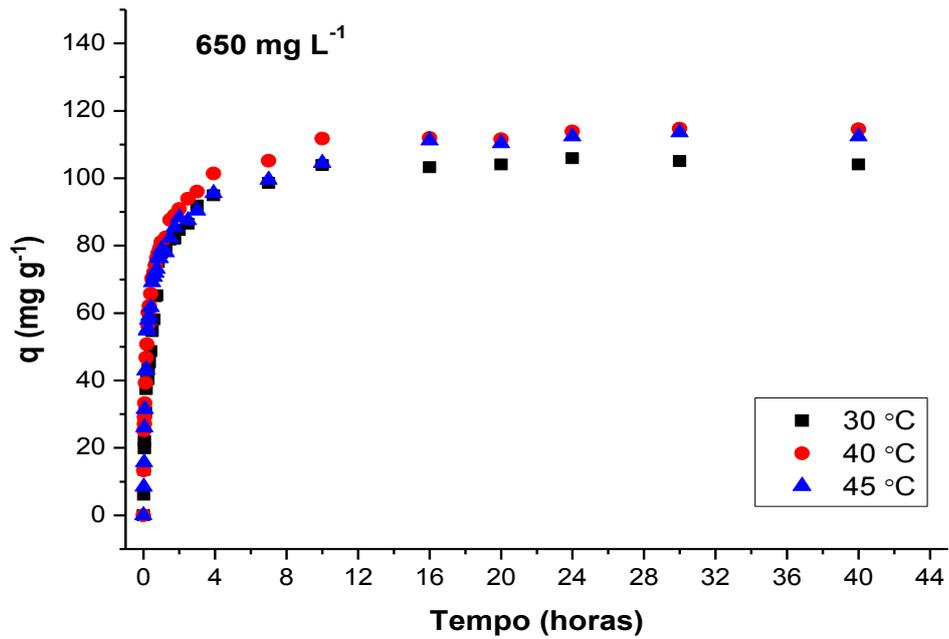


Figura 3.13: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para a concentração de 650 mg L⁻¹, mantendo controlado a agitação de 150 rpm e variando a temperatura de 30, 40 e 45°C.

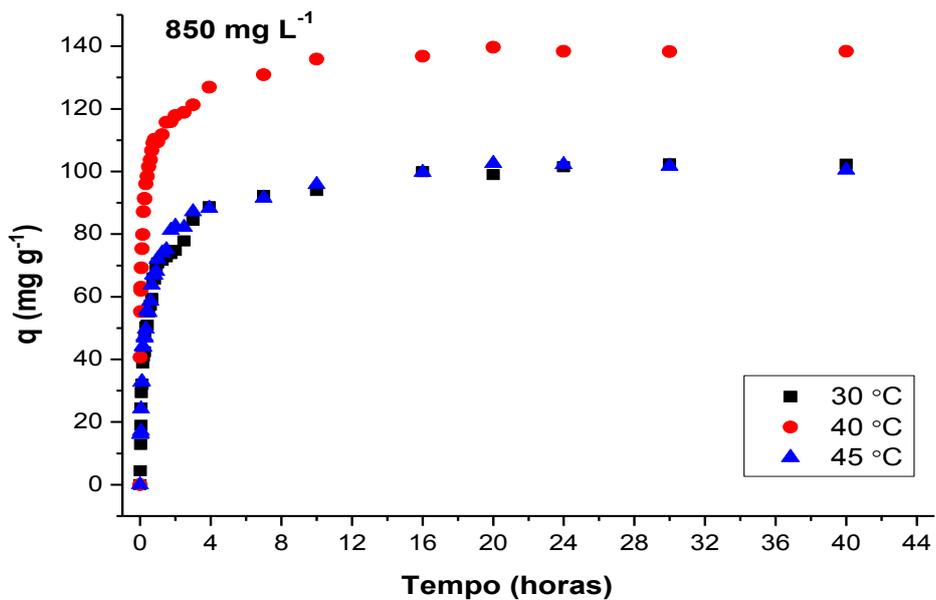


Figura 3.14: Comportamento cinético na adsorção do metronidazol pelo CCCB, para a concentração de 850 mg L⁻¹, mantendo controlados a agitação de 150 rpm e variando a temperatura de 30, 40 e 45°C.

3.5 Zonas de adsorção

Para um melhor entendimento dos processos de adsorção do metronidazol, aplicou-se aos resultados obtidos nos experimentos cinéticos o modelo de difusão intrapartícula [51]; ou seja, foram transformados em dados q vs $t^{1/2}$. Ao aplicar este modelo, as curvas suaves observadas na Figura 3.8 até Figura 3.14 mostraram respostas diferenciadas por zonas de difusão no processo de adsorção do metronidazol. Assim, a Figura 3.15, Figura 3.16 e Figura 3.17 apresentam o modelo de difusão intrapartícula aplicado às cinéticas quando foi mantida a temperatura constante, variado a concentração inicial do adsorvato.

Ao realizar a linearização dos dados cinéticos aplicando o modelo de difusão intrapartícula, foi possível destacar quatro regiões (I, II, III e IV) bem definidas, independentemente da temperatura e da concentração inicial, nos quais as partículas de adsorvato podem se difundir até encontrar os sítios de adsorção dentro dessas regiões; porém a difusão possui diferentes velocidades que decresce conforme se adentra nos poros do CCCB. A região I representa a transferência de massa do metronidazol da fase líquida para a superfície do CCCB; ou seja, ali ocorre a adsorção do metronidazol com taxas comparativamente bem maiores àquelas outras regiões (II e III), sugerindo que boa parte da quantidade total de metronidazol adsorvido é encontrado nesta região. As regiões II e III representam a difusão estritamente no poro, mostrando a adsorção nos macro e mesoporos do adsorvente. Percebe-se que as taxas de adsorção possuem valores bem menores nas regiões dos macro para os mesoporos indicando um difusão mais lenta, além de a quantidade de metronidazol adsorvida ser pequena quando comparada àquela da região externa, evidenciando que há limitação na capacidade de adsorção nessas regiões, devido à dificuldade de infiltração da molécula de metronidazol nos espaços menores do adsorvente. Por último a região IV, é a etapa no qual o equilíbrio é atingido. No tempo que se atinge o equilíbrio, todos os sítios de adsorção disponíveis foram ocupados pela molécula do metronidazol.

Temperatura = 30°C

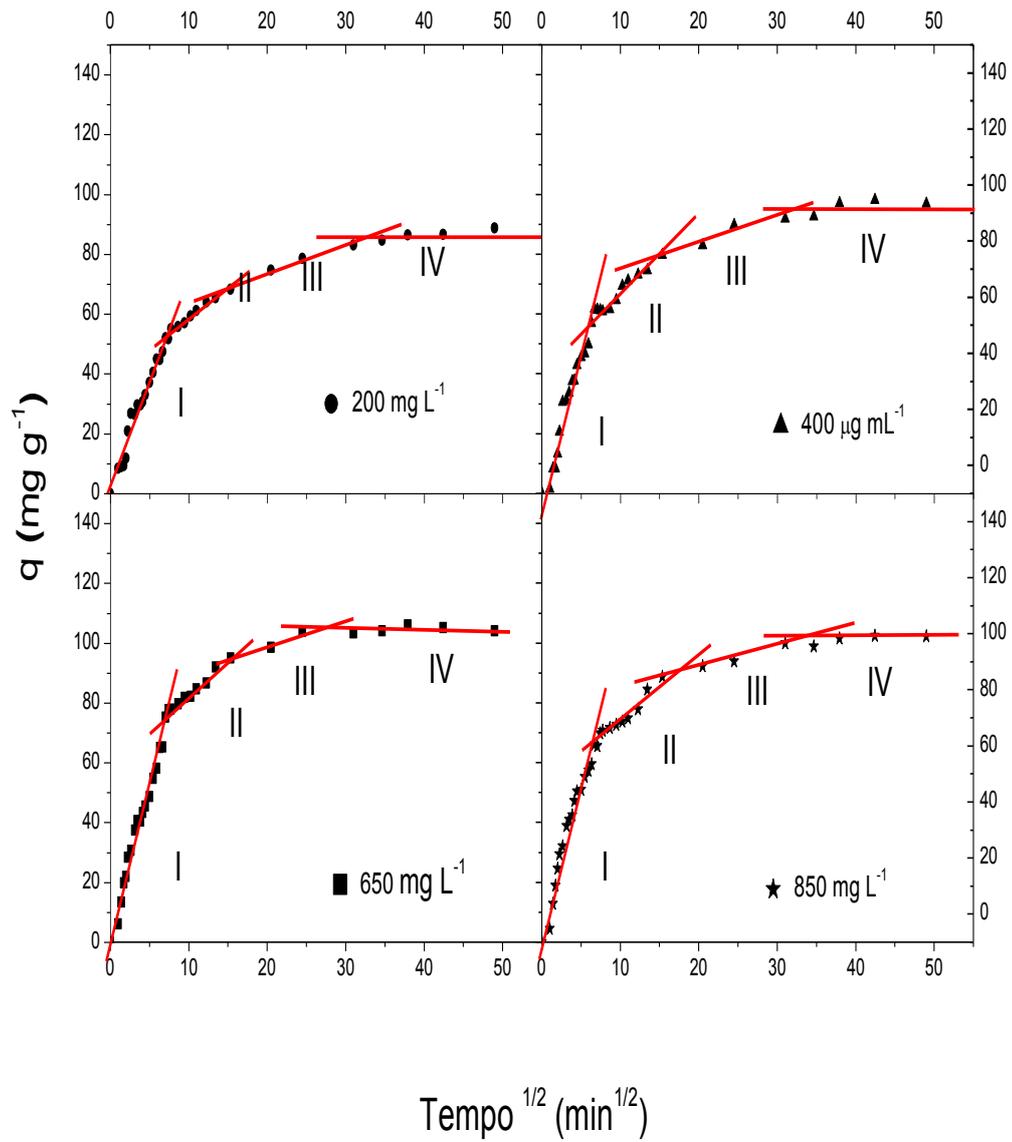


Figura 3.15: Comportamento temporal da difusão intrapartícula para as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} com agitação de 150 rpm e temperatura de 30°C.

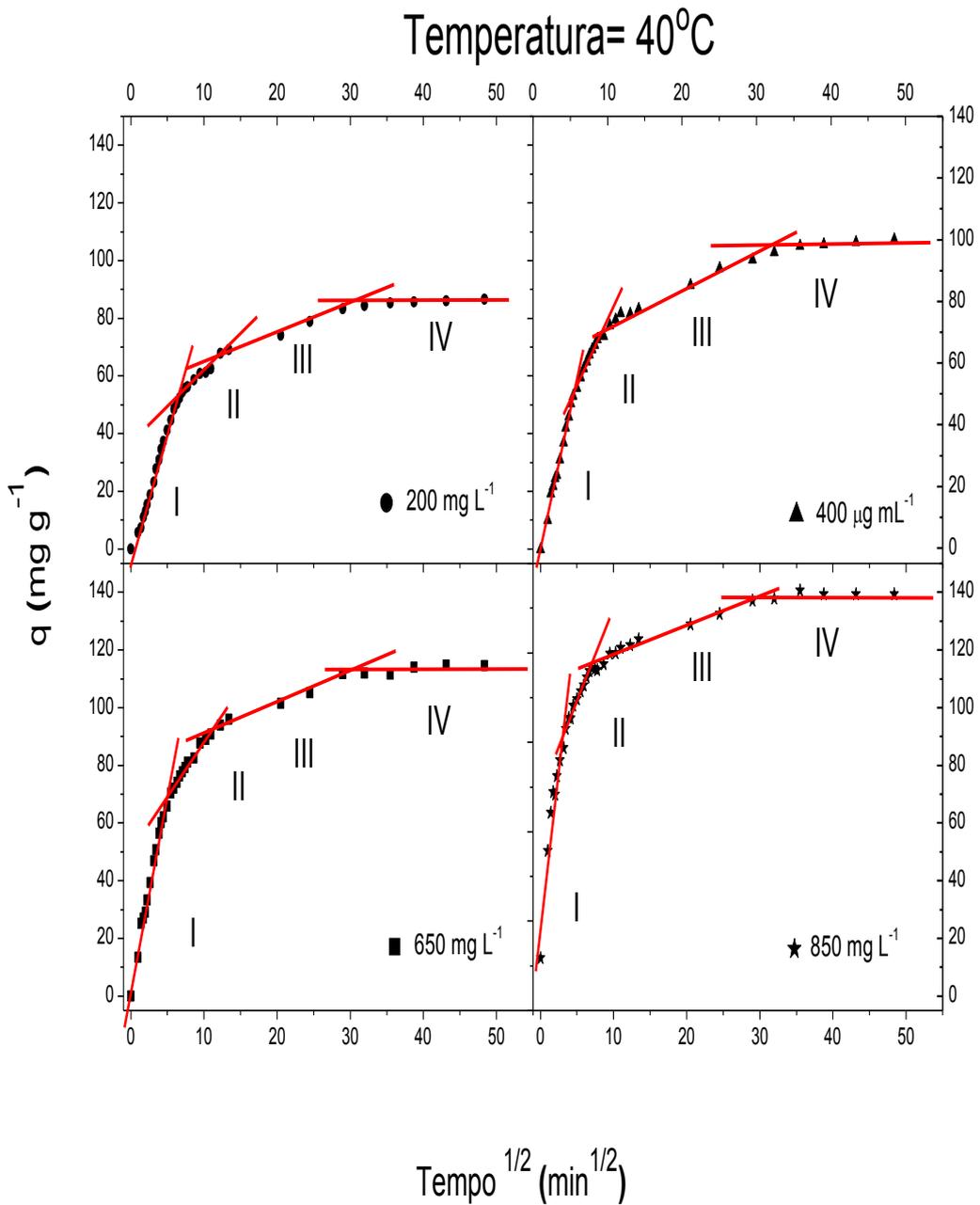


Figura 3.16: Comportamento temporal da difusão intrapartícula para as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} com agitação de 150 rpm e temperatura de 40°C.

Temperatura= 45°C

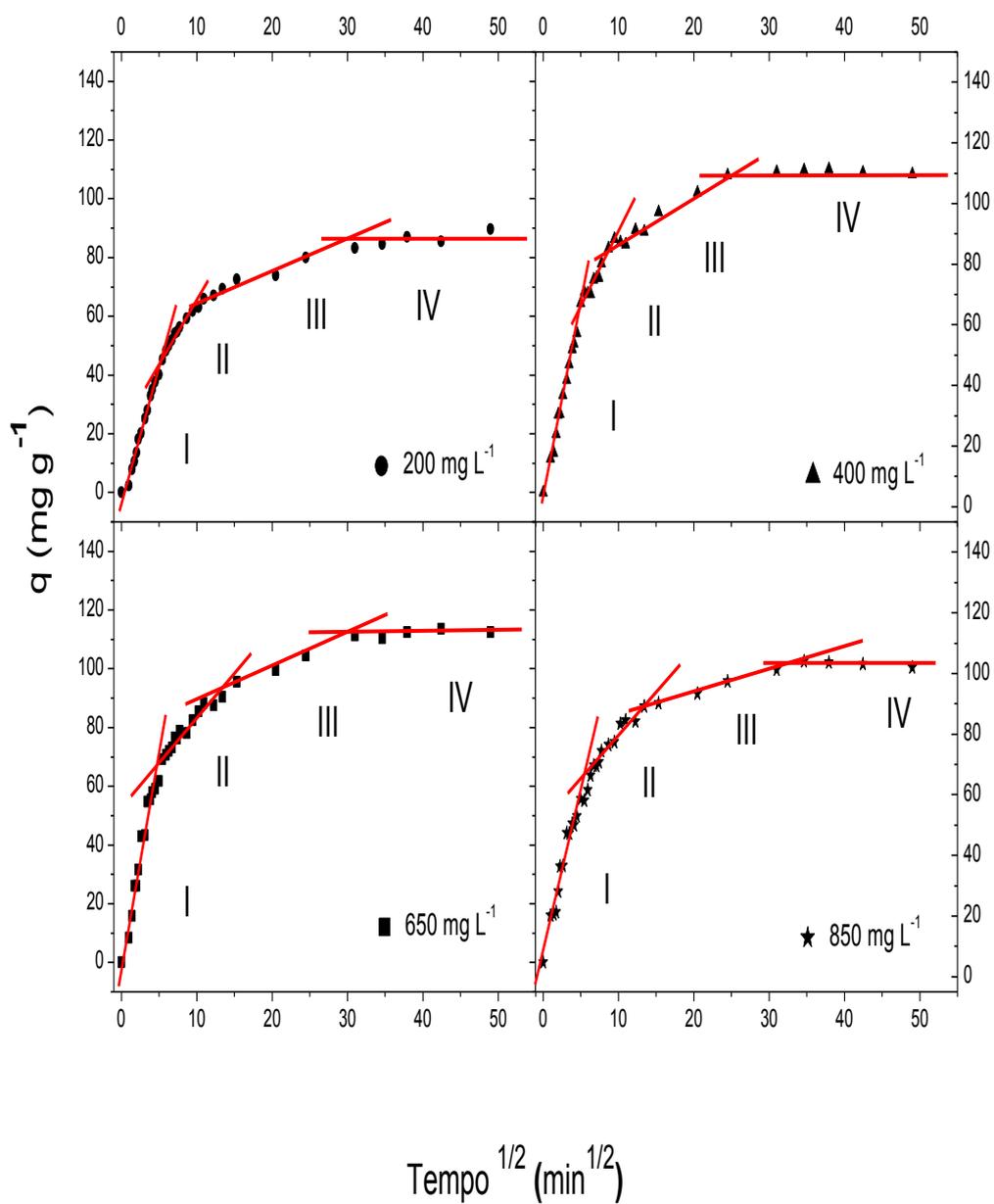


Figura 3.17: Comportamento temporal da difusão intrapartícula para as concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} com agitação de 150 rpm e temperatura de 45°C .

Foi evidenciado que as taxas de adsorção, seja nas regiões I, II e III, sofrem mudanças sob efeito da concentração inicial e da temperatura. Por tal motivo, foram feitas estimativas dessas taxas de adsorção nas diferentes regiões de difusão (externa, macro e mesoporos). As Regiões I de todas as cinéticas estudadas e apresentadas na Tabela 3.5, Tabela 3.6 e Tabela 3.7, mostraram que quanto maior é a concentração da solução de metronidazol, maior é a quantidade adsorvida de metronidazol em CCCB, esse aumento sugere a formação de processos de interação entre as moléculas de metronidazol, que possivelmente são adsorvidos na forma de aglomerados, enquanto que nas regiões II e III a quantidade de moléculas do metronidazol adsorvidas no carvão é mantida praticamente constante para todas as concentrações e temperaturas, pois essas são regiões de macroporos e mesoporos onde os aglomerados das moléculas não são adsorvidos devido ao tamanho dos mesmos, dessa forma a concentração das soluções não afeta a adsorção nestas regiões, esse comportamento é melhor evidenciado quando foi fixado a temperatura de 40°C para o processo de adsorção.

Tabela 3.5: Resultados da taxa de adsorção para cada concentração nas regiões I, II e III em temperatura de 30°C.

Temperatura de 30 °C			
Concentração (mg L⁻¹)	Região I q (mg g⁻¹)	Região II q (mg g⁻¹)	Região III q (mg g⁻¹)
200	52	16	15
400	56	23	13
650	73	21	11
850	68	22	11

Tabela 3.6: Resultados da taxa de adsorção para cada concentração nas regiões I, II e III em temperatura de 40°C.

Temperatura de 40 °C			
Concentração (mg L⁻¹)	Região I q (mg g⁻¹)	Região II q (mg g⁻¹)	Região III q (mg g⁻¹)
200	53	13	17
400	55	20	22
650	69	23	19
850	79	22	23

Tabela 3.7: Resultados da taxa de adsorção para cada concentração nas regiões I, II e III em temperatura de 45°C

Temperatura de 45 °C			
Concentração (mg L⁻¹)	Região I q (mg g⁻¹)	Região II q (mg g⁻¹)	Região III q (mg g⁻¹)
200	44	20	22
400	63	19	23
650	67	27	17
850	70	18	15

3.5.1 Constante de difusão (K_i) em função da concentração e temperatura

Os dados cinéticos, no ambiente do modelo de difusão, mostram tendências lineares em cada região, com valores de constante de difusão bem diferenciadas de acordo com a concentração e a temperatura. Nesse contexto, foram feitos ajustes do tipo $q = C + K_i\sqrt{t}$ das regiões I, II e III nas temperaturas de 30, 40 e 45°C e nas concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L⁻¹. Os resultados para as constantes de difusão (K_i), que corresponde aos coeficientes angulares das retas nas regiões I, II e III, são resumidos na Figura 3.18.

Verifica-se que para as três temperaturas (30, 40 e 45°C) as constantes de difusão na região III, praticamente se mantêm quase inalterado mostrando que a velocidade de adsorção nesta região não é afetada pela concentração e nem pela temperatura, pois naquela região o tamanho dos poros é comparativamente bem menor do que nas regiões I e II e, portanto, menor área superficial que leva a uma aparente independência dos parâmetros termodinâmicos e do gradiente de concentração. Entretanto na região II, o efeito da temperatura e gradiente de concentração torna-se bem mais apreciável com um ligeiro aumento na constante de difusão, sendo o mais intenso na temperatura de 40 °C e concentração de 800 mg L⁻¹. É observado que a 30 °C não há variação na constante de difusão independente da concentração; porém quando sobe para 40 °C, torna-se adequada para se ter um aumento sistemático, com tendência linear, na constante de difusão conforme aumenta a concentração. Já para 45°C, muda a tendência de crescimento na constante de difusão.

Para a região I (camada externa do adsorvente), há um aumento notório na constante de difusão conforme a temperatura cresce até 40°C na qual a concentração foi mantida no máximo valor. Para a temperatura de 30°C as constantes de difusão (K_i) tendem a aumentar quando a concentração vai de 200 até 400 mg L⁻¹ e para concentrações maiores o K_i se mantém praticamente constante nesta região, mostrando que a temperatura de 30°C não é suficiente para aumentar a velocidade de adsorção, embora haja um aumento da concentração inicial do adsorvato (metronidazol).

Nas cinéticas de adsorção, obtidas a temperatura de 40°C, observa-se que os valores das constantes de difusão para a região I são significativamente bem maiores do que a 30°C, com tendência a aumentar quase linearmente conforme cresce a concentração inicial de metronidazol, mostrando que um acréscimo de 10 °C (30 para 40 °C) afeta significativamente duplicando a velocidade de adsorção do metronidazol no CCCB.

As constantes de difusão na camada externa (região I), obtidas a temperatura de 45 °C, sofre um aumento até a concentração de 650 mg L⁻¹ do metronidazol (bem semelhante à da região II) e quando a concentração é ainda maior; isto é 850 mg L⁻¹, a velocidade de adsorção cai drasticamente, evidenciando que a temperatura é um fator muito importante na adsorção; porém maiores concentrações podem inibir este efeito positivo. É evidente que o metronidazol a elevadas concentrações torna-se um fator limitante nas temperaturas abaixo ou acima da ideal ou ótima que é aproximadamente de 40 °C. Dentre as temperaturas avaliadas neste estudo, obteve-se uma melhor resposta de adsorção do metronidazol em CCCB à 40°C, que se mostrou ideal para esse propósito.

A Figura 3.19, apresenta a relação da constante de difusão com a temperatura. Através destes resultados, verifica-se que para a região III, a temperatura não modificou a velocidade de adsorção do metronidazol. O efeito causado pela temperatura na velocidade de adsorção nas regiões II e III são praticamente os mesmos, no qual há um acréscimo na velocidade com o aumento da temperatura e da concentração, entretanto, obteve-se uma melhor resposta na adsorção com a junção da temperatura de 40°C e a concentração de 850 mg L⁻¹, a velocidade de adsorção atinge o grau máximo de 19 mg g⁻¹ min^{-0,5}.

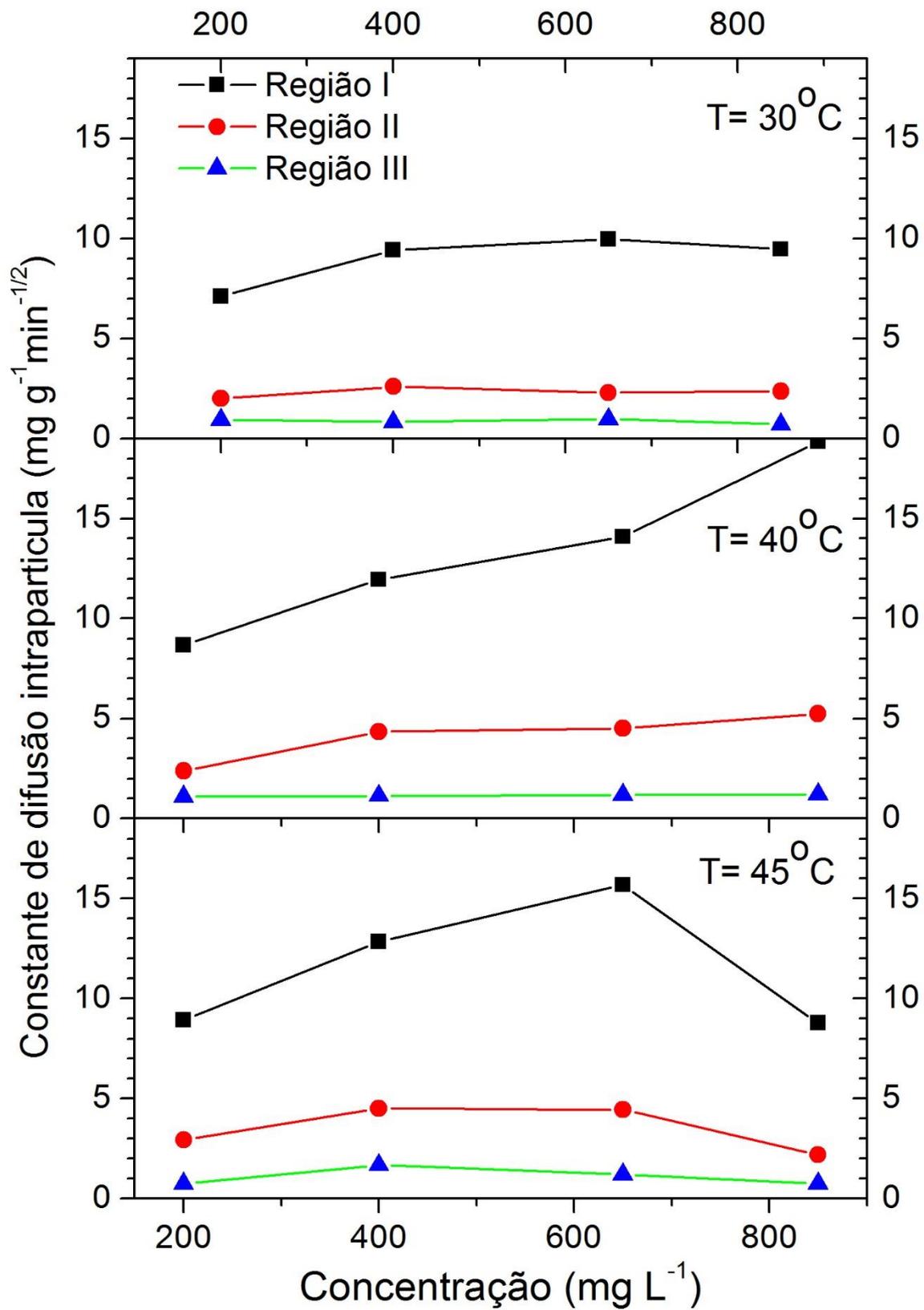


Figura 3.18: Relação da constante de difusão (K_i) para cada região de adsorção nas concentrações de 200, 400, 650 e 850 mg L^{-1} utilizando as temperaturas de: 30°C; 40°C e 45°C.

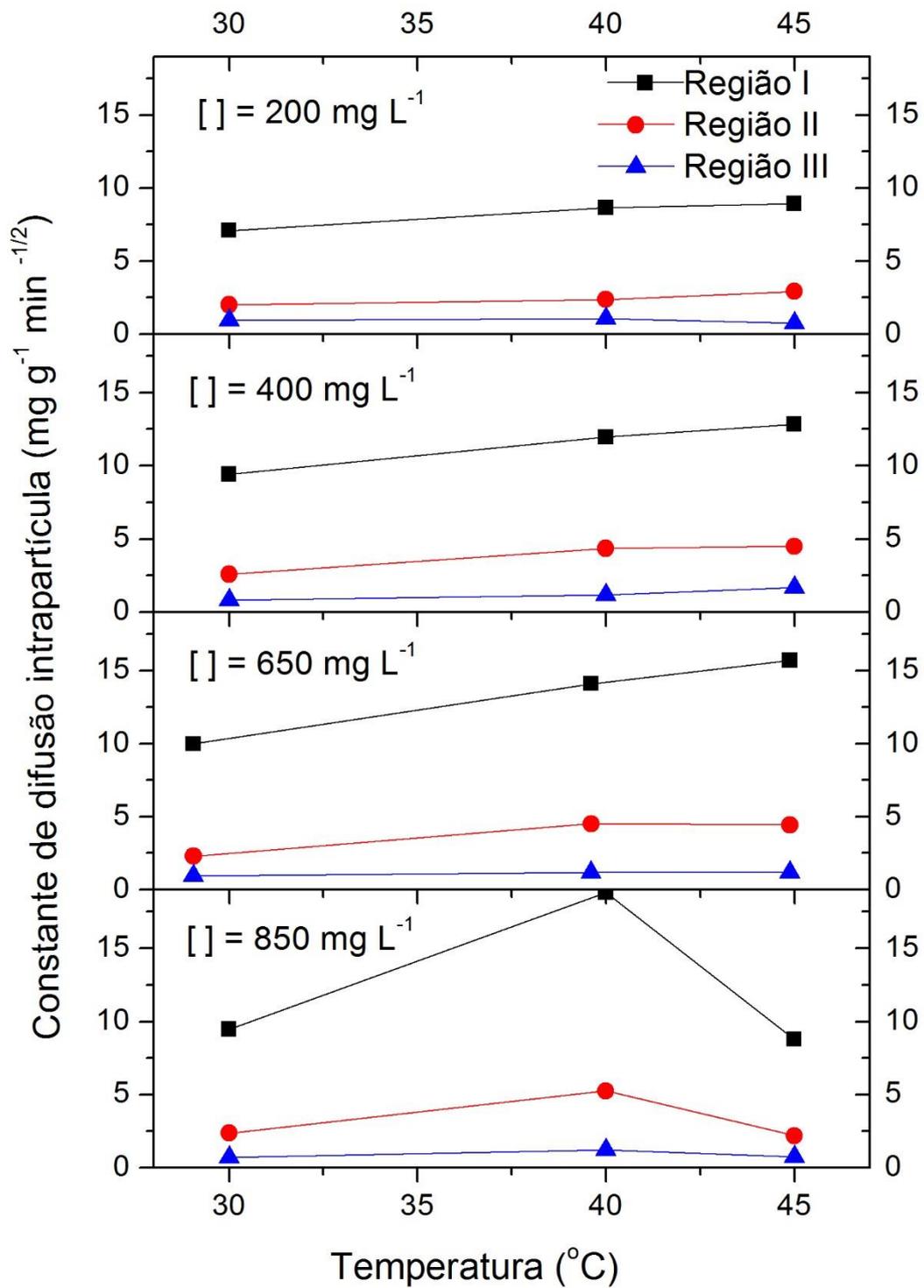


Figura 3.19: Relação da constante de difusão (K_i) para cada região de adsorção, nas temperaturas de 30, 40 e 45 $^{\circ}\text{C}$ nas concentrações de: 200 mg L^{-1} ; 400 mg L^{-1} ; 650 mg L^{-1} e 850 mg L^{-1} .

3.6 *Estudo de equilíbrio*

A partir das análises cinéticas de adsorção do metronidazol, foi encontrado o tempo de equilíbrio de 20 horas, permitindo fazer o estudo de adsorção do metronidazol no equilíbrio considerando a melhor resposta na temperatura de 40°C, além de poder explorar várias concentrações de metronidazol (200, 400 e 600 mg L⁻¹) na procura da capacidade máxima de adsorção. Na condição de equilíbrio, é possível estimar a real capacidade máxima adsorptiva do metronidazol, bem como observar outros efeitos na melhora dessa capacidade, variando tanto a massa do adsorvente como a concentração do adsorvato. Embora o tempo de equilíbrio foi de 20 h, foi conveniente incrementá-lo até 24 h de modo a garantir que todos os sítios de adsorção disponíveis possam estar acessíveis.

Foram testadas três concentrações de 200, 400 e 600 mg L⁻¹ combinando com uma variação de massa do adsorvente CCCB de 0,01 a 0,50 g de modo a ter uma melhor definição do tipo de isoterma de adsorção. Na concentração de 200 mg L⁻¹, foram obtidos dados parciais da isoterma de adsorção, como mostrado na Figura 3.20, com concentrações residuais na fase aquosa de até 50 mg L⁻¹, indicando a remoção de 150 mg L⁻¹ que corresponde, segundo a Equação 1.13, aproximadamente a 130 mg g⁻¹ quando foi considerada massas pequenas (0,05 g) do adsorvente. O fato de se ter trabalhado em condições de massas muito pequena tem permitido explorar a capacidade máxima adsorptiva do CCCB. Em baixas quantidade de massa (da ordem de 0,05 g), concentração de 200 mg L⁻¹ e elevada concentração residual do adsorvato (da ordem de 50 mg L⁻¹), os sítios de adsorção podem estar totalmente preenchidos sob esta condição.

Ao fazer a descrição da isoterma de adsorção, com dados parciais, pela representação do modelo de Langmuir, que é coerente na descrição de adsorção por monocamada, e do modelo híbrido de Langmuir com BET (descrição de adsorção por multicamada), encontrou-se que o modelo de Langmuir possui um ajuste razoável, com R² da ordem 0,91, enquanto que o modelo de Langmuir+BET já é mais coerente no ajuste dos dados, com R² da ordem de 0,96. Isto sugere, que da capacidade máxima do adsorvente CCCB em adsorver as moléculas de metronidazol é particionada em dois mecanismos diferentes: o primeiro que diz respeito à adsorção em monocamada e o segundo à adsorção em multicamada, sendo que da ordem de

137 mg g⁻¹ encontra-se adsorvido em monocamada e o restante da ordem de 14 mg g⁻¹ encontra-se adsorvido em multicamada.

Por outro lado, na concentração de 400 mg L⁻¹, os dados de adsorção foram ampliados no intuito de destacar os efeitos de adsorção em multicamada já sugerido na condição anteriormente mostrada ou analisada (200 mg L⁻¹). Percebe-se na Figura 3.21 que a concentração residual, na fase aquosa, do metronidazol foi ampliada para a faixa de 100 a 250 mg L⁻¹, pois as menores quantidades de massa (0,06 e 0,05 g de adsorvente) permitiram adsorver até 150 e 160 mg g⁻¹, respectivamente. Indicando, ainda, que o processo de adsorção continua sem limitação aparente. Isto poderia ser explicado possivelmente se houver adsorção em multicamada, tal como foi possível observar na condição inicial de 200 mg L⁻¹ do caso anterior. Nesse contexto, foram novamente testados dois modelos: um deles (Langmuir) que descreve somente a adsorção por monocamada e o outro que descreve a adsorção parcial em monocamada e multicamada (Langmuir+BET). Apesar da isoterma apresentar ser do tipo I, caracterizado por adsorção monocamada, o ajuste dos dados de adsorção pelo modelo de Langmuir não se mostrou adequado, pois a qualidade do ajuste foi ruim (R² da ordem 0,87). No entanto, os dados de adsorção foram melhor ajustados, com R² da ordem de 0,92, quando foi proposto um modelo descritivo de Langmuir junto com o de BET. De acordo com este último modelo híbrido, a capacidade máxima de adsorver as moléculas de metronidazol foi da ordem 150 mg g⁻¹, sendo que parte dessa capacidade da ordem de 146 mg g⁻¹ corresponderia à adsorção por monocamada, enquanto que a outra parte da capacidade da ordem de 6 mg g⁻¹ estaria compreendida à adsorção por multicamada. Do ponto de vista dos dados cinéticos, a adsorção por multicamada é possível à acontecer somente na camada externa do adsorvente, pois nas regiões de macro e mesoporos estariam inacessíveis à adsorção por multicamada, talvez pela limitação de espaço nos poros.

Finalmente, na concentração de 600 mg L⁻¹, foi explorada uma condição mais extrema de disponibilidade de adsorvato, na fase aquosa, para continuar a adsorver ainda mais pelo mecanismo de multicamada como foi exemplificado nos dois casos anteriores 200 e 400 mg L⁻¹. Além de ter aumentado a concentração até 600 mg L⁻¹, foram consideradas massas ainda menores de até 0,01 g. Na figura 3.22, uma isoterma de adsorção com perfil bem mais definido, já não sendo mais o do tipo I, senão como sendo do tipo II que corresponde à presença de dois mecanismos

diferentes: o primeiro de monocamada que se daria no início do processo para depois continuar com o segundo de multicamada. A isoterma do tipo II, não apresenta um limite de saturação, o primeiro ponto de inflexão é quando acaba os sítios de adsorção em monocamada, mas posteriormente a reação continua acontecendo em multicamadas. Esse comportamento é característico dos dados de adsorção do metronidazol possui um formato em “S” com forte presença de multicamadas quando a concentração residual na fase quase estiver acima de 300 mg L^{-1} correspondendo a valores de massa de adsorvente de 0,1-0,01 g. Indicando, ainda, que o processo de adsorção continua sem limitação aparente; porém exclusivamente na camada externa tal como foi reportado pelos dados cinéticos. De posse de uma maior densidade de informações de adsorção sob diferentes condições de massa de adsorvente e concentração de adsorvato, foram novamente testados o modelo de Langmuir, e o modelo híbrido de Langmuir+BET que contempla ambos os mecanismos de adsorção em mono e multicamada. De longe, o modelo de Langmuir vinculado a presença única do mecanismo de adsorção por monocamada foi totalmente inconsistente (R^2 da ordem 0,8) com os dados de adsorção do metronidazol. No entanto, o modelo híbrido de Langmuir+BET foi a melhor representação dos dados de equilíbrio com ótima qualidade de ajuste (R^2 da ordem de 0,98). No contexto do modelo híbrido de Langmuir+BET, a capacidade máxima de adsorção pode ser dividida em uma maior parte vinculada à quantidade adsorvida em monocamada, da ordem de 140 mg g^{-1} , e a outra parte vinculada à quantidade adsorvida em multicamada, da ordem de 70 mg g^{-1} .

Tabela 3.8: Valores estimados para parâmetros dos modelos das isotermas de Langmuir e Langmuir + BET ajustados aos dados da adsorção do metronidazol no CCCB para as concentrações iniciais de 200, 400 e 600 mg L⁻¹

Modelo	Parâmetros	200 mg L ⁻¹	400 mg L ⁻¹	600 mg L ⁻¹
Langmuir	q _{max} (mg g ⁻¹)	120,37	137,63	215,38
	b (L mg ⁻¹)	0,532	0,346	0,0817
	R ²	0,91526	0,86807	0,78816
Langmuir + BET	q _{max1} (mg g ⁻¹)	137,10	146,35	140,99
	b (L mg ⁻¹)	0,194	0,20	0,2565
	q _{max2} (mg g ⁻¹)	14,26	5,76	69,65
	B	1,00	0,0008	10,5
	Cs (mg L ⁻¹)	0,00098	0,90869	689,51
	R ²	0,95836	0,92474	0,97641

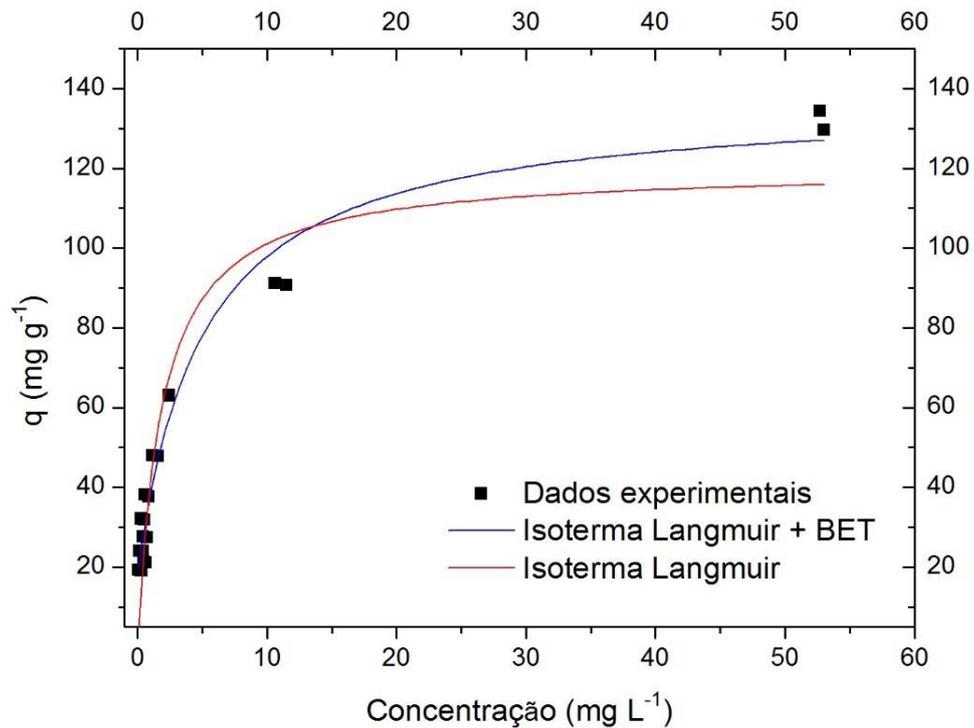


Figura 3.20: Aplicação do modelo de Langmuir na isoterma de 200 mg L⁻¹.

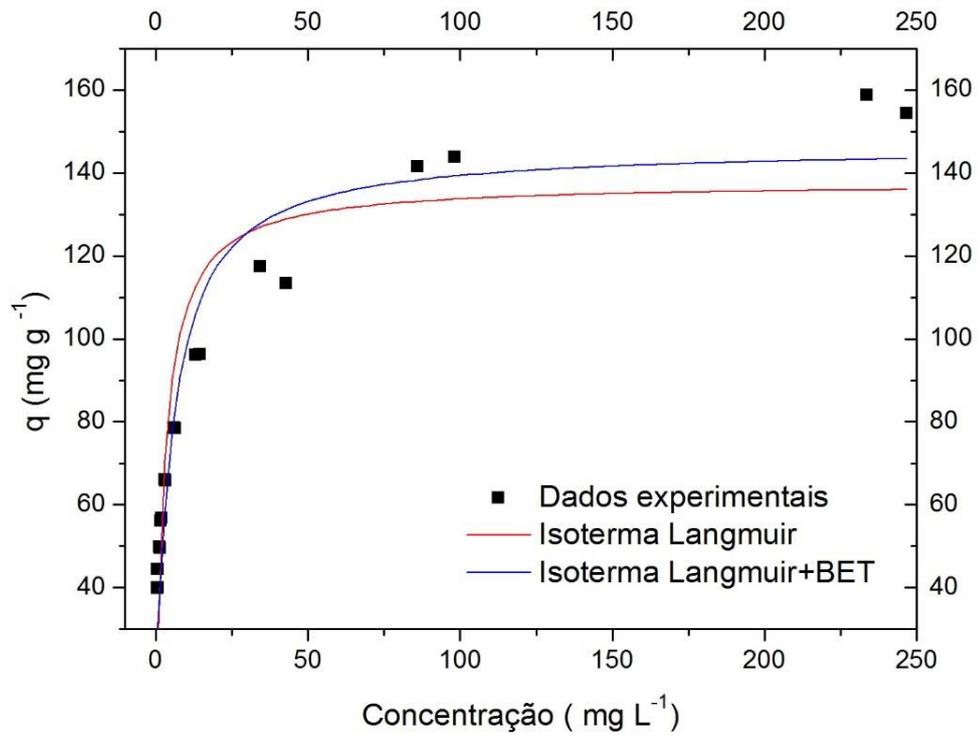


Figura 3.21: Aplicação do modelo de Langmuir na isoterma de 400 mg L⁻¹.

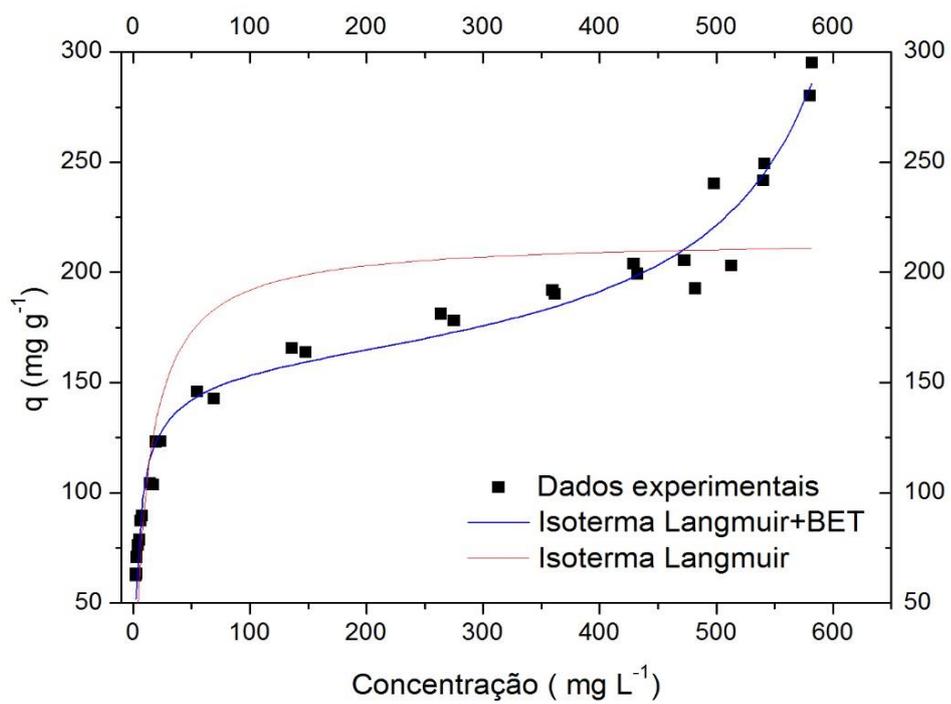


Figura 3.22: Aplicação do modelo de Langmuir na isoterma de 600 mg L⁻¹.

3.7 Validação da metodologia de análise por HPLC

A validação de uma metodologia é realizada com o intuito de avaliar sistematicamente um método, por meio de ensaios experimentais que possam confirmar e fornecer evidências de que o método é capaz de atender os requisitos específicos o seu uso para a finalidade em que se destina [45].

3.7.1 Seletividade

A seletividade do método analítico de quantificação do metronidazol tem como objetivo avaliar a capacidade de separar o composto de interesse (metronidazol) de compostos estruturalmente semelhantes que possam eluir no mesmo tempo de retenção do MTN. Primeiramente, para avaliar a seletividade, comparou-se o cromatograma da matéria-prima de metronidazol utilizada neste trabalho com o padrão farmacopeico (USP- Lote: J11272) cedido pela indústria Prati Donaduzzi. Ambos os cromatogramas apresentam um sinal analítico em aproximadamente 6,0 minutos evidenciando que a matéria-prima utilizada neste estudo corresponde à molécula de metronidazol. Para otimização do tempo, a corrida analítica foi realizada com apenas 10 minutos conforme apresentado na Figura 3.23.

Duas amostras preparadas com as moléculas de secnidazol e tinidazol foram injetadas no HPLC juntamente com a amostra de metronidazol, em uma corrida analítica de 50 minutos de modo a garantir que todos os analitos fossem eluídos no tempo de corrida estipulado. Entretanto devido à baixa solubilidade da molécula de tinidazol (Apêndice 3) em meio aquoso (pH 7), não foi possível visualizar um sinal analítico da molécula no cromatograma, diferentemente da segunda molécula que possui uma maior solubilidade em meio aquoso, no qual, obteve-se um sinal analítico em aproximadamente 12 minutos no cromatograma (Figura 3.24), mostrando que o método foi capaz de separar eficientemente o metronidazol do secnidazol, portanto, podemos afirmar que o método se mostrou seletivo com uma eficiente separação para as moléculas de metronidazol e secnidazol, garantindo a confiabilidade dos resultados analíticos deste trabalho.

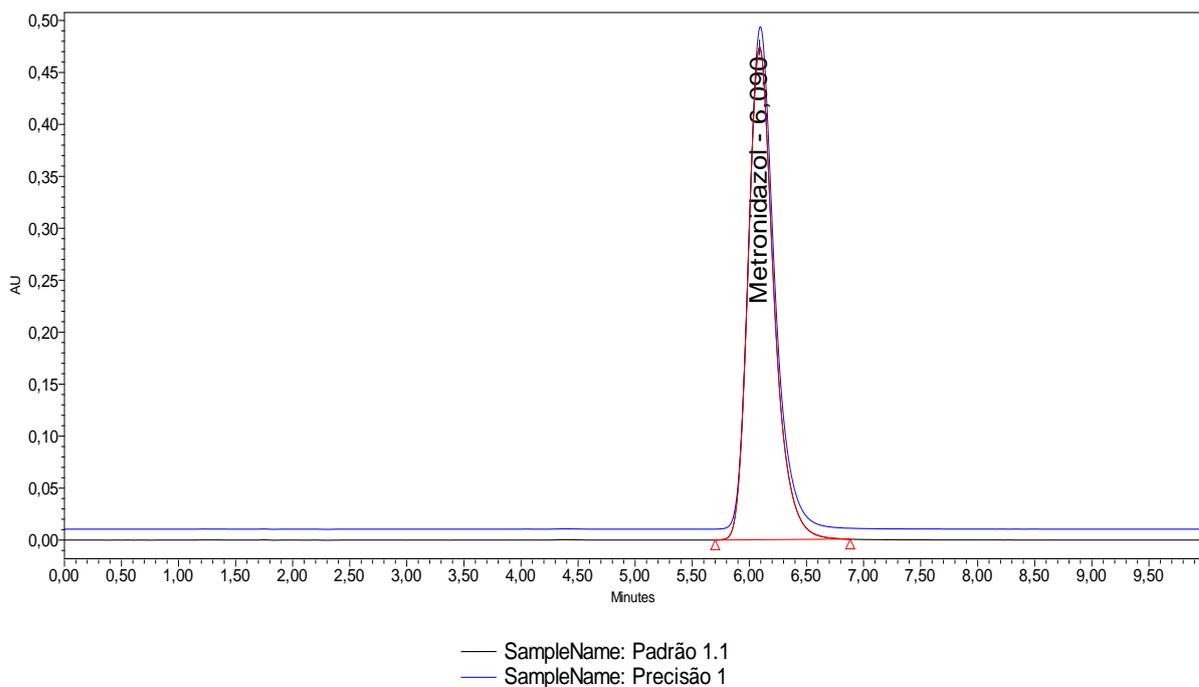


Figura 3.23: Sobreposição dos cromatogramas da matéria-prima e do padrão de metronidazol.

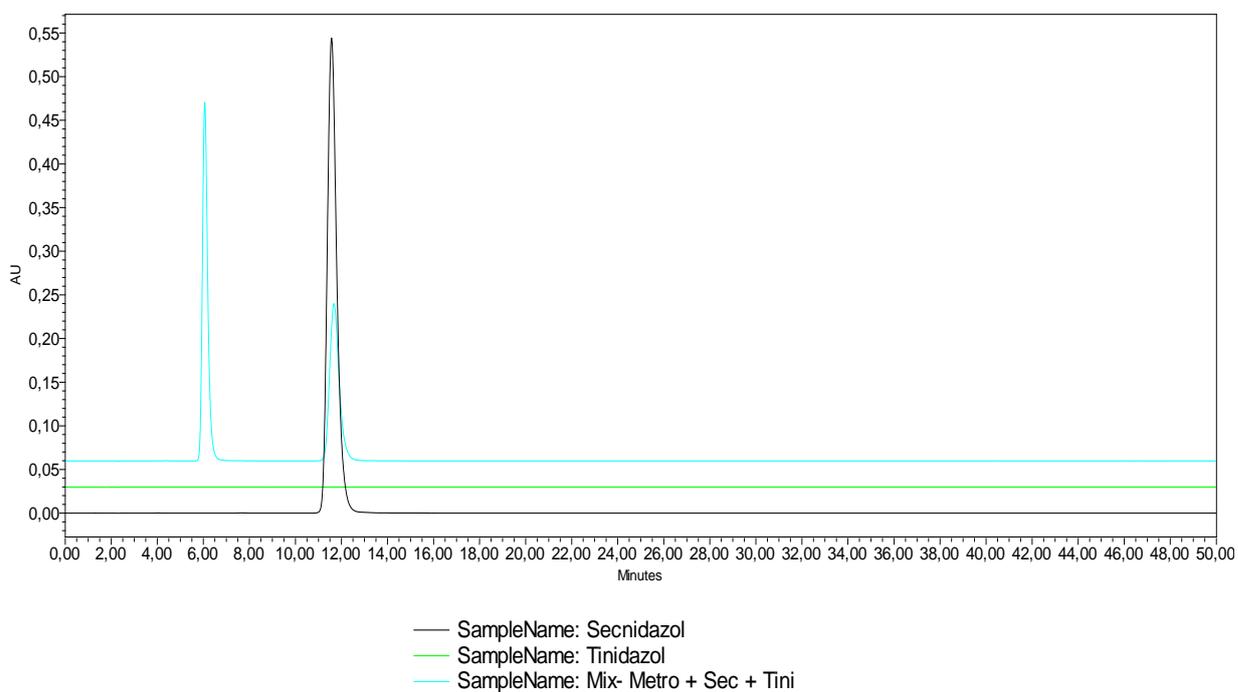


Figura 3.24: Sobreposição dos cromatogramas de secnidazol, tinidazol e solução contendo os três compostos.

3.7.2 Precisão

A precisão do método analítico desenvolvido para a quantificação de metronidazol, foi avaliada através de 6 amostras à 400 mg L⁻¹ preparadas com a matéria-prima de metronidazol do fabricante Unichem Laboratories Ltd. Essas amostras foram comparadas com um padrão também na concentração de 400 mg L⁻¹, cedido pela Industria Prati Donaduzzi, do fabricante USP (Farmacopeia Americana) Lote: J11272. A recuperação de todas as amostras foi calculada a partir da Equação 3.1.

$$\% = \frac{\text{Área AM} * \text{Teor do Pd} * \text{média das massas dos Pds}}{\text{média área dos Pds} * \text{massa da AM}} \quad \text{Equação 3.1}$$

Conforme os resultados apresentados na Tabela 3.9, os valores individuais, a média de recuperação e o desvio padrão relativo (DPR%) entre os preparos das amostras de metronidazol na concentração de 400 mg L⁻¹ estão de acordo com os critérios de aceitação estabelecidos para o parâmetro de precisão (repetibilidade), conforme especificação da Tabela da AOAC (Apêndice 4) . Sendo assim, o método analítico para a quantificação do metronidazol se mostrou preciso para a finalidade do método.

Tabela 3.9: Resultados obtidos para a precisão primeiro dia para metronidazol.

Padrão					
Padrão	Concentração (mg L⁻¹)	Área (AU)	DPR (%)	Teor (%)	
1	412	7463473	0,46	100	
2	433	7772528			
Amostras					
Concentração (mg L⁻¹)	Área (AU)	Recuperação (%)	Média (%) Recuperação	DPR (%)	Especificação (%)
422	7618171	100	100	1,11	≤ DPR 1,3
430	7622306	98			
430	7754398	100			
415	7569959	101			
418	7481467	99			
438	7770632	98			

3.7.3 *Precisão intermediária*

Em um segundo dia, as seis amostras e os padrões foram preparados novamente na concentração de 400 mg L⁻¹ e avaliados em HPLC. Os resultados tanto para os valores individuais as médias de recuperação e o DPR entre as amostras foram satisfatórios (Tabela 3.10) estando dentro da especificação (AOAC).

Tabela 3.10: Precisão Segundo Dia para metronidazol.

Padrão					
Padrão	Concentração (mg L⁻¹)	Área (AU)	DPR (%)	Teor (%)	
1	471	8443500	0,07	100	
2	429	7701432			
Amostras					
Concentração (mg L⁻¹)	Área (AU)	Recuperação (%)	Média (%) Recuperação	DPR (%)	Especificação (%)
400	7243121	101	101	0,63	≤ DPR 1,3
418	7510617	100			
421	7510755	99			
433	7847455	101			
428	7757827	101			
425	7677400	101			

Os resultados da precisão primeiro dia, foram comparados com os resultados da precisão segundo dia, os critérios de avaliação foram retirados da Tabela AOAC [52], o seu conteúdo expressa a proximidade entre os resultados obtidos da análise de uma mesma amostra no mesmo laboratório em pelo menos dois dias diferentes, realizadas por operadores distintos, contemplando as mesmas concentrações e mesmo número de determinações, tal comparação é apresentada na Tabela 3.11.

A partir dos resultados, pode-se afirmar que o método é preciso uma vez que a proximidade dos resultados das duas precisões (1° e 2° dia) cumpre com os critérios de aceitação estabelecidos para o parâmetro (AOAC).

Tabela 3.11: Comparação entre os resultados da precisão primeiro dia e segundo dia

Nível	Teores 1º Dia (%)	Teores 2º Dia (%)	DPR (%) 2º Dia	Teor Médio (%)	DPR Comparativo (%)	Critério de Aceitação (%)
100 %	100	101	0,63	100	1,04	2,0%
	98	100				
	100	99				
	101	101				
	99	101				
	98	101				

Conclui-se que o método é preciso uma vez que a proximidade dos resultados das duas precisões (1º e 2º dia) cumpre com os critérios de aceitação estabelecidos para o parâmetro (AOAC).

3.7.1 Linearidade

A avaliação da linearidade do método foi efetuada mediante a obtenção de três curvas analíticas com sete níveis de concentração, compreendendo o intervalo de 10 a 950 mg L⁻¹ de metronidazol em solução aquosa. Para a avaliação da linearidade, foi feita a verificação da curva pelo método da ANOVA, posteriormente os testes estatísticos de Cochran e Grubbs foram aplicados aos dados. A Figura 3.25, apresenta os gráficos da linearidade com a respectiva equação da reta obtida pela a linearidade em que o R² encontrado para os dados foi satisfatório, mostrando que a relação entre a concentração e a área foi linear.

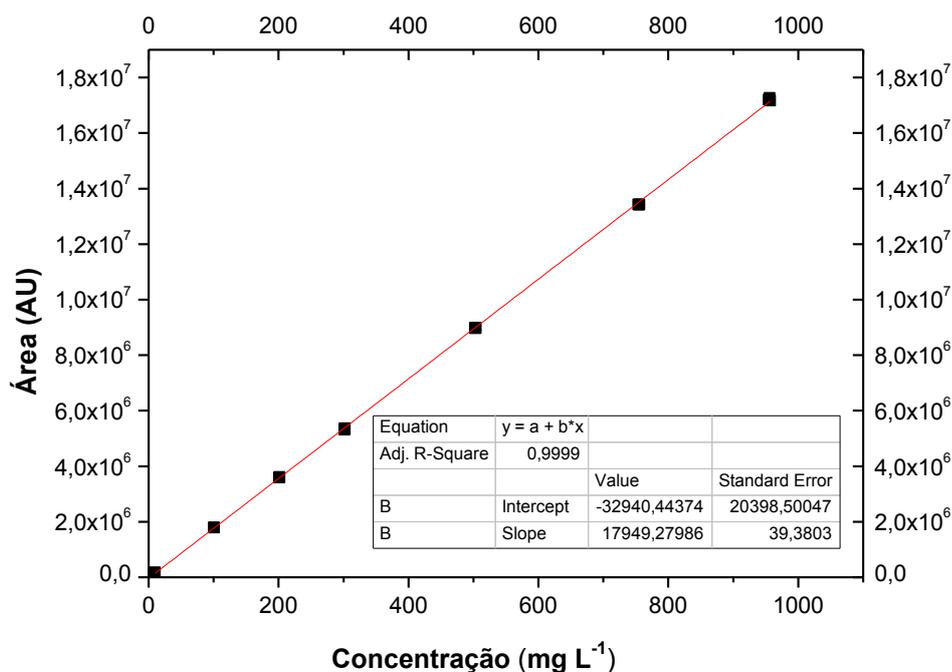


Figura 3.25: Curva da Linearidade para metronidazol.

Na Tabela 3.12 são apresentados os resultados dos testes estatísticos da regressão linear obtida a partir da curva analítica de metronidazol.

Tabela 3.12: Resultados da Estatística de regressão para a linearidade do metronidazol.

Observação	Resultado	Critério
R múltiplo	1,0000	0,990
R-Quadrado	0,9999	-
R-quadrado ajustado	0,9999	-
Erro padrão	58521	-
Observações	21	-

Na regressão linear simples, o modelo ajustado precisa ser validado para que os resultados sejam confiáveis. A análise visual dos resíduos em conjunto com os testes de Cochran e Grubbs foram utilizados para validar a adequabilidade do modelo de regressão. Em um modelo bem ajustado, os resíduos devem ser independentes, apresentar variância constante para os diferentes níveis, possuir distribuição normal e aleatória [53], entretanto ao avaliar o gráfico de resíduo (Figura

3.26) verifica-se uma tendência dos dados um embaixo do outro e que aumenta com o aumento da concentração. A avaliação desta tendência dos dados foi feita o teste de Cochran, no qual avalia a homogeneidade dos dados. Calculou-se todas as variâncias em cada nível de concentração da linearidade e faz-se a comparação da maior variância com todas as outras, calculando através da Equação 3.2, o valor encontrado é comparado com o valor tabelado (Apêndice 1).

$$C = \frac{\text{maior variância}}{\text{soma de todas as variâncias}} \quad \text{Equação 3.2}$$

O resultado para o teste de Cochran demonstrou que os resíduos são homocedásticos em um nível de significância de 5% onde, $C_{\text{calculado}} 0,443 < C_{\text{tabelado}} 0,5612$ quando $K=7$ e $n=3$).

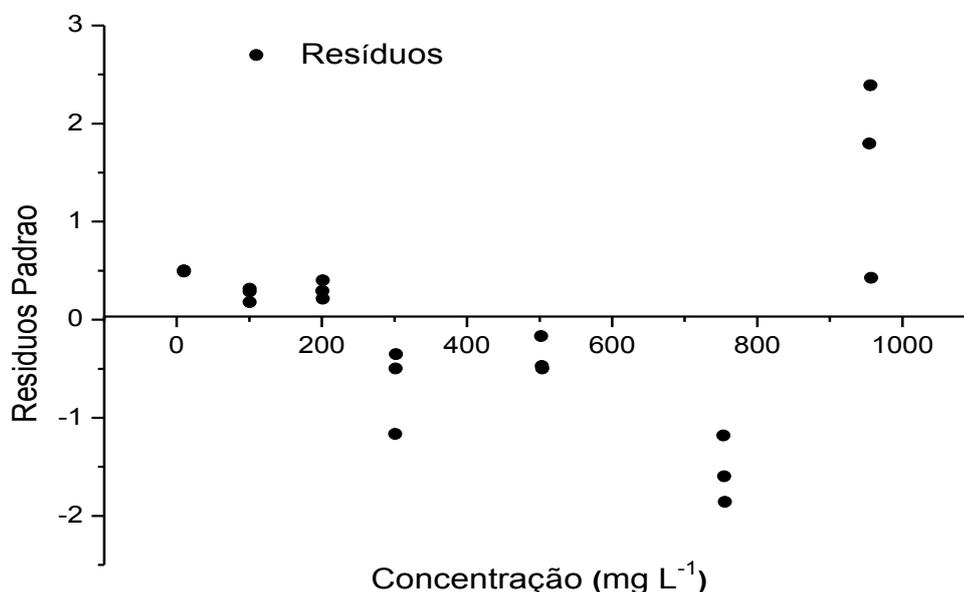


Figura 3.26: Gráfico dos resíduos da linearidade de metronidazol.

Para verificar a ocorrência de valores extremos (*outliers*) utilizou-se o teste de Grubbs. Dentre os 21 resíduos obtidos para metronidazol na construção da regressão linear não houve a ocorrência de nenhum valor extremo (*outlier*), pois nenhum valor calculado foi maior que o valor tabelado ($G_{\text{tabelado}} = 2,28$ para $n= 21$ ao

nível de significância de 5%) conforme apresentado na Tabela 3.13. O valor de $G_{\text{Calculado}}$ é obtido através da Equação 3.3.

$$G = \frac{|\text{Resíduo Padrão} - \text{média de todos os resíduos padrão}|}{\text{desvio Padrão de todos os resíduos}} \quad \text{Equação 3.3}$$

A partir dos dados apresentados, podemos concluir que a metodologia analítica para quantificação do metronidazol em solução aquosa é capaz de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de metronidazol. A conclusão é fundamentada na relação linear comprovada na faixa de 10 mg L⁻¹ a 950 mg L⁻¹ concentrações utilizadas no estudo de adsorção.

Tabela 3.13: Resultados de variância - Teste de Grubbs para a linearidade de metronidazol.

Concentração (mg L ⁻¹)	G calculado	G tabelado (n = 21, P = 0,05)
10	0,491	2,58
	0,503	
	0,503	
100	0,288	
	0,180	
	0,314	
200	0,400	
	0,213	
	0,292	
300	0,352	
	0,499	
	1,165	
500	0,500	
	0,474	
	0,167	
750	1,857	
	1,597	
	1,182	
950	0,426	
	2,391	
	1,795	

3.7.2 Exatidão

A exatidão da metodologia foi avaliada com o padrão USP de metronidazol, em três níveis de concentrações baixo, médio e alto correspondendo a concentração de 10, 500 e 950 mg L⁻¹, cada concentração foi realizada em triplicata e os valores de recuperação foram calculados a partir de um padrão à 400 mg L⁻¹. Os resultados de recuperação do preparo das amostras estão apresentados na Tabela 3.14.

Conforme os resultados apresentados da exatidão, os valores individuais, as médias de recuperação e o desvio padrão relativo (DPR%) entre os preparos das amostras de metronidazol nas concentrações avaliadas estão de acordo com os critérios de aceitação estabelecidos para o parâmetro de exatidão. Sendo assim, o método analítico possui exatidão adequada nos níveis de concentração entre 10 mg L⁻¹ a 950 mg L⁻¹ para metronidazol em solução aquosa

Tabela 3.14: Resultados para a exatidão da metodologia analítica de HPLC.

Padrão					
Padrão	Concentração (mg L⁻¹)	Área (AU)		DPR (%)	Teor (%)
1	412	7463473		0,65	99,8
2	433	7772528			
Amostras					
Concentração (mg L⁻¹)	Área (AU)	Recuperação (%)	Média (%) Recuperação	DPR (%)	Especificação (%)
10	175883	96,64		0,22	95 a 105 DPR 3,7
10	176388	97,01	96,88		
10	176087	97,00			
504	8979601	98,67		0,12	98 a 102 DPR 1,3
503	8972087	98,69	98,75		
502	8975260	98,88			
957	17169340	99,30		0,33	98 a 102 DPR 1,3
956	17264387	99,95	99,67		
955	17203088	99,75			

3.7.3 Limite de quantificação

A análise de limite de quantificação da metodologia, foi avaliada a partir dos resultados da linearidade. Com os resultados de sinal ruído para os pontos mais baixos da linearidade (10%), o limite de quantificação é avaliado considerando que o método é capaz de quantificar com confiabilidade uma concentração que obtenha um sinal ruído de no mínimo 10. O resultado obtido é apresentado na Tabela 3.15.

Tabela 3.15: Limite de quantificação calculado para a metodologia analítica por HPLC.

Identificação	Concentração (mg L ⁻¹)	S/N experimental	Média S/N	Concentração média estimada (mg L ⁻¹) *
metronidazol	10,074	486	525	0,192
	10,064	626		
	10,048	463		

*Concentração estimada por regra de três para obtenção de sinal ruído de 10.

É possível estimar através de cálculos que o método é capaz de detectar e quantificar uma concentração de até 0,192 mg L⁻¹ de metronidazol em solução aquosa.

3.7.4 Estabilidade do MTN em solução aquosa.

Muitos autores, relatam que a molécula de metronidazol é muito estável em solução aquosa, ficando por vários dias no meio ambiente, mesmo colocadas sob radiação UV [25,26], neste sentido, foi realizado o teste de estabilidade do metronidazol, no qual, preparou-se duas soluções a 400 µg mL⁻¹ de metronidazol, uma amostra ficou sob radiação de Luz UV durante 15 dias que é equivalente à 8,7 ciclos de calibração actinométrica com uma intensidade de 1,2 milhões lux/hora e posteriormente mais 30 dias sob radiação de luz Led antes de ser analisada em HPLC. A segunda amostra permaneceu sob a radiação de luz led durante 45 dias, ambas à temperatura ambiente. As duas amostras foram comparadas com uma solução de metronidazol a 400 mg L⁻¹ que foi preparada 30 minutos antes da análise. Os cromatogramas das três soluções foram sobrepostos e são apresentados na Figura 3.27

É possível observar que houve uma grande diminuição da área da amostra que permaneceu sob radiação de Luz UV, entretanto a amostra que permaneceu em solução durante 45 dias sem radiação UV, praticamente permaneceu sem alteração comparada com a solução recém preparada, mostrando que o metronidazol é muito estável em solução. A Tabela 3.16, mostra a relação das áreas e quantidade em porcentagem de degradação da molécula.

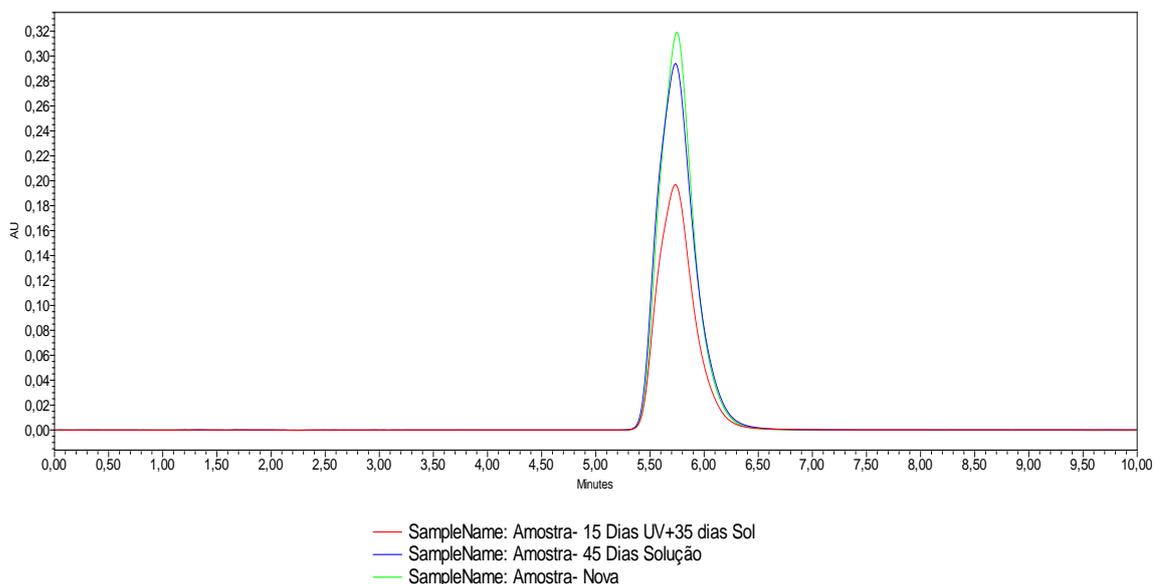


Figura 3.27: Sobreposição dos cromatogramas das amostras de metronidazol para avaliação da estabilidade da molécula em solução.

Tabela 3.16: Porcentagem de degradação da molécula de metronidazol no estudo de estabilidade do metronidazol em solução.

Amostra	Área (Au)	% variação
Controle	7129777	-
45 Dias em Solução	7046272	1,17%
15 Dias UV + 30 Solução	4620735	35,19%

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSÕES

Levando em conta as diferentes abordagens ou perspectivas, tanto do ponto de vista cinético como de equilíbrio, de salientar o principal mecanismo ou principais mecanismos, condicionado pelas quantidades de adsorvente e de adsorvato, pode-se afirmar que o adsorvente CCCB possui excelentes características e propriedades adsorptivas: três zonas principais de adsorção bem definidas e dois mecanismos principais de adsorção como sendo de mono e multicamada para o fármaco metronidazol. O mecanismo de multicamada permite ampliar a capacidade máxima de adsorção conforme se tenha maior concentração deste fármaco num efluente industrial, havendo a possibilidade de reter o fármaco tanto da superfície, na qual acontece a maior parte da capacidade, como nos macro e mesoporos. O processo de remoção de metronidazol é economicamente viável visto o baixo custo na obtenção ou fabricação do adsorvente CCCB, além de possuir uma excelente capacidade máxima adsorptiva.

CAPÍTULO 5

5. ELEMENTOS PÓS-TEXTUAIS

5.1 Apêndices

Apêndice 1

Tabela 5.1: Valores Crítico para o Teste de Cochran ao nível de significância de 5%.

$k \backslash n$	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	17	37	145	∞
2	0,9985	0,9750	0,9392	0,9057	0,8772	0,8534	0,8332	0,8159	0,8010	0,7880	0,7341	0,6602	0,5813	0,5000
3	0,9669	0,8709	0,7977	0,7457	0,7071	0,6771	0,6530	0,6333	0,6167	0,6025	0,5466	0,4748	0,4031	0,3333
4	0,9065	0,7679	0,6841	0,6287	0,5895	0,5598	0,5365	0,5175	0,5017	0,4884	0,4366	0,3720	0,3093	0,2500
5	0,8413	0,6838	0,5931	0,5441	0,5065	0,4783	0,4564	0,4387	0,4241	0,4118	0,3645	0,3066	0,2513	0,2000
6	0,7808	0,6161	0,5321	0,4803	0,4447	0,4194	0,3980	0,3817	0,3682	0,3568	0,3135	0,2612	0,2119	0,1667
7	0,7271	0,5612	0,4800	0,4307	0,3974	0,3726	0,3535	0,3384	0,3299	0,3154	0,2756	0,2278	0,1833	0,1429
8	0,6798	0,5157	0,4377	0,3910	0,3595	0,3362	0,3185	0,3043	0,2926	0,2829	0,2462	0,2022	0,1616	0,1250
9	0,6385	0,4775	0,4027	0,3584	0,3286	0,3067	0,2901	0,2768	0,2659	0,2568	0,2226	0,1820	0,1446	0,1111
10	0,6020	0,4450	0,3733	0,3311	0,3029	0,2823	0,0666	0,2541	0,2439	0,2353	0,2032	0,1655	0,1308	0,1000
12	0,5410	0,3924	0,3264	0,2880	0,2624	0,2439	0,2299	0,2187	0,2098	0,2020	0,1737	0,1403	0,1100	0,0833
15	0,4709	0,3346	0,2758	0,2419	0,2195	0,2034	0,1911	0,1815	0,1736	0,1671	0,1429	0,1144	0,0889	0,0667
20	0,3894	0,2705	0,2205	0,1921	0,1735	0,1602	0,1501	0,1422	0,1357	0,1303	0,1108	0,0879	0,0675	0,0500
24	0,3434	0,2354	0,1907	0,1656	0,1493	0,1374	0,1246	0,1216	0,1160	0,1113	0,0942	0,0743	0,0567	0,0417
30	0,2929	0,1980	0,1593	0,1377	0,1237	0,1137	0,1061	0,1002	0,0958	0,0921	0,0771	0,0604	0,0457	0,0333
40	0,2370	0,1576	0,1259	0,1082	0,0968	0,0887	0,0827	0,0780	0,0745	0,0713	0,0595	0,0462	0,0347	0,0250

Figura 5.2: Tabela de Grubbs.

N	0.1	0.075	0.05	0.025	0.01		N	0.1	0.075	0.05	0.025	0.01
3	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15		53	0	0	2.981	3.151	999
4	1.42	1.44	1.46	1.48	1.49		54	0	0	2.988	3.158	999
5	1.6	1.64	1.67	1.71	1.75		55	0	0	2.995	3.165	999
6	1.73	1.77	1.82	1.89	1.94		56	0	0	3.002	3.172	999
7	1.83	1.88	1.94	2.02	2.1		57	0	0	3.009	3.179	999
8	1.91	1.96	2.03	2.13	2.22		58	0	0	3.016	3.186	999
9	1.98	2.04	2.11	2.21	2.32		59	0	0	3.023	3.193	999
10	2.03	2.1	2.18	2.29	2.41		60	0	0	3.03	3.2	999
11	2.09	2.14	2.23	2.36	2.48		61	0	0	3.036	3.206	999
12	2.13	2.2	2.29	2.41	2.55		62	0	0	3.042	3.212	999
13	2.17	2.24	2.33	2.46	2.61		63	0	0	3.048	3.218	999
14	2.21	2.28	2.37	2.51	2.66		64	0	0	3.054	3.224	999
15	2.25	2.32	2.41	2.55	2.71		65	0	0	3.06	3.23	999
16	2.28	2.35	2.44	2.59	2.75		66	0	0	3.066	3.236	999
17	2.31	2.38	2.47	2.62	2.79		67	0	0	3.072	3.242	999
18	2.34	2.41	2.5	2.65	2.82		68	0	0	3.078	3.248	999
19	2.36	2.44	2.53	2.68	2.85		69	0	0	3.084	3.254	999
20	2.38	2.46	2.56	2.71	2.88		70	0	0	3.09	3.26	999
21	0	0	2.58	2.73	2.91		71	0	0	3.095	3.265	999
22	0	0	2.6	2.76	2.94		72	0	0	3.1	3.27	999
23	0	0	2.62	2.78	2.96		73	0	0	3.105	3.275	999
24	0	0	2.64	2.8	2.99		74	0	0	3.11	3.28	999
25	0	0	2.66	2.82	3.01		75	0	0	3.115	3.285	999
26	0	0	2.68	2.84	999		76	0	0	3.12	3.29	999
27	0	0	2.7	2.86	999		77	0	0	3.125	3.295	999
28	0	0	2.72	2.88	999		78	0	0	3.13	3.3	999
29	0	0	2.73	2.9	999		79	0	0	3.135	3.305	999
30	0	0	2.75	2.91	999		80	0	0	3.14	3.31	999
31	0	0	2.76	2.93	999		81	0	0	3.144	3.314	999
32	0	0	2.78	2.95	999		82	0	0	3.148	3.318	999
33	0	0	2.79	2.96	999		83	0	0	3.152	3.322	999
34	0	0	2.81	2.97	999		84	0	0	3.156	3.326	999
35	0	0	2.82	2.98	999		85	0	0	3.16	3.33	999
36	0	0	2.83	2.992	999		86	0	0	3.164	3.334	999
37	0	0	2.84	3.004	999		87	0	0	3.168	3.338	999
38	0	0	2.85	3.016	999		88	0	0	3.172	3.342	999
39	0	0	2.86	3.028	999		89	0	0	3.176	3.346	999
40	0	0	2.87	3.04	999		90	0	0	3.18	3.35	999
41	0	0	2.88	3.05	999		91	0	0	3.183	3.353	999
42	0	0	2.89	3.06	999		92	0	0	3.186	3.356	999
43	0	0	2.9	3.07	999		93	0	0	3.189	3.359	999
44	0	0	2.91	3.08	999		94	0	0	3.192	3.362	999
45	0	0	2.92	3.09	999		95	0	0	3.195	3.365	999
46	0	0	2.928	3.098	999		96	0	0	3.198	3.368	999
47	0	0	2.936	3.106	999		97	0	0	3.201	3.371	999
48	0	0	2.944	3.114	999		98	0	0	3.204	3.374	999
49	0	0	2.952	3.122	999		99	0	0	3.207	3.377	999
51	0	0	2.967	3.137	999		100	0	0	3.21	3.38	999
52	0	0	2.974	3.144	999							

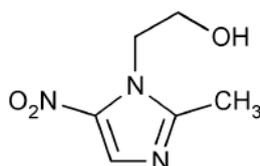
Figura 5.1: Certificado do padrão de metronidazol.



U.S. Pharmacopeia
The Standard of Quality[®]

USP Certificate

Metronidazole LOT J11272



Molecular Formula

C₆H₉N₃O₃

Molecular Weight

171.15

CAS Number

443-48-1

LABEL TEXT



USP REFERENCE STANDARD

METRONIDAZOLE 100 mg

Warning! Suspected of causing cancer. May cause damage to organs (nervous system) through prolonged or repeated exposure.

Dry portion at 105° for 2 hours before using. For quantitative applications, use a value of 1.000 mg of metronidazole per mg of material on the dried basis. Keep container tightly closed. Protect from light.



USP, 12601 Twinbrook Pkwy, Rockville, MD, +1-301-881-0886
CAT No. 1442009 Material mfd in Italy

Intentionally over-labeled for GHS compliance

For use with specified USP compendial tests. Not for use as a drug. See SDS prior to use at www.usp.org/sds

Obtain special instructions before use. Do not handle until all safety precautions have been read and understood. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. If exposed or concerned, Get medical advice/attention. Store locked up. Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

USP certifies that the USP Reference Standards Committee, in accordance with their rules and procedures, determined that this USP Reference Standard lot is suitable to assess compliance with the monograph standards for which it is specified. The critical characteristics of this lot are usually determined independently in three or more laboratories, including USP, government, academic, and industrial collaborators.

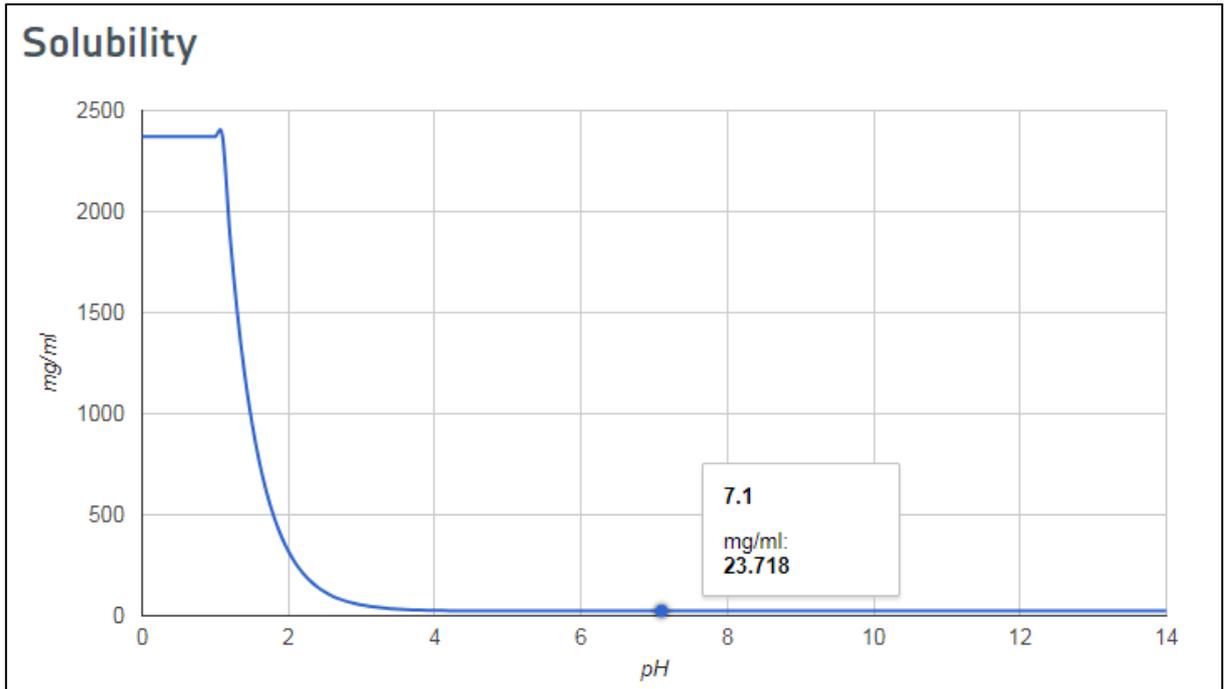


Figura 5.2: Solubilidade tinidazol

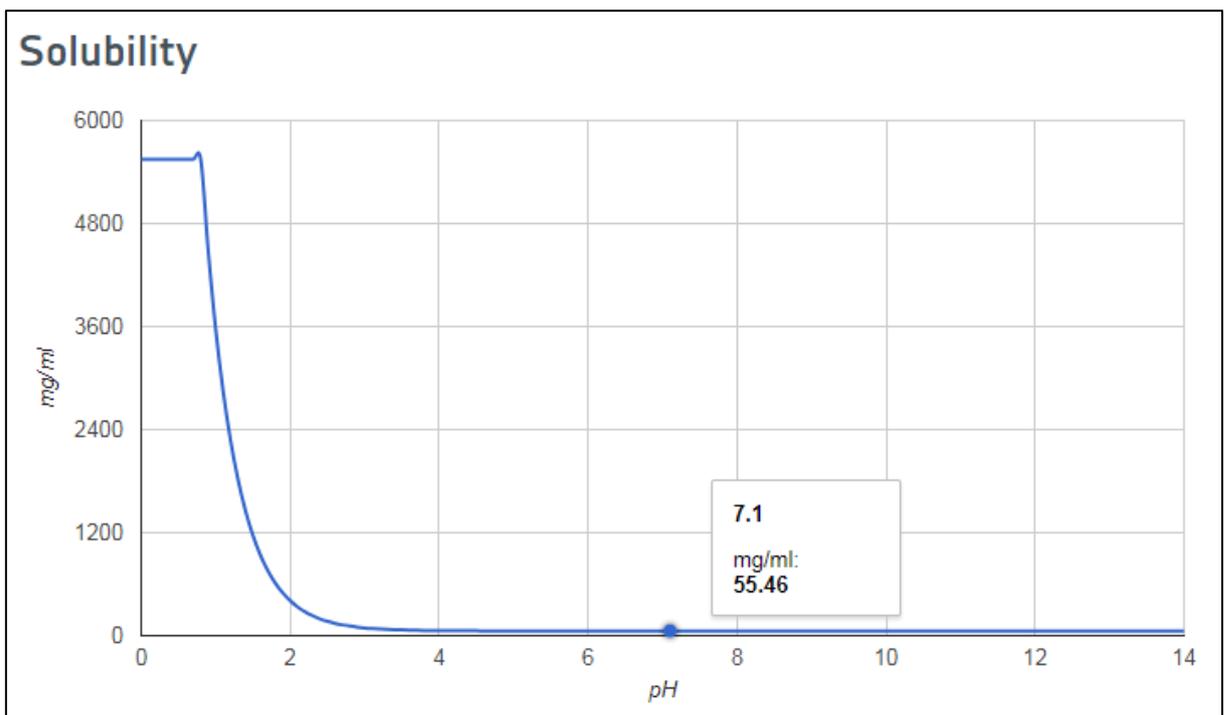


Figura 5.3: Solubilidade secnidazol

Tabela 5.2: Precisão (repetibilidade) esperada em função da concentração do analito. (Adaptado de AOAC) [54]

Analyte, %	Mass fraction (C)	Unit	RSD, %
100	1	100 %	1,3
10	10 ⁻¹	10 %	1,9
1	10 ⁻²	1%	2,7
0,1	10 ⁻³	0,1%	3,7
0,001	10 ⁻⁴	100 ppm (mg kg ⁻¹)	5,3
0,0001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg kg ⁻¹)	7,3
0,00001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg kg ⁻¹)	11
0,000001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg kg ⁻¹)	15
0,0000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg kg ⁻¹)	21
0,00000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg kg ⁻¹)	30

Tabela 5.3: Desvio padrão relativo previsto para a reprodutibilidade. (Adaptado de AOAC).

Analyte, %	Mass fraction (C)	Unit	RSD, %
100	1	100 %	2
10	10 ⁻¹	10 %	3
1	10 ⁻²	1%	4
0,1	10 ⁻³	0,1%	6
0,001	10 ⁻⁴	100 ppm (mg kg ⁻¹)	8
0,0001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg kg ⁻¹)	11
0,00001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg kg ⁻¹)	16
0,000001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg kg ⁻¹)	22
0,0000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg kg ⁻¹)	32
0,00000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg kg ⁻¹)	45

Tabela 5.4: Recuperação esperada em função da concentração do analito. (Adaptado de AOAC)

Analyte, %	Mass fraction (C)	Unit	Mean recovery, %
100	1	100 %	98-102
10	10 ⁻¹	10 %	
1	10 ⁻²	1%	97- 103
0,1	10 ⁻³	0,1%	95- 105
0,001	10 ⁻⁴	100 ppm (mg kg ⁻¹)	90- 107
0,0001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg kg ⁻¹)	
0,00001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg kg ⁻¹)	80- 110
0,000001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg kg ⁻¹)	60- 115
0,0000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg kg ⁻¹)	
0,00000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg kg ⁻¹)	40- 120

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ZHOUA, et al. Prevalence and dissemination of antibiotic resistance genes and coselection of heavy metals in Chinese dairy farms. **Journal of Hazardous Materials**, p. 320, 2016
2. YIDONG, G. et al. Occurrence and Fate of Antibiotics in the Aqueous Environment and Their Removal by Constructed Wetlands in China: A review. **Pedosphere**, p. 42-51, 2017
3. YE, Z.-L. et al. Adsorption behavior of tetracyclines by struvite particles in the process of phosphorus recovery from synthetic swine wastewater. **Elsevier B.V. All rights reserved**, p. 1385-8947, 2016
4. LARSON, C. China's lakes of pig manure spawn antibiotic resistance. **Science**, p. 704-704, 2015.
5. KÜMMERER, K.; AL-AHMAD, A.; MERSCH-SUNDERMANN, V. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and a€fection of wastewater bacteria in a simple test. **Chemosphere**, p. 701-710, 2000.
6. DUNLOP, P. S. M. et al. Effect of photocatalysis on the transfer of antibiotic resistance genes in urban wastewater. **Catalysis Today**, 2014.
7. SEPEHR, M. N. et al. Adsorption performance of magnesium/aluminum layered double hydroxide nanoparticles for metronidazole from aqueous solution. **Arabian Journal of Chemistry**, 2016.
8. MAWHINNEY, D. et al. 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, August 2006.
9. CAI, Y. et al. Occurrence and removal of antibiotics in a municipal wastewater reclamation plant in Beijing, China. **Chemosphere**, v. 92, p. 435-444, 2013.
10. ZHAO, X. et al. Occurrence, seasonal variation and risk assessment of antibiotics in the reservoirs in North China. **Chemosphere**, v. 111, p. 327-335, September 2014.
11. CARRELES-ALVARADO, D. H. et al. Removal of the antibiotic metronidazole by adsorption on various carbon materials from aqueous phase. **Journal of Colloid and Interface Science**, p. 276-285, 2014.

12. LOFRANO, G. et al. Photocatalytic degradation of the antibiotic chloramphenicol and effluent toxicity effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, p. 65-71, 2016.
13. JIN, Q. et al. Effects of NOM on the degradation of chloramphenicol by UV/H₂O₂ and the characteristics of degradation products. **Separation and Purification Technology**, n. 191, p. 108-115, 2018.
14. LIMA, M. J. et al. Homogeneous and heterogeneous photo-Fenton degradation of antibiotics using an innovative static mixer photoreactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 310, p. 342-351, 2017.
15. GIANNKIS, S. et al. Solar light and the photo-Fenton process against antibiotic resistant bacteria in wastewater: A kinetic study with a Streptomycin-resistant strain. **Catalysis Today**, 2017.
16. ÇALIŞKAN, E.; GÖKTÜRK, S. Adsorption Characteristics of Sulfamethoxazole and Metronidazole on Activated Carbon. **Separation Science and Technology**, p. 244-255, 2010.
17. CARVALHO, I. T.; SANTOS, L. Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. **Environment International**, 2016.
18. CHENG, D. L. et al. Bioprocessing for elimination antibiotics and hormones from swine wastewater. **Science of the Total Environment**, 7 october 2017.
19. FRIERI, M.; KUMAR, K.; BOUTIN, A. Antibiotic resistance. **Journal of Infection and Public Health**, 4 August 2017.
20. VERLICCHI, P.; AL AUKIFY, M.; ZAMBELLO, E. What have we learned from worldwide experiences on the management and treatment of hospital effluent? — An overview and a discussion on perspectives. **Science of the Total Environ**, v. 514, p. 467-491, 1 May 2015.
21. ANDRÉS, B.; DANIEL, M.; PATRICIA, O.-W. **Is metronidazole carcinogenic?** México: Mutation Research, v. 511, 2002. 133-144 p.
22. MEHRZAD-SAMARIN, M. et al. A Novel Metronidazole Fluorescent Nanosensor based on Graphene Quantum Dots Embedded Silica Molecularly Imprinted Polymer. **Biosensors Bioelectronics**, 2016.
23. OUYANG, Z. et al. Direct identification of prohibited substances in cosmetics and foodstuffs using ambient ionization on a miniature mass spectrometry system. **Analytica Chimica Acta**, v. 912, p. 65-73, 2016.

24. ANVISA. www.anvisa.gov.br. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/nitroimidazolicos.htm>. Acesso em: 12 agosto 2017.
25. ALEXY, R.; KÜMPEL, T.; KÜMMERER, K. Assessment of degradation of 18 antibiotics in the Closed Bottle Test. **Chemosphere**, v. 57, p. 505-512, June 2004.
26. PRADOS-JOYA, G. et al. Photodegradation of the antibiotics nitroimidazoles in aqueous solution by ultraviolet radiation. **Water Research**, p. 393-403, 2011.
27. CHEMICALIZE.COM. **Chemicalize**, 04 abril 2017. Disponível em: <<https://chemicalize.com/#/calculation>>.
28. LI, D.; SHI, W. Recent developments in visible-light photocatalytic degradation of antibiotics. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 37, p. 792-799, June 2016.
29. SANTANA, D. R. et al. TREATMENT OF AQUACULTURE WASTEWATER CONTAMINATED WITH METRONIDAZOLE BY ADVANCED OXIDATION TECHNIQUES. **Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management**, March 2017.
30. KENNETH, S. W. **Adsorption by Carbons**. [S.l.]: Elsevier Ltd, 2008. 3-14 p. Acesso em: 17 maio 2017.
31. BUTT, H. J.; GRAF, K.; KAPPL, M. **Physics and chemistry of interfaces**. 2nd. ed. [S.l.]: ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2006. 386pp p.
32. RUTHVEN. **Principles of adsorption and adsorption process**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 1984.
33. THOMAS, J. W.; CRITTENDEN, B. **Adsorption Technology & Design**. [S.l.]: Elsevier Ltd, 1998. 8-30 p.
34. BALL, D. W. **Físico-Química**. Tradução de Ana Marin Vichi. São Paulo: Pioneira, 1962.
35. AZIZIAN, S. Kinetic models of sorption: a theoretical analysis. **J Colloid Interface Sci**, v. 276, p. 47-52, 2004.
36. KALHORI, E. M. et al. Enhancement of the adsorption capacity of the light-weight expanded clay aggregate surface for the metronidazole antibiotic by coating with MgO nanoparticles: studies on the kinetic, isotherm, and effects of environmental parameters. **Chemosphere**, 2017.

37. WANG, C. et al. Comparison of Langmuir and Freundlich adsorption equations within the SWAT-K model for assessing potassium environmental losses at basin scale. **Agricultural Water Management**, 2016.
38. SUN, C. et al. Electro-adsorption of tetracycline from aqueous solution by carbonized pomelo peel and composite with aniline. **Applied Surface Science**, v. 386, p. 460-466, November 2016.
39. AL-GHOUTI, M. A.; AL-DEGS, Y. S. New adsorbents based on microemulsion modified diatomite and activated carbon for removing organic and inorganic pollutants from waste lubricants. **Chemical Engineering Journal**, 2011. 115-128.
40. BLANCO, S. P. D. et al. Kinetic, equilibrium and thermodynamic phenomenological modeling of reactive dye adsorption onto polymeric adsorbent. **Chemical Engineering Journal**, 2016.
41. PAVIA, D. L. et al. **Introduction to Spectroscopy**. 4. ed. United States of America: Brooks/cole. Cengage Learning, 2009. 656 p.
42. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5º Edição. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
43. MATERIAIS, L. M. D. C. D. www.uff.br. Disponível em: <<http://www.uff.br/lamate/index.php/bet>>. Acesso em: 22 Novembro 2017.
44. REGALBUTO, W. L.; SMITH, J. C.; HARRIOT, P. The engineering of Pt/Carbon catalyst preparation, Chicago. Disponível em: <http://amrel.bioe.uic.edu/NSFREU2004/Reports2004/Jaime%20Robles_Final%20Report.pdf>. Acesso em: 26 Outubro 2017.
45. ANVISA. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017. **ANVISA**, 2017. Disponível em: <<https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>>.
46. NETO, B. B.; SCARMINIO, S. I.; BRUNS, E. R. **Como fazer experimentos**. Campinas-Sp: Editora da Unicamp, 2001. 412 p.
47. FLORES-CANO, J. V. et al. diatrizoate on activated carbons prepared from coffee residues and diatrizoate on activated carbons prepared from coffee residues almond shells. **Journal of Environmental Management**, p. 116-125, 2016.
48. BARBOSA, L. C. D. A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa: UFV, 2007.

49. NASCIMENTO, R. F. et al. **Adsorção- aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Copyright, 2014.
50. SING, K. S. W. et al. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. **Pure & Appl. Chem.**, v. 4, p. 603-619, 1985.
51. WERBER, W. J.; MORRIS, J. C. Kinetics of Adsorption on Carbon from Solution. **Journal of Sanitary Engineering Division ASCE.**, v. 89, n. 2, p. 31-60, mar/abr 1963.
52. INTERNATIONAL, A.-. AOAC- International, 2016. Disponível em: <http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf>. Acesso em: 2018.
53. PIMENTEL, M. F.; NETO, B. D. B. Calibração: Uma revisão para químicos analíticos. **Química Nova**, Recife, p. 268-277, 1996.
54. PROGRAM, A. P.-V. M. Manual on policies and procedures, Rockville, MD, 1998.
55. THOMAS, J. W.; CRITTENDEN, B. Adsorption Technology & Design, p. 31-65, 1998.
56. SAÚDE, M. D. <http://bvsmms.saude.gov.br>. **Ministério da Saúde**, 7 Dezembro 2004. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0306_07_12_2004.html>. Acesso em: 27 Maio 2017.
57. HO, Y.-S. Second-order kinetic model for the sorption of cadmium onto tree fern: A comparison of linear and non-linear methods. **Water Res**, n. 40, p. 119-125, 2006.
58. LUCAS, D. et al. Fungal treatment for the removal of antibiotics and antibiotic resistance genes in veterinary hospital wastewater. **Chemosphere**, n. 152, p. 301-308, 2016.