Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Escola de Engenharia
Programa de Pós-graduação em Engenharia Química (PPGEQ)
Mestrado em Engenharia Química

Katianna Hugue

Avaliação Ecotoxicológica de águas contaminadas contendo lidocaína e propranolol tratadas por ozonização utilizando *Lactuca sativa* e *Allium cepa* como organismos-teste

Porto Alegre
2026

Katianna Hugue

Avaliação Ecotoxicológica de águas contaminadas contendo lidocaína e propranolol tratadas por ozonização utilizando *Lactuca sativa* e *Allium cepa* como organismos-teste

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profª Drª Liliana Amaral Féris
Coorientadora: Drª Letícia Reggiane de Carvalho Costa

Porto Alegre
2026

CIP - Catalogação na Publicação

Hugue, Katianna
Avaliação ecotoxicológica de águas contaminadas contendo lidocaína e propranolol tratadas por ozonização utilizando Lactuca sativa e Allium cepa como organismos-teste / Katianna Hugue. -- 2026.
153 f.
Orientadora: Liliana Amaral Féris.

Coorientadora: Letícia Reggiane de Carvalho Costa.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Escola de Engenharia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Porto Alegre, BR-RS, 2026.

1. Ecotoxicidade. 2. Ozonização. 3. Lactuca sativa. 4. Allium cepa. 5. ECOSAR. I. Féris, Liliana Amaral, orient. II. Costa, Letícia Reggiane de Carvalho, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Katianna Hugue

Avaliação Ecotoxicológica de águas contaminadas contendo lidocaína e propranolol tratadas por ozonização utilizando *Lactuca sativa* e *Allium cepa* como organismos-teste

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profª Drª Liliana Amaral Féris
Coorientadora: Drª Letícia Reggiane de Carvalho Costa

Aprovada em: Porto Alegre, 7 de Julho de 2026.

BANCA EXAMINADORA:

Caroline Borges Agustini
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Débora Jung Luvizetto Faccin
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Vanessa Jurado-Davila
Technical University of Munich

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Código de Financiamento 001.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de formação acadêmica.

À professora Liliana, por me acompanhar desde a iniciação científica até o mestrado, pelas orientações, pela paciência e pelo apoio ao longo da minha formação.

À Letícia, pela coorientação, pelas correções sempre ágeis e pela disposição em contribuir para este trabalho e me apoiar ao longo da jornada.

À equipe LASOP, pelo apoio e acolhimento durante estes anos.

À professora Caroline, pela disponibilidade de equipamentos de seu laboratório para a realização das análises ecotoxicológicas.

Aos técnicos da Central Analítica do DEQUI, Bruna e Eduardo, pela precisão e dedicação nas análises.

Aos membros da banca, por aceitarem o convite e dedicarem seu tempo à avaliação deste trabalho.

Também agradeço a todos que contribuíram para tornar esta jornada mais leve. Pelo apoio, acolhimento e incentivo nos momentos em que precisei.

À Silvana, por estar sempre presente, mesmo de longe. Sem seu apoio, eu não teria chegado aqui. Obrigada por estar do meu lado, mesmo nos momentos difíceis.

À Giovanna, por sempre ser um ouvido amigo. Obrigada por me ajudar a colocar as coisas em perspectiva e por me distrair quando tudo parece demais.

À minha mãe. Mãe, quando eu te ligo, parece que estou em casa. Mesmo quando não encontramos as palavras certas, só de te ter ao meu lado eu já me sinto acolhida.

Ao meu pai, por ter se esforçado para cuidar de mim. Obrigada por todo o apoio ao longo da vida.

Por último, mas não menos importante, agradeço aos amigos que me ajudaram a manter a alegria e a paz, e que me deram energia para seguir em frente.

À Bazzie, pelas fantásticas histórias que contamos juntos, e por todas as conversas que compartilhamos.

Aos companheiros do RPG que passaram por nossas mesas, Anayala, Andrey, Julia, Léozinho, Lúcia, Marina, Matheus e muitos mais, vocês fazem meus dias mais leves.

À Cacá, o dia a dia no laboratório é mais alegre contigo. Obrigada pelas trocas, pelos aprendizados, e por ser uma ótima amiga.

Ao Tiago, pelos nossos momentos compartilhados.

Ao Cafézinho, por ser um bom menino e por me lembrar que, às vezes, é preciso fazer uma pausa e apreciar o momento.

RESUMO

A presença de fármacos em ambientes aquáticos tem despertado preocupação devido à sua persistência, atividade biológica e potencial impacto ambiental. Entre esses compostos, lidocaína (LID) e propranolol (PRO) são frequentemente detectados em ambientes aquáticos devido à limitada eficiência dos tratamentos convencionais na sua remoção. Neste estudo, avaliou-se a aplicação de um processo oxidativo avançado (POA), a ozonização para degradação desses fármacos, considerando a formação de produtos de transformação (PTs) e os impactos ecotoxicológicos associados. Foram realizados experimentos de ozonização em bancada com os compostos isoladamente e em mistura, utilizando matriz sintética e água do Arroio Dilúvio (Porto Alegre, RS). Foram realizados ensaios exploratórios sob condições de 1,3 g O_3 h^{-1}, 10 min e pH ≈ 7 e após, aplicou-se um Delineamento Composto Central (CCD) para otimização das variáveis. A eficiência do processo foi avaliada por carbono orgânico total (COT), demanda química de oxigênio (DQO), DBO_5/DQO, absorbância específica no ultravioleta (SUVA) e identificação de PTs. A toxicidade foi investigada por predições *in silico* e bioensaios com *Lactuca sativa* e *Allium cepa*. Os ensaios exploratórios promoveram degradação de 100% dos fármacos e aumento da razão DBO_5/DQO da matriz sintética em até 21,5%. A mineralização atingiu 18,8% em água superficial e 8,1% em matriz sintética, na qual foram identificados cinco PTs, evidenciando que a degradação dos compostos não implica mineralização. A otimização indicou como melhores condições 15 min, pH 10 e taxa de 1,8 g O_3 h^{-1}. Nessas condições, foram obtidos 40,0% de mineralização e 75,9% de redução da DQO em água superficial, além de aumento de DBO_5/DQO e redução de 48,3% da SUVA em matriz sintética. A avaliação *in silico* indicou menor toxicidade aguda dos PTs para peixes. Os ensaios com *Lactuca sativa* também apresentaram redução da toxicidade em todos os *endpoints* avaliados. Em contraste, os ensaios com *Allium cepa* evidenciaram persistência da genotoxicidade após a ozonização. A mistura LID-PRO apresentou comportamento distinto dos compostos isolados, reduzindo a genotoxicidade após o tratamento, sugerindo que interações entre contaminantes influenciam na ecotoxicidade. Os resultados reforçam a necessidade de integrar a identificação de PTs *endpoints* ecotoxicológicos na avaliação de POAs.

Palavras-chave: Ecotoxicidade; Ozonização; *Lactuca sativa*; *Allium cepa*; Lidocaína; Propranolol; ECOSAR.

ABSTRACT

The presence of pharmaceuticals in aquatic environments has been raising concerns due to their persistence, biological activity, and potential environmental impact. Among these compounds, lidocaine (LID) and propranolol (PRO) are frequently detected in aquatic environments due to the limited efficiency of conventional treatments in removing them. In this study, the application of an advanced oxidation process (AOP), ozonation, for the degradation of these pharmaceuticals was evaluated, considering the formation of transformation products (TPs) and associated ecotoxicological impacts. Bench-scale ozonation experiments were conducted with the compounds individually and in a mixture, using a synthetic matrix and water from the Dilúvio Stream (Porto Alegre, RS). Exploratory tests were conducted under the following operational parameters: 1.3 g O_3 h^{-1}, 10 min, and pH ≈ 7, followed by the application of a Central Composite Design (CCD) for variable optimization. Process efficiency was evaluated through total organic carbon (TOC), chemical oxygen demand (COD), BOD_5/COD, specific ultraviolet absorbance (SUVA), and TP identification. Toxicity was investigated through *in silico* predictions and bioassays with *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. The exploratory tests promoted 100% degradation of the pharmaceuticals and increased the BOD_5/COD ratio of the synthetic matrix by up to 21.5%. Mineralization reached 18.8% in surface water and 8.1% in the synthetic matrix, in which five TPs were identified, demonstrating that compound degradation does not imply mineralization. Optimization indicated 15 min, pH 10, and an O_3 rate of 1.8 g O_3 h^{-1} as the best conditions. Under these conditions, 40.0% mineralization and 75.9% COD reduction were achieved in surface water, in addition to an increase in BOD_5/COD and a 48.3% reduction in SUVA in the synthetic matrix. The *in silico* assessment indicated lower acute toxicity of the TPs to fish. The *Lactuca sativa* assays also showed reduced toxicity across all evaluated endpoints. In contrast, the *Allium cepa* assays evidenced the persistence of genotoxicity after ozonation. The LID-PRO mixture showed a distinct behavior from the individual compounds, reducing genotoxicity after treatment, suggesting that interactions between contaminants influence ecotoxicity. The results reinforce the need to integrate TP identification and ecotoxicological endpoints in the assessment of AOPs.

Keywords: Ecotoxicity; Ozonation; *Lactuca sativa*; *Allium cepa*; Lidocaine; Propranolol; ECOSAR.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Número de publicações por ano (1995-2026). Palavras-chave: *phytotox* AND ozonation AND pharmaceuticals*.....22
Figura 2 – Ilustração das fases da mitose. Prófase: ocorre a condensação dos cromossomos e o início da formação do fuso mitótico. Metáfase: os cromossomos alinham-se no plano equatorial da célula. Anáfase: as cromátides-irmãs se separam e migram para polos opostos. Telófase: ocorre a reorganização do núcleo e a descondensação dos cromossomos, seguida pela citocinese 36
Figura 3 – Levantamento bibliográfico de estudos sobre a ozonização de LID e PRO na base Scopus utilizando as palavras-chave "*lidocaine OR lignocaine OR xylocaine AND ozonation" e* "*propranolol AND ozonation" entre os anos 2000 e 2025* 41
Figura 4 – Ilustração representando a descarga corona 45
Figura 5 – Representação esquemática dos ensaios exploratórios 49
Figura 6 – Mapa representando A) ponto de colega no campus Agronomia (UFRGS), e B) ponto de coleta na Avenida Érico Veríssimo 51
Figura 7 – Pontos de coleta no Arroio Dilúvio 52
Figura 8 – Montagem experimental dos ensaios de ozonização e de germinação com *Lactuca sativa*. (A) Concentrador de oxigênio; (B) gerador de ozônio; (C) reator de ozonização; (D) sistema de destruição do ozônio residual da corrente gasosa (*off-gas*); e (E) etapa de quenching do ozônio nas amostras 53
Figura 9 – Ilustração esquemática do ensaio de germinação de sementes de *Lactuca sativa*, realizado em triplicata para cada concentração avaliada (1, 3, 10, 30 e 100% v/v). As respostas de germinação e crescimento foram medidas e utilizadas para a modelagem da curva concentração–resposta e determinação da EC_{50}.....62
Figura 10 – Procedimento do ensaio com *Allium Cepa*, ilustrado passo-a-passo.....65
Figura 11 – Cromatogramas LID + PRO (A) antes e (B) depois da ozonização 69
Figura 12 – Carga orgânica das soluções de PRO, LID e S-LP no início e ao final do ensaio de ozonização.....70
Figura 13 – Parâmetros físico-químicos das soluções de PRO, LID e S-LP no início e ao final do ensaio de ozonização 72
Figura 14 – Valores de DBO_5/DQO, SUVA, e EOM das soluções de PRO, LID e S-LP antes e após o tratamento por ozonização 73

Figura 15 – Distribuição dos comprimentos de radículas e hipocótilos dentro das unidades experimentais no ensaio de fitotoxicidade com *Lactuca sativa*.....83
Figura 16 – Índice de crescimento para *Lactuca sativa* 88
Figura 17 – A) Metáfase com aderência cromossômica B) Célula apoptótica C) Célula binucleada D) Anáfase desorganizada E) Fragmento cromossômico em anáfase F) C-mitose G) Perda cromossômica H) C-metáfase I) Multipolaridade J) Telófase com cromossomos retardatários K) Micronúcleo L) C-mitose.....92
Figura 18 – Valores de COT, DQO e DBO antes e após o tratamento por ozonização dos fármacos em matriz real 95
Figura 19 – Valores de pH e turbidez antes e após o tratamento por ozonização dos fármacos em matriz real.....97
Figura 20 – Valores de DBO_5/DQO, SUVA, e EOM antes e após o tratamento por ozonização dos fármacos em matriz real 98
Figura 21 – Espectro de massas para a amostra de 10 minutos A-LP, usada para ilustrar a ausência de PTs detectáveis para esa amostra 100
Figura 22 – Plântulas de *Lactuca sativa* expostas a: (A) água destilada; (B) A-LP antes da ozonização; e (C) A-LP após a ozonização.....105
Figura 23 – Índice de crescimento para *Lactuca sativa* 106
Figura 24 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da mineralização.....112
Figura 25 – Gráficos de superfície de resposta para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da mineralização.....113
Figura 26 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da DQO 114
Figura 27 – Diagrama de Pareto em função da ΔDBO_5/DQO.....115
Figura 28 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da ΔSUVA 116
Figura 29 – Superfície de resposta para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da ΔSUVA 117
Figura 30 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da mineralização.....120
Figura 31 – Gráficos de superfície de resposta para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da mineralização.....121

Figura 32 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da DQO 122
Figura 33 – Gráficos de superfície de resposta para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da DQO..... 123
Figura 34 – Diagrama de Pareto em função da $\Delta DBO_5/DQO$ 124
Figura 35 – Gráficos de superfície de resposta para o parâmetro $\Delta DBO_5/DQO$ 125
Figura 36 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da ΔSUVA 126
Figura 37 – Gráficos de superfície de resposta para o para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da ΔSUVA..... 127
Figura 38 – Índice de crescimento (IC) de *Lactuca sativa* para o ponto ótimo determinado nos planejamentos experimentais das matrizes real e sintética 132

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Propriedades físico-químicas dos fármacos estimadas pelo software EPI Suite 29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Trabalhos sobre o monitoramento ambiental de LID e PRO 27
Tabela 2 – Compilação de trabalhos sobre degradação de fármacos por ozonização 42
Tabela 3 – Definição dos níveis do planejamento experimental.....55
Tabela 4 – Definição do planejamento experimental.....55
Tabela 5 – Conversão da taxa para dose de O_3, considerando os tempos de reação utilizados 56
Tabela 6 – Parâmetros empregados nas análises de HPLC da LID e PRO 58
Tabela 7 – Compostos identificados e respectivos tempos de ozonização em que foram detectados.....75
Tabela 8 – Valores preditos de log Kow e LC_{50} para peixes de cada isômero de PT identificado, obtidos utilizando o EPI Suite.....79
Tabela 9 – Valores de EC_{50} para os diferentes *endpoints* de toxicidade em *Lactuca sativa* antes e depois do processo de ozonização (1,34 g h^{-1} O_3, 10 min, pH ≈ 7) ...83
Tabela 10 – Valores de desenvolvimento comparativo com o branco, e resultados do teste de Dunnett de comparação de médias para avaliação de LOEC na *Lactuca sativa*. 86
Tabela 11 – Avaliação citotóxica e genotóxica pelo teste com *Allium cepa*: índices mitótico e de aberrações cromossômicas antes e após ozonização 90
Tabela 12 – Caracterização inicial da água do arroio Dilúvio.....93
Tabela 13 – Valores de EC_{50} (%) para os diferentes *endpoints* de toxicidade em ..101
Tabela 14 – Valores de desenvolvimento comparativo com o controle, e resultados do teste de Dunnett de comparação de médias para avaliação de LOEC para a *Lactuca sativa* 103
Tabela 15 – Avaliação de IM (%) e IAC (%) dos tratamentos em matriz real.....108
Tabela 16 – Respostas do planejamento experimental CCD em solução sintética.111
Tabela 17 – Parâmetros avaliados para superfície de resposta do planejamento CCD em águas superficiais.....119
Tabela 18 – Parâmetros avaliados para o ponto ótimo dos planejamentos experimentais 129
Tabela 19 – Parâmetros iniciais e finais para o ponto ótimo dos planejamentos experimentais 129

Tabela 20 – Valores de EC_{50} (mg L^{-1}) para os diferentes *endpoints* de toxicidade em *Lactuca sativa* 130
Tabela 21 – Valores de desenvolvimento comparativo com o branco, e resultados do teste de Dunnett de comparação de médias para avaliação de LOEC da *Lactuca sativa* 131
Tabela 22 – Avaliação de fitotoxicidade através de *Allium cepa* 133

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCD	Delineamento Composto Central
CE	Contaminante Emergente
COT	Carbono Orgânico Total
DAD	Detector por Arranjo de Diodos (*Diode Array Detector*)
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EC_{50}	Concentração Efetiva Mediana
ECOSAR	*Ecological Structure Activity Relationships*
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
LASOP	Laboratório de Separação e Operações Unitárias
LC_{50}	Concentração Letal Mediana
LID	Lidocaína
LOEC	Menor Concentração com Efeito Observado
MON	Matéria Orgânica Natural
MS	Espectrometria de Massas
NESA	Núcleo de Estudos em Saneamento Ambiental
NTU	Unidade Nefelométrica de Turbidez
OMS	Organização Mundial da Saúde
POA	Processo Oxidativo Avançado
PRO	Propranolol
QSAR	Relação Quantitativa Estrutura-Atividade
RS	Rio Grande do Sul
SUVA	Absorbância Ultravioleta Específica
PT	Produto de Transformação
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

LISTAS DE SÍMBOLOS

·OH	Radical hidroxila
A	Ampere
cm	Centímetro
E°	Potencial elétrico padrão
g	Grama
h	Hora
Hz	Hertz
L	Litro
log K_{OW}	Coeficiente de partição octanol/água
M	Molar (mol L^{-1})
mg	Miligrama
min	Minuto
µm	Micrômetro
nm	Nanômetro
O_2	Oxigênio
O_3	Ozônio
°C	Graus Celsius
pH	Potencial hidrogeniônico
pKa	Logaritmo da constante de acidez
TiO_2	Dióxido de titânio
V	Volt

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 20
1.1 OBJETIVOS 22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 24
2.1 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES 24
2.1.1 Lidocaína e Propranolol 26
2.2 DESAFIOS NO TRATAMENTO DE ÁGUAS E EFLUENTES 29
2.2.1 Avanços na legislação 31
2.3 ECOTOXICIDADE 32
2.3.1 Fitotoxicidade 33
2.3.1.1 Ensaios de fitotoxicidade com *Lactuca Sativa* 34
2.3.1.2 Ensaios de fitotoxicidade com *Allium Cepa* 35
2.3.2 Toxicidade *in silico* 38
2.4 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS 39
2.4.1 Ozonização 40
2.4.1.1 Geração de Ozônio 44
2.4.1.2 Formação de Intermediários e Subprodutos de Oxidação 45
2.4.1.3 Influência dos Parâmetros Operacionais 47
3 METODOLOGIA 49
3.1 REAGENTES 50
3.2 COLETAS NO ARROIO DILÚVIO 50
3.3 ENSAIOS DE OZONIZAÇÃO 52
3.3.1 Planejamento Experimental 54
3.3.2 Análises Estatísticas 57
3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS 57
3.4.1 Análises Físico-Químicas 57
3.4.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) 58
3.4.2.1 Espectrometria de Massas (MS) 58
3.4.3 Carbono Orgânico Total (COT) 59
3.4.4 Aromaticidade (UV_{254}) e Absorbância UV Específica (SUVA) 59
3.4.5 Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Estado de Oxidação Médio (EOM) 60
3.4.6 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e DBO_5/DQO 60

3.5 ECOTOXICIDADE 61
3.5.1 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Lactuca Sativa* 61
3.5.1.1 Análises Estatísticas 64
3.5.2 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Allium Cepa* 64
3.5.2.1 Análises Estatísticas 66
3.5.3 ECOSAR e toxicidade *in silico* 67
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 68
4.1 ENSAIOS EXPLORATÓRIOS 68
4.1.1 Ozonização dos fármacos em matriz sintética 68
4.1.1.1 Avaliação da Degradação dos compostos 68
4.1.1.2 Efeitos da ozonização nos parâmetros físico-químicos e composição da matéria orgânica 70
4.1.2 Avaliação de Subprodutos 75
4.1.3 Efeito da ozonização na ecotoxicidade dos fármacos em matriz sintética 78
4.1.3.1 Ecotoxicidade *in silico* 78
4.1.3.2 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Lactuca Sativa* 82
4.1.3.3 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Allium Cepa* 90
4.1.4 Ozonização dos fármacos em matriz real 93
4.1.4.1 Avaliação da Degradação dos compostos 94
4.1.4.2 Efeitos da ozonização nos parâmetros físico-químicos e composição da matéria orgânica 95
4.1.5 Avaliação de Subprodutos 100
4.1.6 Efeitos da ozonização na ecotoxicidade dos fármacos em matriz real 101
4.1.6.1 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Lactuca Sativa* 101
4.1.6.2 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Allium Cepa* 108
4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL 110
4.2.1 Matriz sintética 110
4.2.1.1 Avaliação da influência dos fatores na mineralização 112
4.2.1.2 Avaliação da influência dos fatores na DQO 114
4.2.1.3 Avaliação da influência dos fatores na DBO_5/DQO 115
4.2.1.4 Avaliação da influência dos fatores na SUVA 116
4.2.2 Matriz real 118

4.2.2.1 Avaliação da influência dos fatores na mineralização 120
4.2.2.2 Avaliação da influência dos fatores na DQO 122
4.2.2.3 Avaliação da influência dos fatores na DBO_5/DQO 124
4.2.2.4 Avaliação da influência dos fatores na SUVA 126
4.2.3 Determinação da condição ótima operacional 128
4.2.4 Ecotoxicidade 130
4.2.4.1 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Lactuca Sativa* 130
4.2.4.2 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Allium Cepa* 133
5 CONCLUSÃO 135
6 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS 137
REFERÊNCIAS 138

1 INTRODUÇÃO

A poluição das águas representa um dos desafios ambientais mais críticos da sociedade, afetando diretamente os ecossistemas e a saúde humana. O crescimento populacional aliado à intensificação da urbanização tem contribuído para o aumento do descarte de substâncias químicas nocivas em corpos hídricos (Strokal et al., 2021). Os contaminantes emergentes (CEs) como por exemplo, fármacos, produtos de cuidados pessoais e pesticidas, são substâncias químicas ainda pouco regulamentadas pela legislação ambiental, que podem causar impactos ao meio ambiente e à saúde humana.

Os fármacos destacam-se entre os CEs devido à sua resistência aos processos convencionais de tratamento, o que dificulta sua remoção completa em estações de tratamento de água e efluentes e resulta em sua frequente detecção em águas superficiais e, em alguns casos, em água classificada como potável pelas normas vigentes (Zanni et al., 2024). Além disso, efluentes hospitalares podem apresentar concentrações mais elevadas desses compostos sendo que, mesmo em baixas concentrações (μg L^{-1} a ng L^{-1}), são capazes de afetar organismos não-alvo, desencadeando efeitos ecológicos relevantes, como alterações endócrinas em organismos aquáticos (Hejna et al., 2022).

Na região Sul do Brasil, fármacos como propranolol (PRO) e lidocaína (LID) têm sido frequentemente detectados em ambientes aquáticos, incluindo o Arroio Dilúvio, em Porto Alegre – RS (Arsand et al., 2023). No caso da LID, destaca-se ainda sua possível introdução no ambiente como adulterante de drogas ilícitas, ampliando suas vias de contaminação (Ribeiro et al., 2019). A detecção desses compostos em diferentes fontes reforça a relevância do monitoramento ambiental e a necessidade de compreender seu comportamento no meio aquático.

Diversas técnicas têm sido empregadas para a remoção de contaminantes orgânicos em matrizes aquosas, incluindo processos convencionais de tratamento como coagulação, floculação, e sedimentação, além de tecnologias avançadas, como adsorção, sistemas de membranas e processos oxidativos avançados (POAs) (Eniola et al., 2022). Estes últimos se destacam pela geração de espécies altamente reativas capazes de oxidar compostos recalcitrantes. Entre os POAs existentes, a ozonização consiste em alternativa muito estudada devido à sua atuação direta com ozônio e, indireta, pela formação de radicais hidroxila. Esse duplo mecanismo favorece a alta

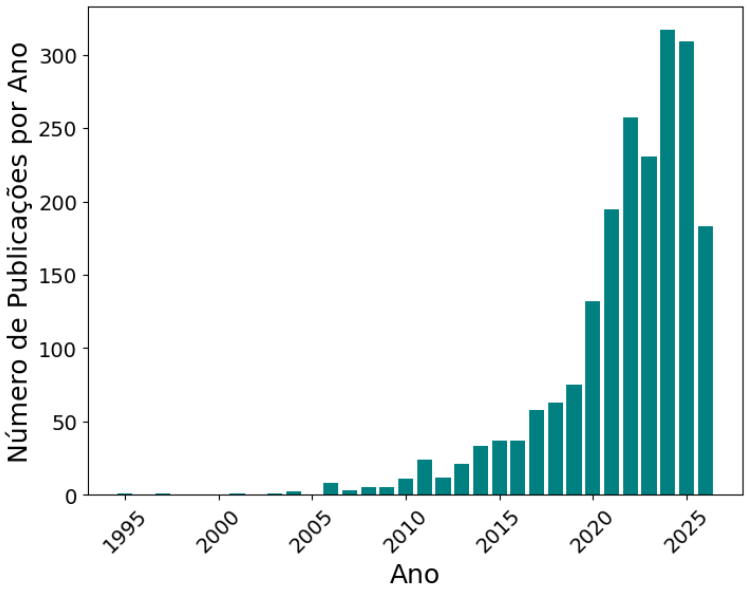
eficiência na degradação de contaminantes, além de elevar a DBO_5/DQO dos efluentes (Leontieff et al., 2025). A ozonização também oferece vantagens como a não-geração de resíduos sólidos e desinfecção através da destruição de microorganismos. No entanto, limitações como a formação de produtos de transformação (PTs) potencialmente tóxicos e persistentes, a dependência de condições operacionais e os custos associados à geração de ozônio ainda limitam sua aplicação em larga escala (Lim et al., 2022). A caracterização dos PTs ainda é um desafio, visto que embora técnicas analíticas permitam a identificação e quantificação de contaminantes com alta sensibilidade, essas abordagens ainda enfrentam desafios diante da complexidade das misturas ambientais.

Entre as análises de caracterização, destacam-se os ensaios ecotoxicológicos aplicados à avaliação de efluentes tratados, uma vez que fornecem respostas biológicas integradas e não específicas. Esses ensaios possibilitam a identificação dos efeitos causados por contaminantes não detectados por métodos analíticos, contribuindo para uma avaliação mais abrangente da qualidade ambiental das matrizes analisadas. Segundo Ofori et al., (2021), os ensaios ecotoxicológicos são elementos importantes na avaliação de efluentes para reuso em irrigação, pois demonstram que o fornecimento descontrolado de nutrientes e a presença de CEs podem comprometer a saúde das plantas e a produtividade agrícola.

De forma geral, há poucos estudos que integrem ozonização e ensaios de fitotoxicidade para os CEs. Há estudos que avaliaram a toxicidade do PRO em diferentes contextos, como no tratamento foto-Fenton com diferentes agentes quelantes (López-Vinent et al., 2021), bem como a fitotoxicidade do PRO em *Lactuca sativa* (Pino et al., 2016). Para a LID, não foram identificados estudos de fitotoxicidade, tampouco investigações que associem sua ozonização à avaliação ecotoxicológica em plantas. Embora existam trabalhos que avaliem a toxicidade de subprodutos por abordagens *in silico* ou utilizando outros organismos, a avaliação integrada com plantas ainda é escassa.

Nesse contexto, este trabalho situa-se na interface entre o tratamento de águas e a ecotoxicologia, investigando a degradação de fármacos por ozonização e os potenciais efeitos dos PTs. Apesar dos avanços na área, ainda existem lacunas importantes na literatura, especialmente quanto à degradação da LID e à toxicidade de PTs. Uma busca na base Scopus com palavras-chave *phytotox** AND *ozonation* AND *pharmaceuticals* é apresentada na Figura 1.

Figura 1 – Número de publicações por ano (1995-2026). Palavras-chave: *phytotox* AND ozonation AND pharmaceuticals*



Fonte: Elaborada pela autora, com informações da base de dados Scopus, adquiridas no dia 14 de julho de 2026.

De acordo com a Figura 1, observa-se um crescente interesse de pesquisadores pelas técnicas de ozonização e fitotoxicidade para o tratamento de fármacos ao longo dos anos. Nesse contexto, o presente estudo visa contribuir para o avanço do conhecimento sobre os efeitos fitotóxicos associados à ozonização de fármacos, uma área ainda pouco explorada na literatura científica.

1.1 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho consiste em avaliar de forma integrada os efeitos ecotoxicológicos do tratamento de LID e PRO por ozonização em águas do arroio Dilúvio.

Os objetivos específicos são:

- Avaliação preliminar da eficiência de ozonização de soluções de LID e PRO e do efeito da ozonização na toxicidade das amostras tratadas;
- Estudo do efeito do pH, do tempo e da vazão de ozônio na operação do processo de ozonização através de planejamento experimental com variáveis de resposta mineralização, DBO_5/DQO, redução da demanda química de oxigênio (DQO) e absorbância ultravioleta específica (SUVA);

- Estudo da influência dos PTs gerados pela ozonização na ecotoxicidade das amostras tratadas, bem como dos potenciais efeitos ecotoxicológicos desses compostos por meio de ferramentas *in silico*;
- Estudo da fitotoxicidade de efluentes tratados por meio da Concentração Efetiva Média (EC_{50}), utilizando *Lactuca sativa* e *Allium cepa* como organismos-teste, com base em respostas fisiológicas (germinação, crescimento radicular e crescimento de hipocótilo) e celulares (citotoxicidade e genotoxicidade).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Este capítulo apresenta o embasamento teórico que fundamenta o desenvolvimento deste trabalho. A ocorrência de fármacos como contaminantes emergentes é abordada, com destaque para a LID e o PRO. Também são discutidos os desafios associados ao tratamento de águas e efluentes, assim como a avaliação da toxicidade do efluente tratado quando se usa processos oxidativos avançados. Os tópicos contribuem para a contextualização do estudo e fornecem suporte para a compreensão das metodologias empregadas e a interpretação dos resultados.

2.1 FÁRMACOS COMO CONTAMINANTES EMERGENTES

A presença de fármacos em águas superficiais constitui uma preocupação ambiental crescente, especialmente em países com elevada densidade populacional e desafios relacionados ao saneamento básico, como o Brasil. Esses compostos, que incluem analgésicos, antibióticos, anti-inflamatórios, hormônios e outros medicamentos de uso humano e veterinário, são introduzidos no ambiente aquático principalmente por meio da excreção humana, do descarte inadequado de medicamentos e dos efluentes provenientes de indústrias farmacêuticas, hospitais e estações de tratamento de esgoto (Feng et al., 2023). Embora os efluentes sejam frequentemente lançados em conformidade com a legislação vigente, eles ainda podem conter resíduos de fármacos e outros contaminantes emergentes, uma vez que a legislação brasileira não estabelece limites de concentração para esses compostos.

Estudos realizados no Brasil têm identificado a presença de diferentes classes de fármacos em águas superficiais, frequentemente em concentrações na faixa de $\mu g\ L^{-1}$ a $ng\ L^{-1}$, mas com efeitos cumulativos ainda pouco compreendidos. Perin et al. (2021) monitoraram a presença de 41 fármacos, 62 pesticidas e 27 elementos químicos na água do Lago Guaíba, na região metropolitana de Porto Alegre, revelando ampla contaminação por micropoluentes. Foram detectados 15 fármacos (6–580 $ng\ L^{-1}$), incluindo analgésicos, anti-inflamatórios, beta-bloqueadores e antibióticos, com LID presente em todas as amostras.

Chaves et al., (2020) avaliaram a ocorrência de fármacos e produtos de cuidado pessoal em águas superficiais e sedimentos dos estuários dos rios Anil e Bacanga, na região nordeste do Brasil, identificando 11 compostos nas amostras de água. Entre

eles, a cafeína apresentou as maiores concentrações (até 13,8 ng L^{-1}), seguida por paracetamol, ibuprofeno, sulfametoxazol, carbamazepina e diclofenaco. Os autores observaram que a distribuição espacial e temporal dos contaminantes indicou forte influência de atividades urbanas e descargas de estações de tratamento de esgoto como principais fontes de entrada, enquanto a avaliação de risco apontou que paracetamol, cafeína, diclofenaco e ibuprofeno representam alto risco para organismos aquáticos, como crustáceos e peixes.

A ocorrência desses contaminantes em rios, lagos e reservatórios é geralmente agravada pela limitada cobertura de sistemas de coleta e tratamento de esgoto. Muitas das estações de tratamento existentes em diferentes países não são projetadas para remover CEs, permitindo que resíduos farmacêuticos persistam no ambiente. Rúa-Gómez; Püttmann, (2012) avaliaram a presença e a remoção de fármacos e seus metabólitos em uma estação de tratamento de água na Alemanha, concluindo que até 50% da concentração desses compostos é removida, enquanto o restante permanece presente no efluente tratado. Gabet-Giraud et al., (2010) encontraram taxas variáveis de remoção de fármacos em uma estação de tratamento convencional biológico, com baixa remoção para sotalol e propranolol (<20%).

No ambiente, os principais mecanismos naturais de degradação de fármacos incluem a fotodegradação indireta, mediada por espécies reativas de oxigênio em águas expostas à radiação solar; a biodegradação, dependente da atividade de microrganismos especializados; e a adsorção em matéria orgânica e sedimentos. Este último, consiste em processo que pode atenuar temporariamente a biodisponibilidade dos compostos, mas que não elimina seu potencial risco ecológico (Sumpter et al., 2021).

Como resultado, a presença desses compostos nos recursos hídricos pode afetar organismos aquáticos, causando alterações fisiológicas, comportamentais e reprodutivas, além de potencialmente contribuir para o desenvolvimento de resistência antimicrobiana.

Segundo Kayode-Afolayan; Ahuekwe; Nwinyi, (2022), resíduos farmacêuticos em efluentes podem causar resistência microbiana, disrupção endócrina em peixes e prejuízos ao desenvolvimento de organismos aquáticos, além de favorecer processos de eutrofização. Batucan et al., (2022) observaram que carbamazepina, diclofenaco e ibuprofeno apresentam efeitos tóxicos mesmo em baixas concentrações, incluindo alterações comportamentais, danos fisiológicos e estresse oxidativo em organismos

aquáticos. Já Hejna; Kapuścińska; Aksmann, (2022) destacaram que anti-inflamatórios não esteroidais podem causar danos genéticos, alterações reprodutivas e bioacumulação, comprometendo a biodiversidade e o equilíbrio ecológico dos ambientes aquáticos.

A remediação dos riscos ambientais associados aos CEs baseia-se principalmente no monitoramento ambiental, na implementação de políticas públicas e no desenvolvimento de tecnologias de tratamento mais eficientes. Tais ações incluem a avaliação da ocorrência, a transformação, e toxicidade desses compostos, a criação de diretrizes para o uso racional de produtos farmacêuticos, além do aprimoramento de processos avançados de degradação, uma vez que os tratamentos convencionais apresentam baixa eficiência em sua remoção (Chaturvedi et al., 2021).

A complexidade desse problema envolve fatores como o consumo crescente de medicamentos, a falta de regulamentação específica para esses contaminantes e a necessidade de tecnologias mais avançadas para o tratamento de águas. Diante desse cenário, é fundamental ampliar o monitoramento ambiental, investir em políticas públicas eficazes e promover a conscientização da população sobre o descarte correto de medicamentos.

2.1.1 Lidocaína e Propranolol

Entre os diferentes CEs detectados no ambiente, a LID e o PRO têm despertado preocupação devido à sua ampla utilização e persistência em sistemas aquáticos. A LID é um anestésico local amplamente empregado em procedimentos odontológicos, pequenas cirurgias e como antiarrítmico em ambientes hospitalares, além de ser identificada como adulterante em drogas ilícitas, como o crack (Ribeiro et al., 2019). Já o PRO é um betabloqueador amplamente prescrito para o tratamento de hipertensão, arritmias cardíacas, enxaqueca e ansiedade. Ambos figuram entre os compostos farmacêuticos mais prescritos globalmente (Kane, 2024), contribuindo para sua presença contínua no ambiente.

A persistência desses fármacos está relacionada, entre outros fatores, à sua estabilidade sob exposição à radiação solar, uma vez que águas superficiais recebem incidência direta de luz. Segundo Wang et al., (2025), a meia-vida da LID em ambientes aquosos sob irradiação solar varia entre 708 e 1572 horas, indicando elevada persistência ambiental. Em contrapartida, Yamamoto et al., (2009) demonstraram que o PRO apresenta meia-vida de aproximadamente 6 horas sob

exposição solar, evidenciando maior suscetibilidade à fotólise. Ainda assim, o elevado consumo desse composto favorece sua pseudopersistência no ambiente, permitindo sua detecção contínua mesmo diante de processos naturais de degradação, transporte e adsorção.

É importante observar que após o uso, os fármacos são parcialmente metabolizados pelo organismo humano, sendo eliminados na forma inalterada ou como metabólitos (Zoumpouli et al., 2020). Segundo Kostrubiak et al., (2020), mais de 90% da LID é metabolizada, formando metabólitos com atividade farmacológica e potencial toxicidade, além de 2,6-xilidina, composto potencialmente carcinogênico. De forma semelhante à LID, o PRO é metabolizado quase totalmente, sendo apenas 1% a 4% da dose excretada inalterada (Witczyńska et al., 2025). Além disso, o descarte inadequado de medicamentos vencidos favorece a entrada desses fármacos nos sistemas de esgoto.

Diversos estudos nacionais e internacionais têm relatado a ocorrência de LID e PRO em diferentes matrizes ambientais, incluindo águas superficiais, efluentes tratados, águas subterrâneas e sedimentos. A Tabela 1 apresenta a ocorrência desses fármacos em matrizes reais, com base em estudos de monitoramento ambiental conduzidos de 2012 a 2023.

Tabela 1 – Trabalhos sobre o monitoramento ambiental de LID e PRO

Matriz	Local	Fármaco	Concentração	Referência
Águas Superficiais	Rio Grande do Sul, Brasil	Lidocaína Propranolol	<20.19 ng L^{-1} <22.0 ng L^{-1}	(Perin et al., 2021)
Águas Superficiais Sedimentos	Maranhão, Brasil	Lidocaína Propranolol	41 ng L^{-1} 2 ng g^{-1}	(Chaves et al., 2020)
Águas Superficiais	Rio Grande do Sul, Brasil	Lidocaína Propranolol	<100 ng L^{-1}	(Arsand et al., 2018, 2023)
Efluente Urbano	Alemanha	Lidocaína	91 – 217 ng L^{-1}	(Rúa-Gómez & Püttmann, 2012)

Os dados apresentados na Tabela 1 evidenciam que tanto a LID quanto o PRO são amplamente detectados em diferentes matrizes ambientais, com ocorrência em águas superficiais, sedimentos e até em estações de tratamento de água, indicando sua persistência e distribuição ambiental. Ambos os compostos são classificados como CEs em função de sua frequente detecção no ambiente, geralmente em concentrações na ordem de nanogramas por litro (ng L^{-1}), com maior prevalência em regiões densamente urbanizadas. A presença consistente desses compostos em

diferentes regiões geográficas reforça a necessidade de estudos voltados não apenas ao monitoramento, mas também à avaliação de sua remoção e dos potenciais impactos ecotoxicológicos associados.

Sumpter et al. (2021) evidenciaram, que o PRO é detectado em rios e lagos de pelo menos 20 países, especialmente na Europa Ocidental, apresentando uma concentração mediana global de 7,1 ng L^{-1} e valores que, embora geralmente situados na faixa de baixos nanogramas por litro, podem atingir picos individuais de até 590 ng L^{-1}.

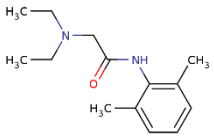
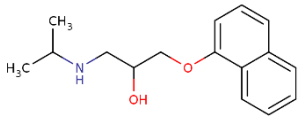
No Brasil, observa-se a presença recorrente desses fármacos em corpos hídricos de diferentes regiões. No Rio Grande do Sul, concentrações de LID inferiores a 20,19 ng L^{-1} e de PRO inferiores a 22,0 ng L^{-1} foram reportadas em águas superficiais (Perin et al., 2021), enquanto estudos posteriores na mesma região também indicaram a presença de LID em níveis inferiores a 100 ng L^{-1} (Arsand et al., 2018, 2023). No Maranhão, foram registradas concentrações mais elevadas de LID (41 ng L^{-1}), além da detecção de PRO em sedimentos (2 ng g^{-1}), evidenciando não apenas a presença em fase aquosa, mas também a tendência de adsorção no solo (Chaves et al., 2020).

A detecção de LID em estações de tratamento de água na Alemanha, com concentrações entre 91 e 217 ng L^{-1} (Rúa-Gómez & Püttmann, 2012), reforça a dificuldade de remoção completa desses compostos por sistemas convencionais de tratamento. Esses valores também indicam que efluentes tratados podem atuar como fonte contínua de entrada desses micropoluentes no ambiente aquático.

Os impactos ambientais associados à presença desses fármacos incluem alterações fisiológicas e comportamentais em organismos aquáticos, como peixes e invertebrados, além de efeitos subletais, tais como estresse oxidativo, alterações no ciclo celular e interferência no sistema endócrino. Mesmo em concentrações muito baixas, esses compostos podem induzir efeitos ecotoxicológicos, especialmente em organismos submetidos a exposições crônicas. O PRO, por exemplo, tem sido associado a disfunções cardíacas em peixes e à modulação da resposta ao estresse, conforme relatado por Giltrow et al., (2009). Em relação à LID, embora ainda existam poucos dados de toxicidade disponíveis na literatura, seu elevado consumo pode contribuir para a presença ambiental de metabólitos relevantes, como a 2,6-dimetilanilina, classificada como substância carcinogênica pela IARC (Kostrubiak et al., 2020).

Além da toxicidade, as propriedades físico-químicas, como pKa, log Kow e solubilidade dos compostos, influenciam diretamente sua mobilidade, persistência e interação com o ambiente aquático. Essas propriedades podem ser observadas no Quadro 1.

Quadro 1 – Propriedades físico-químicas dos fármacos estimadas pelo software EPI Suite

Propriedade	Lidocaína	Propranolol
Estrutura molecular		
CAS n°	137-58-6	525-66-6
pKa	8,01	9,42
log Kow estimado	1,66	2,60
log Kow experimental	2,44	3,48
Solubilidade estimada	384,07 mg L^{-1}	136,94 mg L^{-1}
Solubilidade experimental	4100 mg L^{-1}	61,7 mg L^{-1}

Fonte: Elaborado pela autora com dados do EPI Suite (United States Environmental Protection Agency, 2026).

As propriedades físico-químicas da LID e do PRO sugerem que ambos os compostos possuem elevada mobilidade em ambientes aquáticos. O quadro também apresenta propriedades estimadas pelo software EPI Suite, o log Kow e a solubilidade, que são valores utilizados pelos modelos QSAR (Relações Quantitativas Estrutura-Atividade) para estimar ecotoxicidade das substâncias para organismos específicos (Lambert et al., 2022). O valor de log Kow mais baixo da LID, em comparação ao do PRO, indica sua maior hidrofilicidade.

Já os valores de pKa de ambos os fármacos revelam que, em condições ambientais típicas, encontram-se predominantemente em sua forma protonada, o que favorece a solubilidade em água. Adicionalmente, esses compostos demonstram considerável estabilidade frente a processos de biodegradação, sobretudo sob condições naturais, contribuindo para sua persistência no ambiente aquático (Meyer et al., 2025).

2.2 DESAFIOS NO TRATAMENTO DE ÁGUAS E EFLUENTES

O tratamento de águas e efluentes desempenha um papel fundamental na proteção dos recursos hídricos e na preservação da saúde pública. Tradicionalmente, a avaliação da eficiência desses sistemas baseia-se em parâmetros físico-químicos,

como demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), pH, turbidez e concentrações de nutrientes.

Esses parâmetros são muito importantes para a caracterização de águas e efluentes, porém não são capazes de representar efeitos subletais, interações sinérgicas entre contaminantes, ou a presença de compostos desconhecidos ou não monitorados em rotinas analíticas convencionais (Montiel-Mora et al., 2024). Dessa forma, a conformidade desses parâmetros específicos com os padrões regulatórios não garante a ausência de risco ecológico para os organismos expostos às amostras avaliadas (Castañeda-Retavizca et al., 2025).

Diante dessas limitações, torna-se necessário complementar as análises físico-químicas com abordagens capazes de avaliar diretamente os efeitos biológicos das amostras sobre organismos vivos. Os ensaios de ecotoxicidade permitem a avaliação integrada dos efeitos biológicos de misturas complexas de contaminantes. Esses ensaios utilizam organismos-teste pertencentes a diferentes níveis tróficos (por exemplo, algas, invertebrados e peixes), permitindo a observação de respostas como mortalidade, inibição do crescimento, alterações reprodutivas e efeitos subletais fisiológicos e bioquímicos. Assim, fornecem uma medida funcional do potencial tóxico global de uma amostra ambiental, incluindo substâncias não identificadas por análises químicas convencionais (Han et al., 2022).

De acordo com Morin-Crini et al., (2022), os sistemas convencionais de tratamento de efluentes, como sistemas de tratamento físico-químico e biológico, foram desenvolvidos principalmente para a remoção de matéria orgânica biodegradável e sólidos suspensos, apresentando eficiência limitada na remoção de CEs e outros micropoluentes persistentes, presentes em baixas concentrações.

Como alternativa, tecnologias avançadas, como adsorção em carvão ativado, filtração por membranas e POAs, em especial a ozonização, vêm sendo investigadas para a remoção desses compostos. Apesar dos resultados promissores, sua aplicação em larga escala ainda enfrenta limitações relacionadas aos custos operacionais e à complexidade técnica. Nesse contexto, a utilização de tratamentos avançados como complemento aos tratamentos convencionais tem sido apontada como uma estratégia capaz de ampliar a eficiência de remoção e aumentar a segurança ambiental associada ao descarte e ao reuso de efluentes.

2.2.1 Avanços na legislação

Nos últimos anos, observa-se uma transição gradual dos modelos regulatórios tradicionais baseados exclusivamente em limites fixos de concentração para abordagens mais dinâmicas e orientadas ao risco ambiental. Essa mudança reflete o reconhecimento da complexidade dos sistemas aquáticos contemporâneos, especialmente diante da presença de CEs.

Organizações internacionais desempenham papel relevante na consolidação de diretrizes globais relacionadas à qualidade da água, embora ainda persistam lacunas na uniformização regulatória entre países (Harish & Jegatheesan, 2025).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelece valores de referência utilizados por diferentes países na construção de suas próprias regulamentações, elabora diretrizes de qualidade da água e segurança à saúde que orientam políticas nacionais, além de apoiar a padronização de critérios adotados por agências ambientais. Também fornece valores de referência toxicológicos para contaminantes emergentes, indicando concentrações associadas a potenciais riscos ecológicos e à saúde humana (Puri et al., 2023). Países como Japão e Austrália ilustram essa influência ao incorporar sistematicamente recomendações da OMS em seus marcos regulatórios: o Japão revisou seus padrões de qualidade da água potável com base nas diretrizes da OMS, incluindo dezenas de substâncias prioritárias com revisões contínuas baseadas em avaliação de risco, e a Austrália adota orientações da OMS e da União Europeia na elaboração de diretrizes de remediação ambiental e padrões de água potável, priorizando contaminantes de maior risco à saúde (Mubarak, 2026).

Na União Europeia, destaca-se a Water Framework Directive, que adota uma abordagem integrada baseada na gestão por bacias hidrográficas e na avaliação do estado ecológico dos corpos d’água, incorporando parâmetros químicos e biológicos para uma visão mais abrangente da qualidade ambiental. Esse arcabouço é complementado por instrumentos como o REACH, a lista de vigilância e os padrões de qualidade ambiental, que ampliam o controle sobre substâncias prioritárias e contaminantes emergentes, incluindo compostos farmacêuticos e desreguladores endócrinos (Mubarak, 2026).

Recentemente, a revisão da Diretiva de Tratamento de Águas Residuais Urbanas (EU2024/3019) formalizou o conceito de tratamento quaternário, definindo-o como processos dedicados à remoção de micropoluentes com uma meta de eficiência

de pelo menos 80% para substâncias selecionadas. Esta exigência se tornará obrigatória até 2045 para estações de tratamento com capacidade superior a 150.000 habitantes equivalentes, bem como para aquelas acima de 10.000 habitantes equivalentes em áreas onde os contaminantes representem riscos à saúde ou ao ambiente (Nishmitha et al., 2025).

Um aspecto inovador deste novo marco legal é a introdução da Responsabilidade Estendida do Produtor aprimorada, que obriga os produtores farmacêuticos e de cosméticos a cobrirem até 80% dos custos de implementação e operação dos tratamentos necessários para eliminar esses resíduos (Asif et al., 2026).

O monitoramento e a legislação de CEs no Brasil ainda estão em fase de transição, com avanços recentes, mas permanecendo significativamente atrasados em relação a países desenvolvidos. O principal marco atual é a Portaria GM/MS nº 888/2021, que atualizou o padrão de potabilidade da água e incluiu parcialmente alguns agrotóxicos, mas ainda não contempla a maioria dos CEs, como fármacos, hormônios, microplásticos e PFAS (Carlos de Oliveira et al., 2022). O Marco Legal do Saneamento (Lei 14.026/2020) prioriza a universalização do acesso à água e esgoto, sem exigir diretamente a remoção desses contaminantes, enquanto projetos como o PL nº 2.726/2023 buscam avançar na regulação de substâncias específicas (Almeida et al., 2025). Almeida et al., (2025) ainda ressalta que no monitoramento, o país ainda depende fortemente de pesquisas acadêmicas, enfrenta limitações técnicas, financeiras e de infraestrutura, e carece de um sistema regulatório contínuo, apesar de evidências já indicarem a presença de diversos contaminantes em águas superficiais.

De forma geral, observa-se uma tendência global de transição para modelos regulatórios baseados em risco, mais dinâmicos e integrados a evidências científicas. Entretanto, a implementação dessas abordagens ainda ocorre de maneira desigual entre países, refletindo diferenças em capacidade técnica, infraestrutura laboratorial e recursos financeiros disponíveis para monitoramento ambiental.

2.3 ECOTOXICIDADE

Os ensaios de ecotoxicidade baseiam-se na observação das respostas de organismos quando expostos a determinadas substâncias, podendo ser classificados em abordagens *in vivo*, *in vitro* ou *in silico*, além de serem categorizados conforme o

organismo utilizado no teste, e quanto à duração do teste em termos de avaliações crônicas e agudas.

Segundo Santos et al., (2010), os ensaios ecotoxicológicos são fundamentais para avaliar os impactos de fármacos em organismos não-alvo, sendo classificados principalmente em testes de toxicidade aguda e crônica. Enquanto os ensaios agudos avaliam efeitos imediatos, como mortalidade, os testes crônicos são mais representativos das condições ambientais reais, considerando exposições prolongadas e efeitos sobre crescimento, reprodução e alterações fisiológicas. Os autores destacam ainda a importância da avaliação de misturas de contaminantes, devido aos possíveis efeitos aditivos ou sinérgicos, além da relevância desses ensaios para regulamentações ambientais.

2.3.1 Fitotoxicidade

Os testes com plantas ocupam um papel central na ecotoxicologia por permitirem avaliar, de forma direta e sensível, os efeitos de contaminantes sobre organismos produtores primários, que constituem a base das cadeias tróficas. Nos ensaios de fitotoxicidade são avaliados parâmetros como o crescimento de radículas e hipocótilos, a taxa de germinação e, em alguns casos, a dinâmica da divisão celular, através de alterações mitóticas e cromossômicas (Vieira et al., 2022). Esses experimentos são fundamentados na observação de respostas fisiológicas, morfológicas e citogenéticas após exposição a substâncias potencialmente tóxicas. Além de apresentarem baixo custo e facilidade de execução, são altamente relevantes do ponto de vista ecológico, pois refletem impactos iniciais que podem se propagar ao longo do ecossistema.

Existem padrões internacionalmente estabelecidos para testes de fototoxicidade em plantas terrestres, como o método OECD 208, que utiliza diferentes espécies para avaliar efeitos de substâncias químicas no crescimento vegetal (OECD, 2006). Além disso, há metodologias específicas desenvolvidas para espécies como a lentilha (Salazar Mercado et al., 2020), que permitem análises mais direcionadas e sensíveis a determinados compostos.

Tanto *Lactuca sativa* quanto *Allium cepa* apresentam sensibilidade a uma ampla gama de contaminantes, incluindo metais pesados, pesticidas, fármacos e seus PTs (Fiskesjö, 1985; Rede et al., 2019). Essa sensibilidade é particularmente importante em estudos que envolvem processos de tratamento, como a ozonização

de efluentes. Embora o ozônio seja eficiente na degradação de compostos orgânicos, pode gerar subprodutos com toxicidade igual ou até superior à dos compostos originais.

A combinação de parâmetros fisiológicos (em *Lactuca sativa*) e citogenéticos (em *Allium cepa*) proporciona uma abordagem integrada, capaz de detectar tanto efeitos subletais quanto danos ao material genético. Em comparação com outros modelos-teste, como microcrustáceos do gênero *Daphnia* ou algas, os ensaios vegetais apresentam diversas vantagens. Entre elas, destacam-se a simplicidade metodológica, o baixo custo operacional e a ausência de exigências éticas rigorosas, como em testes *in vivo* com animais (Venkataravanappa et al., 2025).

2.3.1.1 Ensaios de fitotoxicidade com *Lactuca Sativa*

A escolha da *Lactuca sativa* como organismo-teste é justificada por uma combinação de fatores. Trata-se de uma espécie com sensibilidade a diversos contaminantes, o que favorece a detecção de efeitos tóxicos. Suas sementes apresentam germinação rápida e uniforme, permitindo a obtenção de resultados em curto período. Outro ponto importante é a ampla padronização metodológica disponível na literatura, principalmente devido a ser uma espécie disponível internacionalmente de maneira fácil comercialmente, o que facilita a comparação entre estudos (Mendes da Silva & Andrade–Vieira, 2025).

Nesse modelo, os principais parâmetros analisados incluem a taxa de germinação das sementes, o comprimento da radícula e do hipocótilo, além de índices derivados, como o índice de germinação e o índice de alongamento radicular. Alterações nesses parâmetros indicam efeitos tóxicos que podem comprometer o desenvolvimento inicial da planta, sendo úteis para detectar tanto a presença quanto a intensidade da toxicidade (Sobrero & Ronco, 2004).

Também podem ser avaliados a taxa de germinação, o tempo médio de germinação, e o índice de crescimento, que integra germinação e crescimento inicial. Além disso, são frequentemente medidos o comprimento da radícula e do hipocótilo, considerados indicadores sensíveis de fitotoxicidade. Outros parâmetros incluem a biomassa fresca e seca e o vigor das plântulas. Em alguns estudos, análises mais detalhadas podem envolver alterações morfológicas e bioquímicas, ampliando a compreensão dos efeitos tóxicos (Almeida Rodrigues et al., 2022).

Para alguns desses parâmetros, pode ocorrer hormese, fenômeno é caracterizado pelo estímulo biológico em baixas doses de um agente potencialmente tóxico, seguido por efeitos inibitórios em concentrações mais elevadas, sendo frequentemente relatado para contaminantes emergentes (Belz et al., 2008; Van Ewijk & Hoekstra, 1993).

Os testes com plantas têm sido amplamente aplicados na avaliação de efluentes, permitindo identificar possíveis efeitos residuais ou emergentes após o tratamento. Aguilar-Ascón; Marrufo-Saldaña; Barra-Hinojosa, (2024) avaliaram a toxicidade de efluentes de curtume tratados por ozonização e eletrocoagulação utilizando *Lactuca sativa*, observando que, apesar da redução de DQO e COT, o tratamento não foi suficiente para promover a remoção da toxicidade.

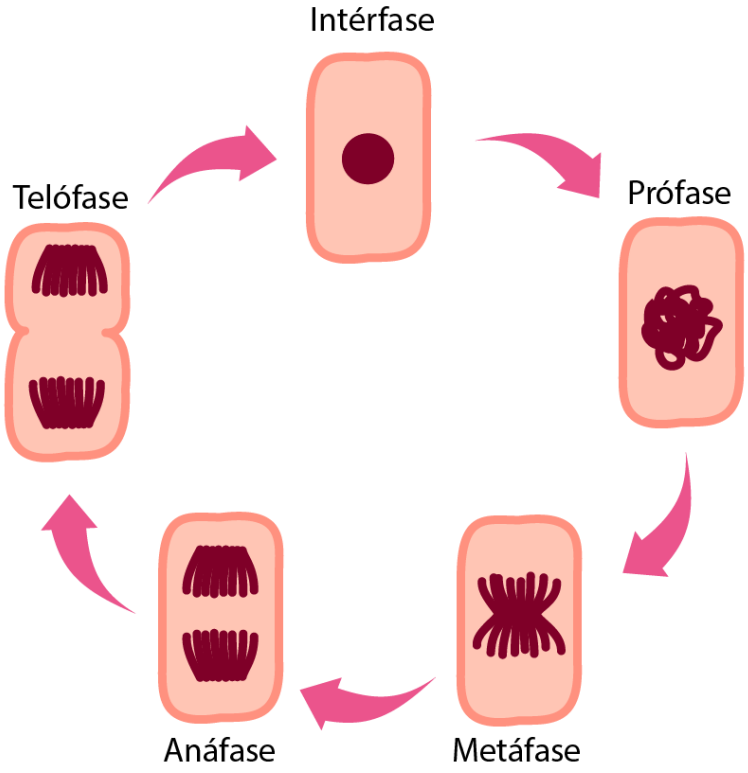
Os testes de germinação têm sido aplicados na avaliação de uma variedade de efluentes. Também são comuns estudos envolvendo efluentes submetidos a diferentes processos de tratamento, incluindo tratamentos biológicos, físico-químicos e processos oxidativos avançados, como a ozonização. O estudo de Aguilar-Ascón; Marrufo-Saldaña; Barra-Hinojosa, (2024) avalia os efeitos tóxicos de tratamentos de eletrocoagulação e ozonização em um efluente de curtume com *Lactuca sativa*. Outro estudo, de Young et al., (2012), avalia o impacto na planta de um efluente de um biorreator anaeróbio. Nesses casos, os testes permitem avaliar não apenas a remoção de poluentes, mas também a toxicidade residual e a formação de subprodutos.

2.3.1.2 Ensaios de fitotoxicidade com *Allium Cepa*

A genotoxicidade refere-se à capacidade de agentes físicos, químicos ou biológicos de causar danos ao material genético, podendo resultar em mutações, instabilidade cromossômica e até processos carcinogênicos. Na ecotoxicologia, a avaliação da genotoxicidade é essencial para identificar efeitos que não são visíveis apenas em parâmetros fisiológicos, mas que podem comprometer a integridade genética dos organismos e afetar gerações futuras (Bonciu et al., 2018).

Um dos principais processos analisados nesses estudos é a mitose, responsável pela divisão celular e manutenção da estabilidade genética. Durante a mitose, uma célula origina duas células-filhas geneticamente idênticas, passando por fases bem definidas, como representado na Figura 2.

Figura 2 – Ilustração das fases da mitose. Prófase: ocorre a condensação dos cromossomos e o início da formação do fuso mitótico. Metáfase: os cromossomos alinham-se no plano equatorial da célula. Anáfase: as cromátides-irmãs se separam e migram para polos opostos. Telófase: ocorre a reorganização do núcleo e a descondensação dos cromossomos, seguida pela citocinese



Fonte: Adaptado de Alberts et al., (2002).

A análise dessas fases é fundamental em bioensaios com *Allium cepa*, no qual se calcula o índice mitótico e se observam alterações no padrão normal da divisão celular. Reduções no índice mitótico indicam citotoxicidade, enquanto aberrações cromossômicas indicam genotoxicidade. As aberrações cromossômicas são alterações na estrutura ou no comportamento dos cromossomos durante a divisão celular, sendo amplamente utilizadas como biomarcadores de genotoxicidade. Tais alterações são indicativas de efeitos genotóxicos e mutagênicos (Torres-Bugarín et al., 2026), permitindo uma avaliação mais aprofundada dos mecanismos de ação de contaminantes em nível celular.

São exemplos delas:

- Pontes cromossômicas: indicam que houve quebra e fusão incorreta de cromossomos, formando estruturas que conectam os polos celulares.
- Cromossomos retardatários: cromossomos que não migram corretamente durante a anáfase.

- Micronúcleos: pequenos núcleos adicionais formados por fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros que não foram incorporados ao núcleo principal.
- C-metáfase: ocorre quando há inibição do fuso mitótico, impedindo a separação dos cromossomos.
- Aderência cromossômica: cromossomos apresentam aspecto aglomerado, sugerindo alterações na estrutura da cromatina.
- Multipolaridade: formação de mais de dois polos celulares, levando a distribuição irregular do material genético.

Essas alterações podem ser observadas em células meristemáticas, como as raízes de *Allium cepa*, que apresentam alta taxa de divisão celular, facilitando a detecção de danos. De modo geral, a presença e a frequência dessas aberrações fornecem informações importantes sobre o mecanismo de ação dos contaminantes. Enquanto algumas substâncias causam quebras diretas no DNA, outras interferem no aparato mitótico, resultando em erros na separação cromossômica.

As anomalias são classificadas com base na literatura. Dias et al., (2021) descrevem a apoptose como um processo de morte celular programada, caracterizado por alterações morfológicas progressivas e degradação controlada do conteúdo celular. Tedesco et al., (2012) contribuíram para a validação do uso do bioensaio com *Allium cepa* como método eficiente na avaliação de toxicidade, enquanto (Leme & Marin-Morales, 2009) realizaram uma revisão abrangente destacando a aplicabilidade desse ensaio em estudos citogenotóxicos. Bonciu et al. (2018) auxiliaram na padronização dos critérios estatísticos do teste, garantindo maior reprodutibilidade e comparabilidade dos resultados, e Torres-Bugarín et al., (2026) apresentaram uma análise comparativa de suas diferentes aplicações em estudos de toxicologia ambiental.

Liman et al., (2010) avaliaram os efeitos citotóxicos e genotóxicos do metolcarb por meio da análise de células meristemáticas das raízes de cebola, evidenciando alterações no índice mitótico e a presença de anomalias cromossômicas em diferentes concentrações da substância. da Silva et al., (2025) avaliaram a toxicidade de efluentes tratados em duas estações de tratamento de esgoto municipal e observaram ausência de efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos em ensaios com *Allium cepa*, demonstrando a eficácia dos tratamentos biológicos na mitigação de impactos ambientais.

2.3.2 Toxicidade *in silico*

A avaliação do risco ambiental de compostos químicos, especialmente aqueles presentes em baixas concentrações e em misturas complexas, pode ser complementada pelo uso de ferramentas computacionais preditivas. O EPI Suite, desenvolvido pela United States Environmental Protection Agency, (2026), consiste em um conjunto integrado de programas que permite estimar diversas propriedades relevantes para o comportamento ambiental de compostos químicos. Entre essas propriedades, destacam-se o coeficiente de partição octanol-água (Kow) e DBO_5/DQO.

O log Kow é uma propriedade físico-química que avalia a hidrofobicidade de substâncias. Ele apresenta correlação com a toxicidade aguda e a bioconcentração em organismos, sendo utilizado como descritor em modelos ECOSAR (*Ecological Structure Activity Relationships*) para estimar valores da Concentração Efetiva Mediana (EC_{50}), definida como a concentração de um composto que causa 50% do seu efeito tóxico máximo. Em compostos que atuam por narcose, o aumento da hidrofobicidade geralmente está associado ao aumento da potência tóxica. Além disso, o log Kow permite identificar casos de “toxicidade em excesso”, quando a toxicidade observada supera a prevista, indicando a presença de modos de ação específicos. Apesar de ser um excelente preditor para substâncias narcóticas, sua capacidade é limitada para compostos com mecanismos tóxicos específicos, que exigem descritores mais complexos (Lambert et al., 2022). Assim, o log Kow funciona como uma ferramenta de triagem para estimar toxicidade mínima e identificar substâncias potencialmente mais perigosas devido a interações químicas específicas.

Apesar de sua utilidade, é importante ressaltar que a ferramenta apresenta limitações inerentes aos modelos ECOSAR. As previsões são baseadas em bancos de dados e algoritmos que podem não abranger adequadamente compostos emergentes ou subprodutos formados durante processos como a ozonização. Além disso, esses modelos geralmente avaliam substâncias isoladas, não considerando interações presentes em misturas reais.

No estudo de Ortiz de García; García-Encina; Irusta-Mata, (2017), o software foi empregado para estimar valores de ecotoxicidade de produtos farmacêuticos e de higiene pessoal quando esses dados não estavam disponíveis em bases reconhecidas. Os valores estimados, juntamente com dados experimentais, foram

utilizados no cálculo dos fatores ecotoxicológicos de efeito. De forma semelhante, Hasan et al., (2026) utilizou o software para verificar a toxicidade dos PTs gerados durante a degradação catalítica do diclofenaco e da tetraciclina. Os resultados indicaram que tanto os poluentes originais quanto seus produtos de degradação apresentaram baixa toxicidade para organismos aquáticos, reforçando o caráter ambientalmente seguro do processo de tratamento empregado.

Koli et al., (2025) também usou o ECOSAR na análise toxicológica dos subprodutos formados durante a eletro-oxidação do azul de metileno e da ciprofloxacina. As previsões mostraram que os PTs gerados no tratamento não apresentaram efeitos nocivos significativos para peixes, dáfnias e algas verdes.

No trabalho de Kubiak, (2025), o ECOSAR foi utilizado para modelar as implicações ecotoxicológicas dos PTs identificados durante o tratamento fotocatalítico em escala piloto de naproxeno e amoxicilina. Para o naproxeno, o modelo indicou que os PTs formados nos estágios iniciais do processo eram significativamente mais tóxicos do que o composto original. Já para a amoxicilina, todos os PTs identificados foram previstos como ambientalmente benignos.

Por fim, Hernández-Tenorio et al., (2024) empregou o ECOSAR para prever os possíveis efeitos toxicológicos agudos e crônicos do enalapril e de seus PTs sobre peixes, algas e dáfnias. O estudo identificou três PTs como candidatos prioritários para futuros testes toxicológicos, devido ao potencial risco de toxicidade crônica não observado no composto original.

2.4 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS

Os Processos Oxidativos Avançados (POAs) constituem um conjunto de tecnologias para a remoção de micropoluentes orgânicos em matrizes aquosas, especialmente aqueles recalcitrantes aos tratamentos biológicos convencionais. Esses processos baseiam-se na geração de espécies reativas, em particular os radicais hidroxila (•OH), que apresentam elevado potencial de oxidação ($E° \approx 2,8$ V) e baixa seletividade, permitindo a degradação de uma ampla variedade de compostos orgânicos (Saravanan et al., 2022).

Os POAs incluem diferentes abordagens, como processos Fenton e Fenton-like, fotocatálise heterogênea, processos eletroquímicos, sonólise, bem como processos envolvendo ozônio, de forma isolada ou em combinação com outros agentes oxidantes (Chen et al., 2021). Esses processos promovem a transformação

dos poluentes por meio de reações de oxidação sucessivas, podendo levar à completa mineralização dos compostos em dióxido de carbono, água e íons inorgânicos. No entanto, em muitos casos, a mineralização completa não é alcançada, resultando na formação de produtos intermediários que podem apresentar diferentes graus de biodegradabilidade e toxicidade.

A eficiência dos POAs depende de diversos fatores operacionais, como pH, concentração do oxidante, presença de MON e de espécies sequestradoras de radicais (Kanakaraju et al., 2018). Além disso, a escolha do processo deve considerar não apenas a remoção do contaminante alvo, mas também a formação de PTs e seus possíveis impactos ambientais.

Dentre os POAs, a ozonização destaca-se como uma alternativa promissora para o tratamento de águas e efluentes, em razão da elevada reatividade do ozônio e de sua capacidade de atuar por mecanismos de reação diretos e indiretos. Nesse contexto, a seção seguinte aborda o processo de ozonização, contemplando seus principais mecanismos de reação, os fatores que influenciam sua eficiência e sua aplicação na remoção de compostos orgânicos emergentes. Para tanto, o item 2.4.1 apresenta uma descrição detalhada dos fundamentos e das principais características desse processo.

2.4.1 Ozonização

A ozonização é um Processo Oxidativo Avançado (POA) amplamente estudado para a degradação de micropoluentes orgânicos em matrizes aquosas, como fármacos, pesticidas e corantes. Baseia-se na utilização do ozônio (O_3), um alótropo triatômico do oxigênio altamente reativo, que pode atuar como oxidante direto ou indireto por meio da geração de espécies reativas de oxigênio, principalmente o radical hidroxila (•OH) (Gottschalk et al., 2010).

O ozônio apresenta um alto potencial redox (2,07 V), sendo capaz de reagir diretamente com compostos orgânicos insaturados ou eletronicamente ricos. Contudo, em soluções aquosas e especialmente em pH alcalino, o ozônio sofre decomposição gerando radicais livres, entre os quais o •OH é o mais relevante devido ao seu elevado potencial de oxidação (2,80 V) e baixa seletividade. A sequência de reações que leva à formação de •OH a partir do ozônio inclui as Equações 1 a 5:

$$O_3 + OH^- \rightarrow HO_2^- + O_2 \quad (1)$$

$$HO_2^- \rightleftharpoons O_2^{-}\bullet + H^+ \quad (2)$$

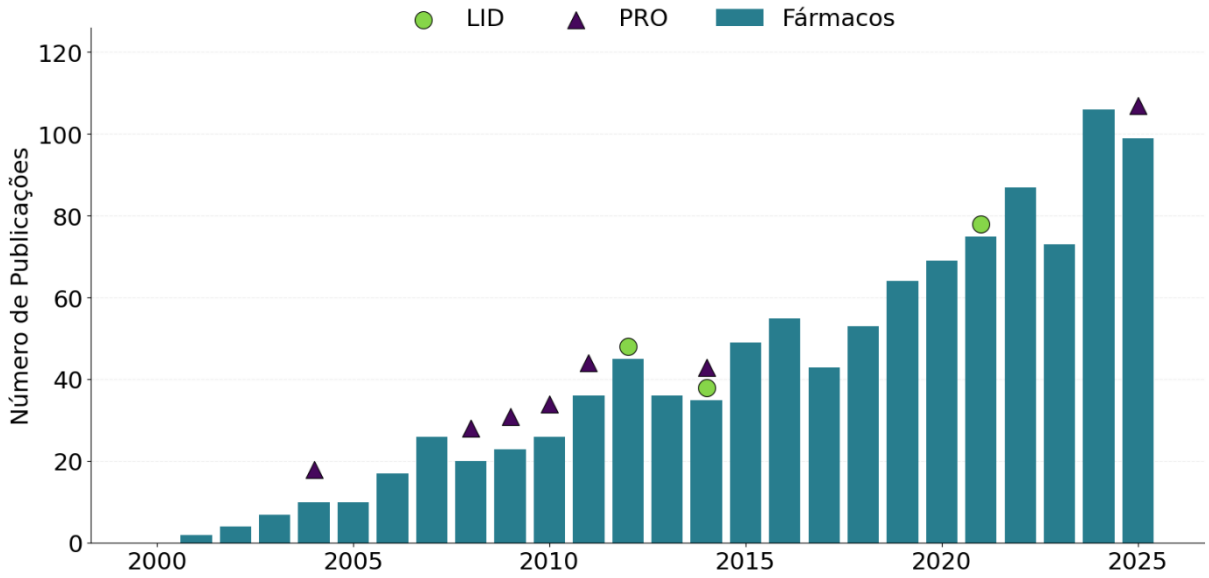
$$O_3 + O_2^{-}\bullet \rightarrow O_3^{-}\bullet + O_2 \quad (3)$$

$$O_3^{-}\bullet + H^+ \rightleftharpoons HO_3\bullet \quad (4)$$

$$HO_3\bullet \rightarrow \bullet OH + O_2 \quad (5)$$

Dentre os processos oxidativos avançados aplicados à LID e ao PRO, aqueles baseados em ozonização têm sido relativamente pouco explorados na literatura. A Figura 3 mostra o interesse crescente de estudos sobre remoção de fármacos por ozonização entre os anos 2000 e 2025, através do número de publicações na base de dados Scopus.

Figura 3 – Levantamento bibliográfico de estudos sobre a ozonização de LID e PRO na base Scopus utilizando as palavras-chave "*lidocaine OR lignocaine OR xylocaine AND ozonation*" e "*propranolol AND ozonation*" *entre os anos 2000 e 2025*



Fonte: Elaborada pela autora, com informações da base de dados Scopus no dia 14 de julho de 2026.

O número total de publicações para aplicação de ozonização para remoção da LID chega a um total de 14, onde apenas 3 apresentam dados de pesquisas experimentais realizadas. Já para remoção de PRO por ozonização foram encontradas 38 publicações no período, das quais 7 fizeram a quantificação da degradação dos fármacos estudados. A Tabela 2 apresenta os dados dos estudos mencionados, destacando as matrizes ambientais estudadas, concentração dos fármacos, índice de degradação e tipo de avaliação de toxicidade.

Tabela 2 – Compilação de trabalhos sobre degradação de fármacos por ozonização

Contaminante	Matriz	Concentração O_3 (mg L^{-1})	Concentração Contaminante (mg L^{-1})	Degradação (%)	Avaliação Ecotoxicológica	Referência
Propranolol	Água Ultrapura	20,2	0,3	-	Algas e Invertebrados	(Andreozzi et al., 2004)
Propranolol	Efluente Real	10,0	$1,0\times10^{-3}$	100,0	-	(Benner et al., 2008)
Propranolol	Efluente Sintético	1,3 – 4,8	26 – 260	100,0	Avaliação de subprodutos	(Benner & Ternes, 2009)
Propranolol	Efluente Real	10,0	$1,0\times10^{-4}$ – $2,0\times10^{-3}$	100,0	-	(Gabet-Giraud et al., 2010)
Propranolol	Água Ultrapura	22,6	98,9	100,0	Bactérias	(Dantas et al., 2011)
Lidocaína	Efluente Real	0,6	$5,5\times10^{-5}$ – $2,6\times10^{-4}$	89,0	-	(Rúa-Gómez et al., 2012)
Propranolol	Efluente Sintético e Efluente Real	380,0	0,2 – 2,0	100,0	Avaliação de Subprodutos	(Wilde et al., 2014)
Lidocaína	Efluente Hospitalar	1,28 – 7,65	$1,4\times10^{-3}$	>99,0	-	(Lee et al., 2014)
Lidocaína	Efluente Sintético	1,3	$1,0\times10^{-3}$	>99,0	Avaliação de Subprodutos	(Gulde et al., 2021)
Propranolol	Água Destilada	79,8	20,0	100,0	-	(de Oliveira et al., 2025)

Fonte: Elaborada pela autora com base em artigos disponíveis na base de dados Scopus.

Os dados da Tabela 2 mostram um padrão consistente de eficiência da ozonização na remoção de PRO e LID em diferentes matrizes aquosas. No entanto, essa eficiência varia em função da complexidade da matriz, das condições operacionais e do grau de investigação dos subprodutos formados.

De modo geral, o PRO apresenta elevada susceptibilidade à ozonização, com remoção frequentemente reportada como completa (100%) em água ultrapura, efluentes sintéticos e efluentes reais (Benner et al., 2008; Benner & Ternes, 2009; Gabet-Giraud et al., 2010; Wilde et al., 2014). Dantas; Sans; Esplugas, (2011) demonstraram que a ozonização promove rápida remoção do fármaco, mas que doses mais elevadas e maiores tempos de contato são necessários para reduzir a toxicidade dos subprodutos e aumentar a biodegradabilidade do efluente. Apesar da degradação completa do composto parental, a mineralização reportada foi de apenas 5%, evidenciando que a eliminação do PRO não implica sua conversão total em CO_2 e H_2O e indicando a formação de produtos intermediários.

Importante observar que a composição da matriz exerce papel determinante na eficiência do processo. Os resultados de Benner; Ternes, (2009) e de Gabet-Giraud et al., (2010) mostram que em efluentes reais, a presença de matéria orgânica dissolvida e a competição por espécies oxidantes podem influenciar a dinâmica das reações, embora a remoção do PRO permaneça elevada nessas condições. Em contrapartida, matrizes mais simples, como água ultrapura e efluentes sintéticos, permitem maior controle experimental sobre os mecanismos de degradação e a formação de subprodutos (Andreozzi et al., 2004; Benner & Ternes, 2009).

Embora a eficiência de remoção seja amplamente documentada, a avaliação ecotoxicológica ainda é limitada. Apenas alguns estudos incluem ensaios biológicos com algas, invertebrados e bactérias, sugerindo que os PTs podem apresentar toxicidade residual ou até superior à do composto original (Andreozzi et al., 2004; Dantas et al., 2011). Nesse contexto, Benner; Ternes, (2009) ressaltam a necessidade de investigar os subprodutos gerados, uma vez que a ozonização pode originar compostos com propriedades ecotoxicológicas distintas.

A remoção de LID também tem sido investigada por diferentes tecnologias de tratamento. Rúa-Gómez et al., (2012) demonstraram que a ozonização é altamente eficiente para esse composto, alcançando remoções superiores a 89% e concentrações finais abaixo do limite de quantificação em efluente real. Entretanto, os

autores não avaliaram os subprodutos formados nem parâmetros de mineralização ou ecotoxicidade.

Em comparação ao PRO, há menos informações disponíveis para a LID, evidenciando uma importante lacuna na literatura. Além da persistência ambiental, ambos os fármacos podem gerar subprodutos potencialmente tóxicos durante o tratamento. No caso da LID, suas características estruturais favorecem a formação de aminas aromáticas potencialmente carcinogênicas (Boonrattanakij et al., 2009). Já o PRO apresenta rápida cinética de degradação, originando diversos PTs cujos impactos ambientais ainda não são completamente compreendidos (Benner & Ternes, 2009).

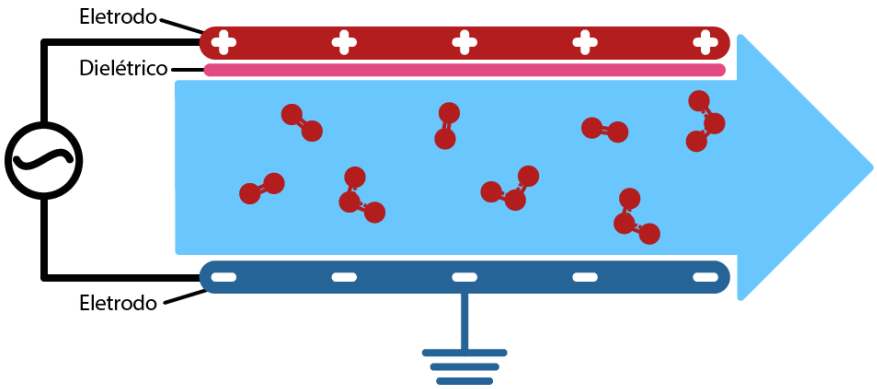
Embora não envolva ozonização, o estudo de Rayaroth; Aravind; Aravindakumar, (2018) fornece informações relevantes sobre a degradação da LID. Utilizando fotocatálise com TiO_2, os autores observaram remoção completa da molécula parental em uma hora e aproximadamente 75% de mineralização após seis horas. O processo mostrou-se dependente da concentração inicial do poluente, da dosagem do catalisador e da disponibilidade de radicais hidroxila. Além disso, foram identificados dez PTs, cuja persistência contribuiu para a mineralização mais lenta e pode resultar em compostos com toxicidade distinta da molécula original.

Em conjunto, os resultados indicam que a ozonização é altamente eficiente na remoção de PRO e LID, mas frequentemente insuficiente para promover sua completa mineralização. Esse cenário reforça a preocupação com a formação e persistência de subprodutos, bem como a necessidade de integrar avaliações químicas e ecotoxicológicas nos estudos de tratamento, especialmente para a LID, cuja base de conhecimento ainda é limitada.

2.4.1.1 Geração de Ozônio

O ozônio deve ser gerado *in situ*, pois é um gás instável e se decompõe rapidamente. Sua produção ocorre, em geral, a partir do oxigênio, sendo a descarga elétrica o método mais utilizado por sua eficiência e menor impacto ambiental (Zhang et al., 2025). Entre as técnicas disponíveis, destaca-se a descarga corona, na qual um campo elétrico promove a dissociação do O_2 e a formação de O_3 (Figura 4).

Figura 4 – Ilustração representando a descarga corona



Fonte: Adaptado de de Carvalho Costa; Toffoli de Oliveira; Amaral Féris, (2025).

A reação de geração de ozônio a partir do oxigênio é representada pelas Equações 6 e 7.

$$O_2 \rightarrow 2\ O\bullet \quad (6)$$

$$O_2 + O\bullet \rightarrow O_3 \quad (7)$$

A qualidade da alimentação gasosa influencia diretamente a eficiência da geração. O uso de cilindros de oxigênio puro tende a produzir maiores concentrações de ozônio em comparação a concentradores de ar. Além disso, o ar deve estar seco, pois a presença de umidade reduz a eficiência do processo e pode causar a formação de subprodutos indesejados (de Carvalho Costa et al., 2025). Gases como nitrogênio também interferem, favorecendo reações paralelas que diminuem o rendimento.

Após a geração, a eficiência do processo depende da transferência de massa do ozônio para o meio líquido. Bolhas menores apresentam maior área superficial, favorecendo a dissolução do gás. Assim, maiores áreas de contato entre gás e líquido aumentam o tempo de contato e, consequentemente, a eficiência da transferência (Gottschalk et al., 2010).

2.4.1.2 Formação de Intermediários e Subprodutos de Oxidação

A ação oxidativa do ozônio pode ocorrer por duas vias principais:

a. Oxidação direta: o ozônio reage seletivamente com sítios nucleofílicos ou estruturas com ligações duplas conjugadas (ex.: fenóis, aminas aromáticas, álcoois etc.).

b. Oxidação indireta: via •OH, que ataca virtualmente qualquer composto orgânico, promovendo clivagens oxidativas não seletivas.

A eficiência da degradação depende da estrutura química do composto-alvo. Compostos com anéis aromáticos, grupos amino ou heteroátomos em posição ativada tendem a reagir mais rapidamente com ozônio ou •OH.

A LID, devido à presença de grupos aromáticos e amina terciária, é susceptível tanto à oxidação direta pelo ozônio quanto à degradação via •OH. O estudo de Rayaroth, Aravind e Aravindakumar, (2018), que investigou a degradação fotocatalítica da LID, identificou a formação de subprodutos do tipo anilinas substituídas, compostos também observados em processos de ozonização. Essas anilinas apresentam toxicidade potencial e persistência ambiental, demandando monitoramento cuidadoso. O PRO também possui estruturas aromáticas e amina secundária, sendo reativo com ozônio e altamente suscetível à oxidação por •OH. Sua degradação leva à formação de aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos, alguns dos quais podem apresentar toxicidade residual.

Embora a ozonização seja eficaz na remoção dos compostos originais, a formação de PTs deve ser considerada. Estes podem incluir compostos oxigenados (aldeídos, cetonas, ácidos), fenóis clorados, nitrocompostos, e aminas aromáticas, como anilinas derivadas da LID. Esses subprodutos podem apresentar toxicidade aguda, atividade mutagênica e persistência em ambientes aquáticos, muitas vezes superiores aos compostos parentais (Zilberman et al., 2023).

A quantificação de compostos como PRO e LID em amostras ambientais geralmente requer técnicas analíticas avançadas, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS), devido à sua elevada sensibilidade e especificidade na detecção de concentrações traço e na identificação de PTs gerados em processos como a ozonização (Perin et al., 2021). Embora fundamentais para a elucidação de rotas de degradação e identificação de subprodutos potencialmente tóxicos, essas abordagens demandam infraestrutura sofisticada e alto custo.

Nesse contexto, os ensaios ecotoxicológicos surgem como uma alternativa complementar, pois permitem uma avaliação integrada da qualidade da água, baseada nas respostas biológicas de organismos-teste. Esses ensaios são capazes de detectar efeitos tóxicos residuais mesmo na presença de compostos em níveis não detectáveis por métodos instrumentais (Munazir et al., 2026). Assim, a avaliação

ecotoxicológica pós-tratamento possibilita verificar se a degradação promovida pelo processo de ozonização resulta, de fato, na redução da toxicidade da amostra ou na possível formação de subprodutos com potencial efeito adverso.

2.4.1.3 Influência dos Parâmetros Operacionais

A eficiência da ozonização é governada por diversos fatores operacionais e pelas características da matriz aquosa. Entre eles, pH, dose de ozônio e tempo de contato são frequentemente apontados como os parâmetros de maior influência sobre a degradação de micropoluentes, pois controlam tanto a disponibilidade do oxidante quanto os mecanismos predominantes de oxidação (Das et al., 2024).

Além desses fatores, a composição da matriz também desempenha papel relevante, especialmente em águas superficiais. A presença de MON e íons pode afetar a geração e a reatividade dos radicais, atuando como sumidouros ou moderadores. Zoumpouli et al., (2020) investigaram os efeitos da matriz na degradação de fármacos por ozonização e observaram que a matéria orgânica natural (MON) pode competir com os contaminantes emergentes pelos agentes oxidantes, reduzindo a eficiência do processo. Além disso, os autores verificaram que a presença de MON influencia a estabilidade do ozônio dissolvido na matriz aquosa.

Entre os parâmetros, o pH exerce influência direta sobre a química da ozonização. Em meio ácido predominam as reações do ozônio molecular, caracterizadas por maior seletividade e menor velocidade de degradação. À medida que o pH aumenta, a decomposição do ozônio é favorecida, promovendo a formação de radicais hidroxila (•OH), espécies altamente reativas capazes de oxidar uma ampla variedade de contaminantes. Além de modificar a rota oxidativa predominante, o pH também afeta a estabilidade do ozônio dissolvido e a especiação dos poluentes. Como consequência, não existe um valor universalmente ótimo para todos os compostos, sendo necessária a determinação experimental das condições mais adequadas para cada aplicação. Nesse sentido, Kanakaraju; Glass; Oelgemöller, (2018) destacam que o pH ótimo de ozonização pode variar entre diferentes contaminantes.

A dose de ozônio e o tempo de contato determinam a exposição efetiva dos contaminantes às espécies oxidantes geradas durante o tratamento. Em geral, o aumento desses parâmetros favorece a degradação dos poluentes; contudo, os ganhos tendem a diminuir após determinado ponto devido ao consumo do oxidante por constituintes da matriz e à formação de intermediários mais recalcitrantes (Kharel

et al., 2024). Dessa forma, a maximização da remoção nem sempre coincide com as condições operacionalmente mais eficientes ou economicamente viáveis.

Além das condições operacionais, a composição da matriz aquosa constitui um dos principais fatores responsáveis pelas diferenças observadas entre estudos de ozonização. Em águas superficiais, a presença de MON, sais dissolvidos e partículas suspensas introduz competidores adicionais pelo ozônio e pelos radicais hidroxila, reduzindo a fração de oxidante disponível para a degradação dos contaminantes-alvo (Liao et al., 2025; Yang et al., 2022). Entretanto, a influência da MON não é exclusivamente negativa. Dependendo de sua composição e concentração, sua reação com o ozônio pode gerar espécies oxidantes secundárias capazes de contribuir para a degradação de micropoluentes. Por essa razão, efeitos inibitórios e sinérgicos têm sido reportados na literatura (Asghar et al., 2022), evidenciando que o desempenho da ozonização não pode ser previsto apenas a partir das condições operacionais, mas também das características específicas da matriz tratada.

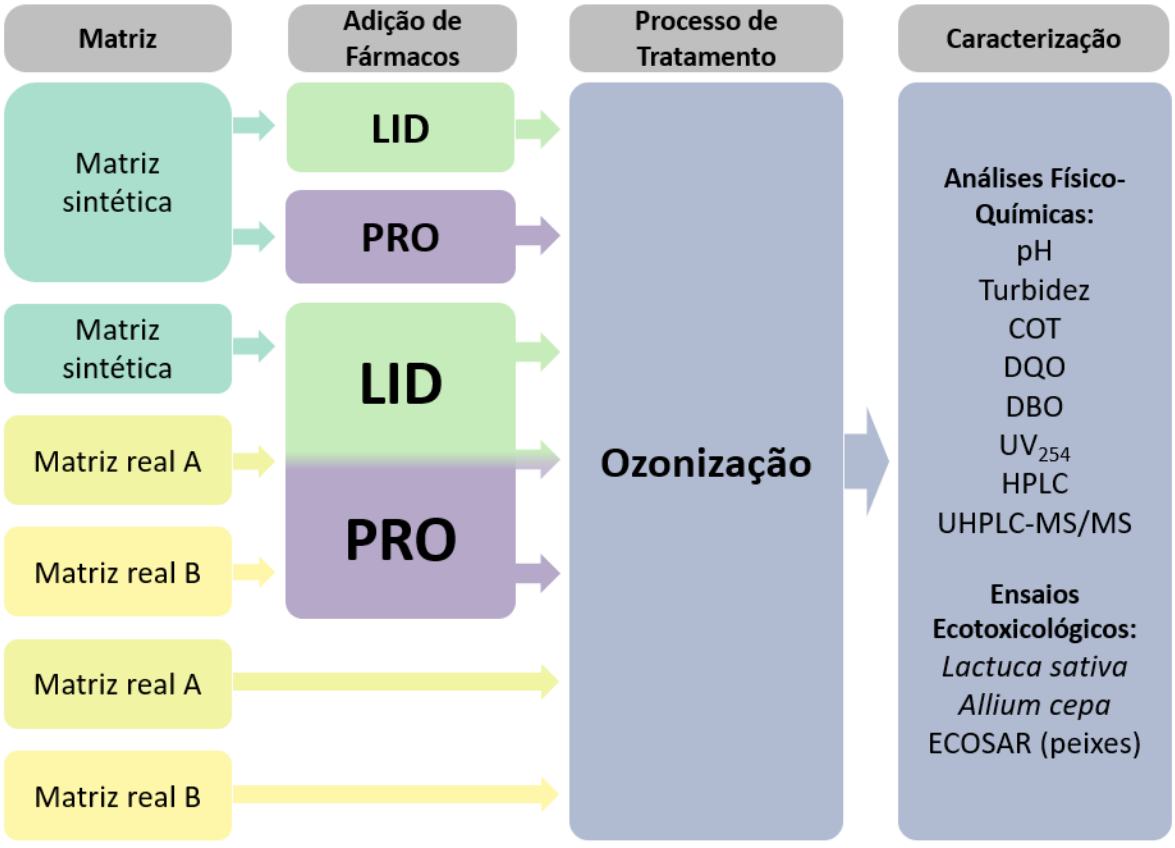
Os resultados dos estudos avaliados indicam que os parâmetros não atuam de forma independente. O efeito da dose de ozônio, por exemplo, está diretamente relacionado ao pH e à composição da matriz, que determinam a formação e o consumo das espécies oxidantes (Kharel et al., 2024). Dessa forma, a otimização da ozonização requer a consideração simultânea das condições operacionais e das características da água tratada.

3 METODOLOGIA

Os experimentos de ozonização foram realizados no Laboratório de Separação e Operações Unitárias (LASOP), localizado no Departamento de Engenharia Química (DEQUI) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Análises de carbono orgânico total (COT) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foram realizadas na Central Analítica do DEQUI. Análises de subprodutos foram realizadas no Instituto de Pesquisas Hídricas, no Núcleo de Estudos em Saneamento Ambiental (NESA).

A Figura 5 ilustra o esquema metodológico experimental adotado para os ensaios exploratórios neste trabalho.

Figura 5 – Representação esquemática dos ensaios exploratórios



Fonte: Elaborada pela autora.

Todos os ensaios exploratórios foram realizados em matriz sintética de água destilada e em matriz real do Arroio Dilúvio, coletadas em dois pontos diferentes ao longo do curso do corpo hídrico. Os ensaios em solução sintética foram realizados primeiramente com os fármacos separados, depois combinados, de modo a avaliar a influência da presença de ambos nos parâmetros de resposta. Os ensaios de

ozonização foram realizados em pH natural, durante 10 minutos, com taxa de ozônio de 1,3 g h^{-1} (equivalente a uma dose de 0,87 g L^{-1} de O_3), condição previamente determinada como ótima para a degradação do PRO em estudos laboratoriais (de Oliveira et al., 2025).

Na sequência, foi aplicado um planejamento experimental do tipo Delineamento Composto Central (CCD) com o objetivo de otimizar as condições de ozonização para a mistura dos fármacos, visando maximizar a mineralização, reduzir a carga orgânica e aumentar a DBO_5/DQO do sistema.

3.1 REAGENTES

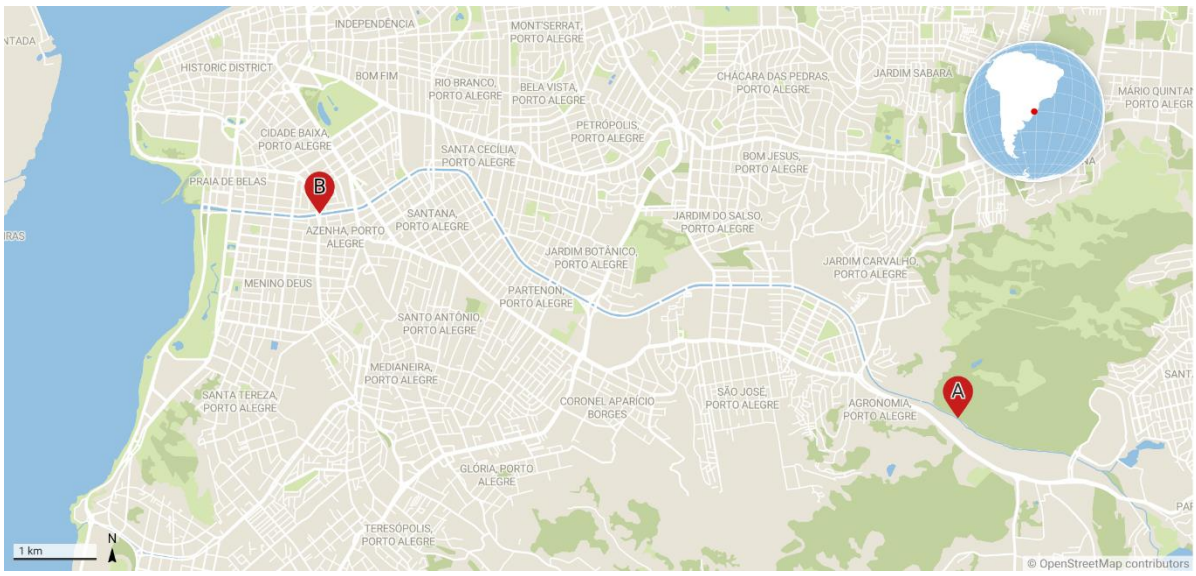
O PRO (CAS 318-98-9) foi adquirido da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA), e a LID (CAS 137-58-6) foi obtida da MP Biomedicals (Solon, OH, EUA). Soluções estoque de cada composto foram preparadas previamente para os ensaios em matriz sintética (água destilada), e as soluções de trabalho foram preparadas imediatamente antes do uso por diluição. As soluções em matriz real foram enriquecidas no mesmo dia de cada ensaio.

O tiossulfato de sódio (CAS 10102-17-7) e o iodeto de potássio (CAS 7681-11-0) e o etanol foram fornecidos pela Neon (São Paulo, Brasil). A orceína acética foi obtida da Êxodo Científica (Brasil). O ácido clorídrico foi adquirido da Sigma-Aldrich. O ácido acético foi adquirido da Nuclear (Brasil). Todos os reagentes possuem grau analítico e foram utilizados conforme recebidos, sem purificação adicional.

3.2 COLETAS NO ARROIO DILÚVIO

Foram coletadas amostras de água superficial em dois pontos do Arroio Dilúvio, em Porto Alegre (RS), com o objetivo de representar diferentes condições ao longo do curso d’água urbano. O primeiro ponto localizou-se no Campus Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) (30°04'12.4"S; 51°08'19.8"W), enquanto o segundo foi localizado na Avenida Érico Veríssimo, sob a ponte (30°02'53.2"S; 51°13'05.0"W). A localização dos pontos de amostragem é apresentada na Figura 6.

Figura 6 – Mapa representando A) ponto de colega no campus Agronomia (UFRGS), e B) ponto de coleta na Avenida Érico Veríssimo



Fonte: Elaborado pela autora utilizando o serviço Datawrapper (2026).

As localidades foram selecionadas em função da facilidade de acesso, bem como por apresentarem diferentes características de urbanização. O ponto de coleta A está situado no bairro Agronomia, que apresenta densidade populacional de 263 habitantes por km². Já o ponto de coleta B, localizado na Avenida Érico Veríssimo, encontra-se na divisa entre os bairros Azenha e Menino Deus, que apresentam densidades populacionais de 9.945 e 13.755 habitantes por km², respectivamente (Garcia Bayard, 2019). Essas diferenças nas características de urbanização, associadas à localização do ponto B, mais próxima à foz do Arroio Dilúvio, onde este deságua no Lago Guaíba, justificaram a seleção desses dois pontos para a análise das águas superficiais após o percurso do arroio pela área urbana de Porto Alegre.

As amostras utilizadas nos ensaios exploratórios foram coletadas no período da manhã do dia 29 de abril de 2025. Para os ensaios referentes ao planejamento experimental, foi realizada uma nova coleta no dia 2 de março de 2026, seguindo os mesmos procedimentos de amostragem e acondicionamento, descritos nesta seção.

A Figura 7 mostra fotografias dos dois pontos de amostragem na data da primeira coleta.

Figura 7 – Pontos de coleta no Arroio Dilúvio



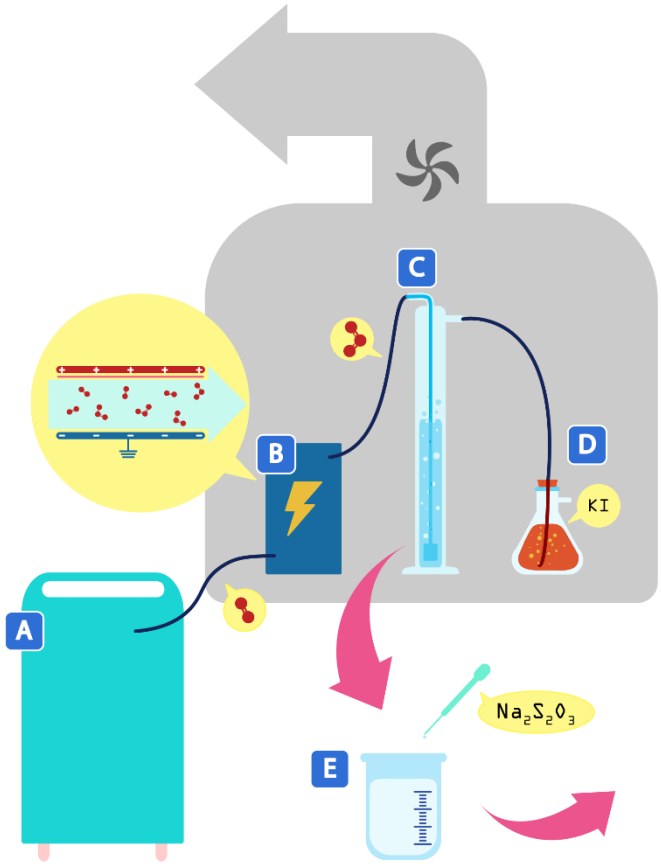
Fonte: Autoria própria (2026).

Após a coleta, as amostras foram imediatamente transportadas ao laboratório e submetidas à filtração em papel-filtro qualitativo para remoção de material particulado grosseiro. Em seguida, foram acondicionadas em frascos previamente higienizados e armazenadas sob refrigeração a 4 °C até a realização dos ensaios e análises. As determinações físico-químicas foram realizadas no menor intervalo de tempo possível após a coleta, com o objetivo de minimizar alterações na composição das amostras decorrentes de processos físicos, químicos e biológicos.

3.3 ENSAIOS DE OZONIZAÇÃO

O ozônio (O_3) foi gerado por um ozonizador de descarga corona (DegradaTox/AquaOz, modelo 3.0E), operando a 60 Hz e 2,0 A. O sistema foi alimentado com oxigênio proveniente de um concentrador de oxigênio Philips EverFlo-OPI, fornecendo uma vazão contínua de 3,5 L $O_2 \cdot min^{-1}$. A coluna reacional utilizada possuía capacidade de 250 mL. A Figura 8 representa o aparato experimental utilizado nos ensaios de ozonização.

Figura 8 – Montagem experimental dos ensaios de ozonização e de germinação com *Lactuca sativa*. (A) Concentrador de oxigênio; (B) gerador de ozônio; (C) reator de ozonização; (D) sistema de destruição do ozônio residual da corrente gasosa (*off-gas*); e (E) etapa de quenching do ozônio nas amostras



Fonte: Elaborada pela autora.

Os parâmetros de ozonização foram definidos com base em estudos anteriores realizados no LASOP envolvendo PRO e outros fármacos (Toffoli De Oliveira, 2025). Antes de cada experimento, o sistema de ozonização foi mantido em operação por 15 min para estabilização da produção de ozônio, conforme procedimento previamente estabelecido por de Carvalho Costa; Toffoli de Oliveira; Amaral Féris, (2025) para o mesmo sistema experimental. A produção de ozônio empregada nos cálculos experimentais foi baseada na caracterização prévia do sistema realizada por de Carvalho Costa; Toffoli de Oliveira; Amaral Féris, (2025), por meio do método iodométrico 4500-O_3 (APHA, 2017). Os valores obtidos foram utilizados para estimar a dose de ozônio aplicada em cada ensaio de ozonização.

Nos ensaios exploratórios, foi utilizada uma taxa de produção constante de ozônio de 1,3 g h^{-1} e tempo de reação de 10 min. Assim, a dose de ozônio aplicada foi de 0,87 g L^{-1}. Ao final do tempo de contato, amostras foram coletadas e a reação foi interrompida com a adição de tiossulfato de sódio 0,1 M. O sistema de saída do

reator foi equipado com um dispositivo para tratamento do gás residual, contendo solução de iodeto de potássio (KI) a 2%, com a finalidade de remover o ozônio remanescente através da transformação em O_2.

Foram realizados ensaios com adição individual de LID e PRO, em matriz sintética, na concentração de 300 mg L^{-1} de cada fármaco, bem como ensaios com a adição simultânea de ambos os fármacos, na concentração de 200 mg L^{-1} de cada um, utilizando matrizes sintéticas e matriz real. Também foram realizados ensaios exclusivamente com a matriz real, constituída por água superficial do Arroio Dilúvio, sem a adição de fármacos, com o objetivo de avaliar a capacidade do processo de ozonização de promover alterações nas características da própria matriz.

3.3.1 Planejamento Experimental

A otimização do processo de ozonização foi realizada por meio da Metodologia de Superfície de Resposta (RSM), utilizando-se um Delineamento Composto Central (CCD). Esse delineamento foi selecionado por sua capacidade de ajustar modelos quadráticos e avaliar simultaneamente os efeitos das variáveis independentes sobre as respostas investigadas com um número reduzido de experimentos.

Foram avaliados três fatores independentes: taxa de aplicação de ozônio (A), pH (B) e tempo de reação (C). O planejamento experimental foi composto por oito pontos fatoriais (2^3), seis pontos axiais (±α) e quatro repetições no ponto central, totalizando 18 ensaios experimentais. As repetições no ponto central foram empregadas para estimar o erro puro, avaliar a reprodutibilidade experimental e verificar a adequação do modelo estatístico ajustado.

O valor de α foi definido em 1,682, visando à obtenção de um delineamento rotacional, condição que assegura variância constante das predições para pontos equidistantes do centro experimental.

Os níveis codificados e reais das variáveis independentes são apresentados na Tabela 3, enquanto a matriz experimental do delineamento encontra-se descrita na Tabela 4.

Tabela 3 – Definição dos níveis do planejamento experimental

Variáveis independentes	Símbolo Codificado	Níveis Codificados				
		-α	-1	0	+1	+α
Taxa de O_3 (g h^{-1})	A	0,6	0,9	1,3	1,8	2,1
pH	B	1,9	4,0	7,0	10,0	12,0
Tempo (min)	C	1,6	5,0	10,0	15,0	18,4

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 4 – Definição do planejamento experimental

Número do experimento	Fatores e níveis codificados		
	A	B	C
1	+1	+1	+1
2	+1	+1	-1
3	+1	-1	+1
4	+1	-1	-1
5	-1	+1	+1
6	-1	+1	-1
7	-1	-1	+1
8	-1	-1	-1
9	-α	0	0
10	+α	0	0
11	0	-α	0
12	0	+α	0
13	0	0	-α
14	0	0	+α
15	0	0	0
16	0	0	0
17	0	0	0
18	0	0	0

Fonte: Elaborada pela autora.

Os resultados experimentais foram ajustados a um modelo polinomial de segunda ordem, representado pela Equação 8:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1}^{k} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} x_i^2 \quad (8)$$

onde Y se refere à resposta predita, enquanto βij representa o coeficiente de interação, βii representa o coeficiente quadrático, βi corresponde ao coeficiente linear e β0 é o coeficiente constante. Além disso, xi e xj representam as variáveis independentes.

As variáveis-resposta selecionadas para a avaliação do processo de ozonização foram a variação do COT, a variação de DQO, a variação do índice de DBO_5/DQO, e a variação da SUVA.

As taxas de ozônio escolhidas para o planejamento experimental podem ser apresentadas na forma de doses de O_3, considerando o volume do reator e o tempo de contato. Estes dados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Conversão da taxa para dose de O_3, considerando os tempos de reação utilizados

Número do Experimento	**Taxa de O_3 ($g\ h^{-1}$)**	**Dose de O_3 ($g\ L^{-1}$)**
1	0,9	0,30
2	0,9	0,30
3	0,9	0,90
4	0,9	0,90
5	1,8	0,60
6	1,8	0,60
7	1,8	1,80
8	1,8	1,80
9	0,6	0,40
10	2,1	1,40
11	1,3	0,14
12	1,3	1,59
13	1,3	0,87
14	1,3	0,87
15 (C)	1,3	0,87

(C) = Ponto Central
Fonte: Elaborada pela autora.

Foram realizados dois planejamentos experimentais independentes. No primeiro, utilizou-se uma matriz sintética composta por água destilada contendo LID e PRO, ambos na concentração de 20 mg L^{-1}, permitindo a avaliação do processo em condições controladas. No segundo planejamento, foi utilizada água proveniente do Arroio Dilúvio (Ponto B), enriquecida com os mesmos fármacos na concentração de 20 mg L^{-1}, com o objetivo de representar uma matriz ambiental real. A comparação entre os dois sistemas possibilitou investigar a influência da composição da matriz aquosa sobre a eficiência da ozonização e sobre as respostas avaliadas, permitindo identificar possíveis efeitos de interferentes presentes na água natural.

3.3.2 Análises Estatísticas

Os dados obtidos no CCD foram analisados por meio da análise de variância (ANOVA), adotando-se nível de significância de 10% ($p < 0,10$). A ANOVA foi utilizada para avaliar a significância dos modelos ajustados e dos coeficientes associados aos efeitos lineares, quadráticos e de interação das variáveis independentes. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SAS OnDemand for Academics.

A adequação dos modelos foi avaliada com base na significância global dos modelos e dos coeficientes estimados. Os termos estatisticamente significativos foram utilizados para a construção dos modelos preditivos.

A partir dos modelos ajustados, foram elaboradas superfícies de resposta e curvas de contorno para avaliar a influência das variáveis independentes sobre as respostas estudadas e determinar as condições operacionais mais favoráveis ao processo. As representações gráficas foram desenvolvidas na linguagem Python utilizando o pacote matplotlib.

3.4 MÉTODOS ANALÍTICOS

Foi usada uma combinação de parâmetros físico-químicos e análises químicas para obter uma caracterização adequada das amostras avaliadas.

3.4.1 Análises Físico-Químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no LASOP, no Departamento de Engenharia Química.

Para análise de pH foi usado um pHmetro portátil AKSO AK90.

A turbidez foi medida com um turbidímetro Alfakit Bancada Plus II utilizando amostras de 15 mL em cubetas. A remoção de turbidez foi calculada usando a Equação 9:

$$\text{Remoção de turbidez} = \left(\frac{\text{turbidez inicial} - \text{turbidez final)}}{\text{turbidez inicial}}\right) \times 100\% \qquad (9)$$

Para avaliação de sólidos dissolvidos totais (SDT) e condutividade, foi usado um analisador AKSO 86505 com eletrodo metálico para determinação de ambos os parâmetros. Os SDT foram calculados indiretamente através do valor de condutividade.

3.4.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Engenharia Química utilizando um sistema Agilent 1200 Infinity equipado com detector de arranjo de diodos (DAD).

O método utilizado foi adaptado de Gowekar & Wadher (2017), e foi empregado para quantificar as concentrações de LID e PRO antes e após os processos de ozonização. A separação cromatográfica foi realizada em coluna Zorbax Eclipse Plus C18 (4,6 × 250 mm; 5 µm, Agilent Technologies). As condições operacionais utilizadas encontram-se resumidas na Tabela 6.

Tabela 6 – Parâmetros empregados nas análises de HPLC da LID e PRO

Fator	Valor
Fase móvel	A – 70% Acetonitrila B – 30% Trietilamina 0,01 M (pH 6,8 ajustado com ácido fosfórico)
Vazão	1,2 mL min^{-1}
Temperatura	25 °C
Volume de injeção	20 µL
Comprimentos de onda	225 nm (LID) 294 nm (PRO)
Tempos de retenção	2,80 minutos (PRO) 4,46 minutos (LID)
Tempo de corrida	5 minutos

Fonte: Dados experimentais da autora.

A quantificação dos compostos foi realizada por calibração externa utilizando soluções padrão de concentração conhecida. As concentrações residuais dos compostos parentais após os tratamentos foram determinadas a partir das respectivas curvas analíticas.

3.4.2.1 Espectrometria de Massas (MS)

A identificação dos possíveis PTs gerados durante os processos oxidativos foi realizada no Laboratório NESA do Instituto de Pesquisas Hídricas, utilizando um sistema LC-40 Nexera XS (Shimadzu, Japão) acoplado a um espectrômetro de massas triplo quadrupolo LCMS-8050 (UHPLC-MS/MS Shimadzu, Japão). A separação cromatográfica foi conduzida em coluna Kinetex Phenyl-Hexyl (100 × 2,1 mm; 1,7 µm). A fase móvel foi composta por (A) água ultrapura e (B) acetonitrila, ambas contendo 0,1% de ácido fórmico. As análises foram realizadas em modo gradiente, com vazão de 0,300 mL min^{-1} e ionização por electrospray.

As amostras preparadas inicialmente na concentração de 300 mg L^{-1} foram diluídas para 300 µg L^{-1} antes da análise. O volume de injeção foi de 10 µL para as amostras de tempo zero e de 1 µL para as amostras destinadas à investigação dos PTs.

A identificação dos PTs foi baseada na combinação dos tempos de retenção e dos padrões de fragmentação obtidos por espectrometria de massas em tandem (MS/MS). A atribuição estrutural foi realizada por comparação dos íons precursores e fragmentos característicos com dados reportados na literatura para produtos de degradação de LID e PRO formados em processos oxidativos. Os sinais cromatográficos que não apresentaram informações suficientes para uma atribuição estrutural confiável foram registrados como compostos não identificados. Nesses casos, nenhuma proposta estrutural foi apresentada.

Os PTs gerados durante a degradação foram avaliados sob as mesmas condições experimentais empregadas nos ensaios de ozonização (pH ≈ 7; 1,3 g O_3 h^{-1}), nos tempos de 5, 10 e 15 min, com o objetivo de investigar a possível formação e transformação de produtos de oxidação ao longo do tratamento. Essa abordagem permitiu monitorar a dinâmica de formação e consumo dos intermediários reacionais, bem como a progressão do processo oxidativo.

3.4.3 Carbono Orgânico Total (COT)

A mineralização das amostras foi avaliada por meio da determinação do carbono orgânico total (COT), utilizando analisador Shimadzu TOC-VCSH. Esse parâmetro foi empregado como indicador da conversão da matéria orgânica em dióxido de carbono (CO_2), refletindo o grau de mineralização promovido pelos processos oxidativos.

A eficiência de mineralização foi calculada conforme a Equação 10:

$$\text{Mineralização} = \left(\frac{\text{COT inicial} - \text{COT final})}{\text{COT inicial}}\right) \times 100\% \qquad (10)$$

onde COT inicial e COT final correspondem às concentrações de carbono orgânico total antes e após o tratamento, respectivamente.

3.4.4 Aromaticidade (UV_{254}) e Absorbância UV Específica (SUVA)

A aromaticidade da matéria orgânica foi avaliada por espectrofotometria na região do ultravioleta, utilizando espectrofotômetro UV/Vis Kasliaki IL-0082-Y, de

acordo com o Método Padrão 5910 B (APHA, 2017). As medições foram realizadas no comprimento de onda de 254 nm (UV_{254}), utilizado como indicador da presença de compostos orgânicos aromáticos contendo sistemas conjugados e estruturas do tipo anel benzênico.

A Absorbância UV Específica (SUVA) foi calculada pela razão entre a absorbância em 254 nm e a concentração de COT da amostra, sendo utilizada como parâmetro complementar para avaliar alterações na composição da matéria orgânica ao longo dos tratamentos.

3.4.5 Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Estado de Oxidação Médio (EOM)

A DQO foi determinada pelo Método Padrão 5220 D (APHA, 2017), baseado na oxidação da matéria orgânica por dicromato de potássio em meio ácido. As amostras foram digeridas a 150 °C durante 120 min em bloco digestor RC Labor, utilizando excesso de dicromato de potássio em meio de ácido sulfúrico, com sulfato de prata como catalisador. Após a digestão, a determinação foi realizada por espectrofotometria UV/Vis (Kasliaki IL-0082-Y) nos comprimentos de onda de 420 e 600 nm. Devido à ampla faixa de concentrações analisadas, foram utilizadas curvas de calibração distintas para amostras de baixa e alta concentração. A redução de DQO foi calculada utilizando a Equação 11:

$$\text{Redução de DQO} = \left(\frac{\text{DQO inicial} - \text{DQO final})}{\text{DQO inicial}}\right) \times 100\% \quad (11)$$

O EOM da matéria orgânica foi estimado a partir dos valores de DQO e COT, ambos expressos em concentração molar, de acordo com a Equação 12:

$$\text{EOM} = 4 \times \left(\frac{\text{COT} - \text{DQO}}{\text{COT}}\right) \quad (12)$$

O EOM foi utilizado como parâmetro complementar para avaliar alterações no grau de oxidação da matéria orgânica durante os tratamentos.

3.4.6 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e DBO_5/DQO

A DBO foi determinada pelo Método Padrão 5210 B (APHA, 2017). As medições de oxigênio dissolvido foram realizadas utilizando medidor Hanna Instruments HI98193 equipado com eletrodo de membrana.

A biodegradabilidade aeróbia das amostras foi avaliada por meio da razão DBO_5/DQO, amplamente utilizada como indicador da fração biodegradável da matéria

orgânica. Valores mais elevados dessa razão indicam maior potencial de degradação biológica, enquanto valores reduzidos sugerem predominância de compostos recalcitrantes.

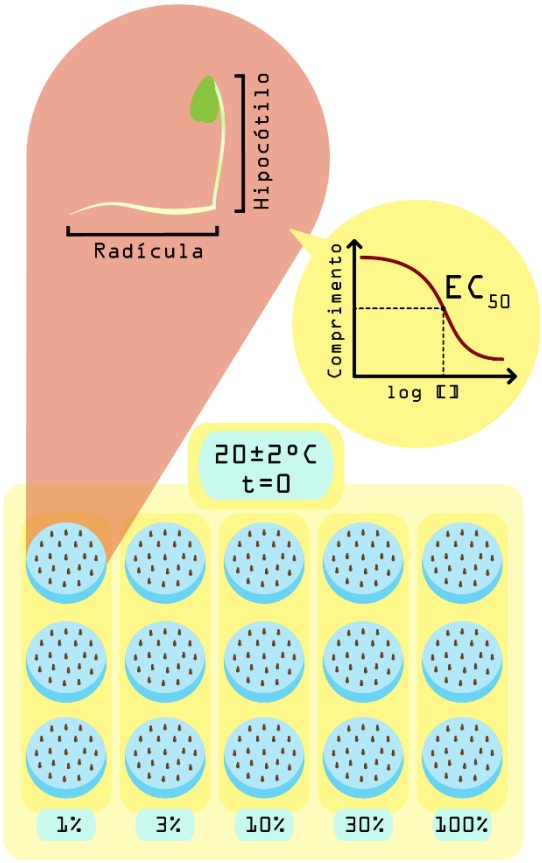
3.5 ECOTOXICIDADE

A avaliação ecotoxicológica foi realizada com o objetivo de investigar os efeitos adversos potenciais das amostras sobre organismos vivos, complementando as análises físico-químicas. Esses ensaios baseiam-se na exposição de organismos-teste a diferentes concentrações das amostras, permitindo a observação de respostas biológicas indicativas de toxicidade, como alterações no crescimento, desenvolvimento e atividade celular.

3.5.1 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Lactuca Sativa*

O ensaio de fitotoxicidade com *Lactuca sativa* foi conduzido de acordo com a metodologia descrita por Sobrero; Ronco, (2004). O teste avalia os efeitos da exposição a amostras líquidas sobre a germinação de sementes e o desenvolvimento inicial das plântulas, permitindo a determinação da concentração efetiva mediana (EC_{50}), definida como a concentração capaz de reduzir em 50% a resposta observada em relação ao controle. A metodologia empregada está apresentada na Figura 9.

Figura 9 – Ilustração esquemática do ensaio de germinação de sementes de *Lactuca sativa*, realizado em triplicata para cada concentração avaliada (1, 3, 10, 30 e 100% v/v). As respostas de germinação e crescimento foram medidas e utilizadas para a modelagem da curva concentração–resposta e determinação da EC_{50}.



Fonte: Elaborada pela autora.

Sementes de *Lactuca sativa* (Top Seed®, variedade alface crespa repolhuda), provenientes do mesmo lote e adquiridas em 23/03/2025, foram expostas a diluições das amostras preparadas com água destilada nas concentrações de 1, 3, 10, 30 e 100% (v/v). A água destilada foi utilizada como controle negativo. Para cada tratamento, 20 sementes foram distribuídas em placas de Petri contendo papel-filtro qualitativo previamente recortado para ajuste ao fundo da placa. Em seguida, adicionou-se volume suficiente da solução teste para promover a completa umidificação do papel. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata e incubados no escuro a 20 ± 2 °C durante 120 h.

Por se tratar de um bioensaio com sementes de *Lactuca sativa*, não foram empregados procedimentos adicionais de biossegurança ou esterilização além daqueles já adotados rotineiramente pelo laboratório para a higienização das vidrarias e demais materiais utilizados. Nos casos em que foram observados sinais de

contaminação em placas isoladas, os respectivos ensaios foram repetidos, a fim de assegurar a confiabilidade e a repetibilidade dos resultados experimentais.

Para a análise estatística, cada placa foi considerada uma unidade experimental independente, sendo utilizados os valores médios obtidos em cada placa. As plântulas presentes em uma mesma placa foram tratadas como repetições biológicas internas, uma vez que compartilharam as mesmas condições de exposição.

Ao término da exposição, foram registrados o percentual de germinação, o comprimento da radícula e o comprimento do hipocótilo de cada plântula. Adicionalmente, foi calculado o Índice de Crescimento (IC), conforme a Equação 13:

$$IC(\%) = \frac{CRA \cdot GA}{CRC \cdot GC} \cdot 100\% \quad (13)$$

onde CRA corresponde ao comprimento médio da radícula nas amostras expostas, GA ao número de sementes germinadas nas amostras expostas, CRC ao comprimento médio da radícula no controle e GC ao número de sementes germinadas no controle.

As concentrações utilizadas nos ensaios exploratórios com PRO e LID foram definidas com base em dados da literatura e na necessidade de obter respostas biológicas detectáveis nos parâmetros avaliados. Para o PRO, Pino et al., (2016) relataram valores de toxicidade para a *Lactuca sativa* de 221 mg L^{-1} para inibição do crescimento da radícula e 188 mg L^{-1} para inibição do crescimento do hipocótilo. Com base nesses resultados, foi escolhida a concentração de 300 mg L^{-1} para os ensaios com o composto isolado, buscando verificar se os efeitos observados seriam compatíveis com os descritos na literatura. Para a LID, não foram encontrados estudos que avaliassem sua toxicidade para a *Lactuca sativa*. Assim, foi adotada a mesma concentração utilizada para o PRO (300 mg L^{-1}), permitindo uma comparação inicial entre os compostos.

Nos ensaios com a mistura dos fármacos, foi utilizada a concentração de 200 mg L^{-1} de cada composto (PRO e LID). Essa concentração foi escolhida por estar próxima da faixa de toxicidade reportada para o PRO, possibilitando a avaliação de possíveis efeitos da associação entre os fármacos. Esses ensaios tiveram como objetivo verificar a sensibilidade dos parâmetros de germinação, crescimento da radícula e crescimento do hipocótilo para a avaliação da toxicidade dos compostos estudados, além de fornecer informações para o planejamento das etapas seguintes do trabalho.

3.5.1.1 Análises Estatísticas

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Os resultados foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA), seguida do teste de Dunnett, conforme procedimento descrito por Sobrero e Ronco, para comparação entre os tratamentos e o respectivo controle. Em todas as análises, adotou-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Nos casos em que a concentração efetiva mediana (EC_{50}) foi superior a 100%, impossibilitando sua determinação dentro da faixa experimental avaliada, foi adotada a Concentração de Efeito Observado Mais Baixo (LOEC). A LOEC foi definida como a menor concentração que apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle, representando o limiar de ocorrência de efeito tóxico detectável.

Os dados foram inicialmente ajustados pelo modelo de Van Ewijk; Hoekstra, (1993), que inclui um parâmetro capaz de descrever respostas horméticas. A presença de hormese foi avaliada a partir da estimativa desse parâmetro durante o processo de ajuste. Quando o parâmetro hormético assumiu valor diferente de zero, considerou-se que a resposta apresentava comportamento hormético e os dados foram descritos pelo modelo completo. Quando o parâmetro hormético foi estimado como igual a zero, o termo correspondente foi eliminado da equação, resultando matematicamente em uma regressão logística de três parâmetros (Equação 14):

$$y = \frac{k}{1 + \left(\frac{x}{EC_{50}}\right)^{b}} \tag{14}$$

onde *y* representa a resposta observada, *k* a resposta máxima, *x* a concentração da amostra, EC_{50} a concentração efetiva responsável por 50% do efeito e *b* o coeficiente angular da curva.

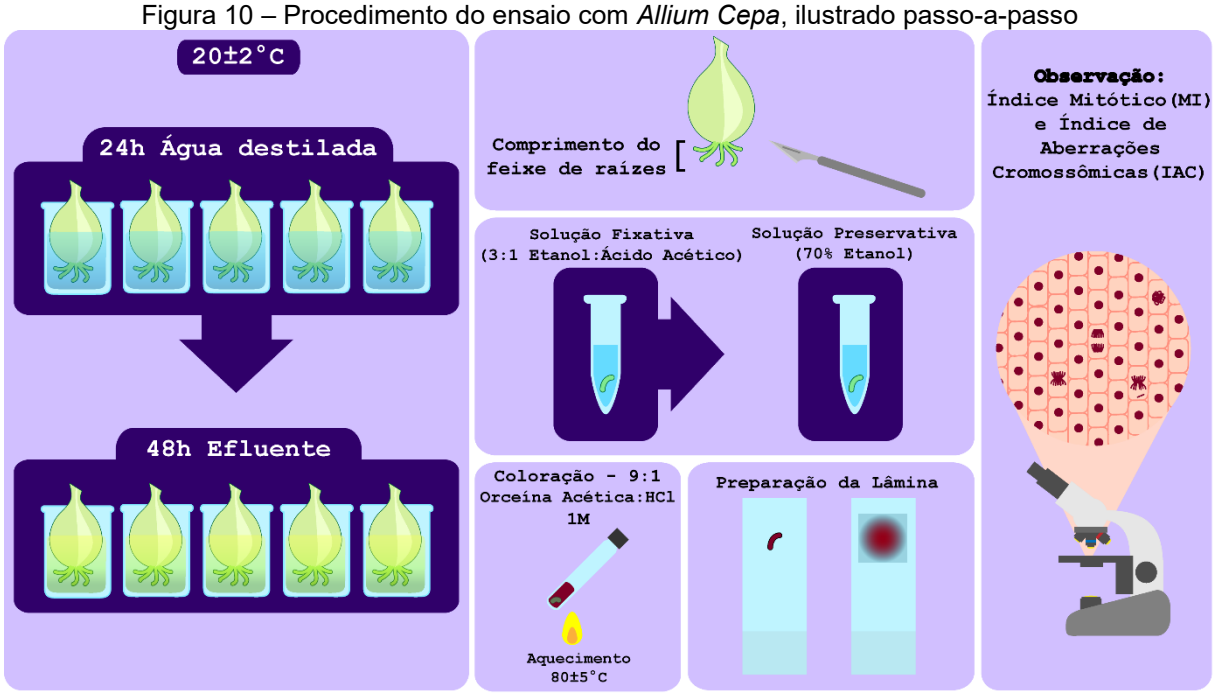
Dessa forma, para amostras sem evidência de hormese, a EC_{50} foi estimada por regressão logística de três parâmetros, enquanto para amostras com resposta hormética foi utilizado o modelo completo de Van Ewijk; Hoekstra, (1993).

3.5.2 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Allium Cepa*

O bioensaio com *Allium cepa* foi utilizado para avaliar os efeitos citotóxicos e genotóxicos das amostras na ausência e na presença de matriz complexa. O ensaio baseia-se na exposição de bulbos de cebola às soluções de interesse e na posterior análise microscópica das células meristemáticas radiculares, conforme as

metodologias descritas por Rank; Nielsen, (1998) e Fiskesjö, (1985). A metodologia está representada na Figura 10.

Figura 10 – Procedimento do ensaio com *Allium Cepa*, ilustrado passo-a-passo



Fonte: Elaborada pela autora.

Bulbos de *Allium cepa* adquiridos em comércio local no dia 8 de novembro de 2025, provenientes de embalagens fechadas do mesmo lote, foram previamente higienizados por meio da remoção das escamas externas secas e do ajuste da base radicular. Em seguida, foram colocados individualmente em béqueres contendo aproximadamente 25 mL de água destilada, em volume suficiente para cobrir a placa radicular, permanecendo por 24 h para indução do crescimento das raízes. Os bulbos foram distribuídos em grupos de cinco unidades por tratamento e mantidos em incubadora (SolidSteel) a 20 ± 2 °C, no escuro.

Após o período de enraizamento, a água destilada foi descartada e substituída pelas amostras a serem avaliadas, em volume suficiente para submergir as raízes. Os bulbos permaneceram expostos por 48 h sob as mesmas condições experimentais. Ao término da exposição, os bulbos foram removidos e uma ponta radicular de cada bulbo foi coletada e transferida para solução fixadora composta por etanol e ácido acético (3:1, v/v). As amostras permaneceram na solução fixadora por 24 h e, posteriormente, foram armazenadas em etanol 70% (v/v) até a realização das análises microscópicas.

Para a preparação das lâminas, as pontas radiculares foram submetidas à coloração com orceína acética a 2%, preparada na proporção de 9:1 (v/v) de solução de orceína acética 2% e ácido clorídrico 1 mol L^{-1}. As amostras foram aquecidas até aproximadamente 85 °C e mantidas em repouso por, no mínimo, 20 min para promover a adequada coloração dos cromossomos. Após a coloração, as raízes foram posicionadas sobre lâminas de microscopia e submetidas à técnica de esmagamento sob lamínula para dispersão das células meristemáticas. As análises foram realizadas em microscópio óptico Laborana, equipado com objetiva de imersão em óleo (100×) e ocular de 10×, totalizando aumento de 1000×.

Foram avaliados dois parâmetros principais: o Índice Mitótico (IM) e o Índice de Aberrações Cromossômicas (IAC). O IM foi determinado pela contagem das células em divisão (prófase, metáfase, anáfase e telófase) em um total de 1000 células por bulbo, sendo calculado pela Equação 15:

$$IM(\%) = \frac{N_{mitose}}{N_{total}} \cdot 100\% \quad (15)$$

onde N_{mitose} corresponde ao número de células em divisão e N_{total} ao número total de células analisadas.

A frequência de anomalias cromossômicas foi determinada a partir da análise de 200 células em metáfase, anáfase e telófase por bulbo. Foram registradas anomalias como pontes cromossômicas, cromossomos retardatários e fragmentações cromossômicas. O percentual de anomalias cromossômicas foi calculado conforme a Equação 16:

$$IAC(\%) = \frac{N_{anomalias}}{N_{mitose}} \cdot 100\% \quad (16)$$

onde $N_{anomalias}$ corresponde ao número de células com alterações cromossômicas e N_{mitose} ao número total de células em divisão analisadas.

As frequências de anomalias cromossômicas observadas nos diferentes tratamentos foram comparadas aos respectivos controles, permitindo a avaliação do potencial genotóxico das amostras.

3.5.2.1 Análises Estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas por meio do teste do qui-quadrado (χ^2) para tabelas de contingência 2 × 2, comparando-se os resultados obtidos em cada tratamento com o respectivo grupo controle (branco). O teste foi empregado para

verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as frequências observadas e esperadas.

No ensaio fitotoxicológico com *Allium cepa*, o teste do qui-quadrado também foi utilizado para avaliar parâmetros citogenéticos, incluindo o índice mitótico e o índice de aberrações cromossômicas. Em todas as análises, adotou-se nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), sendo considerados estatisticamente significativos os resultados com valores de p inferiores a 0,05.

3.5.3 ECOSAR e toxicidade *in silico*

As previsões de toxicidade *in silico* foram realizadas utilizando o módulo Ecological Structure Activity Relationships (ECOSAR), disponível no software EPI Suite™ versão 4.11 (United States Environmental Protection Agency, 2026). Foram avaliados os compostos de interesse e os respectivos PTs identificados durante os processos oxidativos. As estruturas químicas dos PTs foram inseridas no programa por meio do editor molecular integrado ao software. Além da avaliação toxicológica, o ECOSAR foi utilizado para estimar propriedades físico-químicas e parâmetros relacionados ao destino ambiental dos compostos, incluindo o log Kow.

A toxicidade aquática aguda foi estimada para organismos aquáticos, com ênfase em peixes, por meio da concentração letal mediana prevista (LC_{50}). Esse parâmetro complementa as análises realizadas com plantas, uma vez que representa um *endpoint* distinto, relacionado à mortalidade dos organismos, diferentemente da $EC_{50,}$ que está associada à ocorrência de efeitos subletais, como a inibição do crescimento ou de outras respostas biológicas. Além disso, essa estimativa de toxicidade difere dos ensaios experimentais quanto ao organismo avaliado, visto que as predições de LC_{50} obtidas pelo ECOSAR foram realizadas para peixes, enquanto os testes experimentais de toxicidade foram conduzidos com plantas.

As previsões foram realizadas com base nas classes químicas (grupos funcionais) disponibilizadas pelo modelo, sendo selecionada, para cada substância, a categoria considerada mais apropriada de acordo com sua estrutura química.

Os resultados obtidos permitiram comparar o potencial tóxico dos compostos originais e de seus respectivos PTs. Posteriormente, os valores previstos pelo ECOSAR foram comparados aos resultados experimentais obtidos nos bioensaios conduzidos neste estudo, com o objetivo de avaliar a concordância entre as estimativas computacionais e os efeitos tóxicos observados experimentalmente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos ao longo do trabalho. Inicialmente, são discutidos os ensaios exploratórios de ozonização, incluindo a caracterização físico-química das amostras, a avaliação ecotoxicológica e a identificação de subprodutos por espectrometria de massas. Em seguida, são apresentados os resultados do planejamento experimental do tipo CCD, bem como a análise da toxicidade e dos subprodutos formados na condição de melhor desempenho obtida no planejamento.

4.1 ENSAIOS EXPLORATÓRIOS

Os ensaios exploratórios foram realizados com o objetivo de investigar os efeitos iniciais da ozonização sobre as características físico-químicas e ecotoxicológicas das amostras, estabelecendo uma base comparativa para a definição das condições empregadas nas etapas subsequentes do estudo.

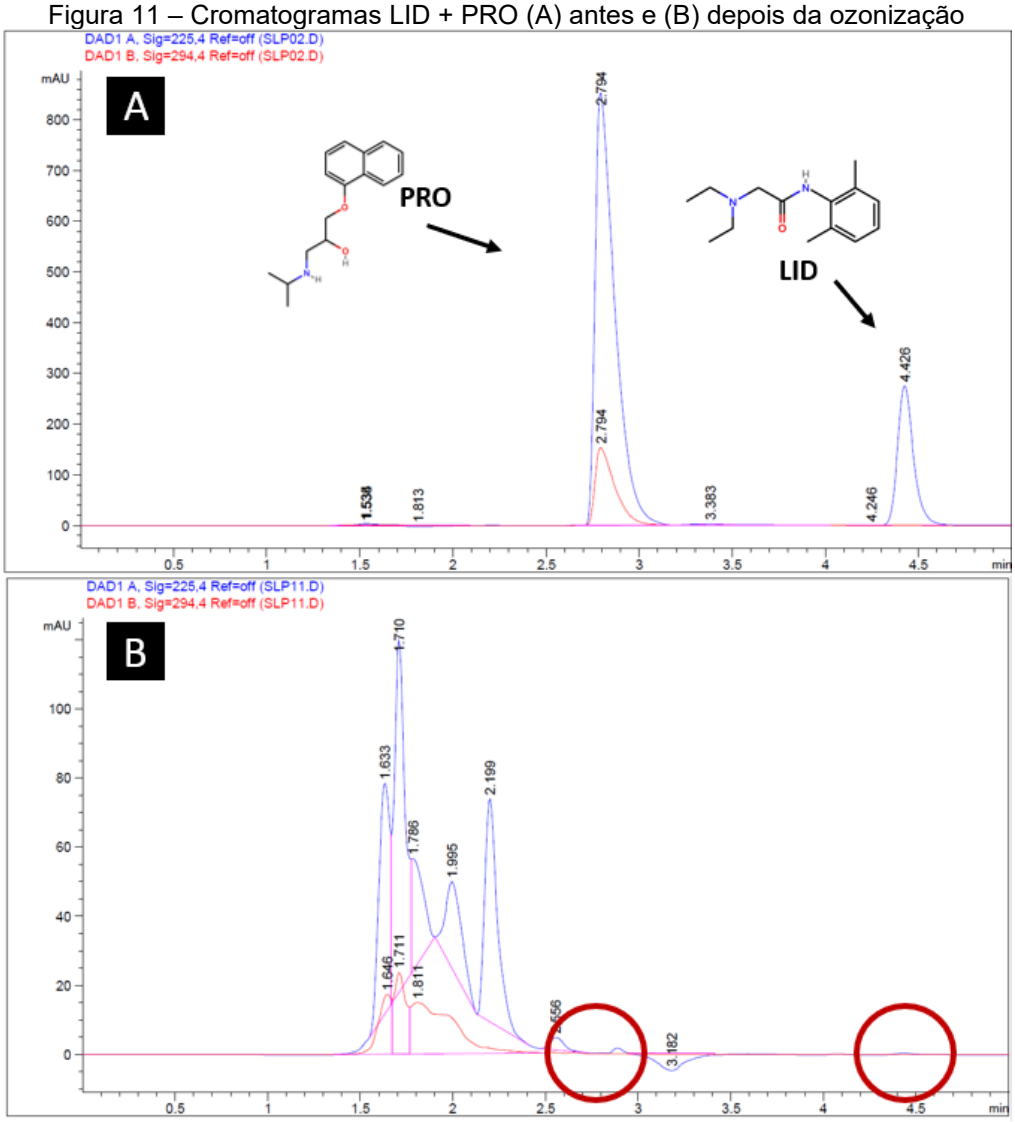
4.1.1 Ozonização dos fármacos em matriz sintética

Para os ensaios exploratórios as condições de ozonização foram fixadas em dose de O_3 de 56 mg L^{-1}, tempo de 10 min e pH natural da amostra (7,0) com o objetivo de avaliar preliminarmente a degradação e mineralização dos compostos, a influência dos parâmetros de DQO, DBO, turbidez, pH, SUVA e, a DBO_5/DQO e EOM. O grupo de pesquisa do Laboratório de Separação e Operações Unitárias da UFRGS tem larga experiência em processos de ozonização e a tese de Toffoli De Oliveira, (2025) foi utilizada como referência para as condições operacionais de ozonização adotadas nos ensaios exploratórios. Esses parâmetros foram avaliados de forma integrada com o objetivo de investigar as alterações nas características gerais do efluente após o tratamento por ozonização. Além da caracterização físico-química, também foram realizados ensaios de ecotoxicidade com *Lactuca sativa* e *Allium cepa*, visando avaliar possíveis efeitos biológicos remanescentes após o tratamento.

4.1.1.1 Avaliação da Degradação dos compostos

A Figura 11 apresenta os cromatogramas obtidos após o processo de ozonização dos compostos.

Figura 11 – Cromatogramas LID + PRO (A) antes e (B) depois da ozonização



Fonte: Dados experimentais da autora.

A Figura 11-A apresenta a identificação dos picos da LID e do PRO, sendo que o cromatograma da Figura 11-B mostra ausência de picos correspondentes à LID e ao PRO após o tratamento. Tal fato indica que as concentrações residuais dos compostos ficaram abaixo do limite de detecção do método analítico empregado.

Ainda, observou-se além do desaparecimento dos picos característicos de LID e PRO, o surgimento de novos sinais cromatográficos em tempos de retenção inferiores. Esse resultado sugere que os compostos originais foram transformados em produtos de oxidação durante o processo de ozonização. Entretanto, a identificação estrutural desses subprodutos não pode ser realizada apenas por HPLC, sendo necessárias análises complementares, como cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS), para a determinação das razões massa/carga e posterior elucidação estrutural dos compostos formados.

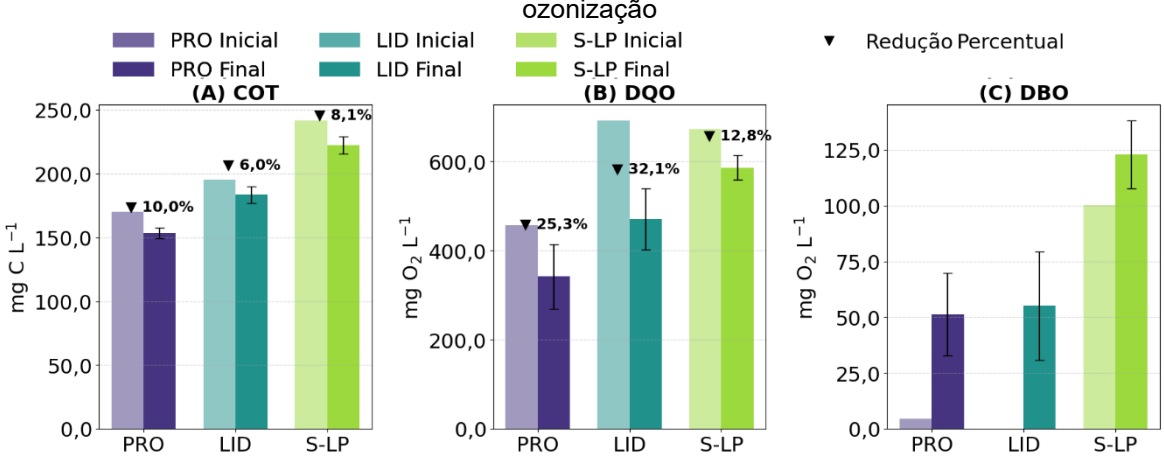
Os resultados obtidos corroboram estudos prévios que relatam elevada reatividade do PRO frente ao ozônio. Dantas; Sans; Esplugas, (2011) observaram rápida degradação desse composto durante o tratamento oxidativo, comportamento compatível com a ausência de PRO detectável ao final do ensaio. De forma semelhante, Lee et al., (2014) e Gulde et al., (2021) reportaram remoções superiores a 99% para a LID empregando doses de ozônio inferiores às utilizadas neste trabalho. Assim, considerando as condições operacionais adotadas, a degradação praticamente completa desses compostos era esperada.

Embora os resultados de HPLC indiquem a remoção dos compostos originais, essa técnica não permite avaliar a redução da carga orgânica total da solução nem determinar a extensão da mineralização alcançada durante o tratamento. Além disso, a presença de novos picos cromatográficos sugere a formação de PTs. Dessa forma, a avaliação dos parâmetros físico-químicos é importante para complementar a interpretação dos resultados e fornecer uma visão mais ampla da eficiência do processo de ozonização.

4.1.1.2 Efeitos da ozonização nos parâmetros físico-químicos e composição da matéria orgânica

Com o objetivo de avaliar as alterações na carga orgânica e no potencial de DBO_5/DQO das soluções após o tratamento por ozonização, foram analisados os parâmetros COT, DQO e DBO. Os resultados obtidos para as soluções de PRO, LID e da mistura (S-LP), nos tempos inicial e final do tratamento estão apresentados na Figura 12.

Figura 12 – Carga orgânica das soluções de PRO, LID e S-LP no início e ao final do ensaio de ozonização



Fonte: Dados experimentais da autora.

É importante destacar que os valores de redução de COT e DQO são apresentados em porcentagem, uma vez que as concentrações iniciais diferem entre as soluções avaliadas. Nas amostras contendo individualmente PRO e LID, a concentração inicial de cada fármaco foi de 300 mg L^{-1}. Já na solução S-LP, foram utilizadas concentrações iniciais de 200 mg L^{-1} de PRO e 200 mg L^{-1} de LID.

Conforme apresentado na Figura 12-A, observou-se redução do COT em todas as amostras após o processo de ozonização. A mineralização, estimada a partir da redução do COT, foi de 10,0% para PRO, 6,0% para LID e 8,1% para a solução contendo a mistura dos dois fármacos (S-LP). Dessa forma, a amostra S-LP apresentou um percentual de mineralização intermediário em relação aos tratamentos individuais. Embora o processo de ozonização tenha promovido a degradação dos compostos, a redução do COT indica que a conversão completa da matéria orgânica em dióxido de carbono e espécies inorgânicas não foi alcançada. Esse comportamento é compatível com processos oxidativos, nos quais a degradação dos compostos de origem pode resultar inicialmente na formação de produtos de transformação (PTs), que podem apresentar maior resistência à oxidação e permanecer no meio antes de sua completa mineralização (Zilberman et al., 2023).

Uma alternativa para aumentar o grau de mineralização seria prolongar o tempo de ozonização, possibilitando maior exposição dos compostos e de seus respectivos PTs ao ozônio e, consequentemente, favorecendo sua oxidação até espécies de menor complexidade e maior grau de mineralização.

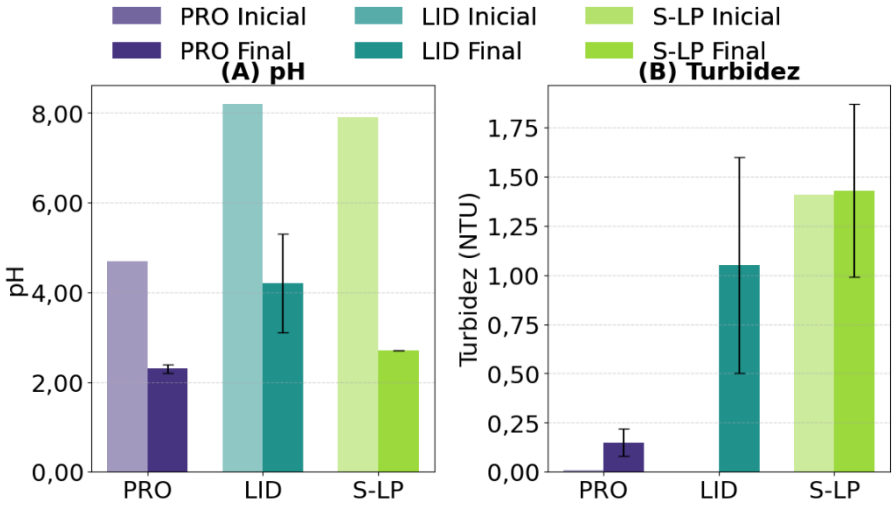
A Figura 12-B mostra a influência da ozonização na DQO das soluções tratadas. A DQO apresentou redução maior que o COT em todas as amostras, indicando que a ozonização promoveu modificações estruturais nas moléculas orgânicas, reduzindo sua capacidade de consumir oxigênio em processos de oxidação química. Para o PRO, a redução foi de 25,3%, para a LID de 32,1% e, para a mistura dos fármacos, 12,8%. A menor redução de DQO observada na mistura dos fármacos sugere que a presença simultânea dos compostos pode ter influenciado a eficiência oxidativa do processo. Possivelmente, os fármacos e seus produtos de degradação competiram pelas espécies oxidantes geradas durante a ozonização, especialmente radicais hidroxila, reduzindo parcialmente a eficiência de oxidação da matéria orgânica presente na amostra (Beltrán & Rey, 2018).

A Figura 12-C apresenta a variação da DBO, onde observa-se o aumento da DBO após a ozonização. Esse comportamento indica que os possíveis produtos

formados podem ser mais facilmente metabolizados pelos microrganismos do que os compostos originais. Na amostra inicial de LID, a DBO foi nula, indicando ausência de consumo de oxigênio pelos microrganismos. Além disso, foi observado que o valor foi inferior ao do branco contendo apenas o lodo inoculado, sugerindo que a amostra causou inibição da atividade microbiológica. Esse resultado indica que a LID, antes do tratamento, apresentava efeito tóxico sobre os microrganismos utilizados no ensaio. Após a ozonização, o aumento da DBO, juntamente com a redução de DQO nessa amostra demonstra que os produtos formados passaram a apresentar menor toxicidade e maior DBO_5/DQO. Isso evidencia o potencial da ozonização como etapa de pré-tratamento, favorecendo a integração com processos biológicos para a remoção da matéria orgânica remanescente (Ma et al., 2021).

A Figura 13 mostra os resultados das análises físico-químicas nas amostras sintéticas antes e após a ozonização, a fim de verificar a eficiência do tratamento. Todos os ensaios exploratórios foram realizados considerando o pH natural das amostras em torno de 7, sem ajuste prévio.

Figura 13 – Parâmetros físico-químicos das soluções de PRO, LID e S-LP no início e ao final do ensaio de ozonização



Fonte: Dados experimentais da autora.

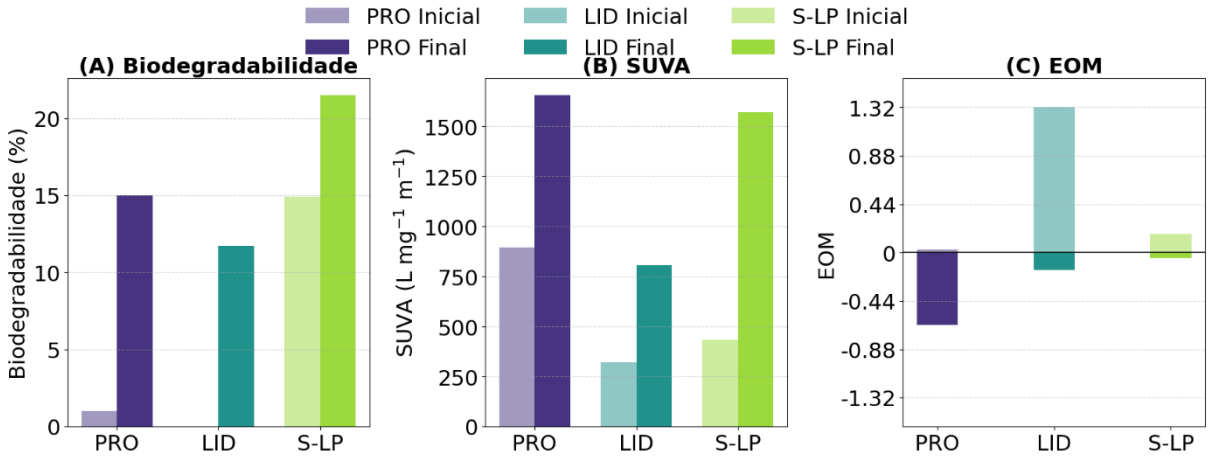
A Figura 13-A mostra a variação do pH após os ensaios de ozonização. Foi possível verificar que o pH de todas as amostras diminuiu após o processo de ozonização, indicando a provável formação de compostos de caráter ácido durante a degradação dos fármacos (Lim et al., 2022). O estudo de Gulde et al., (2021) observou que a ozonização de fármacos favorece a formação de ácidos carboxílicos. Resultado semelhante foi reportado por Benner; Ternes, (2009) para a ozonização do PRO.

Em relação à turbidez (Figura 13-B), os valores iniciais indicam que as soluções contendo os fármacos isoladamente apresentavam dissolução completa, já que a presença de turbidez indica que há sólidos dissolvidos na solução. Entretanto, na amostra contendo a mistura de PRO + LID (S-LP), ambos na concentração de 200 mg L^{-1}, apresentou turbidez inicial, sugerindo possível dissolução incompleta dos compostos quando associados. Esse comportamento pode indicar que a combinação dos fármacos alterou as características de solubilidade da solução, favorecendo a formação de material particulado ou agregados, uma vez que, em água destilada, era esperada ausência de turbidez inicial.

Após a ozonização, verificou-se aumento da turbidez nas amostras de PRO e LID. Esse aumento pode estar relacionado à formação de PTs e intermediários de oxidação geradas durante as reações promovidas pelo ozônio na solução. Mirnasab et al., (2021) observou um aumento de turbidez de 0,5 NTU após um processo de ozonização. Apesar desse aumento, é importante ressaltar que a turbidez em todas as amostras está abaixo dos limites definidos pela legislação.

Para complementar as análises discutidas anteriormente, a Figura 14 apresenta a variação da DBO_5/DQO e da SUVA antes e após a ozonização. A SUVA e o EOM foram utilizados como indicadores da composição e do estado de oxidação da matéria orgânica.

Figura 14 – Valores de DBO_5/DQO, SUVA, e EOM das soluções de PRO, LID e S-LP antes e após o tratamento por ozonização



Fonte: Dados experimentais da autora.

A razão DBO_5/DQO representa a fração da matéria orgânica passível de consumo biológico aeróbio. Segundo Kubiak, (2025), valores inferiores a 10% são geralmente associados a compostos persistentes, enquanto aumentos nessa razão

após processos oxidativos indicam a conversão de substâncias recalcitrantes em carbono mais disponível para os microrganismos.

A Figura 14-A mostra que houve um aumento da DBO_5/DQO de 1,0% para 15,0% no PRO e de 0,0% para 11,7% na LID, indicando que as soluções tratadas se tornaram um pouco mais suscetíveis à degradação microbiana após a ozonização.

A solução contendo a mistura dos fármacos (S-LP) apresentou DBO_5/DQO inicial superior à observada para os compostos avaliados individualmente, aumentando de 14,9% para 21,5% após o tratamento e alcançando o maior valor entre as amostras estudadas. Assim, observa-se que os valores finais obtidos para ambos os fármacos superaram o limite de 10% proposto por Kubiak, (2025), sugerindo que a ozonização pode atuar como uma etapa eficiente de pré-tratamento antes de processos biológicos. O autor encontrou comportamento semelhante durante a ozonização de naproxeno, em que a razão DBO_5/DQO aumentou de 8,5% para 31,0%. Esse comportamento pode estar relacionado às interações entre os compostos presentes na mistura, uma vez que os efeitos combinados de diferentes substâncias nem sempre correspondem à soma de seus efeitos individuais, podendo resultar em alterações na disponibilidade ou na biodegradabilidade da matéria orgânica (Montiel-Mora et al., 2024).

O aumento da DBO_5/DQO é consistente com as reduções observadas para DQO e COT, bem como com o desaparecimento dos compostos originais nos cromatogramas obtidos por HPLC. Em conjunto, esses resultados indicam que a ozonização promoveu transformações nos fármacos avaliados, aumentando a fração biodegradável da matéria orgânica presente nas soluções.

A Figura 14-B mostra a variação dos valores de SUVA após aplicação da ozonização. Os valores de SUVA também aumentaram após a ozonização, confirmando as alterações na composição da matéria orgânica dissolvida. Como esse parâmetro relaciona a UV_{254} ao COT, seu aumento sugere maior contribuição relativa de estruturas capazes de absorver radiação nessa região do espectro, como compostos aromáticos ou contendo sistemas conjugados. Dessa forma, embora os compostos originais tenham sido removidos, o processo oxidativo provavelmente gerou PTs que permaneceram detectáveis pelas medidas de UV_{254}. Comportamento semelhante tem sido relatado em estudos de ozonização, nos quais os produtos de oxidação apresentaram aumento da absorbância em UV mesmo após elevada remoção dos contaminantes originais. Phan et al., (2022) por exemplo, observaram

aumento nos valores de SUVA após a ozonização de águas residuárias urbanas, atribuindo esse efeito às alterações promovidas na composição da matéria orgânica dissolvida durante o processo oxidativo.

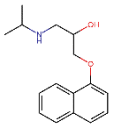
No caso do PRO, o sistema aromático naftalênico é conhecido por sofrer reações de hidroxilação e oxidação parcial durante a ozonização, formando derivados aromáticos oxigenados que podem manter a absorção em 254 nm (Benner & Ternes, 2009). De maneira semelhante, rotas de transformação descritas para a LID incluem a formação de produtos hidroxilados e parcialmente oxidados nos quais a estrutura aromática permanece preservada (Gulde et al., 2021). Embora esses compostos específicos não tenham sido identificados no presente estudo, o aumento dos valores de SUVA é compatível com a formação de PTs contendo estruturas aromáticas ou sistemas conjugados.

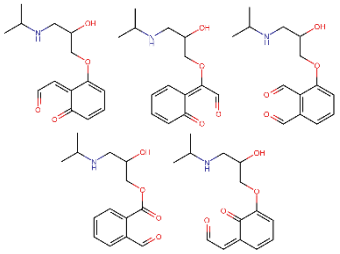
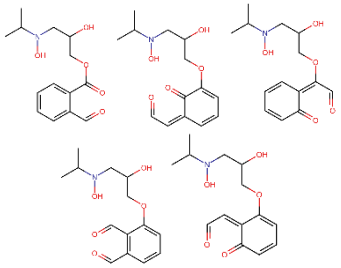
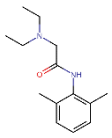
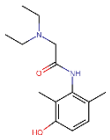
Apesar da redução de COT e DQO, os valores de EOM (Figura 14-C) tornaram-se mais negativos após a ozonização, passando de 1,32 para -0,16 na LID, de 0,03 para -0,66 no PRO, e de 0,17 para -0,05 na S-LP. Esse comportamento sugere que a ozonização promoveu a fragmentação das moléculas originais, gerando compostos de menor massa e diferentes características químicas. A redução mais acentuada da DQO em comparação ao COT reforça essa interpretação, indicando que o processo promoveu alterações estruturais importantes na matéria orgânica, sem que houvesse mineralização completa (Bilińska et al., 2016). Dessa forma, os resultados sugerem a formação de intermediários de oxidação, possivelmente incluindo aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e outros compostos orgânicos de menor tamanho molecular.

4.1.2 Avaliação de Subprodutos

Os PTs identificados para a LID, PRO e para a mistura LID-PRO (S-LP), em solução sintética e sob as condições experimentais avaliadas (10 min de reação, 1,3 g O_3 h^{-1} e pH ≈ 7), são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Compostos identificados e respectivos tempos de ozonização em que foram detectados

Compostos Detectados	Elucidação Estrutural	Fórmula Neutra	Massa Neutra	Detecção
Propranolol		$C_{15}H_{21}NO_2$	260	-

Compostos Detectados	Elucidação Estrutural	Fórmula Neutra	Massa Neutra	Detecção
P1	-	$C_6H_{15}NO_2$	133	**PRO** 5 min 10 min **S-LP** 5 min 15 min
P2	-	$C_6H_{15}NO_3$	149	**PRO** 10 min
P3		$C_{14}H_{19}NO_4$	265	**PRO** 5 min
P4		$C_{14}H_{19}NO_5$	281	**PRO** 5 min 10 min
Lidocaína		$C_{14}H_{22}N_2O$	234	-
L1		$C_{14}H_{22}N_2O_2$	250	**LID** 5 min 10 min 15 min **S-LP** 5 min 10 min 15 min

Fonte: Dados experimentais da autora.

Para o PRO, foram detectados quatro produtos de transformação (PTs) durante a ozonização. A ocorrência dos compostos P3 ($C_{14}H_{19}NO_4$) e P4 ($C_{14}H_{19}NO_5$) é consistente com as vias de transformação previamente propostas por Benner; Ternes, (2009), que identificaram esses produtos como intermediários formados por sucessivos ataques de ozônio e radicais hidroxila à porção aromática do PRO. O composto P3 foi detectado exclusivamente após 5 min de tratamento, enquanto P4

persistiu até 10 min, indicando que ambos atuam como intermediários transitórios que sofrem oxidação adicional à medida que a reação avança.

Benner; Ternes, (2009) propuseram que P3 se origina do ataque do ozônio a um íon precursor com m/z 291, enquanto P4 pode ser gerado a partir de um precursor com m/z 307 ou por hidroxilação adicional de P3. A predominância dessas vias depende fortemente do pH da solução, sendo as reações diretas com ozônio favorecidas em condições ácidas. Embora a ozonização tenha sido iniciada em pH próximo da neutralidade, a acidificação progressiva observada durante o tratamento pode ter favorecido esses mecanismos.

A detecção de P1 ($C_6H_{15}NO_2$) e P2 ($C_6H_{15}NO_3$) reforça a ocorrência de processos de oxidação da cadeia lateral. Os padrões de fragmentação revelaram íons característicos em m/z 133 e 149, respectivamente, indicando que a cadeia lateral do PRO permaneceu amplamente preservada, enquanto a oxidação ocorreu preferencialmente na região aromática da molécula. Notavelmente, P1 corresponde ao produto derivado da cadeia lateral previamente reportado durante a ozonização do PRO e foi identificado durante a degradação de β-bloqueadores estruturalmente relacionados, sugerindo uma rota de transformação comum entre compostos dessa classe farmacêutica. O aparecimento de P2 somente após 10 min de ozonização sugere que esse composto pode se originar da oxidação subsequente de intermediários previamente formados, em vez de resultar diretamente da transformação do composto parental.

O desaparecimento de todos os PTs de PRO detectados após 15 min indica a continuidade da oxidação em direção a produtos menores e mais oxidados, que não foram detectados sob as condições analíticas empregadas. Essa observação é consistente com a remoção completa do composto parental, apesar da limitada mineralização alcançada durante a ozonização, indicando que o carbono foi majoritariamente redistribuído em produtos secundários de transformação, em vez de ser totalmente convertido em CO_2. A natureza transitória de P3 e P4, juntamente com a formação de produtos de oxidação de baixa massa molar, demonstra que a degradação do PRO ocorreu por meio de etapas sequenciais de oxidação, semelhantes às descritas anteriormente por Benner; Ternes, (2009) e Song et al., (2008).

Em contraste, apenas um PT foi detectado durante a ozonização da LID. O composto L1 ($C_{14}H_{22}N_2O_2$) foi observado durante todo o período reacional (5–15 min),

indicando maior estabilidade em comparação aos intermediários transitórios do PRO. L1 foi identificado como 3-hidroxilidocaína, provavelmente formada por hidroxilação do anel aromático por radicais hidroxila (•OH) gerados durante a decomposição do ozônio em água. Nessas condições, as espécies reativas de oxigênio atacam o anel aromático rico em elétrons da LID, ativado pelos grupos substituintes amida e amino adjacentes, sendo a adição eletrofílica de •OH favorecida na posição 3 da porção 2,6-dimetilanilina (Rúa-Gómez et al., 2012). A persistência de L1, apesar da completa remoção do composto parental, indica que a ozonização promoveu transformação molecular em vez de mineralização completa, resultando na permanência de produtos de oxidação estáveis na solução, os quais podem contribuir para o carbono orgânico residual e para possíveis efeitos biológicos após o tratamento.

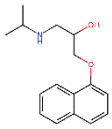
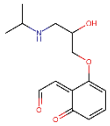
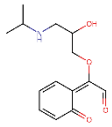
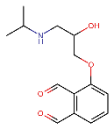
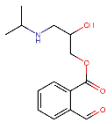
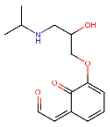
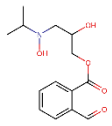
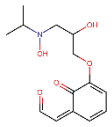
O menor número de PTs detectados durante a ozonização da LID sugere um perfil oxidativo menos complexo do que aquele observado para o PRO. Essa diferença pode ser atribuída a fatores estruturais, uma vez que o PRO possui múltiplos sítios altamente reativos, incluindo um sistema de anel naftalênico, uma ligação éter e uma amina secundária, que podem sofrer reações de oxidação paralelas (Von Gunten, 2003). Em contraste, a LID parece seguir menos vias oxidativas detectáveis nas condições investigadas, ou seus produtos intermediários podem ser rapidamente convertidos em moléculas menores não capturadas pelo método analítico empregado. Essas diferenças evidenciam a forte influência da estrutura molecular no destino de fármacos durante a ozonização e ajudam a explicar a maior complexidade do perfil de transformação observado para o PRO.

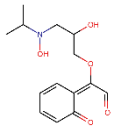
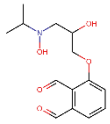
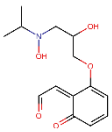
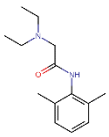
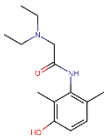
4.1.3 Efeito da ozonização na ecotoxicidade dos fármacos em matriz sintética

4.1.3.1 Ecotoxicidade *in silico*

A Tabela 8 apresenta a toxicidade aquática aguda predita para peixes, calculada por meio do modelo ECOSAR disponível no software EPI Suite, para os compostos parentais e seus respectivos PTs, com o objetivo de avaliar seus potenciais impactos ambientais.

Tabela 8 – Valores preditos de log Kow e LC_{50} para peixes de cada isômero de PT identificado, obtidos utilizando o EPI Suite

Estrutura	Identificação de produtos de oxidação	Log Kow	Classe ECOSAR	LC_{50} para peixes (g L^{-1})
	PRO	2.60	Aminas alifáticas	5.31×10^{-3}
			Compostos orgânicos neutros	$9,98 \times 10^{-3}$
	P3-1	-0.02	Aminas alifáticas	1,08
			Compostos orgânicos neutros	14,2
			Cetonas vinílicas/alílicas propargílicas	1,35
			Éteres vinílicos/alílicos propargílicos	$4,66 \times 10^{-1}$
			Aldeídos vinílicos/alílicos impedidos	$3,37 \times 10^{-1}$
	P3-2	-0.02	Aminas alifáticas	1,08
			Compostos orgânicos neutros	14,2
			Cetonas vinílicas/alílicas propargílicas	1,35
			Éteres vinílicos/alílicos propargílicos	$4,66 \times 10^{-1}$
			Aldeídos vinílicos/alílicos impedidos	$3,37 \times 10^{-1}$
	P3-3	0.86	Aminas alifáticas	$2,88 \times 10^{-1}$
			Compostos orgânicos neutros	2,32
			Aldeídos (poli)	$1,28 \times 10^{-2}$
	P3-4	0.89	Aldeídos (mono)	$5,46 \times 10^{-2}$
			Aminas alifáticas	$2,72 \times 10^{-1}$
			Ésteres	$1,49 \times 10^{-1}$
			Compostos orgânicos neutros	2,15
	P3-5	-0.46	Aminas alifáticas	2,12
			Compostos orgânicos neutros	35,4
			Cetonas vinílicas/alílicas propargílicas	2,32
			Éteres vinílicos/alílicos propargílicos	$8,29 \times 10^{-1}$
			Aldeídos vinílicos/alílicos impedidos	$5,81 \times 10^{-1}$
	P4-1	0.51	Aldeídos (mono)	$8,78 \times 10^{-2}$
			Aminas alifáticas	$5,12 \times 10^{-1}$
			Ésteres	$2,68 \times 10^{-1}$
			Compostos orgânicos neutros	4,99
	P4-2	0.10	Aminas alifáticas	$9,55 \times 10^{-1}$
			Compostos orgânicos neutros	11,7
			Cetonas vinílicas/alílicas propargílicas	1,23
			Éteres vinílicos/alílicos propargílicos	$4,22 \times 10^{-1}$

Estrutura	Identificação de produtos de oxidação	Log Kow	Classe ECOSAR	LC_{50} para peixes (g L^{-1})
			Aldeídos vinílicos/alílicos impedidos	$3,08 \times 10^{-1}$
	P4-3	-0.40	Aminas alifáticas	2,04
			Compostos orgânicos neutros	33,0
			Cetonas vinílicas/alílicas propargílicas	2,27
			Éteres vinílicos/alílicos propargílicos	$8,07 \times 10^{-1}$
			Aldeídos vinílicos/alílicos impedidos	$5,68 \times 10^{-1}$
	P4-4	0.48	Aminas alifáticas	$5,41 \times 10^{-1}$
			Compostos orgânicos neutros	5,39
			Aldeídos (poli)	$1,85 \times 10^{-2}$
	P4-5	1.35	Aminas alifáticas	$1,44 \times 10^{-1}$
			Compostos orgânicos neutros	$8,82 \times 10^{-1}$
			Cetonas vinílicas/alílicas propargílicas	$2,65 \times 10^{-1}$
			Aldeídos vinílicos/alílicos impedidos	$6,64 \times 10^{-2}$
	LID	1.66	Aminas alifáticas	$2,31 \times 10^{-2}$
			Compostos orgânicos neutros	$7,75 \times 10^{-2}$
			Amidas	$2,97 \times 10^{-2}$
	L1	0.83	Aminas alifáticas	$2,83 \times 10^{-1}$
			Compostos orgânicos neutros	2,32
			Fenóis	$2,18 \times 10^{-1}$
			Amidas	$5,75 \times 10^{-1}$
			Aminas fenólicas	$1,46 \times 10^{-2}$

Fonte: Dados experimentais da autora.

As predições obtidas pelo ECOSAR indicaram que o composto parental (PRO) apresentou a maior toxicidade aguda para peixes, evidenciada por valores de LC_{50} inferiores a $1,0 \times 10^{-2}$ g L^{-1}, especificamente $5,31 \times 10^{-3}$ g L^{-1} para a classe das aminas alifáticas e $9,98 \times 10^{-3}$ g L^{-1} para compostos orgânicos neutros. Esse comportamento está provavelmente associado à sua maior hidrofobicidade (log Kow = 2,60). A maioria dos PTs apresentou toxicidade reduzida em comparação ao composto original, com valores de LC_{50} variando de centenas a milhares de mg L^{-1}, em concordância com seus menores valores de log Kow e maior polaridade. Por exemplo, P3-1 e P3-2, ambos com log Kow de −0,02, apresentaram valores de LC_{50} de 1,08 g L^{-1} para aminas alifáticas e 14,2 g L^{-1} para compostos orgânicos neutros. De forma semelhante, P3-5 e P4-3, que apresentaram valores negativos de log Kow (−0,46 e −0,40,

respectivamente), exibiram toxicidade predita muito baixa, com valores de LC_{50} para compostos orgânicos neutros superiores a 30 g L^{-1}.

Entretanto, grupos funcionais aldeído mantiveram toxicidade moderada nos PTs P3 e P4, sugerindo que grupos reativos podem contribuir para os riscos aquáticos independentemente da hidrofobicidade. Por exemplo, P3-3 e P4-4 apresentaram valores de LC_{50} de 1,28 × 10^{-2} e 1,847 × 10^{-2} g L^{-1}, respectivamente, na classe aldeídos (poli), apesar de seus baixos valores de log Kow (0,86 e 0,48). Da mesma forma, P4-5 apresentou valor de LC_{50} de 6,635 × 10^{-2} g L^{-1} para a classe aldeídos vinílicos/alílicos impedidos, indicando que PTs contendo grupos aldeído ainda podem representar uma preocupação ecotoxicológica relevante.

A LID apresentou toxicidade moderada, particularmente nas classes aminas alifáticas e amidas, com valores de LC50 de 2,314 × 10^{-2} e 2,969 × 10^{-2} g L^{-1}, respectivamente. Seu PT detectado (L1) apresentou, de modo geral, menor toxicidade na maioria das classes avaliadas pelo ECOSAR, com valores de LC_{50} de 2,32 g L^{-1} para compostos orgânicos neutros e 5,75 × 10^{-1} g L^{-1}para amidas. No entanto, foi predito aumento da toxicidade para a classe fenolamina, com valor de LC_{50} de 1,462 × 10^{-2} g L^{-1}, indicando que a introdução de grupos funcionais específicos pode intensificar os efeitos ecotoxicológicos, mesmo diante da redução da hidrofobicidade.

Esses resultados estão de acordo com as observações reportadas por Zilberman; Gozlan; Avisar, (2023), que demonstraram, por meio de predições realizadas com o ECOSAR, que diversos PTs podem apresentar toxicidade comparável ou até superior à dos compostos parentais, representando riscos adicionais para organismos aquáticos e para a saúde ambiental. Os autores também destacaram que o termo “remoção” frequentemente é utilizado de forma inadequada em estudos de tratamento de água, pois desconsidera a formação e a persistência de PTs estáveis. Em contraste, Sales-Alba et al., (2023), ao investigarem a ozonização do clotianidina e avaliarem a toxicidade dos PTs formados, verificaram que a maioria desses produtos apresentou menor toxicidade do que a molécula parental para as espécies avaliadas.

Vale ressaltar que as predições geradas pelo ECOSAR têm validade limitada, uma vez que se baseiam em modelos que podem não capturar integralmente os riscos ecotoxicológicos associados aos compostos químicos avaliados. A avaliação é tão boa quanto os modelos usados para gerá-las, e alguns modos de ação específicos podem não estar inclusos ou ser subestimados pelo modelo. Dessa forma, esses

resultados não devem ser considerados conclusivos e, sempre que possível, devem ser complementados por ensaios experimentais de toxicidade, a fim de proporcionar uma avaliação mais confiável do risco ambiental (Reggiane de Carvalho Costa et al., 2024).

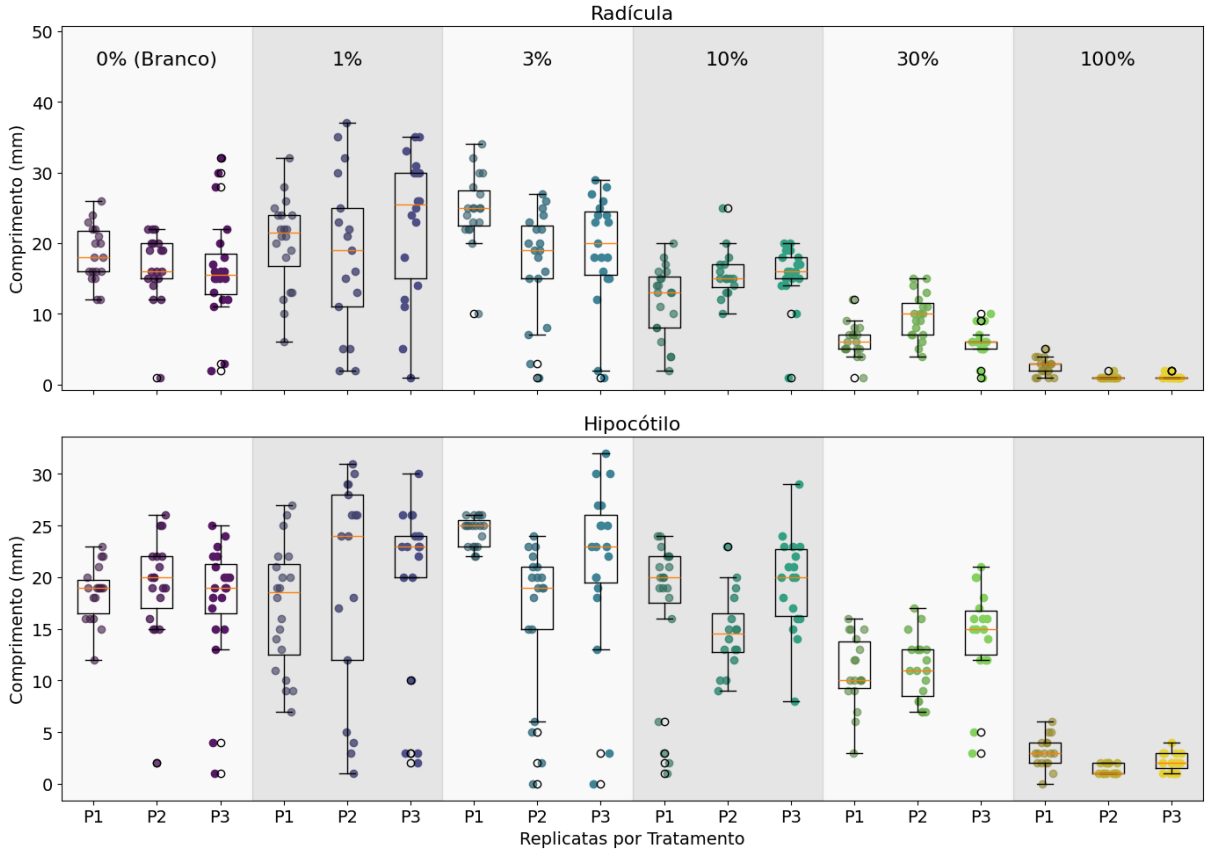
Apesar dessas limitações, as estimativas de toxicidade *in silico* podem ser obtidas de forma rápida, simples e com baixo custo, uma vez que o software empregado é de acesso gratuito. Assim, essas predições representam uma abordagem promissora para a avaliação preliminar do potencial de toxicidade de compostos, auxiliando na triagem inicial antes da realização de ensaios experimentais. Portanto, o desenvolvimento e a otimização de POAs devem considerar não apenas a degradação dos compostos farmacêuticos parentais, mas também a eliminação eficiente dos PTs e a mitigação de sua toxicidade antes da liberação no ambiente. Cabe destacar que todos os PTs identificados neste estudo apresentaram menor toxicidade predita do que as respectivas moléculas parentais.

4.1.3.2 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Lactuca Sativa*

As amostras LID, PRO e S-LP foram submetidas a ensaios de fitotoxicidade, antes e depois da ozonização, para verificar como o tratamento influenciou na ecotoxicidade do efluente.

A Figura 15 apresenta a distribuição dos comprimentos de radículas e hipocótilos observados dentro de cada unidade experimental para as soluções contendo PRO antes do tratamento. O objetivo é ilustrar a variabilidade biológica entre as plântulas expostas às mesmas condições experimentais.

Figura 15 – Distribuição dos comprimentos de radículas e hipocótilos dentro das unidades experimentais no ensaio de fitotoxicidade com *Lactuca sativa*



Fonte: Dados experimentais da autora.

Nos dados obtidos no presente estudo, as amostras apresentaram respostas superiores a 100% do crescimento observado no controle, caracterizando um possível efeito hormético. A hormese é definida como um estímulo biológico em baixas doses de um agente potencialmente tóxico, seguido por inibição em concentrações mais elevadas. Para representar esse comportamento, foram considerados modelos específicos capazes de incorporar matematicamente essa resposta bifásica (Van Ewijk & Hoekstra, 1993).

A tabela 9 apresenta os resultados encontrados para EC_{50} das soluções sintéticas e seus respectivos tratamentos com ozonização.

Tabela 9 – Valores de EC_{50} para os diferentes *endpoints* de toxicidade em *Lactuca sativa* antes e depois do processo de ozonização (1,34 g h^{-1} O_3, 10 min, pH ≈ 7)

		EC_{50} germinação (%)	**EC_{50} radícula (%)**	**EC_{50} hipocótilo (%)**
PRO	**Inicial**	>100,0	20,4	38,0
	Final	>100,0	54,0	73,4
LID	**Inicial**	>100,0	32,0	40,0

		EC_{50} germinação (%)	EC_{50} radícula (%)	EC_{50} hipocótilo (%)
S-LP	**Final**	>100,0	94,7	>100,0
	Inicial	>100,0	16,7	19,3
	Final	>100,0	>100,0	>100,0

Fonte: Dados experimentais da autora.

As soluções contendo os fármacos antes da ozonização apresentaram fitotoxicidade mensurável, sendo o crescimento da radícula o *endpoint* mais sensível em todas as condições avaliadas. Para o PRO, os valores de EC_{50} foram de 20,4% (61,2 mg L^{-1}) para radícula e 38,0% (114,0 mg L^{-1}) para hipocótilo, enquanto a LID apresentou valores de 32,0% (96,0 mg L^{-1}) e 40,0% (120,0 mg L^{-1}), respectivamente. A mistura dos fármacos (S-LP) apresentou os menores valores de EC_{50}, com 16,7% para radícula e 19,3% para hipocótilo, indicando maior toxicidade em comparação aos compostos avaliados individualmente.

Os valores de toxicidade obtidos neste estudo foram inferiores aos reportados por Pino et al. (2016), que observaram valores de 221 mg L^{-1} e 188 mg L^{-1} para a inibição do crescimento da radícula e do hipocótilo, respectivamente. Essa diferença pode estar relacionada às condições experimentais empregadas e à sensibilidade da variedade de *Lactuca sativa* utilizada, uma vez que diferenças genéticas entre cultivares podem influenciar a resposta aos contaminantes.

O parâmetro de germinação apresentou baixa sensibilidade em todas as condições avaliadas, uma vez que os valores de EC_{50} permaneceram acima de 100% para as amostras iniciais e finais. Esse resultado indica que, nas concentrações testadas, os efluentes não foram capazes de inibir em 50% o processo germinativo, sugerindo que esse *endpoint* é menos adequado para detectar efeitos tóxicos em baixas concentrações.

A maior sensibilidade da radícula em relação ao hipocótilo está de acordo com observações relatadas na literatura e pode ser explicada pelo contato direto e contínuo da raiz em desenvolvimento com o meio contaminado. Como o crescimento radicular depende intensamente da divisão celular, da integridade das membranas e da absorção de nutrientes, esse parâmetro tende a responder rapidamente à presença de contaminantes, sendo amplamente utilizado como indicador sensível em ensaios de fitotoxicidade. Resultados semelhantes foram observados por Souza et al., (2020) e Campagna-Fernandes; Marin; Penha, (2016), que também identificaram o

crescimento da radícula como o *endpoint* mais sensível em avaliações ecotoxicológicas com *Lactuca sativa*.

Pino et al., (2016) observaram que, embora 12 fármacos amplamente utilizados, incluindo anti-inflamatórios e β-bloqueadores, tenham inibido tanto o crescimento da radícula quanto do hipocótilo, a radícula apresentou consistentemente menores valores de EC_{50} e relações dose–resposta mais acentuadas do que o hipocótilo. Os resultados obtidos no presente estudo reforçam a relevância do crescimento radicular como um *endpoint* de alerta precoce para a avaliação da toxicidade de contaminantes farmacêuticos, bem como da eficácia de processos oxidativos avançados na redução de seus impactos biológicos.

A mistura de PRO e LID apresentou toxicidade superior à observada para os compostos isolados. Considerando as concentrações iniciais dos fármacos, a EC_{50} para a radícula correspondeu a 61,2 mg L^{-1} para o PRO, 96,0 mg L^{-1} para a LID e 33,4 mg L^{-1} de cada fármaco na solução S-LP. Em sistemas contendo mais de uma substância tóxica, a resposta biológica pode ser influenciada por interações entre os compostos, tornando a avaliação ecotoxicológica de misturas mais complexa do que a de substâncias isoladas (Montiel-Mora et al., 2024).

Após a ozonização, foi observada redução significativa da fitotoxicidade em todas as amostras, evidenciada pelo aumento dos valores de EC_{50}. Para o PRO, o EC_{50} da radícula aumentou de 20,4% para 54,0%, enquanto o do hipocótilo passou de 38,0% para 73,4%. A redução da toxicidade foi ainda mais expressiva para a LID, cujo EC_{50} aumentou de 32,0% para 94,7% na radícula e ultrapassou 100% para o hipocótilo. Comportamento semelhante foi observado para a mistura S-LP, na qual o EC_{50} da radícula aumentou de 16,7% para 90,3%, enquanto o valor para o hipocótilo também ultrapassou 100% após o tratamento. O aumento dos valores de EC_{50} indica que concentrações mais elevadas do efluente passaram a ser necessárias para provocar o mesmo efeito biológico observado antes da ozonização, evidenciando redução do potencial fitotóxico das soluções.

De forma geral, os resultados demonstram que a ozonização reduziu significativamente a toxicidade dos fármacos avaliados e de sua mistura. Esse comportamento está de acordo com os resultados obtidos por HPLC, que indicaram a remoção dos compostos originais, e com o aumento da DBO_5/DQO observado após o tratamento. Embora PTs tenham sido formados durante a ozonização, os ensaios

com *Lactuca sativa* sugerem que esses compostos apresentaram menor potencial tóxico do que os fármacos inicialmente presentes nas soluções.

Os resultados obtidos para os três *endpoints* de desenvolvimento de *Lactuca sativa* estão apresentados na Tabela 10, juntamente com os resultados do teste de Dunnett utilizados para avaliar a significância estatística das diferenças observadas em relação ao controle.

Tabela 10 – Valores de desenvolvimento comparativo com o branco, e resultados do teste de Dunnett de comparação de médias para avaliação de LOEC na *Lactuca sativa*.

Concentração das Amostras (v/v)		Germinação Relativa (%)		Crescimento Relativo da Radícula (%)		Crescimento Relativo do Hipocótilo (%)	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
PRO	1%	96,5	101,1 ± 7,6	119,1	105,9 ± 8,1	101,9	96,4 ± 7,8
	3%	100,0	97,5 ± 4,6	119,3	92,1 ± 14,8	112,6	93,2 ± 5,4
	10%	94,7	103,1 ± 3,9	83,7	93,9 ± 19,3	92,7	95,0 ± 15,5
	30%	98,2	98,2 ± 3,1	40,4*	79,9 ± 24,3	65,4*	85,7 ± 28,9
	100%	91,2	88,1 ± 11,6	9,4*	14,4 ± 3,9*	11,9*	33,8 ± 11,4*
LID	1%	91,1	101,9 ± 1,9	86,7	86,8 ± 26,4	83,9	78,7 ± 15,7
	3%	98,2	96,9 ± 3,9	77,2	82,1 ± 29,9	82,9	77,3 ± 20,1
	10%	98,2	98,1 ± 4,9	61,1*	90,5 ± 19,7	62,9*	82,9 ± 17,9
	30%	94,6	104,9 ± 2,2	46,5*	75,3 ± 31,1	52,0*	65,0 ± 21,2
	100%	96,4	99,4 ± 4,6	51,0*	44,7 ± 32,5*	66,0*	53,9 ± 37,5
S-LP	1%	90,9	97,6 ± 7,5	111,1	93,0 ± 22,9	99,9	81,8 ± 18,2
	3%	103,6	99,4 ± 1,0	96,6	96,0 ± 17,9	97,6	85,6 ± 16,2
	10%	87,3*	94,0 ± 6,3	63,1*	84,9 ± 19,9	66,3*	83,3 ± 18,5
	30%	96,4	97,6 ± 5,5	41,2*	81,3 ± 29,5	41,9*	87,4 ± 20,3
	100%	98,2	97,0 ± 2,7	6,5*	56,7 ± 23,4*	5,9*	55,1 ± 21,6

* Teste de Dunnett significativo ($p < 0,05$)
Fonte: Dados experimentais da autora.

A germinação de *Lactuca sativa* apresentou baixa sensibilidade aos tratamentos avaliados, corroborando os resultados observados para EC_{50}. De modo geral, os valores permaneceram próximos ao controle e poucas diferenças significativas foram detectadas pelo teste de Dunnett. Apenas a solução contendo a mistura dos fármacos (S-LP) apresentou efeito significativo sobre a germinação na concentração de 10% antes da ozonização. Esse comportamento sugere que os fármacos avaliados exerceram influência limitada sobre os processos metabólicos iniciais necessários à germinação, resultado semelhante ao observado por Pino et al., (2016), que relatam menor sensibilidade desse *endpoint* em comparação aos parâmetros de crescimento.

Em contraste, os parâmetros de crescimento mostraram maior sensibilidade à presença dos contaminantes, especialmente a radícula. Em algumas das menores concentrações avaliadas foram observados valores de crescimento superiores aos do controle, sugerindo a ocorrência de hormese.

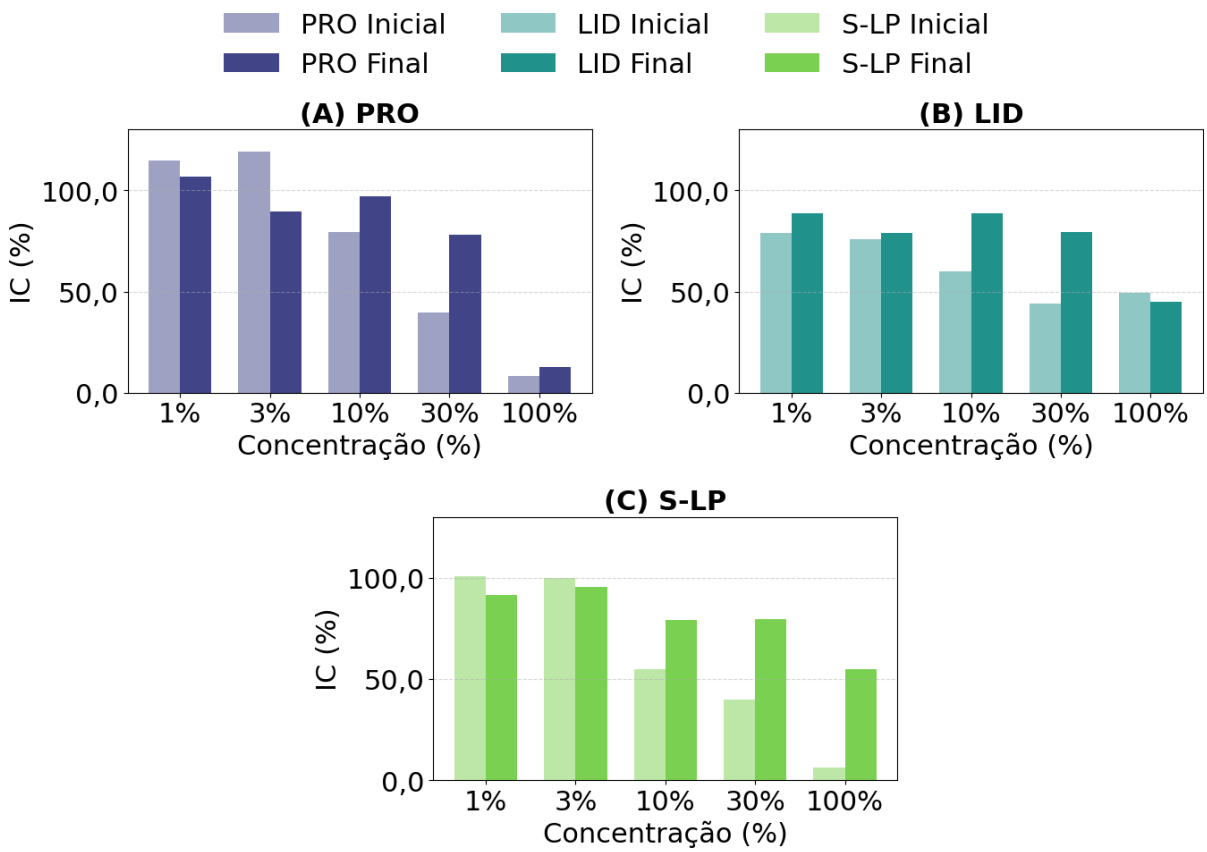
Antes da ozonização, os efeitos tóxicos sobre o crescimento radicular foram observados a partir de concentrações mais baixas do que aquelas necessárias para afetar a germinação. Para o PRO, o menor nível com efeito observado (LOEC) foi de 30%, enquanto para a LID e para a mistura S-LP os efeitos significativos ocorreram a partir de 10%. Tendência semelhante foi observada para o hipocótilo, embora com menor sensibilidade. Esses resultados reforçam a importância da radícula como *endpoint* ecotoxicológico, uma vez que seu crescimento depende de intensa divisão e expansão celular, além de estar em contato direto e contínuo com o meio contaminado. Dessa forma, alterações na integridade das membranas, na absorção de nutrientes ou no equilíbrio oxidativo tendem a se refletir rapidamente no desenvolvimento radicular (Pino et al., 2016).

Após a ozonização, observou-se redução consistente dos efeitos tóxicos em todas as amostras. Para o PRO, o LOEC da radícula permaneceu em 100%, enquanto para a LID os efeitos significativos passaram a ocorrer apenas na amostra sem diluição. Na mistura S-LP também foi observada expressiva redução da toxicidade, evidenciada pelo aumento do crescimento relativo e pela diminuição da intensidade dos efeitos observados. Para o hipocótilo, a recuperação foi ainda mais evidente, especialmente para a LID, na qual não foram observadas diferenças significativas em relação ao controle após o tratamento.

Os resultados obtidos indicam que a ozonização promoveu a transformação dos compostos originais em produtos com menor potencial fitotóxico, corroborando os resultados de EC_{50} e confirmando a eficiência do processo na redução dos impactos biológicos dos fármacos avaliados. Comportamento semelhante foi reportado por Cruz-Hernández et al., (2026), que observaram aumento da germinação relativa após a combinação de ozonização e eletro-oxidação, enquanto o crescimento radicular permaneceu mais sensível aos efeitos residuais dos contaminantes e de seus PTs. Em conjunto, os resultados reforçam que a germinação isoladamente pode subestimar a toxicidade residual de efluentes tratados. A inclusão de parâmetros de crescimento, especialmente da radícula, permite uma avaliação mais robusta da eficiência da ozonização e da segurança ambiental dos efluentes após o tratamento.

A Figura 16 apresenta o Índice de Crescimento (IC) da *Lactuca Sativa*. Esse índice relaciona o crescimento radicular com a germinação e demonstra viariações no crescimento das plântulas expostas às diferentes concentrações de efluentes.

Figura 16 – Índice de crescimento para *Lactuca sativa*



Fonte: Dados experimentais da autora.

Os resultados do índice de crescimento (IC) para *Lactuca sativa* indicaram redução da fitotoxicidade após a ozonização para as soluções avaliadas. Como o IC combina informações sobre germinação e crescimento radicular, esse parâmetro fornece uma avaliação integrada dos efeitos dos contaminantes sobre o desenvolvimento inicial das plântulas.

Na Figura 16-A, é possível observar os dados para o PRO. Apesar da maior toxicidade apresentada em baixas concentrações das amostras ozonizadas, os maiores aumentos do IC foram observados nas concentrações intermediárias, especialmente em 30 mg L^{-1} e 90 mg L^{-1}, nas quais os valores passaram de 79,3% para 97,2% e de 39,7% para 78,1%, respectivamente. Tendência semelhante foi observada para a LID (Figura 16-B), cujos valores aumentaram de 60,0% para 88,8% em 30 mg L^{-1} e de 44,0% para 79,2% em 90 mg L^{-1} após o tratamento. Esses

resultados indicam melhora tanto da capacidade germinativa quanto do desenvolvimento inicial das plântulas após a ozonização.

A mistura S-LP (Figura 16-C) apresentou os menores valores de IC antes do tratamento nas concentrações mais elevadas, confirmando a maior fitotoxicidade observada anteriormente nos ensaios de EC_{50} e LOEC. Na concentração correspondente à solução não diluída, o IC aumentou de 6,4% para 55,1% após a ozonização. Também foram observados aumentos expressivos nas concentrações intermediárias, passando de 39,7% para 79,5% e de 55,1% para 79,1%. Embora os valores finais ainda tenham permanecido inferiores aos observados nas menores concentrações, os resultados evidenciam redução da toxicidade da mistura após o tratamento oxidativo.

A recuperação observada no IC está de acordo com os resultados obtidos para EC_{50}, LOEC e crescimento relativo das plântulas, que também demonstraram redução da toxicidade após o tratamento. Em conjunto, esses resultados indicam que a degradação dos compostos originais foi acompanhada pela diminuição de seus efeitos biológicos sobre *Lactuca sativa*.

Comportamento semelhante foi relatado por Canatto et al., (2024), que observaram eliminação da fitotoxicidade de efluentes contendo metilparabeno após a aplicação combinada de O_3/H_2O_2 e reator anaeróbio UASB. Nesse estudo, os efluentes não tratados causaram forte inibição da germinação e do crescimento radicular, enquanto o tratamento oxidativo restaurou condições favoráveis ao desenvolvimento das plântulas. Resultados semelhantes também foram reportados por Cruz-Hernández et al., (2026), que verificaram melhorias significativas em parâmetros de crescimento vegetal após tratamentos baseados em ozonização.

O aumento dos valores de IC observado no presente estudo sugere que a ozonização reduziu a atividade biológica dos fármacos avaliados sobre as plantas, provavelmente em decorrência da degradação dos compostos parentais e da formação PTs menos tóxicos. Essa interpretação é consistente com as predições obtidas pelo ECOSAR, que indicaram menor ecotoxicidade para os principais PTs em comparação aos compostos originais. A concordância entre os resultados experimentais de fitotoxicidade e as estimativas ecotoxicológicas reforça a evidência de que a ozonização foi eficaz na mitigação dos riscos ambientais associados ao PRO, à LID e à sua mistura.

4.1.3.3 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Allium Cepa*

A avaliação com *Allium cepa* permitiu analisar não apenas os efeitos fitotóxicos sobre o crescimento radicular, mas também possíveis alterações citotóxicas e genotóxicas causadas pelos fármacos antes e após a ozonização. Como mencionado anteriormente na seção 3.5.1, os parâmetros avaliados foram o índice mitótico (IM%) e o índice de aberrações cromossômicas (IAC%). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Avaliação citotóxica e genotóxica pelo teste com *Allium cepa*: índices mitótico e de aberrações cromossômicas antes e após ozonização

		Células em Mitose	IM (%)	χ^2	IM Relativo (%)	Células com ACs	IAC (%)	χ^2	IAC Relativo (%)
Controle		385	13,7	-	-	37	9,6	-	-
PRO	**Inicial**	55	5,5	49,1547*	40,1	21	38,2	22,2707*	397,9
	Final	107 ± 48	10,7 ± 4,8	12,6021*	78,1	50 ± 19	47,0 ± 5,0	72,3593*	489,6
LID	**Inicial**	127	12,7	0,7223	92,7	37	29,1	20,3649*	303,1
	Final	165 ± 14	16,5 ± 1,4	8,7093*	120,4	74 ± 11	45,0 ± 10,5	74,8068*	468,8
S-LP	**Inicial**	44	4,4	64,3204*	32,1	21	50,0	32,4056*	520,8
	Final	86 ± 8	8,6 ± 0,8	38,9685*	62,8	50 ± 19	40,7 ± 11,8	53,5153*	424,0

* Valor estatisticamente significativo ($p < 0,05$) no teste de χ^2.
Fonte: Dados experimentais da autora.

Os resultados do ensaio com *Allium cepa* demonstraram efeitos distintos da ozonização sobre a citotoxicidade e a genotoxicidade das amostras avaliadas. Antes do tratamento, o PRO e a mistura PRO + LID apresentaram elevada citotoxicidade, evidenciada pela redução significativa do índice mitótico em relação ao controle. Enquanto o controle apresentou IM de 13,7%, os valores observados para PRO e S-LP foram de 5,5% e 4,4%, correspondendo a apenas 40,1% e 32,1% do valor do controle, respectivamente. Em contraste, a LID apresentou IM de 12,7%, equivalente a 92,7% do controle, sem diferença estatisticamente significativa, indicando menor potencial citotóxico nas condições avaliadas.

Após a ozonização, observou-se aumento do índice mitótico em todas as amostras. Para o PRO, o IM aumentou de 5,5% para 10,7%, representando recuperação de 40,1% para 78,1% do valor do controle. A mistura S-LP apresentou comportamento semelhante, com aumento de 4,4% para 8,6%, correspondendo a uma recuperação de 32,1% para 62,8% do controle. Embora esses valores ainda tenham permanecido significativamente inferiores ao branco, o aumento do IM sugere

redução parcial dos efeitos inibitórios sobre a divisão celular. Para a LID, o IM aumentou de 12,7% para 16,5%, atingindo 120,4% do valor do controle. Estímulos à divisão celular após processos oxidativos também foram observados em estudos com efluentes ozonizados e podem estar relacionados à remoção de compostos inibidores ou a alterações na composição química da matriz tratado (Mišík et al., 2011).

Em relação ao índice de aberrações cromossômicas, todos os tratamentos apresentaram valores significativamente superiores ao controle, evidenciando potencial genotóxico. Antes da ozonização, os valores de IAC foram de 38,2% para PRO, 29,1% para LID e 50,0% para S-LP, correspondendo a aumentos de aproximadamente quatro, três e cinco vezes em relação ao controle, respectivamente. O elevado valor observado para a mistura sugere que a combinação dos fármacos potencializou os danos cromossômicos, indicando que os efeitos genotóxicos não podem ser previstos apenas a partir da toxicidade individual de cada composto (Montiel-Mora et al., 2024).

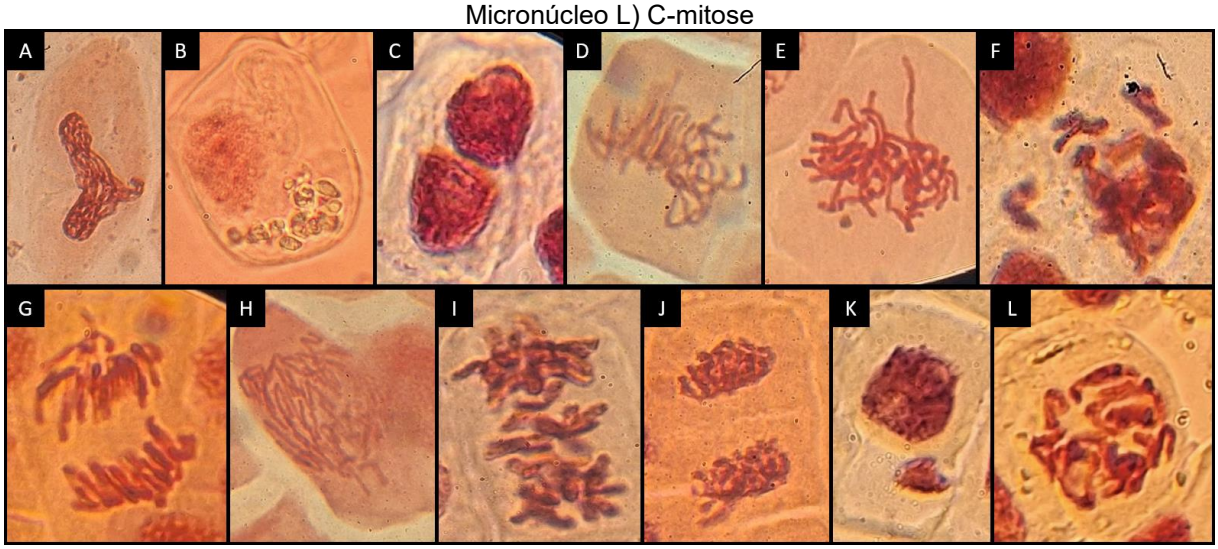
Diferentemente do observado para o índice mitótico, a ozonização não reduziu a genotoxicidade das amostras. Para o PRO, o IAC aumentou de 38,2% para 47,0%, enquanto para a LID o valor passou de 29,1% para 45,0%. A mistura apresentou leve redução, de 50,0% para 40,7%, porém permaneceu mais de quatro vezes acima do valor observado para o controle. Esses resultados indicam que, embora a ozonização tenha reduzido parcialmente os efeitos citotóxicos, os danos cromossômicos persistiram após o tratamento.

A permanência de elevados índices de aberrações cromossômicas sugere que espécies genotóxicas continuaram presentes nas soluções tratadas, possivelmente em decorrência da formação ou do acúmulo de PTs durante a ozonização. Esse comportamento contrasta com os resultados obtidos nos ensaios de fitotoxicidade com *Lactuca sativa*, nos quais foi observada redução consistente da toxicidade após o tratamento, bem como com as predições realizadas pelo modelo ECOSAR, que indicaram menor ecotoxicidade para os principais PTs identificados. Essa aparente divergência pode estar relacionada às limitações dos modelos preditivos e dos diferentes organismos-teste empregados. O ECOSAR utiliza principalmente parâmetros relacionados à hidrofobicidade, como o log Kow, para estimar toxicidade, o que pode reduzir a precisão das previsões quando o mecanismo tóxico está associado a modos de ação específicos (Lambert et al., 2022). Da mesma forma, os ensaios com *Lactuca sativa* avaliam predominantemente efeitos sobre germinação e

crescimento, não sendo capazes de detectar diretamente alterações cromossômicas ou danos ao material genético.

A Figura 17 representa anomalias cromossômicas observadas nos ensaios com *Allium cepa*.

Figura 17 – A) Metáfase com aderência cromossômica B) Célula apoptótica C) Célula binucleada D) Anáfase desorganizada E) Fragmento cromossômico em anáfase F) C-mitose G) Perda cromossômica H) C-metáfase I) Multipolaridade J) Telófase com cromossomos retardatários K) Micronúcleo L) C-mitose



Fonte: Elaborada pela autora.

Os resultados obtidos reforçam que citotoxicidade e genotoxicidade não necessariamente respondem da mesma forma aos processos oxidativos. Enquanto a recuperação parcial do índice mitótico indica redução dos efeitos que inibem a proliferação celular, a persistência dos elevados índices de aberrações cromossômicas demonstra que o tratamento não foi capaz de eliminar completamente os agentes responsáveis pelos danos genéticos. Estudos anteriores também reportaram comportamentos distintos para esses parâmetros. Mišík et al., (2011), por exemplo, não observaram alterações significativas no índice mitótico ou na frequência de micronúcleos após a ozonização de efluentes municipais submetidos a tratamento terciário, refletindo a baixa toxicidade inicial da matriz. Por outro lado, Kern et al., (2013) verificaram alterações expressivas na divisão celular dependendo da composição do efluente avaliado, observando recuperação dos parâmetros citogenéticos após processos de ozonização e fotocatálise.

A persistência dos elevados índices de aberrações cromossômicas indica que a degradação dos compostos parentais não foi acompanhada pela eliminação completa do potencial genotóxico das soluções tratadas. Esse resultado evidencia a

importância da inclusão de ensaios de genotoxicidade na avaliação de processos oxidativos avançados, uma vez que análises baseadas apenas na remoção química dos contaminantes ou em parâmetros convencionais de toxicidade podem não ser suficientes para avaliar adequadamente a segurança ambiental dos efluentes tratados.

4.1.4 Ozonização dos fármacos em matriz real

A Tabela 12 apresenta os parâmetros físico-químicos iniciais da água superficial do Arroio Dilúvio, nos dois pontos de coleta definidos no presente trabalho, a fim de compreender a influência da matriz no desempenho do tratamento.

Tabela 12 – Caracterização inicial da água do arroio Dilúvio

Parâmetros	Ponto A	Ponto B
pH	7,4	7,3
Oxigênio Dissolvido (mg L^{-1})	4,6	3,2
Carbono Orgânico Total (mg L^{-1} C)	5,3	6,4
Turbidez (NTU)	6,1	6,3
Sólidos Dissolvidos Totais (mg L^{-1})	163	199
Condutividade (µS/cm)	324	395
DQO (mg L^{-1} O)	<25	<25
DBO (mg L^{-1} O)	4,9	6,2

Fonte: Dados experimentais da autora.

Os valores de pH foram semelhantes nos dois pontos, 7,4 no ponto A e 7,3 no ponto B, permanecendo dentro da faixa recomendada pela Resolução CONAMA nº 357/2005 para águas de Classe 2 (entre 6,0 e 9,0) (BRASIL, 2005). Essa estabilidade indica que não há influência significativa de efluentes ácidos ou básicos, mantendo-se um equilíbrio adequado do meio aquático. O oxigênio dissolvido (OD), por outro lado, apresentou redução de 4,6 mg L^{-1} no ponto A para 3,2 mg L^{-1} no ponto B. Esse decréscimo aponta para um aumento da atividade microbiana e do consumo de oxigênio devido à presença de matéria orgânica biodegradável, o que pode comprometer a manutenção da vida aquática. Os valores identificados nos dois pontos estão abaixo do limite mínimo de 5 mg L^{-1} estabelecido pela Resolução CONAMA nº 357/2005.

Observa-se um aumento do COT entre os pontos analisados, passando de 5,3 mg L^{-1} no ponto A para 6,4 mg L^{-1} no ponto B. Esse incremento reforça a hipótese de maior aporte de matéria orgânica no trecho mais urbanizado do arroio,

possivelmente associado ao escoamento superficial urbano, ao lançamento de efluentes domésticos e à decomposição de resíduos orgânicos. Essa tendência pode estar relacionada à redução do oxigênio dissolvido de 4,6 para 3,2 mg L^{-1} observada no ponto B, uma vez que a decomposição da matéria orgânica por microrganismos eleva a demanda bioquímica de oxigênio, reduzindo sua disponibilidade na água. Além disso, o aumento do COT pode indicar a ocorrência de processos de eutrofização, já que o excesso de nutrientes favorece a proliferação de algas, cuja decomposição posterior também contribui para o consumo de oxigênio dissolvido (Rajwa et al., 2014).

A DQO apresentou valores inferiores a 25 mg L^{-1} em ambos os pontos, sugerindo uma baixa carga de substâncias oxidadas quimicamente. No entanto, o aumento observado na DBO, de 4,9 mg L^{-1} em B para 6,2 mg L^{-1} no ponto A, indica o predomínio de matéria orgânica biodegradável. O valor de DBO no ponto B ultrapassa o limite de 5 mg L^{-1} para águas Classe 2, reforçando o diagnóstico de que o Arroio sofre com a influência antrópica típica de ambientes urbanos.

A turbidez manteve-se praticamente constante entre os pontos, com valores de 6,1 NTU e 6,3 NTU, bem abaixo do limite de 100 NTU previsto pela legislação. Isso indica que, apesar da presença de poluição orgânica, a carga de sólidos suspensos é baixa, sugerindo pouca influência de processos erosivos ou arraste de partículas. Já os TDS apresentaram aumento de 163 mg L^{-1} no ponto A para 199 mg L^{-1} no ponto B, o que pode ser associado à maior presença de sais e íons dissolvidos típicos de áreas urbanas, como escoamento de ruas e infiltrações de efluentes. Apesar de ainda estarem abaixo do limite de potabilidade (1000 mg L^{-1}), esses valores indicam uma tendência de enriquecimento mineral na porção jusante,

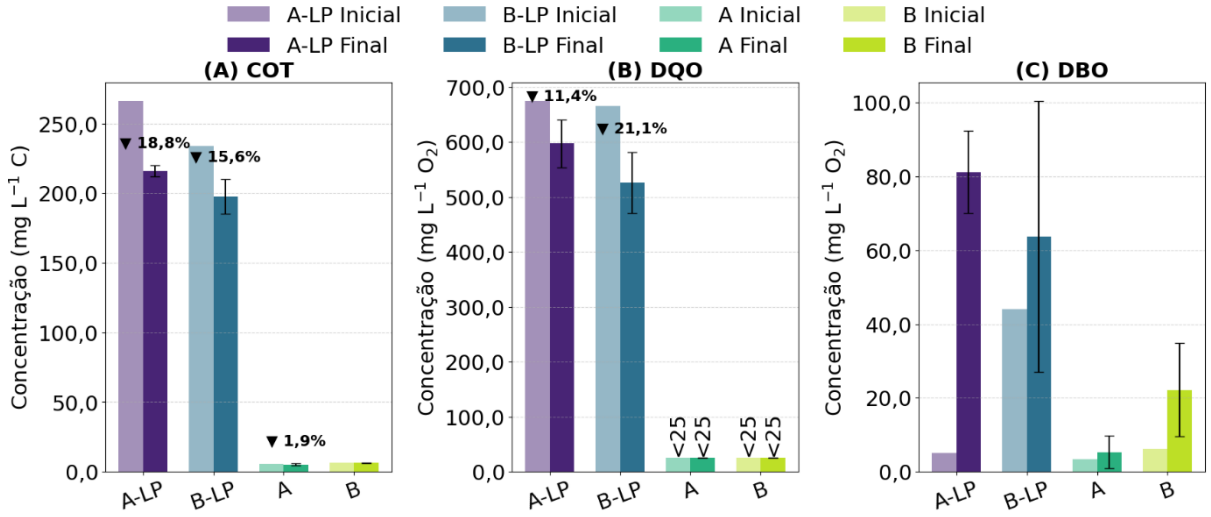
4.1.4.1 Avaliação da Degradação dos compostos

Para as amostras enriquecidas com fármacos nas águas superficiais do Arroio Dilúvio, também foram realizados ensaios por HPLC para monitoramento da degradação dos compostos, sendo constatada degradação total da LID e do PRO em todos os pontos avaliados.

4.1.4.2 Efeitos da ozonização nos parâmetros físico-químicos e composição da matéria orgânica

A Figura 18 apresenta a variação dos parâmetros de COT, DQO e DBO antes e após o tratamento por ozonização nas diferentes matrizes avaliadas. De modo geral, observa-se comportamento distinto entre as amostras enriquecidas com fármacos e as amostras de água superficial sem adição de contaminantes.

Figura 18 – Valores de COT, DQO e DBO antes e após o tratamento por ozonização dos fármacos em matriz real



Fonte: Dados experimentais da autora.

Para os sistemas contendo PRO e LID (A-LP e B-LP), houve redução do COT após o tratamento, indicando que parte do carbono orgânico foi oxidado durante o processo de ozonização. Em A-LP, o COT diminuiu de 266,1 para 216,0 ± 4,2 mg L^{-1}, enquanto em B-LP reduziu de 234 para 197,6 ± 12,4 mg L^{-1}. Em comparação com a solução sintética S-LP, observou-se maior mineralização nos pontos contendo MON. Enquanto a solução S-LP apresentou mineralização de 8,1%, os pontos A-LP e B-LP registraram valores entre 15,6% e 18,8%, indicando que a matriz teve um efeito positivo sobre a mineralização.

A maior mineralização observada nas amostras contendo água do Arroio Dilúvio sugere que a MON presente na matriz influenciou as reações de oxidação. Embora a MON possa competir com os contaminantes pelas espécies oxidantes, sua transformação também pode gerar radicais secundários e modificar as rotas de degradação dos fármacos, favorecendo a conversão de carbono orgânico em produtos de oxidação (Asghar et al., 2022).

No ponto contendo água superficial pura do Arroio Dilúvio, a mineralização dos compostos foi baixa. No ponto B, não foi possível observar diminuição do COT. Esse comportamento pode estar relacionado à menor concentração inicial de COT.

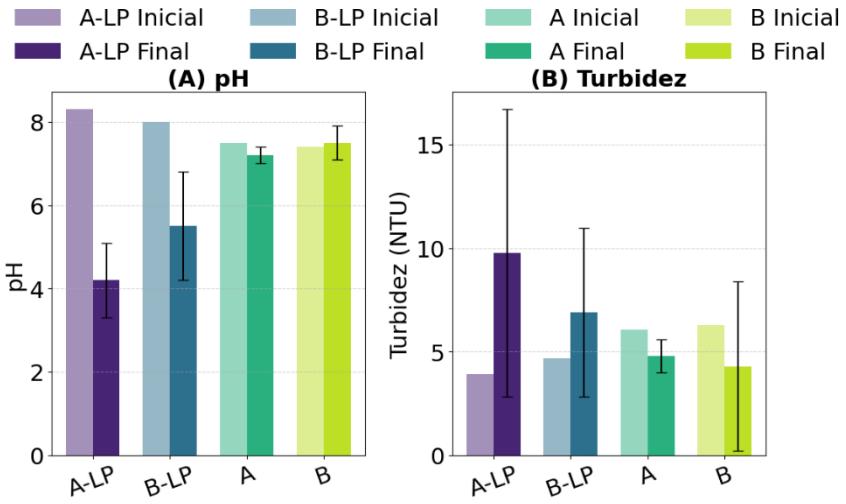
As diferenças observadas entre os pontos A e B sugerem influência da composição da matriz sobre o desempenho da ozonização. O ponto B, localizado em região mais urbanizada, apresentou maior remoção de DQO, o que pode refletir diferenças na composição da matéria orgânica dissolvida e na presença de contaminantes antropogênicos previamente existentes na água superficial (Yang et al., 2022).

A DQO também apresentou redução após o tratamento nas amostras com fármacos, passando de 674,4 para 597,6 ± 43,5 mg L^{-1} em A-LP e de 666,2 para 525,9 ± 55,6 mg L^{-1} em B-LP. Esse comportamento indica diminuição da fração de compostos oxidáveis presentes no meio. No entanto, a redução da DQO não foi proporcional à queda do COT, sugerindo mais uma vez que parte dos compostos orgânicos foi apenas transformada, sem completa mineralização. Nas amostras A e B sem adição de fármacos, a DQO permaneceu abaixo do limite de quantificação (<25 mg L^{-1}) em todas as condições (APHA, 2017).

A DBO apresentou aumento após o tratamento em ambas as matrizes com fármacos, especialmente em A-LP (de 5 para 81,2 ± 11,1 mg L^{-1}). Esse aumento indica maior DBO_5/DQO do efluente após a ozonização, uma vez que a formação de compostos mais simples e oxidados pode facilitar a ação microbiana. Em B-LP também se observa aumento da DBO (de 44 para 63,7 ± 36,7 mg L^{-1}), embora com maior variabilidade experimental. Já a DBO apresentou aumento em B após o tratamento (de 6,2 para 22,2 ± 12,7 mg L^{-1}), possivelmente associado à transformação de frações orgânicas recalcitrantes em compostos mais biodegradáveis.

A Figura 19 apresenta os valores de pH e turbidez antes e após o tratamento por ozonização nas diferentes matrizes avaliadas. De modo geral, observa-se que o processo promoveu alterações mais pronunciadas nas amostras enriquecidas com os fármacos PRO e LID do que nas amostras de água superficial sem adição dos contaminantes.

Figura 19 – Valores de pH e turbidez antes e após o tratamento por ozonização dos fármacos em matriz real



Fonte: Dados experimentais da autora.

Para os sistemas contendo fármacos (A-LP e B-LP), houve redução do pH após o tratamento, com valores passando de condições levemente alcalinas (8,3 e 8,0) para condições mais ácidas (4,2 ± 0,9 e 5,5 ± 1,3, respectivamente). Essa acidificação é típica de processos de ozonização, uma vez que a degradação de compostos orgânicos pode gerar subprodutos oxigenados, como ácidos carboxílicos, que contribuem para a diminuição do pH do meio. Esse efeito foi mais intenso na amostra A-LP, sugerindo maior formação de intermediários ácidos ou maior grau de oxidação dos compostos presentes.

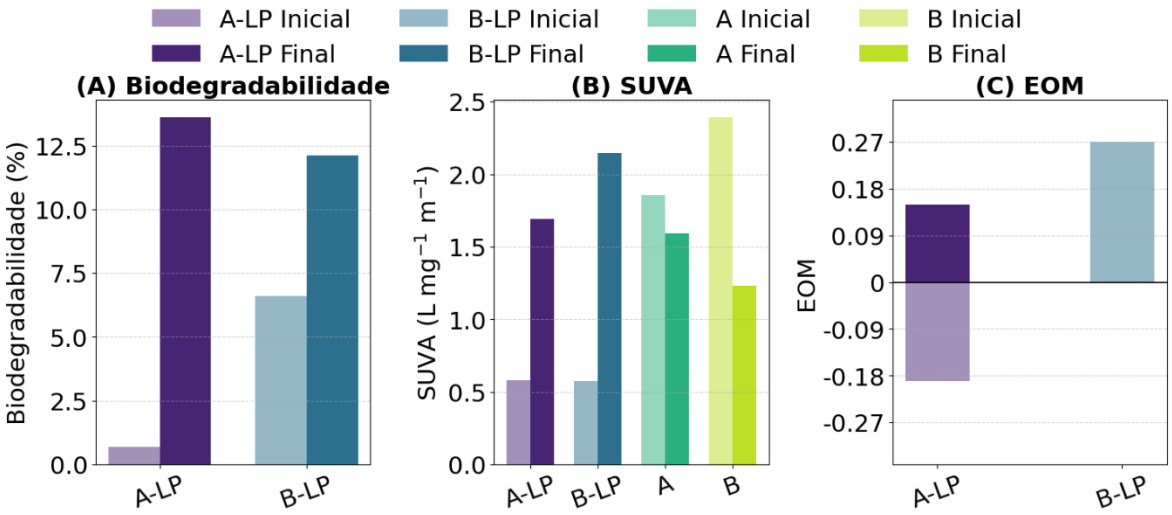
Em relação à turbidez, também se observou aumento nas amostras contendo fármacos após o tratamento, especialmente em A-LP, que passou de 3,91 para 9,76 ± 6,93 NTU. Esse aumento pode estar associado à formação de subprodutos particulados ou à agregação de intermediários orgânicos gerados durante a oxidação, que podem aumentar a dispersão da luz na amostra. Apesar da variabilidade observada, esse comportamento indica que a ozonização pode inicialmente aumentar a turbidez em função da transformação da matéria orgânica dissolvida em espécies intermediárias menos solúveis ou mais coloidais.

Por outro lado, nas amostras de água superficial sem adição de fármacos (A e B), observou-se comportamento distinto. O pH permaneceu relativamente estável após o tratamento, variando levemente em torno da neutralidade (7,5 para 7,2 e 7,4 para 7,5), indicando menor impacto da ozonização sobre o equilíbrio ácido-base dessas matrizes. Já a turbidez apresentou redução após o tratamento, passando de 6,07 para 4,81 NTU em A e de 6,29 para 4,30 NTU em B, sugerindo que, na ausência

de fármacos adicionados, o processo foi mais eficiente na remoção ou transformação de partículas suspensas e matéria orgânica particulada.

A Figura 20 apresenta a evolução dos parâmetros de DBO_5/DQO, SUVA e EOM antes e após o tratamento por ozonização nas diferentes matrizes avaliadas. De modo geral, observa-se que o processo promoveu alterações na qualidade da matéria orgânica, especialmente nas amostras enriquecidas com PRO e LID.

Figura 20 – Valores de DBO_5/DQO, SUVA, e EOM antes e após o tratamento por ozonização dos fármacos em matriz real



Fonte: Dados experimentais da autora.

Para os sistemas contendo fármacos, verificou-se aumento da DBO_5/DQO após o tratamento, passando de 0,7% para 13,6% em A-LP e de 6,6% para 12,1% em B-LP. Esse comportamento indica que a ozonização promoveu a conversão de parte da matéria orgânica recalcitrante em compostos mais facilmente assimiláveis por microrganismos, em concordância com o aumento observado nos valores de DBO e com o comportamento normalmente reportado para processos oxidativos avançados (Phan et al., 2022). Embora os valores finais permaneçam relativamente baixos, o incremento observado evidencia melhoria do potencial de tratamento biológico das amostras.

Apesar de apresentarem valores finais de DBO_5/DQO semelhantes aos da solução sintética S-LP, as matrizes reais exibiram valores iniciais inferiores, especialmente em A-LP. Esse resultado sugere influência da MON presente na água superficial, que pode conter frações mais resistentes à degradação e atuar como competidora pelos radicais oxidantes e pelo ozônio molecular durante o tratamento (Asghar et al., 2022).

Em relação ao SUVA, observou-se aumento expressivo após a ozonização, com valores passando de aproximadamente 0,6 para 1,7 em A-LP e 2,1 em B-LP. Embora esses valores permaneçam inferiores aos normalmente associados a matéria orgânica altamente aromática, o aumento observado indica a formação de PTs com maior capacidade de absorção em UV_{254}. Esse comportamento é compatível com a geração de intermediários contendo estruturas aromáticas oxigenadas, grupos fenólicos ou sistemas conjugados resultantes da oxidação parcial dos fármacos, fenômeno frequentemente descrito em estudos de ozonização de contaminantes emergentes (Phan et al., 2022).

O parâmetro EOM apresentou comportamentos distintos entre as matrizes. Em A-LP, os valores aumentaram de -0,19 para 0,15 após o tratamento, enquanto em B-LP houve redução de 0,27 para 0,00. Essas diferenças sugerem que a composição inicial da matéria orgânica influenciou a rota de transformação promovida pela ozonização. O aumento observado em A-LP pode estar relacionado à formação de compostos intermediários mais detectáveis por esse parâmetro, enquanto a redução observada em B-LP sugere maior degradação ou mineralização dessas frações. Apesar dessas tendências opostas, os valores finais convergiram para uma faixa próxima de zero, indicando que o processo reduziu parte das diferenças químicas iniciais entre as matrizes e produziu conjuntos de intermediários com características mais semelhantes.

Para as amostras de água superficial sem adição de fármacos (A e B), não foi possível calcular a DBO_5/DQO nem o EOM devido aos valores de DQO estarem abaixo do limite de quantificação do método (< 25 mg L^{-1}). Ainda assim, observou-se redução do SUVA após a ozonização, de 1,9 para 1,6 em A e de 2,4 para 1,2 em B. Esse comportamento indica diminuição da fração cromofórica da MON e sugere degradação de compostos aromáticos presentes na matriz aquática (Teksoy, 2026). A redução mais pronunciada observada em B sugere maior presença inicial de estruturas aromáticas suscetíveis à oxidação, evidenciando que a composição da matéria orgânica varia ao longo do curso do arroio e influencia diretamente a eficiência do tratamento.

Em conjunto, os resultados de DBO_5/DQO, SUVA e EOM demonstram que a ozonização promoveu alterações significativas na composição da matéria orgânica das amostras contendo fármacos. Embora a remoção completa dos compostos parentais tenha sido confirmada por HPLC e tenha ocorrido aumento da DBO_5/DQO,

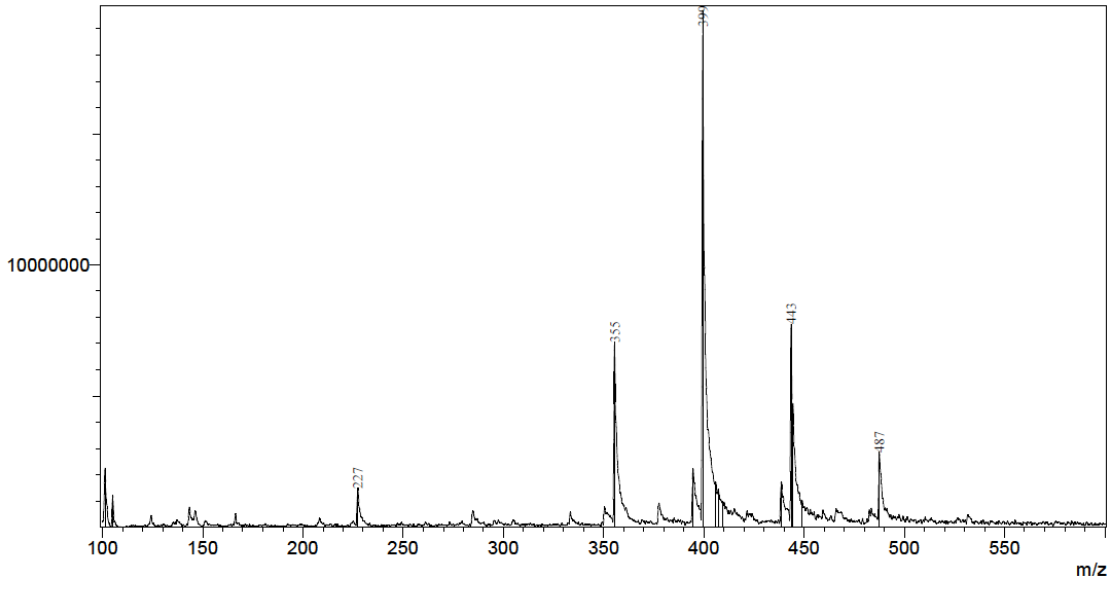
os valores de SUVA indicam a formação de PTs ainda detectáveis por absorção em UV_{254}. Esses resultados reforçam que a degradação química dos contaminantes foi acompanhada por modificações estruturais complexas da matéria orgânica, destacando a importância da avaliação integrada de parâmetros de remoção, biodegradabilidade e caracterização da matéria orgânica para compreender os efeitos da ozonização em matrizes ambientais reais.

4.1.5 Avaliação de Subprodutos

Nas amostras de matriz real não foram detectados PTs dos fármacos após a ozonização. Esse resultado não necessariamente indica a ausência de compostos intermediários, mas pode estar relacionado às limitações de detecção impostas pela complexidade da matriz ambiental. A presença de MON e de outros contaminantes presentes na água superficial pode interferir na identificação dos PTs, seja pela ocorrência de sinais cromatográficos sobrepostos, seja pela redução da sensibilidade analítica decorrente de efeitos de matriz (Asghar et al., 2022).

A Figura 21 mostra um espectro de massas que contém apenas fragmentos com razões massa-carga muito maiores do que as observadas nos fármacos avaliados, o que implica que não são subprodutos a ser avaliados. A massa de 227, que aparece no espectro, não foi encontrada na literatura como um subproduto possível para os fármacos avaliados.

Figura 21 – Espectro de massas para a amostra de 10 minutos A-LP, usada para ilustrar a ausência de PTs detectáveis para esa amostra



Fonte: Dados experimentais da autora.

Considerando que foram observadas alterações nos parâmetros de DBO_5/DQO, SUVA e ecotoxicidade após o tratamento, é provável que tenham ocorrido transformações químicas na matéria orgânica e nos fármacos adicionados, ainda que os intermediários formados não tenham sido diretamente identificados pelas análises realizadas.

4.1.6 Efeitos da ozonização na ecotoxicidade dos fármacos em matriz real

A fitotoxicidade das águas superficiais do Arroio Dilúvio foi investigada utilizando *Lactuca sativa* e *Allium cepa* como organismos-teste. Foram avaliadas amostras coletadas in natura e amostras enriquecidas com fármacos, antes e após a ozonização. Todas as amostras dos quatro pontos de coleta foram tratadas sob as mesmas condições operacionais.

4.1.6.1 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Lactuca Sativa*

A Tabela 13 apresenta os valores de EC_{50} obtidos para os diferentes *endpoints* de fitotoxicidade avaliados em *Lactuca sativa* nas amostras de água superficial do Arroio Dilúvio, antes e após a ozonização.

Tabela 13 – Valores de EC_{50} (%) para os diferentes *endpoints* de toxicidade em *Lactuca sativa*

		EC_{50} germinação (%)	**EC_{50} radícula (%)**	**EC_{50} hipocótilo (%)**
A	**Inicial**	>100,0	>100,0	>100,0
	Final	>100,0	>100,0	>100,0
B	**Inicial**	>100,0	>100,0	>100,0
	Final	>100,0	>100,0	>100,0
A-LP	**Inicial**	>100,0	17,6	29,24
	Final	>100,0	>100,0	>100,0
B-LP	**Inicial**	>100,0	7,2	7,6
	Final	>100,0	>100,0	>100,0

Fonte: Dados experimentais da autora.

A avaliação da fitotoxicidade em *Lactuca sativa* demonstrou que as amostras de água superficial do Arroio Dilúvio sem adição de fármacos (A e B) não apresentaram valores de EC_{50} para nenhum dos *endpoints* avaliados. Esse resultado indica ausência de toxicidade suficiente para causar inibição de 50% da germinação

ou do crescimento das plântulas dentro da faixa de concentrações testada. Em ambientes aquáticos naturais, concentrações relativamente baixas de compostos tóxicos, associadas à presença de nutrientes dissolvidos, podem não apenas evitar efeitos inibitórios, mas também favorecer o desenvolvimento vegetal.

Em contraste, as amostras enriquecidas com PRO e LID apresentaram toxicidade mensurável antes da ozonização, principalmente para os parâmetros de crescimento da radícula e do hipocótilo. A amostra A-LP apresentou valores de EC_{50} de 17,6% para a radícula e 29,2% para o hipocótilo, enquanto a amostra B-LP apresentou valores ainda menores, de 7,2% e 7,6%, respectivamente. Esses resultados confirmam a maior sensibilidade dos parâmetros de crescimento em relação à germinação, comportamento já observado para as soluções sintéticas e amplamente relatado na literatura para ensaios com *Lactuca sativa*.

A comparação com a solução sintética contendo a mistura dos fármacos (S-LP) evidencia a influência da matriz ambiental sobre a resposta ecotoxicológica. Antes da ozonização, a solução sintética apresentou EC_{50} de 16,7% para a radícula e 19,3% para o hipocótilo, valores próximos aos observados para A-LP. Por outro lado, a amostra B-LP apresentou toxicidade mais elevada, sugerindo que características específicas dessa matriz potencializaram os efeitos dos fármacos adicionados. A composição da MON, a presença de outros contaminantes e as interações entre os diferentes constituintes da água podem alterar a biodisponibilidade dos compostos. Esse resultado demonstra que a toxicidade de CEs em ambientes naturais depende não apenas da concentração dos compostos, mas também das características físico-químicas da matriz receptora (Mirnasab et al., 2021).

Após a ozonização, observou-se redução expressiva da fitotoxicidade tanto nas soluções sintéticas quanto nas matrizes reais. Na solução S-LP, o EC_{50} da radícula aumentou de 16,7% para 90,3%, enquanto o EC_{50} do hipocótilo ultrapassou 100%, indicando forte redução dos efeitos tóxicos após o tratamento. Comportamento semelhante foi observado em A-LP, cujos valores aumentaram para 50,6% na radícula e 83,5% no hipocótilo. A resposta mais expressiva ocorreu em B-LP, para a qual os valores de EC_{50} passaram a ser superiores a 100% para todos os *endpoints* avaliados, demonstrando ausência de toxicidade mensurável dentro da faixa experimental estudada. Esse resultado evidencia que, embora a matriz do ponto B tenha intensificado a toxicidade inicial, ela não comprometeu a eficiência da ozonização na redução dos efeitos fitotóxicos.

A maior sensibilidade observada para o crescimento radicular reforça a relevância desse *endpoint* na avaliação ecotoxicológica de contaminantes farmacêuticos. Como a radícula permanece em contato direto com o meio contaminado e depende de intensa atividade metabólica e divisão celular para seu desenvolvimento, alterações em seu crescimento tendem a refletir rapidamente a presença de compostos tóxicos (Priac et al., 2017). Dessa forma, os resultados obtidos confirmam a utilidade do crescimento da radícula como indicador sensível tanto da toxicidade dos contaminantes quanto da eficiência de POAs na mitigação de seus impactos biológicos. Em conjunto, os dados demonstram que a presença de matriz ambiental influencia a toxicidade inicial dos fármacos, mas não reduz a capacidade da ozonização de promover a detoxificação do sistema.

A Tabela 14 apresenta os resultados do teste de Dunnett aplicado aos diferentes *endpoints* avaliados em *Lactuca sativa*, permitindo a determinação das concentrações de efeito observado mais baixo (LOEC) para as amostras antes e após a ozonização.

Tabela 14 – Valores de desenvolvimento comparativo com o controle, e resultados do teste de Dunnett de comparação de médias para avaliação de LOEC para a *Lactuca sativa*

Concentração das Amostras (v/v)		Germinação Relativa (%)		Crescimento Relativo da Radícula (%)		Crescimento Relativo do Hipocótilo (%)	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
A	**1%**	100,0	106,4 ± 1,4	146,6	109,3 ± 12,7	91,3	89,4 ± 1,9
	3%	105,3	96,3 ± 0,0	121,5	85,7 ± 12,6	121,3	96,6 ± 7,1
	10%	100,0	97,3 ± 3,9	141,7	86,4 ± 1,8	124,1	97,3 ± 1,7
	30%	100,0	98,2 ± 0,0	163,1*	99,9 ± 8,1	76,9	106,6 ± 1,6
	100%	89,5*	100,0 ± 5,2	142,4	96,8 ± 5,4	139,4*	101,4 ± 7,3
B	**1%**	103,5	88,7 ± 10,8	130,8	64,9 ± 21,6*	73,7	118,2 ± 14,2
	3%	101,8	98,3 ± 4,9	165,6*	75,6 ± 24,2	122,5	101,8 ± 3,3
	10%	87,7*	99,2 ± 6,2	153,1*	69,2 ± 20,9	78,5	104,7 ± 15,3
	30%	100,0	95,7 ± 8,6	173,1*	75,8 ± 11,4	146,6*	113,0 ± 0,0
	100%	96,5	91,2 ± 2,2	161,2*	86,6 ± 13,4	116,2	95,0 ± 1,7
A-LP	**1%**	96,3	101,8 ± 3,1	98,6	76,5 ± 9,7	105,3	72,4 ± 19,2
	3%	92,6	95,1 ± 4,6	104,2	94,2 ± 7,1	105,7	77,2 ± 15,9
	10%	105,6	100,6 ± 4,3	69,9*	73,6 ± 24,9	67,2*	71,6 ± 28,4
	30%	103,7	98,2 ± 1,8	35,5*	80,4 ± 18,1	64,4*	75,7 ± 22,7
	100%	90,7	98,7 ± 8,7	6,6*	44,1 ± 14,8*	8,3*	54,3 ± 21,7
B-LP	**1%**	105,6	100,2 ± 7,7	71,6*	81,4 ± 22,7	63,2*	90,9 ± 10,3
	3%	105,6	101,3 ± 4,5	61,3*	85,3 ± 16,0	59,6*	89,3 ± 18,2
	10%	96,3	97,9 ± 10,8	51,1*	88,2 ± 6,3	53,3*	102,2 ± 5,3
	30%	103,7	96,0 ± 6,1	30,8*	73,3 ± 3,1	45,1*	81,8 ± 16,5
	100%	59,3*	97,1 ± 5,8	3,7*	62,3 ± 21,1	4,4*	89,8 ± 20,5

* Teste de Dunnett significativo (<0,05)

Fonte: Dados experimentais da autora.

De maneira geral, os resultados corroboram as tendências observadas na análise de EC_{50}, evidenciando redução da toxicidade após o tratamento e confirmando a maior sensibilidade dos parâmetros de crescimento em relação à germinação. Nas amostras de água superficial sem adição de fármacos (A e B), a germinação apresentou poucos efeitos significativos. O ponto A apresentou LOEC de 100% na amostra inicial, com germinação relativa de 89,5%, enquanto o ponto B apresentou LOEC de 10%, com germinação de 87,7%, indicando maior sensibilidade da matriz proveniente da região mais urbanizada do arroio. Após a ozonização, não foram observadas diferenças significativas para esse *endpoint*, sugerindo que o tratamento eliminou os efeitos observados sobre o processo germinativo.

Para os parâmetros de crescimento, entretanto, as amostras A e B apresentaram comportamento distinto daquele observado nas matrizes enriquecidas com fármacos. Antes da ozonização, foram registrados efeitos estimulantes significativos sobre o crescimento da radícula e do hipocótilo. No ponto A, a radícula apresentou crescimento relativo de até 163,1% do controle, com LOEC de 30%, enquanto o hipocótilo atingiu 139,4% na concentração de 100%. No ponto B, o estímulo foi ainda mais pronunciado, com LOEC de apenas 3% para a radícula e crescimento máximo de 173,1% do controle. Esses resultados sugerem a ocorrência de hormese ou o efeito benéfico de nutrientes e matéria orgânica biodisponível presentes na água superficial. Após a ozonização, esses efeitos estimulantes desapareceram, indicando que o tratamento modificou a composição química da matriz e reduziu os compostos responsáveis pelo estímulo do crescimento vegetal.

Nas amostras enriquecidas com PRO e LID, a germinação mostrou baixa sensibilidade, com efeito significativo apenas para B-LP na concentração de 100%, que apresentou germinação relativa de 59,3%. Esse comportamento é consistente com os resultados de EC_{50}, que indicaram baixa suscetibilidade do processo germinativo à presença dos contaminantes.

O crescimento radicular foi novamente o *endpoint* mais sensível. Em A-LP, o LOEC inicial foi de 10%, com crescimento relativo reduzido para 69,9% do controle, diminuindo para 35,5% e 6,6% nas concentrações de 30% e 100%, respectivamente. Após a ozonização, o LOEC deslocou-se para 100%, evidenciando redução da toxicidade. Em B-LP, a toxicidade inicial foi ainda mais pronunciada, com LOEC de apenas 1% e crescimento relativo de 71,6%, mantendo reduções em todas as

concentrações avaliadas. Após o tratamento, nenhuma concentração apresentou diferença significativa em relação ao controle, indicando eliminação dos efeitos tóxicos detectáveis para esse parâmetro.

O crescimento do hipocótilo apresentou tendência semelhante. Em A-LP, o LOEC inicial foi de 10%, com crescimento relativo de 67,2%, enquanto em B-LP o LOEC foi de 1%, com crescimento de 63,2%. Após a ozonização, não foram observadas diferenças significativas em nenhuma das concentrações avaliadas para ambas as matrizes, demonstrando recuperação do desenvolvimento das plântulas.

A Figura 22 contém imagens de plântulas de *Lactuca sativa* capturadas após o término e medição para um dos ensaios.

Figura 22 – Plântulas de *Lactuca sativa* expostas a: (A) água destilada; (B) A-LP antes da ozonização; e (C) A-LP após a ozonização



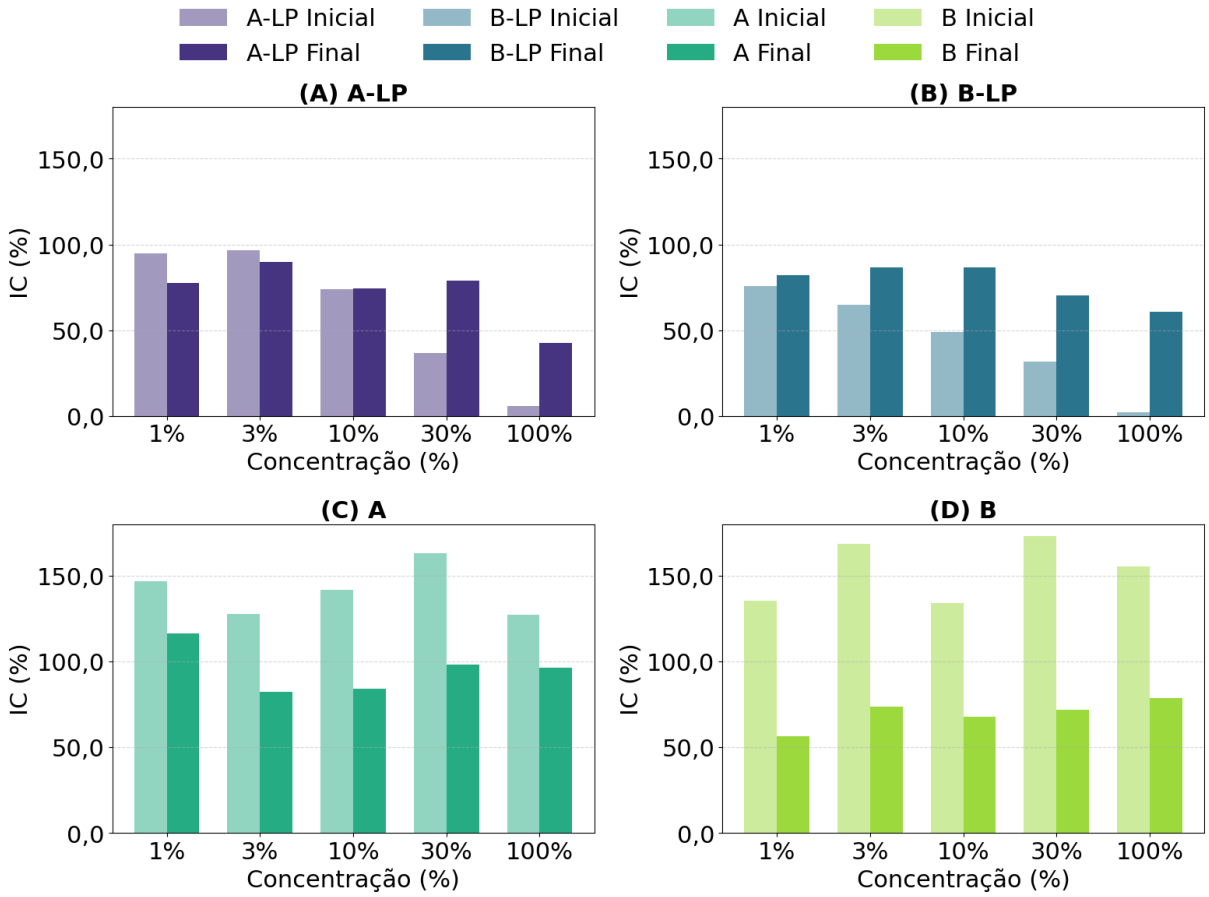
Fonte: Elaborada pela autora.

A comparação entre os pontos A-LP e B-LP evidencia novamente a influência da matriz ambiental sobre a resposta ecotoxicológica. Embora ambos os sistemas tenham recebido a mesma concentração de fármacos, a matriz B apresentou maior toxicidade inicial, sugerindo que características locais da MON e a presença de outros contaminantes potencializaram os efeitos dos compostos adicionados. Ainda assim, a ozonização foi capaz de reduzir significativamente a toxicidade em ambas as matrizes,

deslocando os valores de LOEC para concentrações mais elevadas ou eliminando completamente diferenças estatísticas em relação ao controle. Esses resultados reforçam as conclusões obtidas a partir dos ensaios de EC_{50} e demonstram a eficácia do processo oxidativo na mitigação dos efeitos fitotóxicos dos fármacos em condições ambientais reais.

A Figura 23 representa o IC para as amostras em matriz real, antes e depois do processo de ozonização.

Figura 23 – Índice de crescimento para *Lactuca sativa*



Fonte: Dados experimentais da autora.

Os resultados do índice de crescimento (IC) obtidos para as amostras de água dos arroios indicaram comportamentos distintos entre as matrizes naturais e as amostras enriquecidas com os fármacos. As amostras A e B (Figura 23-C e 23-D), sem adição de PRO e LID, apresentaram valores de IC superiores a 100% em praticamente todas as concentrações avaliadas antes da ozonização, indicando ausência de fitotoxicidade e possível estímulo ao desenvolvimento das plântulas. Esse comportamento pode estar relacionado à presença de nutrientes e MON presentes

nos corpos hídricos, capazes de favorecer a germinação e o crescimento inicial de *Lactuca sativa*.

Após a ozonização, observou-se redução dos valores de IC nas amostras A e B. O efeito foi mais pronunciado na amostra B, coletada em trecho urbano próximo ao centro da cidade, cujos valores passaram de uma faixa entre 134,3% e 173,1% para valores entre 56,4% e 78,8%. Embora essa redução não indique necessariamente toxicidade elevada, sugere que a ozonização promoveu alterações na composição da MON da água, possivelmente gerando compostos intermediários menos favoráveis ao desenvolvimento das plântulas do que aqueles originalmente presentes na matriz.

A adição de PRO e LID resultou em redução expressiva dos valores de IC em ambas as matrizes, confirmando a contribuição dos fármacos para a fitotoxicidade observada. Na amostra A-LP (Figura 23-A), os valores diminuíram progressivamente com o aumento da concentração, atingindo 6,0% na amostra sem diluição. Comportamento semelhante foi observado para B-LP (Figura 23-B), que apresentou os menores índices de germinação entre todas as condições avaliadas, alcançando apenas 2,2% na concentração máxima. Esses resultados indicam que a presença simultânea dos fármacos comprometeu significativamente o desenvolvimento inicial das plântulas, independentemente da presença de MON na matriz.

A ozonização promoveu recuperação do índice de germinação nas amostras contaminadas. Para A-LP, os maiores aumentos foram observados nas concentrações mais elevadas, com o IC passando de 36,8% para 78,9% em 30% e de 6,0% para 42,7% na amostra sem diluição. A recuperação foi ainda mais expressiva para B-LP, cujos valores aumentaram de 49,2% para 86,6% na concentração de 10%, de 31,9% para 70,3% em 30% e de 2,2% para 60,6% na amostra sem diluição. Esses resultados demonstram que a ozonização reduziu significativamente os efeitos fitotóxicos associados à presença dos fármacos, promovendo condições mais favoráveis ao desenvolvimento vegetal.

A recuperação observada nas amostras enriquecidas está de acordo com os resultados de degradação dos compostos obtidos por HPLC e com a redução da toxicidade observada nos ensaios realizados em matriz sintética. Em conjunto, os resultados sugerem que a ozonização promoveu a transformação dos compostos farmacêuticos em produtos com menor potencial tóxico, mesmo em matrizes ambientais mais complexas, nas quais a presença de MON e outros constituintes pode influenciar as reações de oxidação.

A comparação entre as matrizes A-LP e B-LP indica ainda que a composição da água pode influenciar a resposta ecotoxicológica e a eficiência aparente do tratamento. Embora a amostra B-LP tenha apresentado maior toxicidade inicial, também foi a que demonstrou a recuperação mais expressiva após a ozonização. Esse comportamento sugere que características específicas da matriz, como a composição da matéria orgânica dissolvida e a presença de outros compostos reativos, podem afetar tanto a disponibilidade dos contaminantes quanto a formação e o destino dos PTs formação gerados durante o processo oxidativo (Rede et al., 2019).

4.1.6.2 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Allium Cepa*

A Tabela 15 apresenta os resultados da avaliação fitotoxicológica com *Allium cepa* das amostras A e B com adição dos fármacos, seguida das amostras sem enriquecimento.

Tabela 15 – Avaliação de IM (%) e IAC (%) dos tratamentos em matriz real

		Células em Mitose	IM (%)	χ^2	IM Relativo (%)	Células com ACs	IAC (%)	χ^2	IAC Relativo (%)
Controle		385	13,7	-	-	37	9,6	-	-
A-LP	**Inicial**	114	11,4	3,5672	85,4	101	88,6	122,5297*	922,9
	Final	102 ± 34	10,2 ± 3,4	17,0456*	74,5	38 ± 6	36,8 ± 13,1	47,2941*	383,3
B-LP	**Inicial**	40	4,0	70,7091*	29,2	32	80,8	65,1482*	841,7
	Final	119 ± 18	11,9 ± 1,8	4,6098*	86,9	59 ± 8	49,4 ± 0,8	80,2271*	514,6
A	**Inicial**	146	14,6	0,4221	100,7	45	30,8	24,8300*	320,8
	Final	199 ± 67	19,9 ± 6,7	39,3389*	145,2	35 ± 9	17,4 ± 2,7	8,7847*	181,3
B	**Inicial**	195	19,5	18,6844*	142,3	28	14,4	2,3106	150,0
	Final	167 ± 56	16,7 ± 5,6	9,7383*	121,9	41 ± 17	24,6 ± 6,3	23,2707*	256,3

* Valor estatisticamente significativo ($p < 0,05$) no teste de χ^2.

Os resultados obtidos no ensaio com *Allium cepa* evidenciaram diferenças importantes entre os efeitos citotóxicos e genotóxicos das matrizes avaliadas, demonstrando que a resposta biológica ao processo de ozonização depende não apenas da presença dos fármacos, mas também das características da matriz ambiental. Em relação ao índice mitótico (IM), as amostras enriquecidas com PRO e LID apresentaram redução da atividade mitótica em comparação ao controle. Antes da ozonização, o efeito foi mais pronunciado em B-LP, cujo IM foi de apenas 4,0%, correspondente a 29,2% do valor observado no controle, evidenciando forte inibição

da divisão celular. A amostra A-LP apresentou efeito menos intenso, com IM de 11,4% (85,4% do controle). Após a ozonização, observou-se recuperação parcial da atividade mitótica em ambas as matrizes, especialmente em B-LP, cujo IM aumentou para 11,9 ± 1,8% (86,9% do controle). Esse comportamento sugere que a degradação dos fármacos reduziu parte dos efeitos citotóxicos associados à inibição da proliferação celular.

Nas amostras sem adição de fármacos, observou-se comportamento distinto. O ponto A apresentou índice mitótico semelhante ao controle antes da ozonização (14,6%), enquanto o ponto B apresentou IM significativamente superior (19,5%), indicando possível estímulo à divisão celular decorrente da própria composição da matriz. Após a ozonização, ambas as amostras mantiveram valores elevados de IM, especialmente A, que atingiu 19,9 ± 6,7% (145,2% do controle). Esse resultado sugere que a oxidação da MON pode ter gerado compostos capazes de estimular a atividade mitótica ou aumentado a disponibilidade de substâncias biologicamente ativas para as células meristemáticas.

O comportamento observado para o índice de aberrações cromossômicas (IAC) foi ainda mais relevante. As amostras enriquecidas com fármacos apresentaram elevados níveis de genotoxicidade antes da ozonização, com IAC de 88,6% para A-LP e 80,8% para B-LP, valores aproximadamente nove vezes superiores ao controle. Esses resultados indicam que a combinação dos fármacos com os constituintes presentes na matriz ambiental potencializou a ocorrência de danos cromosômicos. Comparativamente, os valores observados foram superiores aos obtidos para as soluções sintéticas, sugerindo que interações entre os contaminantes adicionados e os componentes naturais da água podem aumentar a resposta genotóxica do sistema.

Diferentemente do observado para as soluções sintéticas, a ozonização promoveu redução expressiva da genotoxicidade nas matrizes enriquecidas. O IAC diminuiu de 88,6% para 36,8 ± 13,1% em A-LP e de 80,8% para 49,4 ± 0,8% em B-LP. Embora os valores permaneçam significativamente superiores ao controle, a redução observada indica que parte dos compostos responsáveis pelos danos cromossômicos foi degradada durante o tratamento. Esse resultado sugere que, em matrizes ambientais complexas, a presença de MON pode influenciar as rotas de transformação dos fármacos e favorecer a formação de produtos menos genotóxicos do que aqueles observados nas soluções sintéticas.

As amostras sem adição de fármacos também apresentaram resultados relevantes. O ponto A exibiu IAC de 30,8% antes da ozonização, indicando que a própria água superficial continha substâncias capazes de induzir alterações cromossômicas. Após o tratamento, esse valor foi reduzido para 17,4%, sugerindo atenuação parcial da genotoxicidade. Já o ponto B foi a única condição que não apresentou diferença estatística em relação ao controle antes da ozonização, mas passou a apresentar IAC significativamente superior após o tratamento (24,6%). Esse comportamento demonstra que a ozonização da MON pode gerar compostos intermediários com potencial genotóxico, mesmo na ausência de fármacos adicionados.

A análise conjunta dos índices mitótico e de aberrações cromossômicas evidencia que citotoxicidade e genotoxicidade responderam de forma distinta ao tratamento oxidativo. Enquanto a ozonização promoveu recuperação parcial da divisão celular nas matrizes enriquecidas e aumento da atividade mitótica em algumas amostras naturais, os danos cromossômicos permaneceram elevados em diversas condições. Esses resultados reforçam que a avaliação da eficiência de processos oxidativos não deve se restringir à remoção dos contaminantes ou à redução da toxicidade aguda, sendo fundamental incluir *endpoints* genotóxicos para uma avaliação mais abrangente da segurança ambiental dos efluentes tratados.

4.2 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento experimental do tipo CCD foi utilizado para avaliar diferentes variáveis de resposta, com o objetivo de construir superfícies de resposta e identificar as condições operacionais mais adequadas para a avaliação da fitotoxicidade. As variáveis de resposta selecionadas incluíram o grau de mineralização, DQO, DBO_5/DQO e SUVA.

4.2.1 Matriz sintética

Após os ensaios, os resultados obtidos para as variáveis-resposta obtidas no planejamento experimental do tipo CCD em solução sintética estão apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16 – Respostas do planejamento experimental CCD em solução sintética

Código do Experimento	Taxa de O_3 ($g\ h^{-1}$)	Dose de O_3 ($g\ L^{-1}$)	Tempo (min)	pH	Mineralização (%)	Redução de DQO (%)	$\Delta DBO_5/DQO$ (%)	ΔSUVA (%)
1	0,9	0,30	5	4	6,9	35,4	$3,2 \cdot 10^4$	270,5
2	0,9	0,30	5	10	9,4	47,3	$5,9 \cdot 10^4$	197,7
3	0,9	0,90	15	4	13,6	44,1	$5,0 \cdot 10^4$	122,7
4	0,9	0,90	15	10	17,5	44,6	$3,9 \cdot 10^4$	68,2
5	1,8	0,60	5	4	10,2	38,7	$3,2 \cdot 10^4$	254,6
6	1,8	0,60	5	10	11,4	32,3	$3,6 \cdot 10^4$	109,1
7	1,8	1,80	15	4	14,2	34,4	$2,9 \cdot 10^4$	61,4
8	1,8	1,80	15	10	21,9	45,1	$4,4 \cdot 10^4$	68,2
9	0,6	0,40	10	7	5,6	29,0	$1,3 \cdot 10^4$	97,7
10	2,1	1,40	10	7	11,4	45,1	$4,0 \cdot 10^4$	75,0
11	1,3	0,14	1,6	7	4,0	15,7	$1,6 \cdot 10^4$	472,7
12	1,3	1,59	18,4	7	17,2	53,7	$3,4 \cdot 10^4$	61,4
13	1,3	0,87	10	1,9	9,8	16,2	$4,6 \cdot 10^4$	313,6
14	1,3	0,87	10	12,0	20,9	19,9	$3,4 \cdot 10^4$	93,2
15 (C)	1,3	0,87	10	7	10,8 ± 2,9	37,5 ± 15,7	$2,9 \cdot 10^4 \pm 1,1 \cdot 10^4$	84,7 ± 25,0

(C) = Ponto central

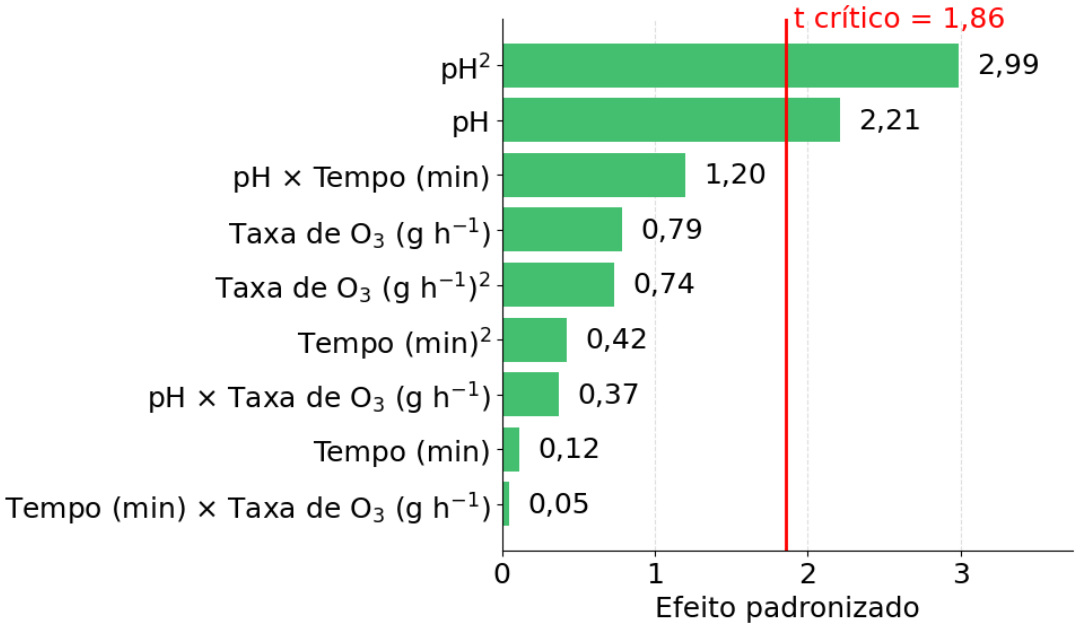
Fonte: Dados experimentais da autora.

Foram avaliadas as superfícies de resposta dos quatro parâmetros listados na Tabela 14. Os dados foram ajustados a um modelo quadrático por regressão múltipla no software SAS. A significância dos termos foi avaliada por análise de variância (ANOVA), considerando nível de significância de 10%.

4.2.1.1 Avaliação da influência dos fatores na mineralização

Para a mineralização, os fatores considerados significativos foram pH^2 (p = 0,0174) e pH (p = 0,0578). Na Figura 24, está apresentado o diagrama de Pareto que confirma este comportamento.

Figura 24 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da mineralização



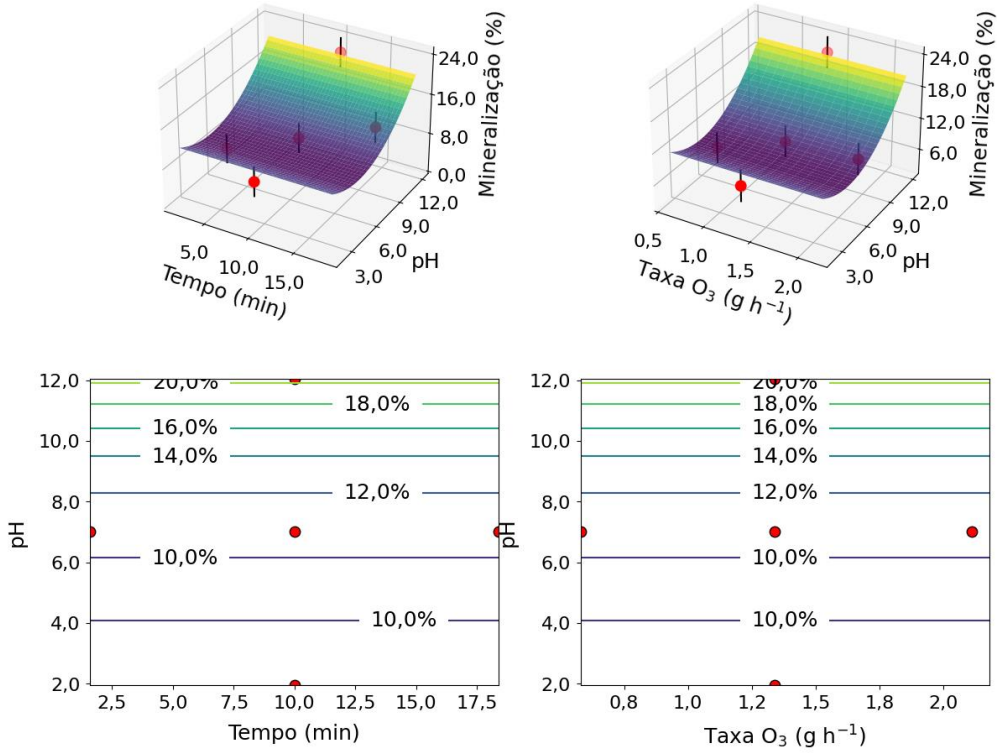
Fonte: Dados experimentais da autora.

Inicialmente foi ajustado um modelo quadrático completo por meio do procedimento RSREG. Posteriormente, os termos não significativos foram removidos e o modelo foi reajustado por regressão linear múltipla, resultando na Equação 17.

$$Mineralização\ (\%) = 15{,}60369 - 2{,}27477 \cdot \mathrm{pH} + 0{,}22178 \cdot \mathrm{pH}^2 \qquad (17)$$

O modelo pode ser visualizado de forma mais clara por meio da superfície de resposta gerada a partir da equação obtida, apresentada na Figura 25.

Figura 25 – Gráficos de superfície de resposta para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da mineralização



Fonte: Dados experimentais da autora.

Entre os fatores avaliados, apenas o pH apresentou influência significativa sobre a mineralização, com efeito quadrático. A superfície de resposta indicou um ponto de mínimo entre pH 4 e 6, seguido de um aumento progressivo da mineralização em condições mais alcalinas. Por outro lado, o tempo de tratamento e a vazão de ozônio não apresentaram efeitos estatisticamente significativos dentro das faixas avaliadas.

A ausência de efeito significativo da vazão de ozônio sugere que, nas condições experimentais empregadas, o aumento da taxa de O_3 não proporcionou ganhos adicionais de mineralização. Esse comportamento pode estar relacionado às doses relativamente elevadas de ozônio utilizadas, indicando que o processo pode ter atingido uma condição em que aumentos adicionais na disponibilidade do oxidante não resultam em incremento proporcional da mineralização.

Nesse sentido, estudos adicionais poderiam avaliar condições com menores vazões de ozônio e menores tempos de tratamento, com o objetivo de identificar uma condição operacional mais eficiente e potencialmente reduzir o consumo de oxidante e os custos associados ao processo. Entretanto, a ausência de efeito significativo

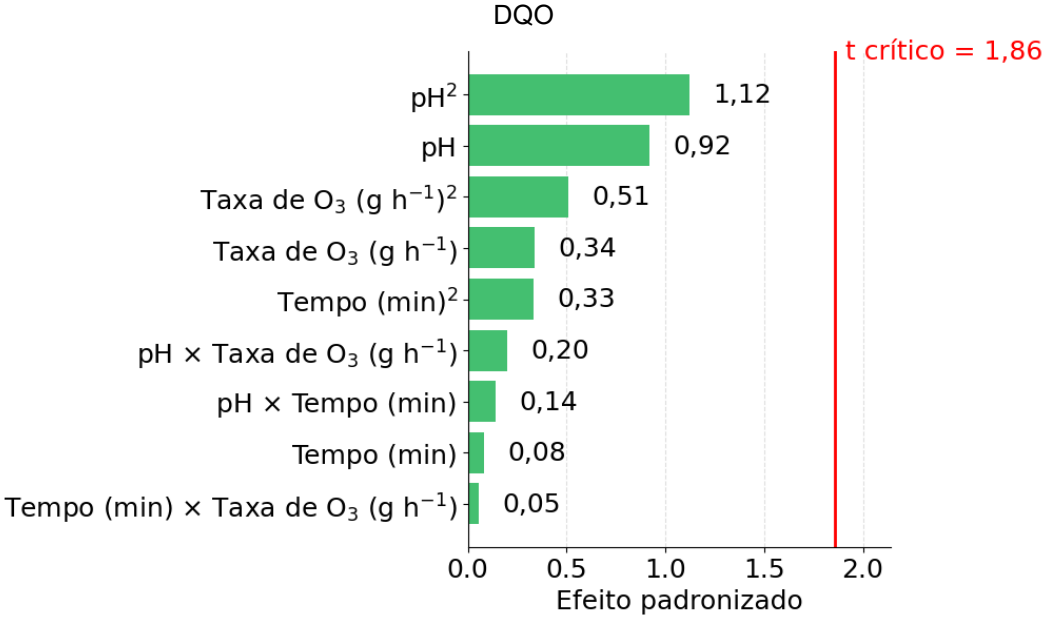
desses fatores na faixa estudada não permite afirmar que reduções para valores inferiores aos avaliados não comprometeriam a mineralização. Dessa forma, a redução das condições operacionais deve ser acompanhada de novos ensaios, de modo a determinar os limites mínimos de vazão de ozônio e tempo de tratamento que mantenham a eficiência desejada.

O aumento da taxa de mineralização em pHs mais elevados está relacionado com a presença de íons hidroxila. Em pHs elevados, o ozônio tende a gerar radicais hidroxila, que são oxidantes mais fortes com menor seletividade, e estão frequentemente relacionados com maior mineralização na literatura. Reggiane de Carvalho Costa et al., (2023) encontraram que para remoção de cafeína e ampicilina em águas superficiais o efeito do pH mais elevado também foi significativo.

4.2.1.2 Avaliação da influência dos fatores na DQO

A Figura 26 representa o Diagrama de Pareto para a resposta de redução de DQO.

Figura 26 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da DQO



Fonte: Dados experimentais da autora.

A redução da DQO não apresentou influência estatisticamente significativa dos fatores avaliados no planejamento experimental. Embora tenham sido observadas variações nos percentuais de remoção entre as diferentes condições testadas, os resultados não evidenciaram um padrão suficientemente consistente para caracterizar efeitos significativos, individuais ou combinados, das variáveis operacionais avaliadas.

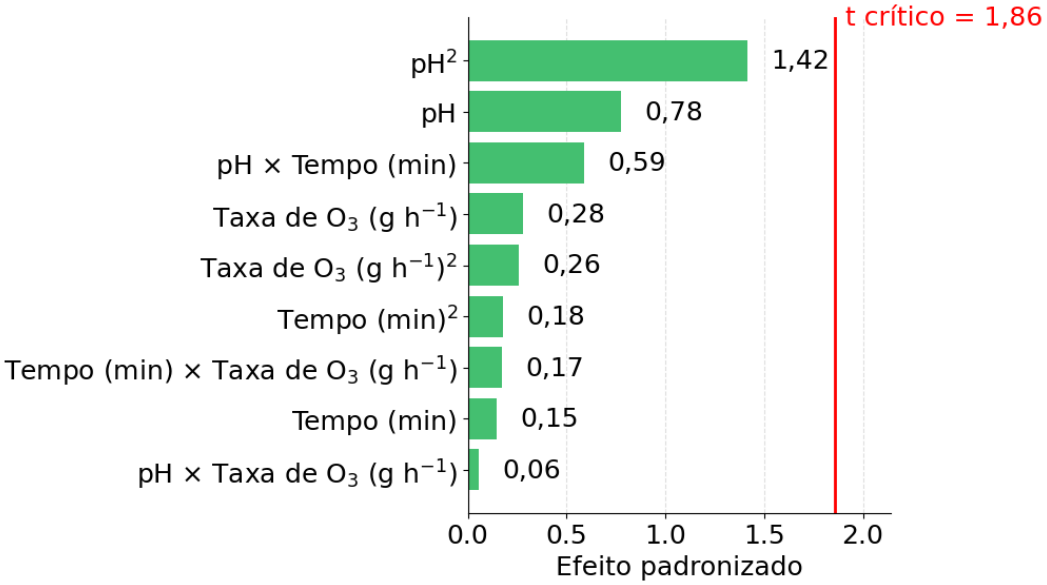
A elevada variabilidade dos resultados também contribuiu para reduzir a capacidade preditiva e a confiabilidade do modelo obtido a partir do planejamento experimental. No ponto central, utilizado para avaliar a variabilidade experimental, foi obtida uma concentração média de DQO de 37,5 ± 15,7 mg O_2 L^{-1}, indicando uma dispersão considerável dos resultados em torno da média. Essa variabilidade pode ter dificultado a identificação de efeitos estatisticamente significativos dos fatores avaliados sobre a remoção de DQO.

De modo geral, verificou-se uma tendência de aumento da remoção de DQO com o incremento da dose de ozônio e do tempo de tratamento, enquanto os maiores percentuais de remoção foram observados em condições próximas ao pH neutro. Entretanto, a magnitude dessas diferenças não foi suficiente para gerar variabilidade estatisticamente significativa na resposta. Em consequência, não foi possível obter um modelo preditivo por meio da RSM.

4.2.1.3 Avaliação da influência dos fatores na DBO_5/DQO

A Figura 27 representa a significância de cada parâmetro para a resposta de variação de DBO_5/DQO.

Figura 27 – Diagrama de Pareto em função da ΔDBO_5/DQO



Fonte: Dados experimentais da autora.

Para o parâmetro ΔDBO_5/DQO, nenhum fator apresentou efeitos estatisticamente significativos no ensaio realizado com matriz sintética. Esse resultado

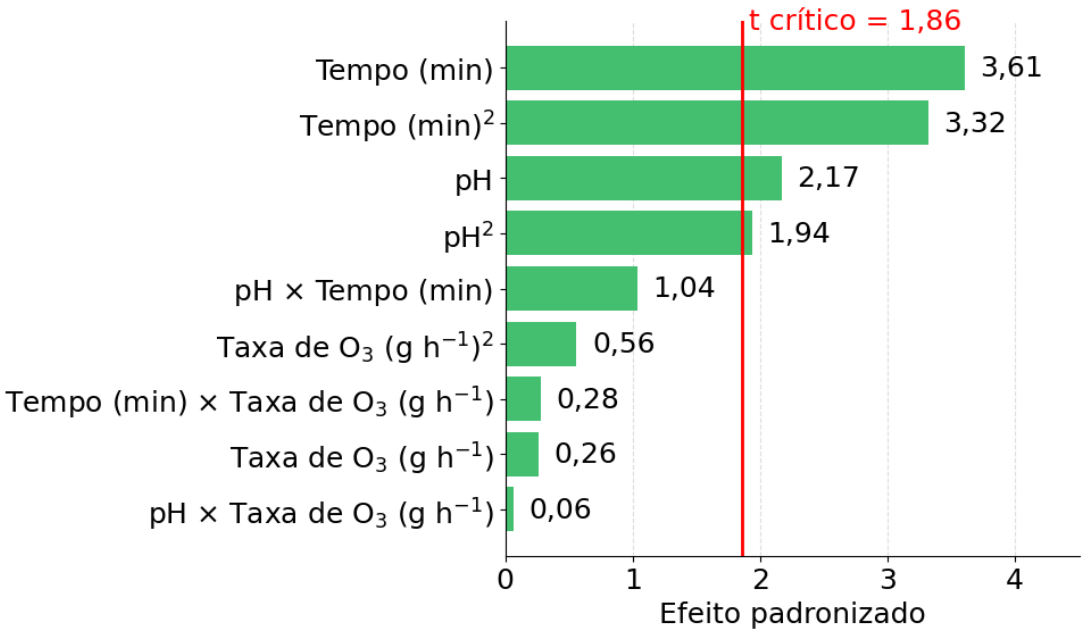
sugere que os níveis dos fatores avaliados podem não ter sido suficientemente distintos para promover uma variabilidade expressiva nessa resposta.

Em função da baixa variação observada, não foi possível ajustar um modelo de superfície de resposta para esse parâmetro, uma vez que os dados não apresentaram variabilidade suficiente para sustentar uma regressão estatisticamente significativa. Assim, a DBO_5/DQO não foi incluída na modelagem estatística do planejamento experimental, sendo as análises subsequentes restritas às variáveis que apresentaram efeito significativo.

4.2.1.4 Avaliação da influência dos fatores na SUVA

Para a ΔSUVA, os parâmetros que apresentaram efeito significativo na ANOVA foram o tempo (p = 0,0069), o tempo^2 (p = 0,0106), o pH (p = 0,0619) e o pH^2 (p=0,0884). Esse comportamento também pode ser observado no diagrama de Pareto (Figura 28).

Figura 28 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da ΔSUVA



Fonte: Dados experimentais da autora.

O modelo obtido para este parâmetro está representado na Equação 18.

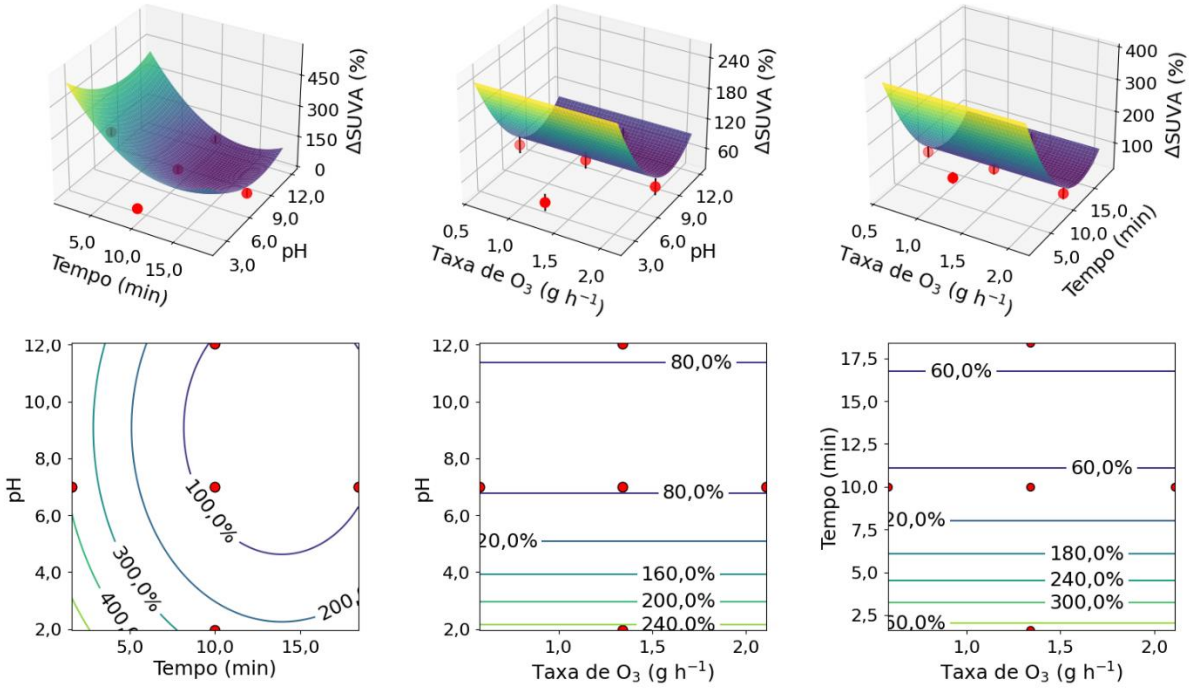
$$\Delta\text{SUVA} = 769{,}87144 - 62{,}64620 \cdot \text{tempo} - 67{,}91200 \cdot \text{pH} + 2{,}25111 \cdot \text{tempo}^2 + 3{,}74179 \cdot \text{pH}^2 \quad (18)$$

O comportamento quadrático observado em relação ao tempo indica que a redução de SUVA ocorre inicialmente com maior intensidade à medida que o tempo

de ozonização aumenta, conforme indicado pelo coeficiente linear negativo. Entretanto, o coeficiente quadrático positivo indica que esse comportamento não se mantém indefinidamente. Considerando que ΔSUVA foi calculado pela razão entre o SUVA final e o SUVA inicial ($SUVA_{final}/SUVA_{inicial}$), menores valores de ΔSUVA correspondem a maiores reduções de SUVA.

A Figura 29 apresenta a superfície de resposta obtida para a resposta de SUVA.

Figura 29 – Superfície de resposta para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da ΔSUVA



Fonte: Dados experimentais da autora.

Dessa forma, o modelo prevê um ponto de mínimo de ΔSUVA entre 10 e 15 minutos, com ph entre 8 e 10, indicando uma condição de maior redução de SUVA nessa região. Após esse ponto, observa-se uma tendência de aumento de ΔSUVA, o que corresponde a uma redução menos acentuada de SUVA.

A superfície de resposta evidencia o comportamento não linear de ΔSUVA em função do tempo de tratamento e do pH. Considerando que ΔSUVA corresponde à razão entre o SUVA final e o inicial, a redução dessa razão representa uma maior redução de SUVA254. Dessa forma, a região de menores valores de ΔSUVA observada na superfície corresponde às condições em que a redução de SUVA foi mais pronunciada. Esse comportamento sugere que a ozonização promove alterações nas características da matéria orgânica dissolvida, particularmente em estruturas

aromáticas e grupos cromóforos responsáveis pela absorção em 254 nm. Entretanto, o aumento do tempo de tratamento e do pH não resulta necessariamente em uma redução contínua de ΔSUVA, conforme evidenciado pelos termos quadráticos do modelo.

Antonio da Silva et al., (2021) verificaram que a remoção de $SUVA_{254}$ foi superior à remoção de matéria orgânica. Esse resultado indica que os processos oxidativos promoveram inicialmente a transformação e a ruptura de estruturas aromáticas, enquanto a mineralização ocorreu em menor extensão. Consequentemente, a redução da aromaticidade da matéria orgânica foi mais significativa do que a redução da carga orgânica total.

4.2.2 Matriz real

Os resultados obtidos no planejamento experimental do tipo CCD com matriz real enriquecida com LID e PRO estão apresentadas na Tabela 17. Assim como no planejamento em solução sintética, foram avaliadas as variáveis de resposta mineralização, DQO, DBO_5/DQO e SUVA.

Tabela 17 – Parâmetros avaliados para superfície de resposta do planejamento CCD em águas superficiais

Código do Experimento	Taxa de O_3 ($g\ h^{-1}$)	Dose de O_3 ($g\ L^{-1}$)	Tempo (min)	pH	Mineralização (%)	Redução DQO (%)	$\Delta DBO_5/DQO$ (%)	ΔSUVA (%)
1	0,9	0,30	5	4	5,7	52,2	$7,1 \cdot 10^2$	119,4
2	0,9	0,30	5	10	17,7	54,2	$9,4 \cdot 10^2$	83,9
3	0,9	0,90	15	4	19,3	62,2	$6,5 \cdot 10^2$	50,0
4	0,9	0,90	15	10	30,5	71,8	$12,4 \cdot 10^2$	61,3
5	1,8	0,60	5	4	9,6	49,6	$6,9 \cdot 10^2$	92,1
6	1,8	0,60	5	10	21,1	57,8	$12,3 \cdot 10^2$	62,8
7	1,8	1,80	15	4	17,5	53,7	$38 \cdot 10^2$	39,0
8	1,8	1,80	15	10	38,5	81,4	$17,0 \cdot 10^2$	49,0
9	0,6	0,40	10	7	7,7	76,7	$19,4 \cdot 10^2$	60,3
10	2,1	1,40	10	7	37,7	71,5	$19,9 \cdot 10^2$	58,6
11	1,3	0,14	1,6	7	2,7	47,9	$18,8 \cdot 10^2$	156,8
12	1,3	1,59	18,4	7	44,5	74,6	$14,9 \cdot 10^2$	55,9
13	1,3	0,87	10	1,95	11,2	58,5	$5,8 \cdot 10^2$	58,5
14	1,3	0,87	10	12,04	28,2	60,7	$6,1 \cdot 10^2$	48,7
15 (C)	1,3	0,87	10	7	38,7 ± 5,7	67,0 ± 3,2	$9,2 \cdot 10^2 \pm 1,2 \cdot 10^2$	69,7 ± 15,5

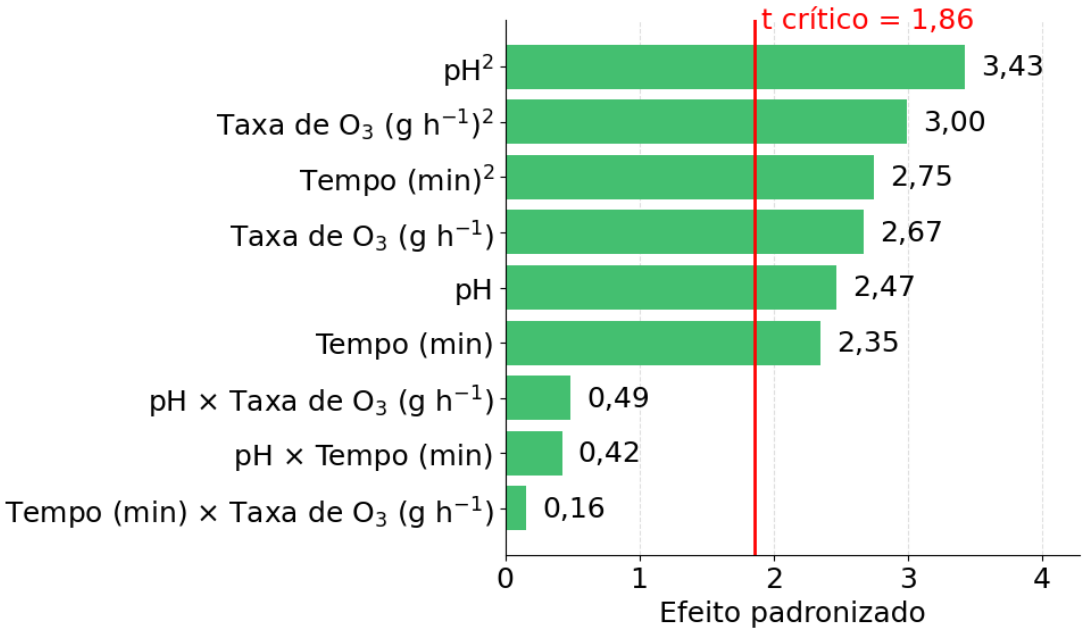
(C) = Ponto central
Fonte: Dados experimentais da autora.

4.2.2.1 Avaliação da influência dos fatores na mineralização

Para a resposta mineralização, os efeitos lineares de pH (p = 0,0388), dose de ozônio (p = 0,0284) e tempo (p = 0,0468), bem como seus respectivos termos quadráticos (pH^2, p = 0,0090; $dose^2$, p = 0,0172; $tempo^2$, p = 0,0251), apresentaram influência significativa sobre a resposta. Em contrapartida, os termos de interação não foram significativos, indicando que a mineralização foi predominantemente governada pelos efeitos individuais das variáveis avaliadas.

A Figura 30 apresenta o diagrama de Pareto, que confirma este comportamento.

Figura 30 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da mineralização



Fonte: Dados experimentais da autora.

O modelo ajustado para descrever a mineralização é apresentado na Equação 19.

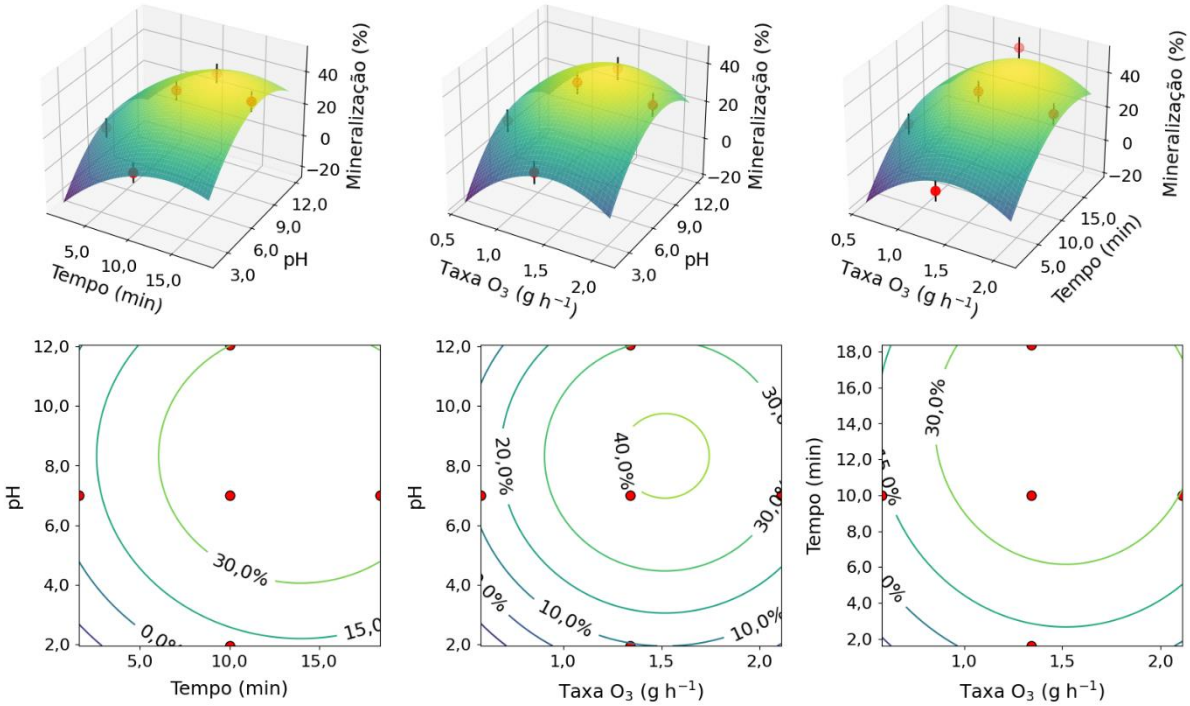
$$\begin{aligned} &Mineralização \\ &= -119.41603 + 195.87815 \cdot dose + 6.24444 \cdot tempo \\ &+ 12.85786 \cdot pH - 0.22298 \cdot tempo^2 - 143.72073 \cdot dose^2 \\ &- 0.77158 \cdot pH^{\,2} \end{aligned} \tag{19}$$

A significância dos termos lineares e quadráticos indica um comportamento não linear da resposta, caracterizado pela existência de condições ótimas de operação. Entre os fatores avaliados, a dose de ozônio apresentou a maior influência sobre a

mineralização, seguida pelo pH e pelo tempo de tratamento. Dessa forma, o aumento dessas variáveis favoreceu inicialmente a degradação da matéria orgânica, porém incrementos sucessivos não resultaram em ganhos proporcionais de eficiência, evidenciando a presença de regiões de máxima resposta.

A superfície de resposta obtida a partir do modelo ajustado é apresentada na Figura 31.

Figura 31 – Gráficos de superfície de resposta para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da mineralização



Fonte: Dados experimentais da autora.

A análise da superfície de resposta evidenciou que as maiores taxas de mineralização foram obtidas em condições de elevada dose de ozônio e pH alcalino, associadas a tempos intermediários de tratamento. As condições ótimas determinadas pelo modelo situaram-se próximas de pH 10, tempo de reação de 15 min e dose de ozônio de 1,8 g h^{-1}.

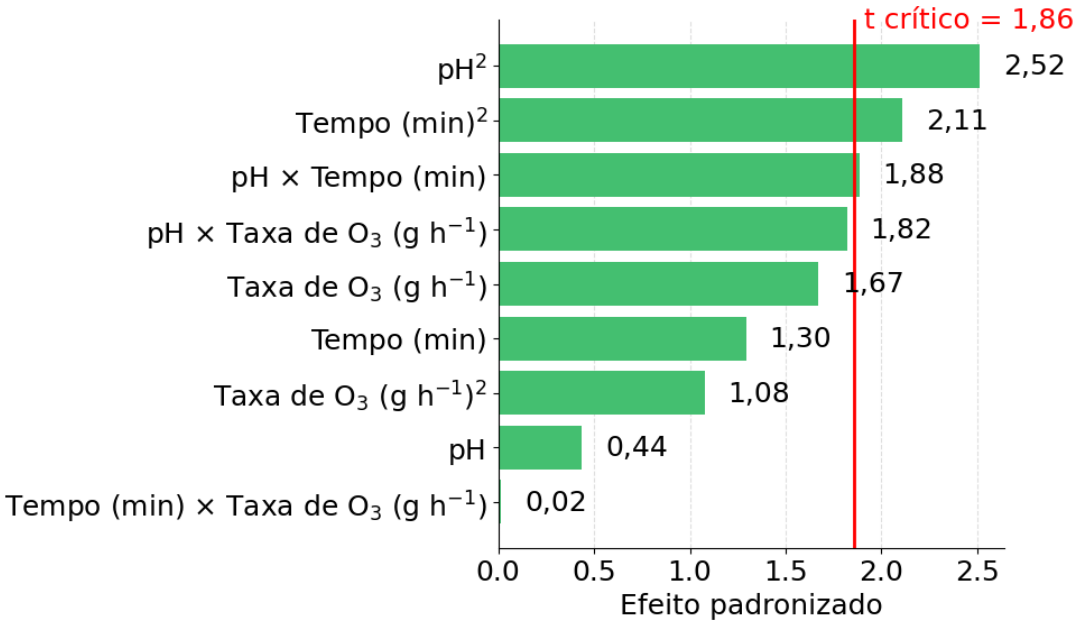
O efeito positivo do pH pode ser atribuído à maior decomposição do ozônio em meio alcalino, favorecendo a formação de radicais hidroxila (•OH), espécies oxidantes altamente reativas e menos seletivas que o ozônio molecular. Esses radicais promovem uma oxidação mais intensa da matéria orgânica e, consequentemente, maiores níveis de mineralização. Além disso, considerando que o PRO e a LID apresentam valores de pKa inferiores a 10, a condição alcalina aumenta a suscetibilidade desses compostos à oxidação (Benner & Ternes, 2009). O tempo

ótimo relativamente curto sugere que a elevada disponibilidade de espécies oxidantes foi suficiente para promover a rápida transformação dos contaminantes presentes na matriz.

4.2.2.2 Avaliação da influência dos fatores na DQO

A análise de variância indicou que os termos com influência significativa sobre a redução da DQO foram: pH^2 (p = 0,0360), $tempo^2$ (p = 0,0677) e pH x tempo (p=0,0962) conforme apresentado no diagrama de Pareto (Figura 32).

Figura 32 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da DQO



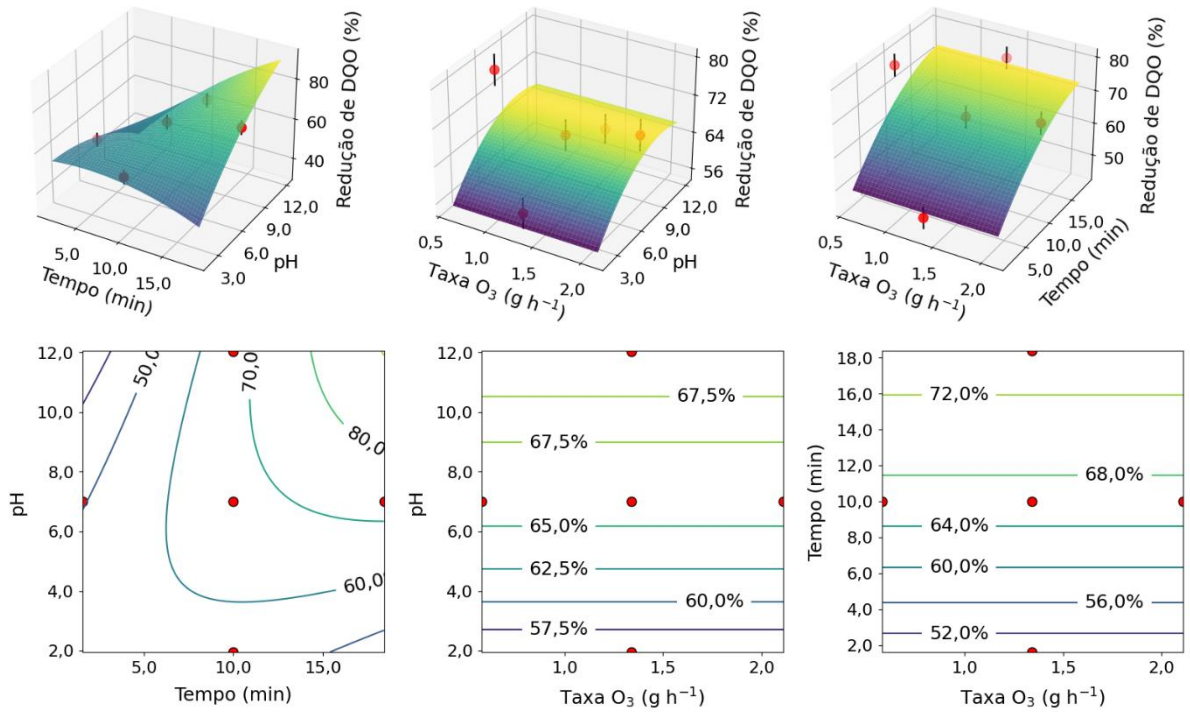
Fonte: Dados experimentais da autora.

O modelo ajustado para a resposta de redução de DQO é apresentado na Equação 20.

$$\text{Redução de DQO} = 55{,}12301 - 0{,}20367 \cdot pH^2 - 0{,}06875 \cdot tempo^2 + 0{,}39727 \cdot \text{pH} \cdot \text{tempo} \quad (20)$$

A superfície de resposta obtida a partir do modelo (Figura 33) indicou aumento da remoção de DQO em condições de pH mais elevado, enquanto o efeito do tempo foi menos pronunciado dentro da faixa experimental avaliada.

Figura 33 – Gráficos de superfície de resposta para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da DQO



Fonte: Dados experimentais da autora.

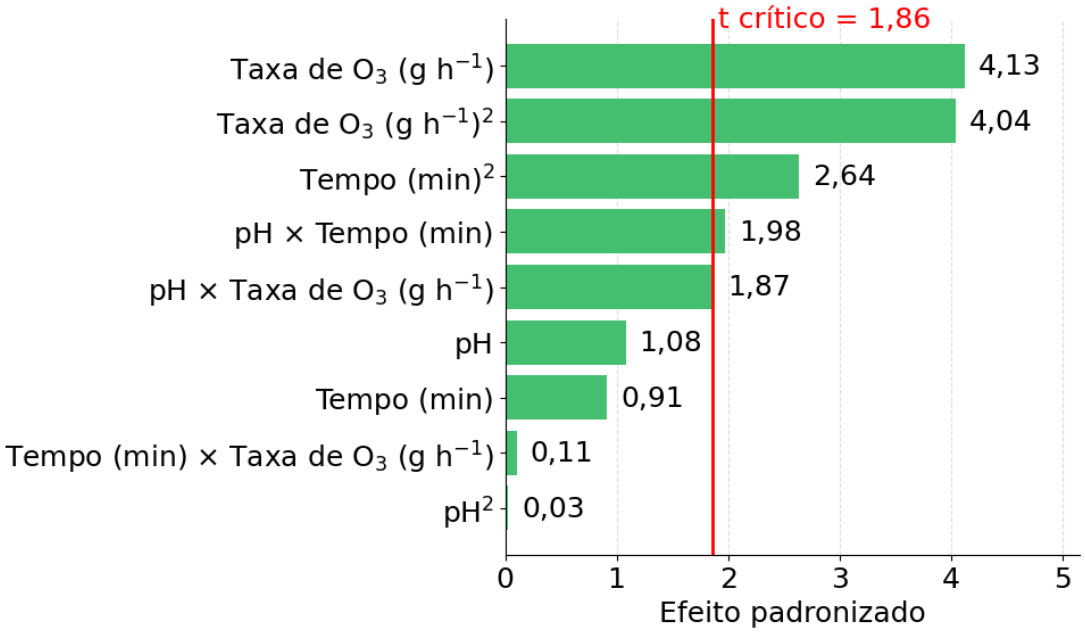
O efeito positivo do pH pode ser atribuído à maior decomposição do ozônio em meio alcalino, favorecendo a formação de radicais hidroxila (•OH), espécies altamente oxidantes que intensificam a degradação da matéria orgânica. Dessa forma, condições alcalinas promoveram maior remoção da fração oxidável presente nas amostras.

Os resultados observados para a DQO foram consistentes com aqueles obtidos para a mineralização, evidenciando a importância do pH na eficiência do processo oxidativo. Entretanto, enquanto a mineralização apresentou uma região ótima dentro da faixa experimental estudada, a redução da DQO aumentou progressivamente com a elevação do pH, sem indicar um máximo local. Essa diferença sugere que os dois parâmetros refletem etapas distintas da degradação da matéria orgânica. Enquanto a mineralização está associada à conversão dos compostos orgânicos em espécies inorgânicas, a DQO representa a quantidade de matéria passível de oxidação química. Assim, a ozonização pode continuar promovendo a transformação de compostos orgânicos e reduzindo a DQO mesmo quando os ganhos adicionais de mineralização se tornam menos expressivos (Wojnárovits et al., 2024).

4.2.2.3 Avaliação da influência dos fatores na DBO_5/DQO

Para o parâmetro de ΔDBO_5/DQO, os parâmetros: quadrático da taxa de O_3 (p = 0,0037), linear da taxa de O_3 (p = 0,0033) e quadrático do tempo (p = 0,0299), pH × tempo (p=0,0837) e pH × taxa de O_3 (p=0,0981) foram significativos. O comportamento também pode ser observado no diagrama de Pareto (Figura 34).

Figura 34 – Diagrama de Pareto em função da ΔDBO_5/DQO



Fonte: Dados experimentais da autora.

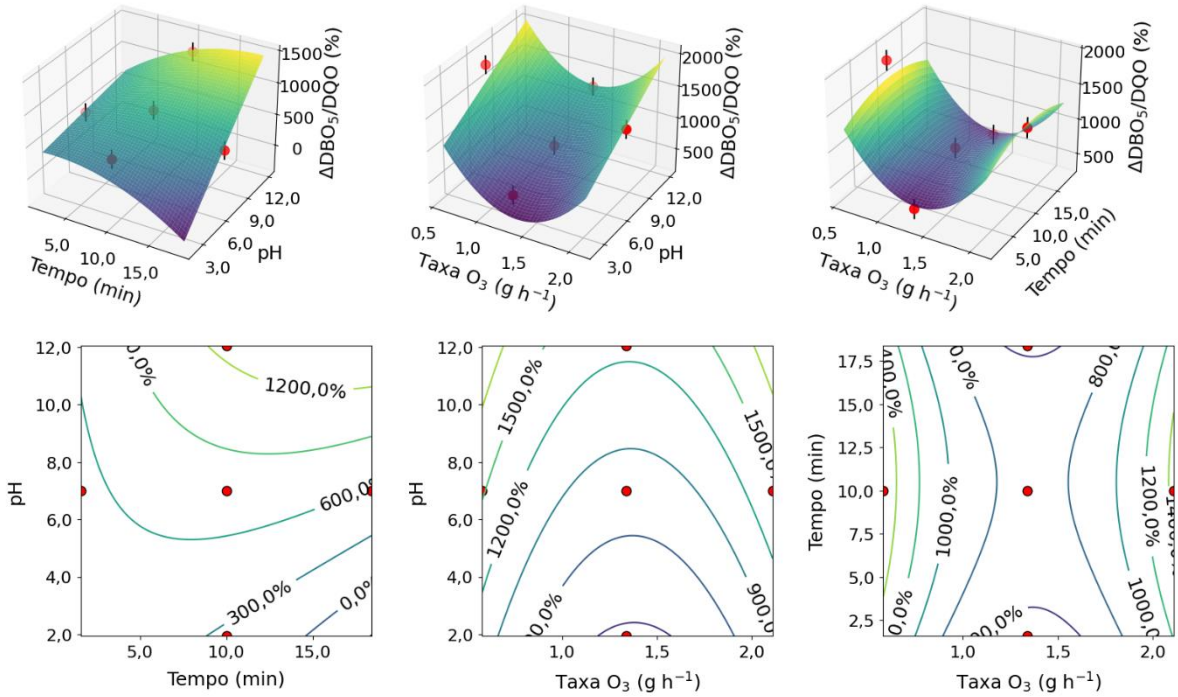
O modelo obtido para ΔDBO_5/DQO apresenta comportamento não linear em relação à dose de ozônio e ao tempo de tratamento, conforme representado na Equação 21.

$$\Delta \mathrm{DBO}_5/DQO = 2767{,}26888 - 3475{,}21719 \cdot \mathrm{dose} + 1252{,}55012 \cdot \mathrm{dose}^2 - 2{,}96821 \cdot \mathrm{tempo}^2 + 7{,}41134 \cdot \mathrm{pH} \cdot \mathrm{dose} + 8{,}90656 \cdot \mathrm{pH} \cdot \mathrm{tempo} \quad (21)$$

A presença de termos quadráticos para a dose e o tempo indica que o efeito dessas variáveis não é linear ao longo da faixa experimental estudada. Além disso, os termos de interação entre pH e as variáveis operacionais indicam que a resposta pode variar em função da combinação das condições de tratamento.

A superfície de resposta para a ΔDBO_5/DQO está representada na Figura 35.

Figura 35 – Gráficos de superfície de resposta para o parâmetro ΔDBO$_5$/DQO



Fonte: Dados experimentais da autora.

Em relação à dose de ozônio, o coeficiente linear negativo e o quadrático positivo indicam uma relação não linear, com redução inicial da ΔDBO$_5$/DQO até uma região de mínimo, seguida de aumento. Esse comportamento é influenciado pelo pH devido ao termo de interação pH × dose, podendo estar relacionado às diferentes etapas de formação e transformação de compostos intermediários durante a oxidação.

Para o tempo de tratamento, o coeficiente quadrático negativo indica comportamento não linear, enquanto a interação pH × tempo demonstra que seu efeito depende do pH. Assim, a resposta não apresenta necessariamente uma redução contínua, podendo atingir um máximo cuja posição varia conforme as condições de pH.

No presente estudo, a DBO$_5$/DQO aumentou em relação à condição inicial, atingindo um valor máximo de 57,1%. Esse resultado é considerado elevado, uma vez que valores superiores a 25% já são frequentemente apontados na literatura como indicativos de viabilidade para o encaminhamento do efluente a tratamentos biológicos subsequentes (An et al., 2025).

Duarte et al., (2026) observaram que a etapa de ozonização promoveu um aumento da DBO$_5$/DQO do efluente, embora a redução da DQO tenha sido relativamente limitada. Os autores atribuíram esse comportamento à transformação

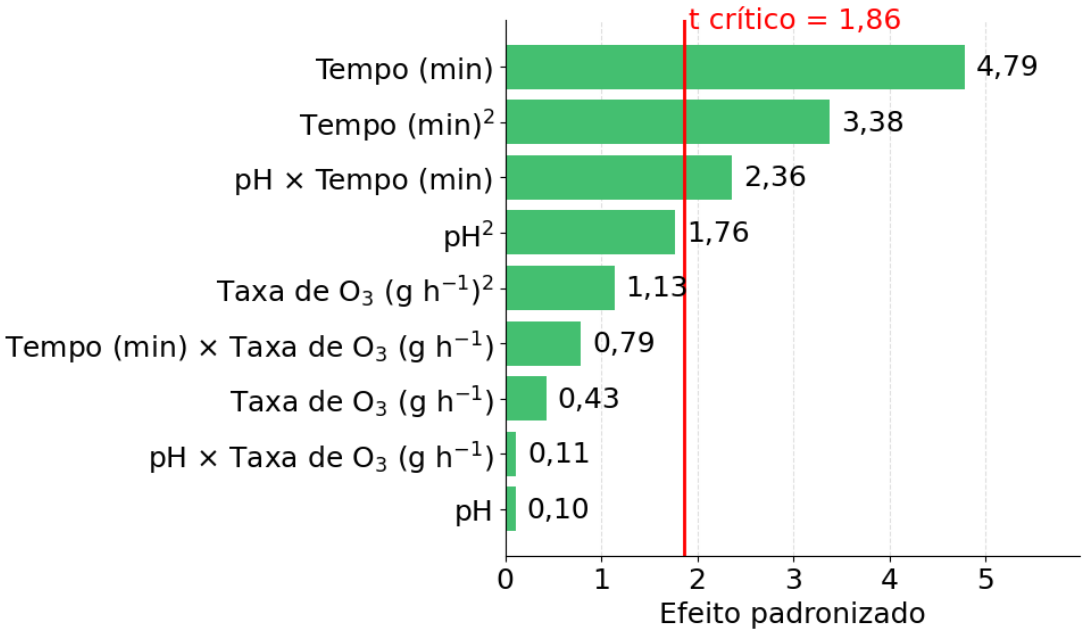
de compostos recalcitrantes em moléculas menores e mais facilmente assimiláveis por microrganismos, sem que ocorresse mineralização significativa da matéria orgânica.

Os resultados indicam que a DBO_5/DQO não é maximizada simultaneamente pelo aumento das duas variáveis operacionais, evidenciando a existência de um balanço entre a intensificação do processo oxidativo e a formação de intermediários. Assim, o comportamento observado sugere que a otimização das condições operacionais deve considerar a existência de uma faixa intermediária de dose, na qual se minimizam efeitos adversos sobre a DBO_5/DQO, enquanto o aumento do tempo tende a reduzir progressivamente esse parâmetro dentro das condições avaliadas.

4.2.2.4 Avaliação da influência dos fatores na SUVA

Por fim, foi avaliada a resposta ΔSUVA por meio de modelagem quadrática. A análise de variância indicou que os termos linear do tempo (p = 0,0014), quadrático do tempo (p = 0,0097) e a interação entre pH e tempo (p = 0,0461) foram significativos, evidenciando a predominância do tempo de ozonização sobre a resposta do sistema. O diagrama de Pareto correspondente é apresentado na Figura 36.

Figura 36 – Diagrama de Pareto para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da ΔSUVA



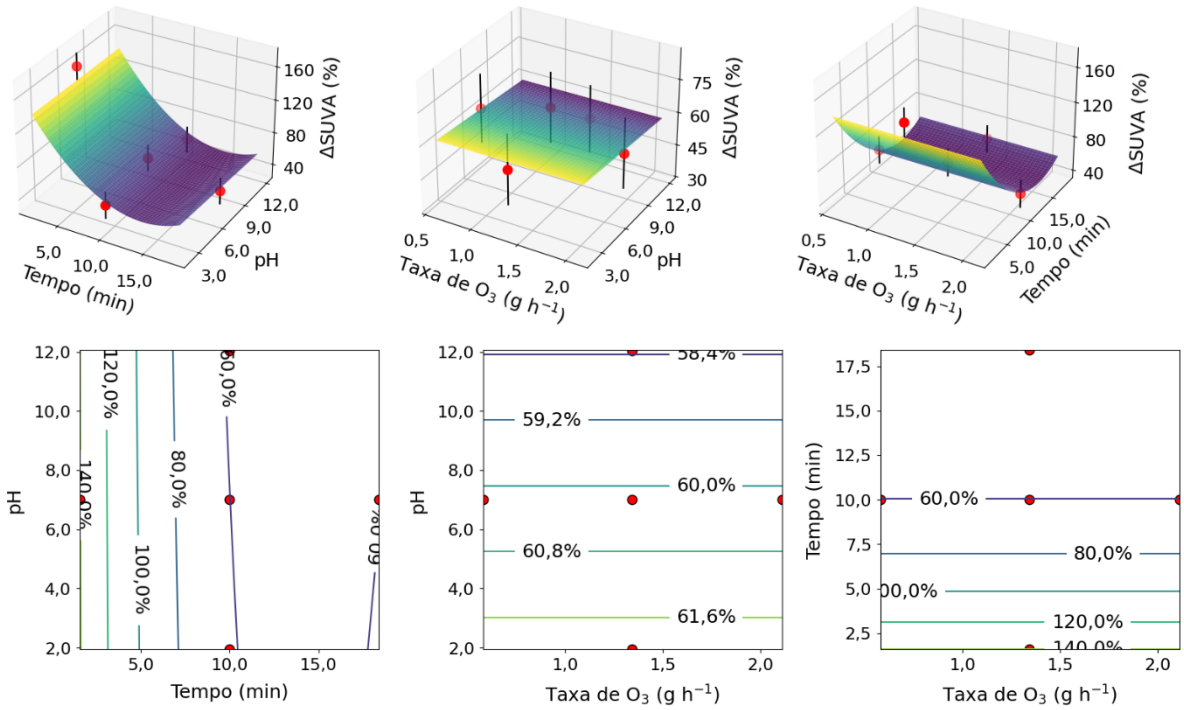
Fonte: Dados experimentais da autora.

O modelo ajustado para ΔSUVA é apresentado na Equação 22.

$$\Delta\text{SUVA} = 164{,}60327 - 15{,}82093 \cdot \text{tempo} + 0{,}56296 \cdot \text{tempo}^2 - 0{,}03600 \cdot \text{pH} \cdot \text{tempo} \quad (22)$$

A superfície de resposta obtida a partir do modelo (Figura 37) evidencia que a redução da SUVA foi favorecida pelo aumento simultâneo do tempo de ozonização e do pH. Observa-se uma diminuição mais acentuada da resposta nas etapas iniciais do tratamento, seguida por uma tendência de estabilização em tempos mais elevados, indicando que a remoção das frações mais reativas da matéria orgânica ocorre preferencialmente no início do processo.

Figura 37 – Gráficos de superfície de resposta para o para remoção de carga orgânica do efluente tratado, em função da ΔSUVA



Fonte: Dados experimentais da autora.

O efeito positivo da combinação entre tempo e pH sugere que condições alcalinas potencializam a ação da ozonização ao longo do tratamento. Esse comportamento é consistente com a maior decomposição do ozônio em meio alcalino e consequente formação de radicais hidroxila (•OH), espécies oxidantes menos seletivas que favorecem a degradação de estruturas aromáticas responsáveis pela absorção em 254 nm.

Os resultados indicam, portanto, que a redução da SUVA está associada principalmente à transformação de compostos aromáticos da matéria orgânica

dissolvida, sendo favorecida por maiores tempos de contato e valores mais elevados de pH. Esse comportamento reforça as tendências observadas para mineralização e redução de DQO, evidenciando o papel do meio alcalino na intensificação dos processos oxidativos promovidos pela ozonização.

4.2.3 Determinação da condição ótima operacional

O ponto ótimo do planejamento experimental foi selecionado por meio de uma avaliação integrada de todos os *endpoints* analisados. Essa abordagem permitiu identificar não apenas as condições associadas à maior redução de carga orgânica, mas também aquelas que favoreceram o aumento da DBO_5/DQO e a diminuição da presença de compostos aromáticos e persistentes. Com base nesses resultados, espera-se que o ponto selecionado também corresponda à condição de menor toxicidade. Para verificar essa hipótese, o ponto ótimo foi avaliado por meio de ensaios ecotoxicológicos com *Lactuca sativa* e *Allium cepa*.

No planejamento em matriz sintética, o melhor desempenho em termos de mineralização foi observado no maior valor de pH avaliado. Para a ΔSUVA, o tempo de 15 minutos apresentou o valor máximo. A taxa de ozônio, por sua vez, não apresentou influência significativa sobre os parâmetros avaliados. Já no planejamento em matriz real, a mineralização atingiu seus valores máximos em condições de pH entre 6 e 10, com taxas entre 1,3 e 1,8 L h^{-1} de ozônio e tempos de reação entre 10 e 15 minutos. A maior redução de DQO foi observada no maior pH testado. A DBO_5/DQO apresentou comportamento não linear em função da dose, com valores mais elevados nas doses extremas e menor desempenho em doses intermediárias. Para a ΔSUVA, melhores resultados foram obtidos em condições de maior tempo de reação e maior pH.

Dessa forma, o ponto selecionado como ótimo para a avaliação de toxicidade corresponde ao ponto 8 do planejamento experimental, caracterizado por 15 minutos de reação, taxa de 1,8 g h^{-1} de ozônio e pH 10.

Os ensaios correspondentes ao ponto ótimo dos planejamentos experimentais foram realizados em triplicata, de modo a garantir a repetibilidade deste experimento. Os resultados encontrados para os quatro parâmetros avaliados no planejamento experimental são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Parâmetros avaliados para o ponto ótimo dos planejamentos experimentais (15 min, 1,8 g O_3 h^{-1} e pH 10)

	Mineralização (%)	Redução de DQO (%)	ΔDBO$_5$/DQO (%)	ΔSUVA (%)
Matriz Sintética	29,1 ± 6,3	49,5 ± 4,6	$4{,}3 \cdot 10^4 \pm 2{,}3 \cdot 10^3$	48,6 ± 16,2
Matriz Real	40,0 ± 1,8	75,9 ± 4,7	$1{,}9 \cdot 10^2 \pm 1{,}5 \cdot 10^2$	50,7 ± 2,4

Fonte: Dados experimentais da autora.

Os valores iniciais e finais dos parâmetros observados, para fins de comparação, também estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 – Parâmetros iniciais e finais para o ponto ótimo dos planejamentos experimentais (15 min, 1,8 g O_3 h^{-1} e pH 10)

		COT (mg L^{-1})	DQO (mg L^{-1})	DBO$_5$/DQO (%)	SUVA (L mg^{-1} m^{-1})
Matriz Sintética	Inicial	31,1	76,5	0,1	0,44
	Final	23,3 ± 1,6	38,7 ± 3,5	22,3 ± 1,2	0,25 ± 0,05
Matriz Real	Inicial	34,6	119,9	3,0	1,02
	Final	21,2 ± 1,2	21,1 ± 1,1	57,1 ± 4,7	0,37 ± 0,11

Fonte: Dados experimentais da autora.

Observou-se que a matriz real apresentou desempenho superior em termos de mineralização e redução da DQO em relação à matriz sintética, alcançando valores de 40,0% e 75,9%, respectivamente, enquanto a matriz sintética apresentou remoções de 29,1% e 49,5%. Esses resultados indicam uma degradação mais eficiente da matéria orgânica na matriz real, sugerindo que componentes naturalmente presentes na água do Arroio Dilúvio possam ter favorecido a formação de espécies oxidantes secundárias, potencializando a eficiência do processo de ozonização.

Em relação à DBO$_5$/DQO, verificou-se aumento expressivo em ambas as matrizes, com incrementos de $4{,}3 \times 10^4$ e $1{,}9 \times 10^2$ vezes para as matrizes sintética e real, respectivamente. Os resultados correspondem a uma DBO$_5$/DQO do efluente tratado de 22,3% e 57,1%, respectivamente. Esse comportamento evidencia a conversão de compostos recalcitrantes em intermediários mais suscetíveis à degradação biológica. Embora o aumento relativo tenha sido significativamente maior na matriz sintética, esse resultado deve ser interpretado com cautela, uma vez que decorre dos baixos valores iniciais da razão de DBO$_5$/DQO, fazendo com que pequenas variações absolutas resultem em grandes incrementos percentuais.

Por sua vez, a redução da absorbância ultravioleta específica (SUVA) foi semelhante para ambas as matrizes, situando-se em torno de 50%. Esse resultado indica a diminuição da aromaticidade e a transformação de estruturas contendo

sistemas conjugados, sendo consistente com a elevada reatividade do ozônio frente a compostos aromáticos e insaturados (Gottschalk et al., 2010; Teksoy, 2026).

De forma geral, os resultados confirmam que as condições otimizadas promoveram simultaneamente a remoção de matéria orgânica, a redução da aromaticidade e o aumento da DBO_5/DQO, sendo a matriz real a que apresentou os ganhos mais significativos nos parâmetros relacionados à degradação e mineralização da matéria orgânica.

4.2.4 Ecotoxicidade

4.2.4.1 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Lactuca Sativa*

A Tabela 20 apresenta os valores de EC_{50} obtidos para os diferentes *endpoints* de toxicidade em *Lactuca sativa*, referentes às amostras do ponto ótimo em matriz sintética e matriz real, antes e após o tratamento. Observa-se que, em todas as condições avaliadas, os valores de EC_{50} foram superiores a 100 mg L^{-1} para germinação, crescimento da radícula e crescimento do hipocótilo.

Tabela 20 – Valores de EC_{50} (mg L^{-1}) para os diferentes *endpoints* de toxicidade em *Lactuca sativa*

		EC_{50} germinação (mg L^{-1})	**EC_{50} radícula (mg L^{-1})**	**EC_{50} hipocótilo (mg L^{-1})**
Sintética	**Inicial**	>100,0	>100,0	>100,0
	Final	>100,0	>100,0	>100,0
Real	**Inicial**	>100,0	>100,0	>100,0
	Final	>100,0	>100,0	>100,0

Fonte: Dados experimentais da autora.

Esse resultado indica que, dentro da faixa de concentrações testada, não foi possível atingir a inibição de 50% dos parâmetros avaliados, sugerindo baixa toxicidade aguda das amostras quando analisadas sob o critério de EC_{50}. Assim, tanto para o ponto ótimo da matriz sintética quanto para a matriz real, não se observam diferenças relevantes entre as condições inicial e final, indicando que o tratamento não alterou de forma mensurável a toxicidade expressa por esse parâmetro. No entanto, é importante destacar que a ausência de efeito em EC_{50} não implica ausência de impacto biológico, uma vez que esse parâmetro reflete apenas efeitos em níveis mais elevados de concentração. Dessa forma, a avaliação conjunta com parâmetros mais sensíveis, como LOEC e análises de crescimento relativo, torna-se essencial para uma interpretação mais abrangente da fitotoxicidade das amostras.

A Tabela 21 apresenta os resultados de desenvolvimento relativo de *Lactuca sativa* em comparação ao controle, bem como a significância estatística obtida pelo teste de Dunnett ($p < 0,05$), permitindo a identificação do LOEC para os diferentes tratamentos e concentrações.

Tabela 21 – Valores de desenvolvimento comparativo com o branco, e resultados do teste de Dunnett de comparação de médias para avaliação de LOEC da *Lactuca sativa*

Concentração das Amostras		Germinação Relativa (%)		Crescimento Relativo da Radícula (%)		Crescimento Relativo do Hipocótilo (%)	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Sintética	1%	91,5	94,9	90,5	87,0	91,2	86,9
	3%	91,5	98,3	106,2	98,8	108,4	88,1
	10%	88,1	100,0	96,3	84,5	96,5	88,4
	30%	98,3	89,8	81,7	83,5	87,8*	86,7
	100%	94,9	91,5	77,7	66,2*	96,1*	69,6*
Real	1%	94,9	89,8	73,0*	80,4	93,6	90,8
	3%	91,5	86,4	101,2	100,6	95,6	82,2*
	10%	88,1	89,8	101,9	99,6	96,1	81,2*
	30%	88,1	86,4	91,7	87,7	84,8*	86,1
	100%	84,7*	91,5	86,7	90,0	85,6*	75,3*

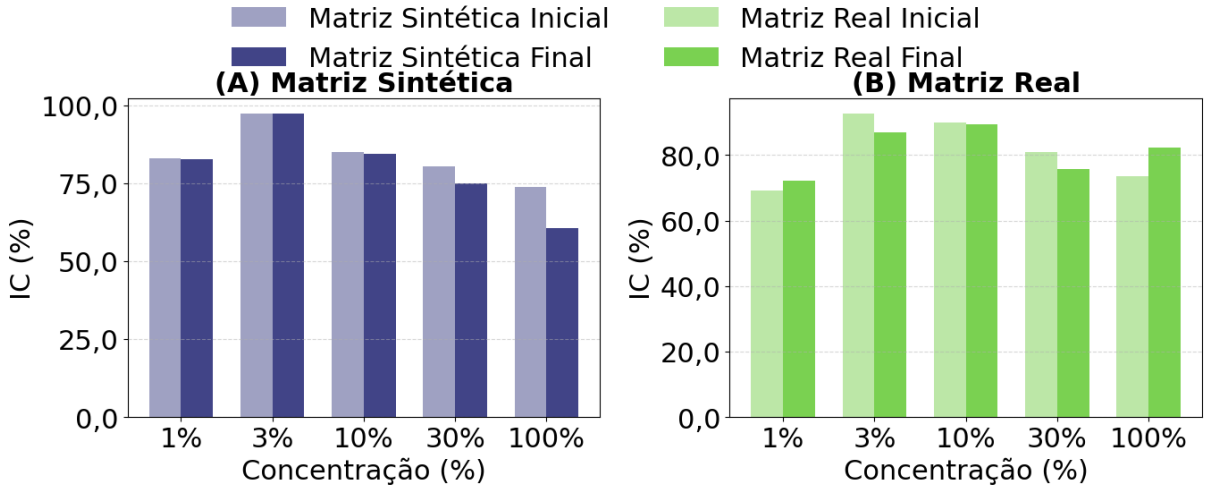
* Teste de Dunnett significativo (<0,05)
Fonte: Dados experimentais da autora.

De modo geral, a germinação relativa mostrou baixa sensibilidade às amostras da matriz sintética e real, com poucas diferenças significativas em relação ao branco. Para a matriz sintética, não foram observados efeitos significativos na germinação em nenhuma das concentrações avaliadas, tanto na condição inicial quanto final. Já para a matriz real, foi detectada diferença significativa apenas na concentração de 100% na condição inicial, indicando efeito limitado sobre esse *endpoint*. Esses resultados reforçam que a germinação é o parâmetro menos sensível entre os avaliados.

O crescimento da radícula apresentou maior sensibilidade, especialmente para a amostra do ponto ótimo da matriz real, na qual já se observa diferença significativa em baixas concentrações (1% na condição inicial), além de outros pontos ao longo da faixa testada. Para a matriz sintética, efeitos significativos foram observados principalmente na condição de 100% após o tratamento, com redução expressiva do crescimento radicular (66,2%), indicando efeito inibitório mais evidente apenas nas maiores concentrações. O crescimento do hipocótilo também apresentou respostas significativas, embora de forma menos consistente do que a radícula. Para a amostra do ponto ótimo da matriz sintética, foram observadas diferenças significativas nas concentrações de 30% e 100%, enquanto para a matriz real houve maior frequência de efeitos significativos distribuídos ao longo das concentrações, com destaque para reduções no crescimento em diferentes níveis de exposição.

A Figura 38 apresenta os valores de índice de crescimento (IC) de *Lactuca sativa* obtidos para as amostras inicial e final correspondentes ao ponto ótimo determinado nos planejamentos experimentais das matrizes real e sintética.

Figura 38 – Índice de crescimento (IC) de *Lactuca sativa* para o ponto ótimo determinado nos planejamentos experimentais das matrizes real e sintética



Fonte: Dados experimentais da autora.

Os resultados indicam baixa variação do IC nas menores concentrações avaliadas (1, 3 e 10%), mantendo valores superiores a 80% na maioria dos casos, o que sugere reduzido efeito fitotóxico nessas condições. Para a matriz sintética (Figura 37-A), observa-se uma tendência de redução do IC após o tratamento nas concentrações mais elevadas, especialmente em 30% e 100%, onde os valores finais diminuíram para 75,0% e 60,6 %, respectivamente. Já para a matriz real (Figura 37-B), embora tenha ocorrido redução do IC em algumas concentrações intermediárias, verificou-se aumento do índice na concentração de 100%, passando de 73,5% para 82,3%, indicando menor impacto sobre o desenvolvimento das sementes nessa condição.

De forma geral, os resultados indicam que o crescimento da radícula foi o *endpoint* mais sensível, seguido pelo hipocótilo, enquanto a germinação permaneceu como o parâmetro menos responsivo. Além disso, observa-se que a amostra da matriz real apresentou maior frequência de efeitos significativos em baixas concentrações em comparação à matriz sintética, sugerindo maior potencial fitotóxico. Esses dados permitem a determinação do LOEC para os diferentes tratamentos, evidenciando que efeitos estatisticamente significativos podem ocorrer mesmo em concentrações reduzidas, dependendo do *endpoint* avaliado e da composição da amostra.

4.2.4.2 Ensaios de fitotoxicidade utilizando *Allium Cepa*

A Tabela 22 mostra os resultados obtidos pela avaliação de fitotoxicidade através de *Allium cepa*. Os resultados evidenciam alterações importantes tanto no IM% quanto no índice de aberrações cromossômicas (IAC), em comparação ao valor do grupo controle.

Tabela 22 – Avaliação de fitotoxicidade através de *Allium cepa*

		Células em Mitose	IM (%)	χ^2	IM Relativo (%)	Células com ACs	IAC (%)	χ^2	IAC Relativo (%)
Controle		134	13,4	-	-	19	12,7	-	-
Matriz Sintética	Inicial	190	19,0	11,5501*	141,8	76	24,7	7,1985*	194,5
	Final	204	20,4	17,4453*	152,2	89	40,7	30,4356*	320,5
Matriz Real	Inicial	226	22,6	28,6721*	168,7	88	36,7	24,2314*	289,0
	Final	119	11,9	1,0181	88,8	76	38,7	22,7292*	304,7

* Valor estatisticamente significativo ($p < 0,05$) no teste de χ^2.
Fonte: Dados experimentais da autora.

Observa-se que as amostras avaliadas apresentaram efeitos citotóxicos e genotóxicos distintos, com variações entre os pontos e entre os estados inicial e final. Em relação ao índice mitótico, o branco apresentou valor de 13,4%. Para a amostra em matriz sintética, observou-se aumento do IM% tanto na condição inicial (19,0%) quanto na final (20,4%), com diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle. Esse aumento indica possível estímulo à divisão celular, que pode estar associado à presença de compostos capazes de induzir atividade proliferativa em baixas concentrações ou à formação de subprodutos com efeito biológico distinto após o tratamento. Já para a amostra em matriz real, observou-se comportamento mais variável: na condição inicial houve aumento do IM% (22,6%), também significativamente diferente do branco, enquanto na condição final ocorreu redução para 11,9%, valor próximo ou inferior ao controle, porém sem diferença estatística significativa. Esse resultado sugere que o tratamento pode ter alterado de forma relevante a composição da amostra, modulando o efeito sobre a divisão celular.

Quanto ao IAC, todas as amostras apresentaram valores superiores ao branco (12,7%), indicando presença de efeito genotóxico em ambas as condições avaliadas. Para a matriz sintética, observou-se aumento expressivo do IAC da condição inicial (24,7%) para a final (40,7%), ambos com diferenças estatisticamente significativas, sugerindo intensificação do dano cromossômico após o tratamento. Esse

comportamento pode indicar formação de subprodutos com maior potencial genotóxico ou maior biodisponibilidade dos compostos após a oxidação.

De forma semelhante, a amostra em matriz real apresentou elevados valores de IAC% tanto na condição inicial (36,7%) quanto na final (38,7%), com diferenças significativas em relação ao branco. Apesar da redução observada no IM% após o tratamento, o IAC% permaneceu elevado, indicando que a diminuição da atividade mitótica não foi acompanhada por redução do dano cromossômico. Esse comportamento reforça a possibilidade de que o tratamento possa não eliminar completamente espécies genotóxicas, mantendo efeitos sobre a integridade do material genético.

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram avaliados de forma integrada os efeitos ecotoxicológicos do tratamento por ozonização dos fármacos LID e PRO, considerando diferentes matrizes e organismos-teste. Os resultados demonstraram que a resposta ao tratamento depende tanto da presença de MON na matriz quanto do organismo avaliado, evidenciando a complexidade da avaliação ecotoxicológica de POAs.

Os ensaios exploratórios permitiram identificar diferenças entre o tratamento dos fármacos individualmente e em mistura, tanto em relação à degradação quanto aos efeitos ecotoxicológicos observados. Em solução sintética, a ozonização resultou em mineralizações de 6,0% para a lidocaína (LID), 10,0% para o propranolol (PRO) e 8,1% para a mistura dos fármacos. Já nos ensaios realizados com água superficial do Arroio Dilúvio, foram observadas mineralizações de 15,6% e 18,8%, evidenciando um efeito benéfico da matriz ambiental sobre a eficiência do processo de ozonização. Esse comportamento sugere que constituintes presentes na matriz real favoreceram a formação de espécies oxidantes secundárias, potencializando a degradação dos contaminantes.

Do ponto de vista ecotoxicológico, a mistura dos fármacos apresentou, de modo geral, menor toxicidade para *Lactuca sativa* quando comparada aos compostos tratados individualmente. Além disso, a presença da matriz ambiental influenciou positivamente o desempenho do tratamento, contribuindo para maiores níveis de mineralização e alterações nos efeitos biológicos observados.

Nos ensaios exploratórios realizados em matriz complexa, foram identificados cinco produtos de transformação (TPs) gerados durante a ozonização. As avaliações ecotoxicológicas *in silico* indicaram que todos os TPs apresentaram toxicidade prevista para peixes aproximadamente 4×10^{-4} vezes inferior à dos compostos originais, sugerindo uma redução significativa do potencial ecotoxicológico aquático após a transformação dos fármacos. Esses resultados demonstram que a ozonização promoveu não apenas a degradação dos compostos-alvo, mas também a formação de produtos com menor toxicidade predita, contribuindo para a compreensão dos mecanismos envolvidos nas alterações de toxicidade observadas experimentalmente.

Os resultados obtidos no ponto ótimo do planejamento experimental CCD em matriz sintética foram 29,1% de mineralização, 49,5% de redução de DQO, DBO_5/DQO final de 57,1%, e 48,6% de redução de SUVA para a matriz sintética. Para

a matriz real, foram alcançados valores de 40,0% de mineralização, 75,9% de redução de DQO, DBO_5/DQO de 49,5% e redução de SUVA de 50,7%. Esses resultados demonstram a eficiência da ozonização na transformação dos contaminantes estudados, promovendo simultaneamente a remoção de matéria orgânica, a redução da aromaticidade e o aumento do potencial de degradação biológica das amostras tratadas.

Os ensaios ecotoxicológicos com *Lactuca sativa* mostraram que os valores de EC_{50} permaneceram acima da maior concentração testada para todos os *endpoints* avaliados. Entretanto, os valores de LOEC evidenciaram alterações específicas entre as matrizes e condições de tratamento. Na matriz sintética, observou-se aumento da toxicidade para o crescimento da radícula após a ozonização, passando de ausência de efeito detectável para efeito observado na maior concentração avaliada. Em contrapartida, houve redução da toxicidade para o desenvolvimento do hipocótilo após o tratamento, de 30% para 100%. Para a matriz real, foram observados efeitos tóxicos sobre a germinação e o crescimento radicular antes do tratamento, os quais foram eliminados após a ozonização. Por outro lado, para o crescimento do hipocótilo, verificou-se aumento da toxicidade após o tratamento, evidenciado pela redução do valor de LOEC de 30% para 3%.

Nos ensaios com *Allium cepa*, a ozonização promoveu aumento do IAC na matriz sintética, de 24,7% para 40,7%, enquanto na matriz real o aumento foi menos expressivo, passando de 36,7% para 38,7%. Esses resultados indicam que, embora a ozonização seja eficiente na remoção e transformação dos contaminantes, a formação de TPs pode influenciar a resposta biológica dos organismos expostos, reforçando a importância da associação entre análises químicas e ecotoxicológicas na avaliação da eficiência de tratamentos de águas contaminadas por fármacos.

Os resultados obtidos demonstram que a ozonização constitui uma alternativa promissora para o tratamento de águas contendo LID e PRO e mostram que a avaliação da eficiência do processo não deve se restringir à remoção dos compostos-alvo. Observa-se que é fundamental considerar os efeitos ecotoxicológicos dos produtos formados durante o tratamento, especialmente quando diferentes matrizes ambientais estão envolvidas, para que todas as variáveis possam ser consideradas na viabilidade de aplicação do processo.

6 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados obtidos, destacam-se algumas perspectivas para o aprofundamento dos estudos sobre a ozonização e seus efeitos sobre os CEs:

- Elucidação das rotas de degradação: investigar os mecanismos de transformação dos contaminantes e caracterizar os PTs formados durante a ozonização.
- Investigação da genotoxicidade dos produtos de transformação: avaliar a relação entre os PTs formados e os efeitos genotóxicos observados nos ensaios com *Allium cepa*.
- Comparação com outros processos POAs: comparar a ozonização e a ozonização catalítica e outros processos quanto à remoção dos contaminantes, formação de PTs, redução da toxicidade e custos operacionais.
- Integração com tratamento biológico: avaliar a combinação da ozonização com tratamento biológico, verificando seu efeito sobre a biodegradabilidade, remoção dos contaminantes e toxicidade residual.
- Avaliação em matrizes mais complexas: ampliar os estudos para matrizes contendo diferentes contaminantes em concentrações mais próximas das reais, avaliando possíveis interações e alterações na formação de PTs.

De modo geral, a integração entre a identificação de PTs, a avaliação ecotoxicológica e a otimização do processo poderá contribuir para uma avaliação mais abrangente da eficiência e segurança da ozonização.

REFERÊNCIAS

Aguilar-Ascón, E., Marrufo-Saldaña, L., & Barra-Hinojosa, J. A. (2024). Toxicity Assessment of Tanning Effluents Treated via Electrocoagulation and Ozonation Using a Bioassay with Lactuca sativa L. *Journal of Ecological Engineering*, *Vol. 25*(nr 9), 316–327. https://doi.org/10.12911/22998993/190685

Alberts, B., Heald, R., Johnson, A. (Alexander D.), Morgan, D., Raff, M. C., Roberts, K., Walter, P. (Professor), Wilson, J. H., & Hunt, T. (2002). *Molecular biology of the cell* (4th Edition). Garland Science.

Almeida Rodrigues, A., Almeida Rodrigues, D., de Fátima Sales, J., Carvalho Vasconcelos Filho, S., Carlos Costa, A., Lino Rodrigues, C., Alves da Silva, A., Domingos, M., & Müller, C. (2022). Morphoanatomical, Physiological, and Biochemical Indicators in Lactuca sativa L. Germination and Growth in Response to Fluoride. *Plants*, *11*(23), 3406. https://doi.org/10.3390/PLANTS11233406/S1

Almeida, T. da R., Carvalho, L. V. B. de, Brito, M., & Kujbida, P. (2025). A INVISIBILIDADE DOS CONTAMINANTES EMERGENTES: DESAFIOS NO MONITORAMENTO E REGULAMENTAÇÃO. *Recursos Hídricos: Abordagens Interdisciplinares*, 185–211. https://doi.org/10.37885/251020522

An, Z., Dong, Q., Lu, Y., Ma, C., Wang, H., & Liu, Y. (2025). Evaluation of the treatment effects of pesticide production wastewater under direct and indirect discharge modes. *Environmental Sciences Europe*, *37*(1), 62-. https://doi.org/10.1186/S12302-025-01108-7/TABLES/4

Andreozzi, R., Campanella, L., Fraysse, B., Garric, J., Gonnella, A., Lo Giudice, R., Marotta, R., Pinto, G., & Pollio, A. (2004). Effects of advanced oxidation processes (AOPs) on the toxicity of a mixture of pharmaceuticals. *Water Science and Technology*, *50*(5), 23–28. https://doi.org/10.2166/WST.2004.0304

Antonio da Silva, D., Pereira Cavalcante, R., Batista Barbosa, E., Machulek Junior, A., César de Oliveira, S., & Falcao Dantas, R. (2021). Combined AOP/GAC/AOP systems for secondary effluent polishing: Optimization, toxicity and disinfection. *Separation and Purification Technology*, *263*, 118415. https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2021.118415

Arsand, J. B., Dallegrave, A., Jank, L., Feijo, T., Perin, M., Hoff, R. B., Arenzon, A., Gomes, A., & Pizzolato, T. M. (2023). Spatial-temporal occurrence of contaminants of emerging concern in urban rivers in southern Brazil.

Chemosphere, *311*, 136814. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.136814

Arsand, J. B., Hoff, R. B., Jank, L., Dallegrave, A., Galeazzi, C., Barreto, F., & Pizzolato, T. M. (2018). Wide-Scope Determination of Pharmaceuticals and Pesticides in Water Samples: Qualitative and Confirmatory Screening Method Using LC-qTOF-MS. *Water, Air, and Soil Pollution*, *229*(12), 1–20. https://doi.org/10.1007/S11270-018-4036-2/FIGURES/4

Asghar, A., Lutze, H. V., Tuerk, J., & Schmidt, T. C. (2022). Influence of water matrix on the degradation of organic micropollutants by ozone based processes: A review on oxidant scavenging mechanism. *Journal of Hazardous Materials*, *429*, 128189. https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2021.128189

Asif, M. B., Nadeem Baig, ·, Mohamed, ·, Abdallah, A.-E., & Asif, M. B. (2026). *A Perspective on Quaternary Treatments for Micropollutant Elimination in Urban Wastewater Treatment Plants*. https://doi.org/10.1007/s41748-026-01086-7

Batucan, N. S. P., Tremblay, L. A., Northcott, G. L., & Matthaei, C. D. (2022). Medicating the environment? A critical review on the risks of carbamazepine, diclofenac and ibuprofen to aquatic organisms. *Environmental Advances*, *7*, 100164. https://doi.org/10.1016/J.ENVADV.2021.100164

Beltrán, F. J., & Rey, A. (2018). Free Radical and Direct Ozone Reaction Competition to Remove Priority and Pharmaceutical Water Contaminants with Single and Hydrogen Peroxide Ozonation Systems. *Ozone: Science & Engineering*, *40*(4), 251–265. https://doi.org/10.1080/01919512.2018.1431521

Belz, R. G., Cedergreen, N., & Sørensen, H. (2008). Hormesis in mixtures — Can it be predicted? *Science of The Total Environment*, *404*(1), 77–87. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2008.06.008

Benner, J., Salhi, E., Ternes, T., & von Gunten, U. (2008). Ozonation of reverse osmosis concentrate: Kinetics and efficiency of beta blocker oxidation. *Water Research*, *42*(12), 3003–3012. https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2008.04.002

Benner, J., & Ternes, T. A. (2009). Ozonation of propranolol: Formation of oxidation products. *Environmental Science and Technology*, *43*(13), 5086–5093. https://doi.org/10.1021/ES900282C

Bilińska, L., Gmurek, M., & Ledakowicz, S. (2016). Comparison between industrial and simulated textile wastewater treatment by AOPs – Biodegradability, toxicity and

cost assessment. *Chemical Engineering Journal*, *306*, 550–559. https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2016.07.100

Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D. S., Popescu, A., Romanovsky, A. V., Schiff, S., Ślusarczyk, J., de Souza, C. P., Srivastava, A., Sutan, A., & Papini, A. (2018). An evaluation for the standardization of the Allium cepa test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*, *71*(3), 191–209. https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

Boonrattanakij, N., Lu, M. C., & Anotai, J. (2009). Kinetics and mechanism of 2,6-dimethyl-aniline degradation by hydroxyl radicals. *Journal of Hazardous Materials*, *172*(2–3), 952–957. https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2009.07.079

BRASIL. (2005). *RESOLUÇÃO CONAMA N° 357*. Conselho Nacional do Meio Ambiente.

Campagna-Fernandes, A. F., Marin, E. B., & Penha, T. H. F. L. (2016). Application of Root Growth Endpoint in Toxicity Tests With Lettuce (Lactuca sativa). *Ecotoxicology and Environmental Contamination*, *11*(1), 27–32. https://doi.org/10.5132/EEC.2016.01.05

Canatto, A. K., da Silva, T. F., dos Santos Machado, B., Gozzi, F., de Brito, D. A. S., Nazário, C. E. D., Filho, F. J. C. M., Cavalheri, P. S., de Oliveira, S. C., & Junior, A. M. (2024). Ozonation process at neutral pH integrated with anaerobic treatment system to methylparaben removal. *Journal of Water Process Engineering*, *64*, 105741. https://doi.org/10.1016/J.JWPE.2024.105741

Carlos De Oliveira, J., Diego, R., Guillen, M., De, D., & Silva, S. (2022). Portaria nº 888, de 04 de maio de 2021 do ministério da saúde: o ponto de partida para enfrentamento aos contaminantes emergentes . *Brazilian Journal of Development*, *4*, 30890–30901. https://doi.org/10.34117/bjdv8n4-530

Castañeda-Retavizca, K. J., O'Dowd, K., Jambrina-Hernández, E., Nahim-Granados, S., Plaza-Bolaños, P., Malato, S., Polo-López, M. I., Pillai, S. C., & Oller, I. (2025). Urban wastewater treatment by ozonation: Disinfection by-products and toxicity assessment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *13*(2), 115970. https://doi.org/10.1016/J.JECE.2025.115970

Chaturvedi, P., Shukla, P., Giri, B. S., Chowdhary, P., Chandra, R., Gupta, P., & Pandey, A. (2021). Prevalence and hazardous impact of pharmaceutical and

personal care products and antibiotics in environment: A review on emerging contaminants. *Environmental Research*, *194*, 110664. https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2020.110664

Chaves, M. de J. S., Barbosa, S. C., Malinowski, M. de M., Volpato, D., Castro, Í. B., Franco, T. C. R. dos S., & Primel, E. G. (2020). Pharmaceuticals and personal care products in a Brazilian wetland of international importance: Occurrence and environmental risk assessment. *Science of The Total Environment*, *734*, 139374. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.139374

Chen, Y. di, Duan, X., Zhou, X., Wang, R., Wang, S., Ren, N. qi, & Ho, S. H. (2021). Advanced oxidation processes for water disinfection: Features, mechanisms and prospects. *Chemical Engineering Journal*, *409*, 128207. https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2020.128207

Cruz-Hernández, A. de la, Roa-Morales, G., Barrera-Díaz, C. E., Tapia-López, L., Del Río Galván, C. P., & Palomar-Pardavé, M. E. (2026). Application of Simultaneous Chemical and Electrochemical Oxidation Treatment (O3–EO) in River Water and Its Pollutant and Phytotoxicity Evaluation. *Catalysts*, *16*(5), 486. https://doi.org/10.3390/CATAL16050486/S1

da Silva, T. C., Martins, K. G., de Vasconcelos, E. C., Leite, B. Z., de Assis, T. M., & Barana, A. C. (2025). Use of Allium Cepa Test in the Ecotoxicological Evaluation of Sanitary Sewage at Different Stages of Treatment in Two Municipal Wastewater Treatment Plants (WWTP). *Water, Air, and Soil Pollution*, *236*(6), 338-. https://doi.org/10.1007/S11270-025-07985-1/FIGURES/2

Dantas, R. F., Sans, C., & Esplugas, S. (2011). Ozonation of Propranolol: Transformation, Biodegradability, and Toxicity Assessment. *Journal of Environmental Engineering*, *137*(8), 754–759. https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000377/ASSET/D4852BFE-C0BE-46EB-86F8-89D1495917A1/ASSETS/IMAGES/LARGE/7.JPG

Das, P. P., Dhara, S., Samanta, N. S., & Purkait, M. K. (2024). Advancements on ozonation process for wastewater treatment: A comprehensive review. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, *202*, 109852. https://doi.org/10.1016/J.CEP.2024.109852

de Carvalho Costa, L. R., Toffoli de Oliveira, J., & Amaral Féris, L. (2025). Optimization of a Compact Corona Discharge Ozone Generator for Emergency Water

Treatment in Brazil. *Water 2025, Vol. 17, Page 2430*, *17*(16), 2430. https://doi.org/10.3390/W17162430

de Oliveira, J. T., de Carvalho Costa, L. R., Cardoso Estumano, D., & Féris, L. A. (2025). Applying Bayesian statistics and MCMC to ozone reaction kinetics: Implications for water treatment models. *Chemosphere*, *373*, 144164. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2025.144164

Dias, M. S., Junior, E. P. V., Dos Santos, B. C., Martins, F. A., DE ALMEIDA, P. M., & Peron, A. P. (2021). Cytogenotoxicity and protective effect of piperine and capsaicin on meristematic cells of *Allium cepa* L. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, *93*, e20201772. https://doi.org/10.1590/0001-3765202120201772

Duarte, N. S., Knupp, V., Samanamud, G. L., Amaral, M. S., Lofrano, R. C. Z., Simão, H. C. M., Manhice, M. A., Barbosa, T. P., de Paula, G. G. P., da Silva, J. I. S., Gomide, F., & Naves, F. L. (2026). Modeling and Optimization of a Combined Ozonation and Microalgae Cultivation Process using Nutrients from Landfill Leachate. *Waste and Biomass Valorization*, 1–17. https://doi.org/10.1007/S12649-025-03472-0/FIGURES/13

Eniola, J. O., Kumar, R., Barakat, M. A., & Rashid, J. (2022). A review on conventional and advanced hybrid technologies for pharmaceutical wastewater treatment. *Journal of Cleaner Production*, *356*, 131826. https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2022.131826

Feng, W., Deng, Y., Yang, F., Miao, Q., & Ngien, S. K. (2023). Systematic Review of Contaminants of Emerging Concern (CECs): Distribution, Risks, and Implications for Water Quality and Health. *Water 2023, Vol. 15, Page 3922*, *15*(22), 3922. https://doi.org/10.3390/W15223922

Fiskesjö, G. (1985). The Allium test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, *102*(1), 99–112. https://doi.org/10.1111/J.1601-5223.1985.TB00471.X

Gabet-Giraud, V., Miège, C., Choubert, J. M., Ruel, S. M., & Coquery, M. (2010). Occurrence and removal of estrogens and beta blockers by various processes in wastewater treatment plants. *Science of The Total Environment*, *408*(19), 4257–4269. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2010.05.023

Garcia Bayard, Liane Rose. Menino Deus. Porto Alegre: PROCEMPA; Prefeitura de Porto Alegre, 2019. Disponível em: https://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/observatorio/usu_doc/bairro_menino_deus_oficiall.pdf. Acesso em: 19 jul. 2026.

Garcia Bayard, Liane Rose. Agronomia. Porto Alegre: PROCEMPA; Prefeitura de Porto Alegre, 2019. Disponível em: https://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/observatorio/usu_doc/bairro_agronomia_oficiall.pdf. Acesso em: 19 jul. 2026.

Garcia Bayard, Liane Rose. Azenha. Porto Alegre: PROCEMPA; Prefeitura de Porto Alegre, 2019. Disponível em: https://lproweb.procempa.com.br/pmpa/prefpoa/observatorio/usu_doc/bairro_azenha_oficiall.pdf. Acesso em: 19 jul. 2026.

Giltrow, E., Eccles, P. D., Winter, M. J., McCormack, P. J., Rand-Weaver, M., Hutchinson, T. H., & Sumpter, J. P. (2009). Chronic effects assessment and plasma concentrations of the β-blocker propranolol in fathead minnows (Pimephales promelas). *Aquatic Toxicology*, *95*(3), 195–202. https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2009.09.002,

Gottschalk, C., Libra, J. A., & Saupe, A. (2010). Ozonation of Water and Waste Water: A Practical Guide to Understanding Ozone and its Applications: Second Edition. *Ozonation of Water and Waste Water: A Practical Guide to Understanding Ozone and its Applications: Second Edition*. https://doi.org/10.1002/9783527628926

Gowekar, N. M., & Wadher, S. J. (2017). Development and validation of HPLC method for simultaneous determination of lidocaine and prilocaine in topical formulation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *10*(10), 179–182. https://doi.org/10.22159/AJPCR.2017.V10I10.15162

Gulde, R., Clerc, B., Rutsch, M., Helbing, J., Salhi, E., McArdell, C. S., & von Gunten, U. (2021). Oxidation of 51 micropollutants during drinking water ozonation: Formation of transformation products and their fate during biological post-filtration. *Water Research*, *207*, 117812. https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2021.117812

Han, W. R., Wang, W. L., Yang, Z. W., Su, H., Xu, C. X., & Wu, Q. Y. (2022). Toxicity and assimilability evolution of oxidation byproducts during ozonation of trace organic contaminants. *Journal of Cleaner Production*, *381*, 134879. https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2022.134879

Harish, H., & Jegatheesan, V. (2025). A Review of Sources, Worldwide Legislative Measures and the Factors Influencing the Treatment Technologies for Contaminants of Emerging Concern (CECs). *Current Pollution Reports*, *11*(1), 44-. https://doi.org/10.1007/S40726-025-00357-7/TABLES/5

Hasan, S., Hossain, M. A., Masud, M. A. Al, Terry, L. G., & Shin, W. S. (2026). Competitive degradation of binary antibiotics by using pulp and paper sludge-derived carbon as persulfate activator. *Separation and Purification Technology*, *393*, 137223. https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2026.137223

Hejna, M., Kapuścińska, D., & Aksmann, A. (2022). Pharmaceuticals in the Aquatic Environment: A Review on Eco-Toxicology and the Remediation Potential of Algae. *International Journal of Environmental Research and Public Health 2022, Vol. 19, Page 7717*, *19*(13), 7717. https://doi.org/10.3390/IJERPH19137717

Hernández-Tenorio, R., Gaspar-Ramírez, O., Aba-Guevara, C. G., González-Juaréz, E., Guzmán Mar, J. L., & Hinojosa-Reyes, L. (2024). Toxicological and environmental risks of enalapril and their possible transformation products generated under phototransformation reactions. *Toxicology Reports*, *13*, 101796. https://doi.org/10.1016/J.TOXREP.2024.101796

Kanakaraju, D., Glass, B. D., & Oelgemöller, M. (2018). Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: A review. *Journal of Environmental Management*, *219*, 189–207. https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2018.04.103

Kane, S. P. ClinCalc DrugStats Database, Version 2024.08. ClinCalc, 7 ago. 2024. Disponível em: hPTTs://clincalc.com/DrugStats. Acesso em: 13 maio 2025.

Kayode-Afolayan, S. D., Ahuekwe, E. F., & Nwinyi, O. C. (2022). Impacts of pharmaceutical effluents on aquatic ecosystems. *Scientific African*, *17*, e01288. https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2022.E01288

Kern, D. I., Schwaickhardt, R. de O., Mohr, G., Lobo, E. A., Kist, L. T., & Machado, Ê. L. (2013). Toxicity and genotoxicity of hospital laundry wastewaters treated with photocatalytic ozonation. *Science of The Total Environment*, *443*, 566–572. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2012.11.023

Kharel, S., Tentscher, P. R., & Bester, K. (2024). Effects of water quality and ozone dosing on reaction pathways and ozonation products on the example of tramadol- and venlafaxine N-oxide. *Chemical Engineering Journal*, *497*, 154622. https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2024.154622

Koli, M., Bhavana Kanwar, ·, Swatantra, ·, & Singh, P. (2025). *Impact of operating parameters on the electrooxidation of methylene blue and ciprofloxacin: a comprehensive analysis and degradation pathway*. *32*, 4656–4669. https://doi.org/10.1007/s11356-025-35992-6

Kostrubiak, M., Vatovec, C. M., Dupigny-Giroux, L. A., Rizzo, D. M., Paganelli, W. C., & Tsai, M. H. (2020). Water Pollution and Environmental Concerns in Anesthesiology. *Journal of Medical Systems*, *44*(9), 1–7. https://doi.org/10.1007/S10916-020-01634-2/TABLES/1

Kubiak, A. (2025). A scalable IoT-controlled photocatalytic system for pharmaceutical removal in real wastewater treatment applications. *Chemical Engineering Journal*, *518*, 164709. https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2025.164709

Lambert, F. N., Vivian, D. N., Raimondo, S., Tebes-Stevens, C. T., & Barron, M. G. (2022). Relationships Between Aquatic Toxicity, Chemical Hydrophobicity, and Mode of Action: Log Kow Revisited. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *83*(4), 326–338. https://doi.org/10.1007/S00244-022-00944-5,

Lee, Y., Kovalova, L., McArdell, C. S., & von Gunten, U. (2014). Prediction of micropollutant elimination during ozonation of a hospital wastewater effluent. *Water Research*, *64*, 134–148. https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2014.06.027

Leme, D. M., & Marin-Morales, M. A. (2009). Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, *682*(1), 71–81. https://doi.org/10.1016/J.MRREV.2009.06.002

Leontieff, D. A., Ikehata, K., Inanaga, Y., & Furukawa, S. (2025). Ozone for Industrial Wastewater Treatment: Recent Advances and Sector Applications. *Processes 2025, Vol. 13, Page 2331*, *13*(8), 2331. https://doi.org/10.3390/PR13082331

Liao, Y., Wang, L., Tian, Y., Li, J., Zhou, Q., Li, A., Hua, M., & Pan, Y. (2025). Effects of ozonation-enhanced coagulation on effluent organic matter and disinfection byproducts. *Journal of Cleaner Production*, *490*, 144801. https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2025.144801

Lim, S., Shi, J. L., von Gunten, U., & McCurry, D. L. (2022). Ozonation of organic compounds in water and wastewater: A critical review. *Water Research*, *213*, 118053. https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2022.118053

Liman, R., Akyil, D., Eren, Y., & Konuk, M. (2010). Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and Allium test. *Chemosphere*, *80*(9), 1056–1061. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2010.05.011

López-Vinent, N., Cruz-Alcalde, A., Giménez, J., & Esplugas, S. (2021). Mixtures of chelating agents to enhance photo-Fenton process at natural pH: Influence of wastewater matrix on micropollutant removal and bacterial inactivation. *Science*

of The Total Environment, *786*, 147416. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.147416

Ma, D., Yi, H., Lai, C., Liu, X., Huo, X., An, Z., Li, L., Fu, Y., Li, B., Zhang, M., Qin, L., Liu, S., & Yang, L. (2021). Critical review of advanced oxidation processes in organic wastewater treatment. *Chemosphere*, *275*, 130104. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.130104

Mendes da Silva, L., & Andrade–Vieira, L. F. (2025). Ecotoxicological bioassays with terrestrial plants: a holistic view of standards, guidelines, and protocols. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, *28*(3), 183–221. https://doi.org/10.1080/10937404.2024.2440876

Meyer, C., McArdell, C. S., Fenner, K., Joss, A., & Hollender, J. (2025). Comparing the abatement of pharmaceuticals and their human metabolites in wastewater treatment plants – Insights from biological and advanced treatment stages. *Water Research*, *285*, 123983. https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2025.123983

Mirnasab, M. A., Hashemi, H., Samaei, M. R., & Azhdarpoor, A. (2021). Advanced removal of water NOM by Pre-ozonation, Enhanced coagulation and Bio-augmented Granular Activated Carbon. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *18*(10), 3143–3152. https://doi.org/10.1007/S13762-020-03039-7/FIGURES/9

Mišík, M., Knasmueller, S., Ferk, F., Cichna-Markl, M., Grummt, T., Schaar, H., & Kreuzinger, N. (2011). Impact of ozonation on the genotoxic activity of tertiary treated municipal wastewater. *Water Research*, *45*(12), 3681–3691. https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2011.04.015

Montiel-Mora, J. R., Méndez-Rivera, M., Ramírez-Morales, D., Cambronero-Heinrichs, J. C., & Rodríguez-Rodríguez, C. E. (2024). Toxicity of selected pharmaceuticals and their mixtures to the aquatic indicators Daphnia magna and Aliivibrio fischeri. *Ecotoxicology*, *33*(9), 1047–1061. https://doi.org/10.1007/S10646-024-02798-0/TABLES/4

Morin-Crini, N., Lichtfouse, E., Fourmentin, M., Ribeiro, A. R. L., Noutsopoulos, C., Mapelli, F., Fenyvesi, É., Vieira, M. G. A., Picos-Corrales, L. A., Moreno-Piraján, J. C., Giraldo, L., Sohajda, T., Huq, M. M., Soltan, J., Torri, G., Magureanu, M., Bradu, C., & Crini, G. (2022). Removal of emerging contaminants from wastewater using advanced treatments. A review. *Environmental Chemistry Letters 2022 20:2*, *20*(2), 1333–1375. https://doi.org/10.1007/S10311-021-01379-5

Mubarak, N. M. (2026). Environmental monitoring and assessment 2026: Emerging contamination in developing countries, treatment technologies, and public health current opinion in environmental science & health. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, *50*, 100715. https://doi.org/10.1016/J.COESH.2026.100715

Munazir, M., Kausar, N., Qureshi, R., Anwar, T., Qureshi, H., Ali, S., El-Beltagi, H. S., Alotaibi, M. S., Bazarbayeva, D., Alsudays, I. M., Alamer, K. H., Urmanova, M., Bakhrom, J., Rebouh, N. Y., & Shah, M. A. (2026). Differential morphological, physiological, and antioxidant responses of Allium cepa and Allium sativum to untreated municipal wastewater. *Scientific Reports 2026*. https://doi.org/10.1038/s41598-026-50486-2

Nishmitha, P. S., Akhilghosh, K. A., Aiswriya, V. P., Ramesh, A., Muthuchamy, M., & Muthukumar, A. (2025). Understanding emerging contaminants in water and wastewater: A comprehensive review on detection, impacts, and solutions. *Journal of Hazardous Materials Advances*, *18*, 100755. https://doi.org/10.1016/J.HAZADV.2025.100755

OECD/OCDE 208 OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. (2006).

Ofori, S., Puškáčová, A., Růžičková, I., & Wanner, J. (2021). Treated wastewater reuse for irrigation: Pros and cons. *Science of The Total Environment*, *760*, 144026. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.144026

Ortiz de García, S., García-Encina, P. A., & Irusta-Mata, R. (2017). The potential ecotoxicological impact of pharmaceutical and personal care products on humans and freshwater, based on USEtox™ characterization factors. A Spanish case study of toxicity impact scores. *Science of The Total Environment*, *609*, 429–445. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.07.148

Perin, M., Dallegrave, A., Suchecki Barnet, L., Zanchetti Meneghini, L., de Araújo Gomes, A., & Pizzolato, T. M. (2021). Pharmaceuticals, pesticides and metals/metalloids in Lake Guaíba in Southern Brazil: Spatial and temporal evaluation and a chemometrics approach. *Science of The Total Environment*, *793*, 148561. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.148561

Phan, L. T., Schaar, H., Saracevic, E., Krampe, J., & Kreuzinger, N. (2022). Effect of ozonation on the biodegradability of urban wastewater treatment plant effluent.

Science of The Total Environment, *812*, 152466. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.152466

Pino, M. R., Muñiz, S., Val, J., & Navarro, E. (2016). Phytotoxicity of 15 common pharmaceuticals on the germination of Lactuca sativa and photosynthesis of Chlamydomonas reinhardtii. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*(22), 22530–22541. https://doi.org/10.1007/S11356-016-7446-Y/TABLES/2

Priac, A., Badot, P. M., & Crini, G. (2017). Treated wastewater phytotoxicity assessment using Lactuca sativa: Focus on germination and root elongation test parameters. *Comptes Rendus Biologies*, *340*(3), 188–194. https://doi.org/10.1016/J.CRVI.2017.01.002

Puri, M., Gandhi, K., & Kumar, M. S. (2023). Emerging environmental contaminants: A global perspective on policies and regulations. *Journal of Environmental Management*, *332*, 117344. https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2023.117344

Rajwa, A., Bialik, R. J., Karpiński, M., & Luks, B. (2014). Dissolved oxygen in rivers: Concepts and measuring techniques. *GeoPlanet: Earth and Planetary Sciences*, *PartF1*, 337–350. https://doi.org/10.1007/978-3-319-07599-0_19/FIGURES/8

Rank, J., & Nielsen, M. H. (1998). Genotoxicity testing of wastewater sludge using the Allium cepa anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *418*(2–3), 113–119. https://doi.org/10.1016/S1383-5718(98)00118-1

Rayaroth, M. P., Aravind, U. K., & Aravindakumar, C. T. (2018). Photocatalytic degradation of lignocaine in aqueous suspension of TiO2 nanoparticles: Mechanism of degradation and mineralization. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, *6*(3), 3556–3564. https://doi.org/10.1016/J.JECE.2017.10.050

Rede, D., Santos, L. H. M. L. M., Ramos, S., Oliva-Teles, F., Antão, C., Sousa, S. R., & Delerue-Matos, C. (2019). Individual and mixture toxicity evaluation of three pharmaceuticals to the germination and growth of Lactuca sativa seeds. *Science of The Total Environment*, *673*, 102–109. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.03.432

Reggiane de Carvalho Costa, L., Beatriz da Luz Arsufi, A., Toffoli de Oliveira, J., & Amaral Féris, L. (2023). Ozonation for oxidation and transformation of pharmaceuticals in Arroio Diluvio River in Southern Brazil. *Ozone: Science & Engineering*, *45*(6), 560–571. https://doi.org/10.1080/01919512.2023.2178383

Reggiane de Carvalho Costa, L., Toffoli de Oliveira, J., Jurado-Davila, V., & Amaral Féris, L. (2024). Caffeine and ampicillin degradation by ozonation: Addressing pathways, performance and eco-toxicity. *Chemical Engineering Science*, *288*, 119817. https://doi.org/10.1016/J.CES.2024.119817

Ribeiro, M., Trevizol, A. P., Frajzinger, R., Ribeiro, A., Speierl, H., Pires, L., Andraus, M., Tsanaclis, L., Alonso, A. L. S., Cordeiro, Q., & Laranjeira, R. (2019). Adulterants in crack cocaine in Brazil. *Trends in Psychiatry and Psychotherapy*, *41*(2), 186–190. https://doi.org/10.1590/2237-6089-2017-0143

Rúa-Gómez, P. C., Guedez, A. A., Ania, C. O., & Püttmann, W. (2012). Upgrading of Wastewater Treatment Plants Through the Use of Unconventional Treatment Technologies: Removal of Lidocaine, Tramadol, Venlafaxine and Their Metabolites. *Water 2012, Vol. 4, Pages 650-669*, *4*(3), 650–669. https://doi.org/10.3390/W4030650

Rúa-Gómez, P. C., & Püttmann, W. (2012). Occurrence and removal of lidocaine, tramadol, venlafaxine, and their metabolites in German wastewater treatment plants. *Environmental Science and Pollution Research*, *19*(3), 689–699. https://doi.org/10.1007/S11356-011-0614-1/TABLES/5

Salazar Mercado, S. A., Quintero Caleño, J. D., & Rojas Suárez, J. P. (2020). Cytogenotoxic effect of propanil using the Lens culinaris Med and Allium cepa L test. *Chemosphere*, *249*, 126193. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.126193

Sales-Alba, A., Cruz-Alcalde, A., López-Vinent, N., Cruz, L., & Sans, C. (2023). Removal of neonicotinoid insecticide clothianidin from water by ozone-based oxidation: Kinetics and transformation products. *Separation and Purification Technology*, *316*, 123735. https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2023.123735

Santos, L. H. M. L. M., Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. B. S. M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, *175*(1–3), 45–95. https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2009.10.100

Saravanan, A., Deivayanai, V. C., Kumar, P. S., Rangasamy, G., Hemavathy, R. V., Harshana, T., Gayathri, N., & Alagumalai, K. (2022). A detailed review on advanced oxidation process in treatment of wastewater: Mechanism, challenges and future outlook. *Chemosphere*, *308*, 136524. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.136524

Sobrero, M. C., & Ronco, A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga Lactuca sativa L. Em G. Castillo Morales (Org.), *Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad de Aguas* (1º ed, Vol. 1, p. 71–79). Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.

Song, W., Cooper, W. J., Mezyk, S. P., Greaves, J., & Peake, B. M. (2008). Free radical destruction of β-blockers in aqueous solution. *Environmental Science and Technology*, *42*(4), 1256–1261. https://doi.org/10.1021/ES702245N/SUPPL_FILE/ES702245N-FILE003.PDF

Souza, P. M. S., Sommaggio, L. R. D., Marin-Morales, M. A., & Morales, A. R. (2020). PBAT biodegradable mulch films: Study of ecotoxicological impacts using Allium cepa, Lactuca sativa and HepG2/C3A cell culture. *Chemosphere*, *256*, 126985. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.126985

Strokal, M., Bai, Z., Franssen, W., Hofstra, N., Koelmans, A. A., Ludwig, F., Ma, L., van Puijenbroek, P., Spanier, J. E., Vermeulen, L. C., van Vliet, M. T. H., van Wijnen, J., & Kroeze, C. (2021). Urbanization: an increasing source of multiple pollutants to rivers in the 21st century. *npj Urban Sustainability 2021 1:1*, *1*(1), 1–13. https://doi.org/10.1038/s42949-021-00026-w

Sumpter, J. P., Runnalls, T. J., Donnachie, R. L., & Owen, S. F. (2021a). A comprehensive aquatic risk assessment of the beta-blocker propranolol, based on the results of over 600 research papers. *Science of The Total Environment*, *793*, 148617. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.148617

Sumpter, J. P., Runnalls, T. J., Donnachie, R. L., & Owen, S. F. (2021b). A comprehensive aquatic risk assessment of the beta-blocker propranolol, based on the results of over 600 research papers. *Science of The Total Environment*, *793*, 148617. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.148617

Tavarekere Venkataravanappa, J., Saraswathi, S., Shapur Gopalkrishnashetty, Y., Soman, P., Mitta Lakshminarayana Gupta, N., Srivastava, S., & Kumari, S. (2025). Allium cepa L. as a bioindicator: A comprehensive review of genotoxicity and cytotoxicity assessment methods. *Toxicon*, *267*, 108586. https://doi.org/10.1016/J.TOXICON.2025.108586

Tedesco, S. B., IV, H. D. L., Tedesco, S. B., & IV, H. D. L. (2012). Bioindicator of Genotoxicity: The Allium cepa Test. *Environmental Contamination*. https://doi.org/10.5772/31371

Teksoy, A. (2026). SUVA-Based Modelling of THMFP Under Ozonation Using Regression and ANN Approaches. *Applied Sciences (Switzerland)*, *16*(3), 1256. https://doi.org/10.3390/APP16031256/S1

Toffoli De Oliveira, J. (2025). *Estudo e Modelagem de Processos Contínuos para Remoção de Poluentes Emergentes em Águas Residuais: Ozonização e Adsorção em Leito-Fixo* [UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL]. https://lume.ufrgs.br/handle/10183/300353

Torres-Bugarín, O., Gómez-Ferreyra, I., Contreras-Dueñas, M., Ramos-Ibarra, M. L., Bello-Bedoy, R., Sánchez-González, A., Casillas-Figueroa, F., Ruiz-Ruiz, B., Orozco-Jiménez, K. I., & Arellano-García, M. E. (2026). The Allium cepa Assay as a Versatile Tool for Genotoxicity and Cytotoxicity: Methods, Applications, and Comparative Insight. *Applied Biosciences 2026, Vol. 5, Page 9*, *5*(1), 9. https://doi.org/10.3390/APPLBIOSCI5010009

United States Environmental Protection Agency. (2026). *Estimation Programs Interface Suite™ for Microsoft® Windows, v 4.11*. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA.

Van Ewijk, P. H., & Hoekstra, J. A. (1993). Calculation of the EC50 and Its Confidence Interval When Subtoxic Stimulus Is Present. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *25*(1), 25–32. https://doi.org/10.1006/EESA.1993.1003

Vieira, C., Marcon, C., & Droste, A. (2022). Phytotoxic and cytogenotoxic assessment of glyphosate on *Lactuca sativa* L. *Brazilian Journal of Biology*, *84*, e257039. https://doi.org/10.1590/1519-6984.257039

Von Gunten, U. (2003). Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, *37*(7), 1443–1467. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00457-8

Wang, C., Guo, R., Guo, C., Yin, H., & Xu, J. (2025). Photodegradation of typical psychotropic drugs in the aquatic environment: a critical review. *Environmental Science: Processes & Impacts*, *27*(2), 320–354. https://doi.org/10.1039/D4EM00669K

Wilde, M. L., Montipó, S., & Martins, A. F. (2014). Degradation of β-blockers in hospital wastewater by means of ozonation and Fe2+/ozonation. *Water Research*, *48*(1), 280–295. https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2013.09.039

Witczyńska, A., Fijałkowski, Ł., Mirowska-Guzel, D., Blecharz-Klin, K., & Nowaczyk, A. (2025). Structural and Pharmacological Insights into Propranolol: An Integrated

Crystallographic Perspective. *International Journal of Molecular Sciences 2025, Vol. 26, Page 10080*, *26*(20), 10080. https://doi.org/10.3390/IJMS262010080

Wojnárovits, L., Homlok, R., Kovács, K., Tegze, A., & Takács, E. (2024). Wastewater Characterization: Chemical Oxygen Demand or Total Organic Carbon Content Measurement? *Molecules*, *29*(2), 405. https://doi.org/10.3390/MOLECULES29020405/S1

Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., Honda, Y., Tamura, I., Hirata, Y., Hayashi, A., & Sekizawa, J. (2009). Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. *Water Research*, *43*(2), 351–362. https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2008.10.039

Yang, X., Rosario-Ortiz, F. L., Lei, Y., Pan, Y., Lei, X., & Westerhoff, P. (2022). Multiple Roles of Dissolved Organic Matter in Advanced Oxidation Processes. *Environmental Science and Technology*, *56*(16), 11111–11131. https://doi.org/10.1021/ACS.EST.2C01017/ASSET/IMAGES/MEDIUM/ES2C01017_M021.GIF

Young, B. J., Riera, N. I., Beily, M. E., Bres, P. A., Crespo, D. C., & Ronco, A. E. (2012). Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on Lactuca sativa. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *76*(1), 182–186. https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2011.09.019

Zanni, S., Cammalleri, V., D'Agostino, L., Protano, C., & Vitali, M. (2024). Occurrence of pharmaceutical residues in drinking water: a systematic review. *Environmental Science and Pollution Research 2024 32:16*, *32*(16), 10436–10463. https://doi.org/10.1007/S11356-024-34544-8

Zhang, K., Liu, J., Lv, H., Zeng, X., Ling, Z., Ding, L., & Jin, C. (2025). *Advances in Ozone Technology for Environmental, Energy, Food and Medical Applications*. https://doi.org/10.3390/pr13041126

Zilberman, A., Gozlan, I., & Avisar, D. (2023). Pharmaceutical Transformation Products Formed by Ozonation—Does Degradation Occur? *Molecules*, *28*(3), 1227. https://doi.org/10.3390/MOLECULES28031227/S1

Zoumpouli, G. A., Siqueira Souza, F., Petrie, B., Féris, L. A., Kasprzyk-Hordern, B., & Wenk, J. (2020). Simultaneous ozonation of 90 organic micropollutants including illicit drugs and their metabolites in different water matrices. *Environmental*

Science: Water Research & Technology, *6*(9), 2465–2478. https://doi.org/10.1039/D0EW00260G