

XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

INFLUÊNCIA DO pH NA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO DE ACESSULFAME-K UTILIZANDO OZONIZAÇÃO

**Thiago Atsushi Takashina⁽¹⁾; Danielle Wisniewski Zelinski⁽²⁾; Vanessa Leifeld⁽³⁾; Ellis Szabo⁽⁴⁾;
Arthur Demarco⁽⁵⁾; Gabriela Leon⁽⁶⁾; Tirzhá Lins Porto Dantas⁽⁷⁾; Luciana Igarashi-Mafra⁽⁸⁾**

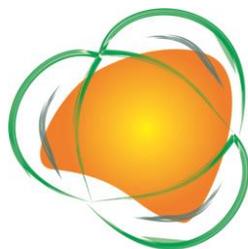
- (1) Doutorando; Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos; Universidade Federal do Paraná; Curitiba, Paraná; thiagotakashina@gmail.com
- (2) Mestranda; Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos; Universidade Federal do Paraná; Curitiba, Paraná; daniwzelinski@gmail.com
- (3) Doutoranda; Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos; Universidade Federal do Paraná; Curitiba, Paraná; vaneleifeld@gmail.com
- (4) Doutoranda; Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas; Universidade Federal do Paraná; Curitiba, Paraná; ellis.szabo@gmail.com
- (5) Graduando; Departamento de Engenharia Química; Universidade Federal do Paraná; Curitiba, Paraná; arthurdemarco96@gmail.com
- (6) Graduanda; Departamento Engenharia Química; Universidade Federal do Paraná; Curitiba, Paraná; gabrielavieiraleon@yahoo.com.br
- (7) Professora, Departamento Engenharia Química; Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná; tirzhá@ufpr.br
- (8) Professora, Departamento Engenharia Química; Universidade Federal do Paraná; Curitiba, Paraná; luciana.igarashi@gmail.com

Eixo Temático: Gerenciamento de resíduos sólidos e líquidos

RESUMO – O presente trabalho teve o objetivo de verificar a influência do pH inicial no processo de ozonização da solução sintética de Acesulfame-K. Os experimentos foram monitorados por espectrofotometria na região UV-Vis utilizando o comprimento de onda 227 nm. A concentração de Acesulfame-K foi monitorada em tempos determinados por HPLC-DAD. Pela absorbância normalizada, pôde-se observar que na solução de Acesulfame-K, em pH 6,0, a velocidade inicial de degradação foi mais lenta ($k_{obs}=0,091 \text{ min}^{-1}$); no entanto, apresentou o maior percentual de degradação. Isso ocorreu porque no início houve uma competição do ozônio pelos mecanismos de oxidação por ataque direto e indireto. Na faixa de pH estudada, a concentração de Acesulfame-K foi reduzida em 99%, em 20 min de ozonização. Bioensaio utilizando *Artemia salina* observou que após a ozonização não houve aumento na toxicidade.

Palavras-chave: *Artemia salina*. Edulcorante. Ozônio.

ABSTRACT - This study aimed to investigate the influence of initial pH in ozonation process of synthetic solution of Acesulfame-K. Experiments were monitored by spectrophotometry in the UV-Vis region using 227 nm wavelength. The concentration of Acesulfame-K was monitored by HPLC-DAD. For normalized absorbance, it can be observed that in Acesulfame-K solution, pH 6.0, initial degradation rate was slower ($k_{obs}=0.091 \text{ min}^{-1}$); however, had the highest percentage of degradation. This was due at the beginning there is a competition for ozone mechanisms for direct and indirect attack. In the pH range studied, concentration of Acesulfame-K decreased to



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

99% in 20 min ozonation. Bioassay using brine shrimp (*A. salina*) noted that after ozonation there was no increase in toxicity.

Keywords: *Artemia salina*. Ozone. Sweeteners.

Introdução

Edulcorantes artificiais são substitutos de açúcares de baixa caloria e são adicionados em alimentos, produtos de higiene pessoal e produtos farmacêuticos. Dentro da classe dos edulcorantes, destaca-se o Acessulfame-K (6-metil-1,2,3-oxatiazina-4(3H)-ona-2,2-dióxido). Em estudos, Acessulfame-K não é metabolizado pelo corpo humano; logo, quando ingerido, é excretado sem degradação. Devido essa característica, estudos de Buerge *et al.* (2009) e Scheurer *et al.* (2009) propuseram o uso de Acessulfame-K como composto indicador para água residuária doméstica. Por sua persistência, sabe-se que os tratamentos convencionais não são eficientes para tratamento de contaminantes orgânicos. Como alternativa de tratamento, destaca-se os Processos Oxidativos Avançados (POA). Dentre vários POAs, a ozonização está sendo utilizada para tratamento de água e se intensificando no tratamento de efluentes. Algumas vantagens na utilização do ozônio são o fato de não haver transferência do poluente para outro meio e não gerar lodo ou residual. A ozonização pode ocorrer por dois mecanismos de reação, direta (O_3) e indireta (radical hidroxila). Apesar de haver muitos estudos utilizando POAs para tratamento de águas residuárias visando a remoção de contaminantes orgânicos e inorgânicos, a oxidação parcial pode resultar na formação de intermediários mais tóxicos que compostos iniciais (Rizzo, 2011). Por isso, testes de toxicidade são fundamentais na investigação de intermediários de reação.

Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a influência do pH inicial para processo de ozonização, monitorando a concentração e a toxicidade de solução sintética de Acessulfame-K.

Material e Métodos

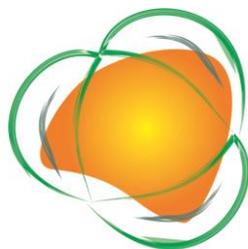
Acessulfame-K

O edulcorante Acessulfame-K foi fornecido pela Lowçucar (Marialva - PR, Brasil) e foi utilizado sem purificação. As soluções de Acessulfame-K utilizadas para os experimentos de ozonização foram preparadas com água destilada. O pH da solução aquosa foi ajustado utilizando soluções de H_2SO_4 (0,1 M) ou NaOH (0,1 M).

Cinética de degradação do Acessulfame-K

A degradação de Acessulfame-K foi estudada em condições de batelada em um reator de vidro encamisado com volume útil de 1 L e a temperatura controlada por um banho termostático (Visomes, V550). O ozônio (O_3) foi gerado a partir do ar ambiente por um ozonizador (O3R). A mistura O_3/O_2 foi borbulhada no reator por um tubo de vidro, cuja extremidade continha um dispersor de gás. A agitação da solução no interior do reator foi realizada por meio de agitador magnético.

O estudo cinético da degradação do Acessulfame-K foi efetuado medindo-se a absorvância em $\lambda = 227$ nm durante os 30 min de reação, utilizando-se um



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

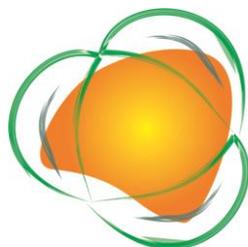
espectrofotômetro de varredura ProAnálise (UV 6100PC). A concentração do Acessulfame-K foi quantificada por HPLC-UV/DAD (Agilent 1200 Series), coluna analítica Zorbax Eclipse XDB-C18 (Agilent), $\lambda = 227$ nm. Foi injetada 10 μ L de amostra, eluída em mistura 94:6 (tampão fosfato de sódio:acetonitrila), vazão 1 mL/min. A ozonização foi efetuada em solução ácida pH 4,0, natural pH 6,0 e solução básica pH 8,0. A concentração inicial de Acessulfame-K foi de 20 mg/L e a concentração inicial de ozônio de 5 mg/L.

Bioensaio

Os testes com *Artemia salina* foram realizados de acordo com a metodologia desenvolvida por Meyer *et al.* (1982). As larvas de *A. salina* foram obtidas após eclosão dos ovos secos em solução salina sintética com aeração por 48 horas. Em seguida, as larvas foram transferidas para tubos Eppendorf (10 larvas/tubo) com diferentes concentrações de meio de reação contendo Acessulfame-K (10, 100, 250, 500 e 1000 mg/L). Após 24h e 48h de incubação, o número de organismos imóveis foi contado e a concentração efetiva 50% (CE₅₀) foi calculada. A percentagem de mortalidade da *A. salina* foi relatada para concentrações do meio da reação antes e após o processo de ozonização e corrigido a salinidade. Controle negativo (água do mar sintética), foi realizado em paralelo. Os testes ocorreram em triplicata.

Resultados e Discussão

Foram registrados os espectros de absorção na região UV-Vis da solução aquosa de Acessulfame-K. O espectro é caracterizado por um pico em 227 nm. A degradação das soluções de Acessulfame-K foi efetuada em função do tempo de ozonização, em diferentes valores de faixa de pH (4,0, 6,0 e 8,0). A Figura 1 mostra a evolução dos espectros de absorção (pH 6,0, natural) durante a ozonização.



XIII Congresso Nacional de
MEIO AMBIENTE
de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

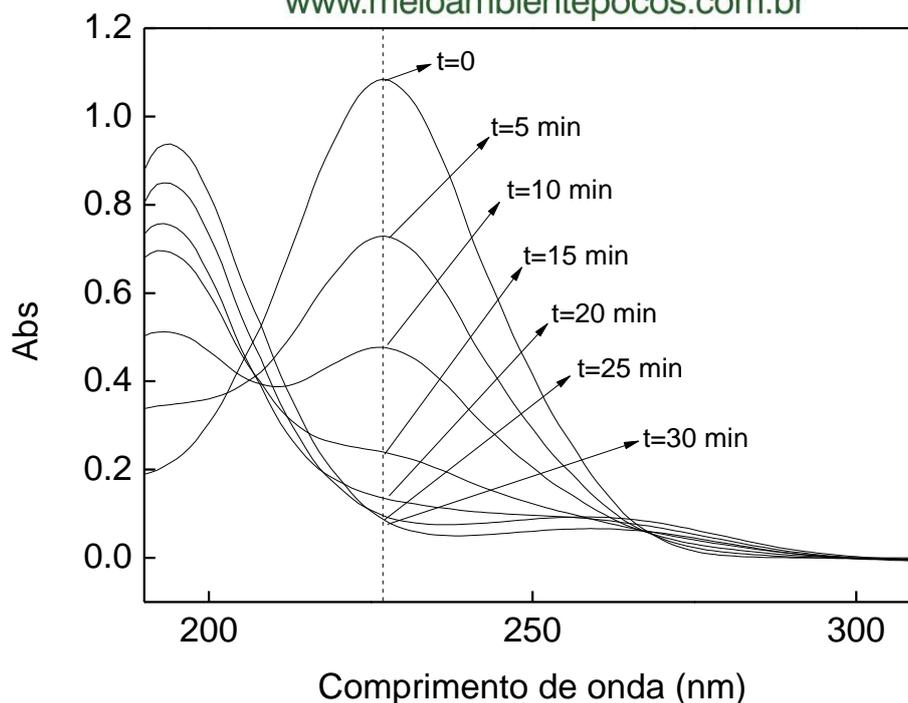
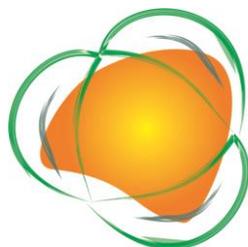
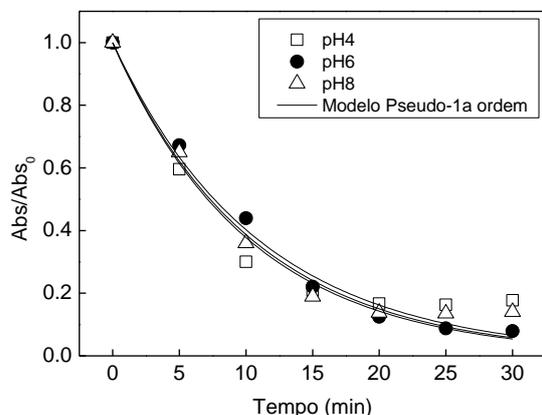


Figura 1 – Influência do tempo de ozonização sobre o espectro de absorção do Acesulfame-K em pH 6,0 (natural), $C_{ACE-K} = 20$ mg/L, $O_3 = 5$ mg/L.

A Figura 2 exibe o efeito do pH sobre a degradação das soluções de Acesulfame-K, (a) perfil cinético do Acesulfame-K por (a) espectrofotometria UV-Vis e (b) HPLC.



(a)



(b)

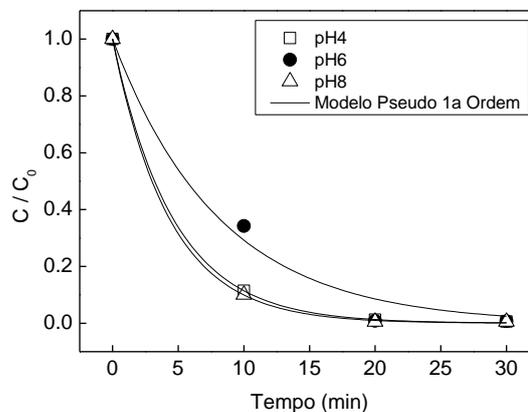


Figura 2 – Ozonização $C_{ACE-K} = 20$ mg/L, $O_3 = 5$ mg/L, pH inicial (4,0, 6,0 e 8,0).
 (a) Perfil cinético do ACESSulfame-K por espectrofotometria UV-Vis ($\lambda = 227$ nm);
 (b) Perfil cinético da concentração do ACESSulfame-K por HPLC-DAD.

Os dados de degradação de ACESSulfame-K apresentaram um decaimento exponencial das medidas de absorvância no comprimento de onda 227 nm e também da concentração de ACESSulfame-K por HPLC. Utilizou-se modelo de pseudo-primeira ordem [Eq.(1)], para obter as constantes cinéticas.

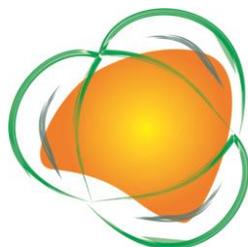
$$\frac{Abs}{Abs_0} = e^{-k_{obs} \cdot t} \text{ ou } \frac{C}{C_0} = e^{-k_{obs} \cdot t} \quad (1)$$

A Tabela 1 apresenta os valores das constantes cinéticas observadas (k_{obs}) e coeficiente de determinação para modelo de pseudo-primeira ordem para absorvância normalizada (UV-Vis) e para a concentração normalizada de ACESSulfame-K (HPLC).

Tabela 1 – Ajuste do modelo de pseudo-primeira ordem para ozonização da solução de ACESSulfame-K.

pH	UV-Vis		HPLC	
	k_{obs} (min^{-1})	R^2	k_{obs} (min^{-1})	R^2
4,0	0,0974	0,9525	0,2167	0,9999
6,0	0,0909	0,9921	0,1229	0,9866
8,0	0,0949	0,9807	0,2308	0,9999

Pela Tabela 1, observou-se que as constantes cinéticas para solução pH 6,0 (natural) apresentaram menores valores $k_{obs} = 0,091 \text{ min}^{-1}$ (UV-Vis) e $k_{obs} = 0,123 \text{ min}^{-1}$ (HPLC). Pela Figura 2(a), monitoramento por espectrofotometria UV-Vis, na solução pH 6,0, a velocidade de degradação nos instantes iniciais (10 minutos) foi mais lenta. No entanto, após 15 minutos de ozonização, a condição pH 6,0

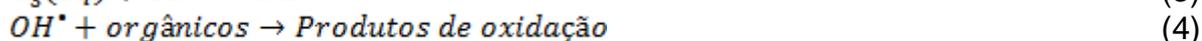
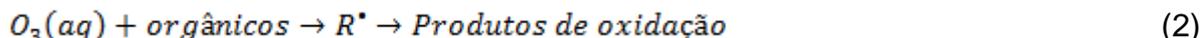


XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

apresentou maior degradação ao longo do tempo em relação ao pH 4,0 e pH 8,0. Na Figura 2(b), observou-se que a diminuição da concentração de Acessulfame-K foi mais lenta para pH 6,0. Em 20 minutos de ozonização, para os três experimentos, houve diminuição da concentração de Acessulfame-K acima de 99%.

A reação de oxidação utilizando ozônio pode ocorrer por dois mecanismos, por ataque direto de ozônio (O_3) nas condições ácidas [Eq. (2)] e por ataque indireto (OH^*) nas condições alcalinas [Eqs. (3,4)].



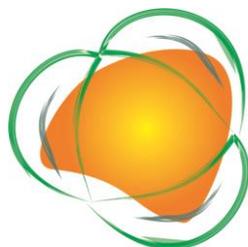
Na solução de Acessulfame-K pH 4,0, a oxidação ocorreu pelo mecanismo de ataque direto de O_3 , enquanto para solução pH 8,0, a oxidação ocorreu pelo mecanismo de ataque indireto, ou seja, radicais hidroxila. Logo, na solução pH 6,0 (natural), a oxidação ocorreu pelos dois mecanismos, no início da reação pode haver competição do ozônio, refletindo na menor velocidade no início. No entanto, para 30 minutos de reação, a contribuição dos dois mecanismos apresentou maior degradação pelo valor absorvância normalizada.

Além dos ensaios físico-químicos, foi realizado o teste de toxicidade com *Artemia salina*. A concentração efetiva (CE_{50}) do dodecilsulfato de sódio (SDS) foi em torno de 23 mg/L. Isso demonstra que os náuplios estavam com sensibilidade padronizada, evitando resultados falsamente exacerbados ou atenuados. Em relação a toxicidade do Acessulfame-K, foi avaliado a faixa de concentração 10 – 1000 mg/L. Aplicando-se o método Probit, foi observado que $CE_{50} > 1000$ mg/L. Segundo Meyer *et al.* 1982, pode-se concluir que o acessulfame-K é considerado não tóxico.

Pela Tabela 2, foram analisadas amostras da solução Acessulfame-K 20 mg/L e amostras tratadas por ozonização por 30 min, pH inicial 4,0, 6,0 e 8,0. Pode-se concluir que a ozonização não apresentou mortalidade para *Artemia salina*, independentemente do tempo de exposição (24 e 48h).

Tabela 2 - Teste de toxicidade com *Artemia salina* em solução sintética de Acessulfame-K bruto e após 30 min de ozonização.

Tratamento	Razão de <i>A. salina</i> vivas e número total de <i>A. salina</i>	
	24 h	48 h
Controle negativo	30/30	28/30
Ace-K S/ tratamento	30/30	28/30
Ace-K pH 4,0	30/30	30/30
Ace-K pH 6,0	30/30	29/30
Ace-K pH 8,0	30/30	29/30



XIII Congresso Nacional de **MEIO AMBIENTE** de Poços de Caldas

www.meioambientepocos.com.br

Conclusões

O estudo cinético da degradação do Acesulfame-K em função do tempo de ozonização, efetuadas em faixas diferentes de pH, revelaram que a ozonização se constitui num processo eficiente para faixa 4,0 a 8,0. Em solução pH 6,0 (natural), no início da reação, a velocidade de degradação foi mais lenta, provavelmente pela competição do ozônio pelos mecanismos direto e indireto. Para 30 min em pH 6,0, foi observado maior percentual de degradação em relação ao pH 4,0 e pH 8,0, ou seja, a contribuição dos dois mecanismos fez com que apresentasse maior percentual de degradação. Em 20 minutos de ozonização, na faixa de pH em estudo, houve redução da concentração de Acesulfame-K de 99%.

Nos testes de toxicidade para a solução sintética de Acesulfame-K, obteve-se uma $CE_{50} > 1000$ mg/L, logo, pode-se concluir que a solução não apresenta toxicidade. Com o tratamento de ozonização, independente de pH inicial, não apresentou mortalidade para *Artemia salina*, independente dos tempos de exposição.

Referências Bibliográficas

BUERGE, I. J.; BUSER, H.-R.; KAHLE, M.; MÜELLER, M. D.; POIGER, T. Ubiquitous Occurrence of the Artificial Sweetener Acesulfame in the Aquatic Environment: An Ideal Chemical Marker of Domestic Wastewater in Groundwater. *Environmental Science & Technology*, v. 43, n. 12, p. 4381–4385, 2009. Disponível em:

<<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=8gh&AN=42998923&site=ehost-live>>.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; et al. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, v. 45, p. 35–36, 1982.

RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. *Water Research*, v. 45, n. 15, p. 4311–4340, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2011.05.035>>.

SCHEURER, M.; BRAUCH, H. J.; LANGE, F. T. Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 394, n. 6, p. 1585–1594, 2009.