Eliane Sloboda Rigobello

**AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE DICLOFENACO E FORMAÇÃO DE
SUBPRODUTOS EM TRATAMENTO DE ÁGUA**

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Eny Maria Vieira

São Carlos
2012

*Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao
Usuário do SBI/IQSC*

Rigobello, Eliane Sloboda

Avaliação da remoção de diclofenaco e formação de subprodutos em
tratamento de água. / Eliane Sloboda Rigobello. -- São Carlos, 2012.
259 p.

Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) – Instituto de
Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2012.
Edição revisada

Orientadora: Profa. Dra. Eny Maria Vieira

1. Diclofenaco. 2. Subprodutos do diclofenaco. . 3. Tratamento de
água. 4. Cloro. 5. Dióxido de cloro. 6. Validação de método. 7.
Cromatografia líquida-espectrometria de massas (LC-MS). I. Título.

*Referências Bibliográficas
conferidas pelo SBI/IQSC*

A Deus.

Aos meus pais Stefano (*in memorian*, 1988) e Anna (*in memorian*, 2012) pela vida, orações, amor e educação.

Ao meu esposo Ronaldo, pelo amor, carinho, compreensão e apoio durante este trabalho.

Você que habita ao amparo do altíssimo, e vive à sombra do onipotente,
diga ao senhor: “Meu refúgio, minha fortaleza, meu Deus, em confio em ti”.

Ele livrará você do laço do caçador e da peste destruidora.

Ele o cobrirá com suas penas, e debaixo de suas asas você se refugiará.

O braço dele é escudo e armadura.

Você não temerá o terror da noite, nem a flecha que voa de dia.

Ele ordenou a seus anjos que guardem você em seus caminhos.

Eles o levarão nas mãos, para que o seu pé não tropece em nenhuma pedra.

(Trechos do Salmo 91)

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pela vida, saúde, força, iluminação e oportunidade de realizar este trabalho.

À prof.^a Eny Maria Vieira, pela confiança, amizade e orientação durante o doutorado.

À prof.^a Angela Di Bernardo Dantas, pela parceria, amizade, apoio e efetiva coorientação no desenvolvimento deste trabalho.

Ao prof. Luiz Di Bernardo, pelas contribuições no exame de qualificação e no desenvolvimento deste trabalho e por ter cedido os equipamentos e o laboratório para a realização deste trabalho.

À CAPES, pela bolsa de estudo.

À FAPESP, pelo auxílio financeiro.

Ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, pelo suporte técnico e conhecimentos adquiridos.

Ao Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos, pela permissão de uso do laboratório durante o doutorado.

Ao prof. Vitor Hugo Polisel Paccès, pelos esclarecimentos prestados sobre validação de métodos.

Ao prof. Marcos Roberto de Vasconcelos Lanza, pela participação e contribuições no exame de qualificação.

À prof.^a Regina V. Oliveira e a pós-doutoranda Bianca Ferreira da Silva da UFSCar pela colaboração nas análises de LC-MS/MS.

Ao prof. Eduardo Bessa Azevedo, pela amizade e ensinamentos.

Ao prof. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro, pela oportunidade e experiência adquirida durante a participação do estágio do programa de aperfeiçoamento em ensino (PAE) junto à disciplina de Química Analítica Quantitativa Teórica e apoio durante o meu doutorado.

À Gislei (secretária do grupo DQFM), pela amizade, atenção e grandiosa ajuda nas partes burocráticas.

Aos técnicos Júlio e Paulo do laboratório de saneamento da EESC, pela amizade, ajuda e permissão de uso dos equipamentos.

Ao técnico Francisco (Chico) do Departamento de Hidráulica e Saneamento, pela ajuda na montagem dos equipamentos no laboratório.

Aos funcionários do IQSC, Silvia, Andréia e Gustavo (Pós-graduação), Vanessa e Marcos (Financeiro), Eliana (PAE), Eliana (biblioteca), Veroneide, Cláudia e Gislei (secretárias do DQFM), aos técnicos do CAQ (Paulo, Thiago, Sylvana e Carlos) e do laboratório de ensino (Renatinha, Cidinha e Clauco) e aos motoristas Roberto, Moisés e Sidnei do IQSC.

À amiga Shirlei Mininel Cândido (Shirloca), secretária do IQSC, pela amizade que construímos desde de quando cheguei na USP, pelas conversas, companheirismo e por todos os momentos de descontração vividos.

Ao amigo engenheiro Paulo Eduardo Nogueira Voltan, pelas sugestões e discussões relevantes para este trabalho.

Ao grupo de Química Analítica, Ambiental e Ecotoxicologia, que de uma forma ou de outra colaboram para a realização deste trabalho. Agradeço em especial ao Raphael Verbinnen, pelas sugestões e também ao William Vilela, pelas primeiras dicas de operação do HPLC.

A toda minha família, que mesmo distantes sempre torcem pela minha felicidade e sucesso profissional.

A todos meus amigos de São Carlos e de outras cidades pelo apoio e momentos de alegria convividos.

As empresas que doaram produtos: SAAE de São Carlos, pelo sulfato de alumínio e hipoclorito de sódio; EKA, pelo dióxido de cloro; MEDLEY, pelo padrão de diclofenaco sódico e TOBASA, pelo carvão ativado granular de babaçu.

Aos técnicos Gigante (laboratório de transportes da EESC), pelo empréstimo das peneiras para separar a areia, e Valdecir (laboratório de eletroquímica do IQSC), pelo empréstimo do moinho para moer o carvão ativado.

Ao meu esposo Ronaldo, com muito amor e gratidão, pelas madrugadas que me acompanhou no laboratório e pela compreensão nos finais de semana, enfim durante todo o meu doutorado.

Ao meu pai (*in memorian*), pela vida e educação recebida no pouco tempo em que convivemos.

A minha mãe (*in memorian*), pelos ensinamentos, amor incondicional, orações e exemplos de vida.

RESUMO

Rigobello, S. E. **Avaliação da remoção de diclofenaco e formação de subprodutos em tratamento de água**. 2012. 259 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

A presença de resíduos de fármacos em águas superficiais e de abastecimento público tem preocupado a comunidade científica devido principalmente à sua persistência na água e aos efeitos adversos causados à comunidade aquática e aos possíveis riscos à saúde humana. Dentre os fármacos comumente identificados em águas de abastecimento público, encontram-se os anti-inflamatórios, como o diclofenaco (DCF), um dos fármacos mais consumidos no Brasil e no mundo. Nesse contexto, o presente trabalho, teve como objetivo principal estudar a eficiência das etapas de tratamento de água em ciclo completo (coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e desinfecção com cloro) com e sem pré-oxidação com cloro e com dióxido de cloro e adsorção em carvão ativado granular (CAG) na remoção de DCF. Também foram determinados os trihalometanos (THM) e identificados os principais subprodutos do DCF formados na oxidação com cloro e dióxido de cloro. Para a determinação do DCF nas amostras de água antes e após as etapas de tratamento de água foram desenvolvidos e validados métodos analíticos de extração em fase sólida (SPE) e cromatográfico por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção no ultravioleta (UV). A validação do método foi feita de acordo com a resolução nº 899 de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), considerando os requisitos para métodos bioanalíticos. Os procedimentos analíticos empregados foram efetivos e confiáveis para a identificação e quantificação do DCF nas amostras de água antes e após os processos de tratamento de água. Os ensaios de tratamento de água foram feitos em equipamento de reatores estáticos (jarteste) e filtros de escala laboratorial empregando-se água de poço artesiano não clorada preparada com substâncias húmicas aquáticas (SHA) para conferir cor verdadeira de 20 uH, caulinita para conferir turbidez de 70 uT e fortificada com 1 mg L⁻¹ de DCF. Os resultados indicaram que as etapas de coagulação com sulfato de alumínio, floculação, sedimentação e filtração em areia não removeram o DCF. Nas etapas de pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro e de pós-cloração houve remoção parcial do DCF, porém verificou-se a formação de subprodutos provenientes da oxidação do DCF. Dentre os THM, foi quantificado apenas o clorofórmio na etapa de pré-oxidação com cloro. Em geral, os resultados indicaram que o dióxido de cloro foi mais eficiente na redução do DCF e formou menos subprodutos. Entretanto, o tratamento em ciclo completo seguido da adsorção em CAG foi eficiente na remoção de DCF, com remoção maior que 99,7%. Os subprodutos formados na oxidação com cloro e dióxido identificados por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série (LC-MS/MS) consistiram na descaboxilação/hidroxilação e substituição aromática de átomos de hidrogênio por cloro. Os subprodutos identificados na oxidação com cloro apresentaram as seguintes fórmulas moleculares: C₁₄H₁₁Cl₂NO₃, C₁₃H₁₀Cl₃N e C₁₄H₁₀Cl₃NO₂. Com o dióxido de cloro foi identificado o subproduto de fórmula molecular igual a C₁₄H₁₁Cl₂NO₃.

Palavras chave: diclofenaco, subprodutos do diclofenaco, tratamento de água, cloro, dióxido de cloro, ciclo completo, carvão ativado granular, validação de método, cromatografia líquida-espectrometria de massas (LC-MS)

ABSTRACT

Rigobello, S. E. **Evaluation of the removal of diclofenac and formation of by-products in water treatment.** 2012. 259 p. Thesis (Ph.D.) - Institute of Chemistry of Sao Carlos, University of Sao Paulo, São Carlos, 2012.

The presence of pharmaceutical residues in surface waters and in drinking water supply has concerned the scientific community, mainly in which regards their persistence in water, adverse effects on the aquatic community and possible risks to human health. Anti-inflammatory drugs, as diclofenac (DCF), are among those drugs commonly identified in drinking water supply. In this context, the main objective of this study was to assess the efficiency of the different stages of the conventional drinking water treatment (coagulation, flocculation, sedimentation, sand filtration and chlorine disinfection) with and without pre-oxidation with chlorine and chlorine dioxide and adsorption on granular activated carbon (GAC) in the removal of DCF. The trihalomethanes (THMs) were also determined and the main by-products of DCF formed by oxidation with chlorine dioxide and chlorine were identified. For the DCF determination in water samples before and after water treatment stages analytical methods of solid phase extraction (SPE) and chromatographic method by high performance liquid chromatography (HPLC) with detection in the ultraviolet (UV) were developed and validated. The method validation was based on Resolution n° 899 of the 2003 of the Brazilian National Health Surveillance Agency (ANVISA), considering the requirements for bioanalytical methods. The analytical procedures used were effective and reliable for the identification and quantification of DCF in the water samples before and after the water treatment stages. The water treatment tests were carried out in jar test equipment and filters on laboratory scale employing non chlorinated water of artesian well prepared with aquatic humic substances (AHS) to yield 20 uH true color, kaolin turbidity of 70 NTU and DCF concentration of 1 mg L⁻¹. The results indicated that the stages of coagulation with aluminum sulphate, flocculation, sedimentation and filtration sand did not remove DCF. In the stages of pre-oxidation with chlorine and chlorine dioxide and chlorine disinfection the DCF was partially removed, however by-products were formed from the DCF oxidation. Among the THMs, only chloroform was quantified in the pre-oxidation with chlorine. In general, the results showed that chlorine dioxide was more effective to reduce the DCF and fewer by-products were formed. Nevertheless, the complete cycle treatment followed by GAC adsorption was effective to remove DCF (> 99.7% removal). The by-products of the oxidation of DCF with chlorine and chlorine dioxide identified by liquid chromatography coupled tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) consisted in the descaboxylation/hydroxylation and aromatic substitution of hydrogen atoms by chlorine. The compounds identified in the oxidation with chlorine showed the following molecular formulas: C₁₄H₁₁Cl₂NO₃, C₁₃H₁₀Cl₃N and C₁₄H₁₀Cl₃NO₂. The by-product identified using chlorine dioxide was C₁₄H₁₁Cl₂NO₃.

Keywords: diclofenac, by-products of the diclofenac, drinking water treatment, chlorine, chlorine dioxide, granular activated carbon, method validation, liquid chromatography–mass spectrometry (LC–MS)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abs	Absorbância
AINE	Anti-inflamatórios não esteroides
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AH	Ácidos húmicos
AF	Ácidos fúlvicos
C18	Sílica modificada com hidrocarboneto linear C18, octadecilsilano
C8	Sílica modificada com hidrocarboneto linear C8, octilsilano
CAG	Carvão ativado granular
CAP	Carvão ativado pulverizado
CQ	Controle de qualidade
C _o	Concentração inicial
COD	Carbono orgânico dissolvido
COT	Carbono orgânico total
CT	Concentração do oxidante em mg L ⁻¹ x tempo em min
CV	Coeficiente de variação
DCF	Diclofenaco
DPD	N,N-dietil-p-fenilenodiamina
DPR	Desvio padrão relativo
ETE	Estação de tratamento de esgoto
ETA	Estação de tratamento de água
EC50	Concentração mínima capaz de provocar algum efeito em 50% dos organismos testados
EESC	Escola de Engenharia de São Carlos
EUA	Estados Unidos da América
FLA	Filtros de escala laboratorial
Gf	Gradiente de velocidade de floculação
Gmr	Gradiente de velocidade de mistura rápida
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (<i>Gas chromatography coupled mass spectrometry</i>)
GC-MS/MS	Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas em série (<i>Gas Chromatography coupled tandem mass spectrometry</i>)
GC-ECD	Cromatografia gasosa acoplada a um detector de captura de elétrons (<i>Gas chromatography with electron capture detector</i>)

HLB	Equilíbrio hidrofílico e lipofílico
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos (<i>High performance pressure liquide chromatography with diode array detector</i>)
HPO	Frações hidrofóbicas
HPO-N	Fração hidrofóbicas neutras
HPO-A	Ácidos hidrofóbicos
HPI	Frações hidrofílicas
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IV	Infravermelho
K _{ow}	Coefficiente de partição octanol/água
LC50	Concentração letal em 50% dos organismos testados
LOEC	Menor concentração com efeito observável
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada a um espectrômetro de massas (<i>Liquid chromatograph coupled mass spectrometry</i>)
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas em série (<i>Liquid chromatography coupled tandem mass spectrometry</i>)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LIQ	Limite inferior de quantificação
MON	Matéria orgânica natural
MOD	Matéria orgânica dissolvida
MOP	Matéria orgânica particulada
MTBE	Éter metil-terc-butílico
NOEC	Concentração de efeito não observado
pH	Potencial hidrogeniônico
PI	Padrão interno
REACH	Regulamento da comunidade Européia sobre produtos químicos e sua utilização segura
S	Desvio padrão
SPE	Extração em fase Sólida (<i>Solid phase extraction</i>)
SPME	Microextração em fase sólida (<i>Solid phase microextraction</i>)
SH	Substâncias húmicas
SHA	Substâncias húmicas aquáticas
SUVA	Razão entre a absorbância em 254 nm, em m ⁻¹ (que quantifica as

	substâncias húmicas), por unidade de carbono orgânico dissolvido, em mg C L ⁻¹ (que quantifica a matéria orgânica dissolvida)
TPI	Frações transfílicas
TPI-A	Ácidos transfílicos
THM	Trihalometanos (clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio)
TFA	Ácido trifluoracético
Tf	Tempo de floculação
Tmr	Tempo de mistura rápida
Ts	Tempo de sedimentação
USP	Universidade de São Paulo
UFSCar	Universidade Federal de São Carlos
UV/Vis	Ultravioleta/Visível
Vs	Velocidade de sedimentação

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	graus celsius
cm	centímetros
g mol ⁻¹	gramas por mol
h	hora
kDa	unidade de massa atômica (kilo Dalton)
L	litros
L (mg C) ⁻¹ /m ⁻¹	litros (miligramas de carbono) ⁻¹ metros ⁻¹
m/z	massa/carga
mg	miligramas
mg L ⁻¹	miligramas por litro
min	minutos
mL	mililitros
mm	milímetros
MΩ · cm	Miliohm vezes centímetros
ng L ⁻¹	nanogramas por litro
nm	nanômetros
rpm	rotações por minuto
t _R	tempo de retenção
s	segundos
uH	unidade Hazen (mg Pt-Co L ⁻¹)
uT	unidade de turbidez
V	Volts
μm	micrômetros
μg L ⁻¹	microgramas por litro
μS cm ⁻¹	microsiemens por centímetros

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO GERAL, JUSTIFICATIVA, OBJETIVOS E APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

1.1 INTRODUÇÃO GERAL.....	21
1.1.1 Fármacos no meio ambiente.....	21
1.1.2 Diclofenaco sódico.....	25
1.1.3 Toxicidade do diclofenaco.....	27
1.1.4 Questões regulamentares e propostas.....	29
1.2 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO.....	30
1.3 OBJETIVOS.....	32
1.4 APRESENTAÇÃO DESTE TRABALHO.....	33

CAPÍTULO 2 - EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS

2.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	35
2.1.1 Substâncias húmicas.....	35
2.1.2 Métodos de extração das substâncias húmicas aquáticas.....	39
2.2 OBJETIVOS.....	41
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
2.3.1 Coleta da água no afluente do rio Itapanhaú.....	41
2.3.2 Extração das substâncias húmicas aquáticas e diálise.....	43
2.3.3 Filtração do extrato de substâncias húmicas aquáticas.....	44
2.3.4 Caracterização das substâncias húmicas aquáticas.....	45
2.3.4.1 Concentração e liofilização do extrato de substâncias húmicas aquáticas.....	45
2.3.4.2 Espectroscopia na região do ultravioleta/visível.....	45
2.3.4.3 Espectroscopia no infravermelho.....	46
2.3.4.4 Análise elementar.....	46
2.3.4.5 Determinação de carbono orgânico dissolvido nas frações de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos.....	46
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
2.4.1 Caracterização da água coletada no afluente do rio Itapanhaú.....	47
2.4.2 Extração das substâncias húmicas aquáticas e diálise.....	48
2.4.3 Caracterizações da fração de substâncias húmicas aquáticas menor que 0,45 µm.....	48
2.4.3.1 Análise elementar.....	48

2.4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho.....	50
2.4.3.3 Análise espectroscópica na região do ultravioleta e visível.....	51
2.4.3.4 Determinação do carbono orgânico dissolvido nas frações de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos.....	51
2.5 CONCLUSÃO.....	52
CAPÍTULO 3 - DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA A QUANTIFICAÇÃO DO DICLOFENACO	
3.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	53
3.1.1 Análise de fármacos em água.....	53
3.1.1.1 Extração em fase sólida (SPE).....	54
3.1.1.2 Métodos de análise.....	57
3.1.1.3 Validação de métodos.....	58
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	62
3.2.1 Preparação da solução padrão.....	62
3.2.2 Condições cromatográficas.....	63
3.2.3 Desenvolvimento do procedimento de extração do diclofenaco em fase sólida...	63
3.2.4 Validação do método para a determinação do diclofenaco em água.....	65
3.2.4.1 Especificidade.....	65
3.2.4.2 Limite de detecção e limite inferior de quantificação.....	65
3.2.4.3 Linearidade.....	66
3.2.4.4 Precisão, exatidão e recuperação do método.....	66
3.2.4.5 Estudo de estabilidade do diclofenaco nas condições de análise.....	67
3.2.5 Método cromatográfico para a análise dos triolometanos.....	69
3.2.5.1 Extração e condições cromatográficas para a determinação de triolometanos	70
3.2.5.2 Construção das curvas analíticas dos triolometanos.....	71
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
3.3.1 Seleção do comprimento de onda (λ) do diclofenaco sódico	71
3.3.2 Desenvolvimento do método para a determinação do diclofenaco.....	72
3.3.3 Otimização da metodologia de extração em fase sólida.....	75
3.3.3.1 Avaliação do pH da amostra.....	75
3.3.3.2 Volume de amostra.....	77
3.3.3.3 Vazão da passagem da amostra.....	78
3.3.3.4 Volume do solvente de eluição do diclofenaco.....	79

3.3.3.5 Avaliação de sorventes sólidos na extração de diclofenaco.....	80
3.3.4 Validação do método para a determinação do diclofenaco.....	83
3.3.4.1 Especificidade.....	83
3.3.4.2 Limite de detecção e limite inferior de quantificação.....	86
3.3.4.3 Construção das curvas analíticas e avaliação da linearidade.....	88
3.3.4.4 Precisão, exatidão e recuperação do método.....	93
3.3.4.5 Robustez.....	94
3.3.4.6 Estudo de estabilidade do diclofenaco nas condições de análise.....	95
3.3.5 Alguns parâmetros da validação do método cromatográfico para análise de trialometanos.....	98
3.3.5.1 Seletividade.....	98
3.3.5.2 Linearidade, limite de detecção e limite inferior de quantificação para os trialometanos.....	99
3.4 CONCLUSÃO.....	100
CAPÍTULO 4 - AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE DICLOFENACO EM TRATAMENTO DE ÁGUA	
4.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	101
4.1.1 Tratamento de água.....	101
4.1.1.1 Pré-oxidação e desinfecção.....	103
4.1.1.2 Coagulação, floculação e sedimentação.....	112
4.1.1.3 Filtração.....	115
4.1.1.4 Adsorção em carvão ativado.....	116
4.1.2 Remoção de fármacos em tratamento de água.....	119
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	123
4.2.1 Materiais, reagentes e soluções usados nos ensaios em jarteste.....	123
4.2.1.1 Preparação da suspensão de caulinita.....	123
4.2.1.2 Coagulante.....	123
4.2.1.3 Filtros com areia.....	123
4.2.1.4 Filtros com carvão ativado granular	124
4.2.1.5 Preparação da solução de cloro e de dióxido de cloro.....	125
4.2.1.6 Preparação e caracterização da amostra de água de estudo.....	125
4.2.1.7 Determinação dos parâmetros nas amostras de água antes e após os ensaios	126
4.2.2 Ensaios em equipamento jarteste sem a pré-oxidação.....	126
4.2.2.1 Construção dos diagramas de coagulação (Série I).....	126

4.2.2.2 Escolha das condições de coagulação (Séries II, IIa e IIb).....	127
4.2.2.3 Ensaio em ciclo completo e pós-cloração (Série III).....	128
4.2.2.4 Ensaio em ciclo completo com adsorção em carvão ativado granular (Série IV).....	129
4.2.3 Ensaio com a pré-oxidação.....	130
4.2.3.1 Ensaio com a pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro (Séries V, Va e Vb).....	130
4.2.3.2 Ensaio em ciclo completo com pré-oxidação e adsorção em carvão ativado granular (Séries VI e VII).....	131
4.2.4 Amostras de controle de qualidade.....	132
4.2.5 Construção da isoterma de Freundlich.....	132
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	133
4.3.1 Caracterização da amostra de água do poço artesiano e da água de estudo.....	133
4.3.2 Ensaio sem a pré-oxidação.....	135
4.3.2.1 Construção dos diagramas de coagulação (Série I).....	135
4.3.2.2 Escolha das condições de coagulação (Séries II, IIa e IIb).....	136
4.3.2.3 Ensaio de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e pós-cloração (Série III).....	140
4.3.2.4 Ensaio de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia, adsorção em carvão ativado granular e pós-cloração (Série IV).....	146
4.3.3 Ensaio com a pré-oxidação.....	150
4.3.3.1 Ensaio de pré-oxidação com o cloro e com o dióxido de cloro para selecionar as dosagens e tempos de contato (Série V, Va e Vb).....	150
4.3.3.2 Ensaio em ciclo completo com a pré-oxidação com cloro e adsorção em carvão ativado granular (Série VI).....	165
4.3.3.3 Ensaio em ciclo completo com a pré-oxidação com dióxido de cloro e adsorção em carvão ativado granular (Série VII).....	171
4.3.4 Amostras de controle de qualidade.....	176
4.3.5 Isoterma de Freundlich.....	177
4.4 CONCLUSÃO.....	180
CAPÍTULO 5 - IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS DO DICLOFENACO POR LC-MS/MS	
5.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	181
5.1.2 Formação de subprodutos em água.....	181
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	183
5.2.1 Materiais, reagentes e soluções.....	183

5.2.3 Identificação dos subprodutos do diclofenaco na oxidação com cloro e dióxido de cloro.....	184
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	186
5.3.1 Degradação do diclofenaco sódico com cloro e dióxido de cloro.....	186
5.3.2 Identificação dos subprodutos do diclofenaco na oxidação com cloro em água purificada.....	190
5.3.2.1 Identificação do padrão de diclofenaco sódico.....	190
5.3.2.2 Amostras de água purificada sem diclofenaco (brancos) oxidadas com cloro	193
5.3.2.3 Amostras de água purificada contendo diclofenaco oxidadas com cloro.....	194
5.3.3 Identificação dos subprodutos do diclofenaco na oxidação com dióxido de cloro em água purificada.....	200
5.3.3.1 Amostras de água purificada sem diclofenaco (brancos) oxidadas com dióxido de cloro.....	200
5.3.3.2 Amostras de água purificada contendo diclofenaco oxidadas com dióxido de cloro.....	201
5.3.4 Identificação dos subprodutos do diclofenaco na oxidação com cloro e dióxido de cloro em água de estudo.....	204
5.3.4.1 Amostras de água de estudo sem diclofenaco (brancos) oxidadas com cloro	204
5.3.4.2 Amostras de água de estudo sem diclofenaco (brancos) oxidadas com dióxido de cloro.....	206
5.3.4.3 Amostras de água de estudo contendo diclofenaco oxidadas com cloro.....	207
5.3.4.4 Amostras de água de estudo contendo diclofenaco oxidadas com dióxido de cloro.....	209
5.4 CONCLUSÃO.....	211
CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	
6.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	213
6.2 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	114
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	215
APÊNDICE A.....	243
APÊNDICE B.....	247

INTRODUÇÃO GERAL, JUSTIFICATIVA, OBJETIVOS E APRESENTAÇÃO DO TRABALHO

CAPÍTULO

1

1.1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1.1 Fármacos no meio ambiente

A presença de fármacos no ambiente aquático é relatada há mais de 30 anos. Na década de 1970, nos EUA, foi encontrado ácido clofibrico em efluente de estação de tratamento de esgoto (ETE) na faixa de 0,8 a 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (GARRISON et al., 1976). Também nesta mesma década foram encontrados hormônios (TABAK; BUNCH, 1970), ácido salicílico e um metabólito em efluentes de esgoto (HIGNITE; AZARNOFF, 1977). Na década de 1980, foi relatada a presença de fármacos em águas de rios do Reino Unido na concentração de 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (RICHARDSON; BOWRON, 1985), e também no Canadá foi encontrado ibuprofeno e naproxeno em amostras de efluentes de ETE (ROGERS et al., 1986).

Nos últimos anos, principalmente a partir do ano de 2000, muitos trabalhos foram publicados sobre a ocorrência de fármacos em águas naturais e estes compostos têm sido considerados como microcontaminantes emergentes (KÜMMERER; HELMERS, 2000; DAUGHTON; JONES-LEPP, 2001; KOLPIN et al., 2002; PETROVIC, et al., 2005; BILA; DEZOTTI, 2007; BUCHBERGER, 2007; KUSTER et al., 2008; VAN DE STEENE et al., 2010; VALCÁRCEL et al., 2011; HUANG et al., 2011; VULLIET et al., 2011; RODIL et al., 2012; DANESHVAR et al., 2012).

A preocupação ambiental está relacionada com algumas propriedades intrínsecas dos fármacos como, lipofilicidade, baixa volatilidade e, frequentemente, baixa biodegradabilidade. Essas propriedades conferem um grande potencial para a bioacumulação e persistência dessa classe de compostos no meio ambiente (CHRISTENSEN, 1998).

A maioria dos fármacos encontrados no meio ambiente é proveniente do uso humano e veterinário, como os quimioterápicos, antibióticos, anti-inflamatórios, reguladores lipídicos, antidepressivos, anticonvulsivantes e contraceptivos orais (GHISELLI, 2006). Segundo Fent et al. (2006), os fármacos pertencentes à classe dos anti-inflamatórios não esteroides (AINE) são uns dos mais frequentemente consumidos pelo ser humano. Dentre os AINE mais

consumidos estão o ácido acetilsalicílico, paracetamol, ibuprofeno, naproxeno e diclofenaco (DCF).

Os fármacos, após serem administrados, são total ou parcialmente metabolizados e excretados pelo organismo, principalmente pelas fezes e urina, em quantidades variadas (RADJENOVIC et al., 2007). Segundo Mulroy (2001), em torno de 50% a 90% de uma dosagem de um determinado fármaco é excretada inalterada e persiste no meio ambiente, sendo que apenas alguns são degradados quimicamente ou biologicamente.

Na Figura 1.1 é apresentado um esquema que sugere possíveis rotas de entrada de fármacos no meio ambiente. Observa-se nessa figura que os fármacos apresentam diferentes vias de contaminação ambiental. Os fármacos e seus metabólitos excretados por meio de urina e fezes têm seu destino final, geralmente, em fossas sépticas, em ETE e nas águas superficiais.

Figura 1.1 - Possíveis rotas de fármacos no meio ambiente (adaptado de BILA; DEZOTTI, 2003).

A presença de fármacos em ETE é também devido ao incorreto descarte dos medicamentos não utilizados, resíduos industriais, esgotos domésticos e hospitalares (TERNES, 1998; JONES et al., 2004).

Entretanto, há vários trabalhos publicados relatando que alguns fármacos não são completamente removidos nas ETE (TERNES, 1998; DAUGHTON; TERNES, 1999; ZWIENER et al., 2000; KÜMMERER; HELMERS, 2000; STRENN et al., 2004; GEBHARDT; SCHRÖDER, 2007; RADJENOVIC et al., 2009; PAILLER et al., 2009; ROSAL et al., 2010; HUANG et al., 2011; ZIYLAN; INCE, 2011; RODIL et al., 2012).

Em Berlim, estudos demonstraram que o DCF é o mais abundante dos compostos farmacologicamente ativos presentes na água, e também foi relatada a presença desse fármaco em amostras coletados antes e após o tratamento nas ETE, nas concentrações de 2,51 a 3,02 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo removidos apenas cerca de 17% do DCF (HEBERER, 2002).

Lindqvist et al. (2005) observaram que, dentre os fármacos estudados, a mais alta porcentagem de remoção em ETE foi para o ibuprofeno ($92 \pm 8\%$) e a mais baixa para o DCF ($26 \pm 17\%$). Nesse último trabalho foram também encontrados fármacos em concentração mais baixa à jusante dos rios do que no efluente da ETE. Os autores desse trabalho atribuíram esses resultados principalmente ao fator de diluição.

Segundo Zhang et al. (2008), a remoção do DCF em ETE varia de 0% a maior que 80%, dependendo principalmente do tipo do tratamento e da concentração do fármaco no afluente. Rodil et al. (2012) verificaram que a remoção dos fármacos indometacina, ácido clofibríco, propranolol, salbutamol e DCF em ETE convencional com lodo ativado foi praticamente desprezível.

O DCF foi encontrado em efluentes de ETE na concentração de 0,81 $\mu\text{g L}^{-1}$ na Alemanha (TERNES, 1998), entre 200 a 370 ng L^{-1} na Suécia (BUSER et al., 1998), menor que 2 a 30 ng L^{-1} no Taiwan (CHEN et al., 2008), $0,67 \pm 0,24 \mu\text{g L}^{-1}$ na Suíça (MORASCH et al., 2010) e na concentração média de 230 ng L^{-1} na Espanha (RODIL et al., 2012).

Assim, o lançamento contínuo desses compostos no meio ambiente confere-lhes o caráter de persistência e acarretam a contaminação dos recursos hídricos. No entanto, produtos farmacêuticos e seus metabólitos não foram apenas encontrados em efluentes de ETE, mas em águas superficiais, águas subterrâneas (SACHER et al., 2001; HERNÁNDEZ et al., 2007; KHALAF et al., 2009; LOOS et al., 2009; YOON et al., 2010; MARTINEZ BUENO et al., 2010; LAPWORTH et al., 2011; VULLIET et al., 2011) e de abastecimento público (TERNES et al., 2002; REDDERSEN et al., 2002; WEBB et al., 2003; STACKELBERG et al., 2004; HERNANDO et al., 2006; VIENO et al., 2007; TOGOLA; BUDZINSK, 2008; MOMPELAT et al., 2009; VULLIET et al., 2011).

O DCF foi encontrado em águas superficiais na concentração de 150 ng L⁻¹ (TERNES, 1998), de 20 a 60 ng L⁻¹ (STUMPF et al., 1999), 6,2 ng L⁻¹ (WEIGEL et al., 2002), 1,03 µg L⁻¹ (HEBERER, 2002), de 1,36 a 33,2 ng L⁻¹ (TOGOLA; BUDZINSKI, 2008), 24 a 62 ng L⁻¹ (CHEN et al., 2008) e 94 ng L⁻¹ (HUANG et al., 2011). Também foi relatada a presença de DCF em uma amostra de água de torneira para o consumo humano na cidade de Berlin na concentração de 10 ng L⁻¹ (HEBERER et al., 2002).

Foram encontrados fenazona, propilfenazona e dimetilaminafenazona (analgésico e antipirético) em água de abastecimento público em Berlim (Alemanha), com a concentração mais elevada para a fenazona de 400 ng L⁻¹ (REDDERSEN, et al., 2002; ZÜHLKE et al., 2004). Esta concentração elevada foi em grande parte atribuída à água subterrânea, usada como fonte de água potável, contaminada com esgoto.

Nas águas superficiais geralmente são encontradas concentrações menores de fármacos em relação aos efluentes de ETE, principalmente devido ao fator de diluição e alguns processos de eliminação que podem ocorrer como, sedimentação, biodegradação e fotodegradação (ANDREOZZI et al., 2003; HEBERER, 2002; BARTELS; TÜMPLINGA, 2007; ZHANG et al., 2008).

Bartels e Tümplinga (2007) observaram que a fotodegradação do DCF é influenciada pelas condições eutróficas, efeitos sazonais, quantidade de partículas sólidas e de matéria orgânica dissolvida (MOD) na água. A influência sazonal na concentração do DCF pode ser decorrente também do uso extensivo desse medicamento durante o período de inverno, pois neste período as pessoas estão mais propensas a contraírem doenças inflamatórias (HEBERER, 2002).

A presença de fármacos e outros compostos xenobióticos no ambiente aquático e na água de abastecimento público têm levantado a questão sobre o seu impacto no ambiente e na saúde pública, uma vez que pouco se sabe sobre o potencial efeito, individual e principalmente combinado desses compostos, na saúde humana associado com o consumo de água (STACKELBERG et al., 2004).

Diante do grande número de trabalhos publicados sobre a presença de fármacos no ambiente aquático, apresentam-se na Tabela 1.1 concentrações média, mínimas e máximas de DCF encontradas em diferentes matrizes ambientais.

Tabela 1.1 - Concentrações de DCF encontradas em efluentes de ETE, águas superficiais, águas subterrâneas e água de consumo humano.

Amostra/País	Concentração média (mínima e máxima) (ng L⁻¹)	Referência
Efluente de ETE/Alemanha	810,0	Ternes (1998)
Efluente de ETE/EUA	290,0	Paxéus (2004)
Efluente de ETE/Coréia	40,0 (8,8 – 127,0)	Kim et al. (2007)
Efluente de ETE/Espanha	230,0	Rodil et al. (2012)
Água superficial/Brasil	(20,0 – 60,0)	Stumpf et al. (1999)
Água superficial/Reino Unido	8,0	Thomas et al. (2004)
Água superficial/EUA	120,0	Bendz et al. (2005)
Água superficial/Coréia	3,0 (1,1 – 6,8)	Kim et al. (2007)
Água superficial/Finlândia	(10,0 – 55,0)	Vieno et al. (2007)
Água superficial/União Européia	17,0	Loos et al. (2009)
Água superficial/China	(8,8 – 150,0)	Zhao et al. (2009)
Água superficial/Espanha	2040 (313 – 3363)	Valcárcel et al. (2011)
Água superficial/China	94,0	Huang et al. (2011)
Água superficial/Brasil	(96,0 – 115,0)	Montagner e Jardim (2011)
Água subterrânea/Espanha	(60,2 – 219,4)	Radjenovic et al. (2008)
Água subterrânea/Diferentes países	121,0 (2,5 – 590,0)	Lapworth et al. (2011)
Água de consumo humano/Reino Unido	6,0	Jones et al. (2005)
Água de consumo humano/França	2,0	Rabiet et al. (2006)
Água de consumo humano/França	2,5	Togola e Budzinsk (2008)
Água de consumo humano/Espanha	ND	Valcárcel et al. (2011)

ND: não detectado (limite de detecção 1 ng L⁻¹)

1.1.2 Diclofenaco sódico

O DCF sódico é encontrado com o nome comercial de Voltarem® e o DCF de potássio como Cataflan®, entre outros. O DCF é um dos AINE mais utilizado com efeito analgésico, anti-inflamatório e antipirético. Por ser um potente inibidor da enzima ciclo-oxigenase, este medicamento é utilizado para aliviar a dor e a inflamação nos processos inflamatórios em geral, e em casos mais específicos de artrite reumatóide, osteoartrites, burcites, tendinites, dor pós-operatória e espondilite aquilante (REYNOLDS, 1996; CASTRO, 2005).

Após administração oral, o DCF é eliminado em um curto período de tempo (tempo de meia-vida no plasma é de aproximadamente uma a duas horas). O DCF acumula-se no líquido sinovial após administração oral, o que pode explicar a duração do efeito terapêutico consideravelmente maior que o tempo de meia vida no plasma. Aproximadamente 65% da

dose administrada é excretada na urina; desses, cerca de 15% (ALDER et al., 2006) são excretados na forma inalterada e o restante é eliminado na forma de metabólitos. Os metabólitos conhecidos são: 3-hidroxi-diclofenaco; 4-hidroxi-diclofenaco (principal); 5-hidroxi-diclofenaco; 4-5-diidroxi-diclofenaco; 3-hidroxi-4-metoxi-diclofenaco e 4-hidroxi-5-cloro-diclofenaco (ZHANG et al., 2008).

A fórmula molecular do 2-[(2,6-diclofenil) amino] benzoacetato de sódio, conhecido como diclofenaco sódico, é $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, com massa molar de $318,13 \text{ g mol}^{-1}$. O DCF é considerado um ácido fraco com pK_a igual a 4,1 e apresenta menor solubilidade em pH mais baixos. O DCF é mais solúvel em pH na faixa de 7,0 a 8,0. Além do pH, a solubilidade do DCF em água varia com a força iônica. O coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}) do DCF é igual a 4,51. A constante K_{ow} é um indicativo do potencial de lipofilicidade e hidrofobicidade do composto (MOMPELAT et al., 2009). A estrutura molecular do DCF sódico está apresentada na Figura 1.2 (VIENO et al., 2007; ZHANG et al., 2008).

Figura 1.2 – Estrutura molecular do diclofenaco sódico.

O DCF sódico é levemente solúvel em água, facilmente solúvel em metanol, solúvel em etanol, ligeiramente solúvel em ácido acético glacial, pouco solúvel em acetona, praticamente insolúvel em éter, clorofórmio e tolueno (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2002).

A presença dos átomos de N, O, Cl e Na torna a molécula do DCF sódico polar e, portanto, as interações específicas com determinados solventes afetam a solubilidade do fármaco. Devido à presença do grupamento NH que pode agir tanto como doador ou receptor de próton para os solventes, e a presença do grupamento carboxila, o fármaco possui caráter ácido - base de Lewis (ZILNIK et al., 2007).

1.1.3 Toxicidade do diclofenaco

Embora a maioria dos fármacos e seus metabólitos presentes no meio ambiente estejam em baixas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1}), estudos têm demonstrado que muitos desses compostos podem ser bioacumuláveis e causar efeitos adversos aos organismos aquáticos e terrestres. Esses efeitos podem ser em qualquer nível de hierarquia biológica, podendo atingir células, órgãos, organismos, população e ecossistema. Os efeitos podem incluir interferência endócrina, genotoxicidade e consequentemente alteração no comportamento metabólico e nas funções da espécie no ecossistema (JORGENSEN; HALLING-SØRENSEN, 2000).

O equilíbrio de um soluto nas fases orgânica (hidrofóbica) e aquosa (hidrofílica) pode ser estimado pelo valor de K_{ow} . Como o K_{ow} do DCF é superior a três, isso é um indicativo de que ocorre sorção desse fármaco na matéria orgânica e em sedimentos (BRUN et al., 2006). Entretanto, o processo de sorção não depende apenas da hidrofobicidade e, sim de outras propriedades físico-químicas dos fármacos e da matéria orgânica natural (MOMPELAT et al., 2009). O DCF pode ser bioacumulativo em seres vivos por ser lipofílico (SANDERSON et al., 2003; SCHWAIGER et al., 2004).

Efeitos secundários do DCF foram observados em seres humanos, tais como, alterações inflamatórias e degenerativas no fígado (BANKS et al., 1995) e alterações renais (REVAI; HARMOS, 1999). Os efeitos gastrointestinais são os mais comuns, tendo-se observado a ocorrência de sangramento e ulceração ou perfuração na parede intestinal. Outras respostas adversas a este medicamento incluem efeitos sobre o sistema nervoso central, exantemas cutâneos, reações alérgicas, retenção hídrica e edema, e pode também ocorrer comprometimento da função renal. Além disso, o DCF não é recomendado para crianças, gestantes e lactantes (HARDMAN et al., 2005).

As doses terapêuticas são usadas para estimar os riscos que os fármacos podem causar à saúde humana ou para propor valores de referência. Webb et al. (2003) estimaram quantitativamente os potenciais efeitos da presença de fármacos em águas de consumo humano, comparando as doses terapêuticas diárias com a sua ingestão via água potável. Os autores obtiveram, por meio de GC-MS, 6 ng L^{-1} de DCF na água potável (valor máximo) e propuseram, diante desse resultado, que o ser humano teria uma ingestão diária de 12 ng de

DCF por dia (baseado no consumo de 2 litros de água por dia) e 25 mg de DCF por dia como dose terapêutica de DCF (para artrite reumática).

Apesar da concentração de fármacos em água potável geralmente se encontrar abaixo da dose terapêutica, a necessidade de avaliação dos efeitos tóxicos dos fármacos não pode ser ignorada. Da mesma forma há necessidade de se desenvolver estudos a longo prazo relativos à exposição humana indireta a baixas concentrações de fármacos e de misturas desses compostos, metabólitos e subprodutos gerados no tratamento de água. A preocupação também está relacionada à resistência aos antibióticos causada pela ingestão de água potável contaminada com esses compostos (KLEYWEGT et al., 2007; WHO, 2011).

Dietrich e Prietz (1999) investigaram a letalidade e teratogenicidade do DCF em embriões de peixe zebra (*Danio rerio*) após uma exposição de 96 h. Os autores desse trabalho relataram que a concentração letal em 50% dos organismos testados foi de $480 \pm 50 \mu\text{g L}^{-1}$ (LC50/96 h) e a concentração que teve efeitos adversos em 50% dos organismos foi de $90 \pm 20 \mu\text{g L}^{-1}$ (EC50/96 h). Em testes de toxicidade crônica com *Daphnia magna*, a concentração de efeito não observado (NOEC) do DCF foi igual a 1 mg L^{-1} e a menor concentração com efeito observável (LOEC) foi de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ (SCHWAIGER et al., 2004).

Ferrari et al. (2003) estudaram os efeitos tóxicos do DCF em bactérias, algas, microcrustáceos e peixes. Dentre os testes feitos em sistema Microtox com mais de 30 min, os autores verificaram que a maior concentração de DCF que causou efeitos adversos em 50% dos organismos expostos (EC50) foi de $11,4 \text{ mg L}^{-1}$. Também foi verificada, nos testes de toxicidade crônica, a NOEC em rotífero *Brachionus calyciflorus* após 48 h que foi de $246 \mu\text{g L}^{-1}$ de DCF.

A fim de avaliar efeitos subletais tóxicos do DCF em peixes, Schwaiger et al. (2004) estudaram trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) expostas ao DCF em doses variando de 1 a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ durante um período de 28 dias. Exames histopatológicos dos peixes expostos revelaram alterações nos rins e brânquias. A LOEC que causou lesões renais e alterações das brânquias foi de $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Os autores também observaram a bioacumulação do DCF em trutas. As maiores concentrações do DCF foram encontradas no fígado, seguido pelo rim e então nas brânquias.

Triebkorn et al. (2004) estudaram peixes expostos ao DCF e observaram alterações citológicas no fígado, rim e brânquias, isso ocorreu mesmo na concentração de $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de DCF. Comparando esses resultados com as concentrações encontradas no ambiente aquático, conclui-se que o DCF representa um risco para os ecossistemas.

Mendes et al. (2010) analisaram o efeito agudo gerado pelo fármaco DCF através de testes de toxicidade com o microcrustáceo *Daphnia similis* (Cladóceras, Crustácea). A concentração de EC50/48h encontrada para o DCF foi de 43 mg L⁻¹. Com base nos valores de EC50/48h, este fármaco foi classificado como prejudicial aos organismos testados.

Segundo a Directiva da União Europeia 93/67/EEC – REACH (sobre registro, avaliação e autorização de produtos químicos), as substâncias potencialmente perigosas para organismos aquáticos são classificadas de acordo com a concentração de EC50 em quatro classes diferentes: muito tóxicas < 1 mg L⁻¹; tóxicas entre 1 – 10 mg L⁻¹; perigosas de 11 – 100 mg L⁻¹ e sem classificação, maior que 100 mg L⁻¹ (CLEUVERS, 2004).

Porém, há poucos estudos da toxicidade crônica do DCF e da mistura do DCF com outras substâncias à saúde humana e aos organismos aquáticos. Segundo Flaherty e Dodson (2005), a toxicidade de misturas de fármacos pode ser imprevisível e complexa quando comparada com os efeitos causados pelos fármacos individualmente. Além disso, falta dados sobre os efeitos tóxicos dos seus metabólitos, intermediários e subprodutos formados.

Nos últimos anos, o conhecimento sobre fontes, ocorrência, destino, efeitos e riscos associados à presença de fármacos em efluentes e em águas naturais tem aumentado principalmente nos países Europeus e na América do Norte. No Brasil, ainda há muito poucos estudos relacionados a esse assunto.

1.1.4 Questões regulamentares e propostas

Atualmente, tanto na legislação brasileira e quanto na internacional, não existe regulamentação para o controle de resíduos de fármacos em água para consumo humano. Isto acontece porque a concentração de fármacos, incluindo o DCF, encontrada na água potável é geralmente baixa, da ordem de µg L⁻¹ a ng L⁻¹, e também porque há falta de conhecimento sobre o grau de toxicidade aguda e principalmente crônica desses compostos à saúde humana. Atualmente, a Comunidade Europeia, Estados Unidos e Japão estão trabalhando nesse assunto.

Loos et al. (2009) analisaram 35 contaminantes orgânicos por LC-MS/MS, dentre eles fármacos, em mais de 100 amostras de água de rios de 27 países europeus. Os autores propuseram uma concentração limite de DCF em águas superficiais de 100 ng L⁻¹ como um indicativo de risco ambiental.

Segundo a Agência Europeia para Produtos Medicinais (EMA), se o valor de concentração do fármaco encontrado estiver abaixo de 10 ng L^{-1} o risco ambiental é considerado improvável. Acima de 10 ng L^{-1} a análise do efeito toxicológico ambiental deve ser realizada (CASTIGLIONI et al., 2004).

Muller (2002) propôs limites toxicológicos para alguns fármacos em água destinada ao consumo humano. Esses limites foram baseados sobre 10% da ingestão diária aceitável ou para o limite máximo permitido para resíduos de fármacos veterinários em leite, considerando uma pessoa de 60 kg e uma dose diária de 2 litros de água ou de leite. Foram estabelecidos os seguintes limites para os fármacos em água destinada ao consumo humano: paracetamol, $150 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; sulfametoxazol, $75 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; carbamazepina, $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; metoprolol, $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; diclofenaco, $7,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; bisoprolol, $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; bezafibrato, $35 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; eritromicina, $15 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; fenofibrato, $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; ácido acetil salicílico, $25 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$; ibuprofeno, $150 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e ácido clofíbrico, $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

1.2 JUSTIFICATIVA DO TRABALHO

A presença de fármacos e de seus metabólitos em águas superficiais, subterrâneas e de abastecimento público e seus efeitos toxicológicos causados à comunidade aquática e prováveis riscos à saúde humana, pela exposição indireta via ingestão da água, é considerado como uma questão emergente. A preocupação também está relacionada com a presença dos subprodutos de fármacos formados durante o tratamento de água, que podem ser potencialmente tóxicos à saúde humana.

Mundialmente, há poucos trabalhos publicados sobre a aplicação de tecnologias de remoção de fármacos, onde se inclua o DCF, em águas destinadas ao abastecimento público. A maioria das pesquisas científicas publicadas atualmente limita-se ao estudo de identificação e quantificação de fármacos em afluentes e efluentes de ETE, sedimentos, águas superficiais e água potável sem avaliar a remoção em cada etapa do tratamento e a formação de subprodutos dos fármacos.

Para garantir a qualidade da água destinada ao abastecimento público é de fundamental importância conhecer as características físico-químicas da água bruta, bem como a concentração de contaminantes orgânicos e inorgânicos e as tecnologias de tratamento.

Dentre as tecnologias existentes no Brasil, a de ciclo completo (constituída pelas etapas de pré-tratamento (opcional), coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia,

desinfecção, fluoração e correção do pH) é a mais empregada nas ETA. Diante disso, neste trabalho empregou-se essa tecnologia, sem as etapas de fluoração e correção de pH, para avaliar a remoção do DCF em ensaios feitos em equipamento de reatores estáticos chamado de jarteste. A água utilizada nos ensaios foi preparada com características semelhantes às encontradas em mananciais superficiais na época intermediária entre chuvas intensas e estiagem.

Com o objetivo de se verificar a remoção de DCF próxima de 100%, considerando o limite inferior de quantificação do método ($3 \mu\text{g L}^{-1}$) validado por HPLC-DAD e o volume de água coletado após as etapas de tratamento, foi escolhida a concentração de fortificação, que foi de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de DCF.

A importância de se desenvolver métodos analíticos para a determinação de resíduos de fármacos em água está no fato de que as ETE e as ETA, em sua grande maioria, não são eficientes na remoção desses compostos. Para isso há necessidade de métodos analíticos sensíveis, precisos e confiáveis na identificação e quantificação de resíduos de fármacos em água. A extração e a pré-concentração de fármacos em amostras de água normalmente são feitos por meio de técnicas de extração em fase sólida (SPE) ou microextração em fase sólida (SPME). A determinação de fármacos em matrizes ambientais é geralmente feita por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta (arranjo de fotodiodos) (HPLC-DAD), fluorescência e principalmente por cromatografia líquida com detecção em espectrômetro de massas (LC-MS) e cromatografia gasosa com detecção em espectrômetro de massas (GC-MS).

Sendo assim, no presente estudo empregaram-se as técnicas de extração e de quantificação SPE e HPLC-DAD, respectivamente, as quais cumprem os requisitos deste trabalho. Para a identificação e quantificação dos trihalometanos (clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio) foi empregada a técnica de cromatografia gasosa com um detector de captura de elétrons (GC-ECD), conforme o método validado por Paschoalato (2005). Para a identificação dos subprodutos provenientes da oxidação do DCF com cloro e dióxido de cloro foi utilizada a técnica de LC-MS/MS.

O interesse de se estudar o DCF deve-se ao fato desse fármaco ser um dos mais consumidos no Brasil e no mundo e bastante encontrado em efluentes de ETE e águas superficiais (RABIET et al., 2006) e, além disso, por ser relativamente persistente na água (BARTELS; TÜMPLINGA, 2007) e pela constatação dos efeitos causados aos organismos aquáticos e possíveis efeitos adversos aos seres humanos. Conforme consta em Ribeiro et al.

(2007), no Brasil o DCF é um dos medicamentos mais vendidos, principalmente sem prescrição médica.

Poucas pesquisas sobre a remoção de resíduos de fármacos em ETA têm sido desenvolvidas, principalmente no Brasil. Adicionalmente, a maioria dos estudos envolve apenas algumas etapas de tratamento, como os processos de oxidação e adsorção, sem avaliação dos demais processos e operações empregados nas ETA. Pelo exposto, surgiu o interesse em estudar a eficiência do tratamento de água em ciclo completo complementado com a pré-oxidação e adsorção em carvão ativado granular (CAG) na remoção de DCF. Foram estudados os oxidantes cloro e dióxido de cloro por serem os mais utilizados em ETA. Também, vale ressaltar que é de suma importância identificar os subprodutos formados durante o tratamento de água com o uso dos oxidantes cloro e dióxido de cloro devido aos possíveis efeitos tóxicos desses compostos a saúde humana.

Destaca-se também o interesse do trabalho conjunto com o Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP) e o Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) visando à integração entre diferentes linhas de pesquisa, que permitiu a utilização de equipamentos específicos para fins deste trabalho, e possibilitou o incremento da produtividade científica dos grupos envolvidos.

1.3 OBJETIVOS

Este trabalho consiste em avaliar as etapas de tratamento de água em ciclo completo com e sem a pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro e adsorção em CAG na remoção de DCF e a formação de subprodutos (trialometanos e subprodutos do DCF) formados na oxidação com cloro e dióxido de cloro.

Dentro desse contexto, destacam-se os objetivos específicos:

- Desenvolver e validar os métodos de extração e cromatográfico por HPLC-DAD para a determinação do DCF em água;
- Verificar a eficiência do tratamento em ciclo completo e adsorção em CAG na remoção do fármaco em estudo;
- Verificar a influência da pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro na remoção do DCF, por meio de tratamento em ciclo completo e adsorção em CAG;
- Identificar por cromatografia gasosa os THM nas etapas de pré-oxidação e pós-cloração;

- Identificar os principais subprodutos formados na oxidação do DCF com cloro e dióxido de cloro por LC-MS/MS.

1.4 APRESENTAÇÃO DESTE TRABALHO

No presente item se faz uma breve apresentação do trabalho desenvolvido e da estrutura da tese. As etapas envolvidas durante a pesquisa estão ilustradas por meio do fluxograma apresentado na Figura 1.3.

De forma a concretizar os objetivos propostos, a tese foi dividida em seis capítulos. O **Capítulo 1** apresenta a introdução com um enquadramento geral do tema em estudo. Foram também apresentados os objetivos do presente trabalho com suas devidas justificativas.

Nos **Capítulos 2 a 5** são apresentados revisão bibliográfica, materiais e métodos, objetivos, resultados e discussão e conclusão referente o assunto de cada capítulo.

O **Capítulo 2** trata das etapas de coleta da água do rio Itapanhaú, extração das substâncias húmicas aquáticas (SHA) em resina XAD-8 e caracterização dessas substâncias.

O **Capítulo 3** se refere ao desenvolvimento e validação dos métodos de extração (SPE) e cromatográfico (HPLC-DAD) para a quantificação de DCF nas amostras de água antes e após as etapas de tratamento de água. Neste estudo as condições de extração e pré-concentração foram otimizadas pelo método univariado.

O **Capítulo 4** apresenta os ensaios de tratamento de água em ciclo completo com e sem pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro e adsorção em CAG, feitos em equipamento jarreste e kit de filtros em escala laboratorial para avaliar a remoção de DCF. A quantificação de DCF nas amostras de água após essas etapas de tratamento foi feita por HPLC-DAD conforme o método validado no capítulo 3. Neste capítulo, também foi avaliada a formação de THM nas etapas de tratamento com pré-oxidação e pós-cloração por GC-ECD.

O **Capítulo 5** se refere ao estudo de identificação de subprodutos do DCF formados na oxidação com cloro e dióxido de cloro, em água purificada pelo sistema Milli-Q e em água de estudo com a presença de SHA e caulinita, por meio de LC-MS/MS.

No **Capítulo 6** são apresentadas as considerações finais e sugestões para trabalhos futuros.

Figura 1.3 – Fluxograma das etapas envolvidas nos ensaios de tratamento de água em jarreste.

EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS AQUÁTICAS

2

2.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.1 Substâncias húmicas

A matéria orgânica natural (MON) presente em águas naturais pode ser subdividida em matéria orgânica dissolvida (MOD) e matéria orgânica particulada (MOP). A MOD é operacionalmente definida como a fração que atravessa o filtro com poros de 0,45 μm , e essa fração constitui a maior parte da MON presente em águas (aproximadamente 80%). A MOD possui vários compostos orgânicos, como proteínas, aminoácidos, ácidos graxos, polímeros e na maior parte substâncias húmicas (SH), às quais correspondem cerca de 50 a 70% da MOD (AIKEN, 1985; ODEGAARD et al., 1999).

A MOP é a matéria orgânica retida na membrana de 0,45 μm (THURMAN, 1985). A MOP corresponde a aproximadamente 17% da MON presente em águas naturais e é usualmente facilmente removida pelos métodos convencionais de tratamento de água, como coagulação e filtração (EDZWALD, 1993).

As SH são encontradas em solos, turfa, sedimentos e águas naturais (THURMAN, 1985; KRASNER; AMY, 1995). As substâncias húmicas aquáticas (SHA) podem ser formadas diretamente no meio aquático pela decomposição de plantas e pela atividade sintética de microrganismos, ou ainda SH encontradas em solos e sedimentos podem ser transportadas para as águas por processos de lixiviação e escoamento superficial (ROCHA; ROSA, 2003).

De modo geral, as SH podem ser classificadas como substâncias orgânicas biogênicas, polieletrólíticas com propriedades similares às de biocoloides, de coloração escura, de natureza heterogênea, elevada massa molar e de estrutura complexa e ainda não definida (STEVENSON, 1985; ROCHA; ROSA, 2003; BOTERO, 2010).

Em Thurman e Malcolm (1981) define-se as SHA como uma porção não específica, amorfa, constituída de MOD em pH 2 e adsorvente em resina não iônica XAD 8, com altos valores de coeficientes de distribuição. Samios et al. (2007) definiram SHA como

macromoléculas orgânicas amorfas e precursoras de subprodutos halogenados, formados principalmente na cloração da água bruta.

De acordo com a solubilidade em diferentes condições de pH as SH dividem-se em frações de ácidos fúlvicos (AF), ácidos húmicos (AH) e humina. Os AF são solúveis em toda faixa de pH, os AH são solúveis em valores de $\text{pH} \geq 2$ e a humina é a fração insolúvel em toda faixa de pH (STEVENSON, 1994). As três frações húmicas diferem quanto à massa molar e quantidade de grupos funcionais, tendo os AF menor massa molar, maior quantidade porcentual de oxigênio e menor conteúdo de carbono e nitrogênio que as outras frações húmicas (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Existem alguns modelos que propõem estruturas para as SH. Dentre eles, em Schulten e Schnitzer (1993) são propostos modelos macromoleculares para os AH e os AF. Na estrutura proposta para os AH há a existência de grupos carboxílicos, fenólicos, alcoólicos e grupos nitrogenados como aminas e nitrilas, além de cadeias alifáticas e aromáticas. Na estrutura dos AF contém menor conteúdo de carbonos aromáticos, estrutura menos condensada e menor massa molar que dos AH. Além dessas características, é possível haver a existência de “vazios” de diferentes tamanhos, podendo ser hidrofóbicos ou hidrofílicos dentro das moléculas de SH.

Em Von Wandruszka (1998) a estrutura das SH é definida como pseudomicelar de natureza polimérica e em Piccolo (2001) o modelo é chamado de supramolecular. No modelo supramolecular as SH são formadas por moléculas pequenas e heterogêneas de várias origens, auto-organizadas em conformações supramoleculares, o que explicaria o grande tamanho molecular das SH.

Em Diallo et al. (2003) e Sutton et al. (2005) são excluídos os modelos nos quais são sugeridos que as SH são macromoléculas com alta massa molar ou mistura de compostos orgânicos complexos e heterogêneos. Nesse trabalho foi observado que as estruturas existentes de AH possuem as características necessárias para formar supramoléculas. Essas supramoléculas podem ser formadas por blocos constitutivos relativamente pequenos se comparados com outras macromoléculas, ligados uns aos outros por forças de van der Waals (interações do tipo π - π e de dipolos permanentes ou induzidos), ligações de hidrogênio e por coordenação com íons metálicos do ambiente.

Porém, devido à complexidade das SH ainda não existe um modelo que explique consistentemente a sua estrutura. Também, diante das diferentes origens e mecanismos de decomposição das SH, composição química, pH da água, da possibilidade de agregação e

mudança conformacional, torna-se difícil a determinação precisa do tamanho molecular e a comparação entre os resultados encontrados na literatura (THURMAN et al., 1982; ARTINGER et al., 2000). Em geral, os AH possuem tamanho molecular maior que os AF. Usando cromatografia de exclusão por tamanho, foram encontrados tamanhos moleculares na faixa de 900 a 5000 Da para os AF (CHIN et al., 1997). Em Conte e Piccolo (1999) é relatado tamanho molecular de HA na faixa de 6500 a 9000 Da. Richardson (2002), em uma pesquisa utilizando cromatografia de permeação em gel, indicou que os AF geralmente têm distribuições de tamanho molecular na faixa de 200 a 2000 Da e os AH na faixa de 1000 a 100000 Da.

Rigobello et al. (2011) avaliaram o efeito de diferentes tamanhos moleculares aparentes das SHA na coagulação com sulfato de alumínio e cloreto férrico de águas preparadas com cor verdadeira igual a 100 uH. Nesse trabalho foi concluído que águas com a mesma coloração, mas com SHA com propriedades estruturais distintas (grupos funcionais, aromaticidade, tamanho molecular, proporção de AH e de AF) resultaram em diferentes condições de coagulação e de remoção de SHA. Para atingir o mesmo grau de remoção de cor as amostras de água preparadas com SHA de menor tamanho molecular aparente necessitaram de dosagens mais elevadas dos coagulantes, tanto de sulfato de alumínio como de cloreto férrico.

A presença das SHA é a principal responsável pela cor escura nas águas naturais. Devido principalmente a essa característica, muitas estações de tratamento de água (ETA) apresentam problemas de operação devido ao fato da tecnologia de tratamento empregada não se adequar à qualidade da água a ser tratada, requerendo o uso da pré-oxidação, principalmente para a redução de cor e assim ocorrendo possivelmente a formação de subprodutos halogenados (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Quando as SHA não são eficientemente removidas durante as etapas de tratamento de água podem causar alguns problemas como: servir de substrato para o crescimento de microrganismos; reduzir a eficiência do processo de desinfecção; complexar metais (Mn, Pb e Fe e outros) e dificultar a remoção de metais; interagir com compostos orgânicos xenobióticos, por exemplo, pesticidas, ftalatos, interferentes endócrinos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos; produzir substâncias com gosto e odor desagradáveis, algumas tóxicas e carcinogênicas, por exemplo, trihalometanos e ácidos haloacéticos, quando a pré-oxidação é feita com cloro livre e na presença de bromo (WESTERHOFF et al., 2004; DI BERNARDO; DANTAS, 2005; KALETA; ELEKTOROWICZ, 2009; BOTERO, 2010).

Além disso, a presença de substâncias húmicas em águas, principalmente de menor tamanho molecular, podem dificultar a remoção de fármacos ácidos por coagulação. Vieno et al. (2006) estudaram a influência de AH na remoção de diclofenaco, ibuprofeno, bezafibrato, carbamazepina e sulfametoxazol por coagulação com sulfato de alumínio e sulfato férrico. Os autores concluíram que uma elevada quantidade de MOD de elevado tamanho molecular melhorou a remoção dos fármacos ácidos (diclofenaco, ibuprofeno e bezafibrato) na coagulação.

As SHA podem ser removidas por diferentes processos de tratamento de água tais como coagulação, utilização de membranas (microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, osmose inversa), oxidação, biofiltração, resinas de troca iônica e carvão ativado (ODEGAARD et al., 1999).

Durante o processo de coagulação usando sais de ferro ou de alumínio, as SH carregadas negativamente podem interagir com as espécies hidrolisadas positivas do metal formando complexos insolúveis na forma de humatos ou fulvatos (mecanismo neutralização de cargas) ou podem ser adsorvidas no precipitado de hidróxido de metal (mecanismo de varredura) (JOHNSON; AMIRTHARAJAH, 1983). O mecanismo de varredura é mais apropriado quando a remoção de flocos ocorre por sedimentação ou flotação. O mecanismo de adsorção e neutralização de cargas é mais efetivo quando as ETA empregam filtração direta, pois não há necessidade de formação de flocos para posterior sedimentação ou flotação, mas sim de partículas desestabilizadas que são retidas no meio granular dos filtros (CAMPOS et al., 2007).

Edwards e Amirtharajah (1985) concluíram que a coagulação de AH com sais de Al^{3+} ocorreu por meio dos mecanismos de adsorção dos AH sobre o precipitado de hidróxido de alumínio, $Al(OH)_{3(p)}$, (pH 6,00 - 8,00) e por neutralização de cargas através de alumínio solúvel ou em fase sólida ou espécies de alumínio hidrolisadas (pH 4,00 - 5,50). Dempsey et al. (1984) relataram que os mecanismos de remoção de AF por sais de Al^{3+} são os de adsorção dos AF sobre o precipitado $Al(OH)_{3(p)}$ ou de formação de complexo AF-alumínio em pH superior a 6,25 e precipitação de AF por polímeros de alumínio carregados positivamente em pH abaixo de 6,00.

Rigobello et al. (2011), em estudos de filtração direta, verificaram que os mecanismos de coagulação das SHA com Al^{3+} provavelmente ocorrem por neutralização de cargas através das formas de alumínio hidrolisadas carregadas positivamente em pH mais baixo e por adsorção dos AH e AF no precipitado de $Al(OH)_{3(s)}$ em pH mais elevado.

Diante das dificuldades de remoção das SHA em ETA e da possível formação de subprodutos e interação dessas substâncias com outros compostos presentes na água, como os metais e fármacos, é de grande interesse o estudo das características e da presença dessas substâncias na água.

2.1.2 Métodos de extração das substâncias húmicas aquáticas

Vários métodos de extração de SHA são empregados cujos principais são: precipitação, ultrafiltração, extração por solvente, liofilização e adsorção (AIKEN, 1985).

Na Tabela 2.1 são apresentados os métodos de extração mais utilizados e suas vantagens e desvantagens.

Tabela 2.1 – Métodos de extração de substâncias húmicas aquáticas mais utilizados.

Métodos	Vantagens	Desvantagens	Referência
Liofilização	Alto fator de concentração.	Todos solutos são concentrados, menos os voláteis; Método lento.	Sargentini Junior et al. (2001) Romão e Rocha (2005)
Precipitação	Eficaz para águas com alto teor de carbono orgânico dissolvido.	Ineficiente para grandes volumes de amostra; Contaminação das SH com metais.	Aiken (1985)
Abaixamento de temperatura	Minimiza alterações indesejáveis nas características originais da amostra e baixo custo.	Extração fortemente influenciada pela velocidade de abaixamento de temperatura.	Almeida et al. (2003)
Ultrafiltração	Fracionamento dos solutos por tamanho molecular; Grandes volumes de amostra.	Interação do soluto com a membrana; Colmatação da membrana; Influência do pH, da força iônica, do tipo de membrana e da pressão.	Burba et al. (2001) Leenheer e Croué (2003) Romão e Rocha (2005) Rigobello et al. (2011)
Resinas XAD (adsorção)	Alto fator de concentração; Eficiente desorção; Capacidade de regeneração da resina adsorvente; Grande volume de amostra pode ser processado.	Uso de ácidos e bases fortes altera levemente as características químicas da MOD; Aumento da polaridade da MOD; Degradação oxidativa; Contaminações da amostra proveniente da resina; Possível sorção irreversível.	Sargentini Junior et al. (2001) Romão e Rocha (2005) Oliveira et al. (2007) Samios et al. (2007) Rigobello et al. (2011)

As resinas a base de estireno de polivinilbenzeno (XAD 1 e XAD 2) são mais utilizadas na extração de SH presentes em águas marinhas. As resinas macroporosas iônicas de éster acrílico XAD 7 e XAD 8 são mais utilizadas para a extração de SH de águas

superficiais. Essas resinas apresentam área superficial elevada e, em geral, a adsorção dos ácidos orgânicos é determinada pela solubilidade do soluto, pH da solução e a hidrofobicidade. Em baixos valores de pH os ácidos fracos são protonados e adsorvidos na resina; em pH elevado os ácidos são ionizados e a desorção é favorecida. Diferenças no tamanho dos poros, área superficial e composição química da resina levam a diferentes resultados para um mesmo soluto (ROCHA; ROSA, 2003).

A resina XAD 8 adsorve as frações hidrofóbicas (HPO) da MOD a pH 2,0, que consistem de ácidos hidrofóbicos (HPO-A) e fração hidrofóbica neutra (HPO-N) que são as frações húmicas. A fração de HPO-A é eluída com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ (NaOH) a pH 13. A fração de HPO-N é retida na resina XAD 8 e pode ser extraída com acetonitrila em extração Soxhlet (MALCOLM; MACCARTHY, 1992). As frações hidrofílicas (HPI) não são adsorvidas nas resinas XAD 8 e XAD 4 (LEENHEER; CROUE, 2003). As frações transfilicas (TPI), que consistem de ácidos transfilicos (TPI-A) e transfilicas neutras (TPI-N), são adsorvidas na resina XAD 4 e podem ser extraídas por solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹ e solventes orgânicos como a acetonitrila, respectivamente (AIKEN et al., 1992).

A fração de HPO-A contém, principalmente, ácidos carboxílicos alifáticos, ácidos aromáticos e fenóis. A fração de HPO-N contém hidrocarbonetos como polímeros amorfos, por exemplo, e é relativamente estável e não reativa (AIKEN et al., 1992). Os TPH-A e TPH-N são as frações não húmicas. Os TPI-A contém teores mais elevados de oxigênio, nitrogênio e enxofre, com um menor caráter aromático. Esses são compostos por ácidos fortes, possivelmente ácidos orgânicos polifuncionais e ácidos alifáticos. As frações HPO (AH e AF) têm uma densidade de carga significativamente maior que as frações HPI (SHARP et al., 2006). As frações HPI são constituídas principalmente de carbonos alifáticos e compostos nitrogenados, tais como ácidos carboxílicos, carboidratos e proteínas (MATILAINEN et al., 2010).

Navalon et al. (2010) separam frações de MOD da água do rio Turia, Espanha, por nanofiltração e resinas não iônica (XAD-8 e XAD-4), que resultaram em 50% de HPO-A, 24% de TPI-A e 12% de HPO-N. Os principais compostos identificados nessas frações foram polissacarídeos, ácidos graxos, ácidos policarboxílicos alifáticos e aminoácidos. Os autores observaram que as três frações apresentam semelhanças espectroscópicas e que, particularmente, as frações HPO-A e TPI-A foram idênticas. Essa semelhança na composição

das frações mostra que o procedimento de fracionamento usando resinas XAD 8 e XAD 4 é ineficiente para separar as diferentes frações: hidrofóbicas, hidrofílicas e transfílicas da MON.

O método mais usado para extrair SHA é por resina XAD 8, qual é o adotado pela *International Humic Substances Society* (IHSS) (THURMAN; MALCOLM, 1981).

Embora haja alguma similaridade entre SH presentes no solo e na água, a diversidade no ambiente de formação e nos compostos de origem as fazem apresentar diferenças peculiares. Ao contrário das SH extraídas de solo, que apresentam predominância de AH, as SHA contêm quantidade apreciável de AF, de menor massa molar que os AH. Por esse motivo, o tratamento de águas com a mesma coloração, mas contendo SH com propriedades estruturais distintas, pode resultar diferente, conforme foi apresentado em estudos de coagulação com água contendo SH de turfa e aquática (CAMPOS, 2007) e SHA (SLOBODA et al., 2007). Diante disso, neste trabalho foi empregada SHA ao invés de SH extraída de turfa, para conferir cor verdadeira na água de estudo.

2.2 OBJETIVOS

O objetivo foi obter a fração de SHA da amostra de água coletada em um afluente do rio Itapanhaú, com características próprias de SHA, para conferir cor verdadeira de 20 uH nas amostras de água preparadas para a realização dos ensaios de tratamento de água em equipamento jarteste.

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Coleta da água no afluente do rio Itapanhaú

Foram coletados aproximadamente 1500 L de água em um afluente do rio Itapanhaú, pertencente ao Parque Estadual da Serra do Mar, 7º Grupo de Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHIs), na Baixada Santista, Bertioga-SP. O ponto de coleta localiza-se na Latitude 23°47'19,35"S e Longitude 46°3'29,32"O (Figura 2.1). A coleta foi feita em uma única etapa. Para o transporte e armazenamento das amostras de água foram utilizados recipientes plásticos, conforme apresentado nas fotos da Figura 2.2.

O rio Itapanhaú é formado por várias nascentes da Serra do Mar, próximo do município de Biritiba Mirim, e vários afluentes, chegando a Bertioga através de seu vale. Sua extensão é de aproximadamente 40 km.

O Parque Estadual da Serra do Mar é constituído de vegetação de floresta tropical fluvial (mata Atlântica), com diversos rios, rico em espécies vegetais e animais¹.

(a) Imagem satélite e localização geográfica do ponto de coleta da água do presente trabalho.

Fonte: <www.earth.google.com>. Acesso em: 22 maio 2012.

(b) Foto do afluente do rio Itapanhaú.

Figura 2.1 – (a) Imagem satélite e (b) foto da localização do ponto de coleta em um afluente do rio Itapanhaú, Bertiooga-SP.

¹ <http://sapl.camarabertiooga.sp.gov.br:8080/historia/turismo/parque-estadual-da-serra-do-mar>

Figura 2.2 – Fotos do transporte e armazenamento da água coletada no rio Itapanhaú.

A amostra de água coletada foi acidificada a pH 2,5 com ácido clorídrico (HCl) para prevenir a decomposição da matéria orgânica, precipitação de hidróxidos metálicos e promover a protonação dos grupos ácidos para a posterior extração das SHA em resina XAD 8. A água coletada sem acidificação foi caracterizada de acordo com os principais parâmetros físico-químicos citados na Portaria nº 518/2004 (BRASIL, 2004).

2.3.2 Extração das substâncias húmicas aquáticas e diálise

A fração de SHA foi isolada por resina macroporosa não iônica XAD-8 (tamanho de poros 25 μm), resina de éster metil metacrilato. A resina foi previamente purificada com soluções de HCl 0,50 mol L⁻¹ e de NaOH 0,5 mol L⁻¹ e metanol, respectivamente (24 h cada processo). Em seguida, a resina foi lavada várias vezes com água deionizada. A extração foi feita conforme o procedimento descrito em Thurman e Malcolm (1981). A amostra de água do rio Itapanhaú acidificada a pH 2,5 foi percolada por gravidade através de duas colunas de acrílico (3 cm diâmetro interno e 120 cm de altura) empacotadas com resinas XAD-8 com 35 cm de altura da coluna (Figura 2.3a). A água foi percolada pela resina em taxa de fluxo médio de 20 mL min⁻¹. A saturação da resina foi determinada por medidas de absorbância em 254 nm e pelo escurecimento da resina. A eluição da fração húmica retida na resina XAD-8 foi feita com solução de NaOH 0,10 mol L⁻¹, com uma taxa de fluxo de aproximadamente 5,0 mL min⁻¹. Após a eluição, a resina foi lavada com metanol e água deionizada e as colunas foram novamente colocadas em operação. O pH do extrato final (ácidos hidrofóbicos) foi ajustado com solução de HCl 0,1 mol L⁻¹, próximo de 5,0 (pH similar da água coletada no rio Itapanhaú). O extrato final foi dividido em partes de volume e adicionado em pacotes de papel

celofane semipermeável e submetido à diálise em água corrente livre de cloro até teste negativo de cloreto (Figura 2.3b).

(2.3a)

Água do rio

Extrato de SHA

Diálise

(2.3b)

Figura 2.3 - Foto das instalações de extração das substâncias húmicas aquáticas e diálise.

2.3.3 Filtração do extrato de substâncias húmicas aquáticas

O extrato foi diluído em uma proporção de 1:4 de água deionizada e, em seguida, filtrado a vácuo em membrana com poros de $0,45\ \mu\text{m}$ (Millipore-HA em éster de celulose, 90 mm de diâmetro). O sistema de filtração utilizado é apresentado por meio da Figura 2.4. A membrana com poros de $0,45\ \mu\text{m}$ foi lavada com 200 mL de água deionizada antes do seu uso a fim de prevenir contaminação. Após filtrar cerca de 1000 mL de extrato, esta era descartada.

Figura 2.4 - Foto do sistema de filtração nas membranas de 0,45 μm .

2.3.4 Caracterização das substâncias húmicas aquáticas

Várias técnicas são utilizadas para caracterizar as SH. Dentre elas pode-se citar a ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia na região do ultravioleta/visível (UV/Vis) e no infravermelho (IV), espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica, fluorescência e análise elementar (ROCHA; ROSA, 2003). Neste estudo empregaram-se algumas dessas técnicas com o objetivo de verificar algumas características das SHA e eficiência da extração desse material.

2.3.4.1 Concentração e liofilização do extrato de substâncias húmicas aquáticas

O extrato de SHA filtrado em membrana de 0,45 μm foi concentrado em rotaevaporador com rotação de 20 rpm e com banho termoeletrônico a 40 °C, sob vácuo. Foram concentrados 1 L de extrato, na ordem de 50 vezes (20 mL). Em seguida o extrato foi congelado em banho de nitrogênio líquido e liofilizado a uma temperatura de – 40°C e pressão de 10^{-1} torr durante 8 h.

2.3.4.2 Espectroscopia na região do ultravioleta/visível

As análises de espectroscopia na região do UV/Vis foram feitas em um espectrômetro de UV/Vis JASCO – V 630. Para a análise, dissolveu-se 2 mg de SHA liofilizada em 25 mL de solução tampão de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) 0,005 mol L^{-1} e em 25 mL de água

purificada, obtida pelo sistema Milli-Q da Millipore (18,2 M Ω . cm a 25 °C). As razões foram determinadas entre as absorbâncias medidas nos comprimentos de onda de 465 e 665 nm, referida como razão E_4/E_6 , e nos comprimentos de onda de 250 e 365 nm, referida como razão E_2/E_3 .

2.3.4.3 Espectroscopia no infravermelho

As análises de IV foram feitas em um espectrômetro com transformada de Fourier, marca Bomem MB-102. Para a análise foram feitas pastilhas do material liofilizado com 0,5 mg de amostra e 100 mg de brometo de potássio (KBr). Foram feitas 16 varreduras com 4 cm⁻¹ de resolução nos espectros obtidos na região de 400 a 4000 cm⁻¹.

2.3.4.4 Análise elementar

A análise elementar foi feita em um aparelho CE Instruments EA 1110 CHNS – O, da marca Fisons, com detector de condutividade térmica.

A composição elementar das SHA foi determinada em relação aos teores de carbono (C), hidrogênio (H), oxigênio (O), nitrogênio (N) e enxofre (S). As porcentagens de H, C, N e S foram determinadas diretamente e o O foi calculado por diferença.

2.3.4.5 Determinação de carbono orgânico dissolvido nas frações de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos

A determinação de COD nas frações de AH e de AF das SHA < 0,45 μ m foram determinadas em extrato de 500 mg SHA L⁻¹ de água purificada obtida pelo sistema Milli-Q da Millipore (18,2 M Ω . cm a 25 °C). Três amostras do extrato de SHA foram acidificadas com ácido clorídrico em pH menor que 2,0 e permanecidos em repouso por 24 h. Após a precipitação dos AH, as amostras foram centrifugadas em 4000 rpm por 15 min (centrífuga Excelsa baby II, modelo 206 R, marca Fanem, diâmetro interno 34 cm; dimensões da cubeta: 12 cm de altura e 1,5 cm de diâmetro interno) e em seguida foi coletado o sobrenadante para medidas de COD. As medidas do COD foram feitas em um equipamento de carbono orgânico total TOC-V CPH/CPN/P da Shimadzu, pelo método de combustão seguido de leitura no infravermelho. A concentração de COD na fração de AH foi obtida por diferença.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Caracterização da água coletada no afluente do rio Itapanhaú

A caracterização físico-química da amostra de água coletada no rio Itapanhaú foi feita de acordo com o *Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater* (2005).

Na Tabela 2.2 são apresentados os resultados da caracterização da água do rio afluente do Itapanhaú.

Tabela 2.2 – Caracterização físico-química da amostra de água do rio afluente do Itapanhaú.

Parâmetros	Valores	Parâmetros (mg L ⁻¹)	Valores
Cor aparente (uH)	222	Sólidos suspensos fixos	9,0
Cor verdadeira (uH)	184	Sólidos suspensos voláteis	49,0
Turbidez (uT)	4,38	Sólidos dissolvidos totais	45,0
Sulfato (mg L ⁻¹)	< 1,0	Sólidos dissolvidos fixos	42,0
COD (mg L ⁻¹)	17,43	Sólidos dissolvidos voláteis	3,0
Alcalinidade (mg L ⁻¹)	2,0	Pb	0,06
Condutividade (µS cm ⁻¹)	45,3	Cd	< 0,0006
Dureza (mg L ⁻¹)	30,0	Ni	0,022
pH (adimensional)	4,90	Fe	0,592
Absorbância em 254 nm	0,836	Mn	0,034
SUVA254 (L (mg C) ⁻¹ m ⁻¹)	4,79	Cu	0,013
Sólidos totais (mg L ⁻¹)	103,0	Cr	< 0,005
Sólidos totais fixos (mg L ⁻¹)	51,0	Na	2,90
Sólidos totais voláteis (mg L ⁻¹)	52,0	K	0,70
Sólidos suspensos totais (mg L ⁻¹)	58,0	Al	< 0,01

Observa-se na Tabela 2.2 que a água do rio afluente do Itapanhaú possui elevada concentração de SHA, comprovado pelos elevados valores de cor verdadeira de 184 uH, concentração de COD de 17,43 mg L⁻¹ e de SUVA254. Valores de SUVA254 no intervalo de 4 a 5 L (mg C)⁻¹ m⁻¹ indicam principalmente a presença de material húmico (material hidrofóbico) e moléculas aromáticas (IRVINE; AMY, 1999). Entre os metais analisados, o Fe, Na e K estiveram presentes em maiores concentrações.

2.4.2 Extração das substâncias húmicas aquáticas e diálise

A extração da SHA usando resina XAD 8 apresentou algumas vantagens e desvantagens. Dentre as vantagens verificou-se um alto fator de concentração, elevada capacidade de sorção das SHA na resina e fácil eluição. Uma das desvantagens foi a necessidade de um grande volume de água bruta coletada no rio afluinte do Itapanhaú (aproximadamente 1500 L) para obtenção de aproximadamente 20 L de extrato de SHA e o processo de extração foi bastante lento, o qual durou aproximadamente 5 meses.

2.4.3 Caracterização da fração de substâncias húmicas aquáticas menor que 0,45 μm

A extração das SHA é de grande importância para se obter resultados relevantes de caracterização, pois nessa etapa podem ocorrer alterações estruturais no material húmico. Como consequência, pode haver modificação nas propriedades originais, provavelmente em razão da grande variação do pH durante o processo de extração, na qual inicialmente a água é percolada a pH 2,0 e depois a eluição é feita a pH 13,0.

2.4.3.1 Análise elementar

O conteúdo de hidrogênio está relacionado com o grau de saturação. O aumento no teor de hidrogênio indica um maior número de carbonos alifáticos (CH_2) do que carbonos aromáticos ($\text{C}=\text{C}$) (TRAINA et al., 1990). As razões de H/C e O/C são geralmente mais baixas para os AH do que para os AF (BRAVARD; RICHI, 1991). A razão O/C está relacionada com o teor de carboidratos nas SH. Menores valores dessa razão indicam maior grau de humificação, devido à redução do conteúdo de carboidratos (STEVENSON, 1994). A razão O/C pode representar também a presença de grupos COOH e OH (tanto aromáticos e alifáticos) e a relação C/N indica o grau de humificação das SHA (ROCHA; ROSA, 2003).

Os resultados de análise elementar (Tabela 5) obtidos para as frações de SHA neste estudo são similares aos encontrados na literatura (SARGENTINI JUNIOR et al., 2001; ARAÚJO et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2007).

Na Tabela 2.3 são apresentadas as porcentagens dos elementos químicos C, H, N e O e as razões atômicas H/C, C/O e C/N da fração de SHA obtida do rio Itapanhaú.

Tabela 2.3 – Análise elementar das substâncias húmicas aquáticas e razões atômicas.

Massa dos elementos (%)					Razões Atômicas		
C	H	N	S	O*	H/C	O/C	C/N
41,68	4,98	1,25	0,00	52,09	1,43	0,94	38,90

*Oxigênio calculado por diferença

Os resultados de análise elementar (Tabela 2.3) indicaram que a fração de SHA apresentou maior porcentagem de O, indicando que as SHA contêm uma quantidade relativamente alta de oxigênios ligados a grupamentos alquílicos e de ácidos carboxílicos. Verificou-se que a H/C foi maior que a razão de O/C, o que pode indicar um conteúdo relativamente alto de anéis aromáticos e grupos oxigenados.

A razão C/N é um indicativo do grau de humificação e origem das SH em ambientes naturais. Valor da razão C/N abaixo de 20 pode indicar que o processo de humificação foi mais favorecido pela atividade microbiana, como geralmente é verificado para SH extraídas de solos (NELSON et al., 1994; CAMPOS, 2004; SANCHES, 2005). Quando a razão C/N é maior que 20 pode ser um indicativo de que a contribuição para a humificação das SH é predominante de plantas vasculares (MEYERS; ISHIWATARI, 1993). Em geral, o conteúdo de N dos AH é cerca de duas vezes superior ao dos AF. As razões C/N geralmente são maiores em SHA que em SH de solos, devido a inúmeros mecanismos, como adsorção de matéria orgânica contendo nitrogênio por argilas e precipitação de compostos orgânicos de nitrogênio (TOSCANO, 1999).

Assim, por meio do valor da razão C/N apresentado na Tabela 2.3, supõe-se que as SHA empregadas neste estudo foram predominantemente provenientes da decomposição de plantas vasculares. Os resultados de análise elementar obtidos neste estudo foram similares aos apresentados em Araújo et al. (2002), que estudou SHA extraídas do rio Itapanhaú, e em Toscano (1999), que obteve razões de C/N igual a 41 para os AH e 40 para os AF de SHA.

2.4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho

A espectroscopia no IV é utilizada para caracterizar as SH fornecendo informações estruturais e funcionais das moléculas que as compõem. O espectro na região IV das SHA obtidas neste estudo está apresentado na Figura 2.5.

Figura 2.5 - Espectro na região do infravermelho para a fração de substâncias húmicas aquáticas.

Observa-se na Figura 2.5 uma banda larga em torno de 3420 cm^{-1} , comum nos espectros de SH, atribuída às superposições de absorções individuais e similaridades entre os grupos funcionais presentes nas estruturas das SH (POPPI; TALAMONI, 1992; ROCHA; ROSA, 2003). Essa banda larga e intensa, em torno de 3400 cm^{-1} , é atribuída ao estiramento OH de grupamentos carboxílicos, fenólicos, alcoólicos e da água ligada. Em 2940 cm^{-1} aparece uma banda característica de vibrações de C-H dos grupos metil ou metilenos alifáticos, geralmente superpostos à banda larga de estiramento OH. A banda que aparece em 1600 cm^{-1} indica aromaticidade das SHA, característico do estiramento C=C do anel, isto é, às vibrações do anel aromático conjugado com C=O e/ou COO⁻. Essa banda pode também ser devido ao estiramento antissimétrico do grupo carboxilato e ao estiramento C=O do grupo COOH, sendo que neste caso o hidrogênio está ligado ao grupo OH em posição orto. Entre

1370 e 1440 cm^{-1} observa-se bandas devido a grupos C-H alifáticos e vibração OH de álcoois ou ácidos carboxílicos. Os resultados obtidos neste estudo para SHA são similares aos encontrados na literatura para SHA e SH de turfa (ARAÚJO et al., 2002; STEVENSON, 1994; RICCA et al., 2000, CAMPOS et al., 2007).

2.4.3.3 Análise espectroscópica na região do ultravioleta e visível

Na Tabela 2.4 são apresentadas as razões de absorção nos comprimentos de onda de 465 e 665 nm (razão E_4/E_6) e de 250 e 365 nm (razão E_2/E_3) para a amostra de SHA < 0,45 μm . Os valores da razão E_4/E_6 encontrados em pH 7,0 e pH 8,6 foram iguais a 12,56 e 11,15, respectivamente. A razão E_2/E_3 foi menor que a razão E_4/E_6 em ambos os valores de pH estudados, indicando que as SHA absorvem mais na região do UV que na do Vis, ao contrário do que geralmente ocorre com SH de turfa. A baixa razão E_2/E_3 verificada pode ser um indicativo de alto grau de condensação de constituintes aromáticos nessa fração de SHA.

Verificou-se que absorção no UV/Vis das SHA tem influência do pH e essas mudanças podem ser devido à ionização dos grupos carboxílicos e fenólicos. Tal como com outros métodos espectroscópicos, não se sabe qual a proporção de moléculas que contribui para a absorção em um comprimento de onda específico (MACCARTHY; RICE, 1985).

Utilizou-se a equação sugerida por Peuravuori e Pihlaja (1997) para indicar a aromaticidade da molécula, onde: aromaticidade = $52,5 - 6,78 \cdot E_2/E_3$.

Tabela 2.4 – Características espectroscópicas do UV/Vis da fração de SHA.

pH	Absorbância (nm)		Razão E_4/E_6	Absorbância (nm)		Razão E_2/E_3	Aromaticidade
	465	665		250	365		
7,0	0,094	0,007	13,42	1,713	0,442	3,87	26,22
8,5	0,145	0,013	11,15	2,164	0,609	3,55	28,42

2.4.3.4 Determinação de carbono orgânico dissolvido nas frações de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos

Por meio da análise dos resultados apresentados na Figura 2.7, pode-se verificar que a distribuição de carbono para a SHA estudada foi de 29% para a fração de AH e prevalecendo na fração de AF com 70,9%. Como as SHA foram extraídas utilizando a resina XAD 8, o

material húmico obtido é constituído na maior parte por frações hidrofóbicas, as quais normalmente variam entre 50% e 60% do COD para as águas superficiais de cor elevada (RIGOBELLO et al., 2011; SHARP et al., 2006; MALCOM, 1985).

Os resultados obtidos neste estudo indicaram que, em geral, as SHA contêm uma grande proporção de AF, nos quais predominam grupos oxigenados e carbono alifáticos. Ao contrário das SH extraídas de turfa, que apresentam predominância de AH (CAMPOS et al., 2007).

Figura 2.7 - Porcentagem de carbono orgânico dissolvido nas frações de ácidos húmicos e ácidos fúlvicos aquáticos extraídos do afluente do rio Itapanhaú.

Devido às diferentes características químicas das SHA com suas origens e por conta da influência da sazonalidade, é difícil comparar resultados de caracterização de SHA de diferentes fontes de água (OLIVEIRA et al., 2007).

2.5 CONCLUSÃO

Foi possível obter um volume relativamente grande de extrato de SHA da amostra de água coletada no afluente do rio Itapanhaú. Porém o processo de extração foi lento. Através dos resultados obtidos de caracterização da fração de SHA $< 0,45 \mu\text{m}$, foi possível verificar características próprias de substâncias húmicas extraídas de água de rio. As quais apresentaram maior porcentagem de AF que de AH, presença de grupos oxigenados, alifáticos e aromáticos na sua estrutura e maior absorção na região do UV (razão E_2/E_3 menor que a razão E_4/E_6), características de SHA. Assim, foi empregada essas substâncias no preparo das amostras de águas de estudo para conferir cor verdadeira de 20 uH.

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA A QUANTIFICAÇÃO DO DICLOFENACO

CAPÍTULO 3

3.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1.1 Análise de fármacos em água

Para a determinação de resíduos de fármacos em baixa concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}) em matrizes complexas como efluente de estações de tratamento de esgoto (ETE), águas superficiais e subterrâneas e água de abastecimento público, é necessário o uso de técnicas analíticas sensíveis e confiáveis para a extração, identificação e quantificação (BARCELÓ, 2007).

Nesse estudo, as maiores dificuldades encontradas são a separação entre o analito de interesse e os contaminantes presentes na amostra e o alcance de baixos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). Sobre esses aspectos, as técnicas cromatográficas são as mais utilizadas para a determinação dos resíduos de fármacos em diferentes matrizes ambientais.

Em um processo analítico, o preparo da amostra é uma das etapas mais importantes. O correto preparo da amostra é imprescindível para a obtenção de recuperação quantitativa e reprodutível do analito de interesse, sem interferentes presentes na matriz. Essa etapa torna a amostra compatível com o sistema cromatográfico a ser empregado e possibilita a obtenção de baixos LD. A etapa de preparação da amostra geralmente é a de maior demanda de tempo em um processo analítico e onde se tem as maiores fontes de erros de uma determinação quantitativa.

O preparo de amostra pode envolver as seguintes etapas: isolamento do analito de interesse, *clean-up* da amostra (eliminação de interferentes), derivatização, concentração e eluição do analito no solvente, evaporação do extrato com nitrogênio e reconstituição no solvente apropriado para a análise.

Dentre os métodos de extração e pré-concentração de fármacos em água os mais utilizados são a extração em fase sólida (SPE) (STUMPF et al., 1999; WEIGEL et al., 2001; BOYD et al., 2003; WEIGEL et al., 2004; STÜLTEN et al., 2008; SUN et al., 2008; VULLIET et al., 2011; RODIL et al., 2012) e a microextração em fase sólida (SPME)

(CARPINTEIRO et al., 2004; RODRIGUES et al., 2004; WEN et al., 2006; SARAFAZ-YAZDI et al., 2012).

3.1.1.1 Extração em fase sólida (SPE)

A SPE é um dos métodos mais empregados com o propósito de extrair e/ou pré-concentrar um ou mais analitos presentes em uma matriz complexa. Em amostras ambientais, como de efluentes e afluentes de ETE e de estações de tratamento de água (ETA), águas superficiais e subterrâneas e sedimentos, a SPE é muito utilizada na análise de vários compostos como fármacos, pesticidas organoclorados, organofosforados e nitrogenados, clorofenóis, ftalatos, sulfonatos aromáticos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (WEIGEL et al., 2001).

A sua grande aplicação é principalmente devido à diversidade e versatilidade de sorventes sólidos existentes, permitindo diferentes modos de operação e mecanismos de separação como adsorção, partição (fase normal e fase reversa), troca iônica e exclusão por tamanho. Quando o solvente é mais polar que a fase estacionária o mecanismo de separação é denominado fase reversa. Dependendo da natureza do grupo ligado à sílica, ou do copolímero, a fase estacionária pode ser classificada como apolar, polar, moderadamente polar e trocadora de íons (LANÇAS, 2004). Na Tabela 3.1 são apresentados alguns sorventes usados em SPE.

Tabela 3.1 – Alguns sorventes usados em SPE (LANÇAS, 2004; QUEIROZ et al., 2001).

Apolar	Polar	Moderadamente Polar	Troca iônica
Octadecilsilano (C18)	Cianopropilsilano (CN)	Florisil (Mg ₂ SiO ₃)	Benzenosulfonilpropilsilano
Octilsilano (C8)	Diolsilano (COHCOH)	Alumina (Al ₂ O ₃)	Sulfonilpropilsilano
Etilsilano (C2)	Aminopropilsilano (NH ₂)	Sílica gel (SiOH)	Carboximetilsilano
Metilsilano (C1)	Amino secundário (NH)	-	Dietilaminopropilsilano
Fenilsilano (PH)	-	-	Trimetilaminopropilsilano

A seleção da fase estacionária dependerá das características do analito de interesse e da natureza química da matriz onde se encontra o analito. Dentre os sorventes sólidos

comercialmente disponíveis os de fase reversa C18 e C8 quimicamente ligado à sílica são uns dos mais empregados em SPE (LANÇAS, 2004).

Os sorventes poliméricos como, por exemplo, o copolímero de divinilbenzeno e de N-vinilpirrolidona (Oasis-HLB) (BUCHBERGER, 2007), imunosorventes e polímeros impressos molecularmente (SUN et al., 2008) estão sendo muito utilizados na extração de resíduos de fármacos em água.

As vantagens dos sorventes poliméricos em relação aos de sílica gel é que apresentam maior capacidade e seletividade (reconhecimento de moléculas alvo) e podem ser utilizados em toda a faixa de pH e com diferentes solventes (WEIGEL et al., 2004; PETROVIC et al., 2006; BUCHBERGER, 2007). Outra vantagem desses sorventes em relação aos de sílica gel, é o fato de a recuperação não ser afetada consideravelmente pelo tempo de secagem entre a etapa de condicionamento e processo de adsorção do analito. Porém, a desvantagem é o custo elevado perante as fases tipo C18 (LANÇAS, 2004).

Nos últimos cinco anos, esses sorventes foram aplicados com bons resultados para o pré-tratamento de amostras como alimentos, medicamentos, biológicas e ambientais (HE et al., 2007). Sun et al. (2008) sintetizaram um polímero impresso molecularmente específico para determinar DCF em afluente e efluente de ETE por SPE e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção em detector de arranjo de diodos (DAD). Nesse trabalho foi encontrada concentração de DCF de $1,31 \pm 0,055 \mu\text{g L}^{-1}$ e de $1,60 \pm 0,049 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os autores desse trabalho concluíram que o sorvente demonstrou ser aplicável para a análise de DCF em amostras de água.

O sistema de extração SPE pode ser realizado *on-line* ou *off-line*. No sistema *on-line* a etapa de extração e pré-concentração é realizada em um sistema acoplado ao cromatográfico. No sistema *off-line* a etapa de extração e pré-concentração do analito é realizada separadamente do sistema cromatográfico. Após o processo de extração a amostra é introduzida no sistema cromatográfico por meio de um injetor (QUEIROZ, 2001).

A SPE emprega uma coluna de polipropileno aberta usualmente denominada de cartucho contendo cerca de 50 – 500 mg de sorvente sólido (fase estacionária), com tamanho de partícula de 40 - 60 μm . Também são construídos na forma de disco, os quais são constituídos de matrizes de teflon ou fibras de vidro, flexíveis, embebidas ou impregnadas com a fase estacionária (QUEIROZ et al., 2001; LANÇAS, 2004).

As etapas envolvidas na SPE são:

- a) Condicionamento e ativação do sorvente sólido com um solvente apropriado, seguido pelo mesmo solvente dos analitos. Nesta etapa não pode deixar secar o sorvente contido no cartucho para que não ocorram caminhos preferenciais, comprometendo a recuperação;
- b) Adição da amostra contendo os analitos de interesse através da fase sólida, em volume que pode variar de 1 mL a 1 L, de modo quantitativo. A amostra é percolada através do sorvente por gravidade ou pressão com auxílio de uma bomba a vácuo, ou pressionada levemente com uma seringa. O fluxo da amostra deve ser controlado e ser o suficiente para permitir boa retenção dos analitos de interesse. Os analitos de interesse são continuamente concentrados no sorvente e a água e as impurezas são descartadas;
- c) Lavagem do sorvente com solvente apropriado para retirar os interferentes (etapa opcional). O solvente não deve possuir força suficiente para retirar os analitos de interesse;
- d) Secagem do sorvente com um gás inerte (N₂) (opcional), especialmente para matrizes aquosas, a fim de eliminar a água, pois esta, em alguns casos, pode dificultar a subsequente concentração das substâncias de interesse e a análise (CAMEL, 2003; LANÇAS, 2004). Essa etapa é principalmente importante quando a análise é feita em GC, técnica em que a água é um interferente relevante;
- e) Eluição dos analitos retidos no adsovente com um solvente apropriado. Nesta etapa, o fluxo também deve ser ajustado. O ideal é que a solução coletada se encontre em concentração apropriada para a análise (CAMEL, 2003; LANÇAS, 2004).

As vantagens da SPE em relação à extração líquido-líquido são a redução do consumo de solventes e reagentes, ausência da formação de espuma ou emulsão, extrato mais puro, concentração do analito, maior recuperação (usualmente > 95%), maior facilidade para automatização e tempo de preparo mais curto (LANÇAS, 2004).

Apesar de a extração SPE ser uma técnica simples e de baixo custo, apresenta algumas desvantagens como: uso de solventes tóxicos; extração de poucas amostras por vez; uso do sorvente de uma única vez (principalmente em amostras muito sujas); baixa reprodutibilidade de vazão (em razão da pressão variável); baixa reprodutibilidade de sorventes obtidos de diferentes fabricantes e lotes de fabricação; necessidade de filtrar a amostra antes da SPE,

principalmente no caso de amostras de água que contêm altos níveis de partículas suspensas e acúmulo de substâncias da matriz no sorvente de SPE.

Algumas das vantagens da técnica de extração SPME em relação à SPE são: análise mais rápida devido a menos etapas de preparo de amostra; em geral são obtidos extratos mais limpos; quantidade mínima ou livre de solventes; pequeno volume de amostra, fibras podem ser reutilizáveis e permite fácil automatização da etapa de preparação da amostra (LANÇAS, 2004).

Algumas das limitações da SPME são: fibra frágil; pode ocorrer acúmulo de substâncias não volatilizáveis das amostras na fibra; o processo de extração pode ser relativamente lento, devido a falhas na agitação ou difusão para ocorrer a sorção dos analitos na fibra; requer um equilíbrio estabelecido entre o analito e a fase estacionária para que haja uma boa reprodutibilidade; baixa capacidade de concentração do analito devido o pequeno volume de polímero aderido na superfície da fibra (SMITH, 2003; LANÇAS, 2004), custo das fibras e suportes consideráveis e existência de apenas um fabricante e fornecedor no mundo de fibras de SPME, quais são vendidas no mínimo de três fibras por vez.

Embora a SPME apresente algumas vantagens em relação à SPE, optou-se por empregar a SPE como técnica de preparo da amostra por ser uma técnica simples, eficiente na recuperação do DCF em água, pela disponibilidade de manifold à vácuo no laboratório e pelos sorventes C18 empregados apresentarem um custo relativamente baixo e de fácil aquisição.

3.1.1.2 Métodos de análise

A análise de resíduos de fármacos em matrizes ambientais requer técnicas analíticas sensíveis e eficientes para garantir a confiabilidade na separação, identificação e quantificação dos analitos de interesse.

Para a determinação de DCF e outros fármacos em amostras aquosas, as técnicas analíticas mais empregadas são a HPLC com detecção no UV (WEN, et al., 2006; STAFIEJ et al., 2007; PANUSA et al., 2007) HPLC-fluorescência (MAHNIK et al., 2006) e principalmente as mais avançadas LC-MS ou LC-MSⁿ (PETROVIC et al., 2005; LINDQVIST et al., 2005; BUCHBERGER, 2007; STACKELBERG et al., 2007; PANUSA et al., 2007; SUN et al., 2008; YOON et al., 2010; RODIL et al., 2012) e GC-MS ou GC-MSⁿ (HANS-RUDOLF et al., 1998; RODRÍGUEZ et al., 2003; LEE et al., 2005; HAO et al., 2007).

A seleção dos métodos é dependente das propriedades físicas e químicas do composto alvo. A cromatografia gasosa é uma técnica empregada para compostos voláteis, termicamente estáveis e de baixa polaridade. Por sua vez, a cromatografia em fase líquida é usada na separação de compostos de polaridade média a elevada, compostos altamente solúveis em água e que podem ou não serem degradados termicamente. A grande aplicação da cromatografia em fase líquida na análise de fármacos em matrizes ambientais pode estar associada ao fato de que não há necessidade de volatilizar e derivatizar os compostos, reação que geralmente usa substâncias tóxicas e é trabalhosa e demorada, aumenta a possibilidade de contaminação e erros e pode levar a degradação de compostos lábeis (BUCHBERGER, 2007; STAFIEJ et al., 2007).

A aplicação de HPLC com detecção na região do ultravioleta (UV) e uma etapa de pré-concentração apropriada, permite aplicar métodos simples e sensíveis para a análise de fármacos em água. Além disso, no caso de amostras com interferentes a etapa de *clean-up* na SPE antes da injeção da amostra no sistema cromatográfico auxilia na obtenção de melhores resultados (STAFIEJ et al., 2007).

A detecção por espectrometria de massas é a mais empregada devido a sua capacidade de quantificação e de identificação de compostos. A base da espectrometria de massas é a produção de íons, que são subsequentemente separados ou filtrados de acordo com a sua razão massa/carga (m/z) e detectados. O resultado é um gráfico de abundância relativa dos íons produzidos em função da m/z (TERNES et al., 1999). Porém, o detector de massas ainda é de alto custo.

3.1.1.3 Validação de métodos

Para que um método desenvolvido atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados, é necessário que se faça uma validação.

A validação de um método é um processo que começa no planejamento experimental e continua durante todo o seu desenvolvimento e aplicação do método. De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no processo de validação também é importante ressaltar que todos os equipamentos e materiais devem apresentar-se devidamente calibrados e os analistas devem ser qualificados e adequadamente treinados (ANVISA, 2003).

A validação de método analítico é exigida, tanto pelos órgãos reguladores do Brasil como internacionais, para registro de novos produtos, e para isso, a maioria deles tem

estabelecido documentos oficiais que são diretrizes a serem adotadas no processo de validação (RIBANI et al., 2004).

Existem várias normas para a validação de métodos analíticos de separação, apesar de não haver uma norma estabelecida de âmbito nacional ou internacional. No Brasil, há duas agências reguladoras que disponibilizam guias para procedimentos de validação de métodos analíticos, a ANVISA mediante a resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003 (ANVISA, 2003) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) por meio do documento INMETRO DOQ-CGCRE-008/2011 (INMETRO, 2011). Os guias são recomendações e podem ser adaptados de acordo com o método a ser usado (KRULL; SWARTZ, 1998).

Os parâmetros para validação de métodos têm sido definidos em diferentes grupos de trabalho de organizações nacionais ou internacionais. Porém, algumas definições são diferentes entre as diversas organizações.

Uma tentativa para harmonizar estas diferenças foi feita para aplicações farmacêuticas, através da *International Conference on Harmonisation* (ICH, 1995, 1995a) na qual representantes das indústrias e agências reguladoras dos EUA, Europa e Japão definiram parâmetros, requerimentos e metodologias para validação de métodos analíticos.

A *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) também redigiu um documento técnico que define um guia para validação de métodos analíticos que tem sido utilizado pela ISO, norma ISO/IEC 17025 (ISO, 2005; THOMPSON et al., 2002).

A *United States Food and Drug Administration* (USFDA) também tem proposto guias sobre validação de métodos (USFDA, 1994).

A validação do método pode incluir a avaliação de diferentes tipos de equipamentos e laboratórios em que o método será utilizado. No entanto, se o método é desenvolvido para ser utilizado em instrumento e laboratório específicos não há necessidade de avaliar outros instrumentos e laboratórios nos experimentos de validação (RIBANI et al., 2004).

Os parâmetros utilizados para a validação de métodos analíticos envolvem seletividade, linearidade e faixa de aplicação, precisão, exatidão, LD, limite inferior de quantificação (LIQ), recuperação, estabilidade, reprodutibilidade e robustez (ANVISA, 2003).

A seletividade ou especificidade avalia o grau de interferência de espécies diferentes do analito, como outro composto ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação. A seletividade ou especificidade deve ser assegurada para que a linearidade, a exatidão e a precisão não sejam comprometidas (ANVISA, 2003). O termo seletividade é geralmente

usado quando o método produz respostas para vários analitos presente na amostra e a especificidade quando produz resposta para apenas um analito.

A linearidade é a capacidade de um método analítico em produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração. Recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, cinco concentrações diferentes. A curva analítica representa a relação entre a resposta do instrumento (área ou altura do pico) e a concentração conhecida do analito (ANVISA, 2003).

A relação linear aparente deverá ser tratada por métodos estatísticos apropriados para determinação do coeficiente de correlação, intersecção com o eixo Y, coeficiente angular, soma residual dos quadrados mínimos da regressão linear e DPR. Se não houver relação linear, realizar transformação matemática (INMETRO, 2011). A RE nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA, com base nos requisitos para métodos analíticos, recomenda um coeficiente de correlação linear (r) igual a 0,99 e maior ou igual a 0,98 para métodos bioanalíticos e o INMETRO um valor acima de 0,90.

Precisão é a expressão da concordância de vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra (INMETRO, 2011). A precisão é normalmente avaliada pelo desvio padrão absoluto (σ), que utiliza geralmente mais de 20 medições. Em validação de métodos cromatográficos, normalmente usa-se uma quantidade menor e, portanto, é calculada a estimativa do desvio padrão absoluto (S) (RIBANI et al., 2004). Para análises de compostos em baixas concentrações, da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , são aceitos DPR menores ou iguais a 20%, dependendo da complexidade da amostra (ANVISA, 2003).

A precisão em validação de métodos é considerada em três níveis diferentes: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade.

Repetibilidade (precisão intracorrida) é a concordância entre os resultados de análises realizadas sob todas as condições iguais em curto intervalo de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação e pode ser expressa como DPR (ANVISA, 2003).

A precisão intermediária (precisão intercorridas) representa a concordância entre os resultados obtidos no mesmo laboratório em diferentes eventos (no mínimo 2 dias, analistas, equipamentos ou combinação destes), que também pode ser expressa como DPR (ANVISA, 2003).

Reprodutibilidade (precisão interlaboratorial) avalia a concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra em diferentes laboratórios, empregando-se assim, diferentes equipamentos e analistas (ANVISA, 2003).

A exatidão expressa a concordância entre o valor encontrado e o valor aceito como verdadeiro ou aceito como referência (ANVISA, 2003; INMETRO, 2011; RIBANI et al., 2004).

Limite de detecção (LD) é a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser detectada. A estimativa do LD pode ser feita com base na relação do sinal-ruído da linha de base. O LD também pode ser determinado pela Equação 3.1 (ANVISA, 2003).

$$LD = \frac{DP_a \times 3,3}{IC} \quad \text{Equação 3.1}$$

Onde DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do analito próximas ao suposto LD. IC é a inclinação da curva analítica.

O LIQ é a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis pelos órgãos reguladores. A ANVISA (2003) recomenda $DPR \leq 20\%$ e exatidão entre 80-120% para o LIQ, sob as condições experimentais estabelecidas.

O LQ normalmente corresponde ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco) e não necessariamente apresenta precisão e exatidão. Por isso, após ter sido determinado o LQ, esse deve ser testado com amostras independentes para verificar se a exatidão e a precisão são satisfatórias (INMETRO, 2011).

O LQ pode ser estimado pela Equação 3.2.

$$LQ = \frac{DP_a \times 10}{IC} \quad \text{Equação 3.2}$$

Onde DP_a é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do analito próximas ao suposto LQ. IC é a inclinação da curva analítica. O LQ também pode ser estimado pela relação sinal-ruído (ANVISA, 2003).

A recuperação mede a eficiência do procedimento de extração de um método analítico dentro de um limite de variação. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a quantidade do analito recuperado no processo em relação à quantidade real presente na amostra (ANVISA, 2003).

A robustez é a medida da capacidade do método em não ser afetado por pequenas e deliberadas variações nos parâmetros do método. Em cromatografia em fase líquida os

principais parâmetros avaliados são: variação do pH, da vazão e da composição da fase móvel, diferentes lotes ou fabricantes de colunas e temperatura da coluna (ANVISA, 2003).

Em HPLC, a robustez pode ser avaliada, por exemplo, variando o conteúdo de uma fase móvel em $\pm 2\%$, o pH da fase móvel em 0,1 unidades de pH ou a temperatura da coluna em $\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se estas mudanças estiverem dentro dos limites de exatidão e precisão e seletividade aceitável, então o método possui robustez e tais variações podem ser incorporadas ao procedimento (RIBANI et al., 2004).

O estudo de estabilidade avalia a estabilidade do analito durante a coleta e manuseio da amostra e na solução padrão conforme as condições de trabalho (ANVISA, 2003).

Em uma validação de método podem ocorrer diferentes tipos de erros. Os erros sistemáticos são erros reprodutíveis que podem ser detectados e corrigidos, embora isso possa não ser fácil. Esse tipo de erro pode ser, por exemplo, devido a uma falha no projeto de um experimento ou de um equipamento, ou equipamentos e vidrarias não calibradas. Os erros aleatórios resultam dos efeitos de variáveis que não são ou que não podem ser controladas nas medidas. A incerteza pode estar associada, por exemplo, ao ruído elétrico aleatório de um instrumento ou a experiência do operador com um determinado método. A incerteza pode ser expressa como estimativa do desvio padrão (S) ou como um intervalo de confiança (μ). A probabilidade do erro aleatório ser positivo ou negativo é a mesma (HARRIS, 2005).

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Preparação da solução padrão

Todo material empregado no manuseio do padrão, solventes e soluções foram previamente lavados com solução Extran® alcalino a 5% (detergente) e depois enxaguados exaustivamente com água potável, água destilada, acetona e água purificada ($18,2\text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$) obtida de um sistema Milli-Q (Millipore, Brasil). Os materiais, exceto os volumétricos, foram secos em estufa a cerca de $50\text{ }^{\circ}\text{C}$.

O padrão analítico de DCF (CAS nº 15307-79-6) apresentava pureza $> 99\%$, o qual foi cedido pela empresa Medley. A solução estoque do DCF foi preparada pela dissolução do composto em metanol de pureza grau HPLC (J. T. Baker) na concentração de 200 mg L^{-1} . A solução estoque do padrão foi diluída em metanol em diferentes concentrações. Todas as

soluções foram armazenadas em frascos de vidro âmbar com septos de teflon e estocadas em refrigerador aproximadamente a 4 °C e renovadas a cada 30 dias.

3.2.2 Condições cromatográficas

O método para a identificação e quantificação do DCF foi desenvolvido em um cromatógrafo a líquido (HPLC) com detector de DAD (arranjo de diodos) e injetor automático (Agilent Technologies 1200 séries). Para a separação cromatográfica utilizou-se uma coluna Zorbax C-18, da Agilent Technologies, com 250 mm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno e com partículas de 5 µm. O estabelecimento das condições iniciais de análise foi feito utilizando solução padrão de DCF em metanol.

Foram testadas diferentes condições cromatográficas para verificar as condições que forneceriam o melhor desempenho na separação do DCF como, simetria, largura e altura do pico cromatográfico e tempo de corrida. Como solventes de eluição (fase móvel) foram testadas as seguintes misturas: acetonitrila grau HPLC (J. T. Baker)/água purificada (18,2 MΩ . cm a 25 °C) e metanol grau HPLC (J. T. Baker)/água purificada (18,2 MΩ . cm a 25 °C) ambas sem e com a adição de 0,1% e 0,05% de ácido trifluoracético (TFA). O TFA utilizado para acidificar a fase móvel do sistema cromatográfico foi de grau P.A., com pureza 99,9% (Merck). Para cada mistura de solventes da fase móvel, foram variadas às proporções, de 20 a 100%, no modo isocrático. Avaliaram-se também diferentes vazões da fase móvel e temperatura da coluna.

3.2.3 Desenvolvimento do procedimento de extração do diclofenaco em fase sólida

Para a otimização da metodologia de SPE foi utilizada como matriz água de estudo, preparada com água não clorada, coletada do poço artesiano localizado no Campus I da USP em São Carlos, com a adição de substâncias húmicas aquáticas (SHA) e caulinita, para a obtenção de cor verdadeira igual a 20 uH (unidade Hazen) e turbidez em torno de 70 uT (unidade de turbidez), respectivamente. Empregou-se como matriz a água de estudo por representar a amostra com maior concentração de interferentes e por ser a amostra de água empregada nos ensaios de tratamento de água em jarreste.

O pH da amostra de água de estudo variou entre 6,70 e 7,00. A amostra de água foi fortificada com DCF, no volume de 100 mL, com exceção do teste de volume de capacidade

do sorvente (volume de amostra). Os solventes empregados na extração foram: metanol grau HPLC (J. T. Baker) e água purificada (18,2 MΩ . cm a 25 °C).

As amostras de água fortificadas com DCF foram filtradas utilizando-se membrana de éster de celulose com 0,45 µm de tamanho de poro (Millipore), sob vácuo.

A otimização do método de extração foi feita de forma univariável com a seleção de seis variáveis, em diferentes níveis, que poderiam afetar a eficiência na extração e pré-concentração da amostra. Os parâmetros avaliados foram: pH da amostra; sorvente de extração; vazão de passagem de amostra; volume de solvente de condicionamento e de eluição e volume de amostra que avalia o volume máximo de amostra que pode ser percolado para a concentração e separação do analito de interesse (Tabela 3.2), de modo a obter valores de recuperação mais próximos de 100%.

Tabela 3.2 - Variáveis e níveis estudados para a otimização univariada da metodologia de extração.

Variáveis	Níveis avaliados
pH da amostra	2,00; 4,00; 6,00; 7,00; 8,00; 9,00 e 10,00
Vazão média da amostra	1,5; 3; 5; 10 e 20 mL min ⁻¹
Volume de solvente de condicionamento	5 e 10 mL
Volume de solvente de extração	2; 5 e 10 mL
Volume de amostra	100; 200; 300 e 500 mL
Sorvente de extração	C18; C8 e polimérico HLB

Empregando-se o procedimento de SPE otimizado em uma amostra de água de estudo (matriz) fortificada com 10 µg L⁻¹ de DCF, avaliou-se o desempenho de seis sorventes de diferentes séries, fornecedores e lotes de fabricação na recuperação do DCF. Os três tipos de sorventes contendo 500 mg de fase sólida em cartucho de 6 mL testados foram: polimérico (Oasis[®] HLB da Waters), C18 (de lotes e fabricantes diferentes) e C8 (lotes diferentes).

Os sorventes C18 e C8 foram os seguintes: Strata C18-E da Phenomenex (lote: S201-76); AccuBOND^{II} ODS-C18 da Agilent Technologies (lote: AMC18-8B); SampliQ C18 da Agilent Technologies (lote: SPE0940212); SampliQ C8 (a) da Agilent Technologies (lote: SPE0840604) e SampliQ C8 (b) da Agilent Technologies (lote: SPE0840606). Para este teste, as extrações foram feitas em duplicatas. Os cartuchos contendo 500 mg de sorvente polimérico Oasis HLB foram empacotados em laboratório a partir de um cartucho contendo 2 gramas dessa fase sólida.

3.2.4 Validação do método para a determinação do diclofenaco em água

O objetivo da validação da metodologia consistiu em fornecer dados, por meio de estudos experimentais, que o método atendesse às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, avaliou-se os seguintes parâmetros de validação de método cromatográfico: especificidade, linearidade, precisão, LIQ, LD, exatidão, robustez e estabilidade do DCF adequada à análise. A validação foi feita de acordo com as normas estabelecidas pela RE nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA com base nos requisitos para métodos bioanalíticos, empregado a matrizes complexas (ANVISA, 2003).

Para a extração e pré-concentração do DCF nas etapas de validação do método cromatográfico e aplicação do método nas amostras de água antes e após o tratamento de água empregou-se o sorvente C18-E Strata da Phenomex.

Os cálculos e gráficos necessários para a validação foram efetuados utilizando os softwares Microsoft Excel® e Microsoft Origin®.

Durante todas as etapas de validação do método foi utilizada como matriz a água de estudo, conforme consta no item 3.2.3.

3.2.4.1 Especificidade

A especificidade foi determinada pela comparação dos resultados obtidos de amostras de água fortificada com uma concentração de DCF de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e amostras não fortificadas. O objetivo foi demonstrar que a separação do DCF não foi afetada por interferentes presentes na matriz. As extrações foram feitas em seis repetições para cada amostra.

3.2.4.2 Limite de detecção e limite inferior de quantificação

O LD e limite de quantificação foram pré-estabelecidos por meio da relação sinal-ruído de concentrações decrescentes do padrão de DCF em metanol. Após esse procedimento, o LD e o LIQ foram estabelecidos por meio das amostras extraídas da matriz fortifica com DCF em concentrações decrescente. Para a determinação do LIQ utilizou-se a razão de 5:1 entre o sinal e o ruído da linha de base, com precisão e exatidão aceitáveis pela RE nº 899/2003 da ANVISA e para o LD utilizou-se a razão de 3 vezes superior ao ruído da linha de base.

3.2.4.3 Linearidade

Para a obtenção das duas curvas analíticas (linearidade) utilizou-se como matriz amostras de água de estudo fortificadas com solução padrão na faixa de concentrações de 3 a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 50 a 1200 $\mu\text{g L}^{-1}$ com 6 pontos cada curva. A extração foi feita em triplicata para cada nível de concentração, totalizando 36 extrações. As injeções cromatográficas foram feitas em triplicata para cada amostra extraída, totalizando 108 corridas cromatográficas de 10 minutos cada corrida.

A faixa de concentração utilizada para a construção das curvas contemplou o limite de variação esperado, do LIQ até 120% da concentração mais alta que se pretendia analisar. As curvas analíticas para o composto estudado foram construídas relacionando-se os valores da concentração das soluções no eixo da abcissa e os valores da área dos picos no eixo da ordenada. O tratamento estatístico foi feito pelo método dos mínimos quadrados. De acordo com a RE nº 899/2003 da ANVISA, para métodos bioanalíticos, para a aceitação da curva analítica a precisão deve ser menor ou igual a 20% para o LIQ e menor ou igual a 15% para as outras concentrações da curva analítica, sendo que no mínimo quatro das seis concentrações da curva devem cumprir com os critérios, incluindo nestas o LIQ e a maior concentração da curva analítica. A exatidão deve permanecer no intervalo de 80-120% para o LIQ e de 85-115% para as outras concentrações da curva. O coeficiente de correlação linear deve ser igual ou superior a 0,98.

3.2.4.4 Precisão, exatidão e recuperação do método

A precisão, exatidão e recuperação foram avaliadas comparando os resultados de amostras extraídas a partir de três níveis de concentração: baixa (3 $\mu\text{g L}^{-1}$), média (500 $\mu\text{g L}^{-1}$) e alta (1000 $\mu\text{g L}^{-1}$) contemplando a faixa de linearidade do método e de soluções de padrão de DCF em metanol.

Para avaliar a recuperação, os resultados das amostras extraídas em SPE foram comparados com os de amostras não extraídas (solução padrão de DCF em metanol) que representam 100% de recuperação. As extrações foram feitas em quintuplicatas para cada nível de concentração, totalizando 15 extrações e 45 injeções cromatográficas de 14 min cada. O cálculo da recuperação do analito (DCF) foi feito em função da relação de área do padrão

extraído e não extraído e multiplicado por 100 (Equação 3.3). A porcentagem de recuperação do analito requerida é próxima a 100%.

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Área do Pico do Padrão Extraído}}{\text{Área do Pico do Padrão não Extraído}} \times 100 \quad \text{Equação 3.3}$$

Foram avaliados também os parâmetros de precisão e a exatidão em uma mesma corrida (precisão intracorrída) e em dias diferentes (intercorrída). A precisão foi expressa como %DPR ou coeficiente de variação (CV%) e calculada por meio das Equações 3.4 a 3.6.

$$S^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1} \quad \text{Equação 3.4}$$

$$S = \sqrt{S^2} \quad \text{Equação 3.5}$$

$$\text{DPR}(\%) = \text{CV}(\%) = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{Equação 3.6}$$

Onde $\bar{X}$ é a média aritmética das concentrações determinadas experimentalmente; X_i , o valor individual de uma medição, n é o número de medições, S é o desvio padrão (estimativa do desvio padrão absoluto) e CV é o coeficiente de variação.

Segundo as recomendações da RE nº 899/2003 da ANVISA o DPR para o LIQ deve ser igual ou menor que 20% e para as demais concentrações se admite valores igual ou menor que 15%.

A exatidão foi expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente (valor aceito como verdadeiro) não se admitindo valores inferiores a 85% e superiores a 115%, exceto pra o LIQ, para o qual se admite um intervalo de 80-120% (ANVISA, 2003). A exatidão foi calculada por meio da Equação 3.7.

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{Concentração Média Determinada}}{\text{Concentração Teórica}} \times 100 \quad \text{Equação 3.7}$$

3.2.4.5 Estudo de estabilidade do diclofenaco nas condições de análise

O estudo de estabilidade foi feito de acordo as normas estabelecidas pela RE nº 899/2003 da ANVISA, porém adequando-se às condições experimentais empregadas neste estudo. As determinações de estabilidade foram feitas em um conjunto de amostras,

preparadas a partir de uma solução estoque recente de DCF. Foi avaliada a estabilidade do analito de curta duração (à temperatura ambiente), após armazenagem de longa duração (refrigeração a 4 °C), após ciclos de resfriamento a 4 °C e desresfriamento nas condições de análise (temperatura ambiente). Para verificação da estabilidade das amostras extraídas em SPE utilizou-se amostra de água de estudo fortificada com DCF nas concentrações baixa (LIQ) e alta, determinadas na validação do método analítico (3 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$). As amostras foram submetidas a extrações SPE em triplicatas.

- **Estabilidade da solução-padrão**

Foi avaliada a estabilidade da solução-padrão do DCF (200 mg L^{-1}) mantidas sob refrigeração (4 °C) após 7 dias e 30 dias de armazenamento. Os resultados desse teste foram comparados com aqueles obtidos utilizando-se soluções recentemente preparadas do DCF.

- **Estabilidade de curta duração**

Para verificação da estabilidade de curta duração, as amostras extraídas foram mantidas à temperatura ambiente por 14 h (tempo acima do necessário até as análises) e após foram injetadas no HPLC. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos da análise das amostras recém-preparadas.

- **Estabilidade de longa duração**

Para verificação da estabilidade de longa duração, as amostras extraídas foram armazenadas em refrigerador a 4 °C durante 21 dias no máximo (intervalo de tempo compreendido entre a preparação da amostra e o tempo superior da análise da última amostra). As amostras foram analisadas nos intervalos de 7 e 21 dias. As concentrações de todas as amostras foram comparadas com a média dos valores calculados para as amostras do primeiro dia do teste.

- **Estabilidade após ciclos de resfriamento e desresfriamento**

Foi avaliada a estabilidade do DCF em três amostras extraídas após três ciclos de resfriamento em refrigerador a 4 °C por 24 h, e desresfriamento à temperatura ambiente por 14 h. Após completar os três ciclos, quantificou-se o DCF nas amostras extraídas. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos da análise das amostras recém-preparadas.

- **Estabilidade pós-processamento**

Foi avaliada a estabilidade do DCF nas amostras extraídas durante o tempo máximo de permanência no sistema de injetor automático do cromatógrafo, por um período de 24 h. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos da análise das amostras recém-injetadas.

- **Estabilidade da água de estudo**

Para verificação da estabilidade do DCF na água de estudo, usada nos ensaios em jarreste, preparou-se 20 litros dessa água, empregando-se água de poço artesiano não clorada com adição de SHA para conferir cor verdadeira de 20 uH e caulinita para conferir turbidez de 70 uT. Essa água foi fortificada com DCF nas concentrações de 3 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. O pH dessas amostras foi igual a 7,0 (correção do pH com solução de NaOH e HCl). As amostras de água fortificadas com DCF foram estocadas em frascos plásticos de 5 L, à temperatura ambiente e com a presença de luz ambiente. A concentração de DCF de cada amostra determinada após 7 e 21 dias foi comparada com a média dos valores determinados no primeiro dia do teste. O teste foi feito em triplicada para cada nível de concentração estudado.

3.2.5 Método cromatográfico para a análise dos trihalometanos

As análises cromatográficas para determinação dos THM (clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e bromofórmio) foram feitas no laboratório de Recursos Hídricos da UNAERP, em Ribeirão Preto. O equipamento utilizado foi um cromatógrafo a gás (GC), da marca Varian, modelo 3600 CX, com detector de captura de elétrons (ECD). O padrão de calibração foi um padrão misto de THM da Supelco (48140-U), na concentração de 2000 mg L^{-1} de cada THM em metanol. O padrão interno (PI) foi o

diclorometano de grau cromatográfico, marca J. T. Baker. Como a concentração original do padrão de THM era elevada, foi efetuada uma diluição em metanol de grau cromatográfico, marca J. T. Baker. A solução estoque do PI foi preparada a partir da diluição de diclorometano em MTBE. Todas as soluções foram armazenadas em frascos de vidro âmbar e estocadas sob refrigeração, à temperatura de aproximadamente 0°C.

O método utilizado para a extração de THM foi baseado no procedimento descrito no método USEPA 551.1/1995 (USEPA, 1995).

3.2.5.1 Extração e condições cromatográficas para a determinação de trialometanos

Para a extração, uma alíquota de 10 mL de amostra de água armazenada a 4°C foi coletada e inserida em um frasco do tipo *vial* de 25 mL, ao qual foi adicionado em todas as amostras um volume de 10 µL de diclorometano 1% em MTBE. A seguir, foram adicionados no *vial* 4 mL de MTBE, mantido a 4 °C, e aproximadamente 1,0 g de sulfato de sódio anidro, agente secante da fase orgânica. O frasco *vial* foi agitado vigorosamente por 2 min e imediatamente acondicionado em freezer a – 4 °C. Duas fases, bem definidas, separam-se dentro do frasco *vial*: a fase orgânica superior, chamada de extrato e a fase inferior, chamada de fase aquosa. A fase orgânica foi coletada e transferida para um frasco tipo *vial* de 4 mL, acondicionada em freezer e conservada para análise em GC-ECD por um período máximo de 7 dias, conforme recomendado pela USEPA 551.1/1995. A fase aquosa foi descartada.

As condições usadas para a operação do cromatógrafo foram às seguintes:

- Coluna J&W-DB-1, 30 m x 0,32 mm ID e 5 µm filme;
- Gás de arraste nitrogênio 5.0 ECD com vazão de 3,6 mL min⁻¹, 74 cm s⁻¹ com pressão de 15 psi (1,071 atm);
- Temperatura do injetor a 160°C e temperatura do detector a 290°C;
- Temperatura inicial do forno de 40°C por 1 min, rampa de aquecimento até 125°C na razão de 5°C min⁻¹ por 2 min, rampa de aquecimento até 150°C na razão de 35°C/min e permanecendo em 150°C por 10 min;
- Com vazão de divisão de amostra em 2mL min⁻¹ e sensibilidade 10;
- Tempo total aproximado de 25 min para cada análise;
- Volume de extrato injetado 1 µL.

3.2.5.2 Construção das curvas analíticas dos trialometanos

Para a construção das curvas analíticas foi utilizado água purificada (18,2 MΩ . cm a 25 °C). Para garantir a isenção de compostos voláteis, cloro e matéria orgânica, a água purificada passou pelo seguinte procedimento: adição de carvão ativado e filtração em 0,45 µm; fervura por 10 min; exposição à radiação UV por 1 minuto; borbulhamento de nitrogênio por 5 min; resfriamento e acondicionamento em frasco de vidro âmbar a 4 °C.

Em cada balão foram adicionados 10 µL de padrão interno 1% em MTBE, inclusive em um branco, seguido de uma leve agitação. Posteriormente um volume de 4 mL de MTBE (a 4°C) foi adicionado para extração líquido-líquido, seguido de forte agitação por 5 min e decantação a temperatura de – 4 °C.

Durante todo o procedimento de manipulação com padrões e solventes para diluição e preparo da curva de calibração, foi colocado gelo em uma bandeja plástica onde os reagentes e vidrarias em uso permaneceram apoiados para evitar perdas por evaporação.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Seleção do comprimento de onda (λ) do diclofenaco sódico

Na Figura 3.1 é apresentado o espectro de absorção do DCF em metanol na região do UV (200 – 400 nm). O comprimento de onda correspondente ao máximo de absorbância do fármaco em estudo foi selecionado para posterior determinação analítica por HPLC com detecção no UV. Conforme o espectro obtido (Figura 3.3), o comprimento de onda máximo (λ máximo) selecionado para o DCF foi de 278 nm.

Figura 3.1 – Espectro de absorção do diclofenaco sódio em metanol (10 mg L^{-1}) na região do UV (200 – 400 nm).

3.3.2 Desenvolvimento do método para a determinação do diclofenaco

As composições da fase móvel testadas foram uma mistura de metanol/água purificada ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C) e acetonitrila/água purificada ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C), de 20% a 100% da fase móvel, no modo isocrático. Após ter fixado trabalhar com a fase móvel acetonitrila/água na proporção 65:35 (V/V), variou-se a vazão da fase móvel de $0,7$ a $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

À medida que foi diminuída a vazão, na mesma proporção de fase móvel, o tempo de retenção, a altura, a área e a largura do pico cromatográfico aumentaram. Para a vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ o pico cromatográfico do DCF apresentou-se com altura e área maior em relação à vazão de 1 mL min^{-1} e com menor tempo de retenção em relação a vazão de $0,7 \text{ mL min}^{-1}$, com diferença de aproximadamente 1 mim. Assim, foi escolhida a vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ para as próximas etapas.

Após ter fixado trabalhar com a fase móvel acetonitrila/água purificada na proporção 65:35 (V/V) e vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, foram feitos testes com a adição de ácido trifluoracético (TFA) nas porcentagens de 0,1 e de 0,05% (V/V) conforme apresentado na Figura 3.2.

Como pode ser observado na Figura 3.2, com a adição de TFA à fase móvel o pico cromatográfico tornou-se mais simétrico, mais estreito, mais alto e com tempo de retenção relativamente menor em relação à fase móvel sem TFA. Como praticamente não houve diferença na simetria do pico e no tempo de retenção do DCF entre as porcentagens de 0,05 e

0,1% de TFA testadas, optou-se por adicionar 0,05% de TFA em ambas as fases móveis, acetonitrila e água purificada, para as etapas futuras.

Figura 3.2 – Cromatogramas sobrepostos obtidos da matriz fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco submetida ao processo de extração em fase sólida e analisados em HPLC-DAD. Condições cromatográficas: $\lambda = 278 \text{ nm}$, Fase móvel = acetonitrila:água purificada (65:35, V/V) em diferentes porcentagens de ácido trifluoracético, modo isocrático, vazão de $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ e corrida de 10 min.

Na Tabela 3.3 são apresentadas as condições cromatográficas que proporcionaram uma resolução adequada do pico referente ao DCF, nas condições apropriadas para este estudo.

Tabela 3.3– Condições cromatográficas adotadas para a análise do diclofenaco.

Aparelho/Detector	HPLC/UV (arranjo de fotodiodo)
Coluna cromatográfica	ZORBAX ODS (4,6 x 250 mm, 5 μm)
Eluente A	Acetonitrila (0,05% ácido trifluoracético)
Eluente B	Água purificada (0,05% ácido trifluoracético)
Proporção dos eluentes A:B	65:35 (V/V)
Vazão	$0,8 \text{ mL min}^{-1}$
Volume de injeção	20 μL
Temperatura da coluna	25 $^{\circ}\text{C}$
Comprimento de onda	$278 \pm 4 \text{ nm}$
Tempo de corrida cromatográfica	10 min + 4 min de limpeza

Na Figura 3.3 é apresentado um cromatograma da solução padrão do DCF obtido com a condição cromatográfica estabelecida para o método.

Figura 3.3 - Cromatograma obtido para o diclofenaco (10 mg L^{-1}) em metanol com tempo de retenção médio de 5,6 min com as condições cromatográficas apresentadas na Tabela 3.3.

Na Tabela 3.4 são apresentados os resultados obtidos da separação do DCF. Os principais parâmetros analisados foram: tempo de retenção (t_R), simetria, largura e altura do pico.

Tabela 3.4 - Parâmetros de otimização cromatográfica para a separação do diclofenaco referente à Figura 3.3.

$t_R(\text{min})$	Área (mAU*s)	Altura (mAU)	Largura (min)	Simetria
5,6	494,97	52,17	0,14	0,91

Pode-se observar por meio dos resultados apresentados na Figura 3.3 e na Tabela 3.4, que as condições experimentais estabelecidas foram adequadas para a obtenção de um pico cromatográfico simétrico e relativamente estreito referente ao fármaco estudado. Pelos valores obtidos, verificou-se que os valores do fator de simetria estão próximos da unidade (um) indicando ser um pico simétrico, minimizando erros na quantificação.

3.3.3 Otimização da metodologia de extração em fase sólida

Antes do processo univariado de otimização do método, foram estabelecidas condições iniciais para a avaliação das variáveis. Primeiramente o sorvente sólido foi condicionado com 10 mL de metanol e 10 mL de água purificada (18,2 MΩ . cm a 25 °C) com uma vazão média de 2 mL min⁻¹. Após foi adicionado 100 mL da amostra de água (matriz) fortificada com 10 µg L⁻¹ de DCF no cartucho contendo o sorvente (vazão média de 3,5 mL min⁻¹). Procedeu-se a eluição com 5 mL de metanol (vazão média de 2 mL min⁻¹) em balão volumétrico de 5 mL e a seguir fez-se a análise cromatográfica (condições cromatográficas de acordo com os dados da Tabela 3.3). Após cada variável analisada, definiu-se o melhor nível e este foi adotado para os testes seguintes.

3.3.3.1 Avaliação do pH da amostra

Em SPE utilizando sorvente C18 o principal mecanismo de retenção é a partição, no qual o analito interage com a superfície do sorvente apolar (grupo C18 ligado a sílica) por meio de seus grupos funcionais apolares (C-H) (JUNKER-BUCHHEIT; WITZENBACHER, 1996). A principal desvantagem do sorvente C18 é a instabilidade em pH menor que 2,00 e maior que 8,00 (BARCELÓ; HENNION, 1997). Ao se empregar fase móvel em pH menor que 2,00 pode ocorrer hidrólise nas ligações ≡Si-O-Si≡ da sílica. Dessa forma, os grupos orgânicos são mais facilmente dissolvidos na fase líquida. Em meio básico, pH acima de 8,00, os grupos hidroxilas (OH⁻) reagem facilmente com os silanóis residuais promovendo a dissolução da sílica. Como consequência pode ocorrer alteração no leito da fase sólida, baixa eficiência e causar assimetria do pico cromatográfico (SILVA et al, 2004).

Apesar disso, neste trabalho foram estudados valores de pH maiores que 8,00 devido ao pH da água após o processo de adsorção em carvão ativado granular (CAG), empregado no estudo de tratamento de água (Capítulo 4 deste trabalho), geralmente se encontrar em pH em torno de 9,5.

O ajuste de pH nas amostras de água foi feito com a adição de solução de HCl ou NaOH. Os pH estudados para se verificar a recuperação do DCF foram: 2,00; 4,00; 6,00; 7,00; 8,00; 9,00 e 10,00.

Para avaliar o pH da amostras, as variáveis fixas foram: sorvente C18-E Strata (Phenomex) condicionado com 10 mL de metanol e 10 mL de água purificada (18,2 MΩ . cm

a 25 °C), em uma vazão média de 2 mL min⁻¹; vazão média da passagem da amostra de 3,5 mL min⁻¹, volume do solvente de eluição de 5 mL com vazão média de 2 mL min⁻¹. Os resultados de porcentagem de área normalizada dos picos cromatográficos e barras de erros (estimativa do desvio padrão) podem ser visualizados na Figura 3.4 e os cromatogramas sobrepostos na Figura 3.5.

Figura 3.4 - Resultados para a otimização da variável pH através da extração em fase sólida e análise em HPLC-DAD. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Figura 3.5 – Cromatogramas sobrepostos obtidos para o diclofenaco ($t_R = 5,3$ min) em diferentes pH da amostra após ser submetido ao processo de extração em fase sólida. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Analisando as Figuras 3.4 e 3.5 verifica-se que a retenção do DCF no sorvente testado e a simetria do pico não foram afetadas drasticamente pela variação do pH estudada. No entanto, para as amostras de água acidificadas a pH 2,00 e 4,00, os picos antes do tempo de retenção do DCF foram mais intensos (Figura 3.5) que nas amostras com pH > 4,00. Isso provavelmente ocorreu devido à maior interação das SHA (ácidos hidrofóbicos) presentes na água (matriz) com o sorvente C18 em pH mais ácido, interferindo na interação do DCF com o sorvente.

Na otimização do método de SPE definiu-se trabalhar na faixa de pH entre 6,00 e 8,00, na qual se obteve valores próximos de adsorção e por ser a faixa de pH natural das amostras de água de estudo (matriz) preparadas para a validação do método. Assim, não foi necessário fazer a correção de pH nas amostras de água.

3.3.3.2 Volume de amostra

Para determinação do volume de amostra, diferentes volumes e concentração de DCF, mas com mesma massa de DCF (10 µg) foram submetidas à SPE e os extratos foram analisados em HPLC-DAD, nas condições cromatográficas otimizadas (Tabela 3.3). As condições de extração foram às mesmas do item 3.3.3.1 (avaliação do pH), porém o pH da amostra foi fixado em 6,8. Na Figura 3.6 são apresentados os resultados de área normalizada e barras de erros (desvio padrão) encontrados na determinação do volume de amostra.

Figura 3.6 - Estudo do volume de amostra na extração de diclofenaco em água de estudo. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Na determinação do volume de amostra, verificou-se uma faixa ampla de volumes (100 a 500 mL) com recuperações em torno de 100%, indicando que a capacidade do sorvente na adsorção do DCF não foi afetada pelos volumes estudados. Apesar dos resultados serem praticamente os mesmos para os diferentes volumes avaliados, optou-se por empregar 100 mL de amostra para os testes seguintes, devido à concentração de DCF na água de estudo ser relativamente alta (não havendo a necessidade de alto fator de concentração do DCF) e pela capacidade de coleta de água tratada após os ensaios feitos em jarreste.

3.3.3.3 Vazão da passagem da amostra

Depois de fixado o intervalo de pH (6,00 – 8,00) de trabalho e o volume de amostra, foram testadas diferentes vazões da passagem da amostra de água (matriz) fortificada com DCF através do sorvente C18-E Strata para verificar a capacidade de adsorção (Figuras 3.7 e 3.8). As vazões testadas foram de 1,5; 3; 5; 10 e 20 mL min⁻¹ para uma concentração baixa (10 µg L⁻¹) e para uma concentração alta de DCF (1200 µg L⁻¹).

Figura 3.7– Estudo da vazão da matriz fortificada com 10 µg L⁻¹ de diclofenaco na extração em sorvente C18. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Figura 3.8 - Estudo da vazão da matriz fortificada com $1200 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco na extração em sorvente C18. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Por meio dos resultados apresentados nas Figuras 3.7 e 3.8, verifica-se que, para a vazão de 20 mL min^{-1} a recuperação foi menor. Com esses resultados foi definida para as próximas etapas uma vazão média de 5 mL min^{-1} , perfazendo aproximadamente 20 min de extração, tempo razoavelmente rápido.

3.3.3.4 Volume do solvente de eluição do diclofenaco

Para a eluição do analito foram avaliados três diferentes volumes de metanol: 2, 5 e 10 mL, e para o condicionamento do sorvente foram avaliados: 5 e 10 mL de metanol. Foi utilizado sorvente C18, pH da amostra de água de estudo 6,80, vazão média da passagem da amostra através do sorvente de 5 mL min^{-1} , volume de amostra de 100 mL e concentração de DCF de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e de $1200 \mu\text{g L}^{-1}$. Os resultados de área normalizada e barras de erros (desvio padrão) são apresentados na Figura 3.9.

Figura 3.9 - Resultados obtidos para a otimização da variável volume do solvente de condicionamento e de eluição do analito. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Pode ser observado na Figura 3.9 que a recuperação do analito para a eluição com 2 mL de metanol foi inferior aos demais resultados. Os resultados para os volumes de solvente de 5 e 10 mL empregado no condicionamento do sorvente e na eluição do analito foram similares.

Portanto, com o objetivo de se obter uma recuperação entre 85 e 115% e menor consumo de solvente orgânico, foi definido 5 mL de metanol como volume de condicionamento e de eluição do analito para os próximos experimentos. A eluição do DCF foi feita em balão volumétrico de 5 mL.

3.3.3.5 Avaliação de sorventes sólidos na extração de diclofenaco

Para os três tipos de fases sólidas testadas, polimérica, C18 e C8 (de fabricantes e lotes diferentes) foram fixadas as variáveis: pH da amostra 6,80, vazão média de condicionamento 2,0 mL min⁻¹ e de eluição do analito 3,5 mL min⁻¹, volume do solvente de eluição (metanol) de 5 mL, volume de amostra de 100 mL e concentração de DCF de 10 µg L⁻¹.

Os resultados de área normalizada, desvio padrão (barras) e de precisão (% DPR) obtidos das amostras extraídas em duplicatas para cada sorvente testado, são apresentados na Figura 3.10.

Figura 3.10 – Resultados obtidos com os diferentes sorventes. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Conforme os resultados apresentados na Figura 3.10, a recuperação do DCF não foi igual para todos os sorventes testados. Os resultados de área normalizada foram similares para os sorventes: Oasis® HLB da Waters (111%); C18-E Strata da Phenomenex (125%); C18 série AccuBOND^{II} da Agilent Technologies (120%) e C8 série SampliQ (a) da Agilent Technologies (lote: SPE0840604) (126%).

Porém, para os sorventes C18 série SampliQ da Agilent Technologies (lote: SPE0940212) e C8 série SampliQ (b) da Agilent Technologies (lote: SPE0840606) a recuperação foi de 34% e de 83%, respectivamente.

A maior diferença na recuperação do DCF foi entre os sorventes C8 de lotes diferentes e entre os sorventes C18 de séries diferentes (AccuBOND^{II} e SampliQ). Isso provavelmente ocorreu devido às variações identificadas nas especificações desses sorventes, conforme apresentadas na Tabela 3.5.

Tabela 3.5 – Algumas características dos sorventes testados de acordo com os certificados dos fabricantes.

SORVENTE	LOTE	CARACTERÍSTICAS DO SORVENTE				
		Área superficial (m ² g ⁻¹)	Tamanho médio do poro (Å)	Tamanho médio da partícula (µm)	Carbono (%)	Cobertura da superfície (µmoles m ⁻²)
Oasis HLB (Wates)	-	830	80	55	-	-
Strata C18-E (Phenomex)	S201-76	485	71	54	16,6	2,0
AccuBOND ^{II} C18*	AMC18-8B	546	60	51	19,8	1,7
SampliQ C18*	SPE0940212	565	60	45	25,4	3,1
SampliQ C8* (a)	SPE0840604	555	60	45	14,6	3,5
SampliQ C8* (b)	SPE0840606	555	60	45	15,9	3,9

*Agilent Technologies

Diante dos resultados apresentados, pode-se dizer que é de suma importância avaliar a robustez do processo de extração levando-se em conta o sorvente no desenvolvimento e validação do método, principalmente quando esses são de fabricantes e lotes diferentes. Não avaliar a robustez dos sorventes pode por em dúvida a confiabilidade dos resultados. Também diante desses resultados, concluiu-se que é de suma importância empregar o mesmo sorvente e de preferência de mesmo lote de fabricação na validação e na aplicação do método.

Com o objetivo de obter boa eficiência na recuperação do DCF (próxima de 100%) e sorvente de menor custo, foi escolhido o C18-E Strata da Phenomex para a realização dos próximos testes. Apesar de poder trabalhar em toda a faixa de pH (0 - 14) com o sorvente polimérico Oasis HLB (equilíbrio hidrofílico e lipofílico) da Waters e ter obtido bons resultados na recuperação do DCF, esse não foi empregado devido ao elevado custo.

Após a otimização dos parâmetros, foi adotado o seguinte procedimento de SPE:

- Os sorventes foram condicionados com 5 mL de metanol e 5 mL de água purificada (18,2 MΩ · cm a 25 °C) em uma vazão média de 2 mL min⁻¹;
- Após, foi feita a adição de 100 mL de amostra através dos sorventes, sob vácuo, utilizando-se um manifold de seis posições (Agilent Technologies) em uma vazão média de 5 mL min⁻¹;
- Por último, procedeu-se a eluição do analito com 5 mL de metanol em uma vazão média de 3,5 mL min⁻¹. O extrato foi coletado em balão volumétrico de 5 mL.

3.3.4 Validação do método para a determinação do diclofenaco

Os parâmetros de validação investigados foram: especificidade, LD, LIQ, linearidade, recuperação, precisão e exatidão intracorrida e intercorrida, estabilidade e robustez.

3.3.4.1 Especificidade

A especificidade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, a substância em exame na presença de componentes que podem interferir na sua determinação em uma amostra complexa. A especificidade avalia o grau de interferência de espécies como excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares. Este parâmetro garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse.

A especificidade do método foi avaliada analisando-se o extrato da matriz isenta do analito de interesse (água de estudo) e o extrato da matriz fortificada com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de DCF. Verifica-se na Figura 3.11 que não houve coeluição de interferentes com o analito de interesse, sem a necessidade de inclusão da etapa de limpeza (*clean up*). Apenas houve sinais característicos do solvente e impurezas da matriz no início do cromatograma.

Figura 3.11 – Cromatogramas sobrepostos obtidos da amostra de água de estudo (Branco) e da amostra de água de estudo fortificada com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco após o processo de extração em fase sólida. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Foi avaliada também a especificidade em relação aos agentes desclorantes ácido ascórbico (Figuras 3.12 e 3.13) e tiosulfato de sódio (Figuras 3.14 e 3.15), substâncias usadas para cessar a reação do cloro nas amostras de água cloradas.

Conforme pode ser observado nas Figuras 3.12 a 3.15, os picos dos agentes desclorantes (ácido ascórbico e tiosulfato de sódio) não coeluíram com o pico do DCF. Portanto, a recuperação do DCF foi menor na amostra de água com o ácido ascórbico (84%) que na amostra com o tiosulfato de sódio (98%). Diante desse resultado, foi empregado o tiosulfato de sódio como agente desclorante nas amostras de água oxidadas com cloro e dióxido de cloro.

Figura 3.12 - Cromatogramas sobrepostos obtidos da amostra de água de estudo fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco e 6 mg L^{-1} de tiosulfato de sódio após o processo de extração (área do pico de DCF = $8,6185 \text{ mAU}\cdot\text{s}$ e $t_R = 5,3 \text{ min}$) e do padrão de diclofenaco em metanol (área do pico de DCF = $8,8133 \text{ mAU}\cdot\text{s}$ e $t_R = 5,3 \text{ min}$). Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Figura 3.13 - Cromatograma obtido da amostra de água purificada ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C) com 6 mg L^{-1} de tiosulfato de sódio após o processo de extração em fase sólida. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Figura 3.14 - Cromatogramas sobrepostos obtidos da amostra de água de estudo fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco e 6 mg L^{-1} de ácido ascórbico após o processo de extração (área do pico DCF = $7,4506 \text{ mAU}\cdot\text{s}$ e $t_R = 5,3 \text{ min}$) e do padrão de diclofenaco em metanol (área do pico DCF = $8,8133 \text{ mAU}\cdot\text{s}$ e $t_R = 5,3 \text{ min}$). Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Figura 3.15 - Cromatograma obtido da amostra de água purificada ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C) com 6 mg L^{-1} de ácido ascórbico após o processo de extração em fase sólida. Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

3.3.4.2 Limite de detecção e limite inferior de quantificação

O LD encontrado foi igual a $2 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ e o LIQ foi igual a $3 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$. O LD foi primeiramente estabelecido através da análise de soluções padrão de DCF em concentrações decrescentes até relação sinal-ruído 3:1 e após analisado na matriz de estudo fortificada com DCF. O LD encontrado na matriz é apresentado na Figura 3.16.

O LIQ foi estabelecido por meio da análise de amostras de água de estudo fortificadas com concentrações decrescentes do fármaco até a relação sinal-ruído de 5:1 com precisão $\leq 20\%$ e exatidão entre 80 - 120%. O cromatograma e os parâmetros analisados para o LIQ do DCF estão apresentados na Figura 3.17 e na Tabela 3.6, respectivamente.

Figura 3.16 - Cromatograma do limite de detecção do método, correspondente a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de DCF (t_R DCF = 5,6 min). Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Figura 3.17 - Cromatograma obtido para limite inferior de quantificação do diclofenaco correspondente a $3 \mu\text{g L}^{-1}$ (t_R = 5,6 min, relação sinal:ruído = 5:1). Condições cromatográficas de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.6 – Resultados de precisão (% DPR) e exatidão para o limite inferior de quantificação ($3,0 \mu\text{g L}^{-1}$) obtidos das quintuplicatas.

Área Média ($\text{mAU}\cdot\text{s}$)*	Concentração de DCF Experimental DCF* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Experimental Média de DCF (n = 5) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DPR (n = 5) (%)	Exatidão* (%)	Exatidão Média (n = 5) (%)
2,38	2,96			98,70	
2,61	3,19			106,40	
2,59	3,17	3,13	3,14	105,71	104,5
2,58	3,17			105,65	
2,60	3,19			106,28	

*Média das três injeções cromatográficas; n: número de amostras.

A precisão do LIQ, expressa como estimativa do DPR, foi igual a 3,14% e a exatidão média foi igual a 104,5%. Esses valores se encontram dentro do intervalo aceito pela RE nº 899 da ANVISA (precisão $\leq 20\%$ e exatidão entre 80 e 120%).

Considerando-se a concentração do analito de 20 vezes, uma vez que se empregou 100 mL de amostra de água para a extração e o volume do extrato final resultou em 5 mL, o método empregado possibilita a determinação do DCF nas amostras de água na concentração de $3 \mu\text{g L}^{-1}$.

3.3.4.3 Construção das curvas analíticas e avaliação da linearidade

Para a construção das duas curvas analíticas utilizou-se amostra de água de estudo e fortificada com o padrão de DCF em diferentes níveis de concentração. A correlação entre o sinal medido (área do pico) e a concentração do DCF a ser quantificada foram definidas por seis pontos, não incluindo o zero devido aos possíveis erros associados (THOMPSON et al., 2002). As curvas analíticas foram construídas do LIQ até 120% da concentração mais alta que se pretendia analisar (ANVISA, 2003). Após ter sido construído uma curva analítica no intervalo de concentração de 3 a $1200 \mu\text{g L}^{-1}$ verificou-se inexatidão, assim foi necessário construir duas curvas analíticas para a obtenção da linearidade.

Nas Figuras 3.18 e 3.19 são apresentadas as curvas analíticas construídas nos intervalos de concentração de 3 a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e de 50 a $1200 \mu\text{g L}^{-1}$ de DCF em água de estudo com suas respectivas equações de regressão linear e coeficientes de correlação.

Figura 3.18 - Curva analítica com intervalo de concentração de 3 a 50 µg L⁻¹ de diclofenaco.

Figura 3.19 - Curva analítica com intervalo de concentração de 50 a 1200 µg L⁻¹ de diclofenaco.

Os coeficientes de correlação apresentados nas curvas analíticas (Figuras 3.18 e 3.19) se encontram dentro do valor aceito pela RE n° 899/2003 da ANVISA para a validação de métodos bioanalíticos ($r \geq 0,98$). Este parâmetro permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados.

A linearidade corresponde à capacidade do método analítico em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo de aplicação (faixa de trabalho). O cálculo dos coeficientes de regressão de uma curva analítica deve ser acompanhado de estudos estáticos, para verificar se todos os pontos a serem usados

estão dentro da faixa linear dinâmica correspondente. Nas Tabelas 3.7 e 3.8 são apresentados os DPR e a exatidão média para cada ponto das curvas analíticas construídas.

Verifica-se pelos dados das Tabelas 3.7 e 3.8 que os resultados de precisão e exatidão se encontram dentro dos critérios de aceitação da pela RE nº 899/2003 da ANVISA (DPR $\leq$ 20% para o LIQ e $\leq$ 15% para as demais concentrações, exatidão de 80 – 120% para o LIQ e de 85 a 120% para as demais concentrações).

Tabela 3.7 – Precisão (% DPR) e exatidão média da curva analítica com intervalo de concentração de 3 a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco.

Concentração Teórica de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Experimental Média (n = 3) de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DP (n = 3)	DPR (n = 3) (%)	Exatidão Média (n = 3) (%)
3	3,23	0,04	1,30	107,58
10	10,51	0,07	0,67	105,06
20	19,34	0,18	0,93	96,73
30	29,06	0,07	0,25	96,87
40	40,73	0,33	0,80	101,82
50	50,12	0,27	0,47	100,23

n: número de amostras para cada nível de concentração de DCF.

Tabela 3.8 – Precisão (% DPR) e exatidão da curva analítica com intervalo de concentração de 50 a 1200 $\mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco.

Concentração Teórica de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Experimental Média (n = 3) de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DP (n = 3)	DPR (n = 3) (%)	Exatidão Média (n = 3) (%)
50	53,99	0,24	0,44	108,00
100	105,78	0,72	0,68	105,78
300	289,48	0,65	0,22	96,49
600	593,68	1,86	0,31	98,51
900	895,61	4,29	0,48	99,51
1200	1211,61	2,67	0,22	100,97

n: número de amostras para cada nível de concentração de DCF.

Nas Figuras 3.20 e 3.21 são apresentados os gráficos de resíduos *versus* concentração de DCF. Para a curva analítica com concentrações mais altas (Figura 3.21) as variâncias foram maiores, porém permaneceram dentro de 15%. Como os resíduos foram não tendenciosos e distribuídos aleatoriamente pode-se considerar o método homocedástico.

Figura 3.20 - Gráfico de resíduos *versus* concentração de diclofenaco de 3 a 50 µg L⁻¹ empregando o método matemático de regressão linear.

Figura 3.21 - Gráfico de resíduos *versus* concentração de diclofenaco para a curva analítica entre 50 e 1200 µg L⁻¹ empregando o método matemático de regressão linear.

Outra forma de verificar se os pontos de uma curva analítica estão inseridos na faixa linear, é dividir os dados do sinal pelas suas respectivas concentrações, fornecendo as respostas relativas (RIBANI et. al., 2004). Um gráfico é construído com as respostas relativas no eixo y e as concentrações correspondentes em escala logarítmica no eixo x. A linha obtida

deve ser horizontal sobre toda a faixa linear. São desenhadas outras linhas horizontais paralelas no gráfico, para 95 e 105% da linha da faixa linear.

Nas Figuras 3.22 e 3.23 apresentam-se a determinação do intervalo linear dinâmico através das curvas analíticas construídas e da sua representação logarítmica. A construção da curva com a concentração em escala logarítmica permite melhor visualização da faixa linear. Conclui-se que o método é linear até o ponto onde a resposta relativa intercepta a linha de 95 ou 105% de intervalo linear dinâmico (intervalo de concentrações, no qual se pode construir uma curva analítica linear).

Figura 3.22 - Gráfico da razão sinal/concentração *versus* concentração de 3 a 50 µg L⁻¹ em escala logarítmica.

Figura 3.23 - Gráfico da razão sinal/concentração *versus* concentração de 50 a 1200 µg L⁻¹ em escala logarítmica.

O tratamento estatístico dos resultados obtidos com o método dos mínimos quadrados mostrou-se ser um modelo aceitável para este caso.

3.3.4.4 Precisão, exatidão e recuperação do método

A precisão, a exatidão e a recuperação do método foram determinadas utilizando-se três níveis de concentrações de DCF: 3; 500 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$, contemplando a faixa de variação do procedimento. Foram feitas cinco determinações (extrações) e três injeções cromatográficas para cada nível de concentração, resultando no total de 15 extrações e de 45 injeções cromatográficas. Os resultados obtidos de precisão, exatidão e recuperação do método em uma mesma corrida analítica (intracorrída) e em dias diferentes (intercorrída) são apresentados nas Tabelas 3.9 e 3.10, respectivamente.

Tabela 3.9 - Precisão (DPR) e exatidão intracorrída e recuperação em amostras de água de estudo fortificadas com três níveis de concentração de diclofenaco.

Concentração Teórica de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Experimental Média (n = 5) de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DPR (n = 5) (%)	Exatidão Média (Mínima e Máxima) (n = 5) (%)	Recuperação Média (Mínima e Máxima) (n = 5) (%)
3	3,22	1,13	106,74 (105,42 – 108,79)	101,24 (99,08 – 102,87)
500	496,81	1,37	99,36 (97,98 – 101,58)	96,25 (94,90 – 98,42)
1000	1023,64	1,84	102,36 (100,70 – 104,73)	96,58 (95,01 – 98,83)

n: número de amostras de cada nível de concentração de DCF.

Tabela 3.10 - Precisão (DPR) e exatidão intercorrída e recuperação em amostras de água de estudo fortificadas com três níveis de concentração de diclofenaco.

Concentração Teórica de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração Experimental Média (n = 5) de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DPR (n = 5) (%)	Exatidão Média (Mínima e Máxima) (n = 5) (%)	Recuperação Média (Mínima e Máxima) (n = 5) (%)
3	3,10	0,96	102,65 (101,76 – 104,28)	96,60 (95,60 – 98,46)
500	486,30	3,56	97,26 (93,30 – 101,67)	94,20 (90,33 – 98,50)
1000	1023,90	2,62	102,39 (99,55 – 105,06)	96,61 (93,92 – 99,14)

n: número de amostras de cada nível de concentração.

Verifica-se pelos resultados apresentados nas Tabelas 3.9 e 3.10 que a exatidão e a precisão intracorrida e intercorrida não excederam os intervalos recomendados pela RE nº 899 da ANVISA. Os intervalos aceitos para o LIQ são de 80-120% de exatidão e $\geq 20\%$ de precisão e de 85-115% de exatidão e $\geq 15\%$ de precisão para as demais concentrações.

3.3.4.5 Robustez

De acordo com o INMETRO (2011), a robustez de um método mede a sensibilidade que este apresenta a pequenas variações. Diz-se que um método é robusto quando ele não é afetado por alguma modificação pequena, e deliberada em seus parâmetros.

A avaliação da robustez foi considerada durante a fase de desenvolvimento do método. Constataram-se algumas variações nas condições analíticas estabelecidas como, vazão da fase móvel, pH da fase móvel (item 3.3.3.1, Figura 3.5), temperatura da coluna (Figura 3.24), e diferentes lotes e fabricantes de sorventes sólidos para a extração do analito (item 3.3.3.5, Figura 3.10). Estas variações foram adequadamente controladas e precavidas no decorrer do procedimento.

Figura 3.24 – Cromatogramas sobrepostos obtidos da matriz fortificada com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco submetidas ao processo de extração em fase sólida e analisados em HPLC-DAD em diferentes temperaturas da coluna. Condições cromatográficas: $\lambda = 278 \text{ nm}$, fase móvel: acetonitrila/água (65:35, V/V), vazão: 0,8 mL e volume de injeção: 20 μL .

3.3.4.6 Estudo de estabilidade do DCF nas condições de análise

Para gerar resultados confiáveis e reprodutíveis, as amostras e os padrões usados devem ser estáveis por um período de tempo, por exemplo, um dia, uma semana, um mês, dependendo da necessidade. Na maioria das vezes, as corridas cromatográficas no HPLC com injetor automático foram feitas por aproximadamente 24 h ininterruptas. Diante disso, fez-se o teste de estabilidade das amostras no injetor por 24 h mantendo a temperatura ambiente da sala de operação em 22 °C.

A estabilidade das amostras e dos padrões é importante em termos de temperatura, tempo de manuseio e estocagem. Em tempos longos de estocagem das amostras e dos padrões podem ocorrer várias mudanças, como evaporação do solvente e degradação dos compostos de interesse. Conhecendo a estabilidade, as análises podem ser completadas antes de ocorrer essas mudanças.

Na Tabela 3.11 e nas Figuras 3.25 a 3.28 são apresentados os resultados obtidos do estudo de estabilidade da solução padrão e das amostras.

Tabela 3.11 - Resultados de exatidão, precisão e variação de concentração de diclofenaco encontrada para os dois níveis de concentração avaliados (3 e 1000 µg L⁻¹).

Amostras	Tempo	Concentração Média Determinada Experimentalmente de DCF (n = 3)		Precisão (n = 3) (% DPR)		Exatidão Média (n = 3) (%)	
		3 µg L ⁻¹	1000 µg L ⁻¹	3 µg L ⁻¹	1000 µg L ⁻¹	3 µg L ⁻¹	1000 µg L ⁻¹
Solução padrão (dias)	0	2,98	1018,30	4,93	1,90	99,48	101,83
	7	2,90	1004,94	3,79	3,57	96,55	100,49
	30	3,07	1010,37	10,78	3,12	102,21	101,03
Curta duração (h)	0	2,93	1018,30	5,50	1,90	97,53	101,83
	14	2,94	1018,00	6,09	1,93	98,11	101,75
Longa duração (dias)	0	3,01	1018,29	4,89	1,90	100,47	101,83
	7	2,94	1018,20	5,51	2,04	98,07	101,92
	21	2,95	1016,97	5,78	2,07	98,13	101,70
Injetor (h)	0	3,01	1018,00	4,89	1,90	100,50	101,83
	24	2,93	1019,26	6,14	1,86	97,55	101,93
Ciclos*	0	3,03	1045,21	2,48	0,49	101,00	104,52
	3	3,03	1044,18	4,81	0,39	101,10	104,42
Água de estudo pH 7,0 (dias)	0	2,96	1013,29	0,64	1,64	98,58	101,33
	7	2,90	1010,28	0,89	0,30	96,54	101,03
	21	3,20	990,60	3,00	0,52	106,65	99,06

* Três ciclos de 24 h de resfriamento e desresfriamento; n: número de amostras para cada tempo.

Na Tabela 3.11 observa-se que a maior variação da concentração de DCF encontrada experimentalmente foi para a menor concentração estudada ($3 \mu\text{g L}^{-1}$). A maior variação de exatidão foi para a água de estudo após 21 dias de estocagem a temperatura ambiente, indicando diminuição na estabilidade com o passar dos dias.

Figura 3.25 – Exatidão do estudo de estabilidade para o limite de quantificação de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco.

Figura 3.26 – Exatidão do estudo de estabilidade para a concentração de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de diclofenaco.

Figura 3.27 – Precisão do estudo de estabilidade para o limite de quantificação de 3 µg L⁻¹ de diclofenaco.

Figura 3.28 – Precisão do estudo de estabilidade para a concentração de 1000 µg L⁻¹ de diclofenaco.

A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança (ou seja, aparece sempre associada a valores de precisão). Estes limites podem ser mais estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de concentrações menores. Como indicado pela RE nº 899/2003 da ANVISA a exatidão para a estabilidade do LIQ deve ser entre 80 e 120% e a precisão até 20% como DPR e para as maiores concentrações, a exatidão entre 85 e 115% e a precisão até 15%.

Conforme apresentado nas Figuras 3.25 a 3.28 observa-se que os resultados se encontram dentro dos intervalos de exatidão e precisão preconizados pela RE 899/2003 da ANVISA. O maior desvio de exatidão foi para a amostra de água de estudo fortificada com 3 µg L⁻¹ de DCF a pH 7,00 em 21 dias e de precisão foi da solução padrão com 30 dias. Diante desses resultados, a solução padrão foi renovada a cada 30 dias e a água de estudo, preparada

para os ensaios em jarreste, a cada semana, para assegurar a qualidade da água e a confiabilidade dos resultados.

3.3.5 Alguns parâmetros da validação do método cromatográfico para análise de trialometanos

3.3.5.1 Seletividade

Nas Figuras 3.29 e 3.30 são apresentados os cromatogramas do método validado para $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de THM e do branco (MTBE) + padrão interno, respectivamente.

Figura 3.29 - Cromatograma para concentração de $20 \mu\text{g L}^{-1}$ de trialometanos. (Diclorometano (PI) – tempo de retenção (t_R) = 4,8 min; Clorofórmio – t_R = 7,41 min; Bromodiclorometano – t_R = 10,64 min; Dibromoclorometano – t_R = 14,21 min e Bromofórmio – t_R = 17,88 min). Condições cromatográficas descritas no item 3.2.5.1.

Observa-se pelo cromatograma da Figura 3.29, que há uma boa separação dos picos cromatográficos referentes aos analitos estudados. O tempo total da análise cromatográfica dos THM estudados foi de aproximadamente 20 minutos. Observa-se também, que o diclorometano (PI), apresentou tempo de retenção (t_R) distinto, quando comparado com os t_R dos outros analitos estudados. Foi verificado que não houve interferentes nos mesmos tempos de retenção dos analitos de interesse (Figura 3.30), comprovando-se assim a seletividade do método.

Figura 3.30 – Cromatograma do branco (MTBE) + padrão interno. Condições cromatográficas descritas no item 3.2.5.1.

3.3.5.2 Linearidade, limite de detecção e limite inferior de quantificação para os trialometanos

A linearidade do método cromatográfico utilizado no estudo foi avaliada utilizando-se a curva analítica ($y = a + bx$) em seis níveis de concentração 10; 20; 60; 80; 100 e 120 $\mu\text{g L}^{-1}$ de THM. Na Tabela 3.12 constam os valores de área do pico do analito dividido pela área do pico do PI e na Tabela 3.13 constam as equações de regressão linear e os coeficientes de correlação (r) das curvas analíticas para os THM.

Tabela 3.12 - Resultados usados na construção das curvas analíticas dos trialometanos.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Área do Analito/Área do Padrão Interno			
	Clorofórmio	Bromodiclorometano	Dibromoclorometano	Bromofórmio
10	0,31	1,85	1,78	0,78
20	0,39	2,77	2,64	1,01
60	1,09	8,1	7,52	2,78
80	1,59	11,68	10,86	4,03
100	1,73	12,9	12,06	4,53
120	2,25	16,94	15,76	5,77

Tabela 3.13 – Equações de regressão linear (y = área cromatográfica e x = concentração) e coeficientes de correlação (r).

Trialomitanos	Equação de Regressão Linear	r
Clorofórmio	$y = 0,0176x + 0,0825$	0,994
Bromodiclorometano	$y = 0,1352x + 0,2497$	0,995
Dibromoclorometano	$y = 0,1254x + 0,2861$	0,996
Bromofórmio	$y = 0,0455x + 0,1954$	0,996

De acordo com os dados da Tabela 3.13, as curvas de calibração para todos os THM estudados apresentaram coeficiente de correlação (r) superiores a 0,99; valor recomendado pela USEPA 551.1/1995. Esses valores dos coeficientes de correlação demonstraram que a resposta do detector de captura de elétrons (DCE) foi linear para os intervalos de concentrações estudados.

O LIQ para os THM foi igual a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ e o LD foi igual a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$.

3.4 CONCLUSÃO

- O método desenvolvido possibilitou a separação cromatográfica do DCF em tempo relativamente curto, apresentando um pico cromatográfico simétrico e relativamente estreito e livre de interferentes da matriz.
- O método de extração SPE resultou em valores de recuperação dentro do limite aceitável pela RE 899/2003 da ANVISA, sendo considerado adequado para o estudo proposto.
- O método cromatográfico desenvolvido e validado mostrou-se seletivo, linear, exato e preciso para as condições cromatográficas estabelecidas. Diante disso, foi possível empregá-lo na quantificação de DCF nas amostras de água antes e após as etapas de tratamento de água feitas em equipamento de jarteste.

AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE DICLOFENACO EM TRATAMENTO DE ÁGUA

4

4.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1.1 Tratamento de água

A demanda e a competição por recursos hídricos escassos deverão aumentar nas próximas décadas. De acordo com o Grupo Consultivo em Pesquisa Agrícola Internacional (CGIAR)¹, em torno de 2,7 bilhões de pessoas estarão vivendo em regiões com escassez hídrica de água até o ano de 2025.

A falta de tratamento de esgoto ou incompleta remoção e degradação dos contaminantes em geral como, por exemplo, matéria orgânica dissolvida (MOD), metais, pesticidas, fármacos, produtos de higiene pessoal, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, microrganismos patogênicos ou não, são os principais fatores que comprometem os mananciais de abastecimento de água afetando a disponibilidade hídrica e dificultando o tratamento de água nas ETA.

As águas superficiais e subterrâneas são as principais fontes renováveis de água para o consumo sustentável em todo o mundo (RADJENOVIC et al., 2008). Apesar do Brasil apresentar cerca de 8% da água doce disponível do mundo, pouca água usada no Brasil tem tratamento adequado. Além da qualidade da água, problemas operacionais e a escolha inadequada da tecnologia adotada no projeto da ETA acarretam sérios prejuízos à qualidade da água tratada (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Muitos processos e operações podem ser empregados nas diferentes tecnologias de tratamento de água para o consumo humano em função das características da água bruta. As

¹ <<http://www.cgiar.org/newsroom/releases/news.asp?idnews=174>>. Acesso em: 05 mar. 2012.

tecnologias de tratamento de água podem ser divididas entre as que não necessitam de coagulação, como a filtração em múltiplas etapas, e aquelas que são precedidas de coagulação como a dupla filtração, filtração direta ascendente, filtração direta descendente, flotofiltração e tratamento em ciclo completo (DI BERNARDO et al., 2011).

A tecnologia de tratamento em ciclo completo, também chamado de tratamento convencional, consiste em: pré-oxidação (optativo), coagulação, floculação, decantação, filtração descendente, desinfecção, fluoração e correção de pH.

No Brasil, a tecnologia de tratamento em ciclo completo é a mais empregada no tratamento de águas superficiais e muitas vezes as ETA apresentam problemas de operação para tratar águas com cor verdadeira elevada e turbidez baixa, pela dificuldade de coagulação, floculação e sedimentação dos flocos. Diversas ETA têm como principal finalidade remover matéria orgânica natural (MON), turbidez e microrganismos causadores de doenças. Porém, as ETA não são projetadas para a remoção de resíduos de fármacos e seus subprodutos e nem há regulamentos sobre a concentração desses compostos em água para consumo humano, bem como é o caso de outros compostos orgânicos naturais e sintéticos já encontrados em água de abastecimento público.

No entanto, várias operações e processos unitários utilizados no tratamento de águas, tais como ozonização (HUBER et al., 2003; TERNES et al., 2002; TAMBOSI, 2008; IKEHATA et al., 2006), adsorção em carvão ativado (HARTIG et al., 2001; TERNES et al., 2002; KIM et al., 2007; TAMBOSI, 2008) e processos por membranas como nanofiltração e osmose inversa (RADJENOVIC et al., 2008; KIM et al., 2007; KIMURA et al., 2005; BOLEDA et al., 2011) têm demonstrado serem processos eficientes na remoção de um número relativamente grande de fármacos e de outros compostos orgânicos e inorgânicos não regulamentados. Contudo, esses processos, principalmente em países subdesenvolvidos como o Brasil, ainda têm uso limitado nas ETA dado o seu elevado custo.

No Brasil, toda a água destinada ao consumo humano deve obedecer ao padrão de potabilidade estabelecido pela portaria nº 2914 de 2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011) de uso obrigatório em todo território nacional e está sujeita à vigilância da qualidade da água. Alguns dos parâmetros de potabilidade estão apresentados no decorrer do presente trabalho.

4.1.1.1 Pré-oxidação e desinfecção

A pré-oxidação é realizada antes da coagulação e tem como objetivos principais: reduzir odor e gosto da água; prevenir o crescimento de microrganismos nos decantadores e filtros; melhorar a eficiência da coagulação e da floculação; oxidar ferro e manganês; minimizar a formação de subprodutos halogenados dependendo do oxidante (DI BERNARDO et al., 2011) e oxidar matéria orgânica natural (MON). Em casos de água bruta com elevado grau de microcontaminantes, principalmente quando recebe esgoto sanitário próximo ao ponto de captação de água, a pré-oxidação é importante para garantir a inativação de microrganismos (patogênicos ou não) e assim obter água com qualidade microbiológica adequada para consumo humano. Também, a pré-oxidação, dependendo do oxidante e da estrutura molecular do composto de interesse, é importante na redução ou eliminação de compostos orgânicos sintéticos como pesticidas (DANTAS et al., 2009) e fármacos (HUBER et al., 2005; CHAMBERLAIN; ADAMS, 2006).

A pré-oxidação com cloro deve ser evitada quando a água bruta contém elevada concentração de matéria orgânica dissolvida (MOD), algas e cianobactérias devido à possibilidade de formação de subprodutos clorados potencialmente tóxicos para o ser humano. Porém, em ETA de ciclo completo, a remoção de algas, MOD, cianobactérias e cianotoxinas muitas vezes somente é conseguida com a pré-oxidação. Entretanto, quando a água clarificada nos diferentes decantadores ou flotadores puder ser reunida antes do canal de alimentação dos filtros, é preferível a interoxidação, devido à menor concentração de precursores orgânicos (como de MOD) da formação dos subprodutos halogenados (DI BERNARDO et al., 2011).

A desinfecção é um processo que visa à inativação de microrganismos (patogênicos ou não) presentes na água, incluindo bactérias, protozoários, vírus e algas. Três mecanismos se fazem presentes nesse processo: a destruição da estrutura celular; a interferência no metabolismo com inativação de enzimas e a interferência na biosíntese e crescimento celular. Dependendo do tipo do oxidante, pode haver a combinação desses fatores, através de um processo sinérgico (USEPA, 1999). Essa etapa de tratamento é essencial para evitar a transmissão de doenças por bactérias, vírus e protozoários.

De acordo com a portaria nº 2914 de dezembro de 2011, o valor máximo permitido de turbidez para água filtrada por filtração rápida (tratamento em ciclo completo ou filtração direta)

é igual a 0,5 uT e o pH da água no sistema de distribuição seja mantido na faixa de 6,0 a 9,5 (BRASIL, 2011).

Em decorrência da formação de subprodutos halogenados, como os trialometanos (THM) e ácidos haloacéticos com o uso do cloro, surgiu o interesse por agentes oxidantes e desinfetantes alternativos (DI BERNARDO et al., 2011). Os principais oxidantes alternativos são o dióxido de cloro, ozônio, cloraminas, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio, radiação ultravioleta (UV) e processos oxidativos avançados como Fenton e Fotofenton.

A escolha do agente oxidante e desinfetante depende essencialmente da qualidade da água bruta, principalmente se contém elevada concentração de MOD, brometos e microrganismos patogênicos. Para que um agente alternativo possa ser utilizado em ETA deve apresentar no mínimo as seguintes características: ser efetivo na inativação de microrganismos patogênicos ou não; ter aplicação confiável e simples; não produzir subprodutos que cause riscos a saúde humana; fornecer residual persistente na água e que tenha sua concentração facilmente medida; não causar gosto e odor na água e apresentar custo acessível (DI BERNARDO et al., 2011).

Principalmente nos últimos 10 anos, os agentes alternativos vêm sendo estudados na oxidação de fármacos durante o tratamento de água de abastecimento público e geralmente são bastante efetivos na remoção desses compostos (HUBER et al., 2003).

A avaliação da eficiência da desinfecção geralmente é baseada no fator CT (concentração x tempo), ou seja, a concentração (C, em mg L^{-1}) do residual de oxidante e o tempo de contato (T, em min) necessários para a inativação da espécie selecionada. Através do fator CT, em relação a um microrganismo selecionado, é possível comparar a eficiência de remoção de um desinfetante em relação aos outros. Quanto mais alto o valor CT, mais resistente é o microrganismo selecionado (LAPOLLI et al., 2005).

O ozônio apresenta menores valores de CT em relação ao cloro e ao dióxido de cloro e, sendo assim, é um desinfetante mais forte que o cloro e o dióxido de cloro (LAPOLLI et al., 2005). No entanto, o ozônio tem sido muito pouco utilizado no Brasil, principalmente devido ao custo elevado, mas tem sido bastante utilizado na Europa e nos Estados Unidos para a desinfecção e oxidação da água de abastecimento público (DANIEL et al., 2001).

As principais vantagens e desvantagens dos compostos comumente usados na pré-oxidação e desinfecção estão apresentadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Principais vantagens e desvantagens dos oxidantes comumente usados em tratamento de água.

Oxidante/Referências	Vantagens	Desvantagens
Cloro (Cl_2)/ Di Bernardo et al. (2011)	Oxidante forte; sistema de dosagem relativamente simples; residual persistente; uso comum e custo relativamente baixo.	Forma subprodutos halogenados quando a água possui precursores (MOD); problemas de gosto e odor; influência do pH na formação de espécies de cloro.
Dióxido de cloro (ClO_2)/ Di Bernardo et al. (2011) Huber et al. (2005)	Oxidante mais forte que o cloro; tempo de contato menor que o cloro; residual relativamente persistente; reduz a formação de subprodutos halogenados; baixa influência do pH; melhora a clarificação da água e não forma cloraminas.	Formação de alguns subprodutos halogenados (diferentes dos THM); formação dos subprodutos clorito e clorato; geração do oxidante precisa ser no local da ETA; é fotodegradável e de custo relativamente elevado.
Cloraminas (NH_2Cl e NHCl_2)/ Di Bernardo et al. (2011)	Reduz a formação de compostos halogenados; residual persistente; sistema de dosagem relativamente simples e uso comum.	Oxidante fraco; influência do pH na formação dos tipos de cloraminas; problemas de odor e gosto na água; não oxida ferro e manganês.
Ozônio (O_3)/ Di Bernardo; Dantas (2005) Langlais et al. (1991) Paschoalato et al. (2008)	Oxidante forte, mais efetivo que o cloro e o dióxido de cloro; menor tempo de contato; reduz a formação de subprodutos halogenados; não apresenta problemas de odor e gosto; pequena influência do pH e melhora a coagulação.	Não possui residual estável (requer um desinfetante secundário); geração no local da ETA; custo elevado; altamente corrosivo e tóxico; pode formar THM bromados, ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e peróxidos.
Permanganato de potássio (KMnO_4)/ Santos (2005) USEPA (1999)	Fácil aplicação na água; reduz a formação de subprodutos; reduz gosto e odor.	Oxidante moderado; confere cor rósea à água e pequena ação desinfetante.
Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)/ Di Bernardo et al. (2011) Vogna et al. (2004) De Julio et al. (2009)	Fácil aplicação; forma radicais OH; maior poder de oxidação quando combinado com radiação UV e íons ferrosos em meio ácido.	Somente o H_2O_2 é oxidante moderadamente forte; formação de subprodutos de degradação.

- **Cloro**

Nas condições atmosféricas normais, o cloro é um gás amarelo esverdeado facilmente detectável pelo seu cheiro extremamente irritante e penetrante. O cloro é o agente oxidante e desinfetante mais utilizado no Brasil, principalmente por ser de fácil aquisição, apresentar custos razoáveis, ser de fácil aplicação devido à sua alta solubilidade em água, produzir residual com ação germicida prolongada e facilmente determinado, eficaz na remoção de cor e na inativação de microrganismos patogênicos ou não (RICHTER; AZEVEDO NETTO, 1991).

Em geral, o cloro é mais efetivo em relação ao dióxido de cloro na faixa de pH 6,0 – 7,0 na inativação de *Escherichia coli*, polivírus 1 e rotavírus (LAPOLLI et al., 2005).

Porém, apresenta como desvantagem o fato de ser um gás tóxico e corrosivo, requerendo cuidadoso manejo, produzir THM, ácidos haloacéticos e outros subprodutos organoclorados prejudiciais a saúde humana. Outras desvantagens do uso do cloro é a sua ineficiência na destruição ou inativação de protozoários, como *Cryptosporidium* e *Giardia*, que podem provocar disenteria e gastroenterites (LAPOLLI et al., 2005) e também sofre influência de uma ampla faixa de pH na formação do ácido hipocloroso e do íon hipoclorito (USEPA, 1999).

O cloro pode ser aplicado nas ETA na forma de gás cloro (Cl_2), hipoclorito de sódio (NaOCl) e hipoclorito de cálcio [$\text{Ca}(\text{ClO})_2$]. Quando esses compostos entram em contato com a água são hidrolisados formando o ácido hipocloroso (HClO) e o íon hipoclorito (OCl^-) (Equações 4.1 - 4.3), dependendo do pH do meio.

Para valores de pH entre 6,5 e 8,5, a dissociação é incompleta e há quantidades similares de HClO e OCl^- . Em pH abaixo de 6,5 praticamente não ocorre a dissociação e prevalece a concentração de HClO e acima de pH 8,5 a dissociação é completa e o cloro está presente como íon OCl^- que é menos efetivo na oxidação e desinfecção da água que o HClO . Assim, é preferível que a desinfecção seja feita em pH mais ácido. O cloro gás tende a

diminuir o pH da água enquanto que os hipocloritos tendem a aumentar o pH e ambos diminuem a alcalinidade da água (USEPA, 1999; MEYER, 1994).

Além do pH, a ação do cloro como oxidante e desinfetante é influenciado pela temperatura, cor e turbidez da água, tempo de reação e dosagem de cloro. Quanto maior for o tempo de contato para uma dosagem fixa de cloro, maior será a eficiência da desinfecção e para um tempo de contato fixo, quanto maior for a dosagem de cloro maior será a eficiência da desinfecção (DI BERNARDO; DANTAS, 2005). Porém, há um valor máximo de cloro residual livre ($\text{HClO} + \text{ClO}^-$) permitido no sistema de abastecimento.

No Brasil, a portaria nº 2914 de 2011 do Ministério da Saúde estabelece que, no mínimo, a concentração de cloro residual livre após a desinfecção seja igual a $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ou 2 mg L^{-1} de cloro residual combinado em todo o sistema de distribuição (reservatório e rede). O valor máximo permitido de cloro residual livre na água tratada é igual a 5 mg L^{-1} . O tempo de contato mínimo para a desinfecção depende da concentração de cloro residual livre, da temperatura e do pH da água (BRASIL, 2011).

Na presença do íon brometo (Br^-), pode ocorrer a oxidação deste pelo ácido hipocloroso, formando o ácido hipobromoso (HOBr), conforme pode ser observado na Equação 4.4 (WESTERHOFF et al., 2004).

As reações do brometo com a MOD (principalmente substâncias húmicas, ácidos hidrofílicos e algas) são mais rápidas que as do cloro, na ordem de 10 vezes (WESTERHOFF et al., 2004). Os ácidos hipocloroso e hipobromoso reagem com a MOD formando os subprodutos halogenados, como os THM bromados (dibromoclorometano, bromodiclorometano e bromofórmio) e alguns dos ácidos haloacéticos (MUTTAMARA et al., 1995; YOON et al., 2003). A formação desses subprodutos deve ser evitada porque são considerados prejudiciais a saúde humana, com evidências de serem carcinogênicos (KOMULAINEN, 2004).

O cloro também pode reagir com a amônia e compostos amoniacais presentes na água formando compostos clorados ativos, como as cloraminas que são desinfetantes fracos e a dicloramina que gera gosto e odor na água. O teor de cloro na forma de cloraminas é denominado cloro residual combinado e tem certa ação desinfetante (DI BERNARDO et al., 2005).

A reação do cloro com compostos orgânicos ocorre principalmente por reação de substituição e adição, geralmente no lugar do hidrogênio. A oxidação ocorre principalmente em sítios ricos em elétrons, tais como em compostos insaturados (duplas e triplas ligações) e em compostos com anéis aromáticos ativados com grupos hidroxilas e amina (BEDDING et al., 1983). Hidrocarbonetos oxigenados e poliaromáticos clorados podem também ser formados pela cloração, resultando em compostos ainda mais tóxicos do que o composto inalterado (MANOLI; SAMARA, 1999).

Os fatores que mais influenciam na formação de subprodutos halogenados são a concentração de precursores orgânicos (MOD) e de brometos, tempo de reação, temperatura, pH do meio e dosagem de cloro. O aumento dessas variáveis tende a aumentar a concentração de subprodutos halogenados (LIANG; SINGER, 2003; PASCHOALATO, 2005).

A presença de THM na água de abastecimento público pode ser reduzida pela remoção dos precursores antes da cloração, remoção de THM depois de serem formados (por exemplo, uso de carvão ativado) e mudar o agente oxidante ou desinfetante (por exemplo, dióxido de cloro) (STEVENS, 1982).

Os THM são compostos voláteis e relativamente apresentam baixa solubilidade em água. Ambas, volatilidade e solubilidade diminuem na mesma ordem clorofórmio > diclorobromometano > dibromoclorometano > bromofórmio.

A concentração máxima de THM e de ácidos haloacéticos em água de consumo humano é regulamentada nos Estados Unidos pela Agência de Proteção Ambiental (USEPA, 2006) em $80 \mu\text{g L}^{-1}$ e $60 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Na Europa a directiva 98/83EC destinada a água para consumo humano estabelece um limite de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ para os THM e de $80 \mu\text{g L}^{-1}$ para os ácidos haloacéticos (COMUNIDADE EUROPEIA, 1998).

No entanto, a directiva 98/83EC da Europa recomenda que a concentração de THM em água de torneira não ultrapasse $70 \mu\text{g L}^{-1}$ (COMUNIDADE EUROPEIA, 1998; BOUGEARD et al., 2010; WATER ENVIRONMENT HEALTH, 2008). No Brasil, a portaria nº 2914 do Ministério da Saúde, em vigor desde 12 de dezembro de 2011, estabelece o valor máximo permissível de THM em água potável de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ e atualmente de ácidos haloacéticos de $0,08 \text{ mg L}^{-1}$ (BRASIL, 2011).

- **Dióxido de cloro**

O dióxido de cloro, à temperatura ambiente, é um gás verde amarelado similar ao cloro na aparência e no odor e é altamente tóxico. No estado gasoso, é altamente instável e pode tornar-se explosivo se sua concentração no ar for superior a 10% em volume a 20 °C. Porém, ao contrário do cloro, o dióxido de cloro não é hidrolisado em contato com água, permanecendo estável na solução como gás dissolvido sob condições de temperatura inferior a 25 °C e ambiente protegido da luz (LAPOLLI et al., 2005; USEPA, 1999). Como o dióxido de cloro é instável não pode ser comprimido ou liquefeito e estocado como gás, devendo ser gerado no local onde for utilizado.

Existem vários processos de produção de dióxido de cloro para aplicação em ETA. Em resumo, pode ser obtido por sistemas baseados na oxidação do íon clorito, redução do íon clorato e sistemas eletroquímicos (ALMEIDA, 2007).

Os fatores mais importantes que influenciam na ação do dióxido de cloro no tratamento de água são a concentração do oxidante, tempo de contato, temperatura, número e tipo de microrganismos presentes e qualidade da água a ser tratada. Pode-se dizer que quanto maior a concentração de dióxido de cloro e o tempo de contato e menos resistentes os microrganismos e o teor de sólidos suspensos na água, mais efetiva será a oxidação ou desinfecção (LAPOLLI et al., 2005).

O dióxido de cloro vem sendo utilizado como um dos substitutos do cloro principalmente por ser um oxidante e desinfetante mais forte e de ação mais rápida que o cloro; produzir um residual relativamente persistente; similar ao cloro na inativação de bactérias e vírus, porém mais efetivo na inativação de protozoários, por exemplo, *Giardia* e *Cryptosporidium*, devido à ação biocida praticamente não ser influenciada pelo pH; reduzir e controlar gosto e odor relacionados a compostos produzidos pelas algas; não formar cloraminas; melhorar a clarificação da água; reduzir a formação de subprodutos halogenados; eficiente em uma faixa ampla de pH (de 4 a 10) e mais solúvel em água do que o cloro (LAPOLLI et al., 2005; DABROWSKA et al., 2005; DI BERNARDO et al., 2011).

O dióxido de cloro também apresenta a vantagem de remover ferro e manganês por meio da formação de precipitados desses metais, dependendo do pH, que posteriormente são removidos na clarificação ou filtração (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Outra vantagem do dióxido de cloro foi observada por Alam et al. (2008) os quais verificaram uma redução, praticamente pela metade, do subproduto N-nitrosodimetilamina na

pré-oxidação com dióxido de cloro em relação à água sem pré-oxidação. Em tratamento de água esse composto é formado principalmente quando empregado cloro ou cloraminas na pré-oxidação ou na desinfecção e é considerado um subproduto como provável carcinogênico para o ser humano (WHO, 2002).

Diante disso são estabelecidos limites para a concentração de N-nitrosodimetilamina em água potável, em alguns países. Em 2006, o departamento de serviço de saúde pública da Califórnia nos Estados Unidos estabeleceu um limite de 3 ng L^{-1} de N-nitrosodimetilamina. No Canadá, em 1989, foi estabelecido um limite de 9 ng L^{-1} . Entretanto, os mecanismos de formação e eliminação do N-nitrosodimetilamina ainda não são bem compreendidos (ALAM et al., 2008).

O dióxido de cloro funciona como um oxidante altamente seletivo em função do seu mecanismo de transferência de um único elétron, sendo reduzido a clorito (ClO_2^-), clorato (ClO_3^-) e cloretos (Cl^-) sem a produção de ácido hipocloroso ou cloro gasoso. Como o dióxido de cloro não oxida cloreto e nem brometo quando presentes na água (não forma ácidos hipocloroso e hipobromoso) e assim quando oxida a MOD praticamente não forma subprodutos halogenados (ALAM et al., 2008).

Em Volk et al. (2002) foi verificado uma redução de 85% de THM e de 60% de ácidos haloacéticos quando o cloro foi substituído pelo dióxido de cloro na pré-oxidação e na desinfecção em uma ETA.

Pequisas feitas por Krasner et al. (2003) indicam que o dióxido de cloro não forma THM, mas pode formar pequena concentração de ácidos haloacéticos dihalogenados tais como ácido dicloroacético e também formas trihalogenadas.

Em relação aos compostos orgânicos, o dióxido de cloro exibe alta reatividade para íons fenólicos, aminas terciárias neutras e certos compostos poliaromáticos (HOIGNÉ; BADER, 1994; RAV-ACHA; BLITS, 1985). No entanto, o dióxido de cloro não reage com a amônia (STEVENS, 1982).

Entretanto, quando o dióxido de cloro oxida a MOD pode produzir outros subprodutos orgânicos como aldeídos e ácidos carboxílicos (MASSCHELEIN, 1992; RICHARDSON et al., 1998).

Dabrowska et al. (2003) investigaram a influência da desinfecção com dióxido de cloro na formação de aldeídos por cromatografia de exclusão por tamanho. Os autores verificaram que a reação de dióxido de cloro com substâncias húmicas ocorre principalmente no anel aromático das moléculas, como no grupo fenol. Os resultados obtidos indicaram que o

nível de concentração de aldeídos pode aumentar significativamente com o tempo de reação e com a concentração de MOD. Não houve nenhuma correlação entre a quantidade notável de aldeídos e valor de pH da água. Os principais aldeídos identificados foram o acetaldeído e o formaldeído. Os autores afirmaram que a quantidade de aldeídos formados na água tratada com dióxido de cloro é similar a da água tratada com ozônio.

Estudos feitos por Ivancev-Tumbas e Dalmacija (2001) indicam que o formaldeído, acetaldeído, glicoxal e metilglicoxal são os principais aldeídos formados por meio da reação de oxidação com dióxido de cloro. A preocupação quanto à formação desses compostos se deve ao fato de que são biodegradáveis e na ausência de residuais de dióxido de cloro na água, possibilita o crescimento de bactérias no sistema de distribuição de água (RACZYK-STANISLAWIAK et al., 2004).

Outra desvantagem quanto ao uso de dióxido de cloro em tratamento de água é que aproximadamente 50 a 70% do dióxido de cloro consumido é convertido a íon clorito (ClO_2^-) e cerca de 30% a clorato (ClO_3^-) e cloretos (Cl^-) (USEPA, 1999). Ambos compostos formados (clorito e clorato) são considerados nocivos à saúde humana, porém apenas o clorito é regulamentado em água de consumo humano (STEFFEN; WETZEL, 1993).

Alam et al. (2008) verificaram que cerca de 60% do dióxido de cloro, aplicado na pré-oxidação seguida da coagulação, floculação e sedimentação, formou clorito e cerca de 10 a 20% formou clorato. O clorito e o clorato podem combinar com a hemoglobina e causar a metemoglobinemia. Também podem interferir nas funções da tireoide e produzir altos níveis de colesterol em animais alimentados com baixos teores de cálcio e rico em lipídios (RICHARDSON et al., 1994).

Segundo Di Bernardo e Dantas (2005) outras desvantagens do dióxido de cloro são os métodos de análises mais complexos, necessidade de geração do produto no local da ETA, custo mais elevado de produção e necessidade de armazenamento de dois ou três produtos químicos.

Nos Estados Unidos o dióxido de cloro é usado principalmente na pré-oxidação de águas superficiais. A USEPA recomenda que a dosagem máxima desse oxidante na água seja de $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ e um residual máximo de $0,8 \text{ mg L}^{-1}$, para que não seja ultrapassado o limite máximo permitido de clorito, de 1 mg L^{-1} , na água tratada (USEPA, 1999).

No Brasil, de acordo com a portaria nº 2914 do Ministério da Saúde, é obrigatório a manutenção de no mínimo $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro em toda a extensão do sistema de

distribuição (reservatório e rede) e a concentração máxima de clorito permitida na água de consumo humano é igual a 1 mg L^{-1} (BRASIL, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estipula valor guia de $0,7 \text{ mg L}^{-1}$ para clorito e clorato. Na Europa os residuais de dióxido de cloro geralmente são mantidos entre $< 0,05$ e $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (GATES, 1998).

Apesar do dióxido de cloro apresentar menor poder de oxidação que o ozônio, mas relativamente maior poder que o cloro e cloraminas, o dióxido de cloro é efetivo na oxidação de um número relativamente grande de fármacos como os grupos de antibióticos sulfonamidas e macrolídeos, estrogêneos e também de alguns anti-inflamatórios como o DCF (HUBER et al., 2005). Porém, como observado por Huber et al. (2005) o poder de oxidação do dióxido de cloro pode ser diferente dentro do mesmo grupo de fármacos, como no caso dos anti-inflamatórios DCF e ibuprofeno. Segundo esses autores o DCF foi fortemente oxidado pelo dióxido de cloro enquanto que o ibuprofeno não foi oxidado. Além disso, os fármacos bezafibrato, carbamazepina e diazepam praticamente não foram oxidados com dosagem de $11,5 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro (dosagem acima da recomendada pela USEPA de $1,4 \text{ mg L}^{-1}$) a pH 7,4 e 20°C .

4.1.1.2 Coagulação, floculação e sedimentação

A coagulação é caracterizada pela desestabilização das partículas presentes na água, geralmente de tamanho coloidal e carregadas negativamente (superficialmente), por meio da adição de coagulante e, quando necessário, alcalinizante ou acidificante para correção do pH. A coagulação é normalmente feita com a adição de sais de alumínio ou de ferro ou polímeros sintéticos ou vegetais, seguida por agitação rápida com o intuito de homogeneizar a mistura (AMIRTHARAJAH; MILLS, 1982).

A coagulação resulta fundamentalmente em dois fenômenos: químico e físico. O fenômeno químico consiste na reação do coagulante com a água e na formação de espécies hidrolisadas com carga positiva, a qual depende principalmente do tipo e da concentração de coagulante, presença de MOD, pH da mistura, temperatura e condições da mistura rápida. O fenômeno físico consiste no transporte das espécies hidrolisadas, as quais entram em contato com as impurezas presentes na água. Esses processos ocorrem na etapa de mistura rápida, em poucos segundos (JOHNSON; AMIRTHARAJAH, 1983). Em seguida, na agitação lenta, ocorrem choques entre as impurezas desestabilizadas que se aglomeram formando partículas

maiores, denominadas flocos, os quais podem ser removidos por sedimentação, flotação ou filtração. Essa etapa é denominada de floculação (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

A sedimentação é um fenômeno físico no qual os flocos formados sedimentam-se pela ação da gravidade no fundo dos decantadores. Esse processo propicia a clarificação da água (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Considera-se a coagulação como resultado individual ou combinado da ação de quatro mecanismos de coagulação distintos. Esses mecanismos incluem: compressão de dupla camada elétrica, adsorção e neutralização de cargas, varredura, adsorção e formação de pontes. O tipo de interação entre o coagulante químico, as partículas coloidais e o pH de coagulação determinam os mecanismos de coagulação (DUAN; GREGORY, 2003; PERNITSKY; EDZWALD, 2006; SIÉLIÉCHI et al., 2008).

O mecanismo da varredura é muito utilizado nas ETA em que se tem floculação e sedimentação antecedendo a filtração rápida. Esse mecanismo resulta em flocos de maior tamanho e com velocidade de sedimentação relativamente alta. Dependendo da quantidade adicionada de coagulante, do pH da mistura e da concentração de alguns tipos de íons na água, poderá ocorrer a formação de precipitados. As partículas coloidais presentes comportam-se como núcleos de condensação para estes precipitados (DI BERNARDO; DANTAS, 2005).

Para a remoção de partículas como SHA, quando são utilizados sais de alumínio ou de ferro como coagulante, estas podem ser agregadas e posteriormente removidas por adsorção no precipitado de metal, como $\text{Al}(\text{OH})_3$, ou pela formação de complexos insolúveis das SHA com espécies poliméricas do metal, do tipo $\text{Al}_{13}\text{O}_4(\text{OH})_{27}^{4+}$. Geralmente, o primeiro mecanismo, de varredura, é dominante para concentração mais elevada de coagulante (geralmente superiores a 30 mg L^{-1}) e pH próximo de 7,0, enquanto o segundo mecanismo, de neutralização de carga, prevalece sob condições ácidas (cerca de pH 6,0) e dosagens menos elevadas de coagulante (DUAN; GREGORY, 2003; EDWARDS; AMIRTHARAJAH, 1985).

A coagulação é um dos processos mais utilizados em tratamento de água, uma vez que remove eficientemente a MOD de elevada massa molecular (como substâncias húmicas), induz a floculação e melhora a filtração (AWWA, 1989). A coagulação é usada como um pré-tratamento para os processos, tais como filtração em areia, filtração em carvão ativado e ozonização (VIENO et al., 2006).

Trabalhos publicados relatam que a coagulação não é eficiente na remoção de fármacos e este processo é influenciado principalmente pelo tipo do coagulante, presença de

MOD, pH de coagulação e estrutura molecular do fármaco (BOYD et al., 2003; TERNES et al., 2002; ADAMS et al., 2002; VIENO et al., 2006).

Vieno et al. (2006) fizeram uma série de experimentos em equipamento jarteste usando água deionizada, água de lago e amostras de água com ácidos húmicos (AH) comercial (5, 10 e 15 mg L⁻¹) utilizando os coagulantes sulfato de alumínio (pH de coagulação igual a 6,0) e sulfato férrico (pH de coagulação igual a 4,0). Os fármacos estudados foram o diclofenaco, ibuprofeno, bezafibrato, carbamazepina e sulfametoxazol. Em água deionizada livre de AH, a remoção dos fármacos estudados, com exceção do DCF, foi menor que 20% para ambos os coagulantes. O DCF foi removido até 66% na água deionizada com sulfato férrico e praticamente não foi removido na coagulação com sulfato de alumínio (menor que 5%). Na coagulação da água do lago com sulfato férrico, pH igual a 4,0, foi removido 30% de DCF e da água preparada com 15 mg L⁻¹ AH a pH 4,5 foi removido 36% de DCF. Foi observado que a remoção de fármacos por coagulação foi afetada pela presença de MOD em aproximadamente 40%. Os autores relacionaram os resultados com a presença de moléculas de MOD de menor massa molecular, que são responsáveis pela menor eficiência da coagulação, e as de elevada massa molecular, que podem favorecer a coagulação de fármacos até 50%. Fármacos neutros, tais como carbamazepina e sulfametoxazol praticamente não foram removidos por coagulação com ambos coagulantes (menor que 5%).

Ternes et al. (2002) observaram baixa remoção dos fármacos bezafibrato, carbamazepina, ácido clofibrato e DCF na coagulação com cloreto férrico a pH 7,5. Para o DCF o nível de concentração final dividido pelo nível de concentração inicial foi igual a 96%.

A remoção do DCF na coagulação com sulfato férrico, floculação, sedimentação e filtração em areia encontrada no estudo realizado por Vieno et al. (2007) foi igual a 8%. Em comparação com os resultados obtidos por Ternes et al. (2002) essa maior porcentagem de remoção pode ser atribuída ao fato do pH de coagulação ser mais baixo (pH 4,5). Os fármacos ácidos são menos ionizados em pH 4,5 do que em pH 7,5 e são, portanto, mais facilmente removidos por coagulação feita em pH mais baixo pelo mecanismo de neutralização de cargas. No entanto, o mecanismo da varredura é muito utilizado nas ETA de ciclo completo devido à formação de flocos de maior tamanho e com velocidades de sedimentação relativamente altas se comparados com flocos obtidos através da coagulação por mecanismo de neutralização de cargas.

Em Julien et al. (1994) é relatado que a coagulação com sulfato férrico tem resultado em 17 a 30% de remoção mais elevada do que com sais de alumínio para moléculas ácidas pequenas.

Estudos feitos por Westerhoff et al. (2005) revelaram que a coagulação por sais de alumínio e de ferro a pH 6,8 removeu uma média de 6% dos fármacos e desreguladores endócrinos estudados. Eles concluíram que a coagulação atingiu o mínimo de remoção da maior parte dos fármacos e desreguladores endócrinos provavelmente devido ao mecanismo de coagulação a pH 6,8, por precipitação, qual provavelmente seria mais eficiente em pH mais ácido (na faixa de 4,5) no qual predomina o mecanismo de neutralização de cargas.

Resultados obtidos por Choi et al. (2008) mostram que a coagulação de tetraciclina foi influenciada pelo pH de coagulação, presença de MOD, dosagem do coagulante, mecanismo de coagulação e estrutura molecular do fármaco. Para a água de rio com pH de coagulação de 7,4 e dosagem de 60 mg L⁻¹ de cloreto de polialumínio, a remoção das tetraciclina variou entre 44 e 67% e o mecanismo de coagulação provavelmente foi por varredura. Para a água deionizada com caulinita (10 uT) a remoção foi maior para a maioria das tetraciclina estudadas, atingindo até 94%. Os autores concluíram que a melhor remoção nesse tipo de água foi devido à ausência de MON e ao mecanismo de coagulação por neutralização de cargas.

4.1.1.3 Filtração

Após a sedimentação, a água decantada passa para os filtros com materiais porosos como areia, antracito, ou areia e pedregulho. A filtração remove parcialmente microrganismos (DROSTE, 1997), cor e turbidez para que não comprometa a desinfecção e se obtenha água tratada dentro dos padrões de potabilidade.

No Brasil, de acordo com a portaria nº 2914 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde, o valor máximo permitido de turbidez para a água filtrada por filtração rápida (tratamento em ciclo completo ou filtração direta) é igual a 0,5 uT. No mínimo 95% das amostras devem apresentar os valores de turbidez máximos permitidos a partir do quarto ano após a publicação dessa portaria (BRASIL, 2011)

Os processos de coagulação e filtração em areia, os quais reduzem eficientemente MON e turbidez, têm sido relatados serem ineficientes na eliminação de fármacos. As porcentagens de remoção variam de < 5% a 37% dependendo da estrutura molecular do

fármaco, do coagulante e das condições experimentais (ADAMS et al., 2002; TERNES et al., 2002; BOYD et al., 2003; VIENO et al., 2005; VIENO et al., 2006; STACKELBERG et al., 2004; WESTERHOFF et al., 2005; KIM et al., 2007; POJANA et al., 2011).

4.1.1.4 Adsorção em carvão ativado

O carvão ativado é um material carbonáceo, não grafítico, que se caracteriza por ter área superficial e porosidade interna elevada, o que lhe confere a capacidade de adsorver várias substâncias orgânicas e inorgânicas, tanto na fase gasosa, quanto na fase líquida (JANKOWSKA et al., 1991).

A eficiência de adsorção de contaminantes em carvão é influenciada por outros fatores além da área superficial e porosidade do carvão, tais como tamanho e estrutura dos poros, reatividade dos diferentes componentes do material, matéria prima do carvão, teor de cinzas, características do adsorvato, características da água (pH, temperatura, condutividade), tempo de contato, agitação e presença de compostos que competem pelos mesmos sítios de adsorção (como MOD, turbidez, metais dissolvidos). Os poros do carvão ativado são classificados segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) em macroporos ($> 500 \text{ \AA}$), mesoporos ($20\text{-}500 \text{ \AA}$), microporos secundários ($8\text{-}20 \text{ \AA}$) e microporos primários ($< 8 \text{ \AA}$). A proporção relativa desses poros varia consideravelmente de acordo com a origem da matéria prima (vegetal, animal ou mineral) e do tipo do processo de ativação do carvão (DI BERNARDO et al., 2011).

A superfície do carvão apresenta características químicas ácidas e básicas; as ácidas associam-se às funcionalidades do oxigênio, como carboxilas, lactonas e fenóis. De outro lado, as funções como piranos, éter, hidroxilas e carbonilas são responsáveis pelas propriedades básicas na superfície do carvão (RAMÓN et al., 1999).

O carvão ativado pode ser produzido a partir de matérias-primas que contêm elevado conteúdo de carbono tais como, ossos, madeira, casca de coco, nozes, carvão mineral, turfa e de polímeros sintéticos.

Na maioria dos casos, o processo de produção dos carvões ativados envolve duas etapas principais: a carbonização da matéria-prima e a ativação que pode ser física e química. A carbonização da matéria prima é feita em atmosfera inerte a temperatura acima de $500 \text{ }^{\circ}\text{C}$, onde se removem componentes voláteis e gases leves (CO , H_2 , CO_2 e CH_4), produzindo uma massa de carbono fixo e uma estrutura porosa primária que favorece a ativação posterior. A

ativação é a etapa fundamental para aumentar a área superficial e a porosidade do carvão. A ativação física consiste basicamente na reação do carvão carbonizado com gases contendo oxigênio combinado (geralmente água, CO_2 , ou uma mistura de ambos) (SOARES, 2001). Na ativação química ocorre a ligação de valências livres das moléculas do adsorvente no adsorbato utilizando-se agentes ativantes como ZnCl_2 , H_2SO_4 , H_3PO_4 e hidróxidos de metais alcalinos (NARSRIN et al., 2000). Existem também os carvões ativados biologicamente por uma cultura de microrganismos sobre a superfície externa e os macroporos do CAG (VELTEN et al., 2011).

O carvão ativado pode ser empregado em ETA na forma de carvão ativado pulverizado (CAP) ou carvão ativado granular (CAG). O CAP apresenta granulometria fina, entre 0,01 e 0,10 mm, tamanho correspondente a 90% que passa (em massa) em peneira de malha 0,044 mm, e apresenta grande superfície externa. O CAG apresenta tamanho de partícula relativamente grande em relação ao CAP, entre 0,42 e 2,4 mm e conseqüentemente, apresenta menor superfície externa (DI BERNARDO et al., 2011).

O uso do CAP em relação ao CAG em ETA se aplica de maneira diferente. O CAP é usado em forma de suspensão que pode ser aplicado na chegada da água bruta, unidade de mistura rápida, câmaras de adsorção ou após decantação ou flotação (DI BERNARDO; DANTAS, 2005). O CAG é muito usado em ETA nos Estados Unidos e no Canadá. O CAG pode ser utilizado como um substituto do antracito em filtros convencionais, assim proporcionando tanto adsorção como filtração, mas isso é muito pouco empregado nas ETA. Alternativamente, o CAG pode ser aplicado após a filtração em areia como um leito adsorvente (WEBB et al., 2003).

O CAP e o CAG são usados em ETA praticamente com os mesmos propósitos. O uso de ambos no tratamento de água removem compostos orgânicos e inorgânicos, e tem como principal objetivo remover pesticidas (DANTAS et al., 2009), MOD, subprodutos halogenados como os trihalometanos (CRITTENDEN et al., 1993; KARANFIL et al., 1999) e compostos que causam gosto e odor na água tais como a geosmina e metilisoborneol (MIB) (KNAPPE et al., 1998). Mas podem também conduzir à remoção eficiente de outros compostos orgânicos como de fármacos (HARTIG et al., 2001; TERNES et al., 2002; SNYDER et al., 2007; KIM et al., 2007; TAMBOSI, 2008; ROQUE, 2009) e inorgânicos como cloro, clorito e clorato (LEITNER et al., 1992; GONCE; VOUDRIAS, 1994).

Choi et al. (2008) verificaram que a eficiência de adsorção de tetraciclinas em CAG variou conforme o tipo da estrutura molecular do fármaco e com o tipo de CAG. A remoção variou entre menor que 70% e maior que 90%.

Entretanto, o CAG para a remoção de microcontaminantes deve ser renovado ou regenerado frequentemente. A regeneração do CAG pode ser feita por aquecimento, que oxida e evapora as substâncias acumuladas (SNYDER et al., 2007; DROSTE, 1997).

O CAP é mais utilizado que o CAG, pela maior facilidade em se ajustar a instalações já existentes em ETA convencionais, por não usar carvão regenerado e poder ser usado sazonalmente quando há maiores riscos de contaminação da água. O CAP apresenta desvantagens em relação ao CAG por não ser regenerável, ter menor tamanho de grãos, diminuindo a adsorção de alguns compostos como clorito e clorato (GONCE; VOUDRIAS, 1994), ter baixa remoção de MOD e pelo fato de ser difícil de remover completamente as partículas de CAP na água (SNOEYINK, 1990).

Westerhoff et al. (2005) fizeram uma série de ensaios em bancada para simular os processos de tratamento de água. Foi verificado que a adição de 5 mg L⁻¹ de CAP com um tempo de contato de 4 h removeu 44% do DCF e até 97% de etinilestradiol e estradiol. Os autores afirmaram que a remoção de fármacos por CAP pode ser influenciada por diversos fatores, tais como idade do carvão, dosagem do CAP, tempo de contato, estrutura molecular do fármaco e compostos que competem pelos sítios no carvão. Eles observaram que o coeficiente octanol/água (K_{ow}) foi um indicador da adsorção dos compostos sob o CAP, exceto para os fármacos que foram protonados ou desprotonados com o pH estudado e alguns heterocíclicos ou aromáticos que continham nitrogênio. Eles também observaram que doses mais elevadas de PAC melhoraram as taxas de remoção.

Snyder et al. (2007) verificaram que o CAG é altamente seletivo. Os compostos altamente solúveis em água (hidrofilicos) são menos adsorvidos e os compostos hidrofóbicos são mais adsorvidos em CAG e a presença de MON diminui a capacidade de adsorção de fármacos, as quais competem pelos sítios ativos e podem bloquear os poros dentro da estrutura de carbono ativado.

Resultados obtidos por Ternes et al. (2002) apresentam que o DCF foi altamente removido por adsorção em CAG ao contrário do ácido clofibrico que teve menor poder de adsorção em CAG.

- **Isoterma de adsorção**

Para estimar a capacidade de adsorção de um dado adsorvente, é essencial ter informações do equilíbrio de adsorção. As isotermas de Langmuir e de Freundlich são os modelos matemáticos empíricos frequentemente utilizados para descrever a isoterma de adsorção de fármacos (MESTRE et al., 2007; ÖNAL et al., 2007).

Existem vários parâmetros capazes de descrever a capacidade adsorptiva do carvão ativado. Dentre eles, o teste de adsorção de azul de metileno é um indicador da capacidade do carvão em adsorver moléculas com dimensões lineares superiores a 1,5 nm (JANKOWSKA et al., 1991). Os testes de adsorção de fenol qualificam o carvão quanto às suas propriedades químicas e porosidade (SALAME et al., 2003). O índice de adsorção de iodo procura mensurar a área superficial específica do carvão, sendo definido como o número de miligramas de iodo adsorvido por grama de carvão ativado, em solução aquosa (ABE et al., 2001).

Martinez et al. (2010) estudaram a capacidade adsorptiva do CAG e do CAP de babaçu sobre compostos orgânicos (herbicidas diuron e hexazinona) em água por meio da isoterma de Freundlich. Os resultados obtidos pelos autores demonstraram que tanto o CAG quanto o CAP de babaçu são bons adsorventes para os dois compostos estudados.

4.1.2 Remoção de fármacos em tratamento de água

Os fármacos como outros microcontaminantes orgânicos podem ser removidos da água por três processos básicos: químicos, físicos e biológicos. As operações físicas geralmente não alteram a estrutura molecular dos fármacos por serem removidos tanto por mudança de fase como por adsorção (por exemplo, CAG e lodos), filtração e ultrafiltração. Os processos químicos como oxidação com cloro, dióxido de cloro e ozônio e processos biológicos alteram a estrutura química do composto e estes processos podem gerar produtos de degradação e metabólitos ou mineralização. Para estimar a taxa da remoção de fármacos nesses processos consideram-se apenas as mudanças na concentração do fármaco de interesse. Não são considerados os metabólitos ou produtos de degradação e também não é avaliado se ocorreu mineralização como uma consequência do processo de remoção (WATTS et al., 2007).

Apesar de existir várias tecnologias e processos avançados de tratamento de água, as ETA não são projetadas para a remoção de fármacos e vários desses compostos são encontrados em água de abastecimento público em vários países.

Os fármacos que contêm grupos amino e fenólicos são degradados mais facilmente por oxidantes como o cloro e dióxido de cloro. A maioria dos fármacos apolares (hidrofóbicos) são removidos por carvão ativado e os neutros são facilmente degradados usando um oxidante tal como ozônio ou a radiação ultravioleta (WATTS et al., 2007).

A maior parte das pesquisas de remoção de fármacos em tratamento de água são realizadas em escala laboratorial e algumas em escala piloto e em escala real, principalmente em países desenvolvidos, incluindo os Estados Unidos, Japão, Coréia e países da Europa (WHO, 2011).

No Brasil ainda são raros os estudos referente à remoção de fármacos em ETA. GHISELLI (2006) avaliou a qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas-SP, através da determinação dos interferentes endócrinos, fármacos e produtos de higiene pessoal. As amostras de água foram coletadas na sub-bacia do rio Atibaia, consistindo de amostras de esgoto sanitário, água tratada coletada diretamente na ETA e nas residências. Dentre os compostos monitorados, os frequentemente encontrados nas águas superficiais e potável foram: cafeína ($1 - 106 \mu\text{g L}^{-1}$), dietil e dibutilftalato ($0,2 - 3 \mu\text{g L}^{-1}$), estradiol ($1,8 - 6 \mu\text{g L}^{-1}$), etinilestradiol ($1 - 3,5 \mu\text{g L}^{-1}$), progesterona ($1,2 - 4 \mu\text{g L}^{-1}$), bisfenol A ($2 - 64 \mu\text{g L}^{-1}$), colesterol ($9 - 301 \mu\text{g L}^{-1}$) e coprostanol ($5 - 41 \mu\text{g L}^{-1}$). O DCF foi encontrado em efluente de esgoto sanitário em concentração igual a $1,78 \mu\text{g L}^{-1}$ e em águas superficiais até $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$. Na água tratada de torneira esteve abaixo do limite de quantificação ($4,4 \mu\text{g L}^{-1}$).

Processos oxidativos com cloro e dióxido de cloro são eficazes para reduzir a concentração de várias classes de fármacos em água. No entanto, a eficiência de remoção é função, principalmente, da estrutura molecular do fármaco e da dosagem do oxidante (ZWIENER; FRIMMEL, 2000; ADAMS et al., 2002; HUBER et al., 2003; SNYDER et al., 2003; PINKSTON; SEDLAK, 2004; HUBER et al., 2005; GIBS et al., 2007).

Outros processos de tratamento de água, tais como ozonização, processos oxidativos avançados, radiação ultravioleta combinada com ozônio, carvão ativado e membranas (por exemplo, nanofiltração, osmose inversa), são capazes de atingir altas taxas de remoção ($> 99\%$) para alguns fármacos (WHO, 2011; ZWIENER; FRIMMEL, 2000; ROCHA et al., 2009). No entanto essas tecnologias são caras e possivelmente também não são capazes de

remover completamente todos os fármacos para valores de concentração inferiores aos limites de detecção da maioria dos métodos analíticos sensíveis (WHO, 2011; ZWIENER; FRIMMEL, 2000).

Em Radjenovic et al. (2008) foi investigada a remoção de uma ampla gama de fármacos, incluindo o DCF, no processo de nanofiltração e osmose inversa aplicado em escala real em uma ETA e usando água subterrânea. Nesse trabalho foi observado um excelente desempenho do processo de nanofiltração e de osmose inversa na remoção de quase todos os fármacos estudados ($> 85\%$). Entretanto, foram identificadas deteriorações nas retenções do paracetamol (44,8 - 73%), gemfibrozil (50 - 70%) e ácido mefenâmico (30 - 50%) nas membranas de nanofiltração e osmose inversa. Além disso, vários resíduos de fármacos foram detectados no efluente desses processos em concentração de várias centenas de ng L^{-1} , e a disposição desses resíduos em rios pode representar implicações negativas desse tipo de tratamento.

Stackelberg et al. (2007) analisaram 113 compostos orgânicos incluindo fármacos, produtos de degradação de detergente, retardadores de chama e plastificantes, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, fragrâncias e aromatizantes, pesticidas e um repelente de insetos e esteroides em sedimentos e em amostras de água após o tratamento de clarificação (coagulação, floculação, sedimentação e filtração), desinfecção com cloro e filtração em CAG em ETA. Em geral, a clarificação foi responsável por 15% de remoção dos compostos orgânicos analisados em fase aquosa, a desinfecção por 32% e a adsorção em CAG por 53%.

Segundo esses autores, a eficácia do tratamento varia amplamente dentro de uma classe e entre as classes de compostos. Em geral, os compostos hidrofóbicos (alto $\log K_{ow} > 4,0$ e baixa solubilidade em água), tais como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e esteroides, foram encontrados em elevadas concentrações em amostras de sedimentos e em baixas concentrações em amostras de água tratada. Esses compostos foram fortemente oxidados pelo cloro livre e eficientemente removidos em CAG. Entretanto, os compostos hidrofílicos (baixo $\log K_{ow} < 2,5$ e elevada solubilidade em água), tais como os fármacos sulfametoxazol, acetaminofeno (metabólito tóxico do paracetamol), dehidronifedipina (metabólito da nifedipina) e carbamazepina, foram encontrados em concentração relativamente baixa em amostras de sedimentos e em concentração mensuráveis em amostras de água após o processo de clarificação, desinfecção e adsorção em CAG.

Além das características dos fármacos, as variações sazonais também influenciam no processo de remoção desses compostos em ETA. Vieno et al. (2005) estudaram a influência

sazonal na remoção de fármacos em ETA. Foram encontrados cerca de 8 ng L⁻¹ de ibuprofeno e de cetoprofeno em efluente de ETA coletado durante o inverno, enquanto que na primavera e no verão não foram encontrados. Isso foi atribuído às mais elevadas taxas de fototransformação e degradação dos fármacos em águas superficiais durante o verão e as menores quantidades dos fármacos encontradas em efluentes de esgoto sanitário no verão.

Vieno et al. (2007) concluíram em seus estudos em escala piloto de tratamento de água que a remoção de quatro beta-bloqueadores, um antiepiléptico, um regulador de lipídios, quatro anti-inflamatórios, incluindo o DCF, e três fluoroquinolonas por coagulação com cloreto férrico, floculação, sedimentação e filtração em areia eliminaram apenas 13% em média dos fármacos estudados. Dentre eles, somente a ciprofloxacina foi removida em maior porcentagem (30%) na coagulação. Uma remoção eficiente dos fármacos estudados foi encontrada durante a ozonização e adsorção em CAG, com exceção da ciprofloxacina, mais hidrofílico, que foi encontrada acima do limite de quantificação do método após a adsorção em CAG.

Kim et al. (2007) verificam que os processos de tratamento de água de coagulação, filtração em areia, desinfecção com cloro e ultrafiltração não foram efetivos na remoção dos fármacos iopromida, ibuprofeno, cabamazepina e cafeína encontrados nas águas superficiais da Coreia do Sul na concentração de 143, 15, 4,8 e 45 ng L⁻¹, respectivamente. Entretanto, aproximadamente 99% desses compostos foram removidos por adsorção em CAG.

No entanto, é importante obter dados sobre os mecanismos de remoção dos fármacos e subprodutos associados a esses compostos em águas de abastecimento público e em processos de tratamento de esgoto.

A exposição humana a resíduos de fármacos em água potável, pode ser reduzida através de medidas preventivas como programas de devolução de medicamentos, controle de vendas e programas de orientação e educação do consumidor para o descarte adequado dos medicamentos.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Materiais, reagentes e soluções usados nos ensaios em jarteste

4.2.1.1 Preparação da suspensão de caulinita

Para preparar a suspensão-mãe de caulinita (argila) foi utilizada a metodologia proposta por Di Bernardo (2004), a fim de reduzir erros na preparação da turbidez da água e remover as partículas de maior tamanho. Para o preparo desta solução, foram misturadas 1000 gramas de caulinita a 50 litros de água de poço artesiano não clorada do Campus I da USP de São Carlos. A água com caulinita foi agitada por 2 h, seguido por 10 h de repouso. O sobrenadante foi coletado e armazenado para posterior uso na preparação da água de estudo para realização dos ensaios de tratamento de água em equipamento jarteste.

4.2.1.2 Coagulante

O coagulante empregado nos ensaios feitos em equipamento jarteste foi o sulfato de alumínio líquido comercial $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14,3 \text{ H}_2\text{O}$ (50% do valor de massa em água) com 7,3% (massa/massa) de Al_2O_3 , densidade específica de $1,3 \text{ g cm}^{-3}$ e 3,85% (massa/massa) de alumínio.

O hidróxido de sódio (NaOH) usado para a correção do pH de coagulação foi de grau analítico e adquirido da Mallinckrodt.

4.2.1.3 Filtros com areia

A filtração em areia foi feita em filtros de escala laboratorial (FLA) com diâmetro interno de 19 mm, diâmetro nominal de 25 mm, espessura do meio filtrante de 15 cm, comprimento do filtro 40 cm, areia com tamanho dos grãos entre 0,30 e 0,59 mm (areia tipo 1). A areia foi separada nas peneiras de malha 0,59; 0,42 e 0,30 mm no laboratório do departamento de Engenharia de Transportes da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da USP. A areia tipo 1 foi preparada com 10% de grãos com tamanho entre 0,30 e 0,42 mm e 90% de grãos com tamanho entre 0,42 e 0,59 mm.

A limpeza da areia foi feita através da retrolavagem dos FLA com água corrente de torneira a uma vazão que proporcionasse uma expansão da areia da ordem de 33%, durante aproximadamente 10 min (Figura 4.1). Em seguida, efetuou-se a compactação da areia no interior dos filtros, através de leves batidas nas suas laterais, com auxílio de um bastão. Após, os filtros foram preenchidos com água destilada para substituir a água remanescente da lavagem. A lavagem dos filtros foi feita antes de cada ensaio.

Figura 4.1 - Lavagem dos filtros de areia.

4.2.1.4 Filtros com carvão ativado granular

O CAG utilizado foi produzido a partir da casca de coco de babaçu, adquirido da empresa Tobasa Bioindustrial, com propriedades que favorecem a adsorção de moléculas pequenas, com número de iodo de 956,9 mg I₂ g⁻¹ de carvão ativado, densidade de 0,452 g cm⁻³, umidade de 7,0% e granulometria entre 0,30 e 0,60 mm.

Para a realização dos ensaios de adsorção do DCF, o CAG foi lavado com água deionizada abundantemente até o sobrenadante ficar transparente, e após foi transferido para um erlenmeyer tampado e sob agitação de 100 rpm fez-se vácuo por 2 h para a retirada do oxigênio. Em seguida o CAG foi lavado novamente com água deionizada e adicionado juntamente com água nos filtros de mesmas dimensões daqueles usados com areia, com 15 cm de comprimento, e compactados. O CAG foi substituído nos filtros a cada ensaio. Os ensaios de tratamento em ciclo completo com filtração em areia seguida de adsorção em CAG foram feitos em jarreste com seis jarros de 2 L cada e dois kits de seis filtros em escala laboratorial.

4.2.1.5 Preparação da solução de cloro e de dióxido de cloro

A solução de cloro foi preparada a partir da solução de hipoclorito de sódio líquido com 12,9% de cloro ativo e densidade igual a $1,22 \text{ g cm}^{-3}$, fornecida pela ETA da cidade de São Carlos - SP.

A solução de dióxido de cloro produzida a partir de clorato de sódio como matéria prima foi fornecida pela Eka Chemicals do Brasil S.A – Akzo Nobel Company. A concentração da solução era da ordem de $300 \text{ mg ClO}_2 \text{ L}^{-1}$. Esta foi estocada em geladeira a aproximadamente 4°C por dois meses.

As soluções de cloro e de dióxido de cloro, na concentração desejada, foram preparadas por diluição em água purificada pelo sistema Milli-Q ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C) (Millipore, Brasil) e a concentração das soluções foram determinadas pelo método colorimétrico com adição de N,N-dietil-p-fenileno diamina (DPD) em um espectrofotômetro DR 4000, HACH. As leituras foram feitas em 530 nm com limite de detecção de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$. Para a determinação da concentração de dióxido de cloro em mg L^{-1} os valores obtidos em concentração de cloro livre foram multiplicados por 1,9 (correção estequiométrica).

4.2.1.6 Preparação e caracterização da amostra de água de estudo

Para a preparação da amostra de água de estudo, foi usada água do poço artesiano não clorada do Campus I da USP de São Carlos, fração de SHA filtrada em membrana de éster de celulose com $0,45 \mu\text{m}$ de tamanho de poro (conforme descrito no Capítulo 2 deste trabalho, itens 2.3.1, 2.3.2 e 2.3.3) para conferir cor verdadeira de 20 uH e caulinita para conferir turbidez de 70 uT, valor típico de turbidez de mananciais superficiais na época intermediária entre chuvas intensas e estiagem.

As medidas de cor foram feitas em um espectrofotômetro DR 4000 de HACH, em 455 nm , com limite de detecção de 1 uH, e de turbidez em um turbidímetro 2100P da HACH, com limite de detecção de 0,10 uT e precisão $\pm 0,01$.

Com o objetivo de se verificar a remoção de DCF próxima de 100%, considerando o limite inferior de quantificação do método ($3 \mu\text{g L}^{-1}$) validado por HPLC-DAD e o volume de água coletado após as etapas de tratamento, foi escolhida a concentração de fortificação, que foi de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de DCF.

As amostras de água do poço artesiano e da água de estudo foram caracterizadas de acordo com os principais parâmetros físico-químicos citados na portaria nº 518/2004 (BRASIL, 2004). As análises de caracterização da água do poço artesiano e da água de estudo foram feitas de acordo com as metodologias descritas no Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater (2005).

4.2.1.7 Determinação dos parâmetros nas amostras de água antes e após os ensaios

Para a determinação do DCF nas amostras de água antes e após as etapas de tratamento de água foi feita extração em fase sólida (SPE) em duplicata e cada amostra extraída foi analisada no HPLC-DAD, na mesma corrida cromatográfica, em triplicata. Os métodos analíticos empregados para a extração e determinação de DCF (HPLC-DAD) estão descritos no Capítulo 3 deste trabalho, itens 3.3.2 e 3.3.3.5.

Os procedimentos empregados para a extração e determinação dos THM estão descritos no Capítulo 3 deste trabalho, itens 3.2.5 e 3.2.5.1.

A determinação de COD nas amostras de água antes e após as etapas de tratamento foi feita conforme descrito no item 2.3.4.5 do Capítulo 2 deste trabalho.

As análises de varredura no UV/Vis foram feitas em um espectrofotômetro de UV/Vis JASCO – V 630, entre os comprimentos de 200 a 800 nm.

As medidas de residual de cloro (ácido hipocloroso e íon hipoclorito) e de dióxido de cloro foram efetuadas pelo método colorimétrico com adição DPD em um espectrofotômetro DR 4000, HACH. As leituras foram feitas em 530 nm com limite de detecção de 0,01 mg L⁻¹.

O íon clorito presente nas amostras de água após pré-oxidação com dióxido de cloro foi determinado pelo método colorimétrico com equipamento DT4 da Prominent.

4.2.2 Ensaios em equipamento jarteste sem a pré-oxidação

4.2.2.1 Construção dos diagramas de coagulação (Série I)

Foram feitos ensaios de coagulação, floculação e sedimentação com a água de estudo sem DCF. Foi variada a dosagem de sulfato de alumínio líquido e o pH de coagulação (por meio da adição de solução de NaOH 0,2 mol L⁻¹) para a determinação da região de coagulação eficiente na remoção de turbidez e cor aparente.

As condições dos ensaios foram:

- Tempo de mistura rápida (T_{mr}) = 10 s;
- Gradiente de velocidade de mistura rápida (G_{mr}) = 1000 s^{-1} ;
- Tempo de floculação (T_f) = 20 min
- Gradiente de velocidade de floculação (G_f) = 15 s^{-1} ;
- Velocidade de sedimentação (V_s) = $1,0\text{ cm min}^{-1}$ e $0,5\text{ cm min}^{-1}$;
- Temperatura da água = $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Os parâmetros de controle foram: pH de coagulação, turbidez e cor aparente do sobrenadante.

4.2.2.2 Escolha das condições de coagulação (Séries II, IIa e IIb)

Série II: foram escolhidas seis condições de “pH *versus* dosagem de sulfato de alumínio” no diagrama de coagulação e feitos os ensaios de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia para verificar a concentração de alumínio residual, cor aparente e turbidez.

Série IIa: a partir dos melhores resultados obtidos na série II, três condições de “pH *versus* dosagem de sulfato de alumínio” foram escolhidas para fazer os ensaios de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia com a água de estudo. As condições de ensaio de T_{mr} , G_{mr} , T_f e G_f e temperatura da água foram as mesmas da série I. As outras condições foram: V_s igual a $1,0\text{ cm min}^{-1}$; filtração: coleta com 20 min e taxa média de filtração de 50 a $60\text{ m}^3/\text{m}^2\text{ dia}$.

Os parâmetros de controle foram: da água de estudo: pH, temperatura, cor aparente, cor verdadeira, turbidez, alcalinidade, varredura no UV/Vis e concentração de COD e de DCF; da água coagulada: pH de coagulação; da água decantada: turbidez e cor aparente; da água filtrada: turbidez, cor aparente, DCF, COD, pH, alumínio residual e varredura no UV/Vis.

Série IIb: a partir do “pH *versus* dosagem de sulfato de alumínio” selecionados na série IIa foram avaliadas as V_s iguais a 3, 2, 1 e $0,5\text{ cm min}^{-1}$ na remoção do DCF.

4.2.2.3 Ensaios em ciclo completo e pós-cloração (Série III)

Com a condição de coagulação definida na Série II, foi feito um ensaio de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia em FLA e pós-cloração. O ensaio foi realizado em jarreste acoplado com um conjunto de seis filtros em escala laboratorial para filtração em areia (Figura 4.2). As condições de T_{mr} , G_{mr} , T_f , G_f , V_s , temperatura da água e filtração foram as mesmas da série IIa. A pós-cloração foi feita nos tempos de contato de 0,5 e 24 h e dosagem de cloro de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$. Para a pós-cloração foi utilizado 250 mL de água, frasco âmbar tampado, sob agitação constante em mesa agitadora (100 rpm) e temperatura da água igual a 20°C . O ensaio de pós-cloração foi feito em duplicata para cada tempo de contato.

Em uma parte das amostras, após o término de 30 min e 24 h da pós-cloração, não foi adicionado agente desclorante para a determinação de cloro residual, pH, cor e turbidez. No restante das amostras foi adicionado agente desclorante para eliminar o residual de oxidante e posteriormente fazer a extração e determinação de COD, DCF e THM. Para a determinação de COD e DCF foi adicionado o agente desclorante tiosulfato de sódio, por não interferir nas medidas, e para a determinação dos THM foi adicionado o ácido ascórbico.

Foi adotada a dosagem de 5 mg L^{-1} de cloro na pós-cloração por ser o valor máximo de cloro residual livre na água potável permitido pela portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde, tendo em vista que se pretendia verificar a remoção de DCF. No entanto, essa portaria recomenda que o valor máximo de cloro residual livre seja igual a 2 mg L^{-1} e o valor mínimo seja igual a $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e é obrigatória a manutenção de, no mínimo, $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ em qualquer ponto do sistema de abastecimento (BRASIL, 2011).

Os tempos de contato estudados no presente trabalho, de 0,5 e de 24 h, representam uma água coletada logo após o tratamento e após um percurso de 24 h na rede de distribuição, respectivamente.

Os parâmetros de controle, além dos da água de estudo (item 4.2.2.2) e pH de coagulação foram: da água decantada: cor aparente e turbidez; da água filtrada: DCF, varredura UV/Vis, cor aparente, turbidez, pH e COD; da água após o término da pós-cloração de 30 min e 24 h: residual de cloro (medido pelo método colorimétrico com DPD), DCF, THM, varredura UV/Vis, cor aparente, turbidez e COD. A reação do cloro na água pós-clorada foi inibida com tiosulfato de sódio.

Figura 4.2 – Equipamento de reatores estáticos, jarteste, e seis filtros com areia para a realização dos ensaios em ciclo completo.

4.2.2.4 Ensaios em ciclo completo com adsorção em carvão ativado granular (Série IV)

Com a condição de coagulação definida na Série IIa, foi realizado um ensaio de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia em FLA, adsorção em CAG e pós-cloração. As condições de T_{mr} , G_{mr} , T_f , G_f , V_s , temperatura da água, filtração em areia e pós-cloração foram as mesmas da série III. As condições da adsorção em CAG foram: coleta com 20 min e taxa de filtração de 50 a 60 m^3/m^2 dia.

Os parâmetros de controle, além dos da água de estudo (item 4.2.2.2) e pH de coagulação, foram: da água decantada: cor aparente e turbidez; da água filtrada: DCF, varredura UV/Vis, cor aparente, turbidez, pH e COD; da água após adsorção em CAG: pH, DCF, varredura UV/Vis, cor aparente, turbidez e COD; da água após 0,5 e 24 h do término da pós-cloração: residual de cloro, DCF, THM, varredura UV/Vis, cor aparente, turbidez e COD.

Os ensaios de tratamento em ciclo completo com filtração em areia e adsorção em CAG foram realizados em equipamento jarteste acoplado a dois kits de FLA de mesmas dimensões dos FLA de areia (item 4.2.1.3), conforme apresentado na Figura 4.3.

Figura 4.3 – Equipamento de reatores estáticos, jarteste, coplado a seis filtros preenchidos com areia e seis com carvão ativado granular.

4.2.3 Ensaios com a pré-oxidação

4.2.3.1 Ensaios com a pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro (Séries V, Va e Vb)

Série V: foram feitos ensaios em equipamento jarteste sob agitação constante de 100 rpm para a determinação do consumo dos oxidantes na pré-oxidação da água de estudo com 1 mg L⁻¹ de DCF. As condições dos ensaios foram: tempo de contato: 10 a 120 min; dosagem de cloro: 0,50 a 10,0 mg L⁻¹; dosagem de dióxido de cloro: 0,25 a 2,00 mg L⁻¹ e temperatura da água igual a 20 °C.

Os parâmetros de controle foram: residual dos oxidantes cloro e dióxido de cloro e clorito nos ensaios com o dióxido de cloro.

Série Va: com base nos resultados do consumo e residual de cloro, foram definidas as dosagens de cloro e os tempos de contato para a verificação da remoção do DCF e COD na pré-oxidação com o cloro. As dosagens de cloro e os respectivos tempos de contato definidos foram: 0,50 mg L⁻¹ e 10 min; 0,75 mg L⁻¹ e 30 min e 1,00 mg L⁻¹ e 60 min.

Série Vb: com base nos resultados do consumo e residual de dióxido de cloro e concentração de clorito, foi definida a dosagem de dióxido de cloro e os tempos de contato para a verificação da remoção do DCF e COD na pré-oxidação com o dióxido de cloro. A dosagem de dióxido de cloro definida foi 0,25 mg L⁻¹ e os tempos de contato foram iguais a 10; 30; 60; 90 e 120 min.

Os parâmetros de controle nas séries Va e Vb foram: turbidez, cor verdadeira, residual do oxidante, pH, DCF, COD, varredura no UV/Vis e clorito (ensaios com o dióxido de cloro).

4.2.3.2 Ensaios em ciclo completo com pré-oxidação e adsorção em carvão ativado granular (Séries VI e VII)

Série VI: com a condição de coagulação definida na Série II, foram feitos ensaios de pré-oxidação com cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia em FLA, adsorção em CAG e pós-cloração.

Série VII: com a condição de coagulação definida na Série II, foram feitos ensaios de pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia em FLA, adsorção em CAG e pós-cloração.

As condições de pré-oxidação (tempo de contato e dosagem dos oxidantes) das séries VI e VII foram definidas nas séries Va e Vb. As condições de Tmr, Gmr, Tf, Gf, Vs, filtração em areia e pós-cloração foram iguais às da série III e as condições de adsorção em CAG foram iguais às da série IV.

Os parâmetros de controle, além dos da água de estudo (item 4.2.2.2) foram: da água pré-oxidada: residual do oxidante; da água coagulada: pH de coagulação; da água decantada: cor aparente e turbidez; da água filtrada: DCF, varredura UV/Vis, cor aparente, turbidez e COD; da água após a adsorção em CAG: DCF, varredura UV/Vis, cor aparente, turbidez, THM e COD; da água após 0,5 e 24 h do término da pós-cloração: residual de cloro, DCF, THM, COD, cor aparente e turbidez.

4.2.4 Amostras de controle de qualidade

Para efeito de controle de qualidade do método analítico, por ocasião da sua aplicação para análise das amostras de água antes e após as etapas de tratamento de água feito em jarreste, foram analisadas amostras de controle de qualidade (CQ) juntamente com as amostras de interesse na mesma corrida cromatográfica. Os níveis de concentração das amostras de CQ foram estabelecidos conforme a RE nº 899/2003 da ANVISA e essas amostras devem apresentar concentração menor ou igual a três vezes o LIQ; igual à média entre a baixa e a alta concentração e em concentração equivalente à faixa de 75 a 90 % da maior concentração da curva de analítica. As amostras dos CQ foram preparadas com água de estudo fortificadas com 8; 484 e 960 $\mu\text{g L}^{-1}$ de DCF e extraídas pelo método de extração em fase sólida (SPE), apresentado no Capítulo 3 deste trabalho (itens 3.3.2 e 3.3.3.5). A extração foi feita em triplicata para cada nível de concentração.

4.2.5 Construção da isoterma de Freundlich

A relação empírica da isoterma de Freudlich, representada pela Equação 4.5, foi empregada para determinar a capacidade do CAG em adsorver o DCF. A versão linearizada dessa relação é dada por meio da Equação 4.6.

$$C_{sorb} = K_F \times C_w^{1/n} \quad \text{Equação 4.5}$$

$$\log C_{sorb} = \log K_F + 1/n \log C_w \quad \text{Equação 4.6}$$

Onde: C_{sorb} é a concentração do composto na fase sólida (mg adsorbato por g de adsorvente) também chamado de capacidade adsortiva;

K_F é a constante de Freundlich que representa a capacidade de adsorção;

C_w é a concentração do composto na fase aquosa (mg L^{-1}), ou seja, quanto sobrou do composto na solução após adsorção em carvão;

$1/n$ é o coeficiente angular da reta que representa a intensidade de adsorção.

Para a construção da isoterma foi seguida a metodologia da norma ASTM D-3860-98 sobre carvão ativado da *American Society for Testing and Materials* (ASTM, 1998). O CAG teve sua granulometria reduzida, de modo que, no mínimo 95% em massa passassem na peneira de 325 mesh (0,044 mm). Para isso, foi utilizado um moinho com uma esfera de ágata, modelo mLW 4600 tipo KM1.

Foram empregadas as seguintes condições: 500 mL de água purificada pelo sistema Milli-Q ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C) fortificada com DCF para resultar uma concentração de 1 mg L^{-1} em frascos de vidro de 1000 mL fechados; pequenas quantidades de CAG de babaçu pulverizado (de 0,4 a 160 mg); tempo de contato de 2 h sob agitação em mesa agitadora (150 rpm) e temperatura da água igual a 20°C . Em seguida as amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose de $0,45 \mu\text{m}$ e submetidas à extração SPE e analisadas por HPLC-DAD, conforme os métodos analíticos apresentados no Capítulo 3 deste trabalho (itens 3.3.2 e 3.3.3.5). As curvas analíticas empregadas para a quantificação do DCF se encontram no item 3.3.4.3 do Capítulo 3 deste trabalho.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Caracterização da amostra de água do poço artesiano e da água de estudo

Os resultados de caracterização da amostra de água do poço artesiano do Campus I da USP de São Carlos e da água de estudo fortificada com 1 mg L^{-1} de DCF estão apresentadas na Tabela 4.2.

Conforme apresentado na Tabela 4.2, a amostra de água do poço artesiano apresentou valores mais baixos para todos os parâmetros analisados em relação à água de estudo. Não foi detectado DCF na água do poço artesiano. Na amostra de água de estudo a concentração teórica de DCF foi igual a 1 mg L^{-1} .

Tabela 4.2 – Caracterização da amostra de água do poço artesiano e da água de estudo.

Parâmetros	Água de poço artesiano	Água de estudo
Cor aparente (uH)	< 1	400
Cor verdadeira (uH)	< 1	20
Turbidez (uT)	0,39	70
Sulfato (mg SO ₄ ²⁻ L ⁻¹)	< 1,0	< 1,0
COD médio (mg L ⁻¹)	4,50	22,30
Alcalinidade (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	22,0	22,8
Condutividade (µS cm ⁻¹)	45,80	52,10
Dureza (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	15,00	18,00
Cloreto (mg Cl ⁻ L ⁻¹)	0,10	0,90
Fluoreto (mg F ⁻ L ⁻¹)	< 0,01	< 0,01
pH (adimensional)	6,20	6,70
Absorbância em 254 nm	0,002	0,22
Absorbância em 278 nm	0,000	0,23
Nitrogênio Amoniacal (mg N L ⁻¹)	0,01	0,15
Nitrogênio Nitrito (mg N L ⁻¹)	< 0,001	< 0,001
Nitrogênio Nitrato (mg N L ⁻¹)	< 0,01	< 0,01
Sólidos totais (mg L ⁻¹)	55	110
Sólidos totais fixos (mg L ⁻¹)	22	50
Sólidos totais voláteis (mg L ⁻¹)	5	88
Sólidos suspensos totais (mg L ⁻¹)	5	77
Sólidos suspensos voláteis (mg L ⁻¹)	2	70
Sólidos dissolvidos totais (mg L ⁻¹)	33	50
Sólidos dissolvidos fixos (mg L ⁻¹)	15	47
Sólidos dissolvidos voláteis (mg L ⁻¹)	3	18
Zn - amostra digerida (mg L ⁻¹)	< 0,002	0,203
Pb - amostra digerida (mg L ⁻¹)	< 0,01	< 0,01
Cd - amostra digerida (mg L ⁻¹)	< 0,0006	0,001
Ni - amostra digerida (mg L ⁻¹)	< 0,008	< 0,008
Fe - amostra digerida (mg L ⁻¹)	0,024	0,235
Mn - amostra digerida (mg L ⁻¹)	0,004	0,01
Cu - amostra digerida (mg L ⁻¹)	0,019	0,058
Al - digerido (mg L ⁻¹)	< 0,01	< 0,01
Cr - amostra digerida (mg L ⁻¹)	0,011	0,005
Na - amostra não-digerida (mg L ⁻¹)	2,6	3,0
K - amostra não-digerida (mg L ⁻¹)	8,9	9,1
Ca - amostra não-digerida (mg L ⁻¹)	0,64	5,72
Mg - amostra não-digerida (mg L ⁻¹)	0,63	7,89
Diclofenaco sódico (mg L ⁻¹)	ND	1,02

ND: Não detectado (limite de detecção igual a 2 µg L⁻¹)

4.3.2 Ensaio sem a pré-oxidação

4.3.2.1 Construção dos diagramas de coagulação (Série I)

Os resultados dos ensaios de coagulação com sulfato de alumínio, floculação e sedimentação estão apresentados nas Tabelas do Apêndice A. Nessas Tabelas encontram-se as dosagens de sulfato de alumínio, o pH de coagulação e os valores de cor aparente e turbidez remanescente para as duas velocidades de sedimentação: 0,5 e 1,0 cm min^{-1} .

Os diagramas de turbidez remanescente foram construídos com base nas Tabelas do Apêndice A para as duas velocidades de sedimentação estudadas e estão apresentados, respectivamente, nas Figuras 4.4 e 4.5, com destaque aos três pontos escolhidos para a realização dos ensaios da Série Ila. Nestas figuras os maiores valores de turbidez remanescente da água decantada são representados por bolhas de maior tamanho e os menores valores por bolhas de menor tamanho.

Figura 4.4 – Diagrama de turbidez remanescente para a V_s igual a 1 cm min^{-1} (Série I).

Figura 4.5 – Diagrama de turbidez remanescente para a V_s igual a $0,5 \text{ cm min}^{-1}$ (Série I).

Pode-se verificar por meio da análise dos diagramas de coagulação das Figuras 4.4 e 4.5 que houve uma região com turbidez remanescente $\leq 5 \text{ uT}$, valor esse recomendado por Di Bernardo e Dantas (2005) para que não haja redução da duração da carreira de filtração.

Como para ambas as V_s estudadas ($0,5$ e 1 cm min^{-1}) foram obtidos valores de turbidez remanescente $\leq 5 \text{ uT}$ foi fixada a V_s igual a 1 cm min^{-1} para os próximos ensaios.

4.3.2.2 Escolha das condições de coagulação (Séries II, IIa e IIb)

Algumas características da água de estudo usada nestes ensaios foram: pH igual a 7,3; alcalinidade igual a $23,0 \text{ mg L}^{-1}$; temperatura da água igual a $21 \text{ }^\circ\text{C}$; cor aparente igual a 397 uH; turbidez igual a 68 uT; concentração de DCF determinado por HPLC-DAD igual a $977,70 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e COD igual a $24,30 \text{ mg L}^{-1}$.

Série II Reprodução de seis condições de coagulação para avaliação da remoção de cor, turbidez e alumínio residual

A partir dos resultados obtidos na série I foram escolhidas seis condições de “dosagem de sulfato de alumínio *versus* pH de coagulação” no diagrama de coagulação da Figura 4.4.

Nesta série fez-se um ensaio de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia para avaliar a remoção de cor, turbidez e alumínio residual (Al) como apresentados na Tabela 4.3. Os valores de concentração de sulfato de alumínio, apresentadas na Tabela 4.3, como produto líquido comercial (80, 90, 110, 130 e 150 mg L⁻¹) correspondem respectivamente a 3,08; 3,46; 4,23; 5,00 e 5,77 mg L⁻¹ de alumínio.

Tabela 4.3 – Resultados obtidos do ensaio de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia para as seis condições de coagulação selecionadas e Vs igual a 1 cm min⁻¹ (Série II).

Coagulação			Água decantada		Água filtrada em areia		
Sulfato de alumínio (mg L ⁻¹)	NaOH (mg L ⁻¹)	pH	Vs = 1,0 cm min ⁻¹		Turbidez (uT)	Cor aparente (uH)	Al* (mg L ⁻¹)
			Turbidez (uT)	Cor aparente (uH)			
80	16,0	6,60	2,43	17	0,55	2	0,16
90	14,8	6,50	2,15	10	0,35	1	0,08
110	19,2	6,70	2,08	10	0,42	1	0,09
130	22,0	6,50	2,14	10	0,38	1	0,11
130	23,2	6,64	2,25	13	0,65	1	0,10
150	30,0	6,83	3,01	12	0,51	2	0,12

*Espectrometria de emissão atômica induzido por plasma (AES-ICP)

Série IIa Reprodução de três condições de coagulação para avaliação da remoção do diclofenaco e carbono orgânico dissolvido

A partir dos resultados apresentados na Tabela 4.3 da série II e na Figura 4.4 da série I foram selecionadas três “dosagens de coagulante *versus* pH de coagulação” para verificar a remoção de DCF e COD, conforme os resultados apresentados na Tabela 4.4. O critério de escolha foram os pontos que apresentaram menores valores de concentração de alumínio residual, cor, turbidez e menores dosagens de NaOH.

Tabela 4.4 - Resultados do ensaio de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia para as três condições selecionados no diagrama de coagulação para Vs de 1 cm min^{-1} (Série IIa).

Coagulação		Água filtrada em areia					
Sulfato de alumínio (mg L^{-1})	pH	Turbidez (uT)	Cor aparente (uH)	Alumínio residual (mg L^{-1})	COD (mg L^{-1})	DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	pH
90	6,50	0,45	2	0,08	23,10	973,60	6,80
110	6,70	0,35	1	0,10	22,80	977,80	6,90
130	6,60	0,32	1	0,11	23,40	971,60	6,80

Por meio da Tabela 4.4 é possível verificar que praticamente não houve diferença na remoção do DCF e COD para as diferentes dosagens de coagulante empregadas e que os valores de concentração de DCF determinados nas amostras de água filtrada em areia foram praticamente iguais à concentração determinada na água de estudo ($977,70 \mu\text{g L}^{-1}$). Isso demonstra a ineficiência dessas etapas do tratamento em ciclo completo nas condições estudadas (coagulação com sulfato de alumínio entre pH de 6,5 a 6,7, floculação, sedimentação e filtração em areia).

Neste trabalho, verificou-se que mesmo nas condições otimizadas de remoção de turbidez, a coagulação com sulfato de alumínio, floculação, sedimentação e filtração em areia não removeu DCF. Esses resultados estão de acordo com os encontrados na literatura onde a remoção do DCF por coagulação com sulfato de alumínio, floculação, sedimentação e filtração em areia praticamente não ocorre (VIENO et al. 2006).

De acordo com dados publicados, a coagulação não é eficiente na remoção de fármacos e este processo é influenciado principalmente pelo tipo e dosagem do coagulante, presença de MOD, pH de coagulação, mecanismo de coagulação e estrutura molecular do fármaco (BOYD et al., 2003; TERNES et al., 2002; ADAMS et al., 2002; VIENO et al., 2006; CHOI et al., 2008). Em Julien et al. (1994) a coagulação com sulfato férrico resultou em 17 a 30% de remoção mais elevada do que com sais de alumínio para fármacos ácidos.

Embora essas condições influenciem na remoção de fármacos, pode-se concluir por meio dos resultados obtidos neste estudo e dos encontrados na literatura que as operações de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia não são eficientes na remoção de DCF e de outros resíduos de fármacos em água (VIENO et al., 2006; STACKELBERG et al., 2007; ADAMS et al., 2002; TERNES et al., 2002; BOYD et al., 2003; VIENO et al., 2005;

STACKELBERG et al., 2004; WESTERHOFF et al., 2005; KIM et al., 2007; POJANA et al., 2011).

Analisando-se a Tabela 4.4 observa-se que para as três dosagens selecionadas, a turbidez da água filtrada em areia resultou inferior a 0,5 uT, a cor aparente resultou menor que 15 uH e a concentração de alumínio residual foi menor que 0,2 mg L⁻¹, valores máximos recomendados pela portaria nº 2914 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011).

Com base nos resultados apresentados na Tabela 4.4 foi selecionada a dosagem de sulfato de alumínio de 90 mg L⁻¹ (produto comercial líquido) e pH de coagulação de 6,5 (com adição de solução de NaOH 0,2 mol L⁻¹) para os próximos ensaios em jarreste. O critério de escolha foi o ponto com menores dosagens de produtos químicos (coagulante e alcalinizante) e menor valor de alumínio residual, já que praticamente não houve diferença entre as concentrações de DCF e COD determinadas.

Série IIb Avaliação da influência da velocidade de sedimentação na redução de diclofenaco

A partir da “dosagem de coagulante *versus* pH de coagulação” fixado na série IIa, partiu-se para a avaliação da influência da Vs na remoção de DCF. As velocidades de sedimentação avaliadas foram 3; 2; 1 e 0,5 cm min⁻¹. A concentração de DCF determinada na água de estudo foi igual a 1022,40 µg L⁻¹ e de COD igual a 24,30 mg L⁻¹. Os resultados obtidos para a água decantada em diferentes Vs encontram-se na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Resultados obtidos para as amostras de água decantada em diferentes velocidades de sedimentação (Série IIb).

Vs (cm min ⁻¹)	Água decantada						
	Turbidez (uT)	Cor aparente (uH)	COD (mg L ⁻¹)	DCF (µg L ⁻¹)	Abs 254 nm	Abs 278 nm	SUVA254 (L m ⁻¹ / mg C)
3	5,54	35	24,00	1023,4	0,042	0,055	0,1750
2	4,00	24	23,57	1021,0	0,037	0,053	0,1570
1	2,37	12	23,20	1004,0	0,035	0,048	0,1514
0,5	1,60	11	22,90	1024,4	0,031	0,047	0,1354

Pode-se verificar pelos resultados apresentados na Tabela 4.5 que não houve diferença significativa na concentração de DCF e COD e de absorbância em 254 e 278 nm, para as diferentes Vs estudadas. A Vs foi significativa apenas na remoção de cor aparente e turbidez.

4.3.2.3 Ensaios de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e pós-cloração (Série III)

Depois de fixada a dosagem de sulfato de alumínio (90 mg L^{-1}) e o pH de coagulação (6,50) partiu-se para a realização do ensaio (seis jarros no jarteste) de tratamento em ciclo completo sem a pré-oxidação.

Algumas características da água de estudo usada neste ensaio foram: pH igual a 6,8; alcalinidade igual a $22,5 \text{ mg L}^{-1}$; temperatura da água igual a 21°C ; concentração de DCF determinada igual a $1024,22 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e COD igual a $20,50 \text{ mg L}^{-1}$.

Os resultados dos parâmetros analisados na água decantada e filtrada se encontram na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 - Resultados obtidos no ensaio de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia (Série III).

Água decantada		Água filtrada em areia						
Vs = $1,0 \text{ cm min}^{-1}$								
Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L^{-1})	Abs 254 nm	Abs 278 nm	pH	DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)
14	1,93	1	0,35	20,13	0,022	0,041	7,20	1044,50
13	1,65	1	0,30	20,14				
10	1,36	1	0,29	20,15				
11	1,61	1	0,33	20,16				
10	1,23	1	0,28	20,17				
12	1,66	1	0,30	20,18				

Na Figura 4.6 são apresentados os cromatogramas sobrepostos provenientes da água de estudo com 1 mg L^{-1} de DCF e da água após o processo de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia.

A concentração de DCF determinada na água de estudo usada neste ensaio foi igual a $1024,32 \mu\text{g L}^{-1}$ e na água filtrada em areia foi igual a $1046,31 \mu\text{g L}^{-1}$. A diferença entre essas concentrações foi aproximadamente 2% e essas se encontram dentro do intervalo de exatidão aceito pela RE nº 899/2003 da ANVISA, de 85 a 115%. Diante destes resultados, pode-se concluir que não houve remoção de DCF nessas etapas de tratamento.

Figura 4.6 – Cromatogramas sobrepostos: (a) água de estudo (t_R DCF = 5,3 min, área do pico = 999, 31 mAU*s) e (b) água filtrada em areia (t_R = 5,3 min, área do pico = 1008, 45 mAU*s) (Série III).

Na Figura 4.7 têm-se os espectros de varredura no UV/Vis (200 – 800 nm) da amostra de água de estudo e da filtrada em areia.

O pico máximo das bandas para ambas as amostras (Figura 4.7) foi em 278 nm, praticamente com a mesma intensidade, confirmando a não remoção do DCF nas etapas de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia.

Figura 4.7 - Espectros sobrepostos de varredura na região do UV/Vis (200-800 nm) da amostra de água de estudo e da água filtrada em areia (Série III).

Na Tabela 4.7 são apresentados os resultados médios obtidos após o término da pós-cloração de 0,5 e 24 h da água filtrada em areia.

Tabela 4.7 – Resultados obtidos após o término de 30 min e 24 h de pós-cloração da água filtrada em areia (Série III).

Tempo de contato (h)	Água pós-clorada (n = 2)							
	Residual de cloro (mg L ⁻¹)	Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L ⁻¹)	DCF (µg L ⁻¹)	Remoção de DCF (%)	CHCl ₃ * (µg L ⁻¹)	pH final
0,5	3,12	< 1	0,45	20,30	667,50	35,0	< LIQ	7,45
24	2,60	< 1	0,46	20,00	30,40	97,0	< LIQ	7,60

*Clorofórmio; LIQ: Limite inferior de quantificação dos THM 10 µg L⁻¹; n: número de amostras

Conforme os resultados apresentados na Tabela 4.7, pode-se verificar que após 30 min e 24 h de tempo de contato a dosagem de 5 mg L⁻¹ de cloro forneceu um residual de 3,12 mg L⁻¹ e 2,60 mg L⁻¹ de cloro, respectivamente. O consumo de cloro foi de aproximadamente 50% da dosagem inicial.

Por meio dos resultados apresentados na Tabela 4.7 observa-se que a etapa de pós-cloração reduziu a concentração de DCF, e que para o tempo de contato de 24 h ocorreu cerca de 97% de redução. Porém, nessa etapa ocorreu a formação de subprodutos da oxidação do

DCF com cloro, os quais foram identificados por LC-MS/MS e serão apresentados no Capítulo 5 da tese. Outro indicativo da formação de subprodutos foi a concentração de COD que resultou praticamente a mesma da água de estudo ($20,50 \text{ mg L}^{-1}$), indicando a não mineralização do DCF no processo de cloração (Tabela 4.7).

Dentre os THM analisados na etapa de pós-cloração da água filtrada em areia sem pré-oxidação foi apenas detectado o clorofórmio, abaixo do limite de quantificação ($< 10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$).

A concentração máxima de THM permitida pela portaria nº 2914 de 2011 do Ministério da Saúde é de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (BRASIL, 2011). O clorofórmio detectado pode ser devido à presença de substâncias húmicas (SHA) aquáticas na água de estudo, as quais exercem influência significativa na formação dos subprodutos orgânicos halogenados em águas submetidas à cloração. No entanto, a formação de THM é influenciada pela concentração das SHA, as quais neste estudo estiveram em baixa concentração. Os cromatogramas de THM obtidos na etapa de pós-cloração da água filtrada em areia estão apresentados nos Apêndices B.1, B.1.1, B.2 e B.2.1.

Na Figura 4.8 são apresentados os cromatogramas obtidos por HPLC-DAD e na Figura 4.9 os espectros na região do UV/Vis, obtidos da água após o término da pós-cloração de 30 min e de 24 h da água filtrada em areia.

Figura 4.8 - Cromatogramas sobrepostos: (a) da água após o término da pós-cloração de 30 min e (b) da água após o término da pós-cloração de 24 h da água filtrada em areia (Série III).

Conforme os espectros obtidos na Figura 4.9, o comprimento de onda (λ) máximo das bandas para ambas as amostras foi em torno de 278 nm (λ máximo do DCF). Dentre elas, a banda da amostra de água pós-clorada foi menos intensa, indicando uma diminuição na concentração de DCF. Não foram identificadas outras bandas no espectro UV/Vis. Sendo assim, esse tipo de análise não trouxe informações a respeito da formação de subprodutos.

Não foi possível fazer a varredura das amostras pós-cloradas com a adição do agente desclorante (ácido ascórbico ou tiosulfato de sódio) devido ao fato deles absorverem próximo da região de absorção do DCF, 278 nm, conforme apresentado na Figura 4.10. Portanto, a varredura no UV/Vis das amostras pré-oxidadas e pós-cloradas foram feitas sem a presença de agente desclorante.

Figura 4.9 – Espectros sobrepostos de varredura na região do UV/Vis (200-800 nm) da água filtrada em areia e da água após o término da pós-cloração de aproximadamente 30 min (sem desclorante) (Série III).

Figura 4.10 – Espectros sobrepostos de varredura na região do UV/Vis das amostras de água deionizada com ácido ascórbico e tiosulfato de sódio.

A redução do DCF em $\mu\text{g L}^{-1}$ nas etapas envolvidas no tratamento em ciclo completo pode ser melhor visualizada na Figura 4.11.

Figura 4.11 – Redução das concentrações de DCF nas etapas de tratamento em ciclo completo (Série III).

Conforme apresentado na Figura 4.11, verifica-se que as etapas de coagulação, floculação e filtração em areia não removeram o DCF. Os resultados obtidos nesse estudo

estão de acordo com os obtidos em Vieno et al. (2006), no qual o DCF praticamente não foi removido por tratamento de água em ciclo completo sem pré-oxidação. De acordo com Ternes et al. (2002) a ineficiência da filtração em areia está relacionada com a característica hidrofílica do fármaco que dificulta o processo de adsorção na superfície de areia.

Na etapa de pós-cloração verifica-se que houve redução da concentração de DCF, sendo mais significativa no tempo de contato de 24 h, quando se atingiu 97% de redução. O cloro demonstrou ser um oxidante efetivo na redução do DCF, porém como a concentração de COD permaneceu praticamente a mesma da água de estudo isso indica que o DCF não foi mineralizado e sim ocorreu a formação de subprodutos, os quais poderão ser mais tóxicos que o próprio fármaco.

4.3.2.4 Ensaios de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia, adsorção em carvão ativado granular e pós-cloração (Série IV)

Algumas características da água de estudo usada neste ensaio foram: pH igual a 6,8; alcalinidade igual a 23,0 mg L⁻¹; temperatura da água entre 21 e 22 °C; concentração de DCF determinada por HPLC-DAD igual a 1024,20 µg L⁻¹; COD igual a 22,43 mg L⁻¹; absorvância em 254 nm igual a 0,031 e absorvância em 278 nm igual a 0,045. As medidas de absorvância foram feitas em amostras de água de estudo filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45 µm. A pós-cloração foi feita em 250 mL de água filtrada em CAG com 5 mg Cl₂ L⁻¹, acondicionado à temperatura de 21 °C em frascos de vidro âmbar tampados sob agitação, em mesa agitadora (100 rpm). A reação do cloro após 30 min e 24 h foi cessada com a adição de tiosulfato de sódio.

Alguns parâmetros analisados nas etapas de tratamento em ciclo completo com adsorção em CAG se encontram nas Tabelas 4.8 e 4.9, respectivamente.

Analisando os resultados apresentados na Tabela 4.8, pode-se verificar que a concentração média de DCF quantificada na água filtrada em areia foi igual a 1033,80 µg L⁻¹ e a de COD foi igual a 21,15 mg L⁻¹. Como a concentração de DCF encontrada na água de estudo foi igual a 1024,2 µg L⁻¹ e de COD foi igual a 22,43 mg L⁻¹, pode-se considerar novamente que não houve remoção de DCF e praticamente não ocorreu remoção de COD.

Tabela 4.8 – Resultados obtidos na coagulação, sedimentação e filtração em areia (Série IV).

Água decantada				Água filtrada em areia				
Vs = 1,0 cm min ⁻¹								
Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L ⁻¹)	Abs 254 nm	Abs 278 nm	pH	DCF (µg L ⁻¹)
12	1,55	< 1	0,45					
10	1,12	< 1	0,32					
10	1,22	< 1	0,27	21,15	0,026	0,043	7,10	1033,8
11	1,58	< 1	0,30					
11	1,63	< 1	0,28					
10	1,18	< 1	0,34					

Tabela 4.9 – Resultados dos parâmetros obtidos das amostras de água após a passagem pelo filtro de carvão ativado granular (Série IV).

Água após adsorção em carvão ativado granular						
Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L ⁻¹)	Abs 254nm	Abs 278 nm	pH	DCF (µg L ⁻¹)
< 1	0,40					
< 1	0,41					
< 1	0,43	1,26	0,000	0,000	9,30	ND
< 1	0,45					
< 1	0,42					
< 1	0,41					

ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a 2 µg L⁻¹)

Nas Figuras 4.12 e 4.12a são apresentados os cromatogramas sobrepostos obtidos nas etapas de tratamento de água em ciclo completo com adsorção em CAG.

Figura 4.12 – Cromatogramas sobrepostos: (a) água de estudo; (b) água após coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia; (c) água após adsorção em carvão ativado granular; (d) água após o término de 30 min e (e) de 24 h da pós-cloração da água após a adsorção em carvão ativado granular (Série IV).

Figura 4.12a – Cromatogramas sobrepostos **ampliados** da Figura 4.12: (a) água de estudo; (b) água após coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia; (c) água após adsorção em carvão ativado granular; (d) água após o término de 30 min e (e) de 24 h da pós-cloração da água após adsorção em carvão ativado granular (Série IV).

O CAG foi qualitativamente eficiente na remoção de DCF, como pode ser verificado através da Tabela 4.9, na qual se pode ver que a absorbância em 278 nm (λ máximo do DCF) foi igual a zero, e pela análise das Figuras 4.12 e 4.12a, nas quais se verifica a ausência de pico no tempo de retenção do DCF (não detectado). Diante do fato do LIQ do método ser igual a $3 \mu\text{g L}^{-1}$ pode-se assegurar que a remoção de DCF em CAG foi maior ou igual a 99,7%.

Na Tabela 4.10 são apresentados os resultados dos parâmetros analisados e na Figura 4.13 os cromatogramas das amostras de água após o término de 30 min e 24 h de pós-cloração das amostras de água após adsorção em CAG.

Verifica-se pelos resultados apresentados na Tabela 4.10 e Figura 4.13 que não foi detectado DCF nas amostras de água após o término de 30 min e 24 h da pós-cloração da água após adsorção em CAG. Os picos que apareceram nos cromatogramas antes do tempo de retenção do DCF possivelmente são provenientes do agente desclorante e solvente.

Tabela 4.10 – Resultados obtidos após o término da pós-cloração de 30 min e 24 h da amostra de água após adsorção em CAG (Série IV).

Tempo de contato (h)	Água pós-clorada (n = 2)						
	Residual de cloro (mg L^{-1})	Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L^{-1})	DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	CHCl_3^* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	pH final
0,5	4,40	< 1	0,40	1,00	ND	ND	9,5
24	4,00	< 1	0,42	0,98	ND	< LIQ	9,6

ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e dos THM igual a $1 \mu\text{g L}^{-1}$)

*Clorofórmio; LIQ: Limite inferior de quantificação dos THM igual a $10 \mu\text{g L}^{-1}$; n: número de amostras

Os cromatogramas de THM obtidos na etapa de pós-cloração da água filtrada em CAG estão apresentados nos Apêndices B.3, B.3.1, B.4 e B.4.1. Dentre os THM analisados na etapa de pós-cloração de 24 h foi apenas detectado um pequeno pico no tempo de retenção do clorofórmio, abaixo do limite de quantificação ($< 10 \mu\text{g L}^{-1}$), o qual pode ser desconsiderado, devido a relação sinal/ruído.

Figura 4.13 - Cromatogramas sobrepostos: (a) água após a adsorção em carvão ativado granular; (b) água após o término da pós-cloração de 30 min e (c) de 24 h (série IV).

4.3.3 Ensaios com a pré-oxidação

4.3.3.1 Ensaios de pré-oxidação com o cloro e com o dióxido de cloro para selecionar as dosagens e tempos de contato (Série V, Va e Vb)

Algumas características da água de estudo, usada nestes ensaios, foram: pH da água de estudo igual a 7,50; temperatura da água de estudo entre 21 – 22 °C; cor aparente igual a 400 uH; cor verdadeira igual a 20 uH; turbidez igual a 70 uT; COD igual a 24,60 mg L⁻¹ e alcalinidade da água de estudo 22,7 mg L⁻¹.

Série V Ensaios de pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro para verificar o consumo dos oxidantes

Para verificar o consumo dos oxidantes, foram variados o tempo de contato e as dosagens dos oxidantes. Os tempos de contatos foram iguais a 10, 30, 60, 90 e 120 min. As

dosagens de cloro foram na faixa de 0,50 a 10,00 mg Cl₂ L⁻¹ e as dosagens de dióxido de cloro na faixa de 0,25 a 2,00 mg ClO₂ L⁻¹.

Os ensaios foram feitos em jarreste e o gradiente de velocidade foi mantido em torno de 100 s⁻¹. Os parâmetros de controle foram: pH, residual de cloro livre [presente nas formas do ácido hipocloroso (HOCl) ou do íon hipoclorito (OCl⁻)], residual de dióxido de cloro livre e de clorito. Os valores de consumo dos oxidantes foram obtidos por meio do cálculo da diferença entre a concentração aplicada e a concentração de residual de oxidante. Na Tabela 4.11 são apresentados os resultados dos ensaios de pré-oxidação com a água de estudo fortificada com 1 mg L⁻¹ de DCF para as diferentes dosagens de cloro e tempos de contato. Na Tabela 4.12 constam os resultados do ensaio feito com água deionizada para verificar a perda por evaporação dos oxidantes.

Observando-se a Tabela 4.11 verifica-se que para a dosagem de 0,5 mg L⁻¹ de cloro com tempos de contato de 30, 60, 90 e 120 min e para as dosagens de 0,75 e 1,00 mg L⁻¹ de cloro com 90 e 120 min a concentração cloro residual livre resultou igual a zero. Observa-se também que as dosagens de 0,75 e 1,00 mg L⁻¹ de cloro no tempo de contato de 60 min forneceu um residual de cloro livre menor que 0,10 mg L⁻¹.

Tabela 4.11 - Cloro residual livre e consumo de cloro na pré-oxidação com diferentes dosagens de cloro e tempos de contato (Série V).

Parâmetros	Tempo de contato (min)	Dosagens de Cl ₂ (mg L ⁻¹)						
		0,50	0,75	1,00	2,50	5,00	7,50	10,00
Residual de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	10	0,10	0,23	0,25	1,71	2,27	4,54	6,44
Consumo de Cl ₂ (mg L ⁻¹)		0,40	0,52	0,75	0,79	2,73	2,96	3,56
Residual de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	30	0,00	0,10	0,22	1,43	2,08	4,49	6,30
Consumo de Cl ₂ (mg L ⁻¹)		0,50	0,65	0,78	1,07	2,92	3,01	3,70
Residual de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	60	0,00	0,02	0,06	1,16	1,85	3,94	5,97
Consumo de Cl ₂ (mg L ⁻¹)		0,50	0,73	0,94	1,34	3,15	3,56	4,03
Residual de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	90	0,00	0,00	0,00	0,97	1,53	3,61	5,60
Consumo de Cl ₂ (mg L ⁻¹)		0,50	0,75	1,00	1,53	3,47	3,89	4,40
Residual de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	120	0,00	0,00	0,00	0,82	1,30	3,43	5,46
Consumo de Cl ₂ (mg L ⁻¹)		0,50	0,75	1,00	1,68	3,70	4,07	4,54

Tabela 4.12- Residual e consumo de cloro em relação às dosagens de 0,50 e 10 mg L⁻¹ de cloro e diferentes tempos de contato na água deionizada (Série V).

Água deionizada			
Tempo de contato (min)	Dosagem de cloro (mg L ⁻¹)	Residual de cloro (mg L ⁻¹)	Consumo de cloro (mg L ⁻¹)
10	0,50	0,50	0,00
	10,00	6,75	3,25
30	0,50	0,49	0,01
	10,00	6,67	3,33
60	0,50	0,47	0,03
	10,00	6,76	3,24
90	0,50	0,41	0,09
	10,00	6,71	3,29
120	0,50	0,39	0,11
	10,00	6,70	3,30

Analisando-se os resultados apresentados na Tabela 4.12 referentes à água deionizada sem DCF, verifica-se que houve perda por evaporação do cloro durante os ensaios em aproximadamente 20 a 30%.

Os gráficos das Figuras 4.14 e 4.15 foram construídos com base nos resultados da Tabela 4.11, e apresentam os consumos e os residuais de cloro livre em função das dosagens aplicadas e dos tempos de contato.

Figura 4.14 – Consumo de cloro em função das dosagens aplicadas e diferentes tempos de contato (Série V).

Pode ser observado nas Figuras 4.14 e 4.15 que o consumo de cloro aumentou com o tempo de contato e a concentração de cloro residual livre diminuiu, respectivamente. Também é possível verificar que o cloro residual livre não se estabilizou, ou seja, a demanda oxidativa não foi atingida. O elevado consumo resultante da pré-oxidação desta água pode ser explicado principalmente pela alta concentração de DCF. Neste caso, seria necessário utilizar uma dosagem de oxidante e/ou tempo de contato maior que os estudados (Tabela 4.11) para uma oxidação total do DCF presente na água de estudo.

O critério para a escolha das dosagens de cloro foi o residual do oxidante em torno de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ após a pré-oxidação, para que o residual do oxidante não interferisse na adsorção do DCF no CAG. As dosagens de cloro e os respectivos tempos de contato definidos para verificar a remoção de DCF e COD foram: $0,50 \text{ mg L}^{-1}$ e 10 min; $0,75 \text{ mg L}^{-1}$ e 30 min e $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ e 60 min.

Figura 4.15 – Residual de cloro livre em função das dosagens aplicadas e diferentes tempos de contato (Série V).

Na Tabela 4.13 são apresentados os resultados de residual, consumo de dióxido de cloro e clorito para as diferentes dosagens de dióxido de cloro e tempos de contato.

Tabela 4.13 – Residual e consumo de dióxido de cloro e de clorito na pré-oxidação com diferentes dosagens de dióxido de cloro e tempos de contato (Série V).

Parâmetros	Tempo de contato (min)	Dosagens de ClO_2 (mg L^{-1})				
		0,25	0,50	1,00	1,5	2,00
Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	10	0,08	0,15	0,29	0,49	0,68
Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})		0,17	0,35	0,71	1,01	1,32
Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	30	0,06	0,13	0,17	0,26	0,30
Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})		0,19	0,37	0,83	1,23	1,69
Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	60	0,06	0,13	0,15	0,21	0,21
Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})		0,19	0,37	0,85	1,29	1,79
Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	90	0,06	0,13	0,15	0,19	0,19
Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})		0,19	0,37	0,85	1,31	1,81
Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	120	0,06	0,13	0,15	0,19	0,19
Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})		0,19	0,37	0,85	1,31	1,81
Clorito (mg L^{-1})		0,13	0,19	0,57	0,70	0,85

Os gráficos das Figuras 4.16 e 4.17 foram construídos com base nos resultados da Tabela 4.13, que apresentam o consumo e o residual do pré-oxidante dióxido de cloro em função da dosagem aplicada e do tempo de contato, respectivamente.

Figura 4.16 – Consumo de dióxido de cloro em função das dosagens aplicadas para os diferentes tempos de contato (Série V).

Figura 4.17 – Residual de dióxido de cloro em função das dosagens aplicadas para os diferentes tempos de contato (Série V).

Nas Figuras 4.18 e 4.19 são apresentados os gráficos comparativos de consumo e residual de cloro e dióxido de cloro na pré-oxidação com a água de estudo.

Figura 4.18 - Comparação do consumo de cloro e dióxido de cloro na pré-oxidação (Série V).

Figura 4.19 - Comparação do residual de cloro e dióxido de cloro na pré-oxidação (Série V).

Por meio das Figuras 4.18 e 4.19 observa-se que o consumo de dióxido de cloro foi menor em relação ao do cloro e a concentração de residual de dióxido de cloro foi maior. Diante desses resultados verifica-se que o dióxido de cloro é um oxidante mais forte e mais eficiente que o cloro na oxidação dos compostos presentes na água de estudo.

A dosagem de dióxido de cloro normalmente utilizada nas ETA varia de 0,07 a 2,0 mg L⁻¹. Porém, sabe-se que quanto maior a dosagem de dióxido de cloro utilizada na oxidação, maior será a concentração de íons clorito e clorato formada. Geralmente em torno de 50 a 70% do dióxido de cloro aplicado se converte em íons clorito (USEPA, 1999), o que limita atualmente a dosagem desse oxidante em ETA no máximo de 1,4 mg L⁻¹.

Nos Estados Unidos, a USEPA (1999) recomenda que a dosagem de dióxido de cloro não exceda a 1,4 mg L⁻¹ e limita a concentração total combinada de dióxido de cloro, clorito e clorato em 1 mg L⁻¹. No Brasil, a portaria nº 518 de 2004 (BRASIL, 2004) foi revogada e recentemente entrou em vigência a portaria nº 2914 de dezembro de 2011 na qual o valor máximo de clorito na água tratada passou de 0,2 para 1,0 mg L⁻¹ (BRASIL, 2011).

Como a portaria nº 518 de 2004 estava em vigência durante este estudo, o critério de escolha da dosagem de dióxido de cloro para a pré-oxidação foi baseada na concentração de

íons clorito menor ou igual a $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ e no residual de dióxido de cloro em torno de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ para que não interferisse na adsorção do DCF nos sítios ativos do CAG.

Foi selecionada a dosagem de $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ de ClO_2 e os tempos de contato de 10, 30, 60, 90 e 120 min para verificar a eficiência do dióxido de cloro na remoção de DCF e COD.

Série Va Ensaio de pré-oxidação com cloro para verificar a remoção de diclofenaco e de carbono orgânico dissolvido

Nessa série de ensaios a presença do DCF na água simula uma água superficial contaminada, que provavelmente recebe efluente de esgoto. Diante disso, foi estudada a pré-oxidação.

A partir das dosagens dos oxidantes e tempos de contato selecionadas na série V partiu-se para os ensaios de pré-oxidação com cloro em jarreste para verificar a remoção de DCF e COD.

Na Tabela 4.14 são apresentados os residuais de cloro livre após a pré-oxidação feita com água deionizada sem DCF e com a água de estudo com 1 mg L^{-1} de DCF. A concentração de DCF determinada na água de estudo usada neste ensaio foi igual a $941,83 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 4.14 – Consumo e residual de cloro em função das dosagens e tempos de contato selecionados para a água deionizada e a água de estudo (Série Va).

Tempo de contato (min)	Dosagem de Cl_2 (mg L^{-1})	Água deionizada		Água de estudo		pH
		Residual de Cl_2 (mg L^{-1})	Consumo de Cl_2 (mg L^{-1})	Residual de Cl_2 (mg L^{-1})	Consumo de Cl_2 (mg L^{-1})	
10	0,50	0,50	0,00	0,09	0,41	7,20
30	0,75	0,66	0,09	0,10	0,65	7,26
60	1,00	0,70	0,30	0,07	0,93	7,40

Por meio da Tabela 4.14 pode-se notar que houve perda por evaporação do cloro em torno de 30% após 60 min de reação. A concentração de residual de cloro livre na água de estudo foi praticamente à mesma para as três dosagens com seus respectivos tempo de contato, resultando em torno de $0,10 \text{ mg L}^{-1}$. Verifica-se também que à medida que aumentou a dosagem de cloro (hipoclorito de sódio) e o tempo de contato o pH também aumentou.

Com o intuito de selecionar uma dosagem de oxidante e tempo de contato para os próximos ensaios de tratamento em ciclo completo com a pré-oxidação, verificou-se a

eficiência dessas dosagens de cloro com seus respectivos tempos de contato na remoção do DCF e COD (Tabela 4.15).

Tabela 4.15 – Resultados obtidos na pré-oxidação com as dosagens de cloro e tempos de contato selecionados (Série Va).

Tempo de contato (min)	Dosagem de Cl_2 (mg L^{-1})	Cor verdadeira (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L^{-1})	DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção (%)
10	0,50	16	67,0	23,74	919,45	2,38
30	0,75	16	67,0	23,00	877,57	6,82
60	1,00	12	65,0	22,65	852,27	9,51

Para melhor visualização dos resultados, são apresentadas na Figura 4.20 as porcentagens de remoção de DCF em relação às dosagens de cloro e tempos de contato selecionados.

Figura 4.20 – Remoção de DCF na pré-oxidação com cloro (Série Va).

Analisando-se as Tabelas 4.14 e 4.15, verifica-se que o residual de cloro livre e os valores de COD resultaram praticamente iguais para as três dosagens estudadas. Na Figura 4.20 pode-se observar que a remoção de DCF aumentou com o aumento da dosagem de cloro e do tempo de contato. Diante desses resultados, foi adotado a dosagem de 1 mg L^{-1} de cloro e tempo de contato de 60 min para os próximos ensaios com a pré-oxidação.

Na Figura 4.21 são apresentados os espectros de varredura na região do UV-Vis (200 – 800 nm) da amostra de água de estudo com 1 mg L^{-1} de DCF, da amostra de água de estudo com DCF e sem DCF (Branco) após a pré-oxidação com 1 mg L^{-1} de cloro e tempo de contato

de aproximadamente 60 min. Todas as amostras foram medidas sem a adição de agente descolorante devido a interferência desses agentes na região de absorção do DCF.

Observa-se na Figura 4.21 que a amostra de água de estudo com DCF pré-oxidada com cloro absorveu em 278 nm e a banda foi levemente mais intensa. Isto pode ser devido à formação de subprodutos que absorvem na mesma região do DCF. Verifica-se também que na amostra do branco praticamente não ocorreu absorção na região do UV/Vis (200-800 nm).

Nas Figuras 4.22 e 4.22a são apresentados os cromatogramas sobrepostos obtidos por HPLC-DAD da amostra de água de estudo e das amostras de água pré-oxidadas com as dosagens de cloro e os tempos de contato selecionados.

Por meio das Figuras 4.22 e 4.22a verifica-se a redução dos picos do DCF à medida que houve aumento da dosagem de cloro e do tempo de contato. Também se verifica que ocorreu a formação de um pico em torno de 6,2 min, o qual foi maior para a dosagem de 1,00 mg L⁻¹ de cloro e tempo de contato de 60 min. Esse pico é um indicativo da formação de subprodutos da oxidação do DCF com cloro.

Figura 4.21 - Espectros sobrepostos de varredura na região do UV/Vis (200-800 nm): (a) amostra de água de estudo, (b) água de estudo sem diclofenaco pré-oxidada com 1 mg L⁻¹ de cloro e tempo de contato de aproximadamente 60 min e (c) água de estudo com 1 mg L⁻¹ de diclofenaco pré-oxidada com 1 mg L⁻¹ de cloro e tempo de contato de aproximadamente 60 min (Série Va).

Figura 4.22 – Cromatogramas sobrepostos obtidos da amostra de água de estudo e das amostras de água pré-oxidadas com cloro em função das dosagens e dos tempos de contato selecionados (Série Va).

Figura 4.22a – Cromatogramas sobrepostos **ampliados** da Figura 4.22.

Série Vb Ensaio de pré-oxidação com dióxido de cloro para verificar a remoção de diclofenaco e carbono orgânico dissolvido

As condições estabelecidas nos ensaios com dióxido de cloro nesta série foram: dosagem de pré-oxidante igual a $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ e tempos de contato de 10, 30, 60, 90 e 120 min.

A reação do dióxido de cloro foi cessada com a adição de tiosulfato de sódio.

Na Tabela 4.16 são apresentados os residuais de dióxido de cloro livre após a pré-oxidação feita com água deionizada sem DCF e com a água de estudo com 1 mg L^{-1} de DCF.

A concentração de DCF determinada pelo método validado por HPLC-DAD na água de estudo usada neste ensaio foi igual a $941,83 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 4.16 – Residual e consumo de dióxido de cloro em função da dosagem e tempos de contato selecionados (Série Vb).

Tempo de contato (min)	Dosagem de ClO_2 (mg L^{-1})	Água deionizada		Água de estudo		pH final
		Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})	Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})	
10	0,25	0,20	0,05	0,08	0,17	7,55
30	0,25	0,13	0,12	0,06	0,19	7,42
60	0,25	0,10	0,16	0,06	0,19	7,37
90	0,25	0,06	0,19	0,06	0,19	7,35
120	0,25	0,04	0,21	0,06	0,19	7,30

Com os resultados apresentados na Tabela 4.16, observa-se que houve perda por evaporação do oxidante em torno de 20% após 10 min de reação. A concentração de residual de dióxido de cloro livre na água de estudo praticamente foi à mesma para as três dosagens com seus respectivos tempo de contato, resultando abaixo de $0,10 \text{ mg L}^{-1}$.

Portanto, para selecionar a dosagem de oxidante e tempo de contato para os próximos ensaios de pré-oxidação com a água de estudo, verificou-se a eficiência do dióxido de cloro com seus respectivos tempos de contato na remoção do DCF e COD, conforme apresentado na Tabela 4.17.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 4.17 pode-se concluir que 56% do dióxido de cloro aplicado na pré-oxidação foi transformado em íons clorito e cerca de 30% do DCF foi oxidado pela dosagem de dióxido de cloro aplicada.

Tabela 4.17 – Resultados obtidos na pré-oxidação com dióxido de cloro em função da dosagem e tempos de contato selecionados (Série Vb).

Tempo de contato (min)	Dosagem de ClO_2 (mg L^{-1})	Água filtrada em membrana 0,45 μm					
		Clorito (mg L^{-1})	Cor verdadeira (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L^{-1})	DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção (%)
10	0,25	0,14	19	65,2	22,38	687,18	27,04
30	0,25	0,14	18	62,5	21,92	696,12	26,08
60	0,25	0,14	18	62,3	21,96	694,63	26,25
90	0,25	0,14	18	62,3	22,30	686,25	27,14
120	0,25	0,14	18	62,3	21,51	688,30	26,92

Para melhor visualização dos resultados, são apresentadas na Figura 4.23 as porcentagens de remoção de DCF em relação à dosagem de dióxido de cloro e os tempos de contato selecionados.

Figura 4.23 – Remoção de diclofenaco em porcentagem na pré-oxidação com dióxido de cloro (Série Vb).

Observa-se pelos resultados obtidos (Tabela 4.17) que não houve diferença entre os valores de concentração de COD e de DCF em função do tempo de contato. Assim, foi selecionado para a realização dos demais ensaios com a pré-oxidação a dosagem de 0,25 mg L^{-1} de dióxido de cloro e tempo de contato de 30 minutos, o qual forneceu um residual de 0,06 mg L^{-1} e consumo de 0,19 mg L^{-1} de dióxido de cloro.

Na Figura 4.24 são apresentados os espectros sobrepostos de varredura no UV/Vis da amostra de água de estudo com 1 mg L^{-1} de DCF, da amostra de água de estudo com 1 mg L^{-1} de DCF e sem DCF (branco) pré-oxidadas com 0,25 mg L^{-1} de dióxido de cloro por

aproximadamente 30 min. As varreduras na região do UV/Vis das amostras pré-oxidadas foram feitas sem a adição de agente desclorante devido a interferência desses agentes na região de absorção do DCF. Assim, as medidas foram feitas em tempos de aproximadamente 30 ± 5 min.

Pode ser visto na Figura 4.24 que as bandas de absorção foram maiores nas amostras pré-oxidadas com dióxido de cloro em relação à da água de estudo e a banda aumentou com o aumento da dosagem do oxidante. O comprimento de onda máximo das bandas ocorreu na mesma região do DCF, aproximadamente em 280 nm. O aumento da absorção provavelmente ocorreu devido à formação de subprodutos que absorvem na mesma região do DCF. Verifica-se também a ausência de banda de absorção da amostra de água de estudo sem DCF pré-oxidada com $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro por aproximadamente 30 min (Branco).

Figura 4.24 – Espectros sobrepostos de varredura na região do UV/Vis: (a) da água de estudo; (b) água de estudo sem diclofenaco pré-oxidada com $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro e tempo de contato de aproximadamente 30 min (Branco); (c) e (d) água de estudo com 1 mg L^{-1} de diclofenaco pré-oxidadas com $0,25$ e 2 mg L^{-1} de dióxido de cloro e tempo de contato de aproximadamente 30 min, respectivamente (Série Vb).

Nas Figuras 4.25 e 4.25a são apresentados os cromatogramas sobrepostos obtidos pelo método validado por HPLC-DAD da amostra de água de estudo e das amostras de água pré-oxidadas com a dosagem de dióxido de cloro e os tempos de contato selecionados.

Analisando-se os cromatogramas apresentados nas Figuras 4.25 e 4.25a pode-se verificar que houve redução na área dos picos de DCF das amostras de água pré-oxidadas em relação ao pico da amostra de água de estudo. Também pode ser observado a presença de um pico em aproximadamente 4 min para as amostras pré-oxidadas, sendo maior para os tempos de contato acima de 30 min. Este provavelmente é um subproduto formado na oxidação do DCF com o dióxido de cloro. Os subprodutos da oxidação do DCF com dióxido de cloro foram identificados por LC-MS/MS e estão apresentados no Capítulo 5 desse trabalho.

Os resultados demonstraram que a remoção do DCF foi maior na pré-oxidação com dióxido de cloro do que com cloro.

Figura 4.25 – Cromatogramas sobrepostos da amostra de água de estudo e das amostras de água pré-oxidadas com $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro em função dos tempos de contato selecionados: 10, 30, 60, 90 e 120 min (Série Vb).

Figura 4.25a – Cromatogramas sobrepostos ampliados da água de estudo e das amostras de água pré-oxidadas com $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro em função dos tempos de contato selecionados (10, 30, 60, 90 e 120 min) (Série Vb).

4.3.3.2 Ensaio em ciclo completo com a pré-oxidação com cloro e adsorção em carvão ativado granular (Série VI)

Algumas características da água de estudo usada neste ensaio foram: pH igual a 6,90; alcalinidade igual a $22,5 \text{ mg L}^{-1}$; temperatura igual a 21°C ; cor aparente igual a 416 uH; turbidez igual a 71 uT; DCF igual a $1013,35 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$; COD igual a $24,30 \text{ mg L}^{-1}$; COD da água de estudo sem DCF foi igual a $5,92 \text{ mg L}^{-1}$; absorvância em 254 nm igual a 0,035 e absorvância em 278 nm igual a 0,042. As medidas de absorvância foram feitas em amostras de água de estudo filtradas em membrana de acetato de celulose de $0,45 \text{ }\mu\text{m}$.

Após a adição do pré-oxidante e do coagulante, o pH da água de estudo sofreu variações. Assim foi necessário a correção do mesmo com a adição de alcalinizante ($\text{NaOH } 0,2 \text{ mol L}^{-1}$) para a obtenção de pH 6,50 na coagulação.

Os resultados dos ensaios dessa série estão apresentados nas Tabelas 4.18 a 4.21 e nas Figuras 4.26 a 4.28.

Tabela 4.18 – Resultados obtidos nas etapas de pré-oxidação com cloro, coagulação e sedimentação (Série VI).

Pré-oxidação			Coagulação			Sedimentação	
Tempo de contato (min)	Dosagem de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	Residual de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	Sulfato de alumínio (mg L ⁻¹)	NaOH (mg L ⁻¹)	pH	Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)
60	1,00	0,10	90	13,60	6,50	23	3,80
		0,10			6,50	26	4,00
		0,10			6,56	24	3,87
		0,10			6,50	26	4,00
		0,10			6,55	25	3,85
		0,10			6,50	22	3,80

Pode-se verificar através dos resultados apresentados na Tabela 4.18 que a remoção de cor aparente com a pré-oxidação foi menor em relação aos ensaios feitos sem a pré-oxidação (Tabelas 4.6 e 4.8). Isto pode ter ocorrido devido a algumas mudanças nas características da água de estudo e/ou pela formação de subprodutos que absorvem no mesmo comprimento de onda das medidas de cor (455 nm).

As medidas de pH e de absorbância foram feitas nas amostras de água sem a adição de agente descolorante.

Tabela 4.19 – Resultados obtidos das amostras de água após a pré-oxidação com cloro, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia (Série VI).

Água filtrada em areia							
Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	DCF (µg L ⁻¹)	Clorofórmio (µg L ⁻¹)	COD (mg L ⁻¹)	Abs 254 nm	Abs 278 nm	pH
2	0,40	859,60	10,63	22,76	0,030	0,037	7,30
2	0,40				0,032	0,037	7,30
2	0,39				0,031	0,037	7,30
2	0,38				0,030	0,037	7,30
3	0,41				0,030	0,037	7,30
2	0,41				0,030	0,037	7,30

Comparando-se os valores de absorbância em 254 e 278 nm e de COD da água filtrada em areia (Tabela 4.19) com os da água de estudo, verifica-se que ocorreu uma pequena

diferença entre eles, o que comprova a ineficiência dessas etapas de tratamento de água na remoção das moléculas menores de SHA e do fármaco em estudo.

Considerando que a concentração determinada de DCF na água de estudo foi igual a $1013,35 \mu\text{g L}^{-1}$, a remoção do DCF na água após a pré-oxidação com cloro, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia foi baixa, em torno de 15 %, conforme os dados apresentado na Tabela 4.19. Comparando esse resultado com o obtido na série Va (Tabela 4.15) para a mesma dosagem de cloro e tempo de contato, porém sem a coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia, a remoção de DCF foi cerca de 10%, ou seja, 5% menor.

Na Figura 4.26 pode-se verificar que a área do pico do DCF da água pré-oxidada com cloro é menor em comparação com o da água de estudo. Também observa-se a formação de possíveis subprodutos provenientes da pré-oxidação do DCF com cloro, conforme os picos presentes no cromatograma entre os tempos de retenção 5,5 e 6,5 min.

Dentre os THM analisados nas amostras de água após a pré-oxidação com cloro, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia, foi quantificado apenas o clorofórmio com uma concentração média igual a $10,6 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabela 4.19). Este valor se encontra abaixo do máximo permitido pela portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011) que é de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$. Possivelmente também houve a formação de bromodiclorometano e dibromoclorometano, esses estiveram abaixo do LIQ ($< 10 \mu\text{g L}^{-1}$). Os cromatogramas dos THM obtidos nesta etapa se encontram nos Apêndices B.7 e B.7.1.

A formação do clorofórmio provavelmente foi devido à presença de SHA na água de estudo, as quais são conhecidas como precursoras dos subprodutos halogenados formados durante a cloração da água.

Figura 4.26 – Cromatogramas sobrepostos: (a) água de estudo e (b) água após a pré-oxidação com cloro, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia (Série VI).

Tabela 4.20 – Resultados obtidos das amostras de água após adsorção em carvão ativado granular (Série VI).

Água após adsorção em carvão ativado granular						
Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	COD (mg L^{-1})	pH	Abs 254 nm	Abs 278 nm
< 1	0,43				0,00	0,00
< 1	0,40				0,00	0,00
< 1	0,36	ND	1,30	9,35	0,00	0,00
< 1	0,38				0,00	0,00
< 1	0,38				0,00	0,00
< 1	0,38				0,00	0,00

ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$)

Tabela 4.21 – Resultados obtidos após o término de 30 min e 24 h da pós-cloração das amostras de água após adsorção em carvão ativado granular (Série VI).

Pós-cloração (n = 2)									
Tempo de contato (h)	Residual de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L ⁻¹)	DCF (µg L ⁻¹)	CHCl ₃ * (µg L ⁻¹)	pH	Abs 254 nm	Abs 278 nm
0,5	4,95	< 1	0,40	1,30	ND	< LIQ	9,00	0,008	0,002
24	4,90	< 1	0,41	1,13	ND	< LIQ	9,10	0,004	0,002

*Clorofórmio; LIQ: limite inferior de quantificação dos THM igual a 10 µg L⁻¹

ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a 2 µg L⁻¹); n: número de amostras

Figura 4.27 – Cromatogramas sobrepostos da água: (a) após a pré-oxidação com cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e adsorção em carvão ativado granular; (b) após o término de 30 min de pós-cloração e (c) de 24 h de pós-cloração (Série VI).

Em relação aos THM estudados nas amostras de água após adsorção em CAG e pós-cloração (Tabela 4.21) foi detectado apenas um pequeno pico no tempo de retenção do clorofórmio (< 10 µg L⁻¹). Os cromatogramas de THM obtidos na etapa de pós-cloração com cloro da água após adsorção em CAG estão apresentados nos Apêndices B.8 e B.9.

Com os dados apresentados na Tabela 4.20 e com os cromatogramas apresentados na Figura 4.27 verifica-se que não foi detectado DCF na água após a adsorção em CAG,

demostrando que o CAG foi qualitativamente efetivo na remoção desse fármaco. Considerando que o LIQ do DCF é igual a $3 \mu\text{g L}^{-1}$ pode-se afirmar que ocorreu no mínimo 99,7% de remoção de DCF pela adsorção em CAG. Outro indicativo da ausência de DCF na água após a adsorção em CAG foi a absorbância zero em 278 nm (comprimento de onda de absorção máxima do DCF). O CAG também foi efetivo na remoção de COD.

Também não foi detectado DCF nas amostras de água pós-cloradas (água após adsorção em CAG). A presença de picos diferentes nas amostras após a cloração é referente ao agente desclorante adicionado para cessar a reação do cloro (Figura 4.27).

Os valores de pH das amostras de água após adsorção em CAG (Tabela 4.20) e da água após o término da pós-cloração de 30 min e 24 h (Tabela 4.21) resultaram dentro do intervalo recomendado pela portaria nº 2914/2011 (BRASIL, 2011) para água no sistema de distribuição, onde o pH deve ser mantido entre 6,0 e 9,5.

De acordo com os resultados obtidos em Martinez et al. (2010) há existência de grupamentos químicos básicos ligados à estrutura do carvão ativado de babaçu e isto está relacionado com a elevação do pH da água após a adsorção em CAG, no qual o pH foi em torno de 9,50. Segundo Jaguaribe et al. (2005), a natureza ácida ou básica de um carvão ativado depende da preparação e dos grupos químicos ligados à sua superfície, bem como o tipo de tratamento a que o carvão foi submetido.

Figura 4.28 - Espectros de varredura na região do UV/Vis: (a) água de estudo; (b) após a pré-oxidação com cloro, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia; (c) após adsorção em carvão ativado granular (Série VI).

Na Figura 4.28 pode-se observar que as bandas de absorção da água de estudo e da água filtrada em areia tiveram intensidades próximas e no mesmo comprimento de onda (~280 nm). Já para a água após a adsorção em CAG não houve a presença de bandas, indicando a ausência de compostos que absorvem nesses comprimentos de onda, ou seja, remoção completa de DCF.

4.3.3.3 Ensaios em ciclo completo com a pré-oxidação com dióxido de cloro e adsorção em carvão ativado granular (Série VII)

Algumas características da água de estudo usada neste ensaio foram: pH igual a 6,9; alcalinidade igual a 22,5 mg L⁻¹; temperatura igual a 21 °C; cor aparente igual a 416 uH; turbidez igual a 71 uT; DCF igual a 1013,35 µg L⁻¹; COD igual a 24,30 mg L⁻¹; absorvância em 254 nm igual a 0,035 e absorvância em 278 nm igual a 0,042. As medidas de absorvância foram feitas em amostras de água de estudo filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45 µm. As medidas de pH e de absorvância nas amostras de água pós-clorada foram feitas sem a adição de agente desclorante.

Após a adição do pré-oxidante e do coagulante ocorreu variações no pH da água de estudo, sendo necessária a correção do mesmo com a adição de alcalinizante (NaOH 0,2 mol L⁻¹) para otimizar o pH em 6,50. Os resultados dos ensaios de pré-oxidação com o dióxido de cloro e ciclo completo com adsorção em CAG estão apresentados nas Tabelas 4.22 a 4.25 e nas Figuras 4.29 a 4.31.

Tabela 4.22 – Resultados obtidos na pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação e sedimentação (Série VII).

Pré-oxidação			Coagulação			Sedimentação	
Tempo de contato (min)	Dosagem de ClO ₂ (mg L ⁻¹)	Residual de ClO ₂ (mg L ⁻¹)	Sulfato de alumínio (mg L ⁻¹)	NaOH (mg L ⁻¹)	pH	Cor Aparente (uH)	Turbidez (uT)
30	0,25	0,057	90	12,80	6,58	35	5,31
		0,057			6,50	35	4,97
		0,057			6,56	31	3,90
		0,057			6,60	38	4,90
		0,057			6,50	38	5,80
		0,057			6,60	37	5,80

Tabela 4.23 – Resultados obtidos da água após a pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia (Série VII).

Água filtrada em areia								
Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	COD (mg L^{-1})	CHCl_3^* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Abs 254 nm	Abs 278 nm	pH	Clorito (mg L^{-1})
2	0,33	757,79	22,86	< LIQ	0,030	0,043	7,10	0,10
2	0,36				0,031	0,044	7,10	0,10
2	0,36				0,032	0,045	7,10	0,10
2	0,40				0,033	0,046	7,10	0,10
2	0,34				0,034	0,047	7,10	0,10
2	0,35				0,035	0,048	7,10	0,10
2	0,35				0,035	0,048	7,10	0,10

*Clorofórmio; LIQ: limite inferior de quantificação dos THM igual a $10 \mu\text{g L}^{-1}$

Tabela 4.24 – Resultados obtidos da água após a pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e adsorção em carvão ativado granular (Série VII).

Água após adsorção em carvão ativado granular							
Cor aparente (uH)	Turbidez (uT)	DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	COD (mg L^{-1})	pH	Abs 254 nm	Abs 278 nm	Clorito (mg L^{-1})
< 1	0,33	ND	1,30	9,20	0,00	0,00	< LQ
< 1	0,34			9,25	0,00	0,00	
< 1	0,38			9,21	0,00	0,00	
< 1	0,35			9,24	0,00	0,00	
< 1	0,31			9,27	0,00	0,00	
< 1	0,35			9,30	0,00	0,00	
< 1	0,35			9,30	0,00	0,00	

LQ: limite de quantificação de clorito igual a $0,03 \text{ mg L}^{-1}$

ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$)

Por meio da Tabela 4.22 observa-se que os valores de cor aparente e turbidez da água filtrada em areia precedida da pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação e sedimentação foram um pouco maiores em relação aos ensaios feitos com a pré-oxidação com cloro (Tabela 4.18). Os maiores valores de cor aparente medidos podem ser devido a algumas mudanças nas características da água de estudo e/ou pela formação de subprodutos que absorvem no mesmo comprimento de onda das medidas de cor (455 nm).

Tabela 4.25 – Resultados obtidos do ensaio de pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia, adsorção em carvão ativado granular e pós-cloração de 0,5 e 24 h (Série VII).

Pós-cloração (n = 2)									
Tempo de contato (h)	Residual de Cl ₂ (mg L ⁻¹)	Cor Aparente (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L ⁻¹)	DCF (µg L ⁻¹)	CHCl ₃ * (µg L ⁻¹)	pH	Abs 254 e 278 nm	Clorito (mg L ⁻¹)
0,5	4,95	< 1	0,33	1,20	ND	< LIQ	9,20	0,00	< LQ
24	4,89	< 1	0,41	1,20	ND	< LIQ	9,20	0,00	< LQ

*Clorofórmio; LIQ: limite inferior de quantificação dos THM igual a 10 µg L⁻¹

LQ: limite de quantificação de clorito igual a 0,03 mg L⁻¹; n: número de amostras

ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a 2 µg L⁻¹)

Os pH das amostras de água após adsorção em CAG (Tabela 4.24) e da água após o término da pós-cloração de 30 min e 24 h (Tabela 4.25) resultaram dentro do intervalo recomendado pela portaria nº 2914 de 2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011) para água no sistema de distribuição, onde o pH deve ser mantido entre 6,0 e 9,5.

Comparando-se os valores de absorbância em 254 nm e de COD da água filtrada em areia (Tabela 4.23) com os da água de estudo verifica-se que ocorreu pequena diferença entre eles, comprovando a ineficiência dessas etapas de tratamento de água na remoção do fármaco em estudo. Os valores de absorbância em 278 nm foram relativamente maiores que da água de estudo provavelmente devido à formação de subprodutos da oxidação que absorvem no mesmo comprimento de onda do DCF.

Verifica-se pelos dados da Tabela 4.23 que a concentração de clorito determinada foi abaixo do limite estabelecido pela portaria nº 2914 de 2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), que é de 1 mg L⁻¹. Diante desse resultado, pode-se concluir que a dosagem de dióxido de cloro aplicada foi transformada em aproximadamente 40 % de clorito.

Como a concentração determinada de DCF na água de estudo foi igual a 1013,3 µg L⁻¹ e na água filtrada em areia foi igual a 757,79 µg L⁻¹, considera-se que a remoção do DCF na água após a pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia foi em torno de 25%, conforme apresentado na Tabela 4.23. Essa porcentagem de remoção foi próxima da obtida na Tabela 4.17 da série Vb (~ 27%) para a mesma dosagem de dióxido de cloro (0,25 mg L⁻¹) e tempo de contato (30 min).

No entanto, para se obter uma remoção eficiente do DCF na pré-oxidação seria necessário utilizar uma dosagem de dióxido de cloro mais elevada e um tempo de contato

maior, porém deve-se tomar o cuidado para não ultrapassar os limites de residual de dióxido de cloro e de clorito estabelecidos pelos órgãos reguladores.

Não foi quantificado THM nas amostras de água pré-oxidadas com dióxido cloro (Tabelas 4.23 e 4.25). Apenas houve a presença de um pequeno pico no tempo de retenção do clorofórmio (abaixo do LIQ) que pode ser proveniente de contaminação do solvente. Os cromatogramas dos THM obtidos nesta série se encontram nos Apêndices B.10, B.10.1, B.11 e B.12. Como o dióxido de cloro não forma ácido hipocloroso e cloro gasoso, quando oxida a MOD não forma subprodutos bromados e clorados (ALAM et al., 2008).

Na Figura 4.29 pode-se verificar que a área do pico do DCF da água pré-oxidada com dióxido de cloro foi menor em relação da água de estudo. No entanto, observa-se a presença de um pico próximo ao tempo de retenção de 4 min, indicando a presença de um subproduto formado na oxidação do DCF com dióxido de cloro, qual foi identificado no Capítulo 5 deste trabalho.

Como o CAG foi bastante eficiente na remoção de DCF ($< LD$) e clorito ($< LQ$) (Tabela 4.24) esses compostos não foram quantificados na pós-cloração (Tabela 4.25 e Figura 4.30). O CAG também foi efetivo na remoção de COD.

Figura 4.29 – Cromatogramas sobrepostos: (a) água de estudo e (b) água após a pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia (Série VII).

Figura 4.30 – Cromatogramas sobrepostos: (a) água após a pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e adsorção em carvão ativado granular; (b) água após o término de 30 min e (c) 24 h da pós-cloração da água após adsorção em carvão ativado granular (Série VII).

Figura 4.31 – Espectros de varredura na região do UV/Vis: (a) água de estudo; (b) água após as etapas de pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia; (c) água após adsorção em carvão ativado granular (Série VII).

Na Figura 4.31 pode ser observado que as bandas de absorção da água de estudo e da água filtrada em areia tiveram de intensidades próximas e no mesmo comprimento de onda (280 nm). Já na água após a adsorção em CAG não houve a presença de bandas, indicando a ausência de compostos que absorvem nesses comprimentos de onda e a remoção completa de DCF.

4.3.4 Amostras de controle de qualidade

Para o grupo de amostras das séries IIa, IIb, III e IV foram analisadas no total nove amostras de CQ (três amostras para cada nível de concentração) na mesma corrida cromatográfica. Esses CQ estiveram dentro dos intervalos esperados, isto é, com exatidão aceitável de $\pm 15\%$ e precisão como desvio padrão relativo de até 15% (ANVISA, 2003), como pode ser verificado pelos dados da Tabela 4.26. Observa-se também que o tempo de retenção do DCF nos CQ foi em média igual a 5,3 min, como no caso dos tempos de retenção das amostras das séries IIa, IIb, III e IV. Porém, verifica-se que houve uma variação no tempo de retenção do DCF, desde o desenvolvimento do método até a sua aplicação, em torno de 0,4 min. Provavelmente isso ocorreu devido ao tempo de uso da coluna. Os resultados das amostras de CQ serviram de base para aceitação da corrida analítica e da confiabilidade nos resultados obtidos.

Tabela 4.26 – Resultados obtidos das amostras de controle de qualidade analisadas juntamente com as amostras das séries IIa, IIb, III e IV.

Concentração teórica de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tempo de retenção* (min)	Área média* (mAU*s)	Concentração experimental média (n = 3) de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão (n = 3) (%)	Exatidão (%)
8	5,28	7,42	8,12	0,60	101,47
	5,28	7,34	8,04		100,48
	5,28	7,33	8,03		100,37
484	5,28	449,94	467,59	4,09	96,61
	5,27	481,46	500,06		103,32
	5,27	447,39	464,97		96,07
960	5,27	961,15	994,18	0,59	103,56
	5,27	972,10	1005,45		104,73
	5,27	969,45	1002,72		104,45

*Injeções cromatográficas em triplicatas; n: número de amostras

Na Tabela 4.27 estão apresentados os parâmetros analisados dos 9 CQ para o grupo de amostras das séries Va, Vb, VI e VII, os quais resultaram dentro dos intervalos esperados, ou seja, com exatidão aceitável de $\pm 15\%$ e precisão (desvio padrão relativo) de até 15% (ANVISA, 2003). Pode-se notar também que o tempo de retenção do DCF nos CQ foi em média igual a 5,1 min como no caso dos tempos de retenção das amostras das séries Va, Vb, VI e VII.

Tabela 4.27 – Resultados obtidos das amostras de controle de qualidade analisados juntamente com as amostras das séries Va, Vb, VI e VII.

Concentração teórica de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tempo de retenção* (min)	Área média* (mAU*s)	Concentração experimental média (n = 3) de DCF* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão (n = 3) (%)	Exatidão (%)
8	5,12	7,01	7,70	6,87	96,25
	5,14	7,61	8,32		103,98
	5,13	8,12	8,84		110,46
484	5,12	447,37	461,10	5,71	92,43
	5,11	474,83	493,23		101,91
	5,11	477,65	496,13		102,51
960	5,13	983,45	1017,15	0,48	105,95
	5,10	977,30	1010,81		105,29
	5,09	986,52	1020,31		106,28

*Injeções cromatográficas em triplicatas; n: número de amostras

4.3.5 Isoterma de Freundlich

A distribuição de equilíbrio de um composto entre os sítios ativos do sólido (carvão ativado) e a solução depende da concentração do composto em solução. A relação entre a concentração do composto em solução e a concentração total do adsorbato é referida como adsorção isotérmica.

Na Tabela 4.28 são apresentadas as massas de CAG utilizadas, concentração inicial de diclofenaco (C_0), volume da solução (V) em litros e os coeficientes de Freundlich.

Tabela 4.28 - Dados empregados para a construção da isoterma de Freundlich.

Precisão da balança (0,1 mg)	Fixados	Medidos	Calculados	Isoterma Freundlich					
Massa de CAG (g)	C_0 (mg L ⁻¹)	V (L)	C_w (mg L ⁻¹)	Massa adsorvida ($(C_0 - C_w) \cdot V$) (mg)	C_{sorb} (mg g ⁻¹)	log C_w (eixo x)	log C_{sorb} (eixo y)	Remoção (%)	pH
0,0004	1	0,5	0,9343	0,0328	82	0,0295	1,9140	6,56980	6,30
0,0006	1	0,5	0,8870	0,0565	94	0,0521	1,9740	11,3014	6,30
0,0010	1	0,5	0,8691	0,0654	65	0,0609	1,8160	13,0866	6,20
0,0020	1	0,5	0,7319	0,1341	67	0,1356	1,8260	26,8144	6,20
0,0040	1	0,5	0,4785	0,2608	65	0,3201	1,8140	52,1520	6,20
0,0060	1	0,5	0,1969	0,4016	67	0,7058	1,8260	80,3111	6,20
0,0080	1	0,5	0,0745	0,4628	58	1,1280	1,7620	92,5529	6,20
0,0120	1	0,5	0,0109	0,4946	41	1,9639	1,6150	98,9134	6,20
0,0140	1	0,5	0,0065	0,4967	35	2,1849	1,5500	99,3468	6,20
0,0160	1	0,5	0,0051	0,4974	31	2,2919	1,4930	99,4893	6,20

Na Figura 4.32 é apresentada a isoterma de adsorção do DCF sobre CAG através do modelo de Freundlich com sua respectiva equação linearizada.

Figura 4.32 – Isotherma de adsorção do diclofenaco em solução aquosa sobre carvão ativado granular de babaçu conforme modelo de Freundlich.

Ternes et al. (2002) obtiveram o valor de K_F (constante de Freundlich) igual a 141 e o valor de $1/n$ (coeficiente angular da reta) igual a 0,19 para a adsorção do DCF em carvão ativado com água purificada pelo sistema Milli-Q (18,2 MΩ · cm a 25 °C), enquanto que em

experimentos feitos com água subterrânea contendo 2 mg L^{-1} de COD o valor obtido de K_F foi igual a 36 e de n igual 0,21. Os autores verificam que a eficiência de adsorção de um fármaco é menor na presença de outros compostos, tais como MON que compete pelos sítios de adsorção. Assim, é de se esperar que a capacidade de adsorção do carvão ativado seja menor em águas naturais do que em água purificada pelo sistema Milli-Q ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C).

Diante da falta de informações sobre a matéria prima do CAG e suas características e também as condições experimentais nos trabalhos publicados de isothermas de CAG, não é possível fazer comparação entre os resultados.

Os valores de K_F e de n estão relacionados com a capacidade de adsorção. Altos valores de K_F indicam grande afinidade do adsorbato (composto de interesse) sobre o adsorvente (carvão ativado) e valores de n entre 1 e 10 ou valores de $1/n$ menores que 1 indicam adsorção favorável (CLAUDINO, 2003).

No presente trabalho, o valor determinado de K_F foi igual a 79,3 e de $1/n$ foi igual a 0,16. Por meio da equação da reta obtida na Figura 4.32 verifica-se que o valor do coeficiente linear r é igual a 0,94.

Por meio da isoterma de Freundlich, construída no presente estudo, verifica-se que o CAG de babaçu apresenta elevada capacidade de adsorver o DCF. No entanto, em águas naturais contendo outros compostos essa capacidade pode diminuir pela competitividade entre os sítios ativos do CAG.

Conforme as isothermas de Freundlich obtidas por Martinez et al. (2010), tanto o CAG quanto o CAP de babaçu apresentam elevada capacidade de adsorver os herbicidas diuron e hexazinona, sendo mais efetivos na adsorção do diuron (K_F entre 371 e 382 e $1/n$ entre 0,15 e 0,22) frente à hexazinona (K_F entre 97 e 125 e $1/n$ entre 0,13 e 0,24). Comparando esses resultados com os do presente estudo de adsorção do DCF, verifica-se que o CAG de babaçu apresentou resultados similares aos obtidos por Martinez et al. (2010) para o composto hexazinona, comprovando-se a eficiência desse carvão na adsorção de certos compostos orgânicos.

Vale ressaltar que a eficiência de adsorção do CAG é proporcional à área superficial, ao volume de microporos, e também ao caráter ácido e básico de superfície.

4.4 CONCLUSÃO

- Nas etapas de tratamento de água de coagulação com sulfato de alumínio ($3,46 \text{ mg L}^{-1}$ de alumínio e pH 6,50), floculação, sedimentação e filtração em areia não houve remoção de DCF.
- Em geral, a etapa de pré-oxidação com cloro (dosagem de 1 mg L^{-1} e tempo de contato de 60 min) e com dióxido de cloro (dosagem de $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ e tempo de contato de 30 min) não seguida de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia teve baixa eficiência na remoção do DCF, cerca de 10% e 26%, respectivamente. Na pré-oxidação, com essas mesmas dosagens e tempos de contato, porém seguida de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia a remoção de DCF foi de aproximadamente 15% quando pré-oxidada com cloro e aproximadamente 25% quando pré-oxidada com dióxido de cloro.
- Comparando-se os dois oxidantes usados na pré-oxidação, o dióxido de cloro foi um oxidante mais forte e mais efetivo na redução do DCF que o cloro.
- Dentre os THM, foi quantificado apenas o clorofórmio (concentração média de $10,6 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) na água filtrada em areia precedida de pré-oxidação com cloro, coagulação, floculação e sedimentação. Quando empregado o dióxido de cloro na pré-oxidação não foi quantificado nenhum dos THM até $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.
- Na etapa de pós-cloração (desinfecção) da água filtrada em areia precedida de coagulação, floculação e sedimentação houve redução da concentração de DCF, atingindo cerca de 35% e 97% de remoção para os tempos de contato de 30 min e 24 h, respectivamente.
- Nas condições estudadas, o cloro demonstrou ser um oxidante efetivo na remoção do DCF. Porém, como a concentração de COD resultou praticamente a mesma da água de estudo e verificou-se a presença de novos picos cromatográficos, isso indica que durante a cloração não ocorreu mineralização do DCF e sim formação de subprodutos da oxidação do DCF.
- Dentre as etapas de tratamento estudadas, a de adsorção em CAG de babaçu foi a que mais contribuiu para a remoção de DCF. Após essa etapa, não foi detectado DCF (LD igual a $2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) nas amostras de água. Considerando que o LIQ do método foi igual a $3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, pode-se afirmar que no mínimo 99,7% de DCF foi removido pelo CAG.
- De modo geral, os métodos analíticos (SPE e HPLC-DAD) empregados neste trabalho foram efetivos e confiáveis para a identificação e quantificação do DCF nas amostras de água antes e após as etapas de tratamento.

IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS DO DICLOFENACO POR LC-MS/MS

5.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

5.1.2 Formação de subprodutos em água

Algumas pesquisas têm sido feitas com o objetivo de desenvolver novas tecnologias para o tratamento de esgoto e de água destinada ao consumo humano, a fim de diminuir a concentração de fármacos. Essas tecnologias incluem o uso de membranas filtrantes (RADJENOVIC et al., 2008; KIM et al., 2007; KIMURA et al., 2005), carvão ativado granular (HARTIG et al., 2001; TERNES et al., 2002; KIM et al., 2007; TAMBOSI, 2008), radiações UV e processos oxidativos avançados, incluindo ozonização (HUBER et al., 2003; TERNES et al., 2002; TAMBOSI, 2008; IKEHATA et al., 2006; PETROVIC; BARCELO, 2007).

No entanto, a possível transformação dos fármacos durante o tratamento de água tem sido menos investigada. Alguns subprodutos da biodegradação de fármacos foram indentificados em tratamento de esgoto (QUINTANA et al., 2005; VANDERFORD et al., 2003) e na cloração de fármacos em água (PINKSTON; SEDLAK, 2004; XAGORARAKI et al., 2008; BEDNER; MACCREHAN, 2006; CANOSA, et al., 2006; INABA, et al., 2006; NEGREIRA, et al., 2008; VANDERFORD, et al., 2008; QUINTANA, et al., 2010; SOUFAN et al., 2012). Para essa finalidade, as técnicas de cromatografia e espectrometria de massas são as mais adequadas (KOSJEK; HEATH, 2008; KOSJEK et al., 2007).

Na presença de matéria orgânica dissolvida (MOD), algas e cianobactérias, o cloro pode gerar subprodutos clorados tais como os trihalometanos (THM) e ácidos haloacéticos (MUTTAMARA et al., 1995; YOON et al., 2003). A formação de THM é maior em meio alcalino (pH maior que 9,4) do que em meio ácido (pH menor que 5,0) enquanto que no caso da formação dos ácidos haloacéticos não há uma relação esclarecida quanto ao pH (USEPA, 1999). A formação desses subprodutos deve ser evitada porque eles são considerados prejudiciais à saúde humana, com evidências de serem carcinogênicos (KOMULAINEN,

2004). Nesse caso, é indicado o uso de oxidantes alternativos em tratamento de água como o dióxido de cloro. Entretanto, quando o dióxido de cloro oxida a MOD pode produzir outros subprodutos orgânicos como aldeídos (acetaldeído e formaldeído) e ácidos carboxílicos (MASSCHELEIN, 1992; RICHARDSON et al., 1998; DABROWSKA et al., 2003). Além disso, o uso de dióxido de cloro em tratamento de água leva à formação de íons clorito (ClO_2^-) e clorato (ClO_3^-), considerados nocivos a saúde humana (USEPA, 1999).

Porém, ao contrário do cloro, o dióxido de cloro não reage com amônia, aminas secundárias e terciárias e somente reage lentamente com aminas primárias, não havendo assim a formação de cloraminas. Outra vantagem de se usar o dióxido de cloro na desinfecção da água é devido ao fato de não haver formação de clorofenóis, compostos odoríferos, que são formados na cloração (STEVENS, 1982).

A reação do cloro com compostos orgânicos ocorre principalmente por reação de substituição e adição, geralmente no lugar do hidrogênio. A oxidação ocorre principalmente em sítios ricos em elétrons, tais como em compostos insaturados (duplas e triplas ligações) e em compostos com anéis aromáticos ativados com grupos hidroxilas e amina (BEDDING et al., 1983). Hidrocarbonetos oxigenados e poliaromáticos clorados podem também ser formados pela cloração, resultando em compostos ainda mais tóxicos do que o próprio composto inalterado (MANOLI; SAMARA, 1999).

Alguns trabalhos publicados relatam que fármacos com caráter ácido podem ser degradados na cloração (PINKSTON; SEDLAK, 2004; WESTERHOFF et al, 2005), mas o mecanismo de transformação ainda não está claro.

O dióxido de cloro reage com um número relativamente grande de fármacos, apesar de apresentar menor potencial de oxidação em comparação com o ozônio. No entanto, o dióxido de cloro é considerado mais potente na oxidação de fármacos do que o cloro (HUBER et al., 2005).

Huber et al. (2005) verificaram que o dióxido de cloro apresenta uma reatividade apreciável para o diclofenaco (DCF), 17α -etinilestradiol, sulfametoxazol e roxitromicina e, em geral, demonstrou ser mais potente na oxidação de fármacos que o cloro. Entretanto, o dióxido de cloro não foi efetivo na oxidação de alguns fármacos como de carbamazepina, benzafibrato, diazepam, ibuprofeno e iopromida. A velocidade da reação para os compostos 17α -etinilestradiol, sulfametoxazol e roxitromicina foi favorecida em $\text{pH} \geq 7,0$. Esses resultados podem ser explicados pelo fato do dióxido de cloro reagir com grupos funcionais com alta densidade de elétrons como fenólicos e aminas terciárias neutras. O dióxido de cloro

também reage com ligações insaturadas ($C=C$) e anéis benzênicos ativados. No caso dos antibióticos macrólidos, esta reação irá resultar na perda de um grupo metil ou na perda do grupo amino. Os mesmos autores verificaram que a reatividade do DCF com dióxido de cloro foi relativamente constante na faixa de pH de 5,0 a 10.

Tratamentos oxidativos não só devem conduzir ao desaparecimento dos fármacos, mas também destruir os efeitos biológicos desses compostos. No entanto, a completa mineralização geralmente não é possível com a dosagem de oxidante normalmente usada em tratamento de água (HUBER et al., 2005).

Atualmente, pouco se sabe sobre subprodutos de fármacos formados na oxidação com cloro e dióxido de cloro. O interesse de se estudar a formação de subprodutos do DCF na oxidação com cloro e dióxido de cloro em água se deve ao fato do DCF ser um fármaco frequentemente encontrado em águas superficiais e, esporadicamente, em água de abastecimento público (REEMTSMA et al, 2006; PETROVIC; BARCELÓ, 2007; TOGOLA; BUDZINSKI, 2008; HUANG et al., 2011) e pelo fato do cloro e do dióxido de cloro serem bastante empregados em estações de tratamento de água (ETA), tanto como oxidante e desinfetante. Além disso, o cloro residual presente na água da torneira pode reagir com os fármacos e produzir subprodutos indesejáveis (CANOSA et al, 2006; NEGREIRA et al., 2008).

Neste trabalho, foram identificados os subprodutos formados no tratamento com cloro e dióxido de cloro por meio de cromatografia líquida e espectrometria de massas em série (LC-MS/MS).

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Materiais, reagentes e soluções

O padrão de DCF sódico, o ácido ascórbico e o tiosulfato de sódio foram adquiridos da Sigma-Aldrich. A solução estoque contendo DCF (200 mg L^{-1}) foi preparada em metanol e diluída em metanol quando necessário.

A água purificada ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C) foi obtida de um sistema Milli-Q (Millipore® Bedford, MA, USA). O pH da água purificada foi igual a 6,0.

A água de estudo foi preparada conforme descrito no item 4.2.1.6 do capítulo 4 deste trabalho. Essa água continha substâncias húmicas aquáticas (SHA), caulinita e 1 mg L^{-1} DCF. O pH da água de estudo foi igual a 6,40.

A solução de cloro foi preparada a partir da solução de hipoclorito de sódio líquido com 12,9% de cloro ativo e densidade igual a $1,22 \text{ g cm}^{-3}$, fornecida pela ETA (SAEE) da cidade de São Carlos - SP.

A solução de dióxido de cloro produzida a partir de clorato de sódio como matéria-prima foi fornecida pela Eka Chemicals do Brasil S.A – Akzo Nobel Company. A solução possuía concentração da ordem de $300 \text{ mg ClO}_2 \text{ L}^{-1}$ e foi estocada em geladeira a aproximadamente 4°C por dois meses. As soluções de dióxido de cloro na concentração desejada foram preparadas diariamente por diluição em água purificada pelo sistema Milli-Q.

Para a determinação da concentração de cloro e de dióxido de cloro na solução estoque e do residual dos oxidantes nas amostras de água foi utilizado o reagente N,N-dietil-p-fenileno diamina (DPD) e um espectrofotômetro DR4000, HACH, programa 1450. As leituras foram feitas em 530 nm com limite de detecção de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$. Para o dióxido de cloro, o valor obtido em concentração de cloro livre foi multiplicado por 1,9 (correção estequiométrica) para obtenção de concentração residual em dióxido de cloro (ClO_2) em mg L^{-1} .

5.2.3 Identificação dos subprodutos do diclofenaco na oxidação com cloro e dióxido de cloro

Para a identificação dos subprodutos de DCF, foram feitos experimentos de oxidação com cloro e dióxido de cloro em 250 mL de água purificada pelo sistema Milli-Q ($18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ a 25°C) livre de interferentes. O pH da água foi igual a 6,00. Também foram feitos experimentos com água de estudo a pH 6,40 com o objetivo de simular a pré-oxidação de água superficial contaminada com DCF e assim verificar a influência das SHA na remoção do DCF e na formação de subprodutos. As dosagens aplicadas de dióxido de cloro foram iguais a 0,5 e $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ e a dosagem de cloro foi igual a $5,0 \text{ mg L}^{-1}$. Os tempos de contato estudados foram iguais a 0,5; 12 e 24 h para ambos os oxidantes. Os experimentos foram feitos em frascos de vidro âmbar, tampados e sob agitação em mesa agitadora (100 rpm) e com a temperatura da água controlada em $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Após o término da oxidação, foi adicionado ácido ascórbico ($0,5 \text{ mg mL}^{-1}$) nas amostras de água para inibir a reação dos oxidantes.

As medidas de residual dos oxidantes, absorvância e pH foram feitas sem a adição de agente descolorante. Para a determinação de carbono orgânico dissolvido (COD) e de DCF, a reação do cloro foi inibida com a adição de tiosulfato de sódio resultando uma concentração de $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ devido ao fato desse agente não interferir nas medidas de COD e na recuperação do DCF em extração em fase sólida (SPE).

O critério de escolha das dosagens de dióxido de cloro e de cloro foi baseado nas concentrações normalmente utilizadas nas ETA e obedecendo aos limites estabelecidos pelas legislações. A USEPA (1999) recomenda que a dosagem de dióxido de cloro não exceda a $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ e limita a concentração total combinada de dióxido de cloro, clorito e clorato em 1 mg L^{-1} . No Brasil, em dezembro de 2011, a Portaria nº 2914 do Ministério da Saúde alterou o valor máximo de clorito na água tratada de $0,2$ para $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Diante do fato de que em torno de 50 a 70% do dióxido de cloro aplicado se converte em clorito e 30% em clorato e cloretos (USEPA, 1999), a dosagem desse oxidante em ETA é limitada até $1,4 \text{ mg L}^{-1}$.

Entretanto, quando os experimentos foram feitos ainda estava em vigência a portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde, a qual limitava a concentração de íons clorito em $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ em água potável. Diante disso, foram feitos ensaios de oxidação com as dosagens de $0,5$ e de $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro, buscando atender as legislações do Brasil e dos Estados Unidos.

Com o objetivo de oxidar o DCF e identificar os subprodutos formados, empregou-se a máxima dosagem de cloro livre na água potável (5 mg L^{-1} de cloro) permitida pela antiga portaria nº 518/2004 e pela atual portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde.

A extração das amostras de água após oxidação foi feita em adsorvente C18 conforme descrito no item 3.3.3.5 do Capítulo 3 deste trabalho. Antes da SPE, as amostras de água de estudo oxidadas foram filtradas em membranas de éster de celulose de poros $0,45 \text{ }\mu\text{m}$. Para a extração em SPE das amostras de água purificada não foi necessário filtrar em membrana de $0,45 \text{ }\mu\text{m}$, já que não havia partículas em suspensão. O volume de amostra empregado na extração foi de 100 mL .

Para a determinação do DCF, as amostras de água após a oxidação foram submetidas à SPE em duplicata e cada amostra extraída foi analisada no HPLC-DAD, na mesma corrida cromatográfica, em triplicata. Os métodos analíticos empregados para a extração e determinação de DCF por HPLC-DAD estão descritos no Capítulo 3 deste trabalho, itens 3.3.2 e 3.3.3.5. As curvas analíticas empregadas para a quantificação do DCF se encontram no item 3.3.4.3 do Capítulo 3 deste trabalho.

Para a separação e a identificação dos subprodutos do DCF foi utilizado um cromatógrafo a líquido de alta eficiência SHIMADZU com duas bombas LC-20A, autoinjeter, com detector UV acoplado a um espectrômetro de massas (MS) com analisador íon trap (Bruker). A separação cromatográfica foi feita em uma coluna Zorbax C-18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) da Agilent Technologies. A eluição foi feita no modo isocrático com água purificada pelo sistema Milli-Q (18,2 MΩ . cm a 25 °C) e acetonitrila grau HPLC (J. T. Baker) na proporção de 35:65, (v/v) em uma vazão de 0,8 mL min⁻¹. A temperatura da coluna foi igual a 25 °C. O volume de amostra injetada foi de 50 µL e o tempo total de cada corrida cromatográfica foi de 10 min.

A ionização dos compostos foi obtida por *electrospray* (ESI) no modo negativo, onde os íons *quasi molecular* são detectados a partir da perda de um próton, caracterizado por [M-H]⁻. As análises iniciais em MS foram operadas no modo *full scan* para a detecção dos compostos e, em seguida, foram feitos experimentos de fragmentação para a confirmação do composto encontrado. As condições utilizadas no MS estão apresentadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 - Condições utilizadas no espectrômetro de massas por *electrospray*.

Parâmetros	Valores	Parâmetros	Valores
Capillary	3500	Oct 2 DC	-3,67 V
Nebulizer	30 psi	Trap Drive	145,6
Dry Gas	8	Oct RF	184,2
Dry Temperature	300 °C	Lens 1	5.0 V
Polarity	Negativo	Lens 2	60 V
Skimmer	-10 V	Target	20.000
Cap Exit	-70 V	Max Accu. Time	200 MS
Oct 1 DC	-12	-	-

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Degradação do diclofenaco sódico com cloro e dióxido de cloro

Nas Tabelas de 5.2 a 5.7 estão apresentados os resultados do estudo feito com a finalidade de verificar a formação de subprodutos do DCF na oxidação com cloro e dióxido de cloro. A concentração inicial (C₀) de DCF foi de 1000 µg L⁻¹. Os resultados da concentração de DCF que restou nas amostras de água após a oxidação foram obtidos

considerando a média dos resultados das duas amostras extraídas e analisadas, com desvio padrão relativo abaixo de 0,1 %.

Tabela 5.2 – Resultados da oxidação do diclofenaco ($C_0 = 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) com 5 mg L^{-1} de cloro em água purificada.

Tempo de contato (h)	Amostra	Residual de cloro (mg L^{-1})	Consumo de cloro (mg L^{-1})	COD (mg L^{-1})	Abs 254 nm	Abs 278 nm	Residual de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção de DCF (%)	pH
0,5	Branco	4,75	0,25	2,43	0,003	0,000	ND	-	7,1
	ADCF	4,20	0,80	14,62	0,033	0,037	553,54	48,0	6,7
12	Branco	4,40	0,60	3,87	0,002	0,000	ND	-	7,5
	ADCF	3,40	1,60	14,60	0,035	0,056	20,18	98,1	7,2
24	Branco	4,40	0,60	2,34	0,002	0,005	ND	-	7,5
	ADCF	3,20	1,80	14,38	0,036	0,056	21,21	98,0	7,5

ADCF: amostra de água com diclofenaco; ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$)

Tabela 5.3 – Resultados da oxidação do diclofenaco ($C_0 = 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro em água purificada.

Tempo de contato (h)	Amostra	Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})	COD (mg L^{-1})	Abs 254 nm	Abs 278 nm	Residual de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção de DCF (%)	pH
0,5	Branco	0,48	0,02	1,87	0,002	0,000	ND	-	4,2
	ADCF	0,40	0,10	14,30	0,058	0,065	6,5	99,4	4,1
12	Branco	0,48	0,02	1,64	0,000	0,000	ND	-	4,4
	ADCF	0,40	0,10	14,10	0,063	0,079	ND	> 99,7	4,3
24	Branco	0,42	0,08	1,51	0,002	0,003	ND	-	4,5
	ADCF	0,38	0,12	13,80	0,060	0,074	ND	> 99,7	4,4

ADCF: amostra de água com diclofenaco; ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$)

Tabela 5.4 - Resultados da oxidação do diclofenaco ($C_0 = 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) com $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro em água purificada.

Tempo de contato (h)	Amostra	Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})	COD (mg L^{-1})	Abs 254 nm	Abs 278 nm	Residual de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção de DCF (%)	pH
0,5	Branco	1,33	0,07	1,94	0,000	0,000	ND	-	3,7
	ADCF	1,00	0,40	14,10	0,061	0,071	ND	> 99,7	3,6
12	Branco	1,33	0,07	1,89	0,000	0,000	ND	-	3,8
	ADCF	1,00	0,40	13,90	0,060	0,082	ND	> 99,7	3,8
24	Branco	1,10	0,30	1,92	0,000	0,000	ND	-	4,0
	ADCF	0,86	0,54	13,85	0,058	0,074	ND	> 99,7	3,9

ADCF: amostra de água com diclofenaco; ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$)

Pode ser observado na Tabela 5.2 que após 30 min de tempo de contato com cloro a remoção do DCF foi de 48% com um residual de DCF em média de $553,5 \mu\text{g L}^{-1}$, tempo este comumente usado em ETA. Após 12 e 24 h a remoção foi em média 98% com um residual de DCF de valor médio igual a $21 \mu\text{g L}^{-1}$. Esses resultados foram similares aos obtidos na pós-cloração com 5 mg L^{-1} de cloro nos tempos de contato de 30 min e 24 h da água filtrada em areia (tratamento sem pré-oxidação, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia), conforme descrito no Capítulo 4 deste trabalho (item 4.3.2.4). Diante desses resultados, pode-se dizer que o DCF foi facilmente degradado com cloro após 12 h de tempo de contato, tendo em vista que a concentração inicial do fármaco em estudo foi elevada.

Na oxidação com cloro, houve um pequeno aumento do pH (pH de 7,1 a 7,5) com o aumento do tempo de contato (Figura 5.2). A oxidação com cloro foi feita em pH inferior a 8,0, conforme recomendado pela portaria nº 518/2003 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2003).

Por meio dos dados nas Tabelas 5.2 a 5.4, verifica-se que o dióxido de cloro foi mais eficiente na degradação do DCF do que o cloro, visto que, a dosagem de dióxido de cloro foi bem menor para os mesmos tempos de contato. Mesmo após 30 min de tempo de contato a remoção de DCF foi maior que 99%. Apenas foram encontrados $6,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de DCF na amostra de água após oxidação com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ e 30 min de tempo de contato. No restante das amostras não foi detectado DCF, indicando possível degradação completa. Não foi considerada remoção de DCF de 100% diante do limite de detecção do método ser igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$ e o limite de quantificação ser igual a $3 \mu\text{g L}^{-1}$. Como a C_0 do DCF era $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, pôde-se avaliar a remoção do DCF qualitativamente até 99,8% e quantitativamente até 99,7%.

Em geral, houve um aumento da absorbância em 278 nm (absorção máxima do DCF) e uma diminuição em 254 nm (absorção da matéria orgânica dissolvida) com o aumento do tempo de contato. No entanto, os valores obtidos nas amostras oxidadas foram maiores em comparação à absorbância da água purificada sem oxidação (Abs 278nm = 0,034 e Abs 254 nm = 0,030). Nos ensaios feitos com a água purificada houve um pequeno aumento do pH com o aumento do tempo de contato (Tabela 5.2).

Tabela 5.5 - Resultados da oxidação do diclofenaco ($C_0 = 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) com $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de cloro em água de estudo.

Tempo de contato (h)	Amostra	Residual de cloro (mg L^{-1})	Consumo de cloro (mg L^{-1})	Cor verdadeira (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L^{-1})	Residual de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção (%)	pH
0,5	Branco	3,45	1,55	19	1,67	7,82	ND	-	6,7
	ADCF	2,95	2,05	19	1,33	21,10	616,0	41,2	6,6
12	Branco	1,65	3,35	17	1,30	8,32	ND	-	6,8
	ADCF	0,50	4,50	17	1,43	20,24	118,0	88,8	6,7
24	Branco	1,30	3,70	16	1,43	7,00	ND	-	6,8
	ADCF	0,17	4,83	15	1,35	19,00	53,0	95,0	6,8

ADCF: amostra de água com diclofenaco; ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$)**Tabela 5.6** – Resultados da oxidação do diclofenaco ($C_0 = 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro em água de estudo.

Tempo de contato (h)	Amostra	Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})	Cor verdadeira (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L^{-1})	Residual de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção (%)	pH
0,5	Branco	0,25	0,25	19	1,55	7,20	ND	-	6,2
	ADCF	0,17	0,33	19	1,68	20,40	450,74	57,0	6,1
12	Branco	0,24	0,26	18	1,54	7,76	ND	-	6,2
	ADCF	0,15	0,35	17	1,54	19,90	248,3	76,0	6,0
24	Branco	0,23	0,27	17	1,50	7,00	ND	-	6,1
	ADCF	0,13	0,33	16	1,53	19,80	138,4	86,8	6,0

ADCF: amostra de água com diclofenaco; ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$)**Tabela 5.7** - Resultados da oxidação do diclofenaco ($C_0 = 1000 \mu\text{g L}^{-1}$) com $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro em água de estudo.

Tempo de contato (h)	Amostra	Residual de ClO_2 (mg L^{-1})	Consumo de ClO_2 (mg L^{-1})	Cor verdadeira (uH)	Turbidez (uT)	COD (mg L^{-1})	Residual de DCF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção (%)	pH
0,5	Branco	0,82	0,58	17	1,45	7,00	ND	-	5,9
	ADCF	0,25	1,15	18	1,48	19,95	ND	> 99,7	5,9
12	Branco	0,54	0,86	16	1,50	6,50	ND	-	5,8
	ADCF	0,24	1,16	14	1,35	19,80	ND	> 99,7	5,8
24	Branco	0,36	1,04	15	1,50	6,40	ND	-	5,7
	ADCF	0,20	1,20	14	1,30	19,82	ND	> 99,7	5,5

ADCF: amostra de água com diclofenaco; ND: não detectado (limite de detecção do DCF igual a $2 \mu\text{g L}^{-1}$)

Para os ensaios de oxidação feitos com água de estudo e dosagem de 5 mg L^{-1} de cloro e $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro, a porcentagem de remoção do DCF foi menor em relação aos ensaios feitos com a água purificada. A menor remoção na água de estudo está aliada a presença de substâncias húmicas aquáticas e caulinita que competem na oxidação com cloro e dióxido de cloro.

No entanto, para a dosagem de $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro, em todos os tempos de contato estudados e para ambas as águas empregadas, não foi detectado DCF até o limite de detecção de $2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, indicando que ocorreu uma degradação total desse fármaco nas condições estudadas (Tabelas 5.4 e 5.7).

Como os valores de absorbância em 254 e 278 nm tiveram a mesma tendência que nos ensaios feitos com a água purificada não foram apresentados nas Tabelas 5.5 a 5.7.

Os valores de turbidez e cor verdadeira apresentaram variações mais relevantes para a dosagem de $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro e diminuíram com o aumento do tempo de contato.

Os resultados de COD foram praticamente os mesmos com o aumento do tempo de contato do oxidante, indicando que não ocorreu a mineralização completa do fármaco em estudo e sim esse foi transformado em outros compostos.

5.3.2 Identificação dos subprodutos do diclofenaco na oxidação com cloro em água purificada

5.3.2.1 Identificação do padrão de diclofenaco sódico

Inicialmente analisou-se a amostra do padrão de DCF em metanol na concentração inicial de 1 mg L^{-1} , sem a presença de oxidante, com o objetivo de verificar o espectro de massas do DCF. O cromatograma e espectro de massas dessa análise são apresentados na Figura 5.1. O cromatograma apresenta o pico do DCF no tempo de retenção de 4,8 min e isso foi confirmado pela presença do íon molecular de massa/carga (m/z) igual a 294, no seu respectivo espectro de massas, já que o DCF possui a massa molar de 295 g mol^{-1} .

Figura 5.1 – (a) Cromatograma do padrão de diclofenaco no tempo de retenção de 4,8 min e (b) espectro de massas do diclofenaco.

Os demais picos observados na Figura 5.1a provavelmente são provenientes de resíduos de surfactantes. O pico com tempo de retenção em torno de 2 min apresenta os íons de m/z 311, 325 e 339, correspondentes à contaminação por essa classe de compostos conforme apresentado na Figura 5.2.

Figura 5.2 - Espectro de massas para o pico observado em torno de 2 min do cromatograma apresentado na Figura 5.1a.

Foram feitos experimentos de fragmentação (MS/MS) para a confirmação do padrão de DCF. Na Figura 5.3 estão apresentados os espectros de íons fragmentos para o DCF (m/z 294) e na Figura 5.4 está ilustrado o mecanismo de fragmentação proposto.

Figura 5.3 - Espectros de íons fragmentos do diclofenaco: (a) m/z 294 (MS2) e (b) m/z 250 (MS3).

Figura 5.4 - Mecanismo de fragmentação proposto para o diclofenaco.

A utilização do espectrômetro de massas com analisador do tipo *ion trap* (IT) permitiu a fragmentação mais completa do DCF. Por meio da Figura 5.3, pode-se observar que o íon fragmento gerado a partir de m/z 294 é o íon m/z 250, resultado do experimento denominado MS2. Contudo, com esse analisador ainda é possível isolar o íon fragmento e fragmentá-lo novamente, como foi feito, gerando o íon m/z 214, experimento esse denominado MS3. Assim, com maiores informações torna-se viável a identificação estrutural do composto.

Com todas as condições experimentais estabelecidas para o padrão de DCF, foram iniciadas as análises das demais amostras. Para os dois ensaios, oxidação com cloro e com dióxido de cloro, foram empregadas amostras de água sem DCF, denominadas de brancos, e amostras de água contendo DCF, denominadas simplificadaamente de amostras. Os brancos foram essenciais para a determinação de eventuais contaminantes e eliminação de falsos positivos.

5.3.2.2 Amostras de água purificada sem diclofenaco (branco) oxidadas com cloro

Na Figura 5.5 está apresentado o cromatograma da amostra do branco oxidada com 5 mg L⁻¹ de cloro e tempo de contato de 30 min, bem como os espectros de massas dos picos formados.

(5.5a)

(5.5b)

(5.5c)

Figura 5.5 - (a) Cromatograma da amostra do branco após oxidação com cloro e tempo de contato de 30 min; (b) espectro de massas para o pico em 2,2 min e em (c) 3,3 min.

Observa-se no cromatograma da Figura 5.5a a presença de dois picos distintos, nos tempos de 2,2 e 3,3 min. O espectro de massas do pico em 2,2 min apresentou os mesmos íons (m/z 311, 325, 339) que na amostra do padrão de DCF (Figura 5.1), ou seja, indicando possível contaminação por surfactantes (Figura 5.5b). Já o pico em 3,3 min apresentou o íon m/z 175 (Figura 5.5c) que pode estar relacionado com algum interferente do próprio oxidante utilizado ou do desclorante.

5.3.2.3 Amostras de água purificada contendo diclofenaco oxidadas com cloro

Para facilitar a identificação dos subprodutos do DCF formados na oxidação com 5 mg L⁻¹ de cloro e 30 min de tempo de contato, foram sobrepostos os cromatogramas do branco (sem DCF) com os cromatogramas da amostra contendo DCF, conforme apresentado na Figura 5.6. Dessa forma, os picos diferentes que surgiram no cromatograma da amostra contendo DCF, são os subprodutos do DCF formados na oxidação com cloro.

Figura 5.6 - Cromatogramas sobrepostos do branco (em vermelho) e da amostra contendo diclofenaco (em preto) após o término de 30 min de cloração.

Por meio do cromatograma apresentado na Figura 5.6, verifica-se que os picos assinalados referem-se à presença de três picos diferenciados entre a amostra e o branco e entre elas. Um desses picos é referente ao DCF (tempo de retenção igual a 5,3 min) que restou na amostra após a oxidação com cloro. Esses compostos foram confirmados pelos respectivos espectros de massas apresentados na Figura 5.7.

Os picos observados em 3,9 e 4,3 min na Figura 5.6 apresentaram o mesmo espectro de massas, identificados pelo íon molecular de m/z 310 (Figura 5.7a). O pico em 5,3 min apresentou o íon molecular de m/z 294 (Figura 5.7b), correspondente ao DCF e o pico em 6,1 min apresentou o íon molecular de m/z 328 (Figura 5.7c).

(5.7a)

(5.7b)

(5.7c)

Figura 5.7 - Espectros de massas referentes aos picos em: (a) 3,9 e 4,3 min (subproduto); (b) 5,3 min (diclofenaco) e (c) 6,1 min (subproduto) dos cromatogramas apresentados na Figura 5.6.

As mesmas análises foram feitas para as amostras oxidadas com 5 mg L^{-1} de cloro e tempos de contato de 12 e 24 h. Os cromatogramas e os espectros de massas dos brancos para esses tempos de contato foram similares aos do branco apresentados na Figura 5.6 (tempo de contato de 30 min), sendo desnecessário, portanto, a apresentação dos mesmos dados.

Na Figura 5.8 são apresentados os cromatogramas sobrepostos do branco e da amostra após o término de 12 h de cloração.

Após 12 horas de tempo de contato foi verificado uma redução do pico de DCF e um aumento dos picos nos tempos de retenção de 3,9, 4,3 e 6,1 min, picos esses também observados na Figura 5.6 (tempo de contato de 30 min). Para o tempo de contato de 12 h também houve o aparecimento de um novo pico em 7,1 min, conforme apresentado na Figura 5.8.

Figura 5.8 - Cromatogramas sobrepostos do branco sem diclofenaco (em vermelho) e da amostra contendo diclofenaco (em preto) após o término de 12 h de cloração.

Como os picos nos tempos de retenção entre 3,9 e 4,3 e em 6,1 min apresentaram os mesmo espectros de massas, correspondentes aos íons de m/z 310 e 328, não houve necessidade de apresentá-los novamente. No entanto, o pico em 7,1 min, apresentado na Figura 5.8 é novo em relação à amostra anterior de tempo de contato de 30 min. O espectro de massas apresentado na Figura 5.9 para o pico em 7,1 min apresentou o íon de m/z 300.

Figura 5.9 - Espectro de massas do pico em 7,1 min do cromatograma apresentado na Figura 5.8.

Na Figura 5.10 são apresentados os cromatogramas sobrepostos do branco e da amostra após oxidação com cloro e tempo de contato de 24 h.

Figura 5.10 - Cromatogramas sobrepostos do branco sem diclofenaco (em preto) e da amostra contendo diclofenaco (em vermelho) após o término de 24 h de cloração.

Os resultados obtidos das amostras após 24 horas de cloração foram similares aos obtidos após 12 h de cloração (Figura 5.8).

Por meio da Figura 5.10 pode-se verificar que o pico referente ao padrão de DCF em 5,3 min praticamente desapareceu, ou seja, é um indicativo de que o DCF foi quase que completamente consumido. Pode-se verificar também picos maiores dos compostos em 3,9, 4,3 e 6,1 min em comparação ao cromatograma referente ao tempo de contato de 30 min e a formação do composto em 7,1 min, assim como ocorreu no tempo de contato de 12 h (Figura 5.8).

Nos cromatogramas referentes aos tempos de 12 h e 24 h de cloração (Figuras 5.8 e 5.10), pode-se observar claramente a presença de dois picos não separados em 3,9 e 4,3 min, os quais apresentaram espectros de massas idênticos. Contudo, para maiores informações estruturais dos compostos obtidos foi necessária a análise de íons fragmentos, os quais foram obtidos para todas as amostras.

No entanto, para simplificar a apresentação dos resultados, uma vez que todos os compostos obtidos foram semelhantes nas amostras, escolheu-se a amostra de 12 h para representar os experimentos, pelo fato dessa amostra apresentou os três subprodutos formados na oxidação com cloro.

Assim, para a identificação dos compostos de m/z 310, 328 e 300, foram feitas análises de fragmentação. Iniciou-se pelo composto de m/z 310, para o qual foram observados íons fragmentos de m/z 266 e 230, conforme apresentado na Figura 5.11.

A diferença de massa molar entre o padrão de DCF (295 g mol^{-1}) e o produto obtido de 311 g mol^{-1} é exatamente 16, que pode estar relacionado a uma hidroxilação do composto

(Figura 5.7a). O fato de se obter uma hidroxila a mais na molécula justifica o tempo de retenção menor do composto do que o tempo do DCF, uma vez que a molécula torna-se mais polar com a introdução de uma hidroxila. O fato de terem sido observados dois picos com a mesma massa pode estar relacionado com as diferentes posições em que a hidroxilação pode ter ocorrido na molécula, ou seja, dois isômeros de posição podem ter sido formados e, portanto, apresentam a mesma massa e espectro de fragmentação.

Figura 5.11- Espectros de íons fragmentos para m/z 310.

Os espectros de íons fragmentos (Figura 5.11) apresentaram íons de m/z 310, 266 e 230. A descarboxilação da molécula de m/z 310 levaria ao íon de m/z 266 e a perda de HCl levaria ao íon de m/z 230, conforme apresentado na proposta de fragmentação para o novo composto formado (Figura 5.12).

Figura 5.12 - Proposta de fragmentação para o composto formado na oxidação com cloro e com dióxido de cloro.

Em estudos de oxidação com cloro, esse composto de m/z 310 não foi identificado por Quintana et al. (2010), mas foi identificado por Miyamoto et al. (1997). No entanto, esse composto de m/z 310 não foi encontrado em outros estudos de oxidação com dióxido de cloro.

Os espectros de fragmentação do composto de m/z 328 são apresentados na Figura 5.13. Os íons fragmentos observados foram de m/z 284 e 248.

Figura 5.13 - Espectros de íons fragmentos para m/z 328.

O composto observado (Figura 5.13) trata-se de uma cloração no DCF, como descrito por Miyamoto et al. (1997) e Quintana et al. (2010). A diferença de massa entre o DCF (295 g mol^{-1}) e o composto 329 g mol^{-1} trata-se da massa correspondente ao cloro, 34 g mol^{-1} . (Figura 5.14).

Figura 5.14 - Proposta da fragmentação para o composto de m/z 328.

Para o pico observado em 7,1 min com o íon de m/z 300, obteve-se o espectro de íons fragmentos apresentado na Figura 5.15.

Figura 5.15 - Espectro de íons fragmentos para a m/z 300.

O íon fragmento principal para o composto de m/z 300 foi o de m/z 161, o qual não pode ser fragmentado novamente devido à baixa quantidade e intensidade do composto. No entanto, com o experimento de fragmentação o composto foi caracterizado como um produto de degradação do DCF após a introdução de um átomo de cloro na molécula de DCF e

descarboxilação da mesma (Figura 5.16). Os dados foram condizentes com a estrutura proposta por Quintana et al. (2010) para o composto formado na oxidação do DCF com cloro.

Figura 5.16 - Proposta da estrutura e fragmentação do íon de $m/z\ 300$.

5.3.3 Identificação dos subprodutos do diclofenaco na oxidação com dióxido de cloro em água purificada

5.3.3.1 Amostras de água purificada sem diclofenaco (branco) oxidadas com dióxido de cloro

Os resultados obtidos para os brancos oxidados com ambas as concentrações de dióxido de cloro e tempos de contatos estudados (0,5, 12 e 24 h) apresentaram o mesmo perfil entre eles e em relação aos brancos oxidados com cloro. Diante disso, foi apresentado somente um cromatograma e seus respectivos espectros de massas referente à amostra do branco oxidada com $1,4\ \text{mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro e tempo de contato de 12 h, conforme apresentado na Figuras 5.17, 5.17a e 5.17b.

Figura 5.17 - Cromatograma do branco oxidado com $1,4\ \text{mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro e tempo de contato de 12 h.

Figura 5.17a - Espectro de massas para o pico em 2,1 min da Figura 5.17a.

Figura 5.17b – Espectro de massas para o pico em 3,2 min da Figura 5.17a.

5.3.3.2 Amostras de água purificada contendo diclofenaco oxidadas com dióxido de cloro

Da mesma forma que feito para o branco, para as amostras de água purificada contendo DCF e oxidadas com cloro, são apresentados os cromatogramas sobrepostos para o tratamento com dióxido de cloro, para facilitar a identificação de novos picos cromatográficos.

Nas Figuras 5.18 e 5.19 são apresentados os cromatogramas sobrepostos das amostras oxidadas com 0,5 mg L⁻¹ de dióxido de cloro, nos tempos de contato de 0,5, 12 e 24 h e os espectros de massas, respectivamente.

Em geral, o perfil apresentado pelos cromatogramas da Figura 5.18 foi semelhante para os três tempos de contato estudados. Mesmo após 30 min de tempo de contato, não foi observado pico no tempo de retenção do DCF (5,3 min). No entanto, empregando-se o método cromatográfico por HPLC-DAD, apresentado no Capítulo 3 deste trabalho, foi possível quantificar 6,5 µg L⁻¹ de DCF nessa amostra, verificando-se que ocorreu 99,4% de remoção de DCF, como pode ser verificado na Tabela 5.3 (item 5.3.1). A diferença observada com relação ao branco trata-se da presença dos dois picos em 3,9 e 4,3 min.

Analisando-se espectro de massas apresentado na Figura 5.19 pode-se observar a presença do íon molecular de *m/z* 310, o que indica que é o composto majoritário formado na

oxidação do DCF com dióxido de cloro. A proposta de fragmentação desse composto está apresentada na Figura 5.12.

(5.18a)

(5.18b)

(5.18c)

Figura 5.18 - Cromatogramas sobrepostos do branco (em vermelho) e da amostra com diclofenaco (em preto) oxidadas com 0,5 mg L⁻¹ de dióxido de cloro nos tempos de contato de: (a) 30 min; (b) 12 h e (c) 24 h.

Figura 5.19 - Espectro de massas para os picos em 3,9 e 4,3 min dos cromatogramas apresentados na Figura 5.18.

Nos cromatogramas da Figura 5.18 ficou evidente a presença de dois picos cromatográficos não separados. Pelo espectro de massas desses picos (em 3,9 e 4,3 min) verificou o mesmo íon molecular de m/z 310. Esses compostos também foram formados na oxidação com cloro, porém em menores quantidades, de acordo com a intensidade dos picos.

Novamente, como se trata de compostos de mesma massa molar (311 g mol^{-1}) e com a presença de uma hidroxila a mais do que o DCF, conclui-se que os compostos formados são o DCF hidroxilado em diferentes posições, ou seja, são isômeros de posição.

Não houve diferenças entre as amostras oxidadas com dióxido de cloro nas dosagens de $0,5$ e $1,4 \text{ mg L}^{-1}$, ou seja, apresentaram o mesmo perfil descrito anteriormente.

Os cromatogramas sobrepostos apresentados na Figura 5.20 são referentes às amostras oxidadas com $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro nos tempos de contato estudados ($0,5$, 12 e 24 h).

Figura 5.20 - Cromatogramas sobrepostos do branco (em vermelho) e da amostra contendo diclofenaco (em preto) oxidadas com $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro nos tempos de contato de: (a) 30 min ; (b) 12 h e (c) 24 h .

Por meio dos resultados obtidos, verificou-se que tanto o cloro quanto o dióxido de cloro são ativos para a degradação do DCF, porém o oxidante dióxido de cloro demonstrou ser mais eficiente que o cloro, uma vez que em menor concentração que o cloro já foi capaz de eliminar o DCF em 30 min de reação. Na oxidação com cloro ocorreu formação de três subprodutos (de massa molar igual a 311, 329 e 301 g mol⁻¹) enquanto que com o dióxido de cloro (para as duas concentrações estudadas) formou-se apenas os isômeros de posição de uma reação de hidroxilação de massa molar igual a 311 g mol⁻¹.

5.3.4 Identificação dos subprodutos do diclofenaco na oxidação com cloro e dióxido de cloro em água de estudo

Com o objetivo de verificar a formação de subprodutos, da mesma forma como foi feito em água purificada (Milli-Q), livre de interferentes, foram feitos ensaios de pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro com amostras de água preparada em laboratório com substâncias húmicas aquáticas (SHA) e caulinita (água de estudo com pH 6,80). A água de estudo foi preparada conforme descrito no item 4.2.1.6 do capítulo 4 deste trabalho. Esses experimentos foram feitos sem o ajuste do pH e com temperatura da água igual a 20 ± 1°C.

5.3.4.1 Amostras de água de estudo sem diclofenaco (brancos) oxidadas com cloro

Na Figura 5.21 estão apresentados os cromatogramas sobrepostos das amostras dos brancos (água de estudo sem DCF) oxidadas com 5 mg L⁻¹ de cloro nos tempos de contato de 0,5, 12 e 24 h.

Figura 5.21 - Cromatogramas sobrepostos das amostras de água de estudo sem diclofenaco oxidadas com 5 mg L⁻¹ de cloro nos tempos de contato de 30 min (em vermelho), de 12 h (em verde) e de 24 h (em preto).

Na Figura 5.22 estão apresentados os espectros de massas referentes aos picos nos tempos de retenção de 2,2, 3,3 e 3,8 min referente à Figura 5.21.

(5.22a)

(5.22b)

(5.22c)

Figura 5.22 – Espectros de massas referentes aos picos em: (a) 2,2 min; (b) 3,3 min e (c) 3,8 min dos cromatogramas apresentados na Figura 5.21.

5.3.4.2 Amostras de água de estudo sem diclofenaco (brancos) oxidadas com dióxido de cloro

Os mesmos resultados obtidos com os brancos das amostras de água purificada e oxidadas com cloro foram verificados para os brancos das amostras de água de estudo contendo substâncias húmicas aquáticas e oxidadas com cloro. Também foram obtidos os mesmos resultados para os brancos das amostras de água de estudo oxidadas com dióxido de cloro, nas duas concentrações estudadas ($0,5$ e $1,4 \text{ mg L}^{-1}$), conforme apresentado na Figura 5.23.

(5.23a)

(5.23b)

Figura 5.23 – (a) Cromatogramas sobrepostos das amostras de água de estudo oxidadas com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro nos tempos de contato de 30 min (em vermelho), 12 h (em verde) e 24 h (em preto); (b) Cromatogramas sobrepostos das amostras de água de estudo oxidadas com $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de dióxido de cloro nos tempos de contato de 30 min (em vermelho), 12 h (em verde) e 24 h (em preto).

Os espectros de massas referentes aos picos observados nos cromatogramas da Figura 5.23 estão apresentados na Figura 5.24.

Figura 5.24 - Espectros de massas referentes aos picos em (a) 2,2, (b) 3,3 e (c) 3,8 min dos cromatogramas apresentados na Figura 5.23.

5.3.4.3 Amostras de água de estudo contendo diclofenaco oxidadas com cloro

Na Figura 5.25 estão apresentados os cromatogramas sobrepostos obtidos das amostras de água de estudo contendo DCF oxidadas com cloro nos tempos de contato de 0,5, 12 e 24 h.

Figura 5.25 - Cromatogramas sobrepostos obtidos da amostra de água de estudo contendo diclofenaco oxidadas com cloro nos tempos de contato de 30 min (em preto), 12 h (em verde) e 24 h (em vermelho).

Por meio da Figura 5.25, verifica-se que após 30 min de oxidação com cloro ainda há presença de DCF na amostra e após 24 h de oxidação praticamente não foi observado pico de DCF. Para os demais picos observados e assinalados nos cromatogramas são apresentados os espectros de massas, conforme apresentado na Figura 5.26.

(5.26a)

(5.26b)

(5.26c)

Figura 5.26 - Espectros de massas dos picos em (a) 3,8 min, (b) 5,2 min e (c) 5,9 min dos cromatogramas apresentados na Figura 5.25.

O composto encontrado em 3,8 min corresponde ao íon molecular de m/z 310 (Figura 5.26a), conforme observado anteriormente nas amostras de água purificada com DCF oxidadas com cloro (Figura 5.7a). O composto formado de m/z 310 é provavelmente proveniente de uma reação de hidroxilação.

O composto em 5,2 min trata-se do DCF que restou na amostra após 30 min de oxidação com cloro, identificado pelo íon de m/z 294 (Figura 5.26b). Já o pico em 5,9 min trata-se do composto referente à cloração do DCF, confirmado pelo íon de m/z 328 (Figura

5.26c). Não foi verificada a presença do composto de m/z 300, como foi obtido na água purificada com DCF oxidada com cloro (Figura 5.9).

5.3.4.4 Amostras de água de estudo contendo diclofenaco oxidadas com dióxido de cloro

Os cromatogramas obtidos para as amostras de água de estudo contendo DCF e oxidadas com dióxido de cloro nas duas concentrações estudadas (0,5 e 1,4 mg L⁻¹) apresentaram picos nos mesmos tempos de retenção. Diante dessa similaridade, foi apresentado apenas o cromatograma obtido da amostra oxidada com 1,4 mg L⁻¹ de dióxido de cloro no tempo de contato de 30 min, conforme pode ser observado na Figura 5.27.

Figura 5.27 - Cromatograma obtido da amostra de água de estudo contendo diclofenaco oxidada com 1,4 mg L⁻¹ de dióxido de cloro no tempo de contato de 30 min.

Para a dosagem de 1,4 mg L⁻¹ de dióxido de cloro e 30 min de tempo de contato não foi verificada a presença de pico no tempo de retenção do DCF (5,2 min), indicando que possivelmente esse fármaco foi totalmente consumido na reação (Figura 5.27).

O cromatograma da Figura 5.27 representa, de maneira genérica, todos os cromatogramas obtidos para os ensaios com dióxido de cloro. Também, mesmo em baixa concentração de dióxido de cloro (0,5 mg L⁻¹) e tempo de contato de 30 min, não foi verificada a presença de DCF.

O pico observado em 4,0 min na Figura 5.27 refere-se ao composto inédito formado de massa molar 311 g mol⁻¹ (m/z 310), proveniente da reação de hidroxilação do DCF, conforme o espectro de massas apresentado na Figura 5.28.

Figura 5.28 - Espectro de massas do pico em 4,0 min do cromatograma apresentado na Figura 5.27.

De maneira geral, após as análises por LC-MS/MS foram identificados três subprodutos da oxidação do DCF com cloro e com dióxido de cloro, conforme apresentado na Figura 5.29.

Figura 5.29 - Subprodutos da oxidação do diclofenaco com cloro e com dióxido de cloro identificados por LC-MS/MS.

5.4 CONCLUSÃO

- Comparando os dois oxidantes estudados, o dióxido de cloro foi bem mais reativo com o diclofenaco do que o cloro e formou menos subprodutos.
- Na oxidação com cloro ocorreu formação de três subprodutos, de massa molar 311, 329 e 301 g mol⁻¹, enquanto que na oxidação com o dióxido de cloro (para as duas concentrações estudadas) houve a formação de apenas os isômeros de posição de uma reação de hidroxilação de massa molar igual a 311 g mol⁻¹.
- Na oxidação com cloro ocorreu preferencialmente a formação dos subprodutos de massa molar 329 e 301 g mol⁻¹ e o subproduto de massa molar 311 g mol⁻¹ foi identificado somente nos tempos de contato de 12 e 24 h.
- A presença de substâncias húmicas aquáticas (maior quantidade de ácidos fúlvicos, moléculas de menor massa molar) na água de estudo dificultou a remoção do diclofenaco e também foi verificada a formação de subprodutos como na água purificada, exceto o composto de m/z 300.
- O método empregado por LC-MS/MS possibilitou identificar os subprodutos do DCF formados na oxidação com cloro e dióxido de cloro. No entanto, esse método foi apenas qualitativo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

6

6.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido ao fato de não existirem normas que regulamentem a presença de resíduos de fármacos em água de consumo humano e dos possíveis efeitos adversos dos fármacos e seus subprodutos à saúde humana, justifica-se a importância de se estudar o tratamento de água em ciclo completo (tratamento convencional) complementado com a pré-oxidação e adsorção em CAG na remoção do DCF e a identificação de subprodutos.

A tecnologia de tratamento em ciclo completo é a mais empregada no Brasil e neste estudo demonstrou ser ineficiente na remoção do DCF considerando as etapas de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia e de pós-cloração com tempo de contato de 30 min. Uma taxa de remoção de DCF considerável ocorreu nas etapas de pós-cloração com tempo de contato de 24 h (cerca de 97% de remoção) e na de adsorção em CAG (> 99,7% de remoção).

Quando as etapas de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia foi complementado com a pré-oxidação, tanto com cloro como com dióxido de cloro (oxidantes e desinfetantes mais empregados em ETA no Brasil), houve uma parcela de remoção de DCF, sendo relativamente maior para o dióxido de cloro (cerca de 25%) do que para o cloro (cerca de 15%). Entretanto, verificou-se que quando empregado o cloro como pré-oxidante formou clorofórmio e subprodutos do DCF oxidado ($C_{14}H_{11}Cl_2NO_3$, $C_{13}H_{10}Cl_3N$ e $C_{14}H_{10}Cl_3NO_2$) que possivelmente são mais tóxicos do que o DCF inalterado, devido à cloração na molécula.

Com o dióxido de cloro foi identificado apenas um subproduto do DCF hidroxilado de fórmula molecular igual a $C_{14}H_{11}Cl_2NO_3$. A remoção de DCF na água de estudo preparada com SHA e caulinita foi menor que na água purificada pelo sistema Milli-Q.

Os resultados obtidos neste estudo podem ser relacionados com a remoção de outros fármacos com características similares ao do DCF em tratamento de água convencional. Além disso, ficou comprovada a necessidade do uso de novas tecnologias de tratamento de água

para remoção de fármacos. O emprego de CAG demonstrou ser uma boa alternativa para esse caso.

6.2 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Uma vez que no presente estudo etapas do tratamento de água em ciclo completo complementado com a pré-oxidação com cloro e dióxido de cloro foi ineficiente na remoção do DCF, sugere-se realizar estudos com outros tipos de fármacos e em menor concentração.
- É necessário a obtenção de dados sobre os mecanismos de remoção dos fármacos e de formação de subprodutos associados a esses compostos em processos de tratamento de água.
- Recomenda-se avaliar a toxicidade do DCF, principalmente crônica, e de seus subprodutos formados na oxidação com cloro e dióxido de cloro, em organismos aquáticos e terrestres.
- Há necessidade de se desenvolver estudos a longo prazo relativos à exposição humana indireta a baixas concentrações de fármacos e de misturas desses compostos, metabólitos e subprodutos gerados no tratamento de água.
- Estudar a cinética de reação para a oxidação do DCF por cloro e dióxido de cloro em diferentes condições (pH, temperatura, dosagens, tempo de contato).
- Avaliar a capacidade de adsorção do CAG de babaçu na remoção de outros fármacos, bem como avaliar outros tipos de carvão ativado na remoção de DCF.
- Estudar a capacidade do CAG de babaçu na remoção de DCF avaliando a vazão e volume de ruptura.
- Aprimorar os métodos analíticos de SPE e HPLC-DAD empregados neste trabalho objetivando alcançar limites de detecção ainda menores (da ordem de ng L^{-1}) ou desenvolver novos métodos de extração empregando, por exemplo, microextração em fase sólida (SPME), e até mesmo o emprego de LC/MS ou LC/MS/MS para a quantificação de DCF em menor concentração (na ordem de ng L^{-1}) após as etapas de tratamento de água.
- Avaliar os processos não convencionais para o tratamento de água contendo fármacos, que poderiam ser futuramente combinados aos processos convencionais já em operação nas ETA para aumentar a eficiência na remoção desses compostos (como lodo ativado, osmose inversa, ozonização, nanofiltração, processos oxidativos avançados, dentre outros).
- Fazer planejamento experimental com o uso de estatística.
- Realizar estudos de monitoramento da presença de microcontaminantes emergentes em mananciais brasileiros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, I.; FUKUHARA, T.; MARUYAMA, J.; TATSUMOTO, H.; IWASAKI, S. Preparation of carbonaceous adsorbents for removal of chloroform from drinking water. **Carbon**, v. 39, p. 1069-1073, 2001.

ADAMS, C.; WANG, Y.; LOFTIN, K.; MEYER, M. Removal of antibiotics from surface and distilled water in conventional water treatment processes. **Journal of Environmental Engineering**, v. 128, p. 253-260, 2002.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guias para validação de métodos analíticos e bionalíticos**. Resolução nº 899 de 29 de maio de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm#>. Acesso em: 17 maio 2008.

AIKEN, G. R. Isolation and concentration techniques for aquatic humic substances. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, M. D.; WERSHAW, L. D.; MACCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley, 1985. p. 363-385.

AIKEN, G.; MCKNIGHT, D. M.; THORN, K. A.; THURMAN, E. M. Isolation of hydrophilic organic acids from water using nonionic macroporous resins. **Organic Geochemistry**, v. 18, p. 567-573, 1992.

ALAM, M. Z. B.; CANTWELL, R. E.; HOFMANN, R.; ANDREWS, R. C.; RAND, J. L.; GAGNON, G. A.; VANDERMARCK, M.; MOFFAT, E.; ANDREWS, S. A. Effect of ClO₂ pretreatment on subsequent water treatment processes. **Journal of Environmental Engineering**, v. 134, p. 478-485, 2008.

ALMEIDA, C. M. M. Desinfecção com dióxido de cloro. **Boletim da Sociedade Portuguesa de Química**, n.105, p. 21-29, 2007.

ALMEIDA, R. N. H. M.; MOZETO, A. A.; ZARA, L. F.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; ROMÃO, L. P. C.; SARGENTINI JUNIOR, E. Extração de matéria orgânica aquática por abaixamento de temperatura: uma metodologia alternativa para manter a identidade da amostra. **Química Nova**, v. 26, p. 208-212, 2003.

AMIRTHARAJAH, A.; MILLS, K. M. Rapid-mix design for mechanisms of alum coagulation. **Journal American Water Works Association**, v. 74, p. 200-216, 1982.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Standard Practice for Determination of Adsorptive capacity of activated carbon by aqueous phase isotherm technique**. ASTM D3860-98, 1998. p. 47-49.

ANDREOZZI, R.; MAROTTA, R.; PAXE'US, N. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. **Chemosphere**, v. 50, p. 1319-1330, 2003.

ARAÚJO, A. B.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; ROMÃO, L. P. C. Distribuição de metais e determinação da constante de troca de frações húmicas aquáticas de diferentes tamanhos moleculares. **Química Nova**, v. 25, p. 1103-1107, 2002.

ARTINGER, R.; BUCKAU, G.; GEYER, S.; FRITZ, P.; WOLF, M.; KIM, J. I. Characterization of groundwater humic substances: influence of sedimentary organic carbon. **Applied Geochemistry**, v. 15, p. 97-116, 2000.

AWWA. Coagulation as an integrated water treatment process. **Journal American Water Works Association**, v. 81, p. 72-78, 1989.

BANKS, A. T.; ZIMMERMAN M.D.H.J.; ISHAK, K. G.; HARTER, J. G. Diclofenac-associated hepatotoxicity: analysis of 180 cases reported to the food and drug administration as adverse reactions. **Hepatology**, v. 22, p. 820-827, 1995.

BARCELÓ, D. Pharmaceutical-residue analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 454-455, 2007.

BARCELÓ, D.; HENNION M. C. **Trace determination of pesticides and their degradation products in water**. 3^a ed. The Netherlands: Elsevier, 1997. 542 p.

BARTELS, P.; WOLF VON TÜMPLING, J. R. Solar radiation influence on the decomposition process of diclofenac in surface waters. **Science of the Total Environment**, v. 374, p. 143-155, 2007.

BENDZ, D.; PAXÉUS, N. A.; GINN, T. R.; LOGE, F. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environmental, a case study: Høje River in Sweden. **Journal of Hazardous Materials**, v. 122, p. 195-204, 2005.

BEDDING, N. D.; MCINTYRE, A. E.; PERRY, R.; LESTER, J. N. Organic contaminants in the aquatic environmental II. Behavior and fate in the hydrological cycle. **Science of the Total Environment**, v. 26, p. 255-312, 1983.

BEDNER, M.; MACCREHAN, W. A. Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine. **Environmental Science and Technology**, v. 40, p. 516-522, 2006.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, p. 523-530, 2003.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, p. 651-666, 2007.

BOLEDA, M. R.; GALCERAN, M. T.; VENTURA, F. Behavior of pharmaceuticals and drugs of abuse in a drinking water treatment plant (DWTP) using combined conventional and ultrafiltration and reverse osmosis (UF/RO) treatments. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 1584-1591, 2011.

BOUGEARD, C. M.; GOSLAN, E. H.; JEFFERSON, B.; PARSONS, S. A. Comparison of the disinfection by-product formation potential of treated waters exposed to chlorine and monochloramine. **Water Research**, v. 44, p. 729-740, 2010.

BOTERO, Wander Gustavo. **Substâncias húmicas: interações com nutrientes e contaminantes**. 2010. 75 p. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

BOYD, G. R.; REEMTSMA, H.; GRIMM, D. A.; MITRA, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. **The Science of the Total Environment**, v. 311, p. 135-149, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Norma de Qualidade da Água para Consumo Humano. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. Disponível em: <<http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2004/GM/GM-518.htm>>. Acesso em: 07 nov. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Norma de Qualidade da Água para Consumo Humano. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011. Disponível em: <http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/Portaria_MS_2914-11.pdf>. Acesso em: 07 fev. 2012.

BRAVARD, S.; RICHI, D. Characterization of fulvic and humic acids from an Oxisol-spodosol toposequence of Amazonia, Brazil. **Geoderma**, v. 48, p. 151-162, 1991.

BRUN, G.; BERNIER, M.; LOSIER, R.; JACKMAN, P.; DOE, K.; LEE, H. B. Pharmaceutically active compounds in Atlantic Canada sewage treatment plant effluents and receiving waters, and potential for environmental effects as measured by acute and chronic toxicity. **Environmental Toxicology Chemistry**, v. 25, p. 66-79, 2006.

BUCHBERGER, W. Novel analytical procedures for screening of drug residues in water, waste water, sediment and sludge. **Analytica Chimica Acta**, v. 593, p. 129-139, 2007.

BURBA, P.; ASTER, B.; NIFANTEVA, T.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, B. YA. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview. Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultra filtration. **Talanta**, v. 45, p. 977-988, 1998.

BURBA, P.; FEDOROVA, O.; NIFANTEVA, T.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, B. YA. Ultra filtration and determination of Zn- and Cu-humic substances complexes stability constants. **Talanta**, v. 53, p.1127-1131, 2001.

BUSER, H. R.; POIGER, T.; MÜLLER, M. D. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. **Environmental Science Technology**, v. 32, p. 3449-3456, 1998.

CAMPOS, S. X.; AZEVEDO, E. R.; BONAGAMBA, T. J.; VIEIRA, E. M.; DI BERNARDO, L. Color removal by coagulation, flocculation and sedimentation from water containing humic substances with different apparent molecular sizes. **Journal of Water Supply: Research and Technology (AQUA)**, v. 56, p. 327-33, 2007.

CAMEL, V. Solid phase extraction of trace elements. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 58, p. 1177-1233, 2003.

CANOSA, P.; RODRIGUEZ, I.; RUBI, E.; NEGREIRA, N.; CELA, R. Formation of halogenated by-products of parabens in chlorinated water. **Analytica Chimica Acta**, v. 575, p. 106-113, 2006.

CARPINTEIRO, J.; QUINTANA, J. B.; MARTÍNEZ, E.; RODRÍGUEZ, I.; CARRO, A. M.; LORENZO, R. A.; CELA, R. Application of strategic sample composition to the screening of anti-inflammatory drugs in water samples using solid-phase microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 524, p. 61-71, 2004.

CASTIGLIONI, A.; FANELLI, R.; CALAMARI, D.; BAGNATI, R.; ZUCCATO, E. Methodological approaches for studying pharmaceuticals in the environment by comparing predicted and measured concentrations in River Po, Italy. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 39, p. 25-32, 2004.

CASTRO, W. V.; OLIVEIRA, M. A.; NUNAN, E. A.; CAMPOS, L. M. M. Avaliação da qualidade e perfil de dissolução de comprimidos gastro-resistentes de diclofenaco sódico 50 mg comercializados no Brasil. **Revista Brasileira Farmacêutica**, v. 86, p. 45-50, 2005.

CONSULTATIVE GROUP ON INTERNATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH (CGIAR). Scientists and farmers create improved crops for a water-scarce world. 2000. Disponível em: <<http://www.cgiar.org/newsroom/releases/news.asp?idnews=174>>. Acesso em: 12 fev. 2012.

CHAMBERLAIN, E.; ADAMS, C. Oxidation of sulfonamides, macrolides and carbadox with free chlorine and monochloramine. **Water Research**, v. 40, p. 2517-2526, 2006.

CHEN, H.-C.; WANG, P.-L.; DING, W.-H. Using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry to determine pharmaceutical residues in Taiwanese rivers and wastewaters. **Chemosphere**, v. 72, p. 863-869, 2008.

CHIN, Y. P.; AINKEN, G. R.; DANIELSEN, K. M. Binding of pyrene to aquatic and commercial humic substances: the role of molecular weight and aromaticity. **Environmetal Science Technology**, v. 31, p. 1630-1635, 1997.

CHOI, K.; KIMA, S.; KIMB, S. Removal of antibiotics by coagulation and granular activated carbon filtration. **Journal of Hazardous Materials**, v. 151, p. 38-43, 2008.

CHRISTENSEN, F. M. Pharmaceuticals in the environment-a human risk?. **Regulatory toxicology and pharmacology**, v. 28, p. 212-221, 1998.

CLAUDINO, Andréia. **Preparação de carvão ativado a partir de turfa e sua utilização na remoção de poluentes**. 2003. 90 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina , Florianópolis, 2003.

CLEUVERS, M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 59, p. 309-315, 2004.

COMUNIDADE EUROPÉIA. The Drinking Water Directive (DWD). 1998. Directiva 83/98EC. Disponível em: <http://ec.europa.eu/environment/water/water-drink/reporting_en.html>. Acesso em: 15 fev. 2012.

CONTE, P.; PICCOLO, A. Conformational arrangement of dissolved humic substances: influence of solution composition on association of humic molecules. **Environmental Science Technology**, v. 33, p. 1682-1690, 1999.

CRITTENDEN, J. C.; VAITHEESWARAN, K.; HAND, D. W.; HOWE, E. W.; IETA, M. E.; TATE, C. H.; MCGUIRE, M. J.; DAVIS, M. K. Removal of dissolved organic carbon using granular activated carbon. **Water Research**, v. 27, p. 715-721, 1993.

DĄBROWSKA, A.; KASPRZYK HORDERN, B.; NAWROCKI, J. Aldehydes formation during water disinfection by ozonation and chlorination process. **Global Nest Journal**, v. 7, p. 61-71, 2005.

DĄBROWSKA, A.; ŚWIETLIK J.; NAWROCKI, J. Formation of aldehydes upon ClO₂ disinfection. **Water Research**, v. 37, p. 1161-1169, 2003.

DANIEL, L. A.; BRANDAO, C. C. S.; GUIMARAES, J. R.; LIBANIO, M.; LUCAS, S. J. **Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável**. Rio de Janeiro: PROSAB/ABES, 2001. 155 p. (Projeto PROSAB).

DANTAS, A. D. B.; PASCHOALATO, C. F. P. R.; RUEDA, R.; DI BERNARDO, L. Pré-oxidação e adsorção em carvão ativado granular para remoção dos herbicidas diuron e hexazinona de água subterrânea. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, p. 373-380, 2009.

DAUGHTON, C. G.; TERNES, T. A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?. **Environmental Health Perspectives**, v. 107, p. 907-938, 1999.

DAUGHTON, C. G.; JONES-LEPP, T. **Pharmaceuticals and personal care products in the environment**: scientific and regulatory issues. Washington: American Chemical Society, 2001. 396 p.

DANESHVAR, A.; ABOULFADL, K.; VIGLINO, L.; BROSÉUS, R.; SAUVÉ, S.; MADOUX-HUMERY, A.-S.; WEYHENMEYER, G. A.; PRÉVOST, M. Evaluating pharmaceuticals and caffeine as indicators of fecal contamination in drinking water sources of the Greater Montreal region. **Chemosphere**, v. 88, p. 131-139, 2012.

DE JULIO, M.; DE JULIO, T. S.; DI BERNARDO, L. Efeito sinérgico do Fe^{+2} e H_2O_2 na reação de Fenton empregado no tratamento de águas de abastecimento contendo substâncias húmicas. **Engenharia Ambiental**, v. 6, p. 718-737, 2009.

DIALLO, M. S.; SIMPSON, A.; GASSMAN, P.; FAULON, J. L.; JOHNSON, J. H.; GODDARD, W. A.; HATCHER, P. G. 3-D. Structural modeling of humic acids through experimental characterization, computer assisted structure elucidation and atomistic simulations. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 1783-1793, 2003.

DI BERNARDO, A. S. **Desempenho de sistemas de dupla filtração no tratamento de água com turbidez elevada**. 2004. 281 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. 2ª ed. São Carlos: RiMa, 2005. 1600 p.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B.; VOLTAN, P. E. N. **Tratabilidade de água e dos resíduos gerados em estações de tratamento de água**. São Carlos: LDiBe, 2011. 454 p.

DIETRICH, D. R.; PRIETZ, A. Fish embryotoxicity and teratogenicity of pharmaceuticals, detergents and pesticides regularly detected in sewage treatment plant effluents and surface waters. **Toxicological Sciences**, v. 48, p. 151, 1999.

DROSTE, R. L. **Theory and practice of water and wastewater treatment**. New York: John Wiley, 1997. 800 p.

DUAN, J.; GREGORY, J. Coagulation by hydrolysing metal salts. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 100, p. 475-502, 2003.

EDZWALD, J. K. Coagulation in drinking water treatment: particles, organics and coagulants. **Water Science and Technology**, v. 27, p. 21-35, 1993.

EDWARDS, G. A.; AMIRTHARAJAH, A. Removing color caused by humic acid. **Journal of American Water Works Association**, v. 77, p. 50-57, 1985.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4^a ed. São Paulo: Atheneu. 2002. Parte II, p.144.

FERRARI, B.; PAXÉUS, N.; GIUDICE, R. L.; POLLIO, A.; GARRIC, J. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 55, p. 359-370, 2003.

FLAHERTY, C.; DODSON, S. Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction. **Chemosphere**, v. 61, p. 200-207, 2005.

GARRISON, A. W.; POPE, J. D.; ALLEN, F. R. GC/MS analysis of organic compounds in domestic wastewaters. In: KEITH, L. H. (Ed.). **Identification and analysis of organic pollutants in water**. Ann Arbor: Ann Arbor Science Publishers, 1976. p. 517-556.

GATES, D. **The chlorine dioxide handbook**. Denver: American Water Works Association, 1998. 186 p.

GEBHARDT, W.; SCHRÖDER, H. F. Liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry for the follow-up of the elimination of persistent pharmaceuticals during wastewater treatment applying biological wastewater treatment and advanced oxidation. **Journal of Chromatography**, v. 1160, p. 34-43, 2007.

GHISELLI, G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. 2006. 190 p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

GIBBS, J.; STACKELBERG, P. E.; FURLONG, E.T.; MEYER, M.; ZAUGG, S. D.; LIPPINCOTT, R. L. Persistence of pharmaceuticals and other organic compounds in chlorinated drinking water as a function of time. **Science of the Total Environment**, v. 373, p. 240-249, 2007.

GONCE, N.; VOUDRIAS, E. A. Removal of chlorite and chlorate ions from water using granular activated carbon. **Water Research**, v. 28, p. 1059-1069, 1994.

HANS-RUDOLF, B.; POIGER, T.; MULLE R, D. M. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. **Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 3449-3456, 1998.

HAO, C.; SHAO, X.; YANG, P. GC-MS and HPLC-MS analysis of bioactive pharmaceuticals and personal-care products in environmental matrices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 569-580, 2007.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. G. **Goodman & Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005. 1647 p.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 6^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. 876 p.

HARTIG, C.; ERNST, M.; JEKEL, M. Membrane filtration of two sulphonamides in tertiary effluents and subsequent adsorption on activated carbon. **Water Research**, v. 35, p. 3998-4003, 2001.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology Letters**, v. 131, p. 5-7, 2002.

HEBERER, T.; REDDERSEN, K.; MECHLINSKI, A. From municipal sewage to drinking water: fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment in urban areas. **Water Science Technology**, v. 46, p. 81-88, 2002.

HE, C.; LONG, Y.; PAN, J.; LI, K.; LIU, F. Application of molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of analytes from real samples. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, p. 133-150, 2007.

HERNANDO, M. D.; HEAT, E.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Trace-level determination of pharmaceutical residues by LC-MS-MS in natural and treated waters. A pilot-survey study. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 385, p. 985-991, 2006.

HERNÁNDEZ, F.; SANCHO, J. V.; IBAÑEZ, M.; GUERRERO, C. Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 466-485, 2007.

HIGNITE, C.; AZARNOFF, D. L. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. **Life Sciences**, v. 20, p. 337-341, 1977.

HOIGNÉ, J.; BADER, H. Kinetics of reactions of chlorine dioxide (OClO) in water - I. Rate constants for inorganic and organic compounds. **Water Research**, v. 28, p. 45-55, 1994.

HUANG, Q.; YU, Y.; TANG, C.; ZHANG, K.; CUI, J.; PENG, X. Occurrence and behavior of non-steroidal anti-inflammatory drugs and lipid regulators in wastewater and urban river water of the Pearl River Delta, South China. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, p. 885-863, 2011.

HUBER, M. M.; CANONICA, S.; PARK, G. Y.; VON GUNTEN, U. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 1016-1024, 2003.

HUBER, M. M.; KORHONEN, S.; TERNES, T. A.; GUNTEN, U. V. Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. **Water Research**, v. 39, p. 3607-3617, 2005.

IKEHATA, K.; NAGHASHKAR, N. J.; EL-DIN, M. G. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: a review. **Ozone: Science and Engineering**, v. 28, p. 353-414, 2006.

INABA, K.; DOI, T.; ISOBE, N.; YAMAMOTO, T. Formation of bromo-substituted triclosan during chlorination by chlorine in the presence of trace levels of bromide. **Water Research**, v. 40, p. 2931-2937, 2006.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH). **Validation of analytical procedures: definitions and terminology**. Rockville, 1995. Q2A (CPMP/ICH/381/95).

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH). **Validation of analytical procedures: methodology**. Rockville, 1995a. Q2B (CPMP/ICH/281/95).

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION (ISO). **General requirements for the competence of testing and calibration laboratories**. Switzerland, 2005. ISO/IEC 17025.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). **Orientações sobre validação de métodos analíticos (DOQ-CGCRE-008)**. 2011. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf>. Acesso em: 28 maio 2012.

IRVINE, S. AMY, G. **A resistance model for evaluating interactions between natural organic matter (NOM) and membranes at different scales of operation**. 1999. Disponível em: <<http://www.usbr.gov/pmts/water/media/pdfs/report044.pdf>> Acesso em: 12 mar. 2011.

IVANCEV-TUMBAS, I.; DALMACIJA, B. Effects of coagulation processes on aldehydes formation in groundwater treated with common oxidative agents. **Water Research**, v. 35, p. 3950-3958, 2001.

JAGUARIBE, E. F.; MEDEIROS, L. L.; BARRETO, M. C. S.; ARAUJO, L. P. The performance of activated carbons from sugarcane bagasse, babassu, and coconut shells in removing residual chlorine. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 22, p. 41-47, 2005.

JANKOWSKA, H.; SWIATKOWSKI, A.; CHOMA, J. **Active carbon**. Warsaw: Simon and Schuster International Group, 1991. 279 p.

JOHNSON, P. N.; AMIRTHARAJAH, A. Ferric chloride and alum as single and dual coagulants. Research and technology. **Journal American Water Works Association**, v. 75, p. 232-239, 1983.

JONES, O.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. Potential ecological and human health risks associated with the presence of pharmaceutically active compounds in the aquatic environment. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 34, p. 335-350, 2004.

JONES, O. A.; LESTER, N.; VOULVOULIS, N. Pharmaceuticals: a treat to drinking water?. **Trends in Biotechnology**, v. 23, p. 163-167, 2005.

JORGENSEN, S. E.; HALLING-SORENSEN, B. Editorial: drugs in the environment. **Chemosphere**, v. 40, p. 691-699, 2000.

JULIEN, F.; GUEROUX, B.; MAZET, M. Comparison of organic compounds removal by coagulation-flocculation and by adsorption onto preformed hydroxide floc. **Water Research**, v. 28, p. 2567-2574, 1994.

JUNKER-BUCHHEIT, A.; WITZENBACHER, M. Pesticide monitoring of drinking water with the help of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 737, p. 67-74, 1996.

KALETA, J.; ELEKTOROWICZ, M. Removal of humic substances from aqueous solutions by the coagulation process. **Environmental Technology**, v. 30, p. 119-127, 2009.

KARANFIL, T.; KITIS, M.; KILDUFF, J. E.; WIGTON, A. Role of granular activated carbon surface chemistry on the adsorption of organic compounds. 2. Natural organic matter. **Environmental Science and Technology**, v. 33, p. 3225-3233, 1999.

KHALAF, H.; SALSTE, L.; KARLSSON, P.; IVARSSON, P.; JASS, J.; OLSSON, P. E. In vitro analysis of inflammatory responses following environmental exposure to pharmaceuticals and inland waters. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 1452-1460, 2009.

KIM, S. D.; CHO, J.; KIM, I. S.; VANDERFORD, B. J.; SNYDER, S. A. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. **Water Research**, v. 41, p. 1013-1021, 2007.

KIMURA, K.; HARA, H.; WATANABE, Y. Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors (MBRs). **Desalination**, v. 178, p. 135-140, 2005.

KLEYWEGT, S.; SMYTH, S. A.; PARROTT, J.; SCHAEFER, K.; LAGACÉ, E.; PAYNE, M.; TOPP, E.; BECK, A.; MCLAUGHLIN, A.; OSTAPYK, K. Drinking Water Treatment. In: WORKSHOP PHARMACEUTICALS AND PERSONAL CARE PRODUCTS IN THE CANADIAN ENVIRONMENT, 8., 2007, Ontario. **Proceedings...**Canada: Research and Policy Directions, 2007. p. 30-31.

KNAPPE, D. R. U.; MATSUI, Y.; SNOEYINK, V. L.; ROCHE, P.; PRADOS, M. J.; BOURBIGOT, M. M. Predicting the capacity of powder activated carbon for trace organic compounds in natural waters. **Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 1694-1698, 1998.

KOLPIN, D. A.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, hormones, and other wastewater organic contaminants in U.S. streams 1999–2000—a National reconnaissance. **Environmental Science and Technology**, v. 36, p. 1202-1211, 2002.

KOMULAINEN, H. Experimental cancer studies of chlorinated by-products. **Toxicology**, v. 198, p. 239-248, 2004.

KOSJEK, T.; HEATH, E.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Mass spectrometry for identifying pharmaceutical biotransformation products in the environment. **Trends Analytical chemistry**, v. 26, p. 1076–1085, 2007.

KOSJEK, T.; HEATH, E. Applications of mass spectrometry to identifying pharmaceutical transformation products in water treatment. **Trends Analytical Chemistry**, v. 27, p. 807-820, 2008.

KRASNER, S. W.; AMY, G. Jar-test evaluations of enhanced coagulation. **Journal of American Water Works Association**, v. 87, p. 93-107, 1995.

KRASNER, S. W.; YATES, R.; AND LIANG, S. DBP formation for chlorine dioxide/chlorine/chloramine disinfection. In: WATER QUALITY TECHNOLOGY CONFERENCE, 2003, Philadelphia. **Proceedings...**Pennsylvania: American Water Works Association, 2003.

KRULL, I.; SWARTZ, M. Frequently asked questions about analytical method validation. **LC-GC**, v.16, p. 464-467, 1998.

KÜMMERER, K.; HELMERS, E. Hospitals as a source of gadolinium in the aquatic environment. **Environmental Science Technology**, v. 34, p. 573-577, 2000.

KUSTER, M.; ALDA, M. J. L.; HERNANDO, M. D.; PETROVIC, M.; MARTIN-ALONSO, J.; BARCELO, D. Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). **Journal of Hydrology**, v. 358, p. 112-123, 2008.

LANÇAS, F. M. **Extração em Fase sólida (SPE)**. São Carlos: Editora RiMa, 2004. 96 p.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D. A.; BRINK, D. R. **Ozone in water treatment: application and engineering**. Chelsea: Lewis Publishers, 1991. 569 p.

LAPOLLI, F. R.; HASSEMER, M. E. N.; CAMARGO, J. G.; DAMÁSIO, D. L.; LOBO-RECIO, M. A. Desinfecção de efluentes sanitários através de dióxido de cloro. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, p. 200-208, 2005.

LAPWORTH, D. J.; BARAN, N.; STUART, M. E.; WARD, R. S. Emerging organic contaminants in groundwater: a review of sources, fate and occurrence. **Environmental Pollution**, v. 163, p. 287-303, 2012.

LEE, S.; QUYET, N.; LEE, E.; KIM, S.; LEE, S.; JUNG, Y. D.; CHOI, S. H.; CHO, J. Efficient removals of tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP) and perchlorate using NF membrane filtrations. **Desalination**, v. 221, p. 234-237, 2008.

LEE, H. B.; PEART, T. E.; SVOBODA, M. L. Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1094, p. 122-129, 2005.

LEENHEER, J. A.; CROUÉ, J. P. Characterizing aquatic dissolved organic matter. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 18a-26a, 2003.

LEITNER, N. K. V.; LAAT, J.; DORE, M.; SUTY, H.; POUILLOT, M. Chlorite and chlorine dioxide removal by activated carbon. **Water Research**, v. 26, p. 1053-1066, 1992.

LIANG, L.; SINGER, P. C. Factors influencing the formation and relative distribution of haloacetic acids and trihalomethanes in drinking water. **Environmental Science and Technology**, v. 37, p. 2920–2928, 2003.

LINDQVIST, N.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. **Water Research**, v. 39, p. 2219-2228, 2005.

LOOS, R.; GAWLIK, B. M.; LOCORO, G.; RIMAVICIUTE, E.; CONTINI, S.; BIDOGLIO, G. EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 561-568, 2009.

MACCARTHY, P.; RICE, J. A. Spectroscopic methods (other than NMR) for determining functionality in humic substances. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, M. D.; WERSHAW, L. D.; MACCARTHY, P., (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley, 1985. p. 327-360.

MAHNIK, S. N.; RIZOVSKI, B.; FUERHACKER, M.; MADER, R. M. Development of an analytical method for the determination of anthracyclines in hospital effluents. **Chemosphere**, v. 65, p.1419-1425, 2006.

MALCOM, R. L. Geochemistry of stream fulvic and humic substances. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, D. M.; WERSHAW, R. L.; MACCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley, 1985. p. 181-209.

MALCOLM, R. L.; MACCARTHY, P. Quantitative evaluation of XAD-8 and XAD-4 resins used in Tandem for removing organic solutes from water. **Environmental International**, v. 18, p. 597-607, 1992.

MANOLI, E.; SAMARA, C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, p. 417-428, 1999.

MARTINEZ, M. S.; PIZA, A. V. T.; DANTAS, A. D. B.; PASCHOALATO, C. F. P. R.; DI BERNARDO, L. Remoção dos herbicidas diuron e hexazinona de água por adsorção em carvão ativado. **DAE**, v. 1, p. 35-39, 2010.

MARTINEZ BUENO, M.; HERNANDO, M.; HERRERA, S.; GÓMEZ, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.; BUSTAMANTE, I; GARCÍA-CALVO, E. Pilot survey of chemical contaminants from industrial and human activities in river waters in Spain. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 90, p. 321-343, 2010.

MASSCHELEIN, W. J. **Unit processes in drinking water treatment**. New York: Marcel Dekker, 1992. p. 32-65.

MATILAINEN, A.; VEPSÄLÄINEN, M.; SILLANPÄÄ, M. Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: a review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 159, p. 189-197, 2010.

MENDES, F. R.; MOREIRA, B. S. S.; CORTEZ, F. S.; SANTOS, A. R.; CÉSAR, A. Avaliação do efeito agudo dos fármacos ibuprofeno e diclofenaco através de teste de toxicidade com *Daphnia similis*. **Revista Ceciliana**, v. 2, p. 9-12, 2010.

MESTRE, A. S.; PIRES, J.; NOGUEIRA, J. M. F.; CARVALHO, A. P. Activated carbons for the adsorption of ibuprofen. **Carbon**, v. 45, p. 1979-1988, 2007.

MEYER, S. T. O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**, v. 10, p. 99-110, 1994.

MEYERS, P. A.; ISHIWATARI, R. Lacustrine organic geochemistry - an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. **Organic Geochemistry**, v. 20, p. 867-900, 1993.

MIYAMOTO, G.; ZAHID, N.; UETRECHT, J. P. Oxidation of diclofenac to reactive intermediates by neutrophils, myeloperoxidase, and hypochlorous acid. **Chemical Research in Toxicology**, v. 10, p. 414-419, 1997.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia river, São Paulo state (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 1452-1462, 2011.

MOMPELAT, S.; BOT, B. L.; THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. **Environment International**, v. 35, p. 803-814, 2009.

MORASCH, B.; BONVIN, F.; REISER, H.; GRANDJEAN, D.; ALENCASTRO, L. F.; PERAZZOLO, C.; CHÈVRE, N.; KOHN, T. Occurrence and fate of micropollutants in the vidy bay of lake Geneva, Switzerland. Part II: Micropollutant removal between wastewater and raw drinking water. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, p. 1658-1668, 2010.

MULLER, J. J. A. **Toxicological limits**. Toxicological limits of medicines in drinking-water. Holanda: RIVM, 2002, p.35-45. (Repport, M/703719/004/2003). Disponível em: <www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten>. Acesso em: 12 dez. 2011.

MULROY, A. Monitoring and analysis of water and wastes. **Water Environmental Technology**, v. 13, p. 32-36, 2001.

MUTTAMARA, S.; SALES, C. I.; GAZALI, Z. The formation of thihalomethanos from chemical disinfectantes and humic substances in drinking water. **Water Supply**, v. 13, p. 105-17, 1995.

NARSRIN, R. K.; CAMPBELL, M.; SANDI, G.; GOLAZ, J. Production of micro-and mesoporous activated carbon from paper mill sludge. **Carbon**, v. 38, p. 1905-1915, 2000.

NAVALON, S.; ALVARO, M.; ALCAINA, I.; GARCIA, H. Multimethod characterization of DOM from the Turia river (Spain). **Applied Geochemistry**, v. 25, p. 1632-1643, 2010.

NEGREIRA, N.; CANOSA, P.; RODRI'GUEZ, I.; RAMIL, M.; RUBI, E.; CELA, R. Study of some UV filters stability in chlorinated water and identification of halogenated by-products by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1178, p. 206-214, 2008.

ODEGAARD, H.; EIKEBROKK, B.; STORHAUG, R. Processes for the removal of humic substances from water – an overview based on Norwegian experiences. **Water Science Technology**, v. 40, p. 37-46, 1999.

OLIVEIRA, L. C.; JUNIOR, É. S.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; SIMÕES, M. L.; MARTINETO, L.; SILVA, W. T. L.; SERUDO, R. L. The influence of seasonality on the structural characteristics of aquatic humic substances extracted from Negro river (Amazon state) waters: interactions with Hg(II). **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 860-868, 2007.

ÖNAL, Y.; AKMIL-BASAR, C.; SARICI-ÖZDEMİR, Ç. Elucidation of the naproxen sodium adsorption onto activated carbon prepared from waste apricot: Kinetic, equilibrium and thermodynamic characterization. **Journal of Hazardous Materials**, v. 148, p. 727-734, 2007.

PAILLER, J.-Y.; KREIN, A.; PFISTER, L.; HOFFMANN, L.; GUIGNARD, C. Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 4736-4743, 2009.

PANUSA, A.; MULTARI, G.; INCARNATO, G.; GAGLIARDI, L. High-performance liquid chromatography analysis of anti-inflammatory pharmaceuticals with ultraviolet and electrospray-mass spectrometry detection in suspected counterfeit homeopathic medicinal products. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, p. 1221-1227, 2007.

PASCHOALATO, Cristina Filomêna Pereira Rosa. **Efeito da pré-oxidação, coagulação, filtração e pós-cloração na formação de subprodutos orgânicos halogenados em águas contendo substâncias húmicas**. 2005. 154 p. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

PASCHOALATO, C. F. P. R.; DI BERNARDO, L. Formação de subprodutos orgânicos halogenados nas operações de pré-oxidação com cloro, ozônio e peróxido e pós-cloração em água contendo substância húmica. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 13, p. 313-322, 2008.

PAXÉUS, N. Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, b-blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. **Water Science Technology**, v. 50, p. 253-260, 2004.

PERNITSKY, D. J.; EDZWALD, J. K. Selection of alum and polyaluminum coagulants: principles and applications. **Journal Water Supply Research Technology**, v. 55, p. 121-141, 2006.

PETROVIC, M.; HERLANDO, M. D.; DIAZ-CRUZ, S.; BARCELO, D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. **Journal of Chromatography A**, v. 1067, p. 1-14, 2005.

PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. **Analysis, fate and removal of pharmaceuticals in the water cycle**. Amsterdam: Elsevier, 2007. 564 p.

PETROVIC, M.; GROS, M.; BARCELÓ, D. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1124, p. 68-81, 2006.

PEURAVUORI, J.; PIHLAJA, K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 337, p. 133-149, 1997.

PICCOLO, A. The supramolecular structures of humic substances. **Soil Science**, v. 166, p. 810-832, 2001.

PINKSTON, K. E.; SEDLAK, D. L. Transformation of aromatic ether- and amine-containing pharmaceuticals during chlorine disinfection. **Environmental Science and Technology**, v. 38, p. 4019-4025, 2004.

POJANA, G.; FANTINATI, A.; MARCOMINI, A. Occurrence of environmentally relevant pharmaceuticals in Italian drinking water treatment plants. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 91, p. 537-552, 2011.

POPPI, N. R.; TALAMONI, J. Estudo dos ácidos húmico e fúlvico, extraídos de solos, por espectroscopia de infravermelho. **Química Nova**, v. 4, p. 281-285, 1992.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, p. 68-76, 2001.

QUINTANA, J. B.; WEISS, S.; REEMTSMA, T. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. **Water Research**, v. 39, p. 2654-2664, 2005.

QUINTANA, J. B.; RODIL, R.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRIGUEZ, D. Investigating the chlorination of acidic pharmaceuticals and by-product formation aided by an experimental design methodology. **Water Research**, v. 44, p. 243-255, 2010.

RABIET, M.; TOGOLA, A.; BRISSAUD, F.; SEIDEL, J.-L.; BUDZINSKI, H.; ELBAZ-POULICHET, F. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized mediterranean catchment. **Environmental Science Technology**, v. 40, p. 5282-5288, 2006.

RACZYK-STANISLAWIAK, U.; SWIETLIK, J.; DABROWSKA, A.; NAWROCKI, J. Biodegradability of organic by-products after natural organic matter oxidation with ClO_2 – case study. **Water Research**, v. 38, p. 1044-1054, 2004.

RADJENOVIC, J.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Advanced mass spectrometric methods applied to the study of fate and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment. **Analytical Chemistry**, v. 26, p. 1132, 2007.

RADJENOVIC, J.; PETROVIC, M.; VENTURA, F.; BARCELO, D. Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment. **Water Research**, v. 42, p. 3601-3619, 2008.

RADJENOVIC, J.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. **Water Research**, v. 43, p. 831-841, 2009.

RAMÓN, M. V. L.; STOECKLI, F.; CASTLLA, C. M.; MARÍN, F. C. On the characterization of acids and basic surface sites on carbons by various techniques. **Carbon**, v. 37, p. 1215-1221, 1999.

RAV-ACHA, C.; BLITS, R. The different reaction mechanisms by which chlorine and chlorine dioxide react with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in water. **Water Research**, v. 19, p. 1273-1281, 1985.

REEMTSMA, T.; WEISS, S.; MUELLER, J.; PETROVIC, M.; GONZA' LEZ, S.; BARCELO, D.; VENTURA, F.; KNEPPER, T. P. Polar pollutants entry into the water cycle by municipal wastewater: a European perspective. **Environmental Science and Technology**, v. 40, p. 5451-5458, 2006.

REDDERSEN, K.; HEBERER, T.; DUNNBIER, U. Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground- and drinking water. **Chemosphere**, v. 49, p. 539-544, 2002.

REYNOLDS, J. E. F. **Martindale the extra pharmacopeia**. 31. ed. London: Royal Pharmaceutical Society, 1996. 2739 p.

REVAI, T.; HARMOS, G. Nephrotic syndrome and acute interstitial nephritis associated with the use of diclofenac. **Wien Klin Wochenschr**, v. 111, p. 523-524, 1999.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, A. Q.; SEVALHO, G.; CÉSAR, C. C. Utilização prévia de antiinflamatórios não-esteróides por pacientes encaminhados para endoscopia em um hospital universitário brasileiro. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, p.67-75, 2007.

RICCA, G.; SEVERINI, F.; DI SILVESTRO, G.; YUAN, C. M.; ADANI, F. Derivatization and structural studies by spectroscopic methods of humic acids from leonardite. **Geoderma**, v. 98, p. 115-125, 2000.

RICHARDSON, M. L.; BOWRON, J. M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 37, p. 1-12, 1985.

RICHARDSON, S. D.; THRUSTON, JR.; COELLETTE, T. Multispectral identification of chlorine dioxide disinfection byproducts in drinking water. **Environmental Science and Technology**, v. 28, p. 592-599, 1994.

RICHARDSON, S.; THRUSTON, A.; COLLETTE, T.; PATTERSON, K. S.; LYNKS, JR. B. V. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. **Food Technology**, v. 52, p. 58-61, 1998.

RICHARDSON, S. D. Environmental mass spectrometry: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, v. 74, p. 2719-2742, 2002.

RICHTER, C. A.; AZEVEDO NETTO, J. M. **Tratamento de água: tecnologia atualizada**. São Paulo: Edgard Blücher, 1991. 332 p.

RIGOBELLO, E. S.; DANTAS, A. D. B.; DI BERNARDO, L.; VIEIRA, E. M. Influence of the apparent molecular size of aquatic humic substances on colour removal by coagulation and filtration. **Environmental Technology**, v. 32, p. 1767-1777, 2011.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas**. São Paulo: UNESP, 2003. 120 p.

ROCHA, R. S.; BEATI, A. A. G. F.; OLIVEIRA, J. G. O.; LANZA, M. R. V. Avaliação da degradação do diclofenaco sódico utilizando H₂O₂/Fenton em reator eletroquímico. **Química Nova**, v. 32, p. 354-358, 2009.

RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; CONCHA-GRAÑA, E.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). **Chemosphere**, v. 86, p. 1040-1049, 2012.

RODRIGUES, J.; CARPINTEIRO, J. B.; QUINTANA, A. M.; CARRO, R. A.; LORENZO, R. C. Solid-phase microextraction with on-fiber derivatization for the analysis of anti-inflammatory drugs in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1024, p. 1-8, 2004.

RODRÍGUEZ, I.; QUINTANA, J. B.; CARPINTEIRO, J.; CARRO, A. M.; LORENZO, R. A.; CELA, R. Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography-mass spectrometry as terc-butyldimethylsilyl derivatives. **Journal of Chromatography A**, v. 985, p. 265-274, 2003.

ROGERS, I. H.; BIRTWELL, I. K.; KRUSNYSKI, G. M. Organic extractables in municipal wastewater of Vancouver, British Columbia. **Canadian Journal Water Pollution Research**, v. 21, p. 187-204, 1986.

ROMÃO, L. P. C.; ROCHA, J. C. Utilização da ultrafiltração em fluxo tangencial na determinação das constantes de troca entre substâncias húmicas e íons Cu(II). **Revista da FAPESP de Pesquisa e Extensão**, v. 2, p. 25-36, 2005.

ROQUE, Ana Luiza Reis Rodrigues. **Remoção de compostos farmacêuticos persistentes das águas efeitos no ambiente e na saúde humana**. 2009. 126 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2009.

ROSAL, R.; RODRIGUEZ, A.; PERDIGON-MELON, J. A.; PETRE, A.; GARCIA-CALVO, E.; GOMEZ, M. J.; AGUERA, A.; FERNANDEZ-ALBA, A. R. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. **Water Research**, v. 44, p. 578-588, 2010.

SACHER, F.; LANGE, F.T.; BRAUCH H, J.; BLANKENHORN, E. I. Pharmaceuticals in groundwaters-analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Wurttemberg, Germany. **Journal Chromatography A**, v. 938, p. 199-210, 2001.

SALAME, I. I.; BANDOSZ, T. J. Role of surface chemistry in adsorption of phenol on activated carbons. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 264, p. 307-312, 2003.

SAMIOS, S.; LEKKAS, T.; NIKOLAOU, A.; GOLFINOPOULOS, S. Structural investigations of aquatic humic substances from different watersheds. **Desalination**, v. 210, p. 125-137, 2007.

SANCHES, Sérgio Marcos. **Determinação de subprodutos clorados formados durante a etapa de oxidação da água contendo substâncias húmicas**. 2005. 134 p. Tese (Doutorado em Ciência em Engenharia Ambiental) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

SANDERSON, H.; JOHNSON, D.; WILSON, C.; BRAIN, R.; SOLOMON, K. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. **Toxicology Letters**, v. 144, p. 383-95, 2003.

SANTOS, Bruno Vicente de Azevedo Pereira. **Formação e remoção de trihalometanos em ETA utilizando permanganato de potássio na pré-oxidação**. 2005. 193 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

SARAFRAZ-YAZDI, A.; AMIRI, A.; ROUNAGHI, G.; ESHTIAGH-HOSSEINI, H. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in water samples by solid-phase microextraction based sol-gel technique using poly(ethylene glycol) grafted multi-walled carbon nanotubes coated fiber. **Analytica Chimica Acta**, v. 720, p. 134-141, 1012.

SARGENTINI JUNIOR, É.; ROCHA, J. C.; ROSA, A. H.; ZARA, L. F.; SANTOS, A. Substâncias húmicas aquáticas: fracionamento molecular e caracterização de rearranjos internos após complexação com íons metálicos. **Química Nova**, v. 24, p. 339-344, 2001.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of the art structural concept for humic substances. **Naturwissenschaften**, v. 80, p. 29-30, 1993.

SCHWAIGER, J.; FERLING, H.; MALLOW, U.; WINTERMAYR, H.; NEGELE, R. D. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v. 68, p. 141-150, 2004.

SHARP, E. L.; PARSONS, S. A.; JEFFERSON, B. Seasonal variations in natural organic matter and its impact on coagulation in water treatment. **Science Total Environmental**, v. 363, p. 183-194, 2006.

SIÉLIÉCHI, J. M.; LARTIGES, B. S.; KAYEM, G.J.; HUPONT, S.; FROCHOT, C.; THIEME, J.; GHANBAJA, J.; D'ESPINOSE DE LA CAILLERIE, J. B.; BARRÉS, O.; KAMGA, R.; LEVITZ, P.; MICHOT, L. J. Changes in humic acid conformation during coagulation with ferric chloride: Implications for drinking water treatment. **Water Research**, v. 42, p. 2111-2123, 2008.

SILVA, C. R.; JARDIM, I. C. S. F.; COLLINS, C. H.; AIROLDI, C. Novas fases estacionárias à base de sílica para cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 27, p. 270-276, 2004

SIMAZAKI, D.; FUJIWARA, J.; MANABE, S.; MATSUDA, M.; ASAMI, M.; KUNIKANE, S. Removal of selected pharmaceuticals by chlorination, coagulation-sedimentation and powdered activated carbon treatment. **Water Science and Technology**, v. 58, p. 1129-1135, 2008.

SLOBODA, E.; DANTAS, A. D. B.; VIEIRA, E. M.; DI BERNARDO, L. Caracterização das substâncias húmicas aquáticas e comparação com as substâncias húmicas de turfa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24., 2007, Belo Horizonte . **Anais...** Minas Gerais: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2007. 13 p.

SMITH, R. M. Before the injection- modern methods of sample preparation for separation techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 3-27, 2003.

SNOEYINK, V. L. Adsorption of organic compounds. In: PONTIUS, F.W. (Ed.). **Water quality and treatment: a handbook of community water supplies**. Nova York: Mc Graw Hill, 1990. p. 781-867.

SNYDER, S. A.; WESTERHOFF, P.; YOON, Y.; SEDLAK, D. Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: implications for the water industry. **Environmental Engineering Science**, v. 20, p. 449-469, 2003.

SNYDER, S. A.; ADHAM, S.; REDDING, A. M.; CANNON, F. S.; DE CAROLIS, J.; OPPENHEIMER, J.; WERT, E. C.; YOON, Y. Role of membranes and activated carbon in the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals. **Desalination**, v. 202, p. 156-181, 2007.

SOARES, Álvaro Guedes. **Adsorção de gases em carvão ativado de celulignina**. 2001. 136 p. Tese (Doutorado) - Instituto de Física, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

SOUFAN, M.; DEBORDE, M.; LEGUBE, B. Aqueous chlorination of diclofenac: kinetic study and transformation products identification. **Water Research**, v. 46, p. 3377-3386, 2012.

STACKELBERG, P. E.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; HENDERSON, A. K.; REISSMAN, D. B. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. **Science Total Environmental**, v. 329, p. 99-113, 2004.

STACKELBERG, P. E.; GIBS, J.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; LIPPINCOTT, R. L. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. **Science of the Total Environment**, v. 377, p. 255-272, 2007.

STAFIEJ, A.; PYRZYNSKA, K.; REGAN, F. Determination of anti-inflammatory drugs and estrogens in water by HPLC with UV detection. **Journal of Separation Science**, v. 30, p. 985-991, 2007.

STANDARDS METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER & WASTEWATER 21st. ed. Washington: American Public Health Association, 2005. 1600 p.

STEFFEN, C.; WETZEL, E. Chlorate poisoning: Mechanism of toxicity. **Toxicology**, v. 84, p. 217-231, 1993.

STEVENSON, F. J. Geochemistry of Soil Humic Substances. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, M. D.; WERSHAW, R. L.; MACCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley, 1985. p. 13-52.

STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry: genesis, composition and reactions**. 2^a ed. New York: John Wiley, 1994. 303 p.

STEVENS, A. S. Reaction Products of Chlorine Dioxide. **Environmental Health Perspectives**, v. 46, p. 101-110, 1982.

STRENN, B.; CLARA, M.; GANS, O.; KREUZINGER, N. Carbamazepine, diclofenac, ibuprofen and bezafibrate-investigations on the behaviour of selected pharmaceuticals during wastewater treatment. **Water Science Technology**, v. 50, p. 269-276, 2004.

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

STÜLTEN, D.; ZÜHLKE, S.; LAMSHÖFT, M.; SPITELLER, M. Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. **Science of the Total Environment**, v. 405, p. 310-316, 2008.

SUN, Z.; SCHUSSLER, W.; SENGL, M.; NIESSNER, R.; KNOPP, D. Selective trace analysis of diclofenac in surface and wastewater samples using solid-phase extraction with a new molecularly imprinted polymer. **Analytica Chimica Acta**, v. 620, p. 73-81, 2008.

SUTTON, R.; SPOSITO, G.; DIALLO, M. S.; SCHULTEN, H.-R. Molecular simulation of a model of dissolved organic matter. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, p. 1902-1911, 2005.

TABAK, H. H.; BUNCH, R. L. Steroid hormones as water pollutants. I. Metabolism of natural and synthetic ovulation-inhibiting hormones by microorganisms of activated sludge and primary settled sewage. **Developments in Industrial Microbiology**, v. 11, p. 367-376, 1970.

TAMBOSI, José Luiz. **Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento**. 2008. 141 p. Tese (Doutorado), Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 2008.

TERNES, T. A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants as rivers. **Water Research**, v. 32, p. 3245-3260, 1998.

TERNES, T. A.; STUMPF, M.; SCHUPPERT, B.; HABERER, K. Determination of acid drugs and antiseptics in sewage and river water. **Vom Wasser**, v. 90, p. 295-309, 1998.

TERNES, T. A.; KRECKEL, U. P.; MUELLER, J. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants. II. Aerobic batch experiments with activated sludge. **The Science of the Total Environment**, v. 225, p. 91-99, 1999.

TERNES, T. A.; MEISENHEIMER, M.; MCDOWELL, D.; SACHER, F.; BRAUCH, H.-J.; HAIST-GULDE, B.; PREUSS, G.; WILME, U.; ZULLEI-SEIBERT, N. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. **Environmental Science Technology**, v. 36, p. 3855-3863, 2002.

THOMAS, K. V.; HILTON, M. J. The occurrence of selected human pharmaceutical compounds in UK estuaries. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, p. 436-444, 2004.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. **Pure Applied Chemistry**, v. 74, p. 835-855, 2002.

THURMAN, E. M. Humic substances in groundwater. In: AIKEN, G. R.; MCKNIGHT, M. D.; WERSHAW, R. L.; MACCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil, sediment and water: geochemistry, isolation and characterization**. New York: John Wiley, 1985. p. 87-104.

THURMAN, E. M.; MALCOLM, R. L. Preparative isolation of aquatic humic substances. **Environmental Science Technology**, v. 15, p. 463-466, 1981.

THURMAN, E. M.; WERSHAW, R. L.; MALCOLM, R. L.; PINCKNEY, D. J. Molecular size of aquatic humic substances. **Organic Geochemistry**, v. 4, p. 27-35, 1982.

TOGOLA, A.; BUDZINSKI, H. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples, **Journal of Chromatography A**, v. 1177, p. 150-158, 2008.

TOSCANO, Ilda Antonieta Salata. **Influência das substâncias húmicas aquáticas na determinação de atrazina por imunoensaio (ELISA)**. 1999. 107 p. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 1999.

TRAINA, S. J.; NOVAK, J.; SMECK, N. E. An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. **Journal of Environmental Quality**, v. 19 p. 151-153, 1990.

TRIEBSKORN, R.; CASPER, H.; HEYD, A.; EIKEMPER, R.; KÖHLER, H.-R.; SCHWAIGER, J. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part II: Cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquatic Toxicology**, v. 68, p.151-166, 2004.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **N-nitrosodimethylamine**. Integrated risk information service -IRIS-substance file, Washington, 1997. CASRN 62-75-9 (04/01/97).

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Method 551.1. Determination of chlorination disinfection byproducts, chlorinated solvents, and halogenated pesticides/herbicides in drinking water by liquid-liquid extracion and gas chromatografy with electron-capture detection**. Ohio. 1995. Disponível em: http://www.accustandard.com/asi/pdfs/epa_methods/551_1.pdf. Acesso em: 05 mar. 2012.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (USFDA). **Center for Drug Evaluation and Research (CDER)**. Review Guide: General principles of validation. Rockville, 1994. 30 p.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Alternative disinfectants and oxidants guindance manual**. Washington, 1999. 41 p. EPA 5-1.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). National primary drinking water regulations: stage 2 disinfectants and disinfection byproducts rule final rule. **Federal Register**, v. 71, p. 338-493, 2006. Disponível em: <https://www.federalregister.gov/articles/2006/01/04/06-3/national-primary-drinking-water-regulations-stage-2-disinfectants-and-disinfection-byproducts-rule>. Acesso em: 05 mar. 2012.

VALCÁRCEL, Y.; ALONSO, S. G.; RODRÍGUEZ-GIL, J. L.; MAROTO, R. R.; GIL, A.; CATALÁ, M. Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceuticals in river- and drinking-water of the Madrid Region in Spain. **Chemosphere**, v. 82, p. 1062-1071, 2011.

VAN DE STEENE, J. C.; STOVE, C. P.; LAMBERT, W. E. A field study on 8 pharmaceuticals and 1 pesticide in Belgium: removal rates in waste water treatment plants and occurrence in surface water. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 3448-3453, 2010.

VANDERFORD, B. J.; PEARSON, R. A.; REXING, D. J.; SNYDER, S. A. Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 75, p. 6265-6274, 2003.

VANDERFORD, B. J.; MAWHINNEY, D. B.; ROSARIO-ORTIZ, F. L.; SNYDER, S. A. Real-time detection and identification of aqueous chlorine transformation products using QTOF MS. **Analytical Chemistry**, v. 80, p. 4193-4199, 2008.

VELTEN, S.; BOLLER, M.; KOSTER, O.; HELBING, J.; WEILENMANN, H.-U.; HAMMES, F. Development of biomass in a drinking water granular active carbon (GAC) filter. **Water Research**, v. 45, p. 6347-6354, 2011.

VIENO, N.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 8220-8226, 2005.

VIENO, N.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Removal of pharmaceuticals in drinking water treatment: effect of chemical coagulation. **Environmental Technology**, v. 27, p. 183-192, 2006.

VIENO, N. M.; RARKKI, H.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, F. Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. **Environmental Science Technology**, v. 41, p. 5077-5084, 2007.

VON WANDRUSZKA, R. The micellar model of humic acid: evidence from pyrene fluorescence measurements. **Soil Science**, v. 163, p. 921-930, 1998.

VOGNA, D.; MAROTTA, R.; NAPOLITANO, A.; ANDREOZZI, R.; D'ISCHIA, M. Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H₂O₂ and ozone. **Water Research**, v. 38, p. 414-422, 2004.

VOLK, C. J.; HOFMANN, R.; CHAURET, C.; GAGNON, G. A.; RANGERS, G.; ANDREWS, R. C. Implementation of chlorine dioxide disinfection: effects of the treatment change on drinking water quality in a full-scale distribution system. **Journal of Environmental Engineering Science**, v. 1, p. 323-330, 2002.

VULLIET, E.; CREN-OLIVE, C.; GRENIER-LOUSTALOT, M.-F. Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters. **Environmental Chemistry Letters**, v. 9, p. 102-114, 2011.

WATER ENVIRONMENT HEALTH. **Preliminary draft final report on establishment of list of chemical parameters for the revision of drinking water directive**. Dinamarca: DHI, 2008. 124 p. (ENV.D.2/ETU/2007/0077r). Disponível em: http://circa.europa.eu/Public/irc/env/drinking_water_rev/library?l=/stakeholder_consultation/stakeholder_2008_1/parameters_2008-04-25pdf/_EN_1.0_&a=d. Acesso em: 06 fev. 2012.

WATTS, C.; MAYCOCK, D.; CRANE, M.; FAWELL, J.; GOSLAN, E. **Desk based review of current knowledge on pharmaceuticals in drinking water and estimation of potential levels**. Final report prepared by Watts and Crane Associates for Drinking Water Inspectorate, Department for Environment, Food and Rural Affairs (Defra Project Code: CSA 7184/WT02046/DWI70/2/213). 2007. 107p. Disponível em: <http://dwi.defra.gov.uk/research/completed-research/reports/dwi70-2-213.pdf>. Acesso fev. de 2012.

WEBB, S.; TERNES, T. A.; GIBERT, M.; OLEJNICZAK, K. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. **Toxicology Letters**, v. 142, p. 157-167, 2003.

WEIGEL, S.; BESTER, K.; HUHNERFUSS, H. New method for rapid solid-phase extraction of large-volume water samples and its application to non-target screening of North Sea water for organic contaminants by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 912, p. 151-161, 2001.

WEIGEL, S.; KUHLMANN, J.; HÜHNERFUSS, H. Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea. **Science Total Environmental**, v. 295, p. 131-141, 2002.

WEIGEL, S.; KALLENBORN, R.; HÜHNERFUSS, H. Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1023, p. 183-195, 2004.

WEN, Y.; ZHOUB, B.; XUB, Y.; JIN, S.; FENG, Y. Analysis of estrogens in environmental waters using polymer monolith in-polyether ether ketone tube solid-phase microextraction combined with high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1133, p. 21-28, 2006.

WESTERHOFF, P. YOON, Y.; SNYDER, S.; WERT, E. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. **Environmental Science and Technology**, v. 39, p. 6649-6663, 2005.

WESTERHOFF, P.; CHAO, P.; MASH, H. Reactivity of natural organic matter with aqueous chlorine and bromine. **Water Research**, v. 38, p. 1502-1513, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Pharmaceuticals in Drinking-water**. Geneva, 2011. 35 p. (WHO/HSE/WSH/11.05).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **N-Nitrosodimethylamine in drinking-water: Guidelines for Drinking-water Quality**. Document 38. Geneva, 2002. 36 p.

XAGORARAKI, I.; HULLMAN, R.; HUI LI, W. S.; VOICE, T. Effect of pH on degradation of acetaminophen and production of 1,4-benzoquinone in water chlorination. **Journal of Water Supply: Research and Technology—AQUA**, v. 57, p. 381-390, 2008.

YOON, J.; CHOI, Y.; CHO, S.; LEE, D. Low trihalomethane formation in Korean drinking water. **Science of the Total Environment**, v. 302, p. 157-166, 2003.

YOON, Y.; RYU, J.; OH, J.; CHOI, B. G.; SNYDER, S. A. Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea). **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 636-643, 2010.

ZHANG, Y.; GEIBEN, S. U.; GAL, C. Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. **Chemosphere**, v. 73, p. 1151-1161, 2008.

ZHAO, J.-L.; YING, G.-G.; WANG, L.; YANG, J.-F.; YANG, X.-B.; YANG, L.-H.; LI, X. Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acidic pharmaceuticals in surface water of the Pearl Rivers in South China by gas chromatography–negative chemical ionization–mass spectrometry. **Science of the Total Environment**, v. 407, p. 962-974, 2009.

ZILNIK, L. F.; JAZBINSEK, A.; HVALA, A.; VRECER F.; KLAMT A. Solubility of sodium diclofenac in different solvents. **Fluid Phase Equilibria**, v. 261, p. 140-145, 2007.

ZIYLAN, A.; INCE, N. H. The occurrence and fate of anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in sewage and fresh water: treatability by conventional and non-conventional processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 187, p. 24-36, 2011.

ZÜHLKE, S.; DÜNNBIER, U.; HEBERER, T. Detection and identification of phenazone-type drugs and their microbial metabolites in ground and drinking water applying solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1050, p. 201-209, 2004.

ZWIENER, C.; GLAUNER, T.; FRIMMEL, F. H. Biodegradation of pharmaceutical residues investigated by SPE-GC/ITD-MS and on-line derivatization HRC-J. **High Research Chromatography**, v. 23, p. 474-478, 2000.

ZWIENER, C.; FRIMMEL, F. H. Oxidative treatment of pharmaceuticals in water. **Water Research**, v. 34, p. 1881-1885, 2000.

APÊNDICE A

Ensaio de coagulação, floculação e sedimentação para a construção dos diagramas

Tabela A.1 – Resultados dos ensaios de coagulação com sulfato de alumínio, floculação e sedimentação para as duas velocidades de sedimentação (V_s) estudadas. (Continua)

Coagulação				Sobrenadante			
Sulfato de alumínio (mg L ⁻¹)	Alumínio (mg L ⁻¹)	NaOH (mg L ⁻¹)	pH	Ts = 7 min		Ts =14 min	
				Vs = 1,0 cm min ⁻¹		Vs = 0,5 cm min ⁻¹	
				Turbidez (uT)	Cor Aparente (uH)	Turbidez (uT)	Cor Aparente (uH)
20	0,77	0	6,61	22,00	126	16,20	98
20	0,77	1	6,65	26,90	133	17,80	94
20	0,77	2	6,75	65,20	312	58,90	378
20	0,77	4	6,84	64,40	386	68,50	391
30	1,16	0	6,48	16,70	97	8,90	53
30	1,16	2	6,61	65,80	400	66,40	393
30	1,16	4	6,75	62,60	382	71,00	383
40	1,54	0	6,38	10,20	59	7,89	47
40	1,54	2	6,52	8,29	44	6,43	35
40	1,54	4	6,60	7,52	40	5,74	34
40	1,54	6	6,67	6,20	35	5,54	32
40	1,54	8	6,81	11,16	60	9,52	47
50	1,93	0	6,23	37,80	256	32,90	221
50	1,93	6	6,30	5,12	27	4,46	24
50	1,93	8	6,41	5,14	27	4,32	23
50	1,93	12	6,70	15,20	84	12,40	72
50	1,93	10	6,56	7,06	34	6,58	28
50	1,93	14	6,87	76,70	405	72,30	405
60	2,31	0	6,08	45,60	389	45,30	385
60	2,31	8	6,33	3,78	20	3,59	21
60	2,31	10	6,48	4,13	23	3,52	20
60	2,31	14	6,72	7,98	46	7,38	46
60	2,31	4	6,21	3,71	16	3,53	14
60	2,31	12	6,59	4,79	18	4,42	18
60	2,31	16	6,89	74,50	408	75,40	409
70	2,70	0	5,92	69,90	402	66,90	392
70	2,70	4	6,01	5,72	32	5,51	27
70	2,70	8	6,16	4,17	28	2,08	12
70	2,70	12	6,42	3,46	22	1,96	9
70	2,70	16	6,79	61,30	388	58,70	396
70	2,70	18	7,06	72,00	435	65,30	405
70	2,70	10	6,34	3,71	19	2,03	11
70	2,70	14	6,62	4,01	24	2,59	14
80	3,08	0	5,82	45,90	391	44,50	402
80	3,08	8	6,07	2,99	18	2,62	16
80	3,08	10	6,22	3,01	18	3,00	16
80	3,08	12	6,40	3,85	19	2,46	14
80	3,08	4	5,96	52,00	264	45,00	224
80	3,08	14	6,51	2,68	8	1,85	4
80	3,08	16	6,65	2,49	6	2,27	9
80	3,08	18	6,80	69,80	410	69,70	410
80	3,08	20	7,15	73,50	415	70,70	412

Tabela A.1 – Resultados dos ensaios de coagulação com sulfato de alumínio, floculação e sedimentação para as duas velocidades de sedimentação (V_s) estudadas. (Continuação)

Coagulação				Sobrenadante			
Sulfato de alumínio (mg L ⁻¹)	Alumínio (mg L ⁻¹)	NaOH (mg L ⁻¹)	pH	Ts = 7 min		Ts = 14 min	
				Vs = 1,0 cm min ⁻¹		Vs = 0,5 cm min ⁻¹	
				Turbidez (uT)	Cor Aparente (uH)	Turbidez (uT)	Cor Aparente (uH)
80	3,08	22	7,16	71,20	429	68,30	405
80	3,08	24	7,35	70,20	426	67,20	395
90	3,47	0	5,70	69,80	413	67,30	421
90	3,47	4	5,80	68,30	397	68,10	385
90	3,47	8	6,00	3,56	20	2,70	28
90	3,47	12	6,20	3,41	14	1,78	9
90	3,47	14	6,35	2,95	17	1,51	9
90	3,47	16	6,50	1,94	11	1,34	8
90	3,47	18	6,71	11,80	68	9,78	61
90	3,47	20	6,85	66,00	381	69,50	368
90	3,47	22	6,99	74,40	383	64,50	372
100	3,85	0	5,50	76,00	286	77,10	429
100	3,85	12	6,05	2,71	16	2,47	16
100	3,85	14	6,18	2,70	17	2,53	16
100	3,85	16	6,30	2,01	11	1,84	12
100	3,85	4	5,63	46,10	392	45,40	406
100	3,85	8	5,78	12,90	67	9,47	48
100	3,85	17,2	6,42	1,91	2	1,32	1
100	3,85	10	5,97	4,07	26	2,94	20
100	3,85	18,4	6,50	3,29	17	1,42	11
100	3,85	20	6,65	3,10	13	1,82	13
100	3,85	22	6,86	68,10	415	69,60	412
100	3,85	24	7,02	74,30	448	69,20	427
100	3,85	26	7,30	75,10	432	70,20	429
110	4,24	4	4,93	70,00	438	70,30	410
110	4,24	8	5,20	68,10	400	67,00	398
110	4,24	10	5,44	64,60	370	64,80	371
110	4,24	12	5,60	50,30	374	32,80	194
110	4,24	14	5,70	6,15	37	3,92	26
110	4,24	16	5,80	3,45	19	2,72	13
110	4,24	18	5,90	4,12	25	1,83	10
110	4,24	20	5,95	4,90	31	2,07	10
110	4,24	22	6,05	3,60	22	1,46	7
110	4,24	24	6,16	3,79	21	1,35	7
110	4,24	26	6,23	4,00	32	1,61	8
110	4,24	28	6,40	4,26	26	1,89	12
110	4,24	30	6,55	3,73	23	1,06	5
110	4,24	32	6,67	1,73	10	1,22	7
110	4,24	36	6,94	60,20	328	59,30	329
110	4,24	40	7,35	60,20	327	58,10	358
110	4,24	34	6,83	7,52	58	6,22	50
120	4,62	20	6,10	3,76	18	1,66	8

Tabela A.1 – Resultados dos ensaios de coagulação com sulfato de alumínio, floculação e sedimentação para as duas velocidades de sedimentação (V_s) estudadas. **(Conclusão)**

Coagulação				Sobrenadante			
Sulfato de alumínio (mg L ⁻¹)	Alumínio (mg L ⁻¹)	NaOH (mg L ⁻¹)	pH	Ts = 7 min		Ts =14 min	
				Vs = 1,0 cm min ⁻¹		Vs = 0,5 cm min ⁻¹	
				Turbidez (uT)	Cor Aparente (uH)	Turbidez (uT)	Cor Aparente (uH)
120	4,62	24	6,20	3,11	15	1,81	9
120	4,62	28	6,45	4,10	27	1,33	7
120	4,62	32	6,61	2,96	17	1,47	8
120	4,62	34	6,80	3,76	25	1,63	12
120	4,62	36	6,90	8,33	66	6,92	58
120	4,62	38	7,10	66,90	379	62,70	378
120	4,62	18	6,00	3,62	23	2,00	15
120	4,62	16	5,84	3,87	20	1,61	14
120	4,62	12	5,64	26,80	168	18,40	125
130	5,01	16	5,76	6,10	37	3,65	27
130	5,01	20	5,94	5,37	29	2,00	15
130	5,01	24	6,20	3,19	15	2,69	18
130	5,01	28	6,74	1,60	10	1,24	7
130	5,01	32	7,00	62,90	368	58,50	365
130	5,01	36	7,20	68,20	401	67,00	400
130	5,01	12	5,55	68,40	390	67,10	389
130	5,01	8	5,40	69,20	394	67,40	385
130	5,01	25,6	6,38	3,32	23	1,90	15
130	5,01	26,8	6,46	2,01	15	1,02	6
130	5,01	29,2	6,60	1,80	10	1,04	6
140	5,39	16	5,54	69,70	402	58,50	352
140	5,39	20	5,78	10,10	75	5,76	38
140	5,39	24	5,99	8,50	56	4,53	31
140	5,39	28	6,30	3,59	22	1,99	9
140	5,39	32	6,50	2,84	14	1,06	4
140	5,39	36	6,80	3,54	22	1,71	13
140	5,39	26	6,15	6,36	35	1,98	12
140	5,39	38	7,02	61,10	396	62,50	384
140	5,39	40	7,27	64,40	410	61,70	398
150	5,78	30	6,50	2,91	10	1,06	5
150	5,78	32	6,60	3,22	14	0,84	4
150	5,78	34	6,81	3,05	15	2,00	12
150	5,78	36	6,90	3,32	18	1,90	14
150	5,78	38	7,10	67,30	392	67,30	392
150	5,78	40	7,35	63,90	392	68,00	394
150	5,78	16	5,60	70,80	396	70,20	367
150	5,78	20	5,75	12,20	73	5,70	36
150	5,78	22	5,90	9,23	57	4,22	23
150	5,78	24	6,10	5,50	33	2,28	11
150	5,78	26	6,30	5,00	29	2,01	9

APÊNDICE B

Cromatogramas dos trialometanos

Figura B.1 - Cromatograma obtido da água após as etapas de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e após cloração de 30 min.

Tabela B.1 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.1.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área (µV. Sec)	Concentração (µg L ⁻¹)
Padrão interno	4,82	1336196,0	-
Clorofórmio	7,44	139399,2	< 10
Bromodiclorometano	10,64	-	ND
Dibromoclorometano	14,21	-	ND
Bromofórmio	17,90	-	ND

Figura B.1.1 – Réplica do cromatograma obtido da água após as etapas de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e após cloração de 30 min.

Tabela B.1.1 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.1.1.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,82	1355872,0	-
Clorofórmio	7,44	144451,3	< 10
Bromodiclorometano	10,64	-	ND
Dibromoclorometano	14,21	-	ND
Bromofórmio	17,88	-	ND

Figura B.2 - Cromatograma obtido da água após as etapas de coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e após cloração de 24 h.**Tabela B.2** – Concentração de trialometanos referente à Figura B.2.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,84	1403976,8	-
Clorofórmio	7,47	278913,3	< 10
Bromodiclorometano	10,64	-	ND
Dibromoclorometano	14,21	-	ND
Bromofórmio	17,88	-	ND

Figura B.2.1 – Replicata do cromatograma obtido da água após coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia e após cloração de 24 h.

Tabela B.2.1 – Concentração de trihalometanos referente à Figura B.2.1.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área (µV. Sec)	Concentração (µg L ⁻¹)
Padrão interno	4,82	1360688,5	
Clorofórmio	7,45	331571,6	< 10
Bromodiclorometano	10,64	-	ND
Dibromoclorometano	14,21	-	ND
Bromofórmio	17,88	-	ND

Figura B.3 - Cromatograma obtido da água filtrada em carvão ativado após o término de 30 min de pós-cloração precedida de tratamento em ciclo completo sem pré-oxidação.

Tabela B.3 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.3.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,85	1559827,8	-
Clorofórmio	7,49	161057,7	< LD
Bromodiclorometano	10,64	-	ND
Dibromoclorometano	14,21	-	ND
Bromofórmio	17,88	-	ND

Figura B.3.1 – Réplica do cromatograma obtido da água filtrada em carvão ativado granular após o término de 30 min de pós-cloração precedida de tratamento em ciclo completo sem pré-oxidação.**Tabela B.3.1** – Concentração de trialometanos referente à Figura B.3.1.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,85	1728407,1	-
Clorofórmio	7,49	145232,8	< LD
Bromodiclorometano	10,64	-	ND
Dibromoclorometano	14,21	-	ND
Bromofórmio	17,88	-	ND

Figura B.4 - Cromatograma obtido da água filtrada em carvão ativado granular após o término de 24 h de pós-cloração precedida de tratamento em ciclo completo sem pré-oxidação.

Tabela B.4 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.4.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área (µV. Sec)	Concentração (µg L ⁻¹)
Padrão interno	4,85	1832763,9	
Clorofórmio	7,48	243268,5	< 10
Bromodiclorometano	10,64	-	ND
Dibromoclorometano	14,21	-	ND
Bromofórmio	17,88	-	ND

Figura B.4.1 – Réplica do cromatograma obtido da água filtrada em carvão ativado granular após o término de 24 h de pós-cloração precedida de tratamento em ciclo completo sem pré-oxidação.

Tabela B.4.1 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.4.1.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,84	1775726,5	-
Clorofórmio	7,46	263145,3	< 10
Bromodiclorometano	10,64	-	ND
Dibromoclorometano	14,21	-	ND
Bromofórmio	17,88	-	ND

Figura B.5 – Cromatograma obtido com os padrões de trialometanos para verificação dos tempos de retenção dos analitos.**Tabela B.5** – Concentração de trialometanos obtida do padrão (Figura B.5).

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,07	1074589,3	-
Clorofórmio	6,47	1239402,0	60,85
Bromodiclorometano	9,55	9107466,9	60,84
Dibromoclorometano	13,05	8440242,0	60,35
Bromofórmio	16,70	3098032,4	59,07

Figura B.6 – Cromatograma do branco (Éter metil-terc-butílico + Padrão interno).

Figura B.7 - Cromatograma obtido da água após as etapas de pré-oxidação com 1 mg L^{-1} de cloro e tempo de contato de 1 h, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia.

Tabela B.7 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.7.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,06	1216018,4	-
Clorofórmio	6,46	324390,8	10,50
Bromodiclorometano	9,55	-	ND
Dibromoclorometano	13,05	-	ND
Bromofórmio	16,70	-	ND

Figura B.7.1 – Réplica do cromatograma obtido da água após as etapas de pré-oxidação com 1 mg L^{-1} de cloro e tempo de contato de 1 h seguida de coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia.

Tabela B.7.1 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.7.1.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,07	935843,8	
Clorofórmio	6,47	254724,4	10,77
Bromodiclorometano	9,55	-	ND
Dibromoclorometano	13,05	-	ND
Bromofórmio	16,70	-	ND

Figura B.8 - Cromatograma obtido da água após as etapas de pré-oxidação com 1 mg L^{-1} cloro e tempo de contato de 1 h, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia, adsorção em carvão ativado e pós-cloração de 30 min.

Tabela B.8 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.8.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,08	865255,2	-
Clorofórmio	6,51	118673,9	< 10
Bromodiclorometano	9,55	-	ND
Dibromoclorometano	13,05	-	ND
Bromofórmio	16,70	-	ND

Figura B.9 – Cromatograma obtido da água após as etapas de pré-oxidação com 1 mg L^{-1} de cloro e tempo de contato de 1 h, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia, adsorção em carvão ativado granular e pós-cloração com tempo de contato de 24 h.**Tabela B.9** – Concentração de trialometanos referente à Figura B.9.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,08	1088914,5	-
Clorofórmio	6,62	163014,2	< 10
Bromodiclorometano	9,55	-	ND
Dibromoclorometano	13,05	-	ND
Bromofórmio	16,70	-	ND

Figura B.10 - Cromatograma obtido da água após as etapas de a pré-oxidação com 0,25 mg L⁻¹ de dióxido de cloro e tempo de contato de 30 min, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia.

Tabela B.10 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.10.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área (µV. Sec)	Concentração (µg L ⁻¹)
Padrão interno	4,07	1200295,4	-
Clorofórmio	6,49	133897,5	< 10
Bromodiclorometano	9,55	-	ND
Dibromoclorometano	13,05	-	ND
Bromofórmio	16,70	-	ND

Figura B.10.1- Réplica do cromatograma obtido da água após as etapas de a pré-oxidação com 0,25 mg L⁻¹ de dióxido de cloro e tempo de contato de 30 min, coagulação, floculação, sedimentação e filtração em areia.

Tabela B.10.1 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.10.1.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,07	1051009,1	-
Clorofórmio	6,49	86479,2	< 10
Bromodiclorometano	9,55	-	ND
Dibromoclorometano	13,05	-	ND
Bromofórmio	16,70	-	ND

Figura B.11 - Cromatograma obtido da água após as etapas de pré-oxidação com dióxido de cloro, coagulação, floculação, sedimentação, filtração em areia, adsorção em carvão ativado granular e pós-cloração com tempo de contato de 30 min.**Tabela B.11** – Concentração de trialometanos referente à Figura B.11.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,08	1178624,1	-
Clorofórmio	6,49	160076,2	< 10
Bromodiclorometano	9,55	-	ND
Dibromoclorometano	13,05	-	ND
Bromofórmio	16,70	-	ND

Figura B.12– Réplica do cromatograma obtido da água após as etapas de pré-oxidação com 1 em carvão ativado granular e pós-cloração de 24 h.

Tabela B.12 – Concentração de trialometanos referente à Figura B.12.

Composto	Tempo de retenção (min)	Área ($\mu\text{V} \cdot \text{Sec}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Padrão interno	4,08	1127468,0	-
Clorofórmio	6,49	155579,1	< 10
Bromodiclorometano	9,55	-	ND
Dibromoclorometano	13,05	-	ND
Bromofórmio	16,70	-	ND