

# Oxidação de fármacos por cloro e formação de subprodutos em amostras aquosas em escala de bancada

*Pharmaceuticals oxidation by chlorine and byproducts formation in aqueous matrices in bench scale*

**Brígida P. de Souza<sup>1</sup>, Diego R. S. Lima<sup>2</sup>, Sérgio F. de Aquino<sup>3</sup>,  
Amanda V. Quaresma<sup>2</sup>, Bruno E. L. Baêta<sup>4</sup>, Marcelo Libânio<sup>5\*</sup>**

## RESUMO

Fármacos e desreguladores endócrinos são encontrados em águas naturais brasileiras, incluindo alguns mananciais de abastecimento, também em função da baixa cobertura de coleta e tratamento de esgotos no Brasil. Nesse cenário, o presente trabalho tentou avaliar a remoção de três fármacos – sulfametoxazol (SMX), diclofenaco (DCF) e 17 $\beta$ -estradiol (E2) – em água destilada por meio da oxidação com cloro (hipoclorito de sódio), variando-se a dose de cloro e o tempo de contato em ensaios de batelada. As soluções cloradas foram analisadas, ainda, por cromatografia acoplada à espectrometria de massas para identificação de eventuais subprodutos de oxidação. Para tempo de contato de 10 min e dose de cloro de 1,5 mg.L<sup>-1</sup>, foi observada remoção média de 61% para DCF, 36% para E2 e 33% para SMX. Apenas para o DCF verificou-se diferença estatisticamente significativa ( $\alpha=0,05$ ) para dose de cloro de 3,0 mg.L<sup>-1</sup>. A oxidação seguiu modelo cinético de pseudossegunda ordem, com valores de k<sub>2</sub> de 0,0168 L.μg.min<sup>-1</sup> para SMX (para ambas doses testadas), de 0,0133 e 0,0798 L.μg.min<sup>-1</sup> para DCF, e de 0,0326 e 0,0289 L.μg.min<sup>-1</sup> para E2, para doses de cloro de 1,5 e 3,0 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Por fim, verificou-se que o aumento do tempo de contato favoreceu a oxidação dos fármacos, ainda que com a perspectiva de formação de subprodutos para SMX e E2.

**Palavras-chave:** fármacos; desreguladores endócrinos; microcontaminantes orgânicos; desinfecção; tratamento de água.

## ABSTRACT

Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds are found in Brazilian natural waters, including some water sources for public supply, also due to the low coverage of sewage collection and treatment in Brazil. This study investigated the removal of three pharmaceutical compounds – sulfamethoxazole (SMX), diclofenac (DCF) and 17 $\beta$ -estradiol (E2) – from aqueous solutions by means of chlorine oxidation (sodium hypochlorite) by varying the dose of chlorine and contact time in batch tests. The chlorine solutions were examined by chromatography attached to the mass spectrometry in order to identify the oxidation by-products. For 10 min contact time, mean removal values of 61% were observed for DCF; 36% for E2; and 33% for SMX, when the chlorine dose was 1.5 mg L<sup>-1</sup>. Just for DCF there was a statistically significant difference ( $\alpha=0.05$ ) in the removal efficiency when increasing the chlorine dose to 3.0 mg.L<sup>-1</sup>. The oxidation followed the kinetic model of pseudo-second order, with k<sub>2</sub> values of 0.0168 L.μg.min<sup>-1</sup> for SMX (at both chlorine doses tested); 0.0133 and 0.0798 L.μg.min<sup>-1</sup> to DCF; and 0.0326 and 0.0289 L.μg.min<sup>-1</sup> to the E2 at chlorine doses of 1.5 and 3.0 mg L<sup>-1</sup>, respectively. Finally, it was verified that an increase of the contact time favored the oxidation of all pharmaceuticals tested, although with the perspective of by-products formation for SMX and E2.

**Keywords:** pharmaceuticals; endocrine disrupting compounds; organic microcontaminants; disinfection; water treatment.

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) – Ilha Solteira (SP), Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) – Ouro Preto (MG), Brasil.

<sup>3</sup>Professor associado da UFOP – Ouro Preto (MG), Brasil.

<sup>4</sup>Professor adjunto da UFOP – Ouro Preto (MG), Brasil.

<sup>5</sup>Professor titular da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) – Belo Horizonte (MG), Brasil.

\*Autor correspondente: marcelo.libanio@gmail.com

Recebido: 09/10/15 – Aceito: 26/01/17 – Reg. ABES: 155335

## INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com a preservação ambiental tem incluído também a consciência sobre a presença de fármacos e desreguladores endócrinos nos corpos hídricos. Sabe-se que alguns desses compostos, quando descartados nos corpos d'água, provocam efeitos de genotoxicidade, de perturbação endócrina e de aumento da resistência de bactérias patogênicas, características que lhes permitem integrar o grupo dos denominados microcontaminantes emergentes. Entre esses, destacam-se os produtos farmacêuticos, por serem largamente utilizados pela população e ocorrerem com elevada frequência nos esgotos sanitários e, conseqüentemente, nas águas superficiais brasileiras (MOREIRA *et al.*, 2009; 2011; RODRIGUES, 2012). A ocorrência de fármacos e desreguladores endócrinos em mananciais de água potenciais dá-se pela baixa cobertura em saneamento no país e pela ineficiência dos sistemas convencionais de tratamento de esgotos na remoção da maioria desses microcontaminantes, principalmente aqueles que apresentam maior polaridade.

Dos fármacos comumente encontrados nos corpos d'água, assumem eminente relevância — pelo uso extensivo no Brasil — o antibiótico sulfametoxazol (SMX) e os anti-inflamatórios não esteroides, especialmente o diclofenaco (DCF). O SMX encontra-se inalterado na urina em concentrações da ordem de 10 a 30% em relação à inicial; aproximadamente 65% da dose administrada de DCF é eliminada na urina, sendo 50% na forma de metabólitos e 15% na forma inalterada (ALDER *et al.*, 2006).

Já o 17 $\beta$ -estradiol (E2) constitui hormônio sexual pertencente à classe dos estrogênios, como estradiol e o etinilestradiol, muito utilizado na reposição hormonal em mulheres na menopausa. Estima-se que valores de excreção diária do E2 em diferentes fases da vida atinjam 600  $\mu$ g (JOHNSON; BELFROID; DE CORCIA, 2000), podendo afetar os sistemas endócrinos de seres vivos em concentrações da ordem de  $\text{ng.L}^{-1}$ . Portanto, esses hormônios são liberados na urina em concentrações que poderiam afetar a biota aquática.

Alguns estudos (CHOI *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2014a) têm revelado que tais microcontaminantes orgânicos não são removidos em sua totalidade pelos processos convencionais de clarificação e filtração empregados nas estações de tratamento de água, demandando a utilização de técnicas complementares de tratamento para a remoção de tais microcontaminantes (WESTERHOFF *et al.*, 2005). Vários estudos conduzidos por pesquisadores brasileiros mostram que o uso de técnicas avançadas de oxidação (SANTOS; MEIRELES; LANGE, 2015; MELO *et al.*, 2009; MANIERO; BILA; DEZOTTI, 2008; BILA *et al.*, 2007), de adsorção com carvão ativado em pó ou granular (LIMA *et al.*, 2014b; 2016) ou de separação por membranas (BRANDÃO & AMORIM, 2012; MIERZWA; AQUINO; VERAS, 2009) pode ser promissor na remoção de fármacos e desreguladores endócrinos de águas contaminadas. Contudo, no Brasil, a maioria das estações emprega cloro como agente

oxidante/desinfetante e poucas utilizam o processo de adsorção ou outra técnica complementar de tratamento. Dessa forma, nas estações que empregam o tratamento clássico de clarificação, filtração e desinfecção com cloro, a remoção de fármacos e desreguladores endócrinos dependerá, principalmente, da oxidação química causada pelo agente desinfetante, podendo ser utilizada, nesses casos, a técnica de pré-oxidação.

De fato, a utilização de oxidantes químicos, antes (como a pré-cloração) ou depois da etapa de filtração (desinfecção clássica), torna-se abordagem viável para degradar, ainda que parcialmente, fármacos e desreguladores endócrinos da água, haja vista o elevado poder oxidante dos compostos de cloro comumente utilizados na potabilização da água. Contudo, as unidades de desinfecção das estações foram usualmente projetadas visando a conferir tempo de detenção teórico da ordem de 30 min, consoante às recomendações da Portaria n° 518 (BRASIL, 2004), que vigeu até dezembro de 2011, posteriormente substituída pela Portaria n° 2.914 (BRASIL, 2011). Nesse contexto, o novo cenário proposto pela Portaria n° 2.914 para desinfecção demanda pesquisas científicas (estudos em escala de bancada ou piloto) de avaliação do impacto das condições de oxidação propostas na remoção de fármacos e desreguladores endócrinos. Adicionalmente, a premissa da manutenção de concentração residual de cloro na rede de distribuição dos sistemas de abastecimento de água do Brasil (igualmente adotada na maioria dos países) há de favorecer a formação de subprodutos da oxidação desses microcontaminantes, que apresentam conhecidos efeitos adversos sobre a saúde humana. Exemplo disso é o trabalho feito por Pereira *et al.* (2013), que mostrou a formação e o acúmulo de subprodutos em água contendo estradiol submetida à cloração.

Diante do exposto, o objetivo principal deste trabalho consistiu em avaliar a remoção de três fármacos, representativos das classes dos antibióticos (SMX), dos anti-inflamatórios (DCF) e dos hormônios (E2) de amostras aquosas por meio da oxidação com cloro aplicado na forma de hipoclorito de sódio. Adicionalmente, avaliaram-se os aspectos cinéticos da oxidação, a formação de subprodutos e a influência das condições operacionais (pH da água de estudo, dose cloro e tempo contato) na eficiência do processo oxidativo na remoção desses microcontaminantes.

## METODOLOGIA

### Reagentes

Os padrões utilizados para os microcontaminantes avaliados foram da marca Sigma-Aldrich®, estradiol (98%), sal de diclofenaco sódico (99,9%) e sulfametoxazol (100%). Para o preparo da solução aquosa de fármacos, pesou-se a massa dos respectivos padrões objetivando-se obter inicialmente duas concentrações teóricas de 0,5 e 1,0  $\text{mg.L}^{-1}$ . Embora tais concentrações sejam bem superiores àquelas normalmente observadas em

águas naturais, a sua escolha visou a permitir a análise dos fármacos de forma direta em espectrofotômetro, conforme posteriormente descrito.

O agente oxidante foi preparado a partir de soluções de hipoclorito de sódio (NaOCl) com concentração nominal de 12% de cloro livre. Tal solução foi diluída a fim de se obter soluções aquosas contendo cloro livre nas concentrações iniciais teóricas de 1,0 a 3,0 mg.L<sup>-1</sup>. Tais concentrações pautaram-se na rotina operacional de significativa parcela das estações de tratamento de água no Brasil e nos limites para cloro residual livre na rede de distribuição de 0,2 a 2,0 mg.L<sup>-1</sup> estabelecidos pela Portaria nº 2.914 (BRASIL, 2011).

A concentração de cloro livre foi determinada pelo método colorimétrico padrão (APHA/AWWA/WEF, 2005) que envolve a adição de N, N-dietil-p-fenileno diamina (DPD) e o uso de espectrofotômetro com leitura da absorbância em 515 nm. O limite de detecção de cloro pelo referido método foi determinado em 0,05 mg.L<sup>-1</sup>, com o uso do espectrofotômetro Aaker Sp-220. Para neutralização do cloro residual (de modo a interromper o processo de oxidação durante o preparo e permitir o armazenamento das amostras coletadas), foi utilizada solução de tiosulfato de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O) na concentração de 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, padronizada de acordo com o método titulométrico do iodeto de potássio (KI).

Nos testes de avaliação da influência do pH na eficiência de remoção dos microcontaminantes por cloração, ajustou-se o valor do pH (para valores de 4, 7 e 12, em função dos valores de pKa dos fármacos e espécies de cloro dissolvidas), com soluções de 0,1 mol.L<sup>-1</sup> de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH). Ambos os reagentes eram grau P.A. e foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

## Ensaios de desinfecção

Além da realização do estudo de cinética, o emprego de água destilada fiou-se, além da praticidade, na avaliação precedente da clarificação na remoção pouco significativa dos mencionados fármacos em água natural (LIMA *et al.*, 2014a). Sabendo-se que parcela significativa das partículas suspensas e dissolvidas remanescentes à clarificação é comumente removida pela filtração, estudos de desinfecção com águas naturais com baixa concentração de matéria dissolvida não de se aproximar dos realizados com água destilada, mais facilmente exequíveis em escala de laboratório.

Dessa forma, os ensaios de desinfecção em água destilada contendo os microcontaminantes foram realizados em batelada, utilizando jarros de vidro de 2,0 L, sob agitação em equipamento de *Jar Test* com gradiente de velocidade 120±10 s<sup>-1</sup>, a fim de garantir mistura completa do conteúdo do jarro e por ser mais facilmente aplicável para ampla gama de equipamentos de *Jar Test* (condição importante para pesquisas realizadas em rede com outras instituições). O cloro era aplicado em dose pré-estabelecida (1,5, 2,0 ou 3,0 mg.L<sup>-1</sup>), e o ensaio de oxidação com cada microcontaminante (DCF, SMX ou E2) era iniciado isoladamente.

A coleta de amostras realizava-se assim que o cloro era aplicado (tempo inicial) e nos cinco tempos pré-estabelecidos (5, 15, 30, 45 e 60 min) para

posterior determinação do pH (pelo método potenciométrico) e das concentrações do fármaco e do cloro residual livre utilizando o mencionado método DPD. Cada frasco de coleta continha tiosulfato de sódio para consumo do cloro residual e interrupção da oxidação. A determinação da quantidade de tiosulfato adicionada realizava-se a partir do conhecimento do cloro residual livre no momento da coleta e do coeficiente estequiométrico da reação entre os íons hipoclorito e o tiosulfato.

Foram realizados 13 ensaios de desinfecção, sendo: 1 e 2 para avaliar a influência da dose de cloro na eficiência de remoção; de 3 a 11 para avaliar a influência do pH inicial das soluções aquosas; e 12 e 13 para avaliar a cinética de remoção dos microcontaminantes de interesse sob duas doses distintas de cloro.

## Análises cromatográficas

Para todas as amostras foram coletados volumes de 10 mL, filtrados por membranas de 0,45 µm da Millipore. As amostras filtradas foram então transferidas para *vials* com capacidade de 1,50 mL e armazenadas ao abrigo de luz e no *freezer* até o momento da análise, de acordo com metodologia validada por Rodrigues (2012). Não se fez necessária extração dos fármacos da fase aquosa empregando-se cartuchos de extração em fase sólida, tendo em vista que as concentrações dos fármacos variaram de 0,1 a 1,0 mg.L<sup>-1</sup>, permitindo assim a análise no cromatógrafo de fase líquida acoplado ao espectrômetro de massas.

As análises dos fármacos foram realizadas em um *Ultra Performance Liquid Chromatography—High Resolution Mass Spectrometry* (UPLC-HRMS), da Shimadzu, equipado com sistema binário de bombas (modelo LC-30AD). Injetou-se volume de 10 µL de amostra e a separação cromatográfica realizou-se por meio da coluna Kinetex C18 (50 × 3,0 mm; 2,6 µm — Phenomenex) com forno aquecido à temperatura de 40°C. O fluxo foi de 0,2 mL.min<sup>-1</sup>, usando água (fase aquosa) e metanol (fase orgânica) como fase móvel, ambos modificados com 3,5 mM de NH<sub>4</sub>OH, de acordo com metodologia estabelecida. A quantificação dos fármacos realizou-se por meio de curvas de calibração, construídas com as soluções-padrão de cada fármaco na faixa de 0,1 a 5,0 mg.L<sup>-1</sup>.

O espectrômetro de massas (Shimadzu LC/IT/TOF) utilizado para a identificação dos subprodutos conta com dois analisadores de massa em série: uma armadilha de íons (*ion trap* — IT) seguida por um tempo de voo (*time of flight* — TOF) que lhe confere alta sensibilidade. A detecção de subprodutos da cloração foi realizada configurando o *software* do equipamento para pesquisar, nos espectros das amostras analisadas, picos de massa/carga (*m/z*) relacionados aos subprodutos de oxidação de SMX, DCF e E2 previamente identificados por outros pesquisadores (BASTOS, 2012; RIGOBELLO, 2012; PEREIRA *et al.*, 2013). Tal detecção realizou-se com as amostras coletadas durante o ensaio 3, que empregou concentração inicial de cloro de 2,0 mg.L<sup>-1</sup> e concentrações iniciais de SMX, DCF e E2 de, respectivamente, 635,35, 259,03 e 42,77 µg.L<sup>-1</sup>.

## Modelo cinético

Os dados obtidos nos ensaios 12 e 13 foram analisados para se avaliar o modelo cinético de melhor ajuste. Foram testados modelos de primeira, segunda, pseudoprimeira e pseudossegunda ordem. Nesse cenário, o modelo de pseudossegunda ordem (Equação 1) foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais.

O uso de tal modelo leva em consideração que, durante o processo de oxidação dos fármacos, há formação de subprodutos. Portanto, podem ocorrer reações em paralelo entre os subprodutos formados e o cloro livre, comprometendo a oxidação do fármaco e limitando a reação química. Assim, a velocidade da reação de oxidação depende também da concentração do fármaco no momento em que a oxidação dele é interrompida. Tal concentração pode ser denominada de concentração do microcontaminante no equilíbrio ( $C_e$ ).

$$\frac{dC_t}{dt} = k_2(C_e - C_t)^2 \quad (1)$$

Na qual:

$C_e$  e  $C_t$  = as concentrações dos microcontaminantes ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) no equilíbrio e no tempo  $t$ ;

$k_2$  = a constante de velocidade de pseudossegunda ordem ( $\text{L.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ).

Integrando-se a Equação 1 e aplicando-se as condições de contorno obtém-se a Equação 2, que linearizada assume a forma da Equação 3.

$$\frac{1}{C_e - C_t} = \frac{1}{C_e} + k_2 t \quad (2)$$

$$\frac{t}{C_t} = \frac{1}{k_2 C_e^2} + \frac{t}{C_e} \quad (3)$$

## Análises estatísticas

As análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio do *software* BioEstat 5.0 a fim de constatar diferenças significativas entre as eficiências de

remoção dos fármacos a partir dos tempos de contato e doses de cloro. Por meio do teste de normalidade de Shapiro-Wilk, foi possível observar se os resultados obtidos seguiram distribuição paramétrica (normal) ou não paramétrica (não normal). Quando os testes preliminares apontavam para distribuição normal dos dados, foi realizada a análise de variância, avaliando-se dois critérios, seguida do teste  $t$  de Student (blocos). Em contrapartida, para distribuição não normal, os dados foram submetidos aos testes de ANOVA Kruskal-Wallis, de Student-Newman e de Mann-Whitney. As comparações dos dados realizaram-se por meio dos valores  $p$  obtidos, e para  $p \leq 0,05$  a hipótese de igualdade entre os resultados comparados foi rejeitada no nível de confiança de 95%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Influência da dose de cloro

Inicialmente, realizaram-se ensaios de oxidação em batelada das soluções aquosas contendo individualmente os três fármacos (SMX, DCF e E2), sendo o agente oxidante (hipoclorito de sódio) testado em diferentes doses. Na Tabela 1, apresentam-se as concentrações dos fármacos determinadas no início do experimento, bem como as maiores eficiências de remoção observadas e os respectivos tempos de contato.

As eficiências de remoção (%) dos três fármacos foram comparadas nos tempos de 0 a 60 min, a fim de verificar diferenças significativas entre o tempo e as concentrações de fármacos estudadas. A análise estatística realizada mostrou que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na eficiência de remoção dos fármacos nos cinco tempos de contato estudados (5, 15, 30, 45 e 60 min). Além disso, observou-se também diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na eficiência de remoção quando se comparou a concentração inicial dos microcontaminantes.

Percebe-se que, para os três fármacos estudados, o aumento da sua concentração inicial resultou em aumento na eficiência de remoção (Tabela 1). Tal afirmação (comparação entre os ensaios 1 e 2) pode ser confirmada tendo em vista que o agente oxidante estava presente em excesso e o tempo de contato em que a máxima eficiência de remoção foi observada já tinha ultrapassado o ponto de equilíbrio. Além disso, a eficiência de remoção observada nos diferentes tempos de amostragem (dados apresentados posteriormente na discussão cinética) mostrou que o aumento do tempo de

**Tabela 1** - Eficiências máximas de remoção dos microcontaminantes estudados em distintas doses de cloro (ensaios 1 e 2).

Fármaco	Ensaio 1*			Ensaio 2**		
	$C_o$ ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	t (min)	Remoção (%)	$C_o$ ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	t (min)	Remoção (%)
SMX	94,8	30	37,2	66,9	45	11,5
DCF	99,3	30	44,0	199,8	60	93,6
E2	55,2	60	45,0	122,5	60	72,1

SMX: sulfametoxazol; DCF: diclofenaco; E2:17 $\beta$ -estradiol; \* $[Cl]_{20} = 1,5 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $[Cl]_{60} = 0,98 \text{ mg.L}^{-1}$ ; \*\* $[Cl]_{20} = 3,0 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $[Cl]_{60} = 2,01 \text{ mg.L}^{-1}$ .

contato, até o ponto de equilíbrio, traduziu-se em maior eficiência de remoção.

Para tempos de contato usuais nas estações de tratamento de água (~30 min), ter-se-iam, durante a oxidação com cloro, remoções inferiores a 50% para os microcontaminantes testados. Vale salientar, ainda, que as concentrações utilizadas neste estudo (dezenas de microgramas por litro) são da ordem de 1.000 vezes superiores às normalmente encontradas em águas superficiais, de forma que a cinética de oxidação tende a ficar ainda mais prejudicada no cenário real, culminando com potencial redução da eficiência de remoção.

Na literatura nacional, há poucas referências sobre remoção de fármacos e desreguladores endócrinos por meio da desinfecção com compostos de cloro. Rigobello (2012) obteve remoção de DCF da ordem de 41,2% em água destilada (pH=6,6) na concentração inicial de 1.000  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , aplicando-se dose 5,0  $\text{mg.L}^{-1}$  de cloro com tempo de contato de 30 min. Tais resultados estão coerentes com o que foi observado no presente trabalho. Na Tabela 1, observa-se que remoção similar (44%) de DCF foi obtida em tempo de contato de 30 min com menor dose de cloro e compatível àquelas comumente empregadas em escala real nas estações. A adoção de menor  $C \times t$ , quando comparado ao ensaio 2, concorreu para reduzir consideravelmente a taxa de oxidação de DCF, cuja remoção foi significativamente afetada ( $p < 0,05$ ) pela concentração inicial de cloro.

Em estudo recente, Nam *et al.* (2014), investigando remoção de SMX em água destilada (pH=9,0) enriquecida com SMX (100  $\text{ng.L}^{-1}$ ), aplicaram dose inicial de cloro de 5  $\text{mg.L}^{-1}$  associada a tempo de contato de 24 h. Observou-se eficiência de remoção durante a etapa de cloração (50%) próximo ao valor (37%) encontrado no presente estudo. No entanto, é válido novamente ressaltar que a dose de cloro (1,5  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e o tempo de contato (30 min) usados neste estudo foram significativamente inferiores.

No caso do E2, a remoção máxima (72,1%) obtida no presente estudo foi inferior àquela alcançada (99%) por Pereira *et al.* (2013) na desinfecção para água de poços artesianos contendo 100  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de E2, com dose de cloro de 2,0  $\text{mg.L}^{-1}$  durante 24 h.

### Influência do tempo de contato

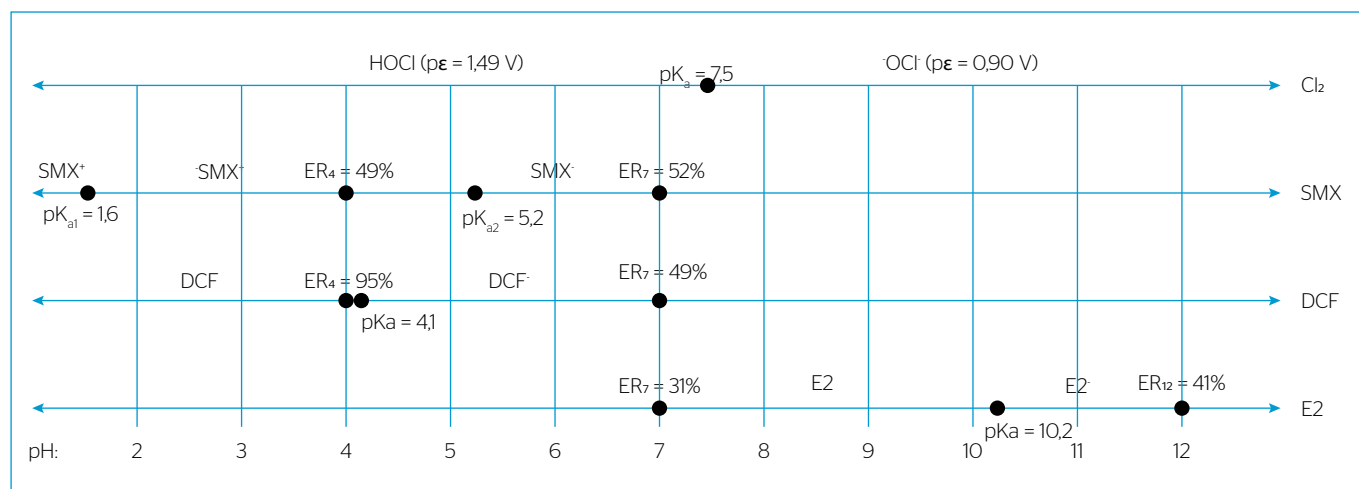
Foram realizados nove ensaios (ensaios 3 a 11) de oxidação com cloro das soluções aquosas; cada um desses ensaios contou com os três fármacos estudados, em diferentes valores iniciais de pH, para avaliar a influência da ionização do fármaco na eficiência de remoção. As concentrações de cada microcontaminante — determinadas no início (após a correção do pH) e no término de cada experimento — são apresentadas na Tabela 2.

Na Figura 1, apresentam-se, de forma sistematizada, as eficiências de remoção de cada microcontaminante em função das formas

**Tabela 2** - Remoção (%) e concentração dos microcontaminantes ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) inicial e final (após 60 min de tempo de contato e dose de cloro de 2,0  $\text{mg.L}^{-1}$ ) em função do pH.

pH	SMX			DCF			E2		
	$C_0$	$C_{60}$	Remoção (%)	$C_0$	$C_{60}$	Remoção (%)	$C_0$	$C_{60}$	Remoção (%)
4	490,1	249,9	49	870,2	<LQ	95	NR	NR	NR
7	840,3	403,3	52	980,5	500,0	49	1.500,0	1.035,0	31
12	NR	NR	NR	NR	NR	NR	710,8	419,4	41

SMX: sulfametoxazol; DCF: diclofenaco; E2: 17 $\beta$ -estradiol; NR: ensaio não realizado nesse valor de pH; <LQ, inferior ao limite de quantificação do equipamento, estimado em 43  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .



**Figura 1** - Eficiência de remoção (ER) de microcontaminantes (%) com 60 min de contato e espécies predominantes de cloro em função do pH nos ensaios de desinfecção.

predominantes de cada um e do agente oxidante em função do pH do ensaio. Cabe ressaltar que, no pH igual a 4, tem-se 100% de cloro na forma HOCl (ácido hipocloroso), de maior poder oxidante; no pH igual a 7, cerca de 75% na forma de HOCl e 25% na forma de OCl<sup>-</sup> (íons hipoclorito); e no pH 12, aproximadamente 100% na forma OCl<sup>-</sup>, de menor poder oxidante. Nesse contexto, pode-se afirmar que, para todos os microcontaminantes estudados, maiores eficiências de remoção foram obtidas com estes nas formas desprotonadas, independentemente da forma predominante do agente oxidante.

Na Figura 1, observa-se que a cloração de águas contaminadas com DCF, SMX e E2 em pH próximo à neutralidade levou à remoção de cerca de metade da concentração inicial de DCF e SMX e de um terço da de E2, e que o abaixamento do pH para 4,1 aumentou significativamente a remoção de DCF. A maior oxidação do DCF observada em pH igual a 4,0 pode ser devido ao efeito combinado do maior poder oxidante do HOCl, espécie predominante em pH ácido, associado à predominância do DCF na forma desprotonada. Possível explicação para tal efeito aponta para maior difusão das espécies iônicas em meio aquoso quando comparadas a espécies não carregadas. Sabe-se que em meio aquoso espécies carregadas tendem a apresentar maior mobilidade, aumentando-se com isso a probabilidade de encontro entre as moléculas do agente oxidante (HOCl) e do fármaco ionizado. No caso do E2, a maior eficiência de remoção observada em pH igual a 12 pode ser devido à menor recalcitrância da forma desprotonada, uma vez que, no pH igual a 7, tem-se aproximadamente 25% do oxidante na forma de íons hipoclorito, de menor poder oxidante. No caso do SMX, não houve grande diferença na remoção da forma desprotonada, prevalente em pH superiores a 5,2, quando comparada à forma de *zwitterion* (ion dipolar) prevalente no pH igual a 4.

### Cinética da oxidação dos microcontaminantes

Os ensaios de desinfecção 12 e 13 foram realizados com o intuito de avaliar a cinética de remoção de SMX, DCF e E2 com cloro (2,0 mg.L<sup>-1</sup> de Cl<sub>2</sub> no ensaio 12, 0 e 3,0 mg.L<sup>-1</sup> de Cl<sub>2</sub> no ensaio 13). Nesses ensaios, realizou-se a desinfecção de soluções contendo individualmente cada um dos três microcontaminantes nas concentrações de 94,84 µg.L<sup>-1</sup> (SMX), 99,27 µg.L<sup>-1</sup> (DCF) e 55,27 µg.L<sup>-1</sup> (E2) durante o ensaio 12, e de 65,34 µg.L<sup>-1</sup> (SMX), 76,38 µg.L<sup>-1</sup> (DCF) e 49,361 µg.L<sup>-1</sup> (E2) durante o ensaio 13.

O modelo pseudossegunda ordem se adequou melhor aos dados experimentais; pressupõe-se que, se duas reações (quer em série ou em paralelo) estão a ocorrer, a primeira é rápida e atinge o equilíbrio, enquanto a segunda é uma reação mais lenta, que pode continuar por um longo período de tempo (BEHNAMFARD; SALARIRAD, 2009). Tal situação se aplica ao presente sistema, uma vez que, após a oxidação do microcontaminante, formam-se subprodutos capazes de competir com a molécula do fármaco pelo agente oxidante, criando reações

paralelas às de desinfecção. O estudo cinético realizado permitiu a construção dos gráficos observados na Figura 2 (foi apresentado apenas o do ensaio 12 por economia de espaço) que, por sua vez, permitiram a determinação do parâmetro cinético ( $k_2$ ) e do coeficiente de ajuste ( $R^2$ ) apresentados na Tabela 3.

Os resultados da Tabela 3 mostram que há coerência entre os diferentes ensaios, com valores da constante de velocidade ( $k_2$ ) convergentes para o SMX (desvio nulo) e o E2 (desvio de 16%). A exceção coube ao DCF, cujo valor de  $k_2$  foi seis vezes maior no experimento (ensaio 13) com maior dose de cloro. Tais resultados confirmaram os dados dos ensaios 1 e 2 (Tabela 1), que indicaram que a dose de cloro só influenciou significativamente, e de forma positiva, a oxidação de DCF. Para o SMX e o E2, não houve diferença estatística nas eficiências de remoção em função da concentração inicial de cloro, o que corrobora a similaridade dos valores de  $k_2$  apresentados na Tabela 3 para tais microcontaminantes.

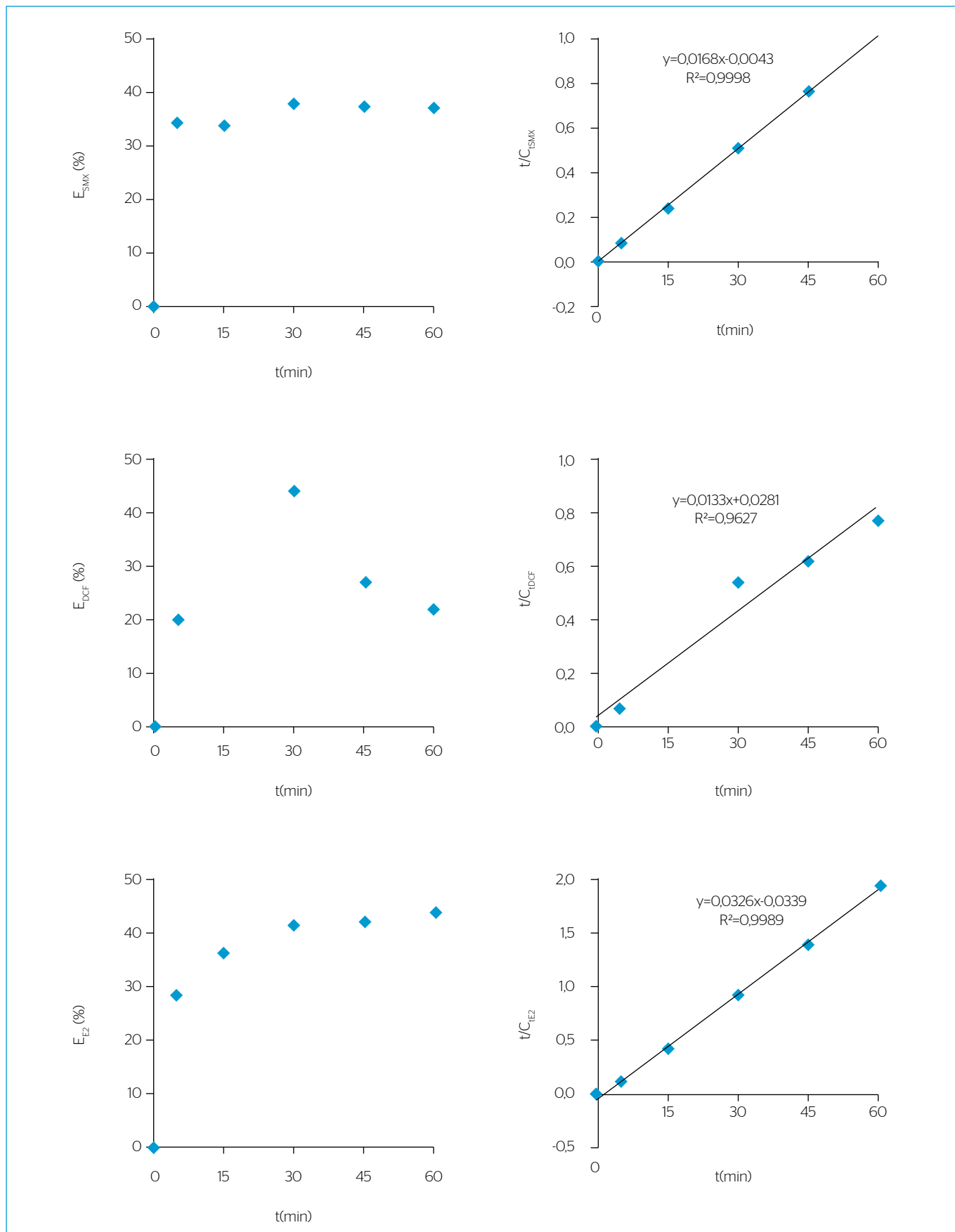
Considerando os dados apresentados na Tabela 3 e tempo de contato de 10 min (estipulado pela Portaria nº 2.914 como mínimo para desinfecção de águas em pH igual a 7, temperatura média de 20°C e residual de cloro livre em torno de 1,0 mg.L<sup>-1</sup>), obter-se-iam eficiências de remoção de apenas 34, 20 e 28% para os microcontaminantes SMX, DCF e E2, respectivamente. A elevação do tempo de contato para 30 min culminaria com remoção de 37, 45 e 42%, respectivamente, valores condizentes aos apresentados na Tabela 1, mas ainda assim considerados apenas moderados para processos oxidativos.

Vale destacar que, no cenário real de desinfecção nas estações, as eficiências de remoção tenderiam a ser ainda menores, uma vez que as concentrações de fármacos na água bruta são provavelmente cerca de 1.000 vezes inferiores àquelas avaliadas neste estudo, e que há a presença de outros compostos orgânicos passíveis de oxidação pelo cloro.

Por fim, cabe ainda salientar que por *remoção* entende-se o desaparecimento da molécula-alvo do fármaco e não necessariamente sua mineralização ou transferência de fase. Como será discutido subseqüentemente, as condições de cloração empregadas normalmente nas estações e simuladas neste trabalho levaram à formação e ao acúmulo de subprodutos (alguns deles clorados) nas amostras tratadas.

### Formação de subprodutos da desinfecção

A avaliação de formação e acúmulo de subprodutos da oxidação com cloro foi realizada por meio da busca, nos espectros de LC-MS das amostras coletadas no final do ensaio 12, das relações massa/carga ( $m/z$ ) obtidas por outros autores (BASTOS, 2012; RIGOBELLO, 2012; PEREIRA *et al.*, 2013) que identificaram alguns subprodutos da oxidação dos fármacos estudados. Na Tabela 4, apresentam-se as fórmulas moleculares de cada subproduto identificado pelos referidos autores e as respectivas  $m/z$  pesquisadas nos espectros do LC-MS.



**Figura 2** - Eficiências de remoção (%) e ajuste cinético do decaimento da concentração dos microcontaminantes em ensaios de oxidação com 2,0 mg.L<sup>-1</sup> de Cl<sub>2</sub> - ensaio 12.

**Tabela 3** - Parâmetros obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais à cinética de pseudossegunda ordem.

Parâmetro	Ensaio 12			Ensaio 13		
	SMX	DCF	E2	SMX	DCF	E2
$k_2$ ( $\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	0,0168	0,0133	0,0326	0,0168	0,0798	0,0289
$R^2$	0,9998	0,9944	0,9989	0,9997	0,9627	0,9893

SMX: sulfametoxazol; DCF: diclofenaco; E2: 17 $\beta$ -estradiol.

**Tabela 4** - Fórmulas moleculares, relação massa/carga (m/z) e concentração estimada dos subprodutos acumulados nas amostras analisadas ao longo do ensaio 12.

Precursor	Fórmula molecular do subproduto	m/z do subproduto	Concentração relativa <sup>1</sup> ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) do subproduto acumulado em função do tempo de contato (min) com cloro <sup>2</sup>		
			5	30	60
SMX	$\text{C}_6\text{SN}_2\text{O}_2\text{H}_8$	173,0374	62,1	62,3	59,9
	$\text{C}_6\text{SNO}_3\text{H}_7$	174,0307	<LD	<LD	90,6
DCF	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{NCl}_3$	301,9901	<LD	<LD	<LD
	$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ONCl}_3$	312,0189	<LD	<LD	<LD
	$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{NC}_{12}$	329,9850	<LD	<LD	<LD
E2	$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{ClO}_2$	305,1246	<LD	20,4	20,7
	$\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{Cl}_3\text{O}_3$	389,0333	<LD	20,1	20,6

SMX: sulfametoxazol; DCF: diclofenaco; E2: 17 $\beta$ -estradiol; LD: limite de detecção do equipamento.

<sup>1</sup>Estimada a partir da curva de calibração do fármaco precursor usando a área cromatográfica do subproduto detectado nas amostras em função do tempo de contato.

<sup>2</sup> $[\text{Cl}_2]_0 = 2,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $[\text{Cl}_2]_{60} = 1,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Bastos (2012) identificou dois subprodutos da fotólise do SMX,  $\text{C}_6\text{SN}_2\text{O}_2\text{H}_8$  (sulfanilamida) e  $\text{C}_6\text{SNO}_3\text{H}_7$  (ácido sulfanílico). A pesquisa do íon de sulfanilamida ( $m/z=173,036$  no modo +) nos espectros obtidos ao longo do ensaio 12 mostra que este foi formado a partir de 5 min de tempo de contato, atingindo maior área após 30 min e reduzindo em 46% a sua área após 60 min de contato. Já o ácido sulfanílico ( $m/z=174,0307$  no modo +) não se acumulou em solução nos primeiros 45 min, tendo sido observado nas amostras apenas no tempo de contato de 60 min, em concentração estimada em  $90,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Tais resultados indicam que alguns subprodutos da oxidação desse fármaco podem se formar nos reservatórios do sistema de abastecimento e/ou na rede de distribuição de água tratada, a depender do volume dos primeiros e do comprimento da segunda, bem como das concentrações residuais do fármaco e do cloro livre.

Em relação ao DCF, as relações massa/carga ( $m/z$ ) dos subprodutos identificados por Rigobello (2012) foram pesquisadas nos espectros de LC-MS obtidos neste estudo. O primeiro subproduto investigado foi o  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{NCl}_3$ , tanto em modo positivo ( $m/z=329,9850$ ) como em modo negativo ( $m/z=327,9704$ ), e os resultados indicaram que este não se acumulou em solução em quaisquer tempos de amostragem. O mesmo ocorreu para o segundo ( $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ONCl}_3$ ) e o terceiro ( $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{NC}_{12}$ ) subprodutos. Tais resultados indicam que se os subprodutos da oxidação do DCF identificados por Rigobello (2012) foram formados, as condições de cloração do presente estudo levaram à sua degradação total (mineralização) ou conversão a outros subprodutos.

Pereira (2013) identificou oito subprodutos referentes à oxidação de E2 com cloro, dois dos quais identificados nas amostras analisadas no presente trabalho. Os subprodutos de fórmula molecular  $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{ClO}_2$  e  $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{Cl}_3\text{O}_3$  não foram detectados nas amostras coletadas no início da cloração, mas acumularam-se em solução à medida que o tempo de contato com o cloro aumentou, de forma que, nos tempos de amostragem de 30 e 60 min, suas concentrações relativas eram da ordem de  $20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Tais resultados indicam que a cinética de formação de tais subprodutos é lenta e que eles são recalcitrantes à mineralização, tendo em vista que não houve redução das suas concentrações mesmo após 60 min de contato em solução que continha aproximadamente  $1,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  do agente oxidante.

## CONCLUSÃO

Fundamentado na revisão da literatura e nos resultados experimentais, pode-se afirmar que:

- não houve diferença significativa entre a dose de cloro aplicada para os fármacos SMXeE2 em água destilada, porém para o DCF a dose aplicada de  $3,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  influenciou significativamente na sua oxidação;
- a oxidação dos fármacos estudados apresentou tempo de equilíbrio de 30 min e todos se adequaram ao modelo cinético de pseudossegunda ordem, com valores de  $k_2$  da ordem de  $0,017 \text{ L}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$  para SMX e  $0,030 \text{ L}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$  para o E2. Para o DCF, o valor de  $k_2$



- foi dependente da dose de cloro, sendo de 0,0133e 0,0798 L.µg. min<sup>-1</sup> para doses de oxidante de, respectivamente, 2,0 e 3,0 mg.L<sup>-1</sup>;
- por fim, o aumento do tempo de contato com cloro levou ao aumento na remoção dos três fármacos analisados. Contudo, para o SMX e o E2 isso resultou no acúmulo de alguns subprodutos em solução, indicando que a cloração de águas contaminadas com tais fármacos pode levar à formação de compostos intermediários nos reservatórios do sistema de abastecimento e/ou na rede de distribuição de água tratada.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), as bolsas vinculadas à pesquisa; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), no contexto do Programa Nacional de Cooperação Acadêmica (Procad), Processo 218/2007; à Financiadora de Estudos e Projetos (Finep), no contexto do Edital Saneamento e Habitação; e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), no contexto do Programa Pesquisador Mineiro.

## REFERÊNCIAS

- ALDER, A.C.; MIKSCH, K.; OMIL, F.; TUHKANEN, T.; TERNES, T.A. (2006) *Human pharmaceuticals, hormones and fragrances: the challenge of micropollutants in urban water management*. Londres: IWA Publishing. p. 1476-1777.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA); AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA); WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). (2005) *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21. ed. Washington, D.C.: American Public Health Association.
- BASTOS, R.V. (2012) *Estudo da degradação do antibiótico sulfametoxazol em solução aquosa por fotólise*. 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- BEHNAMFARD, A.; SALARIRAD, M.M. (2009) Equilibrium and kinetic studies on free cyanide adsorption from aqueous solution by activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, v.170, p.127-133. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.04.124
- BILA, D.; MONTALVÃO, A.F.; AZEVEDO, D.A.; DEZOTTI, M. (2007) Estrogenic activity removal of 17β-estradiol by ozonation and identification of by-products. *Chemosphere*, v. 69, n. 5, p. 736-746. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.05.016
- BRANDÃO, C.C.S.; AMORIM, F.F. (2012) Removal of the Organic Contaminants β-estradiol and Saxitoxins (STX, NEO-STX AND dc-STX) by Nanofiltration: Bench Scale Evaluation. *Procedia Engineering*, v. 44, n. 1, p. 209-212. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2012.08.361>
- BRASIL. Ministério da Saúde. (2004) *Portaria nº 518: Normas e Padrão de Potabilidade no Brasil*. Brasília: Ministério da Saúde.
- \_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. (2011) *Portaria nº 2.914: Normas e Padrão de Potabilidade no Brasil*. Brasília: Ministério da Saúde.
- CHOI, K.J.; KIM, S.G.; KIM, C.W.; PARK, J.K. (2006) Removal efficiencies of endocrine disrupting chemicals by coagulation/flocculation, ozonation, powdered/granular activated carbon adsorption, and chlorination. *Korean Journal of Chemical Engineering*, v. 23, p. 399-408.
- JOHNSON, A.C.; BELFROID, A.; DI CORCIA, A. (2000) Estimating steroid estrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Science of the Total Environment*, v. 256, p. 163-173. DOI: 10.1016/S0048-9697(00)00481-2
- LIMA, D.R.S.; AFONSO, R.J.C.F.; LIBÂNIO, M.; AQUINO, S.F. (2014a) Avaliação da remoção de fármacos e de desreguladores endócrinos em águas de abastecimento por clarificação em escala de bancada. *Química Nova*, v. 37, n. 5, p. 783-788.
- LIMA, D.R.S.; BAÊTA, B.E.L.; AQUINO, S.F.; LIBÂNIO, M.; AFONSO, R.J.C.F. (2014b) Removal of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptor Compounds from Natural Waters by Clarification Associated with Powdered Activated Carbon. *Water Air Soil Pollution*, v. 225, n. 11, p. 1-12. DOI: 10.1007/s11270-014-2170-z
- LIMA, L.; BAÊTA, B.E.L.; LIMA, D.R.S.; AFONSO, R.J.C.F.; AQUINO, S.F.; LIBÂNIO, M. (2016) Comparison between two forms of granular activated carbon for the removal of pharmaceuticals from different waters. *Environmental Technology*, v. 37, n. 11, p. 1334-1345. DOI: 10.1080/09593330.2015.1114030
- MANIERO, M.G.; BILA, D.M.; DEZOTTI, M. (2008) Degradation and estrogenic activity removal of 17β-estradiol and 17α-ethinylestradiol by ozonation and O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Science of the Total Environment*, v. 407, n. 1, p. 105-115. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.08.011>
- MELO, S.A.S.; TROVÓ, A.G.; BAUTITZ, I.R.; NOGUEIRA, R.F.P. (2009) Degradação de Fármacos Residuais por Processos Oxidativos Avançados. *Química Nova*, v.32, n. 1, p.188-197.
- MIERZWA, J.C.; AQUINO, S.F.; VERAS, L.R.V. (2009) Remoção de Desreguladores Endócrinos. In: PÁDUA, V.L. (Org.). *Remoção de microrganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano*. Rio de Janeiro: ABES. p. 392.
- MOREIRA, D.S.; AQUINO, S.F.; AFONSO, R.J.C.F.; SANTOS, E.P.C.; PÁDUA, V.L. (2009) Occurrence of endocrine disrupting compounds in water sources of Belo Horizonte Metropolitan Area, Brazil. *Environmental Technology*, v. 30, n. 10, p. 1041-1049. <https://doi.org/10.1080/09593330903052830>

- MOREIRA, D.S.; AQUINO, S.F.; COUTRIM, M.; SILVA, J.; AFONSO, R.J.C.F. (2011) Determination of endocrine-disrupting compounds in waters from Rio das Velhas, Brazil, by liquid chromatography/high resolution mass spectrometry (ESI-LC-IT-TOF/MS). *Environmental Technology*, v. 32, n. 12, p. 1409-1417. DOI: 10.1080/09593330.2010.537829
- NAM, S.W.; JO, B.; YOON, Y.; ZOH, K.-D. (2014) Occurrence and removal of selected micropollutants in a water treatment plant. *Chemosphere*, v.95, p.156-165. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.08.055>
- PEREIRA, R.O.; CARMINATO, V.M.; VIEIRA, E.M.; DANIEL, L.A. (2013) Degradação parcial de 17 $\beta$ -estradiol por cloração aplicada ao tratamento de água. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v.18, n.3, p.215-222. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-41522013000300004>
- RIGOBELLO, E.S. (2012) *Avaliação da remoção de diclofenaco e formação de subprodutos em tratamento de água*. 259f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- RODRIGUES, K.L.T. (2012) *Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação simultânea de microcontaminantes emergentes em águas superficiais por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas*. 156f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.
- SANTOS, L.V.S.; MEIRELES, A.M.; LANGE, L.C.(2015) Degradation of antibiotics norfloxacin by Fenton, UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Environmental Management*, v. 154, n. 1, p. 8-12. DOI: 10.1016/j.jenvman.2015.02.021
- WESTERHOFF, P.; YOON, Y.; SNYDER, S.A.; WERT, E. (2005) Fate of Endocrine-Disruptor, Pharmaceutical, and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes. *Environmental Science&Technology*, v. 39, n. 17, p. 6649-6663. DOI:10.1021/es0484799