



Universidade do Porto

Faculdade de Engenharia

FEUP

Tecnologias Alternativas de Remoção de Antibióticos de Águas Contaminadas

Vera Maria Ferreira da Cruz Homem

Licenciada em Engenharia Química pela Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto para obtenção do grau de Doutor em Engenharia do Ambiente

Orientação

Doutora Lúcia Maria da Silveira Santos

Porto, 2011



Doutoramento financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia
(Referência SFRH/BD/38694/2007)

*Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.*

In Poesia, Ricardo Reis

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar o meu agradecimento a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

Estou particularmente grata à Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Departamento de Engenharia Química e ao Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente e Energia agradeço os meios disponibilizados para a realização experimental deste trabalho.

À Fundação para a Ciência e Tecnologia pelo apoio financeiro (bolsa de doutoramento SFRH/BD/38694/2007).

À Prof^a. Doutora Lúcia Santos agradeço a amizade, os ensinamentos, o incentivo, a disponibilidade e a confiança que depositou em mim durante a realização deste trabalho.

À Prof^a. Doutora Arminda Alves agradeço também toda a amizade, paciência, ensinamentos, incentivo e confiança demonstrada.

À Prof^a. Doutora Cidália Botelho gostaria de deixar uma palavra de reconhecimento pela sua amizade e por todo o apoio e incentivo ao longo deste trabalho.

A todos os meus Professores de Licenciatura que me forneceram as ferramentas necessárias para o desenvolvimento deste trabalho.

À empresa *Carqueja Almonds, Lda.* agradeço o fornecimento da casca de amêndoa, sem a qual parte deste trabalho não poderia ter sido realizado. Ao Centro de Materiais da Universidade do Porto, ao Laboratório de Catálise de Materiais, ao Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente e Energia e ao Departamento de Engenharia Química agradeço as análises efectuadas às amostras de casca de amêndoa, bem como toda a ajuda na interpretação de resultados. Ao Dr. Hugo Gaspar (Faculdade de Ciências da Universidade do Porto) o apoio na preparação da pastilha de casca de amêndoa, ao Eng.^o Luís Carlos Matos e à Eng.^a Lúcia Brandão a colaboração na realização dos ensaios de caracterização deste material e ao Sr. Sousa Vale todo o apoio técnico prestado.

Aos meus pais e avó gostaria de agradecer do fundo do meu coração todo o amor e carinho, toda a paciência, apoio e todos os conselhos sábios que me permitiram ultrapassar os momentos mais difíceis, contribuindo para a construção de um futuro sempre mais risonho. Aos meus avós “emprestados” Lurdinhas e Edgardo e aos meus primos Manuel João, M^a Cristina, M^a João, Ana Cristina e João Henrique, pela amizade, interesse e pelo apoio incondicional. Aos “Tios” Zé Carlos e Ema pela sua amizade e interesse sempre presentes. Estou igualmente grata aos meus “Tios” M^a Margarida e Armando que, embora já não presentes, sempre acreditaram nas minhas capacidades e sempre me incentivaram a seguir os meus sonhos. Para todos os meus familiares, mesmo aqueles que já não estão junto a mim, especialmente os meus avós paternos, gostaria de deixar uma palavra de reconhecimento pois uma parte deles estará sempre presente em tudo o que faço.

Gostaria de manifestar a minha gratidão ao Zé Luís e à Fátima por toda a amizade, simpatia e por todo o apoio. Ao Sr. Serafim um agradecimento especial por todos os ensinamentos que me permitiram ultrapassar muitos obstáculos, mas acima de tudo pela amizade, companheirismo e por todas as palavras sábias. Ao Nuno Ratola por toda a amizade, conselhos e debates de ideias que foram fundamentais em momentos de maior incerteza. Queria ainda agradecer à D. M^a José Mota e à D. Fátima Faustino pela disponibilidade, paciência, apoio e por toda a amizade demonstrada. A todas as pessoas do laboratório, Joana, Salomé, José Francisco, Gustavo, Rui e Katerina quero agradecer todos os bons momentos passados e toda a alegria e boa disposição.

Estou igualmente grata a todos aqueles que trabalharam directamente comigo nestes últimos quatro anos e que, de muitas e variadas formas, me ajudaram a percorrer este caminho. Um especial agradecimento à Lucia Caulonga pela amizade, companheirismo e pelo apoio sempre solícito.

Por último agradeço à Tété, Joana, Helena e Artur, meus amigos de sempre, pela amizade, pelo companheirismo e por todas as palavras de incentivo. Não poderia deixar passar esta oportunidade sem fazer um agradecimento especial à Tété por estar sempre presente a todos os níveis, desde o primeiro dia de aulas na Escola Secundária Alexandre Herculano! Estou igualmente grata à Mónica, Cátia, Ná, Traquinas, Elisabete e Gela por toda a amizade, companheirismo e por todas as conversas partilhadas. Às minhas Marias (Ritinha e Raquel), ao Filipe, ao José Avelino e ao Leandro quero agradecer a amizade incondicional, todos os conselhos, sugestões e críticas, pela boa disposição, mas principalmente por todos os sorrisos partilhados e por terem estado sempre comigo.

A todos os que não referi pessoalmente, mas que de algum modo me ajudaram na concretização deste trabalho, deixo uma palavra de carinho e agradecimento.

Dedico esta tese aos meus pais e avó.

RESUMO

Os resíduos de antibióticos humanos e veterinários têm sido detectados em diversas matrizes ambientais, nomeadamente em águas. A introdução destes compostos no meio ambiente através de fontes antropogénicas constitui um risco latente para os organismos aquáticos e terrestres. Embora presentes em níveis vestigiais, estes compostos são bioacumuláveis, pseudo-persistentes e podem causar resistências nas populações de bactérias, o que os pode tornar ineficazes no tratamento de algumas doenças. Por esta razão, torna-se essencial desenvolver tecnologias de tratamento que sejam eficazes na remoção deste tipo de contaminantes de matrizes aquosas.

O presente trabalho teve como principal motivação estudar metodologias capazes de minimizar os efeitos das descargas destes micropoluentes para o meio hídrico, bem como avaliar vários parâmetros que permitam maximizar este objectivo. Desta forma, escolheu-se como composto de estudo a amoxicilina, um dos antibióticos mais prescritos em todo o Mundo. Para este trabalho propôs-se o estudo de duas metodologias diferentes: a adsorção em casca de amêndoa, um produto excedentário da indústria agrícola, e a oxidação com reagente de Fenton. A investigação realizada envolveu essencialmente o desenvolvimento e validação de um método analítico para a quantificação de amoxicilina em matrizes aquosas, caracterização do material adsorvente, modelação do processo de adsorção e da oxidação com reagente de Fenton e comparação entre as duas metodologias estudadas.

Os ensaios de caracterização efectuados à casca de amêndoa na forma carbonizada permitiram avaliá-la química e estruturalmente. Este material possui uma área superficial de $450 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, valor um pouco inferior ao obtido para os carvões activados comerciais. A determinação da carga superficial permitiu concluir que a casca de amêndoa carbonizada possui um comportamento anfotérico. Já as análises de microscopia electrónica de varrimento confirmaram que os poros se encontram distribuídos por toda superfície, sendo na sua maioria macroporos.

Utilizando este material adsorvente efectuaram-se ensaios em sistema fechado de modo a avaliar o efeito da quantidade de adsorvente, concentração inicial de antibiótico, diâmetro de partícula e temperatura no processo de adsorção. Os resultados demonstraram que a adsorção da amoxicilina é dependente destes quatro factores. O processo de adsorção foi relativamente rápido e o equilíbrio foi estabelecido em cerca de 12 horas. Para uma concentração inicial de $450 \text{ }\mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ obtiveram-se como condições óptimas do processo 50 mg de adsorvente, diâmetro de partícula de $600 \text{ }\mu\text{m}$ e temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$. A comparação de diversos modelos cinéticos e de equilíbrio permitiu concluir que o modelo cinético de pseudo-segunda ordem e a isotérmica de Langmuir (capacidade máxima de adsorção a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ é de $2,5 \pm 0,1 \text{ mg}.\text{g}^{-1}$) representavam adequadamente o processo de adsorção. O processo de dessorção foi também testado (eficiência máxima de 5%). Os parâmetros termodinâmicos foram calculados e demonstraram que a adsorção era um processo exotérmico e espontâneo.

Foram ainda realizados estudos de adsorção em sistema contínuo (coluna de leito fixo), tendo-se testado a influência da concentração inicial da amoxicilina, altura do leito e caudal de alimentação. Estes

ensaios permitiram concluir que o aumento da concentração da amoxicilina no efluente de alimentação conduziu a um aumento na capacidade de adsorção da coluna, mas a uma diminuição do tempo de *breakthrough*. Verificou-se igualmente um aumento na capacidade de adsorção com o aumento da altura do leito e a diminuição do caudal de alimentação. De modo a modelizar o comportamento da coluna de adsorção em leito fixo foram aplicados os modelos teóricos de Bohart-Adams, BDST, Thomas e Yoon-Nelson aos dados experimentais. Os parâmetros característicos de cada um dos modelos foram determinados por regressão não linear. Estes modelos mostraram-se incapazes de prever satisfatoriamente o comportamento experimental.

O processo de oxidação com reagente de Fenton foi também estudado, avaliando-se os efeitos do pH, concentração inicial de oxidante (peróxido de hidrogénio), concentração inicial de catalisador (Fe^{2+}) e temperatura. Ensaio preliminares demonstraram que o pH óptimo de trabalho era de 3,5. Após estes ensaios, foi desenvolvida uma metodologia de desenho experimental para otimizar o processo de degradação e identificar quais os factores que o influenciam significativamente. A partir deste estudo verificou-se que a concentração de Fe^{2+} e a temperatura foram os parâmetros que mais influenciaram a resposta do processo. Com este estudo concluiu-se que nas condições óptimas (concentração de peróxido de hidrogénio = 3,50-4,28 mg.L^{-1} , concentração de Fe^{2+} = 254-350 $\mu\text{g.L}^{-1}$, temperatura = 20-40 °C) foi possível atingir a degradação total de 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$ amoxicilina após 30 minutos de tratamento. De modo a avaliar a formação de produtos de degradação, as amostras provenientes deste tratamento foram analisadas em LC-MS. Diversos compostos intermediários foram detectados, mas apenas foi possível identificar dois deles (produtos de hidrólise). Foram ainda efectuados estudos de oxidação com reagente de Fenton assistida por microondas. Os resultados obtidos demonstram que a taxa de degradação aumentou significativamente com a utilização da radiação microondas, sendo possível nas mesmas condições do processo de Fenton tradicional obter a remoção total ao fim de 5 minutos, enquanto o processo tradicional demora cerca de 90 minutos (450 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de amoxicilina, utilizando 95 $\mu\text{g.L}^{-1}$ Fe^{2+} e 2,35 mg.L^{-1} H_2O_2).

Os resultados obtidos foram comparados com os poucos estudos existentes na literatura. É importante salientar que esses estudos utilizaram concentrações iniciais de amoxicilina bastante superiores às encontradas no meio ambiente. Relativamente à adsorção verificou-se que a capacidade máxima de remoção do carvão activado é bastante superior ao da casca de amêndoa carbonizada e a cinética de adsorção bastante mais rápida. Esta situação estará relacionada com o facto do carvão activado possuir uma área superficial bastante superior, possuindo assim um maior número de centros activos disponíveis para a adsorção. Tendo em conta estes resultados, é necessária uma maior quantidade de casca de amêndoa carbonizada e provavelmente um maior tempo de contacto para remover a mesma quantidade de amoxicilina. No entanto, o custo do carvão activado é bastante superior ao deste material natural após carbonização. Por esta razão, o processo de adsorção com casca carbonizada pode apresentar uma relação eficiência/custo mais apelativa do que a aplicação do carvão activado.

Quanto às metodologias de oxidação avançada, os estudos existentes na literatura apontam para que os processos de oxidação com reagente de Fenton e de foto-Fenton sejam aqueles que conduzem a taxas de degradação e mineralização mais elevadas, associadas a um aumento na biodegradabilidade do efluente. Neste trabalho também se verificou que a taxa de degradação da amoxicilina era bastante elevada, utilizando moderadas quantidades de reagente.

Desta forma pode-se afirmar que os métodos abordados neste trabalho, comparativamente com as metodologias tradicionais, são eficientes e de baixo custo. Assim, este estudo demonstra a possível utilização destas técnicas (adsorção com um material excedentário da agricultura e oxidação com reagente de Fenton) na descontaminação de águas contendo amoxicilina.

Palavras-chave: antibióticos, amoxicilina, adsorção, casca de amêndoa, oxidação com reagente de Fenton

ABSTRACT

Residues of human and veterinary antibiotics have been detected in several environmental matrices, namely in waters. The introduction of these compounds through anthropogenic sources is a latent risk to aquatic and terrestrial organisms. Although present at trace levels, these compounds are bioaccumulative, pseudo-persistent and can produce antibacterial resistance among microorganisms, causing serious problems in treating pathologies. For this reason, it is essential to develop effective treatment technologies to remove such contaminants from aqueous matrices.

The main purposes of this work were the development of methodologies capable of minimizing the effects of micropollutants discharges into the aquatic environment and evaluate the process parameters in order to maximize this objective. Amoxicillin was chosen as case study because it is one of the most prescribed antibiotics worldwide. In this work were investigated two different methodologies: adsorption on almond shell (an agricultural by-product) and Fenton's oxidation. The study involved primarily the development and validation of an analytical method for the amoxicillin quantification in aqueous samples, adsorbent characterization, modelling of adsorption and Fenton's process and comparison between these two processes.

In order to evaluate chemical and structurally the almond shell ashes, characterization tests were performed. This material has a total surface area of $450 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, value slightly lower than those obtained for activated carbons. The determination of surface charge indicated that almond shell ashes have an amphoteric behaviour. Analysis of scanning electron microscopy confirmed that pores are distributed throughout the surface, being mostly macropores.

The batch adsorption of amoxicillin on almond shell ashes was investigated. The effect of the adsorbent amount, initial concentration of the antibiotic, particle diameter and temperature were considered to evaluate the adsorption capacity of the adsorbent. The results showed that amoxicillin sorption is dependent on these four factors. The adsorption process was relatively fast and equilibrium was established in about 12 hours. The optimum parameters for an initial concentration of $450 \text{ }\mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ were 50 mg of adsorbent, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ and particle diameter of $600 \text{ }\mu\text{m}$. A comparison of kinetic models showed that pseudo-second order kinetics provides the best correlation of the experimental data. Isotherm data adjusted better to Langmuir equation, with an adsorption capacity of $2.5 \pm 0.1 \text{ mg}.\text{g}^{-1}$ at $30 \text{ }^\circ\text{C}$. The desorption process was also evaluated (maximum efficiency of 5%). Thermodynamic parameters were calculated and showed that adsorption was exothermic and a spontaneous process.

Continuous adsorption studies (fixed-bed column) were also performed and the influence of the initial amoxicillin concentration, bed height and feed flow rate were tested. An increase in amoxicillin initial concentration led to an increase in the column adsorption capacity and a decrease in the breakthrough time. There was also an increase in the columns adsorption capacity with increasing bed height and decreasing the flow rate. The modelling of the fixed-bed column adsorption behaviour was achieved using the theoretical models of Bohart-Adams, Bed Depth Service Time (BDST), Thomas and Yoon-Nelson. The

characteristic parameters of each model were determined by nonlinear regression. None of these models was able to predict satisfactorily the experimental results.

The oxidation process with Fenton's reagent was also studied (pH, initial H_2O_2 concentration and Fe^{2+} and temperature). Preliminary assays showed that the optimum working pH was 3.5. After these tests, a factorial design methodology was employed to optimize the degradation process and to identify the significant variables. From this study, it was concluded that Fe^{2+} concentration and temperature were the variables that most influenced the response. Under optimal conditions (H_2O_2 concentration = 3.50-4.28 mg.L^{-1} , Fe^{2+} concentration = 254-350 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and temperature = 20-40 $^{\circ}\text{C}$), it was possible to achieve total amoxicillin degradation after 30 min of reaction. In order to evaluate the degradation products formed during the oxidation reaction, the samples were injected in LC-MS. Several intermediate compounds were detected, but only two could be identified (hydrolysis products). Oxidation studies with Fenton's reagent assisted by microwaves were also performed. The results show that degradation rate increased significantly with microwaves. Under the same experimental conditions that the traditional Fenton process, a complete removal was obtained after 5 minutes, while the traditional process takes about 90 minutes (degradation of 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$ amoxicillin, using 95 $\mu\text{g.L}^{-1}$ Fe^{2+} and 2.35 mg.L^{-1} H_2O_2).

The results were also compared with those found in the literature. It is important to note that these studies used amoxicillin initial concentrations higher than those found in the environment. Regarding the adsorption process it was verified that the maximum capacity of activated carbon is much higher than the almond shell ashes and the adsorption kinetics is much faster. This might be related to the fact that activated carbon has higher surface area (it has a greater number of active centers available for adsorption). According to these results, it is necessary a larger amount of almond shell ashes and probably higher contact times to remove the same amount of amoxicillin. However, activated carbons are more expensive than this natural material after carbonization. Therefore, the adsorption process with almond shell ashes may have an efficiency/cost ratio more interesting than the application of activated carbon.

Considering the advanced oxidation methods, studies in literature suggest that the photo-Fenton and Fenton reaction lead to higher degradation and mineralization rates as well as an increase in the effluent biodegradability. In this work, it was also found that amoxicillin degradation rate was very high, applying moderate amounts of reagents.

The methods discussed in this work are efficient and low cost compared to the traditional methodologies. Thus, this study demonstrates the possible use of these techniques (adsorption on agricultural by-products and Fenton's reaction oxidation) in the decontamination of water containing amoxicillin.

Keywords: antibiotics, amoxicillin, adsorption, almond shells, oxidation with Fenton's reagent

RESUME

Des résidus d'antibiotiques humains et vétérinaires ont été détectés dans plusieurs matrices environnementales, particulièrement dans les eaux. L'introduction de ces composés dans l'environnement à travers des sources anthropiques c'est un risque latent pour les organismes aquatiques et terrestres. Bien que présents à niveaux vésigons, ces composés sont bioaccumulations, pseudo persistants et peuvent produire des résistances dans les populations de bactéries, ce qui peuvent les rendre inefficaces dans le traitement de quelques maladies. Pour cette raison, il devient essentiel développer des technologies de traitement qui soient efficaces pour éliminer ce type de contaminants de matrices aqueuses.

Ce travail a eu pour objectif principal le développement des méthodologies capables de réduire les effets de décharges de ces micropolluants sur l'environnement aquatique, et d'évaluer les différents paramètres pour maximiser cet objectif. Comme ça, il a été choisi l'amoxicilline comme le composé d'étude, puisqu'il est un des antibiotiques le plus prescrits dans le monde entier. Pour ce travail, il a été proposé l'étude de deux méthodologies différentes: l'adsorption sur la coquille d'amande, un produit de l'industrie des excédents agricoles, et l'oxydation avec le réactif de Fenton. La recherche réalisée a porté essentiellement le développement et la validation d'une méthode analytique pour la quantification de l'amoxicilline dans des matrices aqueuses, la caractérisation du matériel adsorbant, la modélisation de l'adsorption et d'oxydation par le réactif de Fenton et la comparaison des deux méthodologies étudiées.

Les essais de caractérisation effectués nous ont permis d'évaluer la structure et la chimie des coquilles d'amande sous la forme carbonisée. Ce matériel a une aire superficielle de $450 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, une valeur légèrement inférieure à celle des charbons activés commerciaux. La détermination de la charge superficielle a permis conclure que la coquille d'amande carbonisée a un comportement amphotère. Les analyses de microscopie électronique à balayage ont déjà confirmé que les pores se trouvent distribués sur toute la surface, en étant leur plupart des macropores.

En utilisant ce matériel adsorbant ont été effectués des essais dans un système fermé pour évaluer l'effet de la quantité d'adsorbant, la concentration initiale d'antibiotique, le diamètre de la particule et température dans le procès d'adsorption. Les résultats ont démontré que l'adsorption de l'amoxicilline est dépendante de ces quatre facteurs. Le procédé d'adsorption a été relativement rapide et l'équilibre a été établi en 12 heures environ. Pour une concentration initiale de $450 \text{ }\mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ ont été obtenus des conditions optimales de 50 mg d'adsorbant, diamètre des particules de $600 \text{ }\mu\text{m}$ et la température de $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$. La comparaison de divers modèles cinétiques et d'équilibre a démontre que le modèle cinétique de pseudo deuxième ordre et l'isotherme de Langmuir (capacité maximale d'adsorption à $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ c'est de $2,5 \pm 0,1 \text{ mg.g}^{-1}$) représentaient de façon approprié le procès d'adsorption. Le procès de désorption a également été testé (une efficacité maximale de 5%). Les paramètres thermodynamiques ont été calculés et ont démontré que l'adsorption était un procès exothermique et spontané.

Ont été encore réalisés des études d'adsorption dans système continu (colonne en lit fixe), en ayant testé l'influence de la concentration initiale de l'amoxicilline, la hauteur du lit et le flux d'alimentation. Ces essais ont permis conclure que l'augmentation de la concentration de l'amoxicilline dans l'effluent d'alimentation a conduit à une augmentation de la capacité d'adsorption de la colonne, mais une diminution du temps de rupture. Il a été également vérifié une augmentation dans la capacité d'adsorption avec l'augmentation de la hauteur du lit et la diminution du flux d'alimentation. De façon à modéliser le comportement de la colonne d'adsorption en lit fixe ils ont été appliqués aux données expérimentales les modèles théoriques de Bohart-Adams, BDST, de Thomas et de Yoon-Nelson. Les paramètres caractéristiques de chacun des modèles ont été déterminés par régression pas linéaire. Ces modèles se sont montrés incapables de prévoir de façon satisfaisante le comportement expérimental.

Le procès d'oxydation avec réactif de Fenton a également été étudié, en évaluant les effets du pH, concentration initiale de l'oxydant (peroxyde d'hydrogène), concentration initiale de catalyseur (Fe^{2+}) et température). Des tests préliminaires ont démontré que le pH optimal de travail était de 3,5. Après ces essais, a été développée un plan d'expérience pour optimiser le procès de dégradation et d'identifier quels facteurs l'influencent significativement. De cette étude il s'est vérifié que la concentration de Fe^{2+} et la température ont été les paramètres qui plus ont influencé la réponse du procès. Cette étude a conclu que dans les conditions optimales (concentration de peroxyde d'hydrogène = 3,50-4,28 mg.L^{-1} , concentration de Fe^{2+} = 254-350 $\mu\text{g.L}^{-1}$, température = 20-40 °C) a été possible de arriver à la dégradation totale de 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$ amoxicilline après 30 minutes de traitement. Afin d'évaluer la formation des produits de dégradation, ont été injectés dans LC-MS des échantillons de l'effluent traité avec cette méthodologie. Ont été détectés plusieurs composés intermédiaires, mais seulement deux d'entre eux ont pu être identifiés (produits d'hydrolyse). Ont été encore effectuées des études d'oxydation avec réactif de Fenton assisté par micro-ondes. Les résultats obtenus ont démontré que le taux de dégradation a une augmentation significative avec l'utilisation de la radiation de micro-ondes. Il est possible dans les mêmes conditions du procédé traditionnel de Fenton d'obtenir la suppression total après 5 minutes, tandis que le traditionnel prend environ 90 minutes (450 $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'amoxicilline, en utilisant 95 $\mu\text{g.L}^{-1}$ Fe^{2+} et 2,35 mg.L^{-1} H_2O_2).

Les résultats obtenus ont été comparés avec les rares études existantes dans la littérature. Il est important de noter, que ces études ont utilisé des concentrations initiales de l'amoxicilline, plutôt plus élevées à ceux trouvés dans l'environnement. Pour l'adsorption a été constaté que capacité maximale de retrait du carbone activé est beaucoup plus élevé que la coquille d'amandes carbonisé et la cinétique d'adsorption beaucoup plus rapide. Ce sera lié au fait que le carbone activé a une surface beaucoup plus élevé, donc un plus grand nombre de centres actifs disponibles pour l'adsorption. Tenu de ces résultats, il faut une plus grande quantité de coquilles d'amandes carbonisé et probablement un temps plus de contact pour enlever la même quantité d'amoxicilline. Cependant, le coût du carbone activé est beaucoup plus élevé que ce matériau naturel après carbonisation. Donc, le procès d'adsorption avec coquille carbonisés peut avoir une efficacité relative / coût plus attrayant que l'application de charbon actif.

Pour les méthodologies d'oxydation avancée, les études existantes dans la littérature suggèrent que les processus de Fenton et photo-Fenton soient celles qui conduisent à des taux de dégradation et de minéralisation plus élevés, associées à une augmentation dans la biodégradabilité de l'effluent. Cette étude a également constaté que le taux de dégradation de l'amoxicilline était très élevé, en utilisant des quantités modérées de réactif.

De cette façon on peut dire que les méthodes discutées dans ce travail par rapport aux méthodes traditionnelles, sont efficaces et de faible coût. De sorte que cette étude démontre l'utilisation possible de ces techniques (adsorption avec matériel un excédent de l'agriculture et l'oxydation avec le réactif de Fenton) dans la décontamination de l'eau contenant de l'amoxicilline.

Mot-clé: antibiotiques, amoxicilline, adsorption, coquille d'amande, oxydation avec le réactif de Fenton

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE GERAL.....	xix
ÍNDICE DE FIGURAS	xxv
ÍNDICE DE TABELAS	xxxi
NOMENCLATURA	xxxiii
 1.INTRODUÇÃO	 3
1.1.Objectivos do trabalho	3
1.2.Os Antibióticos	5
1.2.1.História e classificação dos antibióticos	5
1.2.2.Mercado e consumo de antibióticos	7
1.2.3.Legislação.....	9
1.2.4.Fontes de exposição	10
1.2.5.Ocorrência no meio ambiente.....	12
1.2.6.Efeito dos antibióticos no ecossistema	21
1.2.7.Métodos de remoção de antibióticos de matrizes aquosas.....	22
1.2.7.1.Tratamentos convencionais	50
1.2.7.2.Processos de Oxidação.....	51
1.2.7.2.1.Cloração.....	51
1.2.7.2.2.Processos Avançados de Oxidação.....	53
1.2.7.2.2.1.Ozonólise	53
1.2.7.2.2.2.Fenton e Foto-Fenton	57
1.2.7.2.2.2.1.Princípios teóricos	57
1.2.7.2.2.2.2.Factores que influenciam o processo.....	59
1.2.7.2.2.2.3.Cinética da reacção	61
1.2.7.2.2.2.4.Aplicações.....	63
1.2.7.2.2.3.Fotólise.....	65
1.2.7.2.2.4.Fotocatálise heterogénea	66
1.2.7.2.2.5.Processos electroquímicos	69
1.2.7.3.Processos de adsorção.....	70
1.2.7.3.1.Princípios teóricos	70
1.2.7.3.2.Adsorção em sistema fechado (<i>batch</i>)	71
1.2.7.3.2.1.Equilíbrio de adsorção	71
1.2.7.3.2.1.1.Isotérmica linear.....	71

1.2.7.3.2.1.2.Isotérmica de Langmuir	72
1.2.7.3.2.1.3.Isotérmica de Freundlich	72
1.2.7.3.2.1.4.Isotérmica de Temkin	72
1.2.7.3.2.1.5.Outras isotérmicas.....	73
1.2.7.3.3.Cinética de adsorção.....	73
1.2.7.3.3.1.Modelo de pseudo-primeira ordem	74
1.2.7.3.3.2.Modelo de pseudo-segunda ordem.....	74
1.2.7.3.3.3.Modelo de Elovich.....	74
1.2.7.3.3.4.Modelo de difusão externa	75
1.2.7.3.3.5.Modelo de difusão homogénea	76
1.2.7.3.3.6.Modelo de difusão intraparticular – partículas porosas.....	78
1.2.7.3.3.7.Modelo de difusão filme-poro	79
1.2.7.3.4.Parâmetros termodinâmicos	80
1.2.7.3.5.Adsorção em leito fixo	81
1.2.7.3.5.1.Modelo de Bohart-Adams.....	85
1.2.7.3.5.2.Modelo de BDST (<i>Bed Depth Service Time</i>).....	86
1.2.7.3.5.3.Modelo de Thomas	86
1.2.7.3.5.4.Modelo de Yoon-Nelson	87
1.2.7.3.5.5.Previsão das curvas de breakthrough	87
1.2.7.3.6.Factores que influenciam o processo	88
1.2.7.3.7.Aplicações	89
1.2.7.4.Processos membranares	89
1.2.7.4.1.Osmose inversa, Nano e Ultrafiltração.....	90
1.2.7.4.2.Permuta iónica.....	91
1.2.7.5.Processos combinados	92
1.2.7.6.Análise crítica dos métodos de remoção de antibióticos de matrizes aquosas	93
1.3.Caso de estudo – A Amoxicilina.....	95
1.3.1.Caracterização físico-química	95
1.3.2.Consumo	96
1.3.3.Legislação.....	97
1.3.4.Detecção e impacto ambiental	97
1.3.5.Análise da amoxicilina em águas	99
1.3.5.1.Métodos de extracção.....	99
1.3.5.2.Métodos de análise instrumental	106
1.3.5.3.Princípios gerais de LC-MS	107

1.3.6.Métodos de remoção da amoxicilina em águas.....	113
1.4.A casca de amêndoa como adsorvente natural	120
1.4.1.1.Estrutura e composição química.....	120
1.4.1.2.Importância económica	126
1.5.Enquadramento do trabalho.....	127
2.PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	131
2.1.Reagentes e consumíveis	131
2.2.Preparação dos padrões.....	131
2.3.Equipamento	131
2.4.Método analítico para a quantificação da amoxicilina em amostras aquosas e para a identificação de produtos de degradação	132
2.5.Estudos de adsorção	133
2.5.1.Preparação do material adsorvente	133
2.5.2.Caracterização do material adsorvente.....	134
2.5.2.1.Determinação da granulometria.....	134
2.5.2.2.Análise por microscopia electrónica de varrimento (SEM)	134
2.5.2.3.Determinação da massa específica real.....	134
2.5.2.4.Determinação da massa específica aparente, porosidade e área superficial externa	134
2.5.2.5.Determinação da área superficial total	136
2.5.2.6.Determinação da dureza.....	137
2.5.2.7.Análise elementar	138
2.5.2.8.Análise termogravimétrica.....	138
2.5.2.9.Análise por espectroscopia de infravermelho associado a transformadas de Fourier (FTIR).....	138
2.5.2.10.Análise por espectroscopia de fotoelectrões de raio X (XPS)	138
2.5.2.11.Determinação da basicidade e acidez totais.....	139
2.5.2.12.Determinação dos grupos funcionais à superfície.....	139
2.5.2.13.Determinação do pH no ponto de carga nula.....	140
2.5.2.14.Determinação dos minerais hidrossolúveis	140
2.5.3.Ensaio de adsorção em sistema fechado (<i>Batch</i>)	141
2.5.3.1.Avaliação da adsorção da amoxicilina aos filtros.....	141
2.5.3.2.Cinética de adsorção	142
2.5.3.3.Isotérmicas de equilíbrio.....	142

2.5.3.4. Estudos de dessorção	142
2.5.4. Ensaio de adsorção em leito fixo	143
2.6. Ensaio de oxidação	143
2.6.1. Estudo das interferências das espécies utilizadas na oxidação com reagente de Fenton com a amoxicilina	143
2.6.2. Ensaio de oxidação com reagente de Fenton	144
2.6.3. Ensaio de oxidação com reagente de Fenton e microondas	144
2.7. Tratamento dos resíduos gerados	145
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	149
3.1. Desenvolvimento, implementação e validação de um método de análise de amoxicilina por HPLC-DAD	149
3.1.1. Linearidade da resposta, limites de detecção e quantificação	151
3.1.2. Precisão	152
3.1.3. Exactidão	153
3.1.4. Avaliação da Incerteza Global	153
3.1.4.1. Metodologia <i>bottom-up</i>	155
3.1.4.2. Metodologia <i>fitness-for-purpose</i> e metodologia <i>top-down</i> modificada	157
3.1.4.3. Comparação entre as três metodologias estudadas	157
3.1.5. Estudo das interferências das espécies utilizadas na oxidação com reagente de Fenton com a amoxicilina	159
3.2. Desenvolvimento, implementação e validação de um método de análise de amoxicilina por LC-MS/MS	162
3.2.1. Optimização de uma metodologia em LC-MS/MS	162
3.2.1.1. Optimização na massa	162
3.2.1.2. Optimização na fonte de ionização	163
3.2.1.3. Optimização das condições cromatográficas	165
3.2.2. Validação da metodologia analítica	166
3.2.2.1. Linearidade e limite de quantificação	166
3.2.2.2. Ensaio de precisão	167
3.2.2.3. Ensaio de exactidão	167
3.2.3. Avaliação da incerteza global	168
3.2.4. Controlo de qualidade dos resultados	169
3.2.5. Estudo das interferências das espécies utilizadas na oxidação com reagente de Fenton com a amoxicilina	170

3.3.Estudos de Adsorção	173
3.3.1.Caracterização dos materiais adsorventes	173
3.3.1.1.Caracterização física.....	173
3.3.1.1.1.Distribuição granulométrica	173
3.3.1.1.2.Análise por microscopia electrónica de varrimento (SEM).....	174
3.3.1.1.3.Massa específica real, aparente, porosidade	176
3.3.1.1.4.Área superficial específica.....	177
3.3.1.1.5.Dureza do material	178
3.3.1.2.Caracterização química	179
3.3.1.2.1.Análise Elementar.....	179
3.3.1.2.2.Análise Termogravimétrica	180
3.3.1.2.3.Análise por espectroscopia de infravermelho associada a transformadas de Fourier (FTIR).....	182
3.3.1.2.4.Análise por espectroscopia de fotoelectrões de raio X (XPS)	183
3.3.1.2.5.Determinação da basicidade e acidez totais e grupos funcionais à superfície	187
3.3.1.2.6.Determinação do pH no ponto de carga nula	188
3.3.1.2.7.Determinação dos minerais hidrossolúveis	189
3.3.2.Adsorção em sistema fechado	191
3.3.2.1.Avaliação da adsorção da amoxicilina nos filtros	191
3.3.2.2.Ensaio preliminares com casca de amêndoa ao natural	191
3.3.2.3.Estudo da cinética de adsorção	193
3.3.2.3.1.Efeito da massa de adsorvente	193
3.3.2.3.2.Efeito do tempo de contacto e da concentração inicial do analito	194
3.3.2.3.3.Efeito do tamanho de partícula.....	195
3.3.2.3.4.Efeito da temperatura	196
3.3.2.3.5.Efeito do pH.....	197
3.3.2.3.6.Modelização da cinética de adsorção	199
3.3.2.4.Estudo do equilíbrio de adsorção	206
3.3.2.5.Estudo dos parâmetros termodinâmicos.....	208
3.3.2.6.Estudo de dessorção	209
3.3.2.6.1.Comparação da adsorção da amoxicilina em diferentes materiais	210
3.3.3.Ensaio de adsorção em coluna de leito fixo.....	211
3.3.3.1.Efeito da concentração do analito	212
3.3.3.2.Efeito da altura do leito	213
3.3.3.3.Efeito do caudal de efluente	214

3.3.3.4.Efeito do diâmetro da coluna.....	215
3.3.3.5.Modelização dos resultados de adsorção em leito fixo	216
3.4.Estudos de Oxidação	221
3.4.1.Processo de Fenton.....	221
3.4.1.1.Estudo das principais variáveis do processo	221
3.4.1.1.1.Efeito do pH	221
3.4.1.1.2.Efeito da concentração do peróxido de hidrogénio	223
3.4.1.1.3.Efeito da concentração do ião Fe^{2+}	223
3.4.1.1.4.Efeito da temperatura	224
3.4.1.1.5.Efeito da concentração inicial de analito.....	225
3.4.1.1.6.Efeito do tempo de tratamento	226
3.4.1.2.Estudo da cinética do processo	226
3.4.1.3.Aplicação de desenho de experiências (DoE).....	231
3.4.1.4.Resposta de superfície e gráficos de contorno	235
3.4.1.5.Estudo dos produtos intermediários da reacção de oxidação com reagente de Fenton.....	239
3.4.1.5.1.Estudo das soluções padrão de amoxicilina em HPLC-DAD	239
3.4.1.5.2.Produtos intermediários da reacção detectados em HPLC-DAD.....	240
3.4.1.5.3.Estudo dos produtos intermediários por LC-MS	243
3.4.2.Processo de Fenton assistido por microondas	247
3.4.2.1.1.Efeito da radiação com microondas	247
3.4.2.1.2.Efeito da potência do microondas.....	248
3.4.2.1.3.Efeito da concentração inicial do peróxido de hidrogénio.....	248
3.4.2.1.4.Efeito da concentração inicial dos iões Fe^{2+}	249
3.4.2.1.5.Efeito do tempo de reacção	250
3.4.2.1.6.Comparação entre o processo de Fenton tradicional e o processo assistido por microondas	250
3.5.Comparação entre os métodos de adsorção e de oxidação de Fenton	251
4.CONCLUSÕES.....	259
Sugestões para Trabalho Futuro	263
Referências Bibliográficas.....	267
Anexo I. Determinação da Incerteza Global	301
Anexo II. Desenho Experimental	303

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Classes de antibióticos mais consumidas em ambulatório em 2008.....	9
Figura 2. Vias de contaminação do meio ambiente com antibióticos.....	11
Figura 3. Classes dos antibióticos (a) mais estudados e (b) mais prescritos.	23
Figura 4. Metodologias de degradação e remoção aplicadas a cada classe de antibiótico.	23
Figura 5. Perfil de concentração no filme.....	75
Figura 6. Perfil de concentração na partícula homogénea.....	76
Figura 7. Perfil de concentração na partícula porosa.....	78
Figura 8. Perfil de concentrações no filme e na partícula.....	79
Figura 9. Deslocação de ZTM ao longo de uma coluna de adsorção.....	83
Figura 10. Estrutura química (a) e geometria tridimensional da molécula (b) de amoxicilina.....	95
Figura 11. Diagrama de especiação da amoxicilina em função do pH.....	96
Figura 12. Número de embalagens vendidas de amoxicilina entre 2003 e 2009 em Portugal.....	97
Figura 13. Módulos de um sistema de LC-MS.....	107
Figura 14. Diagrama de (a) fonte de ionização por <i>electrospray</i> , (b) deformação e explosão de Coulomb.....	108
Figura 15. Diagrama da fonte de ionização por ionização química.....	109
Figura 16. Diagrama de um quadrupolo simples.....	110
Figura 17. Diagrama de um analisador <i>ion-trap</i>	110
Figura 18. Diagrama de um analisador <i>time-of-flight</i>	111
Figura 19. A amendoeira e o seu fruto.....	120
Figura 20. Estrutura química de uma unidade de celulose.....	121
Figura 21. Estruturas monoméricas constituintes da hemicelulose (a) β -D-glucose, (b) β -D-manose, (c) β -D-galactose, (d) β -D-xilose e (e) β -L-arabinose.....	121
Figura 22. Unidades precursoras da lenhina, (a) álcool <i>p</i> -cumarílico, (b) álcool coniferílico, (c) álcool sinapílico.....	122
Figura 23. Ligação mais abundante na estrutura da lenhina (β -O-4).....	122
Figura 24. Estrutura química representativa da lenhina.....	123
Figura 25. Extractáveis mais abundantes e sua localização na planta.....	124
Figura 26. Exemplos de ácidos gordos e estruturas químicas da unidade base de triglicéridos e ceras (R_1 , R_2 e R_3 – cadeia de ácidos gordos).....	124
Figura 27. Unidade básica dos ésteres esterílicos (R_4 – cadeia de ácidos gordos saturados e insaturados, C_{14} - C_{20}) e exemplos de esteróis (R_5 – C_2H_5 ou CH_3).....	125
Figura 28. Exemplos de monoterpenos e terpenóides.....	125
Figura 29. Exemplos de compostos fenólicos presentes nas cascas.....	126
Figura 30. Fotografias das cascas de amêndoa utilizadas ao longo deste estudo.....	133
Figura 31. Esquema da montagem experimental para os ensaios de oxidação de Fenton.....	144

Figura 32. Esquema da montagem experimental para os ensaios de oxidação assistida por microondas.....	145
Figura 33. Cromatograma de um padrão de amoxicilina 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$	149
Figura 34. Espectro de absorção de um padrão de amoxicilina 1,5 mg.L^{-1}	150
Figura 35. Recta de calibração para a amoxicilina e respectivo intervalo de confiança.....	151
Figura 36. Curva generalizada que relaciona os coeficientes de variação (expressos em potências de 2 na escala do lado direito) com a concentração (expressa em potências de 10).....	154
Figura 37. Contribuição das incertezas individuais no resultado da incerteza global.	156
Figura 38. Incerteza global em função da concentração de amoxicilina.	156
Figura 39. Comparação da incerteza expandida calculada a partir de três aproximações diferentes.	158
Figura 40. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição de 1 mg.mL^{-1} de Na_2SO_3	160
Figura 41. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição de diferentes concentrações de Fe^{2+}	160
Figura 42. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição das diferentes espécies químicas presentes em solução.....	161
Figura 43. Principais etapas no desenvolvimento de uma metodologia analítica em LC-MS.....	162
Figura 44. Optimização dos parâmetros da fonte de iões (barras de erro correspondentes ao desvio-padrão): (a) Temperatura do gás de secagem ($P_{\text{gás de nebulização}} = 50 \text{ psi}$, $P_{\text{gás de secagem}} = 30 \text{ psi}$); (b) Pressão do gás de secagem ($P_{\text{gás de nebulização}} = 50 \text{ psi}$, $T_{\text{gás de secagem}} = 200 \text{ }^\circ\text{C}$); (c) Pressão do gás de nebulização ($P_{\text{gás de secagem}} = 15 \text{ psi}$, $T_{\text{gás de secagem}} = 200 \text{ }^\circ\text{C}$).	164
Figura 45. Optimização da composição da fase móvel através da resposta do equipamento em LC-MS (barras de erro correspondentes ao desvio-padrão).	165
Figura 46. Recta de calibração para a amoxicilina em LC-MS/MS e respectivo intervalo de confiança.	166
Figura 47. Contribuição das incertezas individuais no resultado da incerteza global.	168
Figura 48. Incerteza global da metodologia de LC-MS/MS para cada nível de concentração de amoxicilina.....	168
Figura 49. Carta de controlo de Shewhart para um padrão de 280 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de amoxicilina.....	170
Figura 50. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição de 12 mg.mL^{-1} de Na_2SO_3	171
Figura 51. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição de 21 mg.L^{-1} de Fe^{2+}	171
Figura 52. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição das diferentes espécies químicas presentes em solução (21 mg.L^{-1} Fe^{2+} , 522 mg.L^{-1} H_2O_2 , 12 mg.mL^{-1} Na_2SO_3).....	172
Figura 53. Distribuição do tamanho das partículas de (a) casca de amêndoa ao natural (b) casca de amêndoa carbonizada.	173
Figura 54. Imagens de microscopia electrónica de varrimento da casca de amêndoa ao natural a diferentes ampliações: (a) 2500x, (b) 7500x, (c) 30000x	174
Figura 55. Imagens de microscopia electrónica de varrimento de casca da amêndoa carbonizada a diferentes ampliações: (a) 2500x (b) 5000x (c) 10000x.	175
Figura 56. Relação linear da isotérmica de B.E.T. para $0,05 < P/P_0 < 0,30$ para a casca carbonizada de amêndoa.....	177
Figura 57. Curvas termogravimétricas para os materiais estudados.....	180

Figura 58. Curvas diferenciais termogravimétricas dos materiais estudados ($25\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ de N_2 a um caudal de 30 mL min^{-1}).	181
Figura 59. Espectro de infravermelho da casca de amêndoa (a) ao natural, (b) carbonizada.	182
Figura 60. Espectro de XPS para a superfície da casca de amêndoa carbonizada.....	184
Figura 61. Deconvolução dos picos do espectro de elevada resolução da região (a) C1s (278-296 eV), (b) O1s (526-546 eV) e (c) N1s (392-414 eV).	185
Figura 62. (a) Carga superficial dos materiais adsorventes estudados pelo método da variação do pH, (b) representação visual da carga à superfície do adsorvente.	188
Figura 63. Relação entre a quantidade de casca de amêndoa natural e a de analito adsorvida (tempo de contacto = 400 min, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $d_p = 515\text{ }\mu\text{m}$, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm). ..	191
Figura 64. Relação entre a quantidade de casca de amêndoa natural e a de analito adsorvida (tempo de contacto = 6935 min, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $d_p = 515\text{ }\mu\text{m}$, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm). ..	192
Figura 65. Efeito do tempo de contacto no processo de adsorção (massa de adsorvente = 300 mg, $d_p = 510\text{ }\mu\text{m}$, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm).	192
Figura 66. Relação entre a concentração de adsorvente e a quantidade de analito adsorvida (tempo de contacto = 400 min, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, pH = 6,50, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm).....	193
Figura 67. Efeito do tempo de contacto no processo de adsorção a diferentes razões mássicas amoxicilina/adsorvente (massa de adsorvente = 50 mg, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, pH = 6,50, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm).....	194
Figura 68. Efeito do tamanho de partícula de adsorvente no processo de adsorção (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, pH = 6,50, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm).....	195
Figura 69. Efeito da temperatura no processo de adsorção (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, pH = 6,50, 120 rpm).	196
Figura 70. Cromatogramas referentes a soluções de amoxicilina ($450\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) mantidas a diferentes valores de pH durante 400 min a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e respectiva percentagem de degradação.....	198
Figura 71. Efeito do pH no processo de adsorção (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm).	198
Figura 72. Representação do modelo de difusão externa para diferentes concentrações iniciais de amoxicilina (50 mg adsorvente, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH = 6,50, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, 120 rpm).	203
Figura 73. Representação do modelo de difusão intraparticular diferentes concentrações iniciais de amoxicilina (50 mg adsorvente, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH = 6,50, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, 120 rpm).	204
Figura 74. Comparação entre as isotérmicas de adsorção ($T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, pH = 6,50; 120 rpm, tempo de contacto = 12 horas).....	207
Figura 75. Comparação entre adsorção e dessorção (50 mg adsorvente, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH = 6,50, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, 120 rpm, tempo de contacto = 12 horas).	209
Figura 76. Estudo da aplicabilidade de diferentes materiais ao processo de adsorção (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm).....	210
Figura 77. Curvas de ruptura para diferentes concentrações iniciais de amoxicilina ($D_{\text{coluna}} = 2\text{ cm}$, $L = 4\text{ cm}$ e $Q = 12\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$).	212
Figura 78. Curvas de ruptura para diferentes alturas de leito ($D_{\text{coluna}} = 2\text{ cm}$, concentração amoxicilina = $1000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e $Q = 12\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$).	214

Figura 79. Curvas de ruptura para diferentes caudais ($D_{\text{coluna}} = 2 \text{ cm}$, concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $L = 4 \text{ cm}$).....	215
Figura 80. Comparação entre a curva de ruptura da amoxicilina em leito de casca de amêndoa carbonizada e os modelos teóricos aplicados ($D_{\text{coluna}} = 2 \text{ cm}$, concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$, $L = 4 \text{ cm}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).....	218
Figura 81. Curvas teóricas de ruptura para as diferentes condições testadas.	220
Figura 82. Efeito do pH na degradação da amoxicilina ($T = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, concentração $\text{H}_2\text{O}_2 = 2,35 \text{ mg.L}^{-1}$, concentração $\text{Fe}^{2+} = 95 \mu\text{g.L}^{-1}$).	222
Figura 83. Efeito da concentração de peróxido de hidrogénio na degradação da amoxicilina ($T = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, concentração $\text{Fe}^{2+} = 95 \mu\text{g.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$).	223
Figura 84. Efeito da concentração de ião Fe^{2+} na degradação da amoxicilina ($T = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, concentração $\text{H}_2\text{O}_2 = 2,35 \text{ mg.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$).....	224
Figura 85. Efeito da temperatura na degradação da amoxicilina (concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, concentração $\text{H}_2\text{O}_2 = 2,35 \text{ mg.L}^{-1}$, concentração $\text{Fe}^{2+} = 95 \mu\text{g.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$).	225
Figura 86. Efeito da concentração inicial de amoxicilina na degradação por reagente de Fenton ($T = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, razões molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{amoxicilina} = 56$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 41$, $\text{pH} = 3,5$).	226
Figura 87. Comparação entre os modelos cinéticos ($T = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, concentração amoxicilina = $250 \mu\text{g.L}^{-1}$, razões molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{amoxicilina} = 56$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 41$, $\text{pH} = 3,5$).....	227
Figura 88. Comparação dos dados experimentais e dos valores previstos pelo modelo.	232
Figura 89. Análise de Pareto (b_1 – coeficiente associado à concentração de H_2O_2 , b_2 – coeficiente associado à concentração de Fe^{2+} , b_3 – coeficiente associado à temperatura).	234
Figura 90. Resposta de superfície e gráfico de contorno para a concentração adimensional de amoxicilina após 30 min de reacção em função da concentração inicial de Fe^{2+} e da temperatura (concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$ e (a) $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,20 \text{ mg.L}^{-1}$, (b) $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2,35 \text{ mg.L}^{-1}$, (c) $[\text{H}_2\text{O}_2] = 3,50 \text{ mg.L}^{-1}$).	236
Figura 91. Resposta de superfície e gráfico de contorno para a concentração adimensional de amoxicilina após 30 min de reacção em função da concentração inicial de H_2O_2 e da temperatura (concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$ e (a) $[\text{Fe}^{2+}] = 95 \mu\text{g.L}^{-1}$, (b) $[\text{Fe}^{2+}] = 190 \mu\text{g.L}^{-1}$, (c) $[\text{Fe}^{2+}] = 285 \mu\text{g.L}^{-1}$).	237
Figura 92. Resposta de superfície e gráfico de contorno para a concentração adimensional de amoxicilina após 30 min de reacção em função da concentração inicial de H_2O_2 e de Fe^{2+} (concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$ e (a) $T = 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, (b) $T = 45 \text{ }^{\circ}\text{C}$, (c) $T = 60 \text{ }^{\circ}\text{C}$	238
Figura 93. Cromatograma de um padrão de amoxicilina 100 mg L^{-1} (a) e espectro de absorção (b).	240
Figura 94. Perfil de degradação da amoxicilina por oxidação com reagente de Fenton ($T = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 3,5$, razão mássica amoxicilina: $\text{H}_2\text{O}_2 = 0,20$ e amoxicilina: $\text{Fe}^{2+} = 4,75$).....	241
Figura 95. Perfil de mineralização da amoxicilina por oxidação com reagente de Fenton ($T = 40 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 3,5$, razão mássica amoxicilina: $\text{H}_2\text{O}_2 = 0,20$ e amoxicilina: $\text{Fe}^{2+} = 4,75$).....	242
Figura 96. Evolução dos cromatogramas em HPLC-DAD durante a oxidação da amoxicilina 100 mg.L^{-1} com reagente de Fenton.	243
Figura 97. Cromatogramas de iões seleccionados: (a) $m/z = 366$, (b) $m/z = 384$, (c) $m/z = 340$, espectros de LC-MS e estruturas químicas propostas para os compostos detectados na solução padrão de amoxicilina.	244
Figura 98. Proposta de via de degradação da amoxicilina com reagente de Fenton.	246

Figura 99. Efeito da potência do microondas na degradação da amoxicilina (concentração amoxicilina = 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$, concentração H_2O_2 = 2,35 mg.L^{-1} , concentração Fe^{2+} = 95 $\mu\text{g.L}^{-1}$, pH = 3,5).....	248
Figura 100. Efeito da concentração inicial de peróxido de hidrogénio na degradação da amoxicilina (concentração amoxicilina = 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$, concentração Fe^{2+} = 95 $\mu\text{g.L}^{-1}$, potência = 397 W, pH = 3,5).	249
Figura 101. Efeito da concentração inicial de iões Fe^{2+} na degradação da amoxicilina (concentração amoxicilina = 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$, concentração H_2O_2 = 2,35 mg.L^{-1} , potência = 397 W, pH = 3,5).	250
Figura 102. Comparação entre a oxidação de Fenton tradicional e a oxidação de Fenton assistida por microondas: (a) efeito da variação da concentração inicial de peróxido de hidrogénio e (b) efeito da variação da concentração inicial de iões Fe^{2+}	251

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Principais classes de antibióticos.	6
Tabela 2. Quantidade total de antibióticos utilizados em ambulatório na Europa entre 1999 e 2008 (valores expressos em dose diária recomendada (DDD) por 1000 habitantes e por dia).	8
Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes.	12
Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos.	25
Tabela 5. Exemplos de modelos de equilíbrio referidos na literatura.	73
Tabela 6. Propriedades físico-químicas da amoxicilina.	96
Tabela 7. Informação toxicológica para a amoxicilina.	98
Tabela 8. Detecção da amoxicilina em diversas matrizes ambientais em todo o mundo.	99
Tabela 9. Metodologias analíticas para a quantificação e detecção da amoxicilina em matrizes aquosas.	102
Tabela 10. Adutos mais comuns em <i>electrospray</i> no modo de ionização positiva e negativa.	112
Tabela 11. Processos de remoção/degradação da amoxicilina em matrizes aquosas.	118
Tabela 12. Parâmetros de quantificação.	151
Tabela 13. Estudo da precisão do método analítico com soluções padrão.	152
Tabela 14. Estudo da precisão (repetibilidade) do método analítico com amostras reais.	152
Tabela 15. Estudo da exactidão do método analítico.	153
Tabela 16. Estudo das incertezas associadas a cada uma das fontes e incerteza global.	155
Tabela 17. Coeficiente de variação calculado com base na metodologia <i>fitness-for-purpose</i> e <i>top-down</i> modificada para cada concentração de amoxicilina.	157
Tabela 18. Condições optimizadas do espectrómetro de massa para a determinação da amoxicilina.	163
Tabela 19. Parâmetros de quantificação.	166
Tabela 20. Estudo da precisão do método analítico.	167
Tabela 21. Propriedades físicas da casca de amêndoa ao natural e carbonizada.	176
Tabela 22. Área superficial específica determinada por porosimetria de mercúrio e pelo método B.E.T.	177
Tabela 23. Valores de dureza para vários materiais adsorvente.	178
Tabela 24. Análise elementar dos materiais adsorventes em percentagem mássica (base seca e sem cinzas).	179
Tabela 25. Análise termogravimétrica dos adsorventes em estudo (fracções mássicas em base seca).	180
Tabela 26. Análise sumária da composição à superfície obtida por XPS em % atómica.	184
Tabela 27. Intensidade relativa dos tipos de ligação estabelecidas à superfície da casca carbonizada de amêndoa.	186
Tabela 28. Valores obtidos para a acidez e basicidade, bem como para os grupos superficiais.	187
Tabela 29. Teores de minerais hidrossolúveis para vários materiais adsorventes.	189

Tabela 30. Parâmetros cinéticos do modelo de pseudo-primeira e segunda ordem e Elovich para a adsorção de amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada.....	202
Tabela 31. Parâmetros cinéticos do modelo de difusão intraparticular e difusão externa para a adsorção de amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada.....	205
Tabela 32. Parâmetros das isotérmicas Linear, Langmuir, Freundlich e Temkin ($d_p = 600 \mu\text{m}$, $\text{pH} = 6,50$; 120 rpm, tempo de contacto = 12 horas).....	207
Tabela 33. Parâmetros termodinâmicos para a adsorção de amoxicilina em cascas de amêndoa carbonizada.	208
Tabela 34. Principais especificações do carvão activado granular.....	210
Tabela 35. Parâmetros obtidos para o modelo de pseudo-segunda ordem em diferentes materiais (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, $T = 30^\circ\text{C}$).....	211
Tabela 36. Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada para diferentes concentrações de alimentação ($L = 4 \text{ cm}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).....	212
Tabela 37. Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada para diferentes concentrações de alimentação (concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).....	214
Tabela 38. Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada para diferentes concentrações de alimentação (concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).....	215
Tabela 39. Valores previstos para os parâmetros dos modelos de Bohart-Adams, BDST, Thomas e Yoon-Nelson aplicando um ajuste não linear.....	217
Tabela 40. Parâmetros cinéticos do modelo de pseudo-primeira e segunda ordem e Chu para a oxidação com reagente de Fenton da amoxicilina.....	229
Tabela 41. Gama estudada e níveis das variáveis processuais.	231
Tabela 42. Desenho experimental e respostas baseadas nos ensaios experimentais e nos valores previstos pelo modelo.	231
Tabela 43. Teste ANOVA à resposta do modelo.	232
Tabela 44. Estimativa dos coeficientes do modelo quadrático (b_1 – coeficiente associado à concentração de H_2O_2 , b_2 – coeficiente associado à concentração de Fe^{2+} , b_3 – coeficiente associado à temperatura).	233
Tabela 45. Valores de C/C_0 , 30 min obtidos experimentalmente e pelo modelo para o tratamento de $450 \mu\text{g.L}^{-1}$ de amoxicilina através da oxidação com reagente de Fenton.....	239
Tabela 46. Informação sobre as espécies químicas observadas em LC-MS/MS.....	246
Tabela 47. Estimativa dos preços para os reagentes usados.....	253
Tabela 48. Custos totais dos reagentes para a remoção/degradação total da amoxicilina (concentração inicial de amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$).....	253

NOMENCLATURA

Símbolos romanos

a	Declive; Constante do modelo de Chu
A	Constante de equilíbrio de Temkin (L.mg^{-1}); Factor de Arrhenius (s^{-1} ou M.s^{-1}); Área de transferência de massa (cm^2)
A_{BET}	Área superficial específica determinada pelo método do B.E.T. ($\text{m}^2.\text{g}^{-1}$)
a.C.	Antes de Cristo
a_m	Área ocupada por cada molécula de adsorbato (nm^2)
A_p	Área de transferência (cm^2)
A_{sup}	Área superficial específica externa ($\text{m}^2.\text{g}^{-1}$)
b	Ordenada na origem; Constante de Temkin relacionada com o calor de adsorção (J.mol^{-1})
C	Estimativa da espessura da camada limite; Concentração do analito ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
C_{ads}	Concentração de soluto adsorvida (mg.L^{-1})
C_B	Concentração do analito no efluente no ponto de <i>breakthrough</i> (mg.L^{-1})
C_e	Concentração de equilíbrio ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
C_E	Concentração do analito no efluente no ponto de exaustão (mg.L^{-1})
C_p	Concentração de adsorbato no poro (mg.L^{-1})
C_s	Concentração do adsorbato na superfície do adsorvente (mg.L^{-1})
C_0	Concentração inicial de analito ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
CV	Coeficiente de variação
D_{ax}	Coeficiente de difusão axial ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$)
D_{eff}	Difusividade efectiva do soluto no adsorvente ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$).
df	Número de graus de liberdade
D_h	Coeficiente de difusividade homogénea do soluto no adsorvente ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$)
d_p	Diâmetro de partícula (μm); Diâmetro de poro (μm)
E_a	Energia de activação (J.mol^{-1})
e^-	Electrão
E^0	Potencial de redução padrão (V)
h	Constante de Planck (J.s)
H	Velocidade inicial ($\text{mg.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)
h_z	Altura da zona de transferência de massa (cm)
h^+	Lacuna
k	Constante de velocidade (M.s^{-1} ou s^{-1})
k_{ap1}	Constante cinética aparente de pseudo-primeira ordem (L.min^{-1})
K_{ap2}	Constante cinética aparente de pseudo-segunda ordem ($\text{L.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$)
K_d	Coeficiente de distribuição do modelo Linear (L.g^{-1})
K_f	Constante de equilíbrio do modelo de Freundlich ($\text{mg.g}^{-1}.\text{(mg.L}^{-1}\text{)}^{-1/n}$)
k_{fd}	Coeficiente de transferência de massa no filme (cm.min^{-1})
k_{id}	Velocidade inicial do modelo de difusão intraparticular ($\text{g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1/2}$)
K_L	Constante de equilíbrio do modelo de Langmuir (L.mg^{-1})

K_m	Coeficiente de transferência de massa global ($\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$)
K_{oc}	Coeficiente de partição solo/água
K_{ow}	Coeficiente de partição octanol/água
k_{TH}	Constante cinética de adsorção no modelo de Thomas ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$)
k_{YN}	Constante cinética de adsorção no modelo de Yoon-Nelson (min^{-1})
k_1	Velocidade inicial do modelo de pseudo-primeira ordem ($\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$)
k_2	Velocidade inicial do modelo de pseudo-segunda ordem ($\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)
L	Altura total do leito (cm)
M	Massa molar ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)
m_{ads}	Massa de adsorvente (g)
$m_{amostra}$	Massa da amostra (g)
$m_{célula}$	Massa da célula vazia (g)
$m_{célula+Hg+amostra}$	Massa da célula contendo o mercúrio e a amostra (g)
m_{tot}	massa total de soluto que atravessou a coluna (mg)
m/z	Razão carga-massa
n	Número de repetições do mesmo ensaio; Constante de Freundlich
N_A	Número de Avogadro (mol^{-1})
N_t	Taxa de difusão no filme ($\text{mg} \cdot \text{min}^{-1}$)
N_0	Capacidade de saturação do adsorvente por unidade de volume do leito fixo ($\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$)
p	Constante do modelo de Chu (min)
P	Pressão de equilíbrio (Pa)
$p.a.$	Pureza de grau analítico
P_i	Porcentagem de cada efeito na resposta do processo
P_0	Pressão de vapor do gás (Pa)
$\langle q \rangle$	Quantidade média de soluto adsorvida na fase sólida ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
Q	Caudal ($\text{cm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$)
q_e	Concentração de equilíbrio do soluto na fase sólida ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$); capacidade máxima de adsorção da coluna ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
$q_{e, calc}$	Concentração de equilíbrio do soluto na fase sólida calculada ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
$q_{e, exp}$	Concentração de equilíbrio do soluto na fase sólida experimental ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
q_{max}	Capacidade máxima da monocamada – modelo de Langmuir ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
q_s	Capacidade de saturação do material adsorvente ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
q_t	Capacidade de adsorção do soluto na fase sólida ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
q_{total}	Quantidade total de soluto adsorvido na coluna (mg)
R	Coeficiente de determinação; Constante dos gases perfeitos ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$); Razão mássica analito/adsorvente ($\text{mg} \cdot \text{mg}_{ads}^{-1}$); Raio médio das partículas (cm)
RX_{ads}	Substrato adsorvido
s_a	Erro associado ao declive
s_b	Erro associado à ordenada na origem
t	Tempo (min)
T	Temperatura absoluta (K)

t_E	Tempo necessário para a zona de transferência de massa se formar e abandonar o leito de adsorção (min)
t_f	Tempo necessário para a zona de transferência de massa se formar (min)
t_r	Tempo de retenção (min)
t_z	Tempo necessário para a zona de transferência de massa se mover o seu próprio comprimento (min)
$t_{0,5}$	Tempo para o qual $C/C_0 = 0,5$ (min)
u	Velocidade superficial (cm.s^{-1})
U	Incerteza global
u_i	Velocidade intersticial (cm.s^{-1})
U_z	Velocidade à qual a zona de transferência de massa se move ao longo do leito de adsorção (cm.min^{-1})
V	Volume da fase aquosa (cm^3)
V_B	Volume tratado até ao ponto de <i>breakthrough</i> (mL)
$V_{\text{célula}}$	Volume da célula vazia (cm^3)
V_E	Volume tratado até à exaustão (cm^3)
V_{ef}	Volume do efluente tratado (cm^3)
V_{Hg}	Volume de mercúrio que preenche os poros a baixa pressão (cm^3)
$V_{\text{Hg (intrudido)}}$	Volume de mercúrio que é intrudido a alta pressão (cm^3)
V_p	Volume total das partículas (cm^3)
V_z	Volume tratado entre o <i>breakthrough</i> e a exaustão (cm^3)
W	Trabalho (J)
W_m	Capacidade da adsorção da monocamada (N_2 -adsorvente)
x_i	Variável codificada
X_i	Variável natural
Y	Resposta do modelo (variável dependente)
y_i	Valor experimental de cada conjunto de valores de variáveis
$\hat{y}_i$	Valor estimado pelo modelo para cada conjunto de valores de variáveis
$\bar{y}_{\text{rep}}$	Média dos valores experimentais das réplicas no ponto médio
z	Coordenada axial

Símbolos gregos

α	Constante de velocidade de adsorção de Elovich ($\text{mg.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)
β	Constante de dessorção de Elovich (g.mg^{-1})
γ	Tensão superficial (erg.cm^{-2})
ΔG^0	Variação da energia livre de Gibbs padrão (kJ.mol^{-1})
ΔH^0	Variação da entalpia padrão (kJ.mol^{-1})
ΔH_{ads}	Variação do calor de adsorção (kJ.mol^{-1})
ΔS^0	Variação da entropia padrão ($\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$)
ε	Porosidade teórica ou porosidade do leito
ε_p	Porosidade da partícula

θ	Ângulo de contacto ($^{\circ}$)
λ	Comprimento de onda (nm)
μ	Média
ν	Frequência de radiação (s^{-1})
ρ_{aparente}	Massa específica aparente ($g \cdot cm^{-3}$)
ρ_p	Massa específica das partículas de adsorvente ($g \cdot cm^{-3}$)
ρ_{Hg}	Massa específica do mercúrio ($g \cdot cm^{-3}$)
ρ_{real}	Massa específica real ($g \cdot cm^{-3}$)
σ	Desvio-padrão
φ	Fluxo do soluto através da partícula de adsorvente ($mg \cdot cm^{-2} \cdot s^{-1}$)

Abreviaturas

ANOVA	Análise de variância
APCI	Ionização química à pressão atmosférica
APPI	Fotoionização química à pressão atmosférica
BBD	Desenho de Box-Behnken
BET	Brunauer-Emmett-Teller
BV	Volumes de leiteo
CBO ₅	Carência bioquímica de oxigénio (5 dias)
CCD	Desenho composto central
CE	Electroforese capilar
CEMUP	Centro de Materiais da Universidade do Porto
CID	Amplitude de excitação
COT	Carbono orgânico total
CQO	Carência química de oxigénio
CV	Coeficiente de variação
DAD	Detector de díodos
DC	Corrente contínua
DDD	Dose diária definida
DEQ	Departamento de Engenharia Química
DoE	Desenho experimental
DP	Desvio-padrão normalizado
EBRT	Tempo necessário para que o efluente preencha a coluna vazia
EC ₅₀	Concentração efectiva capaz de inibir a 50% o crescimento do microrganismo
EDS	Espectroscopia por energia dispersiva
ESI	Ionização em <i>electrospray</i>
ETA	Estação de tratamento de águas
ETAR	Estação de tratamento de águas residuais
EUA	Estados Unidos da América
FL	Detector de fluorescência

FTIR	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IC	Intervalo de confiança
LA	Limite de aviso
LC	Cromatografia líquida; Limite de controlo
LD	Limite de detecção
LD ₅₀	Dose letal mediana
LEPAE	Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente e Energia
LIF	Detector de fluorescência induzida por laser
LLE	Extracção líquido-líquido
LOEC	Concentração mínima com efeito observado
LPME	Microextracção em fase líquida
LQ	Limite de quantificação
MEKC	Cromatografia electrocinética micelar
MS	Espectrometria de massa; Variância associada ao modelo e ao erro experimental
NOEC	Concentração sem efeitos observáveis
OD	Oxigénio dissolvido
PDA	Detector de fotodíodos
pzc	Ponto de carga nula
QqQ	Triplo quadrupolo
RF	Corrente variável
RP	Fase reversa
rpm	Rotações por minuto
RSM	Resposta de Superfície
SBSE	Extracção sortiva em barra de agitação
SEM	Microscopia de varrimento electrónico
SIM	Monitorização de iões seleccionados
SPE	Extracção em fase sólida
SPME	Microextracção em fase sólida
S/N	Razão sinal/ruído
TG	Termogravimetria
TOC	Carbono orgânico total
ToF	<i>Time-of-Flight</i>
UPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência
UV	Ultravioleta
XPS	Espectroscopia de fotoelectrões de raio X
ZTM	Zona de transferência de massa

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Objectivos do trabalho

A água é um dos recursos naturais e finitos mais importantes para a vida humana e para a sustentabilidade dos ecossistemas. Este recurso encontra-se ameaçado por uma variedade de poluentes e por isso, é cada vez mais urgente conhecer o impacto causado pela sua contaminação. Esta situação constitui um problema fulcral no contexto global, conduzindo a uma das questões ambientais mais importantes do século XXI: a protecção da qualidade dos recursos hídricos (Lissemore *et al.*, 2006; Kemper, 2008). Nesse sentido, foi criado o quadro de acção comunitária no domínio da política da água da União Europeia (2000/60/CE). Esta Directiva tem como principais objectivos prevenir a deterioração dos ecossistemas aquáticos e terrestres, promover o consumo de água sustentável, baseado na protecção a longo prazo dos recursos hídricos disponíveis e assegurar uma redução gradual das descargas e emissões de substâncias perigosas.

O conhecimento sobre a existência de compostos farmacêuticos, nomeadamente antibióticos, nos ecossistemas aquáticos remonta à década de setenta. Contudo, foi apenas na segunda metade da década de noventa, quando o uso destes compostos foi intensificado e novas tecnologias analíticas foram desenvolvidas, que a sua presença começou a suscitar preocupação (Hernando *et al.*, 2006; Bound e Voulvoulis, 2006). Resíduos de fármacos utilizados na medicina humana e veterinária têm sido detectados em diversas matrizes (águas superficiais, águas de consumo, lençóis freáticos, solos e sedimentos). A introdução destes compostos no meio ambiente através de fontes antropogénicas constitui um risco latente para os organismos aquáticos e terrestres. Embora presentes em níveis vestigiais, estes compostos são bioacumuláveis e pseudo-persistentes. No caso específico dos antibióticos, estes podem ainda causar resistências nas populações de bactérias, tornando-os ineficazes no tratamento de algumas doenças. Deste modo, o problema ultrapassa a questão ambiental, tornando-se num problema de saúde pública. É então necessário desenvolver metodologias de tratamento que sejam eficazes para a remoção deste tipo de contaminantes de matrizes aquosas.

Neste contexto, o principal objectivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de remoção/degradação através de duas técnicas, a adsorção e a oxidação com reagente de Fenton, da amoxicilina de águas contaminadas. A escolha deste composto foi efectuada tendo em conta que este é o antibiótico mais prescrito em Portugal.

Este estudo compreendeu as seguintes etapas:

1. Estudo da remoção através da adsorção em sistema fechado e coluna de leito fixo com casca de amêndoa

- caracterização dos materiais adsorventes (casca de amêndoa ao natural e carbonizada): massa específica real e aparente, porosidade, área superficial, morfologia, análise elementar, espectro de absorção de infravermelho, basicidade e acidez totais, minerais hidrossolúveis, grupos funcionais à superfície e pH no ponto de carga nula;
- avaliação do efeito de alguns parâmetros (quantidade de adsorvente, tamanho de partícula, temperatura, pH, concentração inicial do analito, tempo de contacto) em sistema fechado;
- determinação da cinética, equilíbrio de adsorção e parâmetros termodinâmicos;
- análise da dessorção em sistema fechado;
- avaliação do efeito de alguns parâmetros (caudal, altura de leito, concentração inicial de analito, diâmetro da coluna) na coluna de leito fixo;
- modelização do processo de adsorção em coluna de leito fixo.

2. Estudo da degradação com reagente de Fenton

- avaliação do efeito de alguns parâmetros (temperatura, pH, concentração inicial de oxidante, catalisador e de analito);
- modelização do processo através de planeamento de experiências;
- determinação da cinética do processo de oxidação;
- estudo dos produtos intermediário da reacção;
- estudo do processo de oxidação com reagente de Fenton assistido por microondas.

3. Comparação entre os processos de tratamento estudados

1.2. Os Antibióticos

1.2.1. História e classificação dos antibióticos

Durante vários séculos diversas substâncias foram utilizadas no tratamento de infecções. Por volta do ano 500 a.C., os chineses utilizavam leguminosas fermentadas na sua medicina popular para tratar estes problemas, enquanto outras civilizações utilizavam pão fermentado e teias de aranha para tratar de ferimentos infectados. Embora os médicos tenham procurado nos dois mil anos seguintes um medicamento capaz de combater infecções bacterianas, apenas em 1928 foi descoberto o primeiro antibiótico da era moderna, a penicilina (Borders, 2000).

Alexander Fleming, médico microbiologista, tinha exercido medicina nos hospitais militares de Inglaterra durante a Primeira Guerra Mundial. Durante esse período verificou que vários ferimentos infectados conduziam à morte de muitos combatentes, sendo por isso necessário investigar substâncias que fossem capazes de destruir ou inibir o crescimento de bactérias. Em 1928, enquanto estudava bactérias do género *Staphylococcus*, Fleming detectou uma contaminação por um fungo pertencente ao género *Penicillium* e verificou que na área em que o fungo tinha crescido, as células de *Staphylococcus* tinham morrido. Nessa altura verificou então que o fungo segregava uma substância que inibia o crescimento de outros microrganismos. Embora não tivesse conseguido isolar essa substância, chamou-a de penicilina. Durante vários anos, os cientistas estavam cépticos quanto à utilização destes fungos. No entanto, com o despoletar da Segunda Guerra Mundial houve novamente uma necessidade de bactericidas para combater as infecções. Em 1940, o Dr. Howard Florey e o Dr. Ernest Chain prosseguiram as investigações de Fleming e conseguiram produzir penicilina em escala industrial, inaugurando uma nova era para a medicina (Ohno *et al.*, 2010).

A definição clássica para a palavra *antibiótico* é “composto produzido por um microrganismo que erradica ou inibe o crescimento de outros microrganismos, tal como bactérias, fungos e protozoários” (Marzo and Bo, 1998; Kümmerer, 2009). No entanto, esta definição tem sofrido alterações ao longo do tempo. Hoje em dia, antibióticos são considerados compostos químicos maioritariamente de origem microbiana (embora existam semi ou totalmente sintéticos) e que são utilizados como agentes antibacterianos, antifúngicos e até antitumorais.

Estes podem ser divididos em diversas classes de acordo com diferentes critérios: **espectro de actividade** (largo e pequeno espectro), **mecanismo de acção** (inibição da síntese da parede celular, inibição da síntese de ácidos nucleicos, inibição da fase de tradução, ligação à membrana citoplasmática, antagonismo metabólico – inibição da bio-síntese do ácido fólico e do tetraidrofolato) e **estrutura química** (Kadam *et al.*, 2007).

Na Tabela 1 encontram-se discriminadas as principais classes de antibióticos de acordo com a sua estrutura química (Marzo e Bo, 1998; Bannister, 2000; Lindner *et al.*, 2000; McGregor, 2000;

Ponsford, 2000; Roberts, 2000; Southgate e Osborne, 2000; Cavalleri e Parenti, 2001; Kirst, 2001; Mor, 2001; Kadow *et al.*, 2002; Brimble, 2003; Weidner-Wells e Macielag, 2003; Sum, 2004; Ohno *et al.*, 2010). Esta será a classificação utilizada ao longo do trabalho.

Tabela 1. Principais classes de antibióticos.

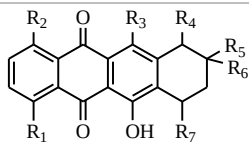
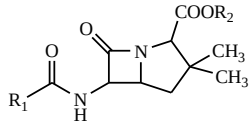
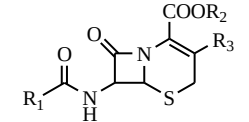
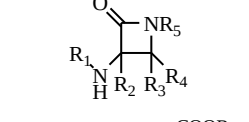
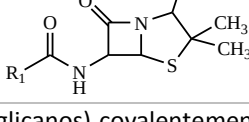
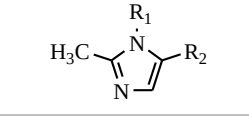
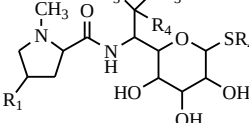
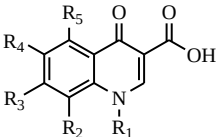
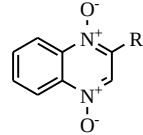
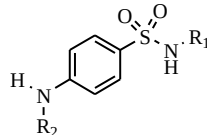
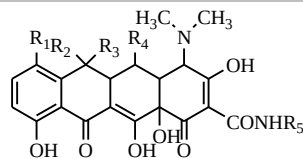
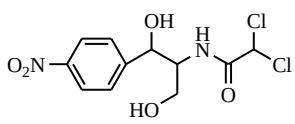
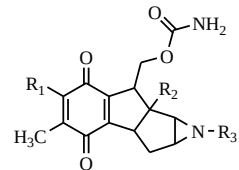
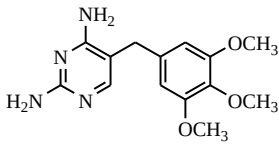
Classes de Antibióticos	Estrutura Principal	
Aminoglicosídeos	Consiste em 2 ou mais açúcares aminados unidos por uma ligação glicosídea à hexose do núcleo central do fármaco.	
Antraciclinas	Estruturalmente são tetraciclinas glicosiladas.	
β -Lactamas:		
Carbapenémicos	Estruturalmente são muito similares às penicilinas, mas o átomo de enxofre contido na estrutura foi substituído por um átomo de carbono.	
Cefalosporinas	Possuem um núcleo cefem ao qual duas cadeias laterais estão ligadas: uma esterifica o grupo carbamato (R_1) e a outra está ligada ao núcleo (R_3).	
Monobactamas	Nestes compostos, o anel β -lactâmico está sozinho e não ligado a um outro anel.	
Penicilinas	Consistem num anel de tiazolidina ligado a um anel β -lactâmico, ao qual uma cadeia lateral está ligada.	
Glicopeptídeos	São compostos por moléculas de hidratos de carbono (glicanos) covalentemente ligadas à cadeia lateral de um aminoácido.	
Imidazóis	São compostos heterocíclicos com um anel de 5 membros, com 2 átomos de azoto em posições não adjacentes. Se $R_2 = \text{NO}_2$, então é uma nitroimidazol.	
Lincosamidas	Constituem uma pequena família de antibióticos que possuem uma estrutura do tipo-carbohidratos.	
Macrólidos	Lactonas monocíclicas substituídas, com um ou mais sacarídeos glicosidicamente ligados a grupos hidroxilo. Os anéis das lactonas são geralmente de 12, 14 ou 16 membros.	
Poliéteres	São caracterizados por diversos anéis de tetra-hidrofurano e tetra-hidropirano ligados por pontes alifáticas, ligações directas C-C ou ligações <i>spiro</i> . Possuem também grupos carbonilo livres, vários grupos alquila e diversos grupos funcionais contendo oxigénio.	
Polipeptídeos	Polímeros formados através da ligação a α -amino ácidos.	

Tabela 1. Principais classes de antibióticos (*continuação*).

Classes de Antibióticos	Estrutura Principal
Quinolonas	Na sua estrutura possuem 2 anéis fundidos contendo um grupo cetona e ácido carboxílico. Se $R_4=F$ então é uma fluoroquinolona. 
Derivados de Quinoxalina	Possuem na sua estrutura um anel benzênico e um anel derivado de pirazina. 
Sulfonamidas	São caracterizados por grupos sulfonil ligados a grupos amino. 
Tetraciclinas	Estes antibióticos contêm um esqueleto central de 4 anéis fundidos, derivado do octa-hidronaftaceno. 
Outros Antibióticos:	
Cloranfenicol	Contém uma molécula de nitrobenzeno ligado a um grupo propanodiol, bem como um grupo amida diclorada. 
Mitomicinas	Possuem uma estrutura química única, na qual 3 grupos funcionais diferentes – aziridina, carbamato e quinona – estão organizados em torno de um núcleo pirro[1,2-a]indol. 
Trimetoprim	É uma diaminopirimidina. Possui uma estrutura análoga à pteridina do ácido fólico. 

Como se pode verificar, os antibióticos possuem muitas vezes estruturas complexas, o que possibilita a existência de diferentes funcionalidades na mesma molécula. Por esta razão, a diferentes valores de pH as moléculas de antibiótico podem ser neutras, catiónicas, aniónicas ou mesmo *zwitteriônicas*. Consequentemente, as suas propriedades físico-químicas e biológicas podem ser modificadas com a alteração dos valores de pH (Kümmerer, 2009).

1.2.2. Mercado e consumo de antibióticos

Já há algumas décadas que os antibióticos têm sido utilizados em grandes quantidades. Wise (2002) estimou um consumo mundial de cerca de 100 000 a 200 000 toneladas por ano de

antibióticos. Em Portugal, a monitorização do consumo de antibióticos está a cargo do INFARMED através do Observatório do Medicamento e Produtos de Saúde. Este participa também no projecto internacional *ESAC - European Surveillance of Antimicrobial Consumption*, coordenado pela Universidade da Antuérpia (Bélgica) e que abrange 34 países, entre os quais os 27 estados membros da EU (Teixeira, 2008). O último relatório foi publicado em 2010 e possui dados de utilização de antibióticos dos países participantes de 1999 a 2008. Na Tabela 2 encontram-se os resultados da quantidade de antibióticos consumidos por país (ESAC, 2010).

Tabela 2. Quantidade total de antibióticos utilizados em ambulatório na Europa entre 1999 e 2008 (valores expressos em dose diária recomendada (DDD) por 1000 habitantes e por dia).

País	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Áustria	13,1	12,3	11,8	11,8	12,5	12,5	14,5	14,3	14,7	14,6
Bélgica	26,2	25,3	23,7	23,8	23,8	22,7	24,3	24,2	25,4	27,7
Bulgária	15,1	20,2	22,7	17,3	15,5	16,4	18,0	18,1	19,8	20,6
Croácia	---	18,4	18,5	22,6	23,4	23,0	23,4	21,2	22,5	23,4
Chipre	---	---	---	---	---	---	---	31,9	33,9	32,8
Rep. Checa	18,6	---	---	---	16,7	15,8	17,3	15,9	16,8	17,4
Dinamarca	12,1	12,3	12,8	13,2	13,5	14,1	14,6	15,2	16,0	16,0
Estónia	---	---	---	11,7	11,1	10,4	11,7	---	12,7	11,9
Finlândia	18,4	19,0	19,8	17,9	18,7	17,2	18,1	17,4	18,3	18,4
França	34,1	33,2	33,2	32,2	28,9	27,0	28,9	27,9	28,6	28,0
Alemanha	13,6	13,6	12,8	12,7	13,9	13,0	14,6	13,6	14,5	14,5
Grécia	30,7	31,7	31,8	32,8	33,6	33,0	34,7	41,1	43,2	45,2
Hungria	23,5	18,5	18,6	17,1	19,1	18,2	19,5	17,2	15,5	15,2
Islândia	21,7	20,5	20,0	20,6	20,3	21,4	23,2	20,0	20,1	20,6
Irlanda	18,0	17,6	18,7	18,7	20,1	20,2	20,5	21,2	23,0	22,5
Israel	---	---	---	19,6	20,1	19,6	20,5	22,2	20,2	22,0
Itália	24,5	24,0	25,5	24,3	25,6	24,8	26,2	26,7	27,6	28,5
Letónia	---	---	---	11,0	---	11,8	12,1	12,0	13,0	11,0
Lituânia	---	---	---	---	---	---	---	22,7	24,1	25,1
Luxemburgo	26,8	25,9	26,5	26,4	27,5	24,1	25,2	23,9	26,6	25,1
Malta	---	---	---	---	---	---	---	---	18,0	---
Noruega	---	---	15,6	15,7	15,6	15,7	16,8	14,8	15,5	15,5
Polónia	22,2	22,6	24,8	21,4	---	19,1	19,6	---	20,9	20,7
Portugal	25,2	24,9	24,5	26,5	25,1	23,8	24,5	22,7	21,8	22,6
Rússia	---	---	---	---	9,8	9,3	9,1	9,6	10,2	10,0
Eslováquia	25,7	27,6	29,1	26,7	27,6	22,5	25,1	22,5	24,8	23,4
Eslovénia	19,8	18,0	17,4	16,3	17,0	16,7	16,3	14,7	16,0	15,0
Espanha	20,0	19,0	18,0	18,0	18,9	18,5	19,3	18,7	19,9	19,7
Suécia	15,8	15,5	15,8	15,2	14,7	14,5	14,9	15,3	15,5	14,6
Holanda	10,0	9,8	9,9	9,8	9,8	9,7	10,5	10,8	11,0	11,2
Reino Unido	14,8	14,3	14,8	14,8	15,1	15,0	15,4	15,3	16,5	17,0

Os países do sul e leste da Europa apresentam um maior consumo de antibióticos do que os países do Norte de Europa e a Rússia (Tabela 2). O consumo de antibióticos em Portugal (24,2 DDD/1000 habitantes/dia) está acima do valor médio Europeu (19,7 DDD/1000 habitantes/dia), sendo apenas ultrapassado pela França, Chipre e Grécia.

No projecto *ESAC* foram também estudadas quais as classes de antibióticos mais utilizadas. Os resultados referentes ao ano de 2008 encontram-se sumarizados na Figura 1.

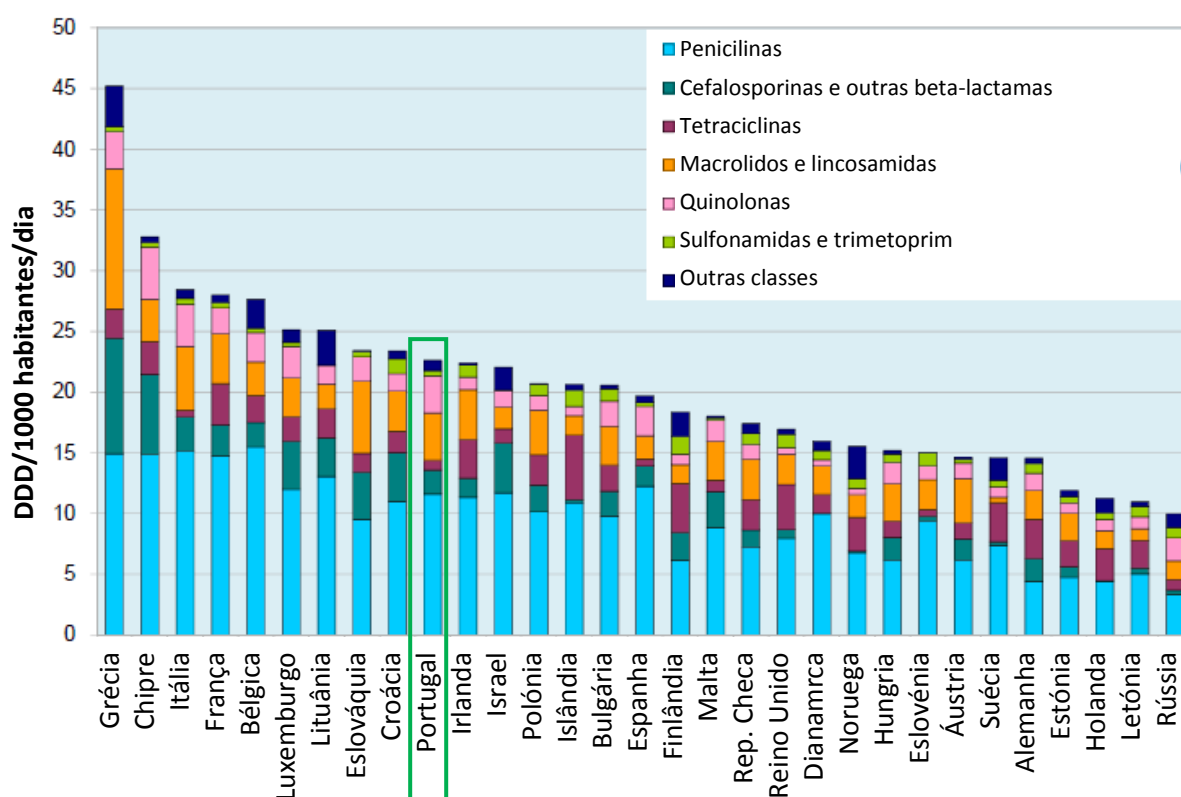


Figura 1. Classes de antibióticos mais consumidas em ambulatório em 2008 (adaptado de ESAC, 2010).

Observando a Figura 1, verifica-se que as penicilinas são a classe de antibióticos mais consumida na Europa. No caso particular de Portugal, verifica-se que para além das penicilinas (11,6 DDD/1000 habitantes/dia), os macrólidos, lincosamidas (3,87 DDD/1000 habitantes/dia) e quinolonas (3,05 DDD/1000 habitantes/dia) são também muito utilizados.

De acordo com o Infarmed (2009), os antibióticos mais comercializados em Portugal são a amoxicilina (penicilina), azitromicina (macrólido), ciprofloxacina (quinolona) e claritromicina (macrólido).

1.2.3. Legislação

Resíduos de antibióticos têm sido detectados em diversas matrizes ambientais. Porém, ainda não existe consenso quanto aos efeitos e consequências da sua presença.

Relativamente à política da água, a directiva 98/83/CE relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano transposta, através do Decreto-Lei n.º 243/2001, estabelece 50 parâmetros, mas

não faz qualquer referência a produtos farmacêuticos. A directiva 2000/60/CE estabelece um quadro de acção comunitário no domínio da água e tem como principais objectivos a conservação, melhoramento e protecção do ambiente aquático, bem como assegurar a redução gradual da poluição. Esta directiva comunitária estabelece metas para a qualidade das águas de todos os estados membros, que deverão ser cumpridas até 2015.

Duas directivas foram também elaboradas (2001/82/EC relativa a medicamentos veterinários e 2001/83/CE relativa a medicamentos para uso humano) a fim de estabelecer um código comunitário para a aprovação da introdução de novos fármacos no mercado. Estas directivas sugerem que sejam realizados estudos de avaliação de risco ambiental (ecotoxicidade) antes de poderem ser comercializados. Apesar desta legislação, os produtos farmacêuticos ainda não foram incluídos em qualquer lista de compostos prioritários, quer na Europa, quer nos Estados Unidos (Kosma *et al.*, 2010). Espera-se que com o crescente conhecimento sobre a ocorrência, ecotoxicidade e eficiência dos processos de eliminação de antibióticos seja possível impor limites legais a estes compostos.

Existem, no entanto, limites máximos estabelecidos para resíduos de medicamentos veterinários (entre os quais antibióticos) em alimentos de origem animal estabelecidos pelo regulamento (CEE) n.º 2377/90, que foi posteriormente alterado e actualizado pelo regulamento (CE) n.º 542/2008. Limites entre os 4 e os 1500 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ foram estabelecidos para o leite e entre 25 e 6000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ em alimentos de origem animal.

1.2.4. Fontes de exposição

A produção em massa de antibióticos começou durante a 2ª Guerra Mundial e até agora estes fármacos têm sido vastamente aplicados na resolução de problemas relacionados com a saúde (Martinez, 2009). No entanto, para além do tratamento de doenças e profilaxia, quer em medicina humana, quer em veterinária, os antibióticos foram intensivamente usados como promotores de crescimento (agricultura, apicultura e criação de gado) (Situ e Elliott, 2005; Sarmah *et al.*, 2006; Kümmerer, 2009; Zuccato *et al.*, 2010). O uso de antibióticos com este fim foi proibido em toda a Europa desde 1 de Janeiro de 2006 (Regulation (EC) No 1831/2003), mas até essa data grandes quantidades foram descarregadas para o meio ambiente.

Embora o uso de antibióticos já tenha décadas, foi apenas nos últimos anos que a comunidade científica demonstrou uma preocupação acrescida para com a ocorrência destes compostos no meio ambiente. Resíduos de antibióticos têm sido detectados em diferentes matrizes ambientais, tais como águas superficiais, lençóis freáticos, águas de consumo, solos e sedimentos (Lissemore *et al.*, 2006). Estes compostos poluentes são continuamente descarregados no meio ambiente sob a forma

não metabolizada e/ou de metabolitos, através de uma diversidade de vias de contaminação (Figura 2).

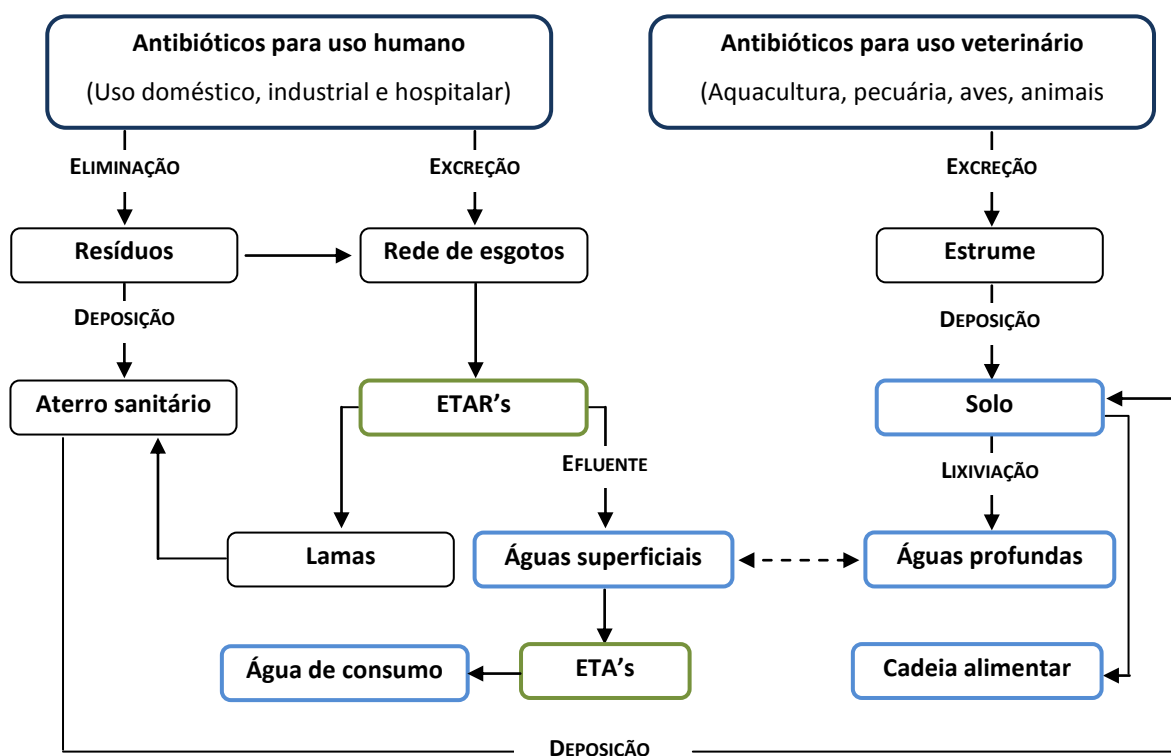


Figura 2. Vias de contaminação do meio ambiente com antibióticos.

Uma parte significativa dos antibióticos é introduzida no ambiente através da excreção e dos efluentes provenientes dos processos de fabrico. As excreções animais são a maior fonte de contaminação indirecta, uma vez que o estrume é utilizado na fertilização dos solos agrícolas. Quando disperso nos solos, os compostos que não foram metabolizados ou metabolitos activos podem sofrer lixiviação, contaminando águas profundas e os próprios solos (Díaz-Cruz *et al.*, 2003; Kemper, 2008; Farré *et al.*, 2008). Outra possibilidade é a contaminação directa do meio ambiente através da aplicação dos antibióticos em aquacultura (nomeadamente, na piscicultura) (Halling-Sørensen *et al.*, 1998).

Os antibióticos administrados aos humanos são introduzidos no meio ambiente maioritariamente através da excreção. No caso das áreas urbanas, a urina e as fezes são conduzidas ao longo do sistema de esgotos, sendo posteriormente descarregadas nas estações de tratamento de águas residuais (ETAR's). No entanto, a maioria destas estações não foi projectada para remover micropoluentes altamente polares, como é o caso dos antibióticos (Xu *et al.*, 2007). Por esta razão, estes compostos podem ser transportados até às águas superficiais e, depois de sofrerem percolação, podem atingir os lençóis freáticos. As lamas formadas nas ETAR's são também utilizadas como fertilizantes e, por isso, podem também sofrer lixiviação (Díaz-Cruz *et al.*, 2003; Hernando *et*

al., 2006). Nas zonas rurais, aonde muitas vezes o sistema de saneamento não existe, as excreções são despejadas em fossas sépticas, contaminando os solos. Dependendo das suas características, os poluentes podem sofrer lixiviação e contaminar as águas profundas. Em última análise, as águas superficiais contaminadas podem ser abastecidas às estações de tratamento de águas (ETA's), que também não estão preparadas para remover estes compostos, podendo atingir os sistemas de distribuição de água potável (Mompelat *et al.*, 2009). A eliminação indevida pela rede de esgotos de medicamentos que já não são utilizados ou a sua deposição em aterros sanitários constitui também uma fonte de poluição (Kot-Wasik *et al.*, 2007).

É importante salientar, que a par da introdução directa de antibióticos na cadeia alimentar através do tratamento de animais e plantas, a utilização de águas de rega contaminadas (superficiais ou profundas) e da deposição de estrume e de lamas nos solos para fertilização de áreas agrícolas constituem também possíveis focos de poluição.

1.2.5. Ocorrência no meio ambiente

Nos últimos anos, os antibióticos têm sido detectados em diversas matrizes ambientais. O primeiro relato sobre contaminação de águas por antibióticos ocorreu na Inglaterra em 1982, quando Watts *et al.* detectaram macrólidos, tetraciclina e sulfonamidas num rio em concentrações de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Sarmah *et al.*, 2006). Depois deste caso, vários estudos foram efectuados sobre a ocorrência de antibióticos no meio ambiente. Na Tabela 3 encontra-se um resumo de alguns estudos realizados até ao momento.

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes.

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L^{-1})	Referência
Água superficial	Água de rio	Rio Po e Lambro (Itália)	Ciprofloxacina	14-26	Calamari <i>et al.</i> , 2003
			Claritromicina	0,5-20	
			Eritromicina	1-16	
			Espiramicina	10-74	
			Lincomicina	3-249	
			Oleandomicina	7-28	
			Oxitetraciclina	0,2-19	
			Tilosina	0,3-3	
		Rio Glatt (Suíça)	Claritromicina	4-32	McArdell <i>et al.</i> , 2003
		Brisbane (Austrália)	Cefalexina	30	Constanzo <i>et al.</i> , 2005
		Áustria	Ofloxacina	28	Ferdig <i>et al.</i> , 2005
			Norfloxacina	25	
			Ciprofloxacina	28	
			Moxifloxacina	17	
		Rio Grande (Novo México, EUA)	Sulfametoxazol	300	Brown <i>et al.</i> , 2006

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L ⁻¹)	Referência
Água superficial	Água de rio	Rio Cache la Poudre (Colorado, EUA)	Oxacilina	10	Cha <i>et al.</i> , 2006
			Ampicilina	11	
			Cefapirina	9	
		Rio Cache la Poudre (Colorado, EUA)	Monensina	5-40	Kim e Carlson, 2006
			Salinomicina		
			Narasina		
		Rio Grande (Ontario, EUA)	Clorotetraciclina	190	Lissemore <i>et al.</i> , 2006
			Doxiciclina	3-73	
			Eritromicina	0,9-51	
			Lincomicina	0,2-355	
			Monensina	6-1170	
			Roxitromicina	22	
			Sulfaclopiridazina	0,5-7	
			Sulfadimetoxina	0,2-56	
			Sulfametazina	0,3-408	
			Sulfametoxazol	0,3-9	
			Sulfatiazol	1-16	
			Trimetoprim	0,2-15	
		Rio Taff (Gales, Reino Unido)	Amoxicilina	39-245	Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> , 2007
			Sulfapiridina	5-10	
			Eritromicina	7-22	
		Rio Warta (Polónia)	Sulfapiridina	14-39	Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> , 2007
			Trimetoprim	8-27	
			Sulfametoxazol	26-30	
		Rio Pearl (Hong Kong)	Ofloxacina	20-110	Xu <i>et al.</i> , 2007
			Norfloxacina	10-250	
			Roxitromicina	110-170	
			Eritromicina	420-640	
			Sulfadiazina	140-340	
			Sulfadimidina	180-320	
			Sulfametoxazol	170-190	
		Rio Taff e Ely (Reino Unido)	Cloramfenicol	190-270	Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> , 2008
			Trimetoprim	2-183	
			Sulfametoxazol	0,5-4	
			Amoxicilina	10-622	
			Cloranfenicol	2-40	
		Rio Sena (França)	Eritromicina	0,5-351	Tamtam <i>et al.</i> , 2008
			Metronidazol	2-024	
			Ornidazol	30	
			Sulfametoxazol	40-140	
			Trimetoprim	10-30	
			Ácido oxolínico	10	
			Flumequina	10-20	
		Rio Arc (França)	Norfloxacina	20-50	Feitosa-Felizzola e Chiron, 2009
			Ofloxacina	30	
			Danofloxacina	20	
			Ciprofloxacina	370-9660	
		Rio Sindian, Dahan, Gaoping (Taiwan)	Claritromicina	1560-2330	Lin <i>et al.</i> , 2009a
			Oxitetraciclina	320-650	
			Carbamazepina	450-6720	
			Sulfametazina	1-11	
			Sulfametoxazol	10-200	
			Sulfamonometoxina	1-6	
			Ampicilina	20-100	
			Clorotetraciclina	5-90	
			Oxitetraciclina	5-80	
			Tetraciclina	4-30	
			Eritromicina	5-100000	
			Tilosina	0,5-0,9	

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L ⁻¹)	Referência
Água superficial	Água de rio	Queensland (Austrália)	Amoxicilina	200	Watkinson <i>et al.</i> , 2009
			Cefaclor	200	
			Penicilina G e V	10-250	
			Cefalexina	100	
			Norfloxacin	1150	
			Enrofloxacin	300	
			Ciprofloxacin	1300	
			Clindamicina	10	
			Lincomicina	50	
			Roxitromicina	350	
			Oleandomicina	20	
			Tilosina	60	
			Clorotetraciclina	600	
			Doxiciclina	400	
			Oxitetraciclina	100	
			Tetraciclina	80	
			Salinomicina	150	
			Monensina	150	
			Sulfametoxazol	2000	
			Sulfatiazol	40	
			Sulfasalazina	30	
			Trimetoprim	150	
		Seul (Coreia do Sul)	Sulfametoxazol	0,3-61	Yoon <i>et al.</i> , 2010
			Trimetoprim	5-17	
		Rio Atabaia (São Paulo, Brasil)	Ampicilina	0,5	Locatelli <i>et al.</i> , 2011
			Amoxicilina	1284	
			Cefalexina	2422	
			Ciprofloxacin	119	
			Norfloxacin	2	
			Sulfametoxazol	106	
Água profunda	Água de poço	Baden-Württemberg (Alemanha)	Eritromicina	50	Sacher <i>et al.</i> , 2001
			Sulfametoxazol	410	
		Weiser (Idaho, EUA)	Sulfametazina	80-220	Batt <i>et al.</i> , 2006
			Sulfadimetoxina	50-70	
		China	Eritromicina	12-23	Chang <i>et al.</i> , 2010
			Roxitromicina	29-39	
			Tilosina	9-187	
			Lincomicina	19-23	
			Trimetoprim	5-8	
			Ofloxacin	6-7	
	Água da torneira	Macau	Sulfametazina	6-10	Yiruhan <i>et al.</i> , 2010
			Sulfametoxazol	18-23	
			Norfloxacin	7-17	
			Ciprofloxacin	2-8	
			Lomefloxacin	9-37	
			Enrofloxacin	3-5	
		Guangzhou (China)	Norfloxacin	Até 83	Yiruhan <i>et al.</i> , 2010
			Ciprofloxacin	6-680	
			Lomefloxacin	Até 179	
			Enrofloxacin	Até 8	

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L ⁻¹)	Referência
Água marinha		Porto de Victoria (Hong Kong)	Ofloxacina	8-10	Xu <i>et al.</i> , 2007
			Norfloxacina	20-30	
			Roxitromicina	20-30	
			Eritromicina	4-5	
		Porto de Victoria (Hong Kong)	Cefalexina	6-140	Minh <i>et al.</i> , 2009
			Amoxicilina	0,6-76	
			Norfloxacina	8-27	
			Ofloxacina	8-150	
			Eritromicina	5-1900	
			Roxitromicina	5-42	
			Sulfametoxazol	0,6-48	
			Sulfametazina	7-9	
			Tetraciclina	13-313	
			Oxitetraciclina	16-44	
			Trimetoprim	1-147	
Água residual	Efluente hospitalar	Kalmar (Suécia)	Ofloxacina	200-7600	Lindberg <i>et al.</i> , 2004
			Ciprofloxacina	3600-101000	
			Sulfametoxazol	400-12800	
			Trimetoprim	600-7600	
			Metronidazol	100-90200	
		Albuquerque, Santa Fé (Novo México, EUA)	Doxiciclina	600-6700	Brown <i>et al.</i> , 2006
			Sulfametoxazol	400-2100	
			Trimetoprim	2900-5000	
			Ofloxacina	1300-35500	
			Ciprofloxacina	850-2000	
		Coimbra (Portugal)	Lincomicina	300-2000	Seifrtová <i>et al.</i> , 2008
			Penicilina G	850-5200	
			Ofloxacina	353-10700	
		Taiwan	Norfloxacina	30-334	Lin <i>et al.</i> , 2009a
			Ciprofloxacina	127-11000	
			Sulfadimetoxina	9	
			Sulfametazina	3	
			Sulfametoxazol	7350	
			Ampicilina	5080	
			Clorotetraciclina	11	
		Queensland (Austrália)	Oxitetraciclina	14	Watkinson <i>et al.</i> , 2009
			Eritromicina	6110	
			Amoxicilina	900	
			Penicilina V	10	
			Cefalexina	10000	
			Ácido nalidixico	40	
			Norfloxacina	200	
			Enrofloxacina	100	
			Ciprofloxacina	15000	
			Clindamicina	90	
			Lincomicina	1700	
			Roxitromicina	400	
			Oleandomicina	40	
			Doxiciclina	200	
			Tetraciclina	40	
			Sulfametoxazol	300	
			Trimetoprim	300	
		Kristianstad (Suécia)	Ofloxacina	58-840	Zorita <i>et al.</i> , 2009
			Norfloxacina	Até 22	
			Ciprofloxacina	3300-9300	

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L ⁻¹)	Referência
Água residual	Efluente hospitalar	China	Eritromicina	10-260	Chang <i>et al.</i> , 2010
			Roxitromicina	1180-2190	
			Lincomicina	60-170	
			Trimetoprim	60-170	
			Ciprofloxacina	10-220	
			Lomefloxacina	190-1160	
			Norfloxacina	140-1620	
			Ofloxacina	2340-4240	
			Sulfadiazina	50-250	
			Sulfametoxazol	200-1060	
	Efluente hospitalar (entrada ETAR)	Coreia	Lincomicina	4570-4820	Sim <i>et al.</i> , 2011
			Trimetoprim	28-7260	
			Ciprofloxacina	460-5030	
			Enrofloxacina	76-254	
			Eritromicina	4-858	
	Efluente hospitalar (saída ETAR)	Coreia	Cefradina	203-854	Sim <i>et al.</i> , 2011
			Lincomicina	240-48400	
			Sulfametoxazol	108-3840	
	Efluente lar de 3ª idade	Albuquerque, Hobbs (Novo México, EUA)	Trimetoprim	19-95100	Brown <i>et al.</i> , 2006
			Ofloxacina	1300-23500	
	Efluente entrada ETAR	Áustria	Ofloxacina	1875	Ferdig <i>et al.</i> , 2005
			Norfloxacina	355	
			Ciprofloxacina	340	
			Moxifloxacina	2175	
		Albuquerque, Magdalena, Santa Fé, Portales, Socorro (Novo México, EUA)	Sulfametoxazol	390-1000	Brown <i>et al.</i> , 2006
			Trimetoprim	180-1400	
			Ofloxacina	110-1000	
			Ciprofloxacina	200-1000	
		Fort Collins (Colorado, EUA)	Cloxacilina	15	Cha <i>et al.</i> , 2006
			Oxacilina	10-20	
		Coimbra (Portugal)	Norfloxacina	191-455	Seifrtová <i>et al.</i> , 2008
			Ciprofloxacina	419-667	
			Enrofloxacina	122-447	
		Queensland (Austrália)	Amoxicilina	6940	Watkinson <i>et al.</i> , 2009
			Cefaclor	6150	
			Penicilina G	10	
			Penicilina V	13800	
			Cloxacilina	4600	
			Cefalexina	64000	
			Ácido nalidixico	200	
			Norfloxacina	220	
			Enrofloxacina	40	
			Ciprofloxacina	1100	
			Clindamicina	60	
			Lincomicina	500	
			Roxitromicina	500	
			Tilosina	60	
			Clorotetraciclina	200	
			Doxiciclina	650	
			Oxitetraciclina	350	
			Tetraciclina	100	
			Salinomicina	300	
			Sulfametoxazol	3000	
			Sulfatiazol	300	
			Sulfasalazina	100	
			Trimetoprim	4300	

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L ⁻¹)	Referência
Água residual	Efluente entrada ETAR	China	Eritromicina	206	Chang <i>et al.</i> , 2010
			Tilosina	44	
			Lincomicina	1467	
			Trimetoprim	18	
			Ciprofloxacina	458	
			Lomefloxacina	143	
			Norfloxacina	859	
			Ofloxacina	780	
			Sulfadiazina	1382	
			Sulfametazina	18	
			Sulfametoxazol	2020	
			Oxitetraciclina	41	
			Tetraciclina	118	
		Pequim (China)	Cloranfenicol	20-50	Sui <i>et al.</i> , 2010
			Trimetoprim	200-500	
		Varese (Itália)	Amoxicilina	18	Zuccato <i>et al.</i> , 2010
			Ciprofloxacina	513	
			Ofloxacina	463	
			Claritromicina	319	
			Eritromicina	12	
			Lincomicina	10	
			Espiramicina	603	
			Sulfametoxazol	246	
			Vancomicina	41	
			Oleandomicina	2	
		Coreia	Lincomicina	2730-25000	Sim <i>et al.</i> , 2011
			Sulfametazina	60-2630	
			Sulfametoxazol	49-410	
			Sulfatiazol	46-5510	
			Trimetoprim	36-1510	
			Ciprofloxacina	124-246	
			Eritromicina	5-46	
			Cefadroxil	236-1050	
			Cefradina	334-2440	
	Efluente saída ETAR	Zurich (Suíça)	Eritromicina	110-199	McArdell <i>et al.</i> , 2003
			Claritromicina	57-328	
			Roxitromicina	11-31	
		Brisbane (Austrália)	Ciprofloxacina	130	Constanzo <i>et al.</i> , 2005
			Norfloxacina	210	
			Cefalexina	80	
		Áustria	Ofloxacina	240	Ferdig <i>et al.</i> , 2005
			Norfloxacina	340	
			Ciprofloxacina	395	
			Moxifloxacina	370	
		Nova Iorque (EUA)	Ciprofloxacina	220-450	Batt <i>et al.</i> , 2007
			Sulfametoxazol	220-680	
			Tetraciclina	60-290	
			Trimetoprim	210-2400	
		Nova Iorque (EUA)	Trimetoprim	2-13000	Palmer <i>et al.</i> , 2008
		Coimbra (Portugal)	Norfloxacina	35-296	Seifrtová <i>et al.</i> , 2008
			Ciprofloxacina	101-309	
			Enrofloxacina	54-212	

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L ⁻¹)	Referência
Água residual	Efluente saída ETAR	Hong Kong	Cefalexina	170-5070	Minh <i>et al.</i> , 2009
			Amoxicilina	60-1670	
			Norfloxacin	6-3700	
			Ofloxacin	100-7870	
			Eritromicina	250-4330	
			Roxitromicina	90-550	
			Sulfametoxazol	5-150	
			Tetraciclina	4-1420	
			Oxitetraciclina	5-840	
			Trimetoprim	60-470	
			Cloranfenicol	15-1050	
		Queensland (Austrália)	Amoxicilina	50	Watkinson <i>et al.</i> , 2009
			Cefaclor	1800	
			Penicilina G	300	
			Penicilina V	2000	
			Cloxacilina	700	
			Cefalexina	250	
			Ácido nalidixico	450	
			Norfloxacin	250	
			Enrofloxacin	50	
			Clindamicina	70	
			Lincomicina	300	
			Roxitromicina	500	
			Oleandomicina	150	
			Tilosina	3400	
			Clorotetraciclina	250	
			Doxiciclina	150	
			Oxitetraciclina	70	
			Tetraciclina	20	
			Monensina	20	
			Sulfametoxazol	200	
			Sulfatiazol	600	
			Sulfasalazina	150	
			Trimetoprim	250	
		Kristianstad (Suécia)	Ofloxacin	9-30	Zorita <i>et al.</i> , 2009
			Norfloxacin	Até 27	
			Ciprofloxacina	28-320	
		Pequim (China)	Cloranfenicol	15	Sui <i>et al.</i> , 2010
			Trimetoprim	20-200	
		Seul (Coreia do Sul)	Sulfametoxazol	9-190	Yoon <i>et al.</i> , 2010
			Trimetoprim	11-94	
		Varese (Itália)	Ciprofloxacina	148	Zuccato <i>et al.</i> , 2010
			Ofloxacin	191	
			Claritromicina	145	
			Eritromicina	72	
			Lincomicina	7	
			Espiramicina	375	
			Sulfametoxazol	101	
			Vancomicina	29	
			Oleandomicina	3	
		Coreia	Lincomicina	1060-45700	Sim <i>et al.</i> , 2011
			Sulfametazina	28-748	
			Sulfametoxazol	47-397	
			Sulfatiazol	124-2770	
			Trimetoprim	5-2000	
			Ciprofloxacina	61-2050	
			Clorotetraciclina	112-1340	
			Cefradina	223-484	

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L ⁻¹)	Referência
Água residual	Efluente empresa farmacêutica	Taiwan	Sulfadimetoxina	91800	Lin <i>et al.</i> , 2009a
			Sulfametazina	3410	
			Sulfametoxazol	1340000	
			Sulfamonometoxina	51000	
			Clorotetraciclina	13100	
			Oxitetraciclina	7440	
			Tetraciclina	9660	
			Eritromicina	7840	
			Tilosina	63900	
	Efluente empresa farmacêutica (entrada ETAR)	Coreia	Lincomicina	165-671000	Sim <i>et al.</i> , 2011
			Sulfametazina	199-3190	
			Sulfametoxazol	24300-309000	
			Sulfatiazol	50-17600	
			Trimetoprim	56-162000	
			Ciprofloxacina	528-34600	
			Florfenicol	2280-77500	
			Eritromicina	26-259	
			Cefradina	197-586	
	Efluente empresa farmacêutica (saída ETAR)	Coreia	Lincomicina	3300-4,39x10 ⁷	Sim <i>et al.</i> , 2011
			Sulfametazina	287-1220	
			Sulfametoxazol	2470-24800	
			Sulfatiazol	28-3960	
			Trimetoprim	7930-10100	
			Ciprofloxacina	773-2950	
			Clorotetraciclina	605-758	
			Florfenicol	33-4610	
			Vancomicina	11100-43800	
	Efluente vacaria	Portales (EUA)	Lincomicina	700-6600	Brown <i>et al.</i> , 2006
	Efluente pocilga	China	Roxitromicina	10	Chang <i>et al.</i> , 2010
			Lincomicina	8	
			Trimetoprim	8	
			Ofloxacina	8	
			Sulfametoxazol	7	
	Efluentes matadouro de gado	China	Roxitromicina	26	Chang <i>et al.</i> , 2010
			Lincomicina	29	
			Trimetoprim	28	
			Ciprofloxacina	11	
			Norfloxacina	28	
			Ofloxacina	24	
			Sulfametazina	825	
	Efluente entrada ETAR de uma pecuária	Coreia	Sulfametoxazol	216	Sim <i>et al.</i> , 2011
			Lincomicina	46200-3,0x10 ⁶	
			Sulfametazina	1760-189000	
			Sulfametoxazol	1840-17000	
			Sulfatiazol	7440-403000	
	Efluente saída ETAR de uma pecuária	Coreia	Clorotetraciclina	1370-40000	Sim <i>et al.</i> , 2011
			Lincomicina	13200-2,5x10 ⁶	
			Sulfametazina	11-25400	
			Sulfametoxazol	2370-8840	
			Sulfatiazol	28-170000	
			Trimetoprim	1190-46000	
			Clorotetraciclina	67-2030	
			Eritromicina	29-172	

Tabela 3. Exemplos de algumas publicações sobre a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes (continuação).

Matriz	Meio	Local	Antibiótico	Concentração (ng.L ⁻¹ ou µg.kg ⁻¹)	Referência
Sólidos*	Sedimentos de rio	Áustria	Ofloxacina	58	Ferdig <i>et al.</i> , 2005
		Rio Cache la Poudre (Colorado, EUA)	Monensina Salinomina Narasina	1-30	Kim e Carlson, 2006
		Rio Arc (França)	Azitromicina Claritromicina	36-265 1-4	Feitosa-Felizzola e Chiron, 2009
	Sedimentos de lagoa	Áustria	Flumequina	740	Ferdig <i>et al.</i> , 2005
	Solo	Lundgaard e Askov (Dinamarca)	Clorotetraciclina Tilosina	0,6-16 2-57	Jacobsen <i>et al.</i> , 2004
	Lamas de ETAR	Áustria	Ofloxacina Norfloxacin Ciprofloxacina Moxifloxacina	510 150 230 30	Ferdig <i>et al.</i> , 2005
			Clindamicina Claritromicina Eritromicina	57 13 41	
		Ohio (EUA)	Ciprofloxacina Ofloxacina	2 3	Wu <i>et al.</i> , 2009
		Varese (Itália)	Claritromicina Eritromicina Espiramicina	0,2 0,2 0,7	
	Leite de vaca	Coreia do Sul	Ciprofloxacina Sulfamerazina	17 4-12	Chung <i>et al.</i> , 2009
		Alemanha	Cloxacilina Cefquinoma Penicilina G	5 272 536	Becker <i>et al.</i> , 2004
Alimentos*	Rim bovino	Alemanha	Amoxicilina Penicilina G	34 42-1200	Becker <i>et al.</i> , 2004
	Carne bovina	Alemanha	Amoxicilina	38	Becker <i>et al.</i> , 2004
	Carne ovina	Alemanha	Amoxicilina	60	Becker <i>et al.</i> , 2004
	Pepino	---	Enrofloxacin	111-8079	Migliori <i>et al.</i> , 2003
	Alface			31-3905	
	Feijão			1233	
	Rabanetes			34-7757	
	Cebolas	---	Clorotetraciclina	10-15	Kumar <i>et al.</i> , 2005
	Repolho				
	Alface	---	Florfenicol Levamisol Trimetoprim	5-170	Boxall <i>et al.</i> , 2006
	Cenouras		Florfenicol Enrofloxacin Trimetoprim	3-5	Boxall <i>et al.</i> , 2006
	Alface	---	Sulfametazina	100-1200	Dolliver <i>et al.</i> , 2007
	Batatas Milho				

De acordo com os dados apresentados na Tabela 3, normalmente os antibióticos são detectados em níveis elevados em efluentes hospitalares (0,003 – 101 µg.L⁻¹) e efluentes provenientes de empresas farmacêuticas (0,026 – 43900 µg.L⁻¹). Os efluentes das ETAR's normalmente também contêm elevadas concentrações de antibióticos (0,002 – 64 µg.L⁻¹), o que é indicativo de que os processos de tratamento usados não são eficazes na remoção deste tipo de compostos. Nas águas de

superfície são também detectados níveis moderados de antibióticos ($0,0002 - 100 \mu\text{g.L}^{-1}$), nomeadamente em pontos de amostragem próximos de saídas de ETAR's. Estes compostos são detectados numa gama mais baixa de concentrações nas águas profundas ($50 - 410 \text{ ng.L}^{-1}$), de consumo ($3 - 680 \text{ ng.L}^{-1}$) e marinhas ($0,6 - 1900 \text{ ng.L}^{-1}$). Para além disso, resíduos de antibióticos têm sido detectados em elevadas concentrações ($> 100 \mu\text{g.kg}^{-1}$) em sedimentos provenientes de rios afectados pelas práticas agrícolas. Estas concentrações são mais elevadas que as determinadas nas matrizes aquosas que os rodeiam e do que as encontradas em sedimentos de rios localizados em zonas afastadas de áreas agrícolas. Este facto aponta para a possibilidade de contaminação por escoamento através dos solos (Kümmerer, 2009).

Os solos analisados também revelaram a presença de resíduos de antibióticos nos meses subsequentes à aplicação de estrume e/ou lamas de ETAR como fertilizantes (Jacobsen *et al.*, 2004). A detecção destes resíduos conduziu ao desenvolvimento de diversos estudos sobre a possível absorção de antibióticos a partir dos solos pelas plantas e avaliar o risco desta exposição na saúde humana (entrada destes compostos através da cadeia alimentar). Embora os resultados obtidos indiquem que, na maioria dos casos estudados, a quantidade absorvida varie entre 3 e $8078 \mu\text{g.kg}^{-1}$, é possível que o consumo de alimentos contendo antibióticos provoquem efeitos adversos na saúde humana, nomeadamente reacções alérgicas ou tóxicas (especialmente em crianças) e resistências a agentes patogénicos (Kumar *et al.*, 2005).

Para o caso particular da amoxicilina, caso de estudo deste trabalho, verificou-se que este composto foi detectado na ordem dos 900 ng.L^{-1} em águas hospitalares e entre 18 e 6940 ng.L^{-1} em efluentes de ETAR's. Já em águas de rio e águas marinhas, a amoxicilina tem sido detectada entre 10 e 1284 ng.L^{-1} e 0,6 e 76 ng.L^{-1} , respectivamente. Este antibiótico também tem sido encontrado em alimentos de origem animal na gama dos $34 - 60 \mu\text{g.kg}^{-1}$. No entanto, não se encontraram estudos na literatura que refiram a detecção da amoxicilina em águas profundas e de consumo e em sedimentos.

1.2.6. Efeito dos antibióticos no ecossistema

Tal como verificado anteriormente, diversos estudos têm detectado antibióticos no meio ambiente. No entanto, a sua presença pode produzir efeitos indesejáveis quer nos ecossistemas aquáticos, quer nos terrestres, mesmo nas baixas concentrações em que são detectados (ng.L^{-1} - $\mu\text{g.L}^{-1}$ em matrizes aquosas e $\mu\text{g.kg}^{-1}$ em sedimentos). Na verdade, os organismos aquáticos (como bactérias, fungos, microalgas, peixes) são os primeiros organismos a serem afectados pelos antibióticos, uma vez que se encontram continuamente expostos a concentrações sub-terapêuticas.

Os antibióticos são contaminantes pseudo-persistentes, bioacumulativos e, pela sua natureza, são compostos biologicamente activos, ou seja, foram desenvolvidos para surtirem um determinado efeito sobre os microrganismos. A elevada polaridade e a natureza não-volátil da maioria dos antibióticos impede o seu escape destas matrizes (Hernando *et al.*, 2006). A sua distribuição no meio ambiente (solo/sedimentos/água) será definida pelas propriedades físico-químicas de cada antibiótico (por exemplo, estrutura molecular, tamanho, solubilidade e hidrofobicidade) (Kemper *et al.*, 2008). Estes compostos são também suspeitos de serem responsáveis pela produção de microrganismos resistentes, causadores de sérios problemas de saúde pública, nomeadamente dificuldades no tratamento de certas patologias (Bailón-Pérez *et al.*, 2008), e de produzirem efeitos adversos na reprodução de diferentes organismos.

No caso das plantas aquáticas, os antibióticos podem perturbar o normal desenvolvimento de diversas espécies. Estes podem afectar a replicação de cloroplastos (fluoroquinolonas), a transcrição e tradução (tetraciclina, macrólidos, lincosamidas e aminoglicosídeos), a via metabólica (sulfonamidas) e a bio-síntese de ácidos gordos (Brain *et al.*, 2008). Já na saúde humana, existem estudos que apontam que os antibióticos podem provocar alergias, sensibilidade à luz e podem ser nefrotóxicos (Kümmerer, 2009).

1.2.7. Métodos de remoção de antibióticos de matrizes aquosas

Tal como mencionado anteriormente, a maioria das estações de tratamento de águas (ETA's) e águas residuais (ETAR's) não foram projectadas para o tratamento de águas contendo poluentes extremamente polares (Xu *et al.*, 2007). Por essa razão, novas soluções funcionais e económicas devem ser estudadas, de modo a que a quantidade de antibióticos diariamente descarregada para o meio ambiente seja reduzida. No entanto, esta tarefa é dificultada por diversas condicionantes. Em primeiro lugar, os antibióticos possuem estruturas e consequentemente, propriedades bastante distintas, pelo que será necessário avaliar se o mesmo processo é eficiente na remoção de compostos pertencentes a classes distintas. Por outro lado, o facto dos antibióticos se encontrarem distribuídos em vários meios (água, solos, sedimentos, lamas) agrava esta situação, uma vez que as matrizes nos quais se encontram possuem também elas características bastante diferentes. Deste modo será expectável que não exista uma solução única para a remoção de todas as classes de antibióticos dos diferentes meios, mas sim uma combinação de métodos.

Existem diversas metodologias físicas ou químicas que podem ser utilizadas para a remoção de compostos orgânicos, nomeadamente a oxidação química e a biodegradação (métodos destrutivos), a adsorção e técnicas membranares (processos não destrutivos). A escolha da técnica a aplicar irá depender do nível de concentração do poluente no efluente a tratar e obviamente, do meio em que

este está inserido. Na Tabela 4 encontra-se um resumo de alguns estudos realizados nesta área, ilustrando quais as classes mais estudadas.

Segundo os dados apresentados, as classes de antibióticos mais estudadas são as beta-lactamas e sulfonamidas. Contudo, de acordo com a informação fornecida pelo ESAC (2010), os antibióticos mais prescritos na Europa são as beta-lactamas, as lincosamidas e os macrólidos (Figura 3).

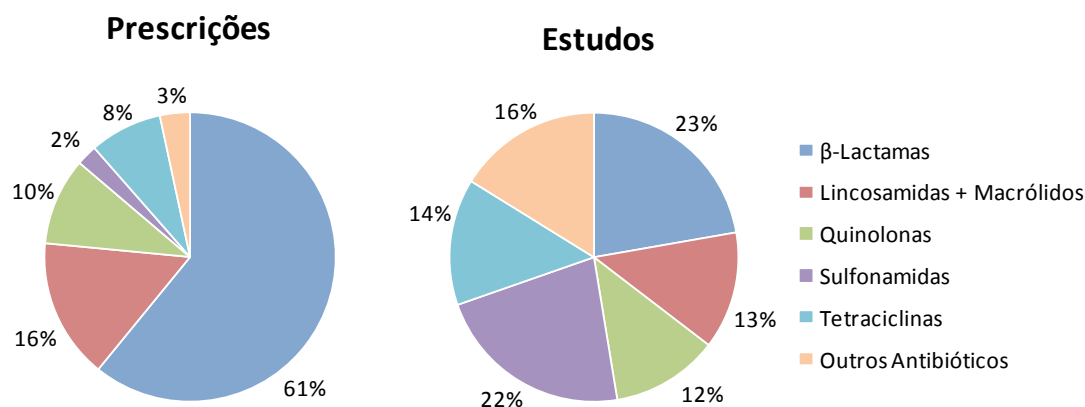


Figura 3. Classes dos antibióticos (a) mais estudados e (b) mais prescritos.

Um estudo semelhante ao anterior foi efectuado de modo a verificar quais as metodologias de degradação e remoção mais estudadas e, destas quais as mais aplicadas a cada classe de antibióticos (Figura 4). Segundo o levantamento bibliográfico efectuado a metodologia mais estudada é a ozonólise (21%), seguida da oxidação de Fenton e foto-Fenton (16%), dos processos membranares de nano/ultrafiltração e de osmose inversa (14%) e da fotocatalise heterogénea (10%).

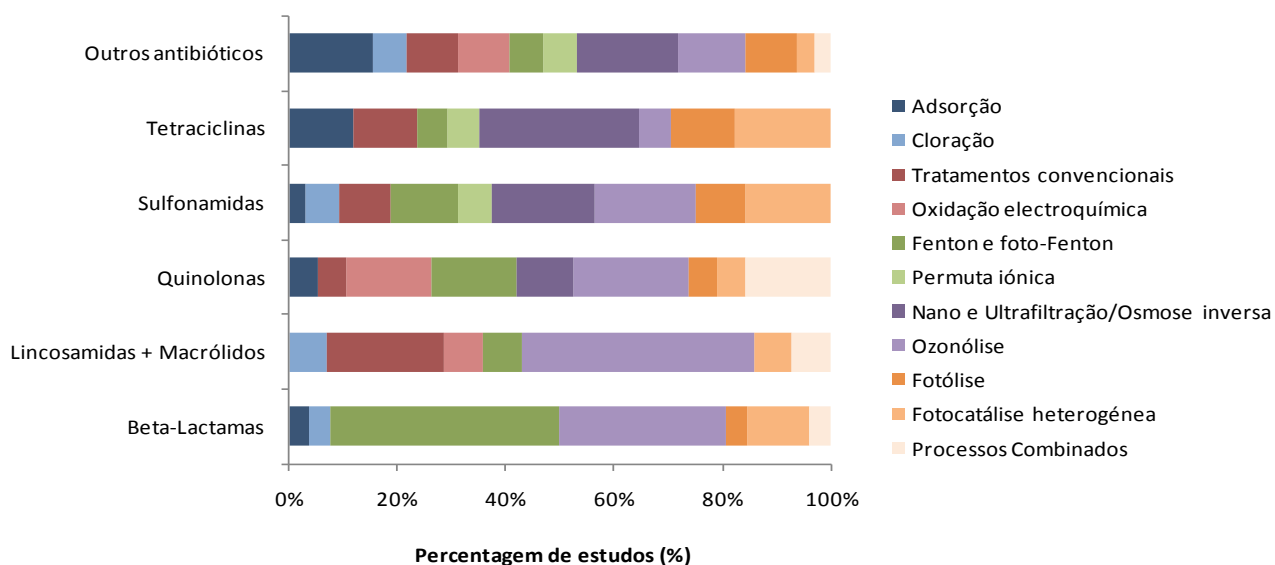


Figura 4. Metodologias de degradação e remoção aplicadas a cada classe de antibiótico (Nº total de estudos = 140).

Relativamente às beta-lactamas, classe de antibióticos mais consumida e à qual pertence a amoxicilina, verificou-se que a maioria dos estudos se focam na degradação através de métodos de oxidação de Fenton, foto-Fenton e ozonólise.

Tendo em conta o caso particular da amoxicilina, verificou-se que a remoção/degradação deste composto tem sido pouco estudada. Pensa-se que a explicação para esta situação pode residir no facto de a amoxicilina ser uma molécula complexa e possuir três grupos ionizáveis e, por isso, a sua análise não ser fácil. Por outro lado, este composto possui um anel beta-lactâmico que lhe confere baixa estabilidade. Por esta razão, seria esperado que fosse menos persistente no meio ambiente, facto que na verdade não é confirmado, uma vez que tem sido detectada em diversas matrizes aquosas.

Os estudos de remoção/degradação deste antibiótico efectuados até ao momento têm incidido especialmente nas metodologias de oxidação avançadas, como o processo de Fenton, foto-Fenton, fotocatalise heterogénea e ozonólise. Tanto quanto é do conhecimento da autora, apenas um estudo de adsorção com carvão activado e bentonite foi realizado. De uma forma geral, todas estas metodologias demonstraram ser eficientes na degradação da amoxicilina em águas contaminadas. Porém, nem sempre ocorreu total mineralização do composto e a ecotoxicidade dos efluentes tratados não foi, na maioria dos casos, determinada. Desta forma, não foi possível avaliar-se a perigosidade dos produtos intermediários formados.

Nos tópicos 1.2.7.1 a 1.2.7.5 serão apresentados os princípios básicos dos processos de remoção/degradação, os principais resultados referidos na literatura e serão apresentadas as vantagens e desvantagens de cada metodologia, dando-se maior relevância aos estudos com amoxicilina.

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos.

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
1. <u>Aminoglicosídeos</u>							
Espectinomicina	1 mM	Água destilada	Ozonólise	0,06-0,10 mM O ₃ pH = 2-9	Absorvância a 260 nm	- A velocidade da reacção de 2ª ordem aumenta com o aumento do pH. - Rápida degradação a pH neutro. - Remoção total em apenas 10 segundos.	Qiang <i>et al.</i> (2004)
2. <u>Antraciclinas</u>							
Epirubicina	18 mg.L ⁻¹	Água destilada	Oxidação electroquímica	Dois eléctrodos de Pt/Ir Electrólito: NaCl Corrente: 100 mA	HPLC-UV, ensaios microbiológicos com <i>S.aureus</i> , ensaios de citotoxicidade e mutagenicidade	- A electrólise degrada a epirubicina e elimina a sua citotoxicidade, mutagenicidade e actividade microbiológica após 360 min.	Hirose <i>et al.</i> (2005)
3. <u>β-Lactamas</u>							
Amoxicilina	CQO=1,4 g.L ⁻¹	Água residual simulada	Ozonólise Fotólise directa e indirecta Fenton Foto-Fenton	<i>Ozonólise:</i> 2760 mg.(L.h) ⁻¹ O ₃ pH = 3-11,5 <i>Fotólise:</i> LP UV a 254 nm pH = 7 0-40 mM H ₂ O ₂ <i>Foto-Fenton e Fenton:</i> LP UV a 254 nm pH = 3 20 mM H ₂ O ₂ 1 mM Fe ²⁺ ou Fe ³⁺	CBO ₅ , CQO, COT, HPLC-DAD	- Ozonólise depende do pH (máximas remoções de CQO e COT ocorrem em meio alcalino - remoção CQO = 49%). - A fotólise mostrou ser o método menos eficaz. - Remoções de CQO e COT relativamente elevadas utilizando Fe ²⁺ /H ₂ O ₂ , em vez de Fe ³⁺ /H ₂ O ₂ (remoção CQO = 61% e 46%, respectivamente). - A presença de luz UV melhora ligeiramente a eficiência do processo de Fenton. - Baixa biodegradabilidade dos efluentes tratados.	Arslan-Alaton e Dogruel (2004)
Amoxicilina	CQO = 0,83 g.L ⁻¹	Água residual simulada	Ozonólise	<i>Ozonólise:</i> 2500 mg.(L.h) ⁻¹ O ₃ pH = 2,5-12,0 <i>O₃/H₂O₂:</i> 2500 mg.(L.h) ⁻¹ O ₃ pH = 10,5 2-40 mM H ₂ O ₂	CBO ₅ , CQO, absorvância a 344 e 274 nm	- A degradação aumenta com o aumento do pH e da concentração de H ₂ O ₂ (até 20 mM). - As eficiências de remoção variaram entre 10 e 56% para a ozonólise e entre 30 e 83% para O ₃ /H ₂ O ₂ (cinéticas de 1ª ordem). - A biodegradabilidade do efluente aumentou com a ozonólise (6 x) e com O ₃ /H ₂ O ₂ (23 x). - O efluente tratado foi submetido a um tratamento biológico com lamas activadas, ocorrendo um aumento da remoção.	Arslan-Alaton <i>et al.</i> (2004)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
3. <i>β-Lactamas</i>							
Amoxicilina	0,5 mM	Água desionizada	Ozonólise	$1,6 \times 10^{-4}$ M O_3 pH = 2,5-7,2	COT, HPLC-DAD	- 90% remoção após 4 min e 18% mineralização após 20 min. - Baixo grau de mineralização, mesmo para tempos de tratamento longos.	Andreozzi <i>et al.</i> (2005)
Amoxicilina	CQO = 80 g.L ⁻¹ COT = 19 g.L ⁻¹	Água residual de uma empresa farmacêutica	Método combinado: Fenton e osmose inversa	<i>Fenton:</i> 10 g.L ⁻¹ H_2O_2 0,74 g.L ⁻¹ Fe^{2+} <i>Osmose inversa:</i> Membranas de poliamida Área = 155 cm ²	CBO ₅ , CQO, COT	- Após uma extração líquido-líquido com diclorometano para remover solventes e outros compostos orgânicos obteve-se uma remoção de COT e de CQO de 50%. - A oxidação de Fenton conduziu a uma mineralização de 38%. - Após o processo de osmose inversa, 11% do antibiótico foi mineralizado e a biodegradabilidade do efluente aumentou (CQO:CBO ₅ =4:1). - O processo combinado conduziu a uma remoção de COT de 99,7%.	Zhang <i>et al.</i> (2006)
Amoxicilina	42 mg.L ⁻¹	Efluente de ETAR (adição de padrão)	Foto-Fenton	Luz negra a 365 nm e radiação solar 1,0-2,0 mM H_2O_2 0,20 mM ferrioxalato ou $Fe(NO_3)_3$ pH = 2,5	COT, COD, HPLC-DAD	- A degradação não foi influenciada pelo tipo de radiação ou matriz. Esta foi superior nos ensaios efectuados com ferrioxalato. - O aumento da concentração de H_2O_2 conduziu a um aumento de eficiência. - Degradação total após 10 min de irradiação.	Trovó <i>et al.</i> (2008)
Amoxicilina	500 mg.L ⁻¹ CQO = 790 mg.L ⁻¹	Água residual simulada	Foto-Fenton	Luz UV (6W) a 365 nm H_2O_2/Fe^{2+} = 10-100 (razão molar) pH = 2-4	HPLC-DAD, CQO, CBO ₅ , OD	- A razão máxima de biodegradabilidade (> 0,40) foi obtida com H_2O_2/CQO = 2 (razão molar), H_2O_2/Fe^{2+} = 50 (razão molar) e pH = 3-3,5, depois de 30-45 min de reacção. Nestas condições, a degradação da amoxicilina foi completa após 1 min (remoção COT = 71%). - Este estudo demonstra que o foto-Fenton pode ser utilizado para aumentar a biodegradabilidade de um efluente.	Elmolla and Chaudhuri (2009b)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
3. <u><i>β-Lactamas</i></u>							
Amoxicilina	300 mg.L ⁻¹	Água destilada Água residual	Adsorção em carvão activado e bentonite	pH = 2-7 0,1-3,5 g adsorvente T = 30 °C	UV a 230 nm	- Uma solução de amoxicilina em água destilada foi utilizada para modelar o processo de adsorção. - Os dados são bem ajustados ao modelo de Langmuir e de Freundlich. - Processo descrito por uma cinética de pseudo-2^a ordem. - Em águas residuais reais, tanto o carvão activado (95%) como a bentonite (88%) apresentam elevadas eficiências de remoção.	Putra <i>et al.</i> (2009)
Amoxicilina	1-100 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocatálise heterogénea	pH = 3-9 LP UV a 365 nm e radiação solar 0,1-0,7 g.L ⁻¹ TiO ₂ ou TiO ₂ dopado com C e Fe	CQO, LC-MS	- A degradação da amoxicilina sob radiação solar é cerca de 3 vezes mais rápida do que a que ocorre sob radiação artificial. - A degradação máxima foi obtida a pH neutro e com TiO₂ dopado com 37% de C (85% remoção). - Produtos de degradação foram determinados por LC-MS.	Klauson <i>et al.</i> (2010)
Amoxicilina	100-200 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fenton	pH = 3,5 H ₂ O ₂ = 10-500 mg.L ⁻¹ Fe ²⁺ = 0-50 mg.L ⁻¹	COT, HPLC-UV	- Aplicação de desenho experimental para determinar as melhores condições operatórias do processo. - Completa degradação obtida em 2,5 min e 37% de mineralização em 15 min, utilizando H₂O₂/Fe²⁺/amoxicilina = 255/25/105 mg.L⁻¹.	Ay e Kargi (2010)
Amoxicilina Ampicilina Cloxacilina	104 mg.L ⁻¹ 105 mg.L ⁻¹ 103 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fenton	pH = 2-4 H ₂ O ₂ /CQO = 1,0-3,5 H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ = 2-150 (razões molares)	HPLC-DAD, CQO, CBO ₅ , COT, COD	- Completa degradação dos antibióticos após 2 min (H₂O₂/Fe²⁺ = 10 (razão molar) e pH = 3). - Aumento da biodegradabilidade em 10 min (de 0 para 0,37). - Remoção de CQO = 81,4% e remoção de COD = 54,3% em 60 min.	Elmolla and Chaudhuri (2009a)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
3. <i><u>β-Lactamas</u></i>							
Amoxicilina Ampicilina Cloxacilina	104 mg.L ⁻¹ 105 mg.L ⁻¹ 103 mg.L ⁻¹	Água destilada	Foto-Fenton	pH = 2-4 H ₂ O ₂ /CQO = 1,0-2,5 (razão molar) H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ = 10-150 (razão molar) Luz UV (6W) a 365 nm	HPLC-DAD, CQO, CBO ₅ , COT, OD	- Completa degradação dos antibióticos após 2 min (H ₂ O ₂ /CQO = 1,5 (razão molar), H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ = 20 (razão molar) e pH = 3). - Aumento da biodegradabilidade (de 0 para 0,4). - Remoção de CQO = 80,8% e remoção de COD = 58,4% em 50 min. - Ocorreu a mineralização dos compostos.	Elmolla and Chaudhuri (2009c)
Amoxicilina Ampicilina Cloxacilina	104 mg.L ⁻¹ 105 mg.L ⁻¹ 103 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocatálise heterogênea	Luz UV (6W) a 365 nm 0,2-2,0 g.L ⁻¹ ZnO pH = 5-11	HPLC-DAD, CQO, CBO ₅ , COT, OD	- As condições ótimas para obter uma degradação completa foram 0,5 g.L ⁻¹ ZnO, pH = 11 e 180 min de irradiação. - Nestas condições, os autores obtiveram uma remoção de CQO = 23,9% e uma remoção de COD = 9,7%.	Elmolla and Chaudhuri (2010b)
Amoxicilina Ampicilina Cloxacilina	104 mg.L ⁻¹ 105 mg.L ⁻¹ 103 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocatálise heterogênea	Luz UV (6W) a 365 nm 0,5-2,0 g.L ⁻¹ TiO ₂ 50-300 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ pH = 3-11	HPLC-DAD, CQO, CBO ₅ , COT, OD	- Não ocorreu degradação significativa após 300 min de irradiação com luz UV. - A pH = 5 e 1,0 g.L ⁻¹ TiO ₂ obteve-se uma degradação de 50% (remoção CQO = 81%). - A adição de 100 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ a pH=5 e 1,0 g.L ⁻¹ TiO ₂ resultou na completa degradação após 30 min e 40% de mineralização após 24 h.	Elmolla and Chaudhuri (2010a)
Amoxicilina Cefadroxil Penicilina	1,60 mg.L ⁻¹ 1,89 mg.L ⁻¹ 25 mg.L ⁻¹	Água destilada	Cloração	ClO ₂ /antibiótico = 0,25-2,00 (razão molar)	HPLC-MS	- Obteve-se uma degradação total após 2 h de reação para a penicilina (ClO ₂ /penicilina > 1,00) e para a amoxicilina e cefadroxil após 4 min de reação (ClO ₂ /antibiótico > 1,50). - Foram detectados produtos intermediários.	Navalon <i>et al.</i> (2008)
Amoxicilina Ampicilina	20 mg.L ⁻¹	Água destilada	Remoção usando Fe ⁰	ZVI or Fe ⁰ (ferro metálico) 0,5-2 g.L ⁻¹ Fe ⁰	LC-MS	- Cinética de 1ª ordem. - A remoção dos antibióticos ocorreu devido à ruptura do anel beta-lactâmico, adsorção nos produtos de corrosão e co-precipitação. - Remoção total após 3 h com ZVI. - Metabólitos determinados por LC-MS.	Ghauch <i>et al.</i> (2009)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
3. <i>β-Lactamas</i>							
Ampicilina	20 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fenton Foto-Fenton	pH = 2,3-5,7 230-570 μ M H ₂ O ₂ 53-87 μ M Fe ²⁺ Luz UV (20 W) a 365 nm	HPLC-UV, COT, CQO	- Degradação total (pH = 3,7; 87 μ M Fe ²⁺ , 373 μ M H ₂ O ₂ para o Fenton e pH = 3,5; 87 μ M Fe ²⁺ , 454 μ M H ₂ O ₂ para foto-Fenton). - Mineralização superior para o processo de foto-Fenton (50% remoção COT) do que para o de Fenton (20% remoção COT). - Os produtos de degradação não apresentavam actividade antibacteriana.	Rozas <i>et al.</i> (2010)
Ceftriaxona	250-1400 mg.L ⁻¹	Água residual simulada	Ozonólise	3 g.(h.L) ⁻¹ O ₃ pH = 3-11 0-100 mM H ₂ O ₂	CBO ₅ , CQO, COT, Absorvância a 254 nm	- A remoção de CQO aumentou com o aumento do pH de 3 para 7. A adição de H ₂ O ₂ não trouxe vantagens ao processo. - A biodegradabilidade do efluente aumentou. - Após 60 min obteve-se uma degradação de 95% (remoção de COT = 45%).	Balcioğlu <i>et al.</i> (2003)
Penicilina	CQO = 710 mg.L ⁻¹	Água residual simulada	Ozonólise	2760 mg.(L.h) ⁻¹ O ₃ pH = 3-11	CBO ₅ , CQO, COT, experiências de respirometria	- A degradação aumenta com o aumento do pH (6% a pH = 3 e 34% a pH = 11). A razão de biodegradabilidade, CBO ₅ /CQO, aumentou durante 40 min de tratamento. A mineralização manteve-se baixa. - Efluente pouco biodegradável.	Cokgor <i>et al.</i> (2004)
Penicilina	CQO = 50 g.L ⁻¹	Água residual de uma empresa farmacêutica	Fenton usando microondas	Potência = 100-500 W pH = 1-11 t irradiação = 2-10 min 3,2-19 g.L ⁻¹ H ₂ O ₂ 2-8 g.L ⁻¹ Fe ₂ (SO ₄) ₃	CBO ₅ , CQO, COT, HPLC-UV, absorvância a 254 nm	- Os parâmetros operacionais foram investigados, obtendo-se como condições óptimas: 300 W, 6 min, pH inicial = 4,42, 1,3 g.L ⁻¹ H ₂ O ₂ e 4,9 g.L ⁻¹ Fe ₂ (SO ₄) ₃ - Obteve-se uma remoção de CQO de 57,53%, COT > 40% e 55,06% de degradação.	Yang <i>et al.</i> (2009)
Penicilina G	CQO = 600 mg.L ⁻¹	Água residual simulada	Foto-Fenton (Fe ³⁺) Fenton (Fe ³⁺)	Luz negra (125 W) 5-40 mM H ₂ O ₂ 0,1-5 mM Fe ³⁺ pH = 3	CBO ₅ , CQO, COT	- Nas condições óptimas (1,5 mM Fe ³⁺ , 25 mM H ₂ O ₂ , 30 min), foram obtidas remoções de CQO de 56% e 44% e COT de 42% e 35% para Foto-Fenton e Fenton, respectivamente. - Cinética de 1ª ordem. - O processo de foto-Fenton foi mais eficiente (biodegradabilidade do efluente).	Arslan-Alaton e Gurses (2004)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
3. <i><u>β-Lactamas</u></i>							
Penicilina G	CQO = 0,2-0,6 g.L ⁻¹	Efluente simulado	Ozonólise	600-2600 mg.L ⁻¹ O ₃ pH = 3-12	CQO, COT	- A ozonólise seguiu uma cinética de 1ª ordem. - A remoção de CQO aumentou com o aumento do pH e da concentração de ozono. - A pH = 7, 1800 mg.L ⁻¹ O ₃ e após 1 h de tratamento obtiveram-se remoções de COT e CQO de 36% e 37%, respectivamente.	Arslan-Alaton e Coglayan (2005)
Penicilina G	CQO = 600 mg.L ⁻¹	Efluente simulado	Ozonólise	<i>Ozonólise:</i> 1800 mg.(h.L) ⁻¹ O ₃ pH = 7-12 <i>O₃/H₂O₂:</i> 1800 mg.(h.L) ⁻¹ O ₃ pH = 7-12 10 mM H ₂ O ₂	CBO ₅ , CQO, testes de toxicidade com <i>D. magna</i> , testes de inibição com lama activada	- A remoção de CQO aumentou com o aumento do pH e com a presença de H ₂ O ₂ . - A biodegradabilidade do efluente foi melhorada utilizando O ₃ /H ₂ O ₂ , mas este tratamento não removeu completamente a ecotoxicidade. - A eficiência de remoção aumentou de 37% (ozonólise) para 76% quando se utilizou O ₃ /H ₂ O ₂ (pH = 7, 1 h).	Arslan-Alaton e Coglayan (2006)
Penicilina V	CQO = 250-1400 mg.L ⁻¹	Efluente simulado	Ozonólise	<i>Ozonólise:</i> 3 g.(h.L) ⁻¹ O ₃ pH = 3-11 <i>O₃/H₂O₂:</i> 3 g.(h.L) ⁻¹ O ₃ pH = 7 0-100 mM H ₂ O ₂	CBO ₅ , CQO, COT, absorvância a 254 nm	- A remoção de CQO aumentou com o aumento do pH de 3 para 7. A adição de H ₂ O ₂ não trouxe vantagens face à ozonólise directa. - Estes processos conduziram ao aumento da biodegradabilidade (CBO ₅ /CQO) do efluente. - Após 60 min obteve-se uma degradação e uma mineralização de 40%.	Balcioğlu <i>et al.</i> (2003)
4. <i><u>Glicopeptídeos</u></i>							
Bleomicina	44,6 mg.L ⁻¹	Água destilada	Oxidação electroquímica	Dois eléctrodos de Pt/Ir Electrólito: NaCl Corrente: 100 mA	HPLC-UV, ensaios microbiológicos com <i>S.aureus</i> , ensaios de citotoxicidade e mutagenicidade	- A electrólise degrada ligeiramente a bleomicina e elimina a sua citotoxicidade, mutagenicidade e actividade microbiológica.	Hirose <i>et al.</i> (2005)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
5. <i>Imidazoles</i>							
Dimetridazol Metronidazol Ronidazol Tinidazol	10-30 mg.L ⁻¹	Água destinada, águas naturais e residuais	Método combinado: aplicação simultânea da ozonólise com adsorção	pH = 2-9 0,25-0,50 g.L ⁻¹ carvão activado	HPLC-DAD, COT, testes de toxicidade com <i>V. fischeri</i>	- A degradação através da ozonólise foi superior a 90% (10-20% de mineralização). - A ozonólise produz produtos intermediários mais tóxicos do que os iniciais. - A presença de carvão activado durante o processo de ozonólise conduziu a um aumento da taxa de remoção, à redução da toxicidade do efluente e de COT (30%).	Sánchez-Polo <i>et al.</i> (2008)
Dimetridazol Metronidazol Ronidazol Tinidazol	100-600 mg.L ⁻¹	Água destilada, águas naturais e residuais	Adsorção/bioadsorção em carvão activado	T = 25 °C pH = 2-11 0-0,1 M NaCl 1g.L ⁻¹ carvão activado	Absorvância a 320 nm	- O pH do meio e a concentração do electrólito não influenciaram a remoção. - Não ocorreu degradação microbiológica. - A presença destes microrganismos durante o processo de adsorção aumentou a adsorção/bioadsorção em carvão activado.	Rivera-Utrilla <i>et al.</i> (2009)
Dimetridazol Metronidazol Ronidazol Tinidazol	150 mg.L ⁻¹	Água destilada	Adsorção em carvão activado	T = 25 °C 0,2-1 g.L ⁻¹ carvão activado pH = 7	Absorvância a 320, 308 e 317 nm	- Obteve-se uma remoção de 90%, utilizando 1 g.L⁻¹ de carvão activado. - Cinética de 2ª ordem.	Méndez-Díaz <i>et al.</i> (2010)
Levamisol	10 mg.L ⁻¹	Água residual de uma empresa farmacêutica	Osmose inversa Nanofiltração	<i>Osmose inversa:</i> Membranas XLE, HR95PP <i>Nanofiltração:</i> Membranas NF90, HL Desal	HPLC-DAD	- Elevadas taxas de remoção utilizando osmose inversa e nanofiltração (coeficientes de rejeição > 0,9).	Košutić <i>et al.</i> (2007)
Metronidazol	1 mg.L ⁻¹	Água desionizada	Fotólise directa e indirecta Fenton Foto-Fenton	<i>Fotólise:</i> LP UV a 254 nm MP UV a 200-400 nm pH = 6 0-50 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ <i>Foto-Fenton e Fenton:</i> LP UV a 254 nm pH = 3,5 29,4 µM H ₂ O ₂ 2,94-11,76 µM Fe ²⁺	HPLC-PDAD, absorvância a 220-230 nm	- O processo de fotodegradação exibe uma cinética de pseudo-1ª ordem. - A irradiação MP mais eficiente. - A fotólise directa (remoções entre 6 e 12%) foi menos eficiente do que UV/H₂O₂ (remoções entre 58 e 67%). - Oxidação de Fenton: cinética de 2ª ordem. - O processo de foto-Fenton (remoções de 71-94%) é mais eficiente do que o processo de Fenton (remoções de 53-76%).	Shemer <i>et al.</i> (2006)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
6. <i>Lincosamidas</i>							
Lincomicina	1 mM	Água destilada	Ozonólise	0,06-0,10 mM O ₃ pH = 2-9	Absorvância a 260 nm	- A velocidade da reação (cinética de 2ª ordem) aumenta com o aumento do pH. - Degradação total ao fim de 1 segundo. - Degradação rápida a pH neutro.	Qiang <i>et al.</i> (2004)
Lincomicina	10-75 µM	Água destilada	Método combinado: fotocátalise heterogênea e nanofiltração	Catalisador: TiO ₂ 0,2 g.L ⁻¹ catalisador Membrana DL2540C e DK2540C	COT, HPLC-UV	- Foto-oxidação com cinética de 1ª ordem. - Oxidação através de fotocátalise. - A filtração permitiu separar as partículas de catalisador do efluente tratado.	Augugliaro <i>et al.</i> (2005)
Lincomicina	10-50 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocátalise heterogênea	MP UV (125 W) pH = 6,0 TiO ₂ (100% anatase ou anatase/rutilo=4/1) 1 e 0,4 g.L ⁻¹ de catalisador, respectivamente	HPLC-UV, COT, absorvância a 200-500 nm	- Cinética de 1ª ordem. - Após 5h, 20% da lincomicina foi degradada fotocataliticamente. Na presença de TiO ₂ 98% foi oxidada em 2 h. - Remoções de COT superiores quando TiO ₂ (anatase/rutilo) foi utilizado como catalisador (60% remoção).	Addamo <i>et al.</i> (2005)
Lincomicina	25-50 mg.L ⁻¹	Água destilada	Oxidação electroquímica	Cátodo de aço inoxidável Ânodo: Ti/Pt, grafite, Ti/IrO ₂ /Ta ₂ O ₅ ou 3D GAC Electrólito: Na ₂ SO ₄ ou NaCl	Absorvância a 200-400 nm, CQO, titulação iodométrica, análises voltamétricas	- Redução em 30% do CQO do efluente contendo lincomicina. - Cinéticas lentas devido à dificuldade de desprotonação. - Cinética de 1ª ordem. - Foram testados diferentes ânodos.	Jara <i>et al.</i> (2007)
Lincomicina	25 mg.L ⁻¹	Água destilada e residual	Foto-Fenton	Luz negra ($\lambda_{\text{max.}}$ = 365 nm) e radiação solar pH = 2.5 0,20 mM ferrioxalato, FeSO ₄ , Fe(NO ₃) ₃ 1,0-10 mM H ₂ O ₂	COT, COD, HPLC-DAD	- Melhoria no processo de degradação quando o ferrioxalato foi utilizado como catalisador. - Após 8 min de irradiação, remoção total na presença do ferrioxalato. - Após 20 min de irradiação, remoção total na presença Fe(NO ₃) ₃ . - 94% de remoção de COT após 60 min de irradiação e utilizando ferrioxalato. - 21% de remoção de COT após 60 min de irradiação e utilizando Fe(NO ₃) ₃ .	Bautitz e Nogueira (2010)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
<i>7. Macrólidos</i>							
Avilamicina Tilosina	CQO = 7,0 g.L ⁻¹	Água residual de uma empresa farmacêutica	Processo anaeróbio	Reactor anaeróbio pH = 6,5-7,8 V = 11 L t = 2-4 dias	HPLC-UV, COD	- Redução da CQO em 70-75%. - Degradação de 95% de tilosina – antibiótico degradado num sistema de reactores anaeróbios.	Chelliapan <i>et al.</i> (2006)
Claritromicina Eritromicina Roxitromicina	0,2-0,6 µg.L ⁻¹	Efluente de ETAR (adição de padrão)	Ozonólise	5-15 mg.L ⁻¹ O ₃	LC-MS	- Ozonólise capaz de oxidar os compostos e inactivar microrganismos (degradação entre 76 e 92%).	Ternes <i>et al.</i> (2003)
Azitromicina Claritromicina Roxitromicina	2 µg.L ⁻¹	Efluente de ETAR (adição de padrão)	Ozonólise	2 colunas a operar em série 0,5-5 mg.L ⁻¹ O ₃ pH = 7	LC-MS	- Cinética de 2ª ordem. - 90-99% de degradação para concentrações de O ₃ > 2 mg.L ⁻¹ .	Huber <i>et al.</i> (2005)
Azitromicina Claritromicina Eritromicina Roxitromicina	CQO = 360 ou 590 mg.L ⁻¹	Dois efluentes de ETARs	Tratamento primário: Gradação Clarificação Tratamento secundário: Lamas activadas Reactor membranas (1) ou reactor de leito fixo (2) Clarificação Filtração em leito de areia	<i>Tratamento primário:</i> V = 5600 m ³ , t = 15 h <i>Reactor membranas:</i> V = 16 m ³ , t = 13 h <i>Filtração:</i> V = 288 m ³ , t = 25 min <i>Lamas activadas:</i> V = 9100 m ³ , t = 31 h <i>Reactor de leito fixo:</i> V = 1500 m ³ , t = 1h <i>Filtração:</i> V = 360 m ³ , t = 6-8 h	LC-MS	- Estação de tratamento 1: pré-tratamento com lamas activadas. - Bioreactor anaeróbio agitado com compartimentos em cascata de desnitrificação/nitrificação. - Eliminações similares foram observadas no tratamento secundário de dois sistemas convencionais de lamas activadas e no reactor de leito fixo. - Resultados variáveis foram obtidos para cada um dos macrólidos estudados.	Göbel <i>et al.</i> (2007)
Claritromicina	1x10 ⁻⁴ M	Água destilada	Ozonólise	1x10 ⁻⁵ M O ₃ pH = 3,2-4,4	LC-MS, absorvância a 260 nm, testes de inibição a <i>P. putida</i>	- Cinética de 2ª ordem. - Aumento da degradação com o aumento do pH. - Os produtos intermediários da reacção foram determinados e demonstraram ser menos inibitórios do que o composto inicial.	Lange <i>et al.</i> (2006)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
7. <u>Macrólidos</u>							
Eritromicina Tilosina	40 mg.L ⁻¹	Água destilada Água residual de uma empresa farmacêutica	Ozonólise	pH = 3-11 H ₂ O ₂ /O ₃ = 0,5-18 (razão molar)	LC-MS	- A adição de H ₂ O ₂ acelerou o processo (razão molar ótima H ₂ O ₂ /O ₃ de 5). - A ozonólise da água residual resultou em 97% de degradação após 10 min e degradação total após 20 min para todos os compostos.	Lin <i>et al.</i> (2009)
Eritromicina	10 ng.L ⁻¹	Efluente ETA	Clarificação Cloração Filtração com carvão activado	<i>Clarificação:</i> 2 tanques a operar em paralelo Coagulante: FeCl ₃ pH = 4,5-5,5 t = 15-20 min <i>Cloração:</i> Adição de NaClO t = 200-300 min <i>Filtração:</i> 8 tanques de filtração a operar simultaneamente t = 1,5-3 min	LC-MS	- A clarificação diminuiu a concentração deste antibiótico em cerca de 47%. A remoção deste composto hidrofílico da fase aquosa pode ser explicada através da coagulação com FeCl ₃ . - Após a clarificação, as amostras de água foram sujeitas a um processo de desinfecção, obtendo-se 92% de remoção. - Após este processo, a água passou através de filtros de carbono. Foi obtida uma remoção total.	Stackelberg <i>et al.</i> (2007)
Roxitromicina	0,5 µM	Águas de rio, lago e poço (adição de padrão)	Ozonólise	0,1-2 mg.L ⁻¹ O ₃ pH = 8	HPLC-UV	- Cinética de 2ª ordem. - A matriz aquosa afecta a estabilidade do ozono e a formação de radicais. - Eficiências de remoção > 90%.	Huber <i>et al.</i> (2003)
8. <u>Quinolonas</u>							
Ácido nalidíxico	45 mg.L ⁻¹	Água destilada	Processo combinado: Foto-Fenton solar e tratamento biológico	Foto-Fenton solar: - pH = 2,6-2,8 - 20 mg.L ⁻¹ Fe ²⁺ - 200-400 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ Tratamento biológico: - lamas activadas - Q = 500 L.h ⁻¹	HPLC-UV, COT, COD, testes de toxicidade com <i>V. fischeri</i>	- Total degradação do antibiótico após 200 min. - Mineralização de 90% após 400 min. - O processo de foto-Fenton aumentou a biodegradabilidade do efluente. - A eficiência global do processo combinado foi de 95% (remoção de COD) – 33% pelo Foto-Fenton solar e 62% pelo tratamento biológico.	Sirtori <i>et al.</i> (2009)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
8. <i>Quinolonas</i>							
Ciprofloxacina	0,15 mM	Água ultra pura	Foto-Fenton heterogéneo	HP UV a 280 e 260 nm pH = 3-10 0-60 mM H ₂ O ₂ Catalisador: Fe-Lap-RD 0-1,5 g.L ⁻¹ catalisador	COT, CQO, HPLC-DAD	- Aumento da degradação com o aumento da concentração de H ₂ O ₂ e do catalisador. - pH ótimo = 3. - Nas condições ótimas obteve-se, após 30 min, a degradação total do antibiótico associada a uma mineralização de 57%. - Cinética de 1ª ordem.	Bobu <i>et al.</i> (2008)
Ciprofloxacina	23-136 µM	Água desionizada	Ozonólise	<i>Ozonólise:</i> 660-3680 mg.L ⁻¹ O ₃ pH = 3-10 T = 6,0-62,0 °C <i>O₃/H₂O₂:</i> 2500 mg.L ⁻¹ O ₃ pH = 3-10 T = 27,5 °C 2-990 µM H ₂ O ₂	HPLC-UV	- Cinética de 1ª ordem. - A degradação aumentou com o aumento da concentração de ozono (95% degradação entre 60 e 75 min). A temperatura não influenciou significativamente o processo. - A adição de pequenas quantidades de H ₂ O ₂ (2-50 µM) aumentou a degradação da ciprofloxacina. - Foram detectados produtos intermediários.	De Witte <i>et al.</i> (2008)
Ciprofloxacina Norfloxacin Ofloxacin	30 ng.L ⁻¹	Água de rio	Coagulação/ Floculação/ Sedimentação Filtração com areia Ozonólise Filtração com carvão activado Fotólise directa	<i>Coagulação:</i> Fe ₂ (SO ₄) ₃ 94-200 g.m ⁻³ coagulante pH = 5,0 <i>Filtração com areia:</i> pH = 7,3 <i>Filtração com carvão:</i> Carvão Chemviron Filtrasorb t = 36 min <i>Fotólise directa:</i> Dose UV = 250 J.m ⁻²	LC-MS	- O processo de coagulação não é capaz de remover a norfloxacin e a ofloxacin. 30% da ciprofloxacina foi removida do efluente. - A filtração não removeu significativamente estes fármacos (~10%). - A concentração dos compostos no efluente não foi alterada pela fotólise directa. - Ozonólise foi eficiente na degradação da maioria dos compostos (ciprofloxacina – 16% de degradação).	Vieno <i>et al.</i> (2007)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
8. <i>Quinolonas</i>							
Enrofloxacin	CQO =250-1400 mg.L ⁻¹	Efluente simulado	Ozonólise	Ozonólise: 3 g.(h.L) ⁻¹ O ₃ pH = 3-11 O ₃ /H ₂ O ₂ : pH = 7 0-100 mM H ₂ O ₂	CBO ₅ , CQO, COT, absorvância a 254 nm	- A remoção de CQO aumentou com o aumento do pH de 3 para 7. A adição de H ₂ O ₂ não trouxe vantagens ao processo. - Estes processos conduziram ao aumento da biodegradabilidade (CBO ₅ /CQO) do efluente. - Após 60 min obteve-se uma degradação de 95% e uma mineralização de 45%.	Balcioğlu <i>et al.</i> (2003)
Enrofloxacin	50-200 mg.L ⁻¹	Água destilada/ desionizada	Processo combinado: adsorção e ozonólise	pH = 5-10 T = 28-50 °C Adsorvente: zeólito 0,75 g adsorvente t =24 h 1430 mg.h ⁻¹ O ₃ t =10-30 min	Absorvância a 271, 272 and 275 nm	- A remoção foi favorecida pela diminuição do pH e o aumento da temperatura. - Isotérmica de Langmuir. - 80% da enrofloxacin ficou adsorvida. - O ozono foi capaz de decompor totalmente a enrofloxacin adsorvida no zeólito, alterando porém a estrutura do adsorvente.	Ötoker <i>et al.</i> (2005)
Enrofloxacin	10 mg.L ⁻¹	Água residual de uma empresa farmacêutica	Osmose inversa Nanofiltração	<i>Osmose inversa:</i> Membranas de XLE e HR95PP <i>Nanofiltração:</i> Membranas de NF90 e HL Desal	HPLC-DAD	- Elevadas taxas de remoção utilizando osmose inversa e nanofiltração (coeficientes de rejeição > 0,972).	Košutić <i>et al.</i> (2007)
Enrofloxacin	1580 mg.L ⁻¹	Água residual simulada	Oxidação electroquímica Ozonólise Fenton	<i>Oxidação electroquímica:</i> Ânodo: diamante dopado com Si-B Cátodo: aço inoxidável T = 35 °C <i>Ozonólise:</i> 0,5 L.min ⁻¹ O ₃ T = 25 °C <i>Fenton:</i> pH = 3	CQO, COT	- Os 3 processos foram capazes de reduzir o teor de orgânicos do efluente. - A oxidação electroquímica é a tecnologia mais eficiente em termos de mineralização, enquanto a ozonólise em termos de remoção de CQO. - O processo de Fenton conduziu à formação de compostos refractários.	Guinea <i>et al.</i> (2009)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
8. <i>Quinolonas</i>							
Enrofloxacin	158 -790 mg.L ⁻¹	Água ultra pura	Oxidação anódica com H ₂ O ₂ Electro-Fenton Fotoelectro-Fenton Fotoelectro-Fenton solar	Ânodo: eléctrodo de diamante dopado com Pt ou B (BDD) Cátodo: carbono-PTFE 12 mL.min ⁻¹ O ₂ Radiação UVA ($\lambda_{\max}$ = 360 nm) 0,05 M Na ₂ SO ₄ 0,1-0,5 mM Fe ²⁺ pH = 3,0 T = 35 °C	COT, HPLC-DAD	- Todos os processos conduziram a menores degradações quando utilizaram um eléctrodo de diamante dopado com Pt. No reactor fechado (BDD como ânodo) obteve-se: 67% remoção COT com a oxidação anódica com H ₂ O ₂ , 78% remoção COT com Electro-Fenton, 96% remoção COT com Fotoelectro-Fenton, 97% remoção COT com Fotoelectro-Fenton solar. - No reactor fechado com recirculação (BDD como ânodo) obteve-se: 28% remoção COT com a oxidação anódica com H ₂ O ₂ , 45% remoção COT com Electro-Fenton, 86% remoção COT com Fotoelectro-Fenton solar.	Guinea <i>et al.</i> (2010)
Flumequina	19,1-95,7 µM	Água destilada	Fotocatálise heterogénea	Lâmpada UV (20W) pH = 3-10 0,5-1,5 g.L ⁻¹ TiO ₂ 0,17-0,83 mM H ₂ O ₂	Absorvância a 331 nm, HPLC, COT, GC-MS, testes antibacterianos com <i>E. coli</i>	- Nas condições óptimas (pH = 6, ausência de H ₂ O ₂ e baixas concentrações de TiO ₂), a flumequina foi totalmente degradada ao fim de 30 min. - Mineralização de 80% após 60 min. - Os produtos de degradação não possuíam actividade biológica. - Este método tem a vantagem de poder ser aplicado como pré-tratamento aos sistemas biológicos convencionais.	Palominos <i>et al.</i> (2008)
Ofloxacin	5-10 mg.L ⁻¹	Água ultra pura	Processo combinado: fotocatalise heterogénea e nanofiltração	LP-UV (125W) Catalisador: TiO ₂ 1 g.L ⁻¹ catalisador Membranas de NTR7410, PAN GKSS HV3IT, N30F e NF PES 10	Absorvância a 230-280 nm	- Cinética de 1ª ordem. - A pH = 6, 54% do antibiótico foi adsorvido pelo catalisador. - 66% foi degradado através da fotocatalise. - A nanofiltração permitiu separar as partículas de catalisador do efluente.	Molinari <i>et al.</i> (2006)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
8. <u>Quinolonas</u>							
Ofloxacin	25-50 mg.L ⁻¹	Água destilada	Oxidação electroquímica	- Cátodo de aço inoxidável - Ânodo de Ti/Pt, grafite, Ti/IrO ₂ /Ta ₂ O ₅ ou 3D GAC - Electrólito: Na ₂ SO ₄ ou NaCl - Corrente: 1,5-400 A.m ⁻²	Absorvância a 200-400 nm, CQO, titulação iodométrica, análises voltamétricas	- Foram testados diferentes ânodos. - A ofloxacin foi eficientemente oxidada (99,995%) em todos os ânodos. - Cinética de 1ª ordem.	Jara <i>et al.</i> (2007)
9. <u>Derivados de quinoxalina</u>							
Carbadox	50 µg.L ⁻¹	Água desionizada, destilada e água de rio	Coagulação/ Floculação/ Sedimentação Redução da dureza da água Adsorção em carvão activado Cloração Ozonólise Fotólise directa Permuta iónica Osmose inversa	<i>Coagulação:</i> Al ₂ (SO ₄) ₃ , Fe ₂ (SO ₄) ₃ Coagulante: 0-170 mg.L ⁻¹ <i>Redução da dureza da água:</i> 191-232 mg.L ⁻¹ CaCO ₃ pH = 11,3 <i>Adsorção:</i> Calgon WPH Pulv PAC 0-50 mg.L ⁻¹ PAC <i>Cloração:</i> 1,0 mg.L ⁻¹ Cl ₂ <i>Ozonólise:</i> 7,1 mg.L ⁻¹ O ₃ <i>Fotólise:</i> LP UV a 254 nm <i>Permuta iónica:</i> 0,66 g resina <i>Osmose inversa:</i> celulose	HPLC-UV	- A coagulação/floculação/sedimentação, redução da dureza da água, fotólise directa e permuta iónica foram relativamente ineficazes na remoção do antibiótico. - Remoção através da adsorção com carvão activado > 90% (50 mg.L ⁻¹ de PAC). - A oxidação com ozono e cloro foi eficaz na remoção do antibiótico (> 90%). - A osmose inversa foi eficaz na remoção do composto em estudo (coeficiente de rejeição > 0,90). No entanto, este é um processo dispendioso.	Adams <i>et al.</i> (2002)
10. <u>Sulfonamidas</u>							
Sulfacetamida Sulfadiazina Sulfametoxazol Sulfatiazol	0,1 mM	Água destilada	Fotocatálise heterogénea	UV a 366 nm Catalisador: TiO ₂ 2,5 g.L ⁻¹ catalisador	HPLC-UV, CBO ₅ , COT, ensaios microbiológicos com <i>C. vulgaris</i>	- Todos os fármacos foram completamente degradados após 300 min de irradiação. - Remoções de COT variaram entre 30-70%. - Intermediários mais biodegradáveis e menos tóxicos do que os compostos originais.	Baran <i>et al.</i> (2006)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
<i>10. Sulfonamidas</i>							
Sulfacloropiridazina Sulfadimetoxina Sulfamerazina Sulfametazina Sulfatiazol	50 µg.L ⁻¹	Água desionizada, destilada e água de rio	Coagulação/ Floculação/ Sedimentação Redução da dureza da água Adsorção em carvão activado Cloração Ozonólise Fotólise directa Permuta iónica Osmose inversa	<i>Coagulação:</i> Al₂(SO₄)₃, Fe₂(SO₄)₃ Coagulante: 0-170 mg.L⁻¹ <i>Redução da dureza da água:</i> 191-232 mg.L⁻¹ CaCO₃ <i>Adsorção:</i> Calgon WPH Pulv PAC 0-50 mg.L⁻¹ PAC <i>Cloração:</i> 1,0 mg.L⁻¹ Cl₂ <i>Ozonólise:</i> 7,1 mg.L⁻¹ O₃ <i>Fotólise directa:</i> LP UV a 254 nm <i>Permuta iónica:</i> 0,66 g resina <i>Osmose inversa:</i> Membrana de acetato de celulose	HPLC-UV	- A coagulação/floculação/sedimentação, redução da dureza da água, fotólise directa e permuta iónica foram relativamente ineficazes na remoção do antibiótico. - Remoção através da adsorção com carvão activado > 90% (50 mg.L⁻¹ de PAC). - A oxidação com ozono e cloro foi eficaz na remoção do antibiótico (> 90%). - A osmose inversa foi eficaz na remoção do composto em estudo (coeficiente de rejeição > 0,90). No entanto, este é um processo dispendioso.	Adams <i>et al.</i> (2002)
Sulfacloropiridazina Sulfadimetoxina Sulfamerazina Sulfametoxazol Sulfamonometoxina Sulfatiazol	10 µg.L ⁻¹	Água desionizada e efluente de ETAR (adição de padrão)	Permuta iónica	<i>Auto-decomposição:</i> pH = 7,0 T = 25 °C t = 15 dias <i>Permuta iónica com resina MIEX®:</i> pH = 7,0 T = 25 °C 0,5-5,0 mL.L⁻¹ resina t = 24 h	HPLC-DAD	- Auto-decomposição bastante lenta (4,1-7,3 µg.L⁻¹ ao fim de 15 dias). - O tratamento por permuta iónica foi efectivo na remoção da maioria destes fármacos (~90% remoção). Este método não foi eficaz na remoção de sulfamerazina e sulfametazina. - Compostos com elevada electronegatividade foram removidos por permuta iónica.	Choi <i>et al.</i> (2007)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
<i>10. Sulfonamidas</i>							
Sulfaclopiridazina Sulfadimetoxina Sulfamerazina Sulfametazina Sulfametizol Sulfametoxazol Sulfatiazol	10 µg.L ⁻¹	Água destilada (adição de CaCl, NaCl e ácidos húmicos)	Nanofiltração	Membranas NF 200 (14,6 cm ² de área) pH = 7 T = 20 °C	LC-MS	- Os antibióticos apresentaram uma baixa velocidade de adsorção (11-20% adsorvido após 90 min). - A concentração de matéria orgânica, salinidade e tipo de antibiótico afectou os coeficientes de rejeição das membranas.	Koyuncu <i>et al.</i> (2008)
Sulfacetamida Sulfadiazina Sulfametoxazol Sulfatiazol	0,1 mM	Água destilada	Fotocatálise heterogénea	UV a 366 nm Catalisador: TiO ₂ 2,5 g.L ⁻¹ catalisador	HPLC-UV, CBO ₅ , COT, ensaios microbiológicos com <i>C. vulgaris</i>	- Completa degradação após 300 min. - Remoções de COT variaram entre 30 e 70%. - Os produtos intermediários são mais biodegradáveis e menos tóxicos do que os compostos originais.	Baran <i>et al.</i> (2006)
Sulfadiazina Sulfadimetoxina Sulfamerazina Sulfatiazol	15 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocatálise heterogénea	UV a 340-400 nm Catalisador: TiO ₂ 200 mg.L ⁻¹ catalyst T = 50 °C	LC-condutivímetro, LC-MS	- Após 30 min de irradiação, a sulfadimetoxina e o sulfatiazol foram totalmente degradados. Remoções de 80 e 90% foram obtidas para a sulfadiazina e sulfamerazina, respectivamente. - O LC-MS foi utilizado para identificar os produtos intermediários da reacção.	Calza <i>et al.</i> (2004)
Sulfadiazine Sulfametoaxol Sulfapiridina Sulfatiazol	2 µg.L ⁻¹	Água residual ETAR (adição de padrão)	Ozonólise	2 colunas a operar em série 0,5-5 mg.L ⁻¹ O ₃ pH = 7	LC-MS	- Cinética de 2ª ordem. - 90-99% de degradação para concentrações de O ₃ > 2 mg.L ⁻¹ . - A existência de sólidos suspensos não afectou a eficiência do processo.	Huber <i>et al.</i> (2005)
Sulfadiazina Sulfaguanidina Sulfametazina	10 mg.L ⁻¹	Água residual de uma empresa farmacêutica	Osmose inversa Nanofiltração	<i>Osmose inversa:</i> Membranas XLE e HR95PP <i>Nanofiltração:</i> Membranas NF90 e HL Desal	HPLC-DAD	- Elevadas taxas de remoção utilizando osmose inversa e nanofiltração (coeficientes de rejeição > 0,989).	Košutić <i>et al.</i> (2007)
Sulfadimetoxina Sulfametazina Sulfametoxazol	40 mg.L ⁻¹	Água destilada e água residual de uma empresa farmacêutica	Ozonólise	pH = 3-11 H ₂ O ₂ /O ₃ = 0,5-18 (razão molar)	LC-MS	- A adição de H ₂ O ₂ acelerou o processo de degradação (H ₂ O ₂ /O ₃ = 5). - A ozonólise da água residual resultou na degradação total após 20 min.	Lin <i>et al.</i> (2009)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
10. <i>Sulfonamidas</i>							
Sulfametazina	10-70 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocatálise heterogénea	UV a 350-400 nm pH = 4,8 0-800 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ Catalisador: TiO ₂ (anatase/rutilo = 3,6/1 ou 100% anatase), TiO ₂ Na ou ZnO 0-4 g.L ⁻¹ catalisador	Absorvância a 260 nm, COT, COD	- Cinética de pseudo-1ª ordem. - A degradação aumentou com o aumento da concentração de catalisador e de H ₂ O ₂ . - TiO ₂ foi mais efectivo do que ZnO em termos de degradação e mineralização. - Com 1 g.L ⁻¹ TiO ₂ atingiu-se uma degradação de 95% (120 min) e uma remoção de COD de 85% (350 min). - Com 1 g.L ⁻¹ ZnO atingiu-se uma degradação total (120 min) e uma remoção de COD de 30% (350 min).	Kaniou <i>et al.</i> (2005)
Sulfametazina	50 mg.L ⁻¹	Água desionizada	Foto-Fenton	Lâmpada simuladora de luz solar (400-580 nm) pH = 3 176-1024 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ 12-68 mg.L ⁻¹ Fe ²⁺	HPLC-DAD, COT, testes bacteriológicos	- Utilizando 600 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ e 50 mg.L ⁻¹ Fe ²⁺ , obteve-se uma remoção máxima de COT (60%) e a degradação total do antibiótico ao fim de 2 min. - A toxicidade aumenta no início da reacção.	Pérez-Moya <i>et al.</i> (2010)
Sulfametizol Sulfametoxazol Sufamoxol Sulfatiazol Sulfisoxazol	100 µM	Água destilada e água de rio (adição de padrão)	Fotólise directa Fenton	<i>Fotólise directa:</i> Luz solar natural ou MP UV (175 W) pH = 2,5-11 <i>Fenton:</i> pH = 3 30% H ₂ O ₂ 40 µM Fe ²⁺	HPLC-UV, LC-MS	- A fotólise directa depende do pH. - Sulfametoxazol e sulfisoxazol foram facilmente degradados em meio ácido, enquanto a sulfametizol e o sulfatiazol em meio básico. O sulfamoxol foi degradado não-fotoquimicamente. - As sulfonamidas foram degradadas através da aplicação de Fenton. - O LC-MS foi utilizado para identificar os produtos intermediários da reacção.	Boreen <i>et al.</i> (2004)
Sulfametoxazol	0,5 µM	Águas de rio, lago e poço (adição de padrão)	Ozonólise	0,1-2 mg.L ⁻¹ O ₃ pH = 8	HPLC-UV	- Cinética de 2ª ordem. - A matriz aquosa afecta a estabilidade do ozono e a formação de radicais. - Eficiências de remoção > 90%.	Huber <i>et al.</i> (2003)
Sulfametoxazol	0,2-0,6 µg.L ⁻¹	Efluente de ETAR (adição de padrão)	Ozonólise	5-15 mg.L ⁻¹ O ₃	LC-MS	- 92% de degradação	Ternes <i>et al.</i> (2003)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
10. <i>Sulfonamidas</i>							
Sulfametoxazol	25-200 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocatálise heterogênea	UV a 240-310 nm pH = 2-11 Catalisador: TiO ₂ 0-2 g.L ⁻¹ catalisador	HPLC-PDA, COD, CBO ₅ , CQO, COT	- A degradação e a mineralização aumentaram com o aumento da concentração de catalisador (360 min, 2,0 g.L⁻¹ TiO₂, pH = 5, 90% degradação e 40% remoção de COT). - O pH não influenciou o processo. - Baixa biodegradabilidade do efluente. - Intermediários identificados por LC-MS.	Abellán <i>et al.</i> (2007)
Sulfametoxazol	200 mg.L ⁻¹	Água destilada	Foto-Fenton	Luz negra – 365 nm 50-1000 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ 10 mg.L ⁻¹ Fe ²⁺ pH = 2,8	CBO ₅ , CQO, COT, HPLC-UV, testes de toxicidade com <i>V. fischeri</i> , consumo de oxigênio	- A degradação, mineralização e biodegradabilidade aumentaram com o aumento da concentração do oxidante. - Utilizando H₂O₂ <400 mg.L⁻¹, os intermediários produzidos não apresentaram efeitos de inibição. Obtiveram-se remoções de COT de 50% e 75% de CQO.	González <i>et al.</i> (2007)
Sulfametoxazol	5-500 µM	Água desionizada (adição de matéria orgânica e bicarbonatos)	Fotocatálise heterogênea	UV a 324-400 nm pH = 3-11 Catalisador: TiO ₂ (anatase/rutilo = 9/1 ou 100% anatase, 100% rutilo) 0,01-1 g.L ⁻¹ catalisador	HPLC-PDA, COD	- A degradação foi influenciada pela concentração inicial do antibiótico, catalisador, tipo de catalisador. - Cinética de pseudo-1ª ordem - O catalisador de fase mista apresentou maior reactividade. - Degradação total ao fim de 60 min.	Hu <i>et al.</i> (2007)
Sulfametoxazol	30 ng.L ⁻¹	Efluente ETA	Clarificação Cloração Filtração com carvão ativado	<i>Clarificação:</i> Coagulante: FeCl₃ pH = 4,5-5,5 t = 15-20 min <i>Cloração:</i> Adição de NaClO t = 200-300 min <i>Filtração:</i> t = 1,5-3 min	LC-MS	- A clarificação diminuiu a concentração deste antibiótico em cerca de 33%. Após a clarificação, as amostras de água foram sujeitas a um processo de desinfecção, obtendo-se uma remoção total.	Stackelberg <i>et al.</i> (2007)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
10. <i>Sulfonamidas</i>							
Sulfametoxazol Sulfapiridina	CQO = 360 ou 590 mg.L ⁻¹	Dois efluentes de ETAR	Tratamento primário: Gradação Clarificação Tratamento secundário: Lamas activadas Reactor membranar (1) ou rector de leito fixo (2) Clarificação e filtração em leito de areia	<i>Lamas activadas:</i> V = 5600 m ³ , t = 15 h <i>Reactor membranar:</i> V = 16 m ³ , t = 13h <i>Filtração:</i> V = 288 m ³ , t = 25 min <i>Lamas activadas:</i> V = 9100 m ³ , t = 31 h <i>Reactor de leito fixo:</i> V = 1500 m ³ , t = 1h <i>Filtração:</i> V = 360 m ³ , t = 6-8 h	LC-MS	- Estação de tratamento 1: pré-tratamento com lamas activadas. - Bioreactor anaeróbio agitado com compartimentos em cascata de desnitrificação/nitrificação. - Eliminações similares foram observadas no tratamento secundário de dois sistemas convencionais de lamas activadas e no rector de leito fixo. - Resultados variáveis foram obtidos para cada uma das sulfonamidas estudadas.	Göbel <i>et al.</i> (2007)
Sulfametoxazol	200 mg.L ⁻¹	Água destilada	Ozonólise	0,15-1,5 g.L ⁻¹ O ₃ pH = 3-11	HPLC-UV, COT, CQO, CBO ₅ , absorvância a 254 nm, testes de toxicidade a <i>V. fischeri</i>	- Cinética de 2ª ordem. - O processo é favorecido pelo aumento do pH. A temperatura não tem um efeito significativo no processo. - Após 60 min de ozonólise com 1,5 g.L ⁻¹ O ₃ , obteve-se uma degradação total do antibiótico, associada a uma baixa mineralização (~18%). A biodegradabilidade do efluente aumentou, mas ecotoxicidade manteve-se inalterada. - O LC-MS foi utilizado para identificar os produtos intermediários da reacção.	Dantas <i>et al.</i> (2008)
Sulfametoxazol	50 ng.L ⁻¹	Água profunda (adição de padrão)	Nanofiltração Osmose inversa	<i>Osmose inversa:</i> Q _{alimentação} = 486 m ³ .h ⁻¹ Q _{permeado} = 356 m ³ .h ⁻¹ Sistema em paralelo (240+120 memb) <i>Nanofiltração:</i> Q _{alimentação} = 360 m ³ .h ⁻¹ Q _{permeado} = 234 m ³ .h ⁻¹ Sistema em paralelo (186+90 memb)	HPLC-MS	- Elevadas taxas de remoção utilizando osmose inversa e nanofiltração (coeficientes de rejeição > 0,950).	Radjenović <i>et al.</i> (2008)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
10. <i>Sulfonamidas</i>							
Sulfametoxazol	50 mg.L ⁻¹	Água destilada Água do mar	Foto-Fenton solar	Lâmpada a 290 nm pH = 2,5-9,0 30-210 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ 2,6-10,4 mg.L ⁻¹ Fe ²⁺	HPLC-UV, HPLC-MS, COD, testes de toxicidade	- A degradação e a mineralização foram dificultadas em águas do mar. - O processo de degradação foi favorecido pelo aumento da concentração de Fe²⁺. - A toxicidade do efluente foi reduzida quando de utilizaram concentrações de H₂O₂ até 120 mg.L⁻¹ (água destilada). - Mineralização de 80% para a água destilada e 50% para a água do mar.	Trovó <i>et al.</i> (2009)
Sulfametoxazol	10 mg.L ⁻¹	Água destilada Água destilada + nitrato (10 e 20 mg.L ⁻¹) Água do mar	Fotólise	Simulador de radiação solar (λ < 290 nm)	HPLC-UV, LC-MS, DOC, toxicity test to <i>V. fischeri</i> and <i>D. magna</i>	- A presença de nitratos na água destilada não afectou o processo de degradação. - 98% antibiótico presente na água destilada foi degradado ao fim de 30 h de irradiação. - Formação de intermediários da reacção. - 14% antibiótico presente na água do mar foi degradado ao fim de 7 h de irradiação. - O LC-MS foi utilizado para identificar os intermediários da reacção. - Produtos intermediários mais tóxicos.	Trovó <i>et al.</i> (2009)
11. <i>Tetraciclina</i>							
Clortetraciclina Demociclina Doxiciclina Meclociclina Minociclina Oxitetraciclina Tetraciclina	10 µg.L ⁻¹	Água desionizada e efluente de ETAR (adição de padrão)	Permuta iónica	Auto-decomposição: pH = 7,0 T = 25 °C t = 15 dias Permuta iónica com resina MIEX®: pH = 7,0 T = 25 °C 0,5-5,0 mL.L ⁻¹ resina t = 24 h	HPLC-DAD	- A auto-decomposição dos compostos foi bastante lenta (6,1-7,8 µg.L⁻¹ ao fim de 15 dias). A decomposição da minociclina e da oxitetraciclina foi mais acelerada (0,7 e 2,2 µg.L⁻¹ ao fim de 15 dias, respectivamente). - O tratamento por permuta iónica foi efectivo na remoção da maioria destes fármacos (> 80% remoção). Este método não foi eficaz na remoção de sulfamerazina e sulfametazina. - Compostos com elevada electronegatividade foram facilmente removidos por permuta iónica.	Choi <i>et al.</i> (2007)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
11. Tetraciclinas							
Clortetraciclina	CQO = 52240-49100 mg.L ⁻¹	Lamas	Digestão anaeróbia	pH = 7,5 T = 35 °C t = 33 dias	LC-MS	- 75% foi degradada.	Arikan (2008)
Clortetraciclina Demeclociclina Doxiciclina Meclociclina Minociclina Oxitetraciclina Tetraciclina	10 µg.L ⁻¹ (estudos de adsorção) 100 µg.L ⁻¹ (estudos de coagulação)	Efluente simulado Água de rio (adição de padrão)	Coagulação Adsorção com carvão activado	<i>Coagulação:</i> PACI (5-60 mg.L ⁻¹) t = 5 min <i>Adsorção:</i> Calgon F400 e carvão preparado a partir de coco	LC-MS, COD	- O processo de coagulação foi favorecido pelo aumento da concentração de PACI. - A coagulação foi capaz de remover 43-94% dos antibióticos presentes no efluente simulado (40 mg.L ⁻¹ coagulante), mas apenas 44-67% dos existentes na água de rio. - Com carvão activado, mais do que 68% das tetraciclinas foram removidas.	Choi <i>et al.</i> (2008)
Clortetraciclina Doxiciclina Oxitetraciclina Tetraciclina	10 µg.L ⁻¹	Água destilada (adição de CaCl ₂ , NaCl e ácidos húmicos)	Nanofiltração	Membranas NF 200 (14,6 cm ² de área) pH = 7 T = 20 °C	LC-MS	- Os antibióticos apresentaram uma degradação entre 50 e 80% após 90 min de tratamento. - A concentração de matéria orgânica, salinidade e tipo de antibiótico afectou os coeficientes de rejeição das membranas.	Koyuncu <i>et al.</i> (2008)
Clortetraciclina Oxitetraciclina Tetraciclina	20-110 µM	Água destilada	Adsorção com óxido de alumínio	0,8-3,5 g.L ⁻¹ Al ₂ O ₃	HPLC-DAD, LC-MS	- Rápida adsorção nas primeiras 3 horas (40 µM antibiótico, 1,78 g.L ⁻¹ Al ₂ O ₃ , pH = 5, T = 22 °C). - 43% remoção para a tetraciclina, 57% para clortetraciclina e 44% para oxitetraciclina.	Chen and Huang (2010)
Oxitetraciclina	1000 mg.L ⁻¹ (CQO = 10000 mg.L ⁻¹)	Água residual de uma empresa farmacêutica	Osmose inversa Ultrafiltração	<i>Osmose inversa:</i> - Membranas NTR-7450 e NTR-7459 - Área = 155 cm ² - T = 21-23 °C - Pressão = 1,8 MPa - Redução de volume = 3,5 <i>Ultrafiltração:</i> - Membranas 3,10,30,50 K Da - Pressão = 0,3 MPa - Redução de volume = 10	Absorvância a 480 nm, CQO, COT	- Aplicando osmose inversa, a concentração de compostos orgânicos diminui em cerca de 98% (CQO _{final} = 200 mg.L ⁻¹). - A oxitetraciclina foi removida em cerca de 87,5%. - Com um tratamento adicional de ultrafiltração, a razão de recuperação do antibiótico foi superior a 60%.	Li <i>et al.</i> (2004)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
<i>11. Tetraciclina</i>							
Oxitetraciclina	10 mg.L ⁻¹	Água residual de uma empresa farmacêutica	Osmose inversa Nanofiltração	<i>Osmose inversa:</i> Membranas XLE e HR95PP <i>Nanofiltração:</i> Membranas NF90 e HL Desal	HPLC-DAD	- Elevadas taxas de remoção utilizando osmose inversa e nanofiltração (coeficientes de rejeição > 0,990).	Košutić <i>et al.</i> (2007)
Oxitetraciclina	100-200 mg.L ⁻¹	Água ultra pura	Ozonólise	11 mg.L ⁻¹ O ₃ pH = 3-11	HPLC-DAD, CQO, CBO ₅ , testes de toxicidade a <i>V. fischeri</i>	- O processo foi favorecido pelo aumento do pH (100% degradação após 20 min). - Efluente tratado mais biodegradável. - Os resultados de toxicidade demonstram que os produtos intermediários eram mais tóxicos do que o composto original.	Li <i>et al.</i> (2008)
Oxitetraciclina	10-40 mg.L ⁻¹	Água ultra pura	Fotólise directa	MP UV a 365 nm pH = 4-9	HPLC-UV, COT, testes de toxicidade com <i>P. phosphoreum</i>	- Cinética de 1ª ordem. - Após 240 min de irradiação obteve-se 90% de degradação e 14% de mineralização.	Shaojun <i>et al.</i> (2008)
Tetraciclina	10-50 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocatálise heterogénea	MP UV (125 W) pH = 6,0 TiO ₂ (100% anatase ou anatase/rutilo = 4/1) 1 e 0,4 g.L ⁻¹ catalisador, respectivamente	HPLC-UV, COT, Absorvância a 200-500 nm	- Cinética de 1ª ordem. - Após 5h, 70% da tetraciclina foi degradada fotocataliticamente. Na presença de TiO ₂ , 98% foi oxidada em 2 h. - Remoções de COT superiores quando TiO ₂ (anatase/rutilo) foi utilizado como catalisador (remoção total).	Addamo <i>et al.</i> (2005)
Tetraciclina	40 mg.L ⁻¹	Água desionizada	Fotocatálise heterogénea	UV a 254, 365 nm e luz solar simulada a 300-400 nm Catalisador: TiO ₂ 0,5-1 g.L ⁻¹ catalisador	HPLC-UV, CBO ₅ , CQO, COT, testes microbiológicos com <i>S.aureus</i>	- Cinética de 1ª ordem. - O grau de degradação e mineralização foi influenciado pela fonte de radiação. - Com 0,5 g.L ⁻¹ TiO ₂ e após 120 min: UV 254 nm: 100% degradação, 90% mineralização, luz solar simulada: 100% degradação, 70% mineralização, UV 365 nm: 50% degradação, 10% mineralização. - Produtos intermediários não possuíam actividade antibacteriana.	Reyes <i>et al.</i> (2006)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
11. <i>Tetraciclinas</i>							
Tetraciclina	24 mg.L ⁻¹	Efluente de ETAR, água de rio e água desionizada (adição de padrão)	Foto-Fenton	Luz negra (15W) e luz solar 1-10 mM H ₂ O ₂ 0,20 mM ferrioxalato ou Fe(NO ₃) ₃ pH = 2,5	COT, HPLC-UV	- A utilização de luz artificial ou radiação solar conduziu a resultados semelhantes (degradação total após 1 min). - O processo que utilizou luz artificial foi favorecido pelo uso de Fe(NO ₃) ₃ , enquanto o que utilizou luz solar pelo ferrioxalato.	Bautitz and Nogueira (2007)
Tetraciclina	10-40 mg.L ⁻¹	Água ultrapura	Fotólise directa	ML UV a 365 nm pH = 6	HPLC-UV, COT, ensaios de toxicidade com <i>V. fischeri</i>	- Cinética de 1ª ordem. - Após 300 min de irradiação, 15% do antibiótico foi mineralizado (degradação de 73%). - A toxicidade do efluente aumentou com o tempo de irradiação. - Intermediários identificados por LC-MS.	Jiao <i>et al.</i> (2008)
Tetraciclina	20 mg.L ⁻¹	Água destilada	Fotocatálise heterogénea	Lâmpada de Xe (300-800 nm) Catalisador: TiO ₂ e ZnO 0,5-1,5 g.L ⁻¹ TiO ₂ 0,2-1,5 g.L ⁻¹ ZnO pH = 3-10 (TiO ₂) pH = 6-11 (ZnO)	Absorvância a 360 nm e 380 nm, COT, teste microbiológicos com <i>S. aureus</i>	- Condições óptimas: 1,5 g.L ⁻¹ e pH = 8,7 para TiO ₂ e 1,0 g.L ⁻¹ e pH = 11 para ZnO. - Após 15 min de irradiação (na ausência de catalisador), 80% do antibiótico foi degradado. - Após 15 min de irradiação, o antibiótico foi 100% degradado com TiO ₂ (50% mineralização). Na presença de ZnO, o antibiótico foi 100% degradado ao fim de 10 min e mineralizado ao fim de 60 min.	Palominos <i>et al.</i> (2009)
12. <i>Outros antibióticos</i>							
Cloranfenicol	10-80 mg.L ⁻¹	Água desionizada	Fotocatálise heterogénea	UV a 320-400 nm pH = 5 0-600 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ Catalisador: TiO ₂ (anatase/rutilo = 3,6/1 ou 100% anatase), TiO ₂ Na (100% anatase) or ZnO 0-4 g.L ⁻¹ catalisador T = 3-57 °C	Absorvância a 276,5 nm, COT, ensaios microbiológicos com <i>E.coli</i>	- Cinética de pseudo-1ª ordem - A degradação é favorecida pelo aumento da concentração inicial do antibiótico, catalisador e H ₂ O ₂ . - Os catalisadores de TiO ₂ (anatase/rutilo = 3,6/1) e ZnO parecem ser os mais eficientes. - Completa degradação e 705 de mineralização após 90 min de tratamento.	Chatzitakis (2008)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
12. <i>Outros antibióticos</i>							
Mitomicina C	17,9 mg.L ⁻¹	Água destilada	Oxidação electroquímica	Dois eléctrodos de Pt/Ir Electrólito: NaCl Corrente: 100 mA	HPLC-UV, ensaios microbiológicos com <i>S.aureus</i> , ensaios de citotoxicidade e mutagenicidade	- A electrólise degrada ligeiramente o antibiótico, eliminando a sua citotoxicidade, mutagenicidade e actividade microbiológica.	Hirose <i>et al.</i> (2005)
Trimetoprim	50 µg.L ⁻¹	Água desionizada, destilada e água de rio	Coagulação/ Floculação/ Sedimentação Redução da dureza da água Adsorção em carvão activado Cloração Ozonólise Fotólise directa Permuta iónica Osmose inversa	<i>Coagulação:</i> Al ₂ (SO ₄) ₃ , Fe ₂ (SO ₄) ₃ Coagulante: 0-170 mg.L ⁻¹ <i>Redução da dureza da água:</i> 191-232 mg.L ⁻¹ CaCO ₃ <i>Adsorção:</i> Calgon WPH Pulv PAC 0-50 mg.L ⁻¹ PAC <i>Cloração:</i> 1,0 mg.L ⁻¹ Cl ₂ <i>Ozonólise:</i> 7,1 mg.L ⁻¹ O ₃ <i>Fotólise directa:</i> LP UV a 254 nm <i>Permuta iónica:</i> 0,66 g resina <i>Osmose inversa:</i> Membrana de acetato de celulose	HPLC-UV	- A coagulação/floculação/sedimentação, redução da dureza da água, fotólise directa e permuta iónica foram relativamente ineficazes na remoção do antibiótico. - Remoção através da adsorção com carvão activado > 90% (50 mg.L ⁻¹ de PAC). - A oxidação com ozono e cloro foi eficaz na remoção do antibiótico (> 90%). - A osmose inversa foi eficaz na remoção do composto em estudo (coeficiente de rejeição > 0,90). No entanto, este é um processo dispendioso.	Adams <i>et al.</i> (2002)
Trimetoprim	0,2-0,6 µg.L ⁻¹	Efluente ETAR (adição de padrão)	Ozonólise	5-15 mg.L ⁻¹ O ₃	LC-MS	- Ozonólise capaz de oxidar este composto e inactivar microrganismos (degradação 85%).	Ternes <i>et al.</i> (2003)
Trimetoprim	10 mg.L ⁻¹	Água residual de uma empresa farmacêutica	Osmose inversa Nanofiltração	<i>Osmose inversa:</i> Membranas XLE e HR95PP <i>Nanofiltração:</i> Membranas NF90 e HL Desal	HPLC-DAD	- Elevadas taxas de remoção utilizando osmose inversa e nanofiltração (coeficientes de rejeição > 0,888).	Košutić <i>et al.</i> (2007)

Tabela 4. Resumo dos processos de remoção/degradação aplicados no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos (*continuação*).

Antibiótico	Concentração	Matriz	Tratamento	Condições de operação	Métodos Analíticos	Resultados e Comentários	Referência
12. <i>Outros antibióticos</i>							
Trimetoprim	CQO = 360 ou 590 mg.L ⁻¹	Dois efluentes de ETARs	Tratamento primário: Gradação Clarificação Tratamento secundário: Lamas activadas Reactor membranar (1) ou reactor de leito fixo (2) Clarificação Filtração em leito de areia	<i>Lamas activadas:</i> V = 5600 m ³ , t = 15 h <i>Reactor membranar:</i> V = 16 m ³ , t = 13h <i>Filtração:</i> V = 288 m ³ , t = 25 min <i>Lamas activadas:</i> V = 9100 m ³ , t = 31 h <i>Reactor de leito fixo:</i> V = 1500 m ³ , t = 1h <i>Filtração:</i> V = 360 m ³ , t = 6-8 h	LC-MS	- Estação de tratamento 1: pré-tratamento com lamas activadas. - Bioreactor anaeróbio agitado com compartimentos em cascata de desnitrificação/nitrificação. - Eliminações similares foram observadas no tratamento secundário de dois sistemas convencionais de lamas activadas e no reactor de leito fixo. - Eliminações de cerca de 20% no reactor convencional de lamas activadas e de leito fixo.	Göbel <i>et al.</i> (2007)
Trimetoprim	50 mg.L ⁻¹	Água destilada	Adsorção em carvão activado	pH = 4-10 T = 25 °C 0-3 g.L ⁻¹ adsorvente	UV a 278 nm	- Isotérmicas de adsorção ajustadas pelo modelo de Toth. - O carvão activado em pó foi mais eficiente do que o granular. No entanto, a sua separação do efluente tratado é dificultada pelo tamanho das partículas. - O carvão activado granular foi utilizado na remoção de trimetoprim (remoção > 90%, 30 min, pH = 4 e 2,0 g.L ⁻¹ de adsorvente).	Kim <i>et al.</i> (2010)

1.2.7.1. *Tratamentos convencionais*

Os processos biológicos, filtração, coagulação, floculação e sedimentação são dos tratamentos mais aplicados nas ETAR's convencionais (Adams *et al.*, 2002; Göbel *et al.*, 2007; Stackelberg *et al.*, 2007; Vieno *et al.*, 2007; Arikan, 2008).

Nos sistemas biológicos, a tecnologia mais aplicada é a de lamas activadas, nomeadamente no tratamento de efluentes industriais. Este método consiste na degradação de compostos orgânicos (utilização dos compostos indesejáveis como substrato para o crescimento e manutenção dos microrganismos) em tanques de lamas activadas que podem funcionar aeróbia ou anaerobiamente. Embora esta metodologia possa ser aplicada no tratamento de efluentes com elevados caudais a um custo relativamente baixo (Eckenfelder, 2000), a elevada toxicidade de muitos dos contaminantes impede a sua aplicação a efluentes com elevadas concentrações de poluentes (Britto e Rangel, 2008). O acondicionamento destas lamas (aterro ou utilização como fertilizantes agrícolas) pode provocar a propagação da contaminação.

A filtração é um processo que permite eliminar matéria suspensa dos efluentes, através da sua passagem através de um meio granular (areia, terra de diatomáceas, antracite). As partículas podem ser removidas através da tensão intersticial, mas as partículas de menor diâmetro podem ser transportadas até à superfície do meio filtrante. Aí poderão ser removidas através de atracções electrostáticas, ligações químicas ou adsorção (Eckenfelder, 2000). Este processo tem a desvantagem de não remover efectivamente o contaminante, mas concentrá-lo numa fase sólida (novo resíduo).

No tratamento dos efluentes através de coagulação/floculação são utilizados reagentes químicos de modo a aumentar a capacidade de sedimentação dos sólidos suspensos, a precipitação dos contaminantes e promover a formação de colóides que subsequentemente irão sedimentar. Os reagentes mais utilizados para este tipo de tratamento são sulfato de potássio e alumínio, óxido de cálcio, sais de ferro e alguns compostos poliméricos (Eckenfelder, 2000). A aplicação destas técnicas pressupõe um tratamento posterior para remover os poluentes sob a forma coagulada dos efluentes tratados.

Nos últimos dez anos, foram testadas várias técnicas convencionais para o tratamento de águas contaminadas com antibióticos. Nos casos em que a toxicidade para com os microrganismos utilizados nos sistemas de tratamento biológicos é muito baixa, a aplicação deste método continua a ser a melhor opção. Chelliapan *et al.* (2006) e Arikan (2008) estudaram a aplicabilidade de processos anaeróbios para o tratamento de matrizes contendo macrólidos e tetraciclina, respectivamente. Neste caso, foi conseguida uma redução de cerca de 90% para os macrólidos e de 75% para as tetraciclina. Göbel *et al.* (2007) testaram a aplicação dos tratamentos primários e secundários utilizados nas ETAR's convencionais em matrizes contendo macrólidos, sulfonamidas e trimetoprim. Ao contrário do que concluíram os outros dois autores, Göbel *et al.* verificaram que apenas cerca de

20% destes antibióticos foram removidos. Adams *et al.* (2002), Stackelberg *et al.* (2007) e Vieno *et al.* (2007) investigaram a eficiência de alguns métodos físico-químicos (clarificação, coagulação/floculação/sedimentação e filtração) na remoção de macrólidos, sulfonamidas, quinolonas, derivados de quinoxalina e trimetoprim. Estes autores obtiveram baixas remoções (<30%) para todos os casos. Não foram encontrados trabalhos na literatura que estudassem a remoção/degradação da amoxicilina através dos tratamentos convencionais.

Devido às baixas eficiências de remoção obtidas por estas metodologias tradicionais e em alguns casos, à impossibilidade de poderem ser utilizadas, novas alternativas tiveram de ser analisadas.

1.2.7.2. Processos de Oxidação

1.2.7.2.1. Cloração

Devido ao seu baixo custo, o cloro gasoso e o hipoclorito têm sido frequentemente utilizados nos processos de desinfecção das ETA's. São usados como pós-tratamentos, de modo a que seja mantido um nível residual destes compostos no sistema de distribuição de água (Acero *et al.*, 2010). Existem também alguns estudos que referem a aplicação de processos de oxidação química utilizando espécies cloradas no tratamento de águas residuais. Esta técnica foi testada como pré-tratamento de águas contaminadas com fármacos, de modo a oxidar os contaminantes a compostos mais biodegradáveis e menos tóxicos para que possam ser tratados posteriormente por processos biológicos.

Das espécies cloradas, o hipoclorito é a espécie que apresenta um maior potencial padrão de oxidação ($E^0 = 1,48$ V), seguido do cloro gasoso ($E^0 = 1,36$ V) e dióxido de cloro ($E^0 = 0,95$ V) (Sharma *et al.*, 2008). O cloro gasoso hidrolisa de acordo com a reacção (1):



O ácido hipocloroso (HOCl) é um ácido fraco que se dissocia em hipoclorito (ClO^-) e H^+ em solução aquosa. Para valores de pH superiores a 4, a hidrólise de Cl_2 é quase completa e, desse modo, o ácido hipocloroso e o hipoclorito são as principais espécies em solução (Acero *et al.*, 2010). Porém, destas duas espécies, o ácido hipocloroso é o mais reactivo. Devido ao seu potencial de oxidação e à sua estrutura química, este composto pode reagir com compostos orgânicos através de reacções de oxidação, adição a ligações insaturadas ou reacções de substituição electrofílica (Debore e Gunten, 2008). Na verdade, esta espécie reage com anéis aromáticos, aminas neutras e ligações duplas, produzindo compostos orgânicos halogenados, alguns deles potencialmente perigosos devido à sua actividade carcinogénica (trihalometanos e ácidos haloacéticos) (Acero *et al.*, 2010; Navalon *et al.*, 2008).

O dióxido de cloro tem sido utilizado em alternativa às outras espécies cloradas devido à sua reacção com compostos orgânicos não produzir trihalometanos. Para além disso, esta espécie é mais reactiva do que os outros oxidantes e reage com os micropoluentes através de reacções radicalares (Navalon *et al.*, 2008). É um radical estável e bastante selectivo, uma vez que não reage com grupos aromáticos, hidrocarbonetos, carbohidratos e moléculas contendo aminas primárias ou secundárias, bem como grupos aldeído e cetona. Contudo, reage com moléculas contendo grupos fenólicos ou aminas terciárias (Huber *et al.*, 2005a; Sharma *et al.*, 2008).

Existem poucos artigos sobre a utilização desta técnica para degradação de antibióticos. Navalon *et al.* (2008) estudaram a oxidação de três beta-lactamas (1,6 mg.L⁻¹ de amoxicilina, 1,9 mg.L⁻¹ de cefadroxil e 25 mg.L⁻¹ de penicilina G) com dióxido de cloro, utilizando razões molares iniciais de ClO₂/substrato = 0,25-2,00. A eficiência de degradação foi avaliada a valores de pH entre 3,5 e 8,0. Os autores concluíram que o dióxido de cloro reage estequiometricamente com os antibióticos e que a influência do pH estava directamente relacionada com a estrutura do composto em causa (a reactividade do ClO₂ face à penicilina foi melhorada com a diminuição do pH, enquanto uma situação oposta ocorreu para a amoxicilina e cefadroxil). A penicilina reagiu ligeiramente com ClO₂, enquanto a amoxicilina e o cefadroxil demonstraram ser bastante reactivas (ambas as moléculas possuem um grupo fenólico). Ao fim de duas horas foi atingida a degradação total da penicilina e ao fim de quatro minutos para os outros dois compostos. Embora os autores tenham detectado a presença de produtos intermediários (ácido penílico e N-(2-fenilacetil)glicina no caso da penicilina e derivados de hidroquinona no caso da amoxicilina e do cefadroxil), a sua toxicidade não foi discutida no artigo.

Adams *et al.* (2002) também estudaram a degradação de 50 µg.L⁻¹ de sulfonamidas, trimetoprim e carbadox com 1,0 mg.L⁻¹ de Cl₂. Estes verificaram que a oxidação com cloro era eficaz no tratamento de efluentes contendo antibióticos (degradações superiores a 90%). Contudo, os autores verificaram que matéria orgânica presente nos efluentes influenciava o processo de oxidação. As baixas velocidades de reacção determinadas em amostras de água de rio sugerem que a matéria orgânica possa complexar ou interagir com os compostos estudados, reduzindo a sua reactividade. Neste artigo, foram também detectados sub-produtos da reacção halogenados, que deverão possuir uma toxicidade superior à dos compostos originais. Stackelberg *et al.* (2007) obtiveram uma conclusão semelhante quando estudaram a degradação de macrólidos e sulfonamidas utilizando NaClO.

A partir da pesquisa bibliográfica efectuada, verificou-se que a cloração é uma técnica que, embora eficiente na degradação de antibióticos presentes em matrizes aquosas com baixas cargas de matéria orgânica, conduz à formação de espécies halogenadas. De modo a evitar esta situação, esta técnica tem vindo a ser substituída pelos processos que utilizem ClO₂ e por processos de oxidação avançados nos tratamentos de águas residuais, embora continuem a ser utilizadas como desinfectantes, nomeadamente nas condutas de abastecimento de água.

1.2.7.2.2. Processos Avançados de Oxidação

A natureza recalcitrante dos efluentes contaminados com resíduos de antibióticos interfere na eliminação destes compostos através dos tratamentos biológicos tradicionais. Nestes casos, os métodos avançados de oxidação (AOPs) surgem como uma alternativa.

AOPs são métodos oxidativos baseados na formação de radicais, os radicais hidroxilo ($\text{OH}^\bullet$), que possuem uma elevada reactividade e uma menor selectividade do que outros oxidantes (cloro, ozono molecular, etc). O seu potencial padrão de oxidação é superior ao dos oxidantes convencionais, o que o torna extremamente efectivo na oxidação de uma grande variedade de compostos orgânicos (Hernandez *et al.*, 2002; Bautitz and Nogueira, 2007). Estes radicais são produzidos a partir de agentes oxidantes como o ozono (O_3) ou o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), muitas vezes combinados com catalisadores metálicos ou semicondutores e/ou com radiação UV. Com a aplicação destes processos espera-se que os compostos orgânicos sejam oxidados a espécies intermediárias menos recalcitrantes (menos tóxicas e mais biodegradáveis) ou até mineralizados a CO_2 e H_2O . Contudo, em alguns casos, os produtos intermediários produzidos são potencialmente mais perigosos do que o composto original (Dantas *et al.*, 2008). A ozonólise, oxidação com reagente de Fenton e foto-Fenton, fotólise, fotocatalise heterogénea e processos electroquímicos são exemplos de processos avançados de oxidação.

1.2.7.2.2.1. Ozonólise

O ozono é um oxidante forte ($E^0 = 2,07 \text{ V}$) capaz de reagir directa ou indirectamente com os contaminantes. Para que o ozono molecular possa oxidar directamente os poluentes é necessário que estes possuam ligações duplas C-C ou aromáticas ou então átomos de azoto, fósforo, oxigénio ou enxofre (Ikehata *et al.*, 2006), uma vez que este oxidante reage selectivamente com moléculas nucleofílicas (Stockinger *et al.*, 1995). No caso da reacção indirecta, o ozono decompõe-se em água, formando radicais hidroxilo de acordo com o seguinte mecanismo (Andreozzi *et al.*, 1999):



De acordo com a reacção (2) e (3) a decomposição do ozono pode ser artificialmente acelerada através do aumento do valor de pH.

A reacção secundária (8) é bastante rápida e desempenha um papel fundamental no tratamento de águas com baixo teor de carbono orgânico dissolvido e baixa alcalinidade (Gunten, 2003), reduzindo a eficiência do processo:



A oxidação com ozono é uma técnica que pode ser aplicada no tratamento de efluentes com caudais e/ou composições variáveis. Porém, o elevado custo do equipamento e da sua manutenção, bem como a energia necessária para o processo tornam esta técnica pouco utilizada. Para além disso, as limitações ao nível da transferência de massa constituem também um factor relevante no processo de oxidação. Neste sistema é necessário que as moléculas de ozono sejam transportadas da fase gasosa para a líquida, aonde ocorrerá o ataque às moléculas orgânicas. Na maioria dos casos, o consumo de ozono por unidade de volume é tão elevado que a transferência de massa se torna o passo limitante, reduzindo a eficiência do processo e aumentando os custos de operação (Britto e Rangel, 2008). A eficiência deste processo de oxidação é afectada pela presença de matéria orgânica, sólidos suspensos, iões carbonato, bicarbonato e cloreto e também pelo pH e temperatura (Andreozzi *et al.*, 1999; Gunten, 2003).

Vários estudos foram efectuados sobre a aplicação da ozonólise a águas contaminadas com antibióticos. Contudo, na literatura apenas foram encontrados dois estudos que relatavam a aplicação da ozonólise ao caso particular da amoxicilina. Arslan-Alaton e Dogruel (2004) avaliaram a eficiência deste tipo de processo na degradação da amoxicilina presente num efluente residual de uma empresa farmacêutica (CQO = 1,6 g.L⁻¹). O estudo foi efectuado a pH = 11 durante uma hora, aplicando cerca de 2750 mg.L⁻¹ de O₃. Obteve-se uma remoção de 49% CQO e uma mineralização de 52%. Os autores efectuaram também um estudo de biodegradabilidade, tendo concluído que este não foi significativamente alterado. Andreozzi *et al.* (2005) também estudaram a degradação de 183 mg.L⁻¹ de composto a pH = 5,5, utilizando 7,68 mg.L⁻¹ de O₃. Os autores verificaram que ao fim de 4 min cerca de 90% da amoxicilina já tinha sido degradada. Porém, tal como para outras beta-lactamas, apenas 18% tinha sofrido mineralização após 20 min de tratamento. Dada esta taxa de mineralização ser baixa, os autores efectuaram um estudo preliminar sobre os produtos intermediários formados ao longo da reacção. Contudo, apenas conseguiram identificar um produto de degradação formado a partir da adição de um grupo hidroxilo ao anel benzóico. Os autores não efectuaram estudos de ecotoxicidade.

Balcioğlu *et al.* (2003), Cokgor *et al.* (2004) e Arslan-Alaton and Coglayan (2005 e 2006) estudaram a degradação de outros antibióticos beta-lactâmicos. Estes autores concluíram, tal como os que estudaram a degradação da amoxicilina, que a ozonólise conduziu a elevadas eficiências de remoção (remoções de CQO > 50%), mas a baixas taxas de mineralização (~20%), mesmo para tempos de tratamento longos. Todos estes autores estudaram a influência do pH no processo, tendo concluído

que um aumento no valor de pH conduziria a um aumento na taxa de degradação. Tal facto estará relacionado com o aumento na taxa de decomposição do ozono a radicais livres, melhorando as taxas de transferência de massa. Na verdade, este é um ponto crítico no processo de ozonólise. Se o valor de pH não for bem controlado, durante o processo de oxidação ocorrerá uma diminuição deste valor devido à acumulação de ácidos carboxílicos que se irão formar, o que irá afectar a velocidade da reacção, bem como as taxas de absorção do ozono.

Tal como se pode verificar pela Tabela 4, estudos semelhantes foram efectuados para outras classes de antibióticos: lincosamidas (Qiang *et al.*, 2004), macrólidos (Ternes *et al.*, 2003; Huber *et al.*, 2003 e 2005b; Lange *et al.*, 2006; Lin *et al.*, 2009), quinolonas (Balioglu *et al.*, 2003; De Witte *et al.*, 2008), sulfonamidas (Huber *et al.*, 2003 e 2005b; Ternes *et al.*, 2003; Dantas *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2009b) e tetraciclina (Li *et al.*, 2008). De uma forma geral verificou-se que, para todas as classes estudadas, se obtiveram degradações superiores a 76% acompanhadas por baixas remoções de carbono orgânico total e um ligeiro aumento na biodegradabilidade dos efluentes. Para o caso dos antibióticos beta-lactâmicos verificaram-se taxas de remoção mais baixas. Os resultados de ecotoxicidade efectuados aos efluentes tratados não são consensuais. Alguns autores sugerem que os produtos intermediários produzidos são menos inibitórios do que os compostos originais (Lange *et al.*, 2006) enquanto outros verificaram que a ecotoxicidade se manteve praticamente inalterada (Dantas *et al.*, 2008) ou até aumentou (Li *et al.*, 2008). Portanto, esta é uma questão que não pode ser generalizada e que irá depender do composto em estudo.

De modo a aumentar a eficiência deste tipo de tratamento, é possível combinar-se o ozono com radiação UV, peróxido de hidrogénio ou com um catalisador. No primeiro caso ocorre a fotólise do ozono em solução aquosa, produzindo-se peróxido de hidrogénio. Este irá iniciar a decomposição do ozono residual a radicais hidroxilo através do seguinte mecanismo (Hernandez *et al.*, 2002):



A clivagem homolítica do peróxido de hidrogénio através da radiação ultravioleta também conduz à produção de radicais hidroxilo.



A radiação ultravioleta utilizada neste processo pode degradar directamente alguns compostos (fotólise) ou excitar as moléculas de micropoluentes, tornando-os mais susceptíveis ao ataque dos radicais hidroxilo.

Outra possibilidade para aumentar a eficiência do processo é combinar o ozono com peróxido de hidrogénio. O mecanismo que conduz à formação de radicais hidroxilo é bastante similar ao apresentado para UV/O₃, mas neste caso o peróxido de hidrogénio é adicionado a partir de uma fonte externa. Este mecanismo é descrito através de (Hernandez *et al.*, 2002):



A produção de radicais hidroxilo também pode ocorrer através das reacções (17) e (18):



Este processo, ao contrário do sistema que utiliza UV/O₃, pode ser aplicado a efluentes turvos. A combinação de radiação ultravioleta com ozono tem sido investigada nos últimos dez anos. Balcioğlu *et al.* (2003) estudaram a aplicabilidade deste método a águas contaminadas com beta-lactamas e quinolonas, tendo concluído que esta técnica não apresentava quaisquer vantagens sobre o processo de ozonólise convencional. No entanto, outros autores concluíram que a adição de pequenas quantidades de peróxido de hidrogénio aumentava a eficiência de remoção (até 15%) e a biodegradabilidade dos efluentes (Arslan-Alaton e Caglayan, 2006; De Witte *et al.*, 2008). Quanto à ecotoxicidade dos efluentes, os autores verificaram que não foi totalmente removida. Estes também verificaram que uma adição elevada de peróxido de hidrogénio não melhorava a eficiência do processo, uma vez que o H₂O₂ passa a actuar como *scavenger* de radicais. Não foram encontrados estudos na literatura que referissem a utilização de UV/O₃ para o tratamento de efluentes contendo amoxicilina.

A ozonólise é um processo que pode ser aplicado a caudais e composições variáveis. No entanto, este processo é limitado por questões de transferência de massa. Por esta razão, este método, quando comparado com outros métodos oxidativos, necessita de maiores quantidades de oxidante para tratar a mesma carga de poluente. Os resultados obtidos por diferentes estudos mostram que, embora se consiga atingir elevadas eficiências de remoção, o nível de mineralização é bastante baixo e a ecotoxicidade dos efluentes não é alterada. Para além disso, esta metodologia é extremamente dependente do pH, necessitando de um controlo apertado sobre a gama de trabalho. Por estas razões e devido ao elevado custo do equipamento, esta metodologia não parece ser a mais adequada para o tratamento de águas contaminadas.

1.2.7.2.2.2. Fenton e Foto-Fenton

O processo de tratamento com reagente de Fenton será abordado neste trabalho com maior detalhe, uma vez que esta será uma das metodologias em estudo para a degradação da amoxicilina de matrizes aquosas

1.2.7.2.2.2.1. Princípios teóricos

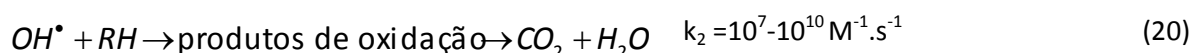
Há cerca de 120 anos, Henry John Horstman Fenton verificou que iões de Fe^{2+} promoviam a oxidação do ácido málico através da utilização de peróxido de hidrogénio. Trabalhos subsequentes demonstraram que a combinação de peróxido de hidrogénio com sais de ferro (o reagente de Fenton) permitia a oxidação efectiva de uma ampla variedade de compostos orgânicos. Quarenta anos depois, Haber e Weiss descobriram que os radicais hidroxilo eram as espécies oxidantes existentes nesse sistema.

As oxidações com reagente de Fenton podem ocorrer quer em sistema homogéneo, quer em heterogéneo, embora a primeira tenha sido a mais utilizada até ao momento. Nas oxidações em sistema homogéneo, o reagente de Fenton consiste numa solução de peróxido de hidrogénio e um catalisador de sal de ferro (Fe^{2+} ou Fe^{3+}) em meio ácido. Este promove a dissociação do H_2O_2 e a formação de espécies bastante reactivas (os radicais hidroxilo, $OH^\bullet$) que são capazes de destruir a maior parte dos compostos orgânicos (RH). Para além do $OH^\bullet$, outros radicais podem estar envolvidos na oxidação dos contaminantes, nomeadamente radicais perhidroxilo ($HO_2^\bullet$), superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e aniões hidroperóxido (HO_2^-) (Yap *et al.*, 2011). O mecanismo de oxidação com reagente de Fenton é bastante complexo, envolvendo diversas etapas (Reacções 19-34) (Walling, 1975; Lin e Lo, 1997; Andreozzi *et al.*, 1999; Kremer, 1999; Chamarro *et al.*, 2001; Rivas *et al.*, 2001; Kang *et al.*, 2002; Guedes *et al.*, 2003; Arslan-Alaton e Gurses, 2004; Gulkaya *et al.*, 2006; Brito e Rangel, 2008; Wang, 2008; Gan *et al.*, 2009; Yap *et al.*, 2011):

Iniciação radicalar

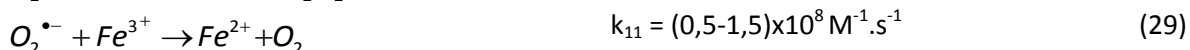
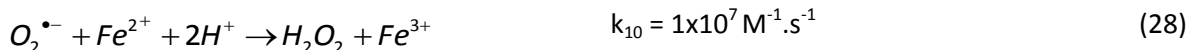


Propagação



Terminação



Reacções secundárias

Os radicais hidroxilo produzidos (Reacção 19) são espécies com elevado potencial de oxidação ($E^0 = 2,80$ V) que reagem não selectivamente com diversos compostos (velocidade de reacção pode variar entre 10^7 - $10^{10} M^{-1}.s^{-1}$) (Walling, 1975) através da remoção de um átomo de hidrogénio, adição electrofílica e/ou transferência electrónica (Sun *et al.*, 2009).

O processo de oxidação com reagente de Fenton ocorre em duas etapas. Na primeira etapa, os iões Fe^{2+} reagem rapidamente com o H_2O_2 , produzindo os radicais $HO^{\bullet}$. Estes por sua vez reagem rapidamente com o composto orgânico, oxidando-o (etapa Fe^{2+}/H_2O_2). Os iões Fe^{3+} produzidos na primeira etapa podem reagir com o H_2O_2 ainda existente em solução, produzindo radicais perhidroxilo ($HO_2^{\bullet}$) e regenerando os iões Fe^{2+} (Reacção 24) (Malik e Saha, 2003; Ramirez *et al.*, 2005). Embora o ião Fe^{2+} actue como catalisador no processo, a reacção de regeneração é bastante lenta ($k_6 = (1-2) \times 10^{-2} M^{-1}.s^{-1}$) quando comparada com a velocidade de consumo deste ião ($k_1 = 63-76 M^{-1}.s^{-1}$) (Anotai *et al.*, 2006). Logo, a velocidade de oxidação dos compostos orgânicos na segunda etapa do processo (etapa Fe^{3+}/H_2O_2) é mais lenta do que a primeira devido à baixa velocidade de produção de iões Fe^{2+} , estando disponível uma menor quantidade de radicais hidroxilo. No entanto, os radicais $HO_2^{\bullet}$ formados na segunda etapa são também capazes de oxidar os contaminantes, mas possuem um potencial de oxidação bastante inferior aos $OH^{\bullet}$, o que também explica a diminuição da velocidade de oxidação nesta etapa (Malik e Saha, 2003). Para além das reacções mencionadas anteriormente, existem diversas reacções secundárias, alguma delas que prejudicam a degradação do composto em estudo, que também podem ocorrer (Reacção 19-23 e 25-34) (Guedes *et al.*, 2003).

A oxidação partindo de iões no estado férrico (Fe^{3+}) também tem sido mencionada na literatura como uma das metodologias passível de ser utilizada na degradação de compostos orgânicos – Fenton-like (Hsueh *et al.*, 2005; Ntampeglitis *et al.*, 2006; Fan *et al.*, 2011). No entanto, quer no caso do processo tradicional de oxidação com reagente de Fenton ou Fenton-like é usual apenas se

atingirem mineralizações entre os 40 e 60%, dependendo das concentrações de ferro e peróxido utilizadas, bem como da temperatura (Lunar *et al.*, 2000).

A descrição efectuada até ao momento sobre a reacção de oxidação com reagente de Fenton corresponde ao sistema homogéneo, em que o ferro se encontra dissolvido na solução reaccional. Porém, este sistema possui algumas desvantagens. As concentrações de ferro em solução são muitas vezes elevadas, o que impede que estas águas residuais sejam descarregadas para o meio ambiente sem antes sofrerem um pré-tratamento (Decreto-lei n.º 236/98: os níveis de ferro nas águas residuais não podem exceder os 2 mg.L⁻¹). Porém, estes pré-tratamentos são na sua grande maioria dispendiosos. Outro factor limitativo neste processo é a gama de trabalho apertada para o pH. De modo a ultrapassar estas limitações surgiram os processos de oxidação de Fenton heterogéneos. Estes processos utilizam catalisadores heterogéneos, ou seja, iões de ferro, óxidos de ferro ou outros óxidos metálicos que são imobilizados num suporte inerte e poroso. Deste modo, estes catalisadores são capazes de manter a sua capacidade de formar radicais hidroxilo a partir de peróxido de hidrogénio, mas a formação de lamas de ferro (hidróxidos de ferro) é evitada. Por outro lado, estes catalisadores podem ser facilmente recuperados no final da reacção e mantêm-se activos durante várias utilizações (Hassan e Hameed, 2011). O estudo pormenorizado deste processo está fora do âmbito deste trabalho.

De modo a aumentar a eficiência do processo de oxidação é possível conjugar-se o reagente de Fenton com radiação UV – foto-Fenton (González *et al.*, 2007; Trovó *et al.*, 2008 and 2009; Elmolla e Chaudhuri, 2009a,b; Bautitz e Nogueira, 2010). A utilização de radiação pode aumentar a eficiência do processo devido à regeneração dos iões Fe²⁺ e à produção adicional de radicais hidroxilo através da fotólise de complexos férricos (Reacção 35):



A produção de radicais hidroxilo através da fotólise directa do peróxido de hidrogénio também é possível, mas a velocidade de reacção é bastante baixa. A utilização de radiação solar constitui uma vantagem, uma vez que diminui significativamente os custos totais do tratamento.

1.2.7.2.2.2. Factores que influenciam o processo

No processo de oxidação com reagente de Fenton homogéneo, a produção de radicais hidroxilo depende de diversos factores tais como concentração inicial de peróxido de hidrogénio, de iões Fe²⁺ e de analito, pH e temperatura.

Na maioria dos estudos, os resultados indicam que a quantidade de peróxido de hidrogénio utilizado é sempre superior à quantidade estequiométrica (Ramirez *et al.*, 2008). Tal facto acontece devido à taxa de consumo de H₂O₂ não ser igual à taxa de formação de radicais hidroxilo, uma vez

que parte do peróxido de hidrogénio se pode decompor por via não radicalar (Reacção 31). De acordo com os estudos mencionados na literatura, um aumento na concentração inicial de peróxido de hidrogénio resulta num aumento da eficiência de degradação. Contudo, existe uma concentração máxima a partir da qual o desempenho do processo não é alterado (Gulkaya *et al.*, 2006; Wang, 2008; Elmolla e Chaudhuri, 2009). Na verdade, um aumento excessivo na concentração do reagente oxidante pode promover um efeito inibitório, uma vez que o H_2O_2 pode funcionar como *scavenger* de radicais (Reacção 21) (Arslan-Alaton *et al.*, 2009; Elmolla e Chaudhuri, 2009). Outra hipótese é a recombinação entre radicais hidroxilo (Reacção 23) ou a sua reacção com os radicais perhidroxilo ($\text{HO}_2^\bullet$) formados (Reacção 22) (Tamini *et al.*, 2008). É também possível que o excesso de peróxido de hidrogénio possa reagir com os iões Fe^{3+} presentes em solução (Reacção 24) (Elmolla e Chaudhuri, 2009). De salientar que os radicais perhidroxilo possuem um potencial de oxidação bastante inferior aos radicais $\text{HO}^\bullet$.

Outro factor bastante importante no processo de oxidação com reagente de Fenton é a concentração inicial de iões Fe^{2+} . O comportamento do sistema à alteração deste parâmetro é similar ao que acontece com a variação da concentração de peróxido de hidrogénio. Ou seja, um aumento na concentração inicial de Fe^{2+} resulta num aumento da eficiência de degradação até uma determinada concentração deste ião, a partir da qual o desempenho do processo se mantém inalterado. Isto deverá ocorrer devido à reacção entre o Fe^{2+} e os radicais hidroxilo (Reacção 22) (Elmolla e Chaudhuri, 2009). Por outro lado, a utilização de elevadas concentrações de Fe^{2+} resultará na produção de grandes quantidades de Fe^{3+} (Reacção 19 e 22) e consequentemente, em grandes quantidades de lamas de ferro (Yoon *et al.*, 2001). A concentração de Fe^{2+} pode também influenciar o grau de mineralização do poluente. A utilização de elevadas concentrações de Fe^{2+} conduz à produção num curto período de tempo de radicais orgânicos que podem causar a depleção do O_2 dissolvido e assim afectar o grau de mineralização (Franco, 2008).

A concentração inicial de analito constitui outro factor com grande influência no processo de oxidação com reagente de Fenton. A eficiência do processo depende da formação dos radicais hidroxilo e, portanto, a quantidade de peróxido de hidrogénio e de iões Fe^{2+} irá também depender da concentração inicial do analito. Porém, é esperado que para concentrações superiores de analito a reacção (30) seja predominante face às reacções competitivas (21) e (22), aumentando assim a eficiência do processo (Tekin *et al.*, 2006; Elmolla e Chaudhuri, 2009).

Os valores de pH afectam a formação dos radicais hidroxilo e consequentemente, a eficiência da oxidação. Para valores de pH inferiores a 3, a reacção de oxidação de Fenton é severamente afectada, ocorrendo uma diminuição na concentração de radicais hidroxilo em solução. O peróxido de hidrogénio é estável a baixos valores de pH porque sofre solvatação formando o ião oxónio (H_3O_2^+). A formação desta espécie aumenta a estabilidade e diminui a reactividade do H_2O_2 face ao

ião Fe^{2+} (Gulkaya *et al.*, 2006; Elmolla e Chaudhuri, 2009 a,b). Por outro lado, a $\text{pH} = 1-2$ os iões H^+ podem actuar como *scavenger* de radicais, ocorrendo uma diminuição na quantidade de $\text{HO}^\bullet$ em solução (Reacção 34) (Lucas e Peres, 2006). Para valores de pH acima de 4 ocorre a precipitação de hidróxidos de ferro, impedindo quer a regeneração das espécies Fe^{2+} , quer a formação de radicais hidroxilo (El-Desoky *et al.*, 2010) e o peróxido de hidrogénio sofre decomposição. Para além disso, um aumento excessivo do pH promove a formação dos iões HO_2^- e os iões carbonato e bicarbonato podem actuar como *scavengers* de radicais. Por estas razões a gama óptima de trabalho, tal como descrito na literatura, encontra-se entre valores de pH de 3 e 4. A estreita gama de trabalho para o pH e a necessidade de recuperar o catalisador dissolvido constituem as principais desvantagens deste processo. A utilização de sistemas heterogéneos permite ultrapassar estas lacunas, uma vez que o catalisador se encontra imobilizado numa matriz heterogénea, permitindo trabalhar em toda a gama de pH e recolher o catalisador do efluente tratado (Bobu *et al.*, 2008).

Normalmente o aumento da temperatura afecta positivamente o processo de oxidação de Fenton e foto-Fenton, uma vez que a energia cinética aumenta e consequentemente, a velocidade da reacção. Contudo, é possível que a elevadas temperaturas (acima dos $40-50^\circ\text{C}$) ocorra a decomposição do peróxido de hidrogénio, diminuindo assim a quantidade realmente disponível para a reacção de oxidação. Tal facto estará relacionado com a decomposição do peróxido de hidrogénio com a temperatura (Reacção 31).

A reacção de Fenton também é afectada pela presença de iões em solução. Vários autores determinaram que a presença dos iões HPO_4^{2-} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- e NO_3^- desfavorecia a decomposição dos poluentes (Lu *et al.*, 2005; Siedlecka *et al.*, 2007; Ratanatamskul *et al.*, 2010). Estes iões actuam como *scavenger* de radicais, para além de complexarem com os iões Fe^{2+} e Fe^{3+} presentes em solução, diminuindo a sua disponibilidade para catalisarem a reacção (19).

1.2.7.2.2.3. Cinética da reacção

Apesar da diversidade de estudos realizados nos últimos anos sobre a degradação de poluentes orgânicos utilizando a oxidação com reagente de Fenton, não existe um consenso sobre quais o modelos cinéticos que melhor descrevem este processo. Tal como verificado anteriormente, o mecanismo envolvido neste processo (série de reacções consecutivas e paralelas) é bastante complexo e um estudo completo implicaria a resolução de diversas equações diferenciais. Por esta razão, a maioria dos estudos existentes na literatura assume que os radicais hidroxilo são a principal espécie oxidante do processo e que a reacção (19) é a reacção principal do processo de oxidação. Tendo por base estes pressupostos a equação cinética de degradação pode então ser expressa por:

$$(-r) = -\frac{dC}{dt} = kC^n \quad (\text{Eq. 1})$$

em que $(-r)$ corresponde à velocidade de consumo de um reagente, C a concentração desse composto, k a constante cinética e n a ordem da reacção.

Até ao momento, a cinética de pseudo-primeira ordem ($n = 1$) tem sido das cinéticas mais aplicadas aos estudos de oxidação com reagente de Fenton e que tem revelado uma melhor adequação aos resultados experimentais (Elmolla e Chaudhuri, 2010; Achille e Yilian, 2010), embora a de pseudo-segunda ordem ($n = 2$) também tenha sido aplicada com sucesso a alguns casos (Guedes *et al.*, 2003; Bautista *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2009).

Assim, considerando que a cinética da reacção entre o poluente e os radicais hidroxilo é elementar, esta pode ser expressa por:

$$(-r_{poluente}) = -\frac{dC_{poluente}}{dt} = k_2 C_{OH^\bullet} C_{poluente} = k_{ap1} C_{poluente} \quad (\text{Eq. 2})$$

A constante cinética aparente (k_{ap1}) de pseudo-primeira ordem engloba a concentração de radicais hidroxilo em solução (que se assume constante ao longo de uma experiência, devido à hipótese de se atingir um estado pseudo-estacionário).

Integrando a Eq. 2 entre $t = 0$, $C_{poluente} = C_0$ e $t = t$, $C_{poluente} = C$, obtém-se a expressão:

$$\frac{C}{C_0} = \exp(-k_{ap1} t) \quad (\text{Eq. 3})$$

Uma situação análoga ocorre quando se considera que a cinética da reacção entre o poluente e os radicais hidroxilo é de segunda ordem:

$$(-r_{poluente}) = -\frac{dC_{poluente}}{dt} = k_2 C_{OH^\bullet} C_{poluente}^2 = k_{ap2} C_{poluente}^2 \quad (\text{Eq. 4})$$

Integrando a Eq. 4 entre $t = 0$, $C_{poluente} = C_0$ e $t = t$, $C_{poluente} = C$, obtém-se a expressão:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + k_{ap2} C_0 t} \quad (\text{Eq. 5})$$

Contudo, é usual nestes estudos os autores verificarem alguns desvios destes modelos aos pontos experimentais. Na verdade, o processo de oxidação com reagente de Fenton está dividido em duas etapas reaccionais, consequência da complexidade do seu mecanismo. Numa primeira etapa os compostos orgânicos são decompostos rapidamente, enquanto na segunda fase mais lentamente. A explicação para este comportamento reside no facto dos iões de Fe^{2+} reagirem muito rapidamente com o peróxido de hidrogénio, formando elevadas quantidades de radicais hidroxilo (Reacção 19, $k_1 = 63\text{-}76 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) que posteriormente podem reagir com o contaminante. Esta primeira etapa é designada por etapa $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$. Já os iões Fe^{3+} produzidos podem reagir com o peróxido de hidrogénio, originando os radicais perhidroxilo e repondo os iões Fe^{2+} (Reacção 24). Contudo, a velocidade da oxidação na segunda etapa (etapa $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2$) é mais lenta do que na primeira devido à

baixa taxa de produção de Fe^{2+} a partir de Fe^{3+} . Como a reacção (19) é bastante rápida, a primeira etapa é bastante curta, permanecendo o sistema posteriormente num estado pseudo-estacionário. Por esta razão, alguns autores utilizam apenas os pontos experimentais correspondentes à segunda etapa (estado pseudo-estacionário) para efectuarem o ajuste cinético (Ramirez *et al.*, 2009). Para determinar a partir de que instante o sistema entra neste estado pseudo-estacionário considera-se que tal acontece quando mais do que 95% dos iões Fe^{2+} foram convertidos em iões Fe^{3+} (assumindo que a concentração de peróxido de hidrogénio está em excesso em relação aos iões Fe^{2+}). Assim,

$$t > -\frac{\ln 0,05}{k_1 C_{\text{H}_2\text{O}_2}} \quad (\text{Eq. 6})$$

Em 2004, Chu *et al.* propuseram um modelo matemático que considerava este comportamento dos sistemas de oxidação por reagente de Fenton:

$$\frac{C}{C_0} = 1 - \frac{t}{p + at} \quad (\text{Eq. 7})$$

em que p e a são duas constantes do processo. Na verdade, $1/a$ corresponde à fracção máxima removida pelo processo de oxidação de Fenton e $1/p$ à velocidade inicial de remoção do poluente (min^{-1}).

Esta modelização tem sido aplicada com sucesso a diferentes sistemas (Chu *et al.*, 2004; Behnajady *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2011).

1.2.7.2.2.4. Aplicações

Como pode ser verificado na Tabela 4, vários estudos têm vindo a ser desenvolvidos sobre a aplicabilidade destas duas tecnologias (Fenton e foto-Fenton) ao tratamento de efluentes contaminados com antibióticos: beta-lactamas (Arslan-Alaton e Dogruel, 2004; Arslan-Alaton e Gurses, 2004; Trovó *et al.*, 2008; Elmolla e Chaudhuri, 2009a,b; Rozas *et al.*, 2010), imidazóis (Shemer *et al.*, 2006), lincosamidas (Bautitz e Nogueira, 2007), quinolonas (Bobu *et al.*, 2008; Guinea *et al.*, 2009), sulfonamidas (González *et al.*, 2007; Trovó *et al.*, 2009; Pérez-Moya *et al.*, 2010) e tetraciclina (Bautitz e Nogueira, 2007).

Relativamente ao tratamento de matrizes aquosas contendo amoxicilina encontraram-se seis estudos na literatura sobre esta temática. Arslan-Alaton *et al.* (2004) estudaram e compararam a degradação deste composto por reagente de Fenton e foto-Fenton, usando Fe^{2+} ou Fe^{3+} . As experiências foram realizadas com um efluente de uma empresa farmacêutica ($\text{CQO} = 1,4 \text{ g.L}^{-1}$) a $\text{pH} = 3$, com $20 \text{ mM H}_2\text{O}_2$ e 1 mM Fe^{2+} ou Fe^{3+} . Os autores verificaram que ao fim de 60 min de tratamento com foto-Fenton cerca de 56% (Fe^{2+}) ou 66% (Fe^{3+}) da CQO foi removida, enquanto ocorreu 51% (Fe^{2+}) e 42% (Fe^{3+}) de mineralização. Já para os ensaios de oxidação com reagente de

Fenton foi atingida uma remoção de CQO de 61% (Fe^{2+}) e 46% (Fe^{3+}), associada a uma mineralização de 33% (Fe^{2+}) e 18% (Fe^{3+}). Os efluentes tratados apresentavam baixa biodegradabilidade. *Trovó et al.* (2008) estudaram a fotodegradação com reagente de Fenton ($C_0 = 42 \text{ mg.L}^{-1}$; $\text{pH} = 2,5$; $2,0 \text{ mM H}_2\text{O}_2$; $0,20 \text{ mM FeOx}$ ou Fe^{3+}). Verificaram que ao fim de 1 min cerca de 84% da amoxicilina já tinha sido degradada utilizando FeOx , enquanto apenas 62% de degradação tinha sido atingida utilizando o Fe^{3+} . Os autores verificaram também que a utilização de FeOx como catalizador permitiu atingir uma maior taxa de mineralização (85% após 30 min). A influência da matriz e do tipo de radiação também foram testadas, não revelando qualquer alteração no resultado mencionado anteriormente.

Elmolla e Chaudhuri (2009a,b,c) realizaram três estudos sobre a aplicabilidade do processo de oxidação de Fenton e foto-Fenton na degradação da amoxicilina. Num dos estudos (b) verificaram que apenas após 1 min de reacção todo o antibiótico tinha sido degradado por foto-Fenton e após 45 min cerca de 82,7% da CQO tinha sido removida ($C_0 = 500 \text{ mg.L}^{-1}$; $\text{pH} = 3$; razão molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CQO} = 2:1$; razão molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 50:1$). Observaram também um aumento na biodegradabilidade do efluente. Num outro trabalho (c), também ele de oxidação por foto-Fenton, estes autores estudaram a oxidação de 104 mg.L^{-1} de amoxicilina, a $\text{pH} = 3$ e utilizando uma razão molar de $\text{CQO}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 1:1,5:0,075$. Concluíram que após 2 min de tratamento toda a amoxicilina tinha sido degradada, e que após 50 min 81% da CQO tinha sido removida e 58% tinha sofrido mineralização. Neste caso, os efluentes tratados eram mais biodegradáveis do que o original. Num outro estudo (a), estes autores avaliaram a eficiência do processo de oxidação de Fenton ($C_0 = 104 \text{ mg.L}^{-1}$; $\text{pH} = 3$; razão molar de $\text{CQO}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 1:3:0,30$). Verificaram que, tal como no processo de foto-Fenton, após 2 min toda a amoxicilina tinha sido degradada, e que os níveis de CQO removida e de mineralização eram semelhantes nos dois estudos (80% CQO, 53% mineralização). Ay e Kargi (2010) também estudaram a oxidação da amoxicilina por reagente de Fenton. Estes autores efectuaram um estudo através de desenho experimental de modo a otimizar as condições operatórias deste processo. Verificaram que a máxima degradação (100% em 2,5 min) e mineralização (37% em 15 min) foram obtidas para uma razão mássica $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}/\text{amoxicilina} = 255: 25: 105 \text{ mg.L}^{-1}$. Em nenhum destes trabalhos foi estudada a ecotoxicidade do efluente tratado.

De uma forma geral, em todos os estudos efectuados os autores verificaram que a oxidação de Fenton produzia bons resultados (eficiências de degradação superiores a 53%, remoções de CQO superiores a 44%, remoções de carbono orgânico total superiores a 20% e um ligeiro aumento na biodegradabilidade). Porém, os resultados obtidos por degradação com foto-Fenton indicam uma maior eficiência de degradação (eficiências de degradação superiores a 74%, CQO removida > 56%, carbono orgânico removido > 50%). Comparando, nas mesmas condições, o processo de oxidação com Fenton com o de foto-Fenton verificou-se que o último método conduz a elevadas taxas de degradação, associadas a um aumento na biodegradabilidade e nos níveis de mineralização.

Pérez-Moya *et al.* (2006) concluíram nos seus testes de oxidação com foto-Fenton que a toxicidade do efluente aumenta nos primeiros minutos de reacção, acabando por diminuir gradualmente ao longo do tempo. Uma conclusão contrária foi retirada por Guinea *et al.* (2009) que estudaram a degradação da enrofloxacin (quinolona) com reagente de Fenton. Eles verificaram que os primeiros minutos de reacção foram bastante eficientes na degradação do composto em estudo, mas rapidamente se formaram novas espécies refractárias que levaram ao aumento da toxicidade do efluente.

De um modo geral, pode-se afirmar que a presença de radiação UV no processo de Fenton (foto-Fenton) parece melhorar o desempenho do tratamento. Este facto também foi verificado para o caso específico da amoxicilina. Contudo, este processo não é normalmente aplicado a águas residuais com elevados teores de matéria orgânica (elevadas concentrações de CQO, tais como os efluentes municipais, hospitalares e das empresas farmacêuticas), uma vez que a turvação do meio impede a penetração da radiação. Apesar do processo de Fenton produzir eficiências de remoção e de mineralização mais baixas, este método parece ser adequado para o tratamento destas matrizes. Contudo, a oxidação com reagente de Fenton e com foto-Fenton não devem ser aplicados a matrizes com baixas cargas orgânicas e com baixos teores de iões (por exemplo, águas do mar contaminadas não deverão ser tratadas por estes métodos uma vez que os iões Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} e HCO_3^- são *scavengers* de radicais). Como mencionado anteriormente, em ambos os casos, é importante controlar o pH de operação de modo a prevenir a formação de lamas (precipitados de oxihidróxidos).

1.2.7.2.2.3. Fotólise

A fotólise é a decomposição ou dissociação dos compostos químicos por efeito da luz natural ou artificial. Dois tipos de processos podem ser aplicados: a fotólise directa ou indirecta. No primeiro caso, os compostos orgânicos absorvem a radiação UV e sofrem auto-decomposição ou reagem com os constituintes da matriz aquosa (Boreen *et al.*, 2004; Giokas e Vlessidis, 2007; Shaojun *et al.*, 2008; Jiao *et al.*, 2008; Trovó *et al.*, 2009). A fotólise indirecta envolve a foto-degradação dos compostos através de fotossensibilizadores como o oxigénio, radicais hidroxilo e peróxido (Arslan-Alaton e Dogruel, 2004; Giokas e Vlessidis, 2007). Estes oxidantes podem ser produzidos através da fotólise de compostos húmicos ou inorgânicos existentes nas matrizes aquosas ou através da adição externa de peróxido de hidrogénio (a clivagem homolítica do H_2O_2 produz radicais hidroxilo) ou de ozono. Embora os processos directos ou indirectos possam ocorrer simultaneamente, a fotólise indirecta possui um papel fundamental no tempo de meia-vida dos contaminantes (Giokas e Vlessidis, 2007).

A eficiência da fotólise depende do espectro de absorção do composto em estudo, da intensidade e frequência da radiação, das concentrações de peróxido de hidrogénio e de ozono (se utilizados) e do tipo de matriz (Kümmerer, 2009). As águas naturais possuem diferentes substâncias que podem

inibir ou melhorar o processo (a matéria orgânica pode actuar como *scavenger* de radicais e as substâncias húmicas ou inorgânicas podem gerar espécies oxidantes). Esta técnica tem demonstrado ser menos efectiva do que as que combinam radiação com peróxido de hidrogénio, ozono ou catalisadores. Os processos de fotólise com radiação solar (em vez da utilização das lâmpadas de vapor de mercúrio; $\lambda < 280$ nm) têm provado ser eficientes no tratamento de águas naturais contaminadas com antibióticos (Jiao *et al.*, 2008).

Da análise dos resultados da Tabela 4 verificou-se que este processo é extremamente dependente da estrutura química dos compostos que se pretendem degradar. Apenas os compostos fotossensíveis são facilmente degradados.

Shemer *et al.* (2006) estudaram a foto-degradação do metronidazol (imidazol), tendo concluído que apenas 6-12% do antibiótico foi degradado. Contudo, quando combinaram a radiação UV com peróxido de hidrogénio obtiveram taxas de degradação bastante superiores (58-67%). Shaojun *et al.* (2008) e Jiao *et al.* (2008) estudaram a degradação de tetraciclina, uma classe de antibióticos sensível à luz. Os autores obtiveram elevadas remoções (cerca de 80%), mas remoções de carbono orgânico total muito baixas (14%), o que é indicativo da produção de compostos intermediários. No seu estudo, também verificaram que a toxicidade do efluente tratado era superior à do efluente original. Shaojun *et al.* (2008) também testaram a influência da matéria orgânica dissolvida, em particular dos ácidos húmicos. Verificaram que quando na matriz em estudo existia uma baixa concentração destes compostos, o processo de fotólise era beneficiado. Contudo, para concentrações relativamente elevadas verificou-se um efeito inibitório, uma vez que os ácidos húmicos passaram a funcionar como filtros para a radiação. Outros autores estudaram a degradação de diferentes classes de antibióticos, tais como quinolonas e sulfonamidas. Estes observaram baixas taxas de remoção (Adams *et al.*, 2002; Arslan-Alaton e Dogruel, 2004) ou tempos muito longos de reacção para conseguirem atingir elevadas remoções (Trovó *et al.*, 2009).

Comparando este método com os outros descritos até ao momento, verifica-se que este é relativamente ineficaz no tratamento de águas contaminadas com antibióticos. Esta tecnologia é apenas aplicável a águas contendo compostos fotossensíveis e com baixas concentrações de CQO (águas de rio e águas de consumo).

1.2.7.2.2.4. Fotocatálise heterogénea

A fotocatálise heterogénea teve a sua origem na década de setenta com o início do estudo das células fotoquímicas para produção de combustíveis a partir de reagentes de baixo custo. Na verdade, a fotocatálise heterogénea surgiu após a descoberta da foto-decomposição da água em eléctrodos de TiO_2 (produção de O_2 e H_2). Mais tarde, estes investigadores perceberam que a

irradiação de partículas semicondutoras permitia catalisar várias reacções de oxidação-redução de compostos orgânicos e até inorgânicos (Fujishima *et al.*, 2007).

Para que ocorra fotocatalise heterogénea é necessário a presença de três componentes básicos: uma superfície catalítica fotossensível (normalmente um semiconductor inorgânico, como o dióxido de titânio – elevada estabilidade e baixo custo), uma fonte de fotões e um agente oxidante apropriado (Calza *et al.*, 2004; Addamo *et al.*, 2005; Baran *et al.*, 2006; Reyes *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2007; Abellán *et al.*, 2007; Palominos *et al.*, 2008; Klauson *et al.*, 2010; Elmolla e Chaudhuri, 2010). O princípio desta metodologia envolve a activação do semiconductor através de radiação solar ou artificial. A reacção fotocatalítica é iniciada pela activação do catalisador à custa de um fotão com energia suficiente para excitar um electrão da banda de valência do semiconductor para a banda de condução, originando uma lacuna (h^+) na banda de valência (Andreozzi *et al.*, 1999; Melo *et al.*, 2009).



Estas lacunas possuem um potencial de oxidação suficientemente elevado para produzir radicais hidroxilo a partir de moléculas de água ou de iões hidróxido adsorvidos na superfície do semiconductor (Andreozzi *et al.*, 1999):



Os electrões formados podem reduzir o oxigénio dissolvido a radicais superóxidos ($O_2^{\bullet-}$), que subsequentemente são convertidos em peróxido de hidrogénio (Reacção 39-41):



O peróxido de hidrogénio actua como receptor de electrões, originando radicais hidroxilo adicionais:



O substrato adsorvido (RX_{ads}) pode ser directamente oxidado por transferência electrónica:



De uma forma geral, o mecanismo de fotocatalise heterogénea pode ser dividido em cinco etapas principais: transferência dos reagentes da fase líquida para a superfície do semiconductor; adsorção dos reagentes; reacção na fase adsorvida; dessorção dos produtos de reacção e sua remoção da interface. Estudos recentes têm demonstrado que este mecanismo não ocorre exclusivamente com radicais hidroxilo, mas também com outras espécies radicalares derivadas do oxigénio.

A eficiência da fotocatalise heterogénea é afectada pela concentração do catalisador, comprimento de onda e intensidade da radiação, pH e tipo de matriz. Este método possui a vantagem de poder ser efectuado nas condições ambiente e poder utilizar a luz solar como fonte de radiação. Contudo, a aplicabilidade industrial desta tecnologia tem sido bastante discutida devido à dificuldade de penetração da radiação em soluções aquosas que contenham em suspensão finas partículas opacas e devido à dificuldade de remover o catalisador no final do processo (Britto e Rangel, 2008). Esta separação de fases pode ser a etapa mais demorada e com custos mais elevados. Para ultrapassar estes problemas, têm sido efectuados estudos sobre quais os materiais apropriados para a imobilização dos semicondutores. Do ponto de vista prático, o suporte ideal deveria possuir uma elevada aderência para com o catalisador, elevada área superficial, elevada afinidade com os contaminantes e o processo de imobilização não deveria afectar a reactividade do catalisador (Shan *et al.*, 2010). Vários estudos têm sido efectuados utilizando vidro, sílica gel, metais, cerâmicos, polímeros, zeólitos, argilas e carvões activados. É importante referir que os sistemas que utilizem semicondutores imobilizados terão limitações ao nível da transferência de massa devido à redução da área específica (Shan *et al.*, 2010).

Vários autores verificaram que este método é bastante eficiente no tratamento de águas contaminadas com diferentes classes de antibióticos. Klauson *et al.* (2010) e Elmolla e Chaudhuri (2010a,b) estudaram a aplicação desta técnica à degradação de antibióticos beta-lactâmicos, tendo verificado que, associado a elevadas degradações (> 50%), se obteve elevadas taxas de remoção de carbono orgânico dissolvido ($\approx 80\%$). A degradação de sulfonamidas também tem sido estudada por diversos autores (Calza *et al.*, 2004; Kaniou *et al.*, 2005; Baran *et al.*, 2006; Abellán *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2007). Estes autores concluíram que cerca de 80% dos antibióticos tinham sido degradados e que 40 a 70% do carbono orgânico total no efluente tinha sido removido. Verificaram ainda que os compostos intermediários formados eram menos tóxicos e mais biodegradáveis do que os compostos iniciais. Addamo *et al.* (2005), Reyes *et al.* (2006) e Palominos *et al.* (2009) estudaram a degradação de tetraciclinas. Tal como nos casos anteriores, as taxas de degradação e de mineralização são elevadas (degradação > 98%, remoção de COT > 50%). As mesmas conclusões foram retiradas por Addamo *et al.* (2005), Palominos *et al.* (2008) e Chatzitakis *et al.* (2008) em estudos com lincosamidas, quinolonas e cloranfenicol.

Em termos de eficiência de remoção, esta metodologia parece ser promissora para o tratamento de efluentes com baixas cargas orgânicas (águas de rio, profundas e de consumo). Embora a fotocatalise heterogénea tenha vindo a ser objecto de estudo nas últimas décadas, esta tecnologia nunca foi aplicada no tratamento de águas e águas residuais.

1.2.7.2.2.5. *Processos electroquímicos*

Os tratamentos electroquímicos são processos bastante atractivos para remover compostos orgânicos tóxicos, uma vez que utilizam uma tecnologia versátil, simples, amiga do ambiente e bastante efectiva (Hirose *et al.*, 2005; Jara *et al.*, 2007; Panizza e Cerisola, 2009). Nos processos electroquímicos, a reacção de oxidação ocorre sobre os ânodos (grafite, TiO_2 , ligas de titânio, óxidos de ruténio ou irídio, etc) na presença de um electrólito. Os contaminantes podem ser degradados electroquimicamente através de uma oxidação anódica directa. Neste caso, os contaminantes são adsorvidos na superfície do ânodo e destruídos através de troca iónica. Por outro lado, se as moléculas forem degradadas no meio líquido por intermédio de espécies reactivas (pares redox metálicos – Ag (II), Fe (III), Ce (IV), Mn (III) ou oxidantes fortes como o H_2O_2 , O_3 , persulfato, percarbonato, perfosfato e espécies cloradas) a reacção é classificada como indirecta (Chiang *et al.*, 1995; Panizza e Cerisola, 2009). Estas espécies funcionam como intermediárias na transferência de electrões entre o eléctrodo e o composto orgânico. A selecção do tipo de reacção depende da natureza e estrutura química do material constituinte do eléctrodo, condições experimentais e composição do electrólito. Normalmente, as reacções indirectas são utilizadas de modo a prevenir a incrustação de partículas no eléctrodo (*fouling*).

A eficiência da reacção de oxidação directa depende da actividade catalítica do eléctrodo, taxas de difusão dos contaminantes face aos sítios activos do ânodo e da corrente aplicada, enquanto a reacção indirecta depende fundamentalmente da taxa de difusão dos oxidantes secundários para a solução, temperatura e pH (Saracco *et al.*, 2000; Jara *et al.*, 2007).

De acordo com o levantamento bibliográfico efectuado, existem apenas dois artigos sobre a aplicabilidade desta técnica no tratamento de matrizes aquosas contaminadas com antibióticos. Hirose *et al.* (2005) estudaram a degradação da epirubicina (antraciclina), bleomicina (glicopeptídio) e mitomicina C, tendo concluído que apenas a epirubicina é degradada. O outro estudo foi efectuado por Jara *et al.* (2007), que testaram a degradação da lincomicina (lincosamida) e da ofloxacina (quinolona). O primeiro composto foi pouco oxidado (30%), enquanto o outro foi totalmente removido (> 99%). Tal como no caso anterior, não foram efectuados estudos que avaliassem a mineralização dos compostos no efluente tratado.

Os processos electroquímicos parecem ser adequados para o tratamento de águas residuais contaminadas com elevadas concentrações, quer de antibióticos, quer de CQO. Contudo, a aplicabilidade desta tecnologia está limitada a efluentes com baixos caudais. Para além disso, o custo do reactor é bastante elevado.

1.2.7.3. *Processos de adsorção*

Os processos de adsorção serão abordados neste trabalho com maior detalhe, uma vez que estes constituem uma das metodologias em estudo para a remoção da amoxicilina de matrizes aquosas

1.2.7.3.1. *Princípios teóricos*

O fenómeno de adsorção em superfícies sólidas ocorre com solutos presentes em fase fluida (fase gasosa ou líquida). Porém, os conceitos apresentados neste trabalho focar-se-ão apenas na adsorção em fase líquida.

Os processos de sorção naturais ou induzidos são muito importantes na distribuição de poluentes no meio ambiente. A sorção é muitas vezes definida como um processo de migração de uma substância de uma fase para outra e envolve dois fenómenos diferentes, a absorção e a adsorção. No primeiro caso, o soluto é transferido para a fase sólida e penetra para o seio do sólido, enquanto na adsorção a acumulação do soluto (adsorbato) é restringida à superfície do sólido (adsorvente) (Sawyer *et al.*, 2002).

O fenómeno de adsorção envolve as seguintes etapas: (i) transporte do soluto no *bulk*-movimentação do adsorbato através do filme estagnado que envolve o adsorvente, (ii) difusão no filme – o adsorbato é transportado ao longo do filme, (iii) difusão nos poros – difusão do adsorbato através da estrutura porosa até aos sítios activos (difusão molecular nos poros e/ou na superfície do adsorvente), (iv) adsorção – interacção entre o adsorbato e a estrutura porosa do adsorvente.

De acordo com a natureza das forças envolvidas, a adsorção pode ser classificada em dois tipos principais: adsorção física e adsorção química. Na adsorção física as forças são relativamente fracas, envolvendo principalmente interacções electrostáticas de van der Waals (interacções do tipo dipolo-dipolo - forças de Keesom e Debye - e forças de dispersão de London). Este tipo de adsorção é não específico, pode ocorrer em monocamada e em multicamada e é geralmente reversível. Pelo contrário, na adsorção química ocorre transferência electrónica, equivalente à formação de ligações químicas entre o adsorbato e a superfície do adsorvente (formação de ligações covalentes ou por pontes de hidrogénio). Por esta razão, a adsorção química está limitada à monocamada (Ruthven, 2003). As forças envolvidas são bastante mais fortes e específicas e, por isso, o processo é geralmente irreversível (dessorção é apenas conseguida através do aquecimento do adsorvente a elevadas temperaturas) (Ruthven, 2001). Globalmente, o processo de adsorção é resultado da combinação das duas formas de adsorção referidas anteriormente, não sendo por isso fácil distinguir entre adsorção física e química.

O adsorvente mais comum é o carvão activado que é normalmente originário da antracite ou do carvão betuminoso (Crisafulli *et al.*, 2008). Devido ao seu elevado custo e à dificuldade de

regeneração (Crisafully *et al.*, 2008), este material tem vindo a ser substituído por adsorventes alternativos de baixo custo como produtos secundários da agricultura ou resíduos industriais. Vários materiais têm sido testados, tais como cascas de avelã (Bulut e Tez, 2007; Kazemipour *et al.*, 2008), coco (Crisafully *et al.*, 2008), noz (Kazemipour *et al.*, 2008), amêndoa (Bulut e Tez, 2007; Estevinho *et al.*, 2008; Ardejani *et al.*, 2008; Kazemipour *et al.*, 2008), cinzas volantes (Estevinho *et al.*, 2007), etc. Alguns destes materiais têm sido aplicados na sua forma natural, mas a maioria sofre um processo de activação (química ou térmica) antes de serem utilizados.

1.2.7.3.2. Adsorção em sistema fechado (*batch*)

Os sistemas de adsorção que funcionam de forma descontínua (sistemas fechados ou *batch*) são normalmente aplicados na remoção de contaminantes de efluentes líquidos quando as quantidades a tratar são pequenas, quando o nível de contaminante é relativamente baixo ou quando a utilização do processo é sazonal (Cooney, 1999). Neste caso, uma solução contendo o poluente permanece em contacto durante um determinado período de tempo com uma certa quantidade de adsorvente.

A maioria dos estudos existentes na literatura sobre a aplicabilidade da adsorção como método de tratamento de efluentes líquidos contaminados tem sido efectuada em sistemas *batch*. As aplicações em *batch* permitem determinar o tempo de equilíbrio, a capacidade teórica de adsorção do material adsorvente e efectuar estudos cinéticos.

1.2.7.3.2.1. Equilíbrio de adsorção

Tal como em outros processos de equilíbrio de fase, a distribuição do adsorbato entre a fase líquida e a adsorvida é sustentada pelos princípios termodinâmicos. A distribuição do soluto no equilíbrio é normalmente apresentada na forma de uma isotérmica, diagrama que relaciona a quantidade de soluto na fase sólida (q_e) e a concentração final de soluto na fase líquida (C_e), a temperatura constante.

1.2.7.3.2.1.1. Isotérmica linear

O modelo mais simples, a isotérmica linear, descreve a acumulação do soluto no material adsorvente como sendo directamente proporcional à concentração de equilíbrio na solução (Eq. 8).

$$q_e = K_d C_e \quad (\text{Eq. 8})$$

em que q_e corresponde à quantidade de soluto adsorvida (mg.g^{-1}), C_e a concentração no equilíbrio (mg.L^{-1}) e K_d é o coeficiente de distribuição (L.g^{-1}). Este modelo normalmente descreve de forma adequada a adsorção de solutos em baixas concentrações.

1.2.7.3.2.1.2. Isotérmica de Langmuir

Em 1918, Langmuir desenvolveu um modelo de adsorção que pressupõe a formação de uma monocamada na superfície do adsorvente. Este modelo assume que a energia de adsorção de cada molécula é igual e independente do grau de recobrimento da superfície, que a adsorção ocorre em sítios específicos do adsorvente e que, uma vez ocupados, não estão disponíveis para adsorverem mais nenhuma molécula (cada sítio só tem capacidade de adsorver uma molécula de cada vez). O modelo também pressupõe que não existe interacção entre moléculas adsorvidas entre sítios vizinhos (Langmuir, 1918). O modelo pode ser representado pela Eq. 9:

$$q_e = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (\text{Eq. 9})$$

em que $q_{\max}$ corresponde à capacidade da monocamada (mg.g^{-1}) e K_L a constante de equilíbrio de adsorção (L.mg^{-1}).

1.2.7.3.2.1.3. Isotérmica de Freundlich

Várias observações experimentais demonstraram que o calor de adsorção (ΔH_{ads}) diminuía substancialmente com o aumento da fracção de recobrimento, o que sugeria uma não uniformidade das superfícies. Freundlich apresentou um modelo de natureza empírica (Eq. 10) que assume que os sítios aonde as interacções são mais fortes são ocupados em primeiro lugar e que a força da interacção vai diminuindo com o aumento do grau de ocupação dos sítios activos (Freundlich, 1906). O modelo de Freundlich é portanto aplicado para descrever sistemas aonde ocorra adsorção em superfícies heterogéneas. Para além disso descreve adequadamente a adsorção reversível e não está restringido à formação de monocamadas (Wang e Li, 2005).

$$q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (\text{Eq. 10})$$

em que K_f é a constante de equilíbrio de adsorção ($\text{mg.g}^{-1}(\text{mg.L}^{-1})^{-1/n}$) e n é a constante de Freundlich (indicativa da intensidade da adsorção).

1.2.7.3.2.1.4. Isotérmica de Temkin

Temkin desenvolveu um modelo que, ao contrário do descrito até ao momento, tinha em conta as interacções adsorbato-adsorbato e, conseqüentemente, a variação do calor de adsorção com o grau de recobrimento da superfície do adsorvente (Temkin e Pyzhev, 1940). Segundo este autor, o calor de adsorção de todas as moléculas numa camada diminui linearmente com o grau de recobrimento (Eq. 11).

$$q_e = \frac{RT}{b} \ln(AC_e) \quad (\text{Eq. 11})$$

em que R é a constante dos gases perfeitos ($8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$), T a temperatura absoluta (K), A a constante de equilíbrio de Temkin (L.mg^{-1}) e b uma constante relacionada com o calor de adsorção (J.mol^{-1}).

1.2.7.3.2.1.5. Outras isotérmicas

Além dos modelos referidos existem outros descritos na literatura que, de uma forma geral, não são mais do que variações desses modelos. Na Tabela 5 encontram-se sumarizados alguns desses modelos com a indicação dos pressupostos estabelecidos para cada um deles.

Tabela 5. Exemplos de modelos de equilíbrio referidos na literatura.

Modelo	Equação	Pressupostos	Referência
Brunauer-Emmett-Teller (B.E.T)	$q_e = \frac{Bq_m C_e}{(C_s - C_e) \left[1 + (B-1) \frac{C_e}{C_s} \right]}$	O início da formação de uma nova camada não implica a completa formação da anterior.	Arami <i>et al.</i> , 2006
Fowler-Guggenheim	$C_e = \frac{K_{FG} q_e}{q_{\max} - q_e} \exp\left(\frac{2q_e W}{q_{\max} RT}\right)$	Interacção lateral entre as moléculas adsorvidas.	Fowler e Guggenheim, 1939
Hill-de Boer	$C_e = \frac{K_1 q_e}{q_{\max} - q_e} \exp\left(\frac{q_e}{q_{\max} - q_e} - \frac{K_2 q_e}{q_{\max} RT}\right)$	Adsorção móvel e interacção lateral entre as moléculas adsorvidas.	Hill, 1946; Boer, 1953
Jossens	$C_e = \frac{q_e}{H} \exp(Fq_e^p)$	Baseia-se numa distribuição de energia de interacções adsorbato-adsorvente nos sítios activos	Jossens <i>et al.</i> , 1978
Langmuir-Freundlich	$q_e = \frac{q_m (K_{LF} C_e)^m}{1 + (K_{LF} C_e)^m}$	Modelo que combina os elementos dos modelos de Langmuir e Freundlich	Sips, 1948
Redlich-Peterson	$q_e = \frac{AC_e}{1 + BC_e^\beta}$	Isotérmica empírica que incorpora elementos dos modelos de Langmuir e Freundlich	Redlich e Peterson, 1959

1.2.7.3.3. Cinética de adsorção

O estudo da cinética de adsorção pretende ser uma ferramenta útil na determinação da taxa de adsorção do soluto e, consequentemente no tempo de residência do adsorbato na interface sólido-líquido. Através dos modelos cinéticos é possível determinar-se o mecanismo controlante (etapa cuja

velocidade é mais lenta) no processo de adsorção: transferência de massa ou reacção química (Vilar *et al.*, 2007 e 2008).

No caso em que a reacção química é considerada a etapa controlante, três modelos principais podem ser considerados: modelo de pseudo-primeira ordem de Lagergren, pseudo-segunda ordem de Lagergren e modelo de Elovich. De uma forma geral, nestes modelos a acumulação do soluto na fase sólida (dq_t/dt) é relacionada com uma constante cinética (k) e com a força motriz que induz a progressão da reacção, ou seja,

$$\frac{dq_t}{dt} = k(q_e - q_t)^\gamma \quad (\text{Eq. 12})$$

O valor do expoente desta equação (γ) fornecerá informação sobre a ordem da reacção.

1.2.7.3.3.1. Modelo de pseudo-primeira ordem

O modelo de pseudo-primeira ordem de Lagergren ($\gamma = 1$) será representado pela Eq. 13 após a integração da Eq. 12 tendo em conta as condições fronteira $q_t = 0$ para $t = 0$ e $q_t = q_e$ para $t = t$ (Abia *et al.*, 2006; Hameed, 2007; Hameed *et al.*, 2007; Vilar *et al.*, 2007 e 2008; Wang *et al.*, 2008):

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (\text{Eq. 13})$$

em que q_t e q_e correspondem à capacidade de adsorção no momento t e no equilíbrio, respectivamente (mg.g^{-1}) e k_1 é constante de velocidade de pseudo-primeira ordem (L.min^{-1}).

1.2.7.3.3.2. Modelo de pseudo-segunda ordem

Um procedimento semelhante é tomado na obtenção da equação representante do modelo de pseudo-segunda ordem ($\gamma = 2$) de Lagergren (Eq. 14) (Abia *et al.*, 2006; Hameed *et al.*, 2007; Vilar *et al.*, 2007 e 2008; Wang *et al.*, 2008):

$$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + q_e k_2 t} \quad (\text{Eq. 14})$$

em que k_2 é a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem ($\text{g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$).

1.2.7.3.3.3. Modelo de Elovich

O modelo de Elovich é também utilizado para representar a adsorção química. A equação deste modelo é expressa pela Eq. 15 (Abia *et al.*, 2006; Demirbas *et al.*, 2009):

$$\frac{dq_t}{dt} = \alpha \exp(-\beta q_t) \quad (\text{Eq. 15})$$

Integrando esta equação e tendo em conta as condições fronteira $q_t = 0$ para $t = 0$ e $q_t = q_t$ para $t = t$, obtém-se a expressão:

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(1 + \alpha\beta t) \quad (\text{Eq. 16})$$

em que α é a constante de velocidade ($\text{mg.g}^{-1}.\text{min}$) e β a constante de dessorção (g.mg^{-1})

A adsorção física ou química envolve processos de difusão. O adsorbato necessita de se difundir através do meio (solução aquosa) até ao filme que rodeia as partículas de adsorvente (difusão no *bulk*), através desse filme até atingir a superfície do material adsorvente (difusão externa) e finalmente através dos poros do sólido até atingir os sítios activos (difusão intraparticular).

Para o projecto de um sistema de adsorção eficiente é necessário prever os parâmetros de transferência de massa (coeficiente de transferência de massa no filme externo e coeficiente de difusão interna). Modelos simples que consideram apenas uma resistência como etapa controlante são muitas vezes aplicados de modo a se obter uma estimativa dos parâmetros de transferência de massa. Os modelos que têm em conta as duas resistências à transferência de massa são mais rigorosos, permitindo obter uma estimativa mais exacta destes parâmetros e são particularmente importantes quando ambas as etapas são controlantes. Contudo, estes modelos têm a desvantagem de não serem resolúveis analiticamente, implicando a aplicação de métodos numéricos para a resolução de um sistema de equações diferenciais parciais.

1.2.7.3.3.4. Modelo de difusão externa

Durante os primeiros momentos do processo de adsorção é usual que apenas a resistência à difusão externa controle a velocidade do processo. Deste modo, o modelo de difusão externa (no filme que rodeia as partículas de adsorvente) poderá descrever adequadamente o processo de adsorção. Este modelo considera que (Walker *et al.*, 2003; Önal *et al.*, 2007 ; Garcia-Reyes e Rangel Mendez, 2010):

- (i) As partículas do adsorvente são esféricas e idênticas;
- (ii) O reactor é perfeitamente agitado (a concentração no *bulk* é uniforme);
- (iii) A espessura do filme é suficientemente pequena para que o perfil de concentrações seja linear;
- (iv) A taxa de desaparecimento do adsorbato da solução é igual à taxa de adsorção pelo sólido.

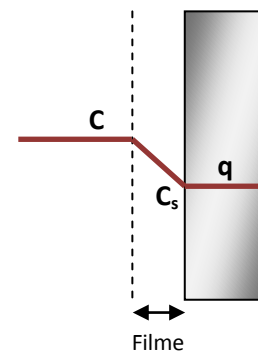


Figura 5. Perfil de concentração no filme.

A taxa de difusão do soluto no filme pode ser expressa por:

$$N_t = k_{fd} A_p (C - C_s) \quad (\text{Eq. 17})$$

em que N_t é a taxa de difusão no filme ($\text{mg} \cdot \text{min}^{-1}$), k_{fd} o coeficiente de transferência de massa no filme ($\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$), A_p a área de transferência (cm^2), C a concentração do adsorbato no *bulk* ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e C_s a concentração do adsorbato na superfície do adsorvente ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

Porém,

$$N_t = -V \frac{dC}{dt} = m_{ads} \frac{dq}{dt} \quad (\text{Eq. 18})$$

em que V é o volume da fase aquosa (cm^3), t o tempo (min), m_{ads} a massa de adsorvente (g) e q a quantidade de soluto adsorvida na fase sólida ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$).

Considerando que as partículas do adsorvente são esféricas, então:

$$A_p = \frac{3V_p}{R} = \frac{3m_{ads}}{\rho_p R} \quad (\text{Eq. 19})$$

em que V_p é o volume total das partículas (cm^3), R o raio médio das partículas (cm) e ρ_p a massa específica das partículas de adsorvente ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$).

Igualando a Eq. 17 à Eq. 18 e integrando a equação resultante tendo em conta que quando $t = 0$, $C = C_0$ e $t = t$, $C = C_t$, obtém-se:

$$C_t = C_0 \exp \left(-k_{fd} \frac{3m_{ads}}{V\rho_p R} t \right) \quad (\text{Eq. 20})$$

em que C_t é a concentração do soluto na fase líquida a cada instante t ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e C_0 a concentração inicial de soluto na fase líquida ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

1.2.7.3.3.5. Modelo de difusão homogénea

Por outro lado, se a etapa controlante for a difusão do soluto no interior do adsorvente (difusão intraparticular) o modelo de difusão homogénea poderá descrever o processo de adsorção. Este modelo considera que (Garcia-Reyes e Rangel-Mendez, 2010; Ofomaja, 2010):

- (i) As partículas do adsorvente são esféricas;
- (ii) A quantidade adsorvida está em equilíbrio com a existente em solução;
- (iii) Difusão homogénea através do adsorvente.

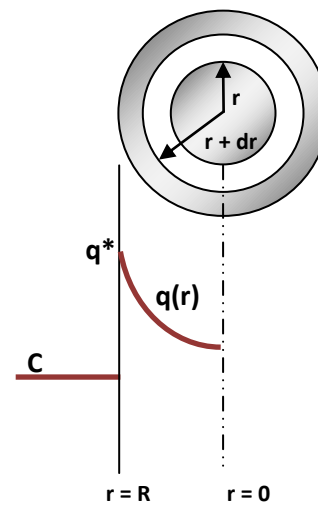


Figura 6. Perfil de concentração na partícula homogénea.

Embora a estrutura do adsorvente possa ser bastante porosa, não existem canais por onde o adsorbato possa difundir sem estar na forma adsorvida. O processo pode ser retratado como uma adsorção na superfície externa das partículas de adsorvente, ocorrendo de seguida a sua difusão no sólido já na forma adsorvida.

Efectuando um balanço material ao reactor fechado obtém-se:

$$-V \frac{dC}{dt} = m_{ads} \frac{d\langle q \rangle}{dt} \quad (\text{Eq. 21})$$

em que $\langle q \rangle$ é a quantidade média de soluto adsorvida na fase sólida (mg.g^{-1}).

Do balanço material a um elemento infinitesimal de volume (entre r e $r + dr$) da partícula de adsorvente resulta:

$$(A_p \varphi_p)_r = (A_p \varphi_p)_{r+dr} + dV_p \rho_p \frac{\partial q}{\partial t} \quad (\text{Eq. 22})$$

em que φ é o fluxo do soluto através da partícula de adsorvente ($\text{mg.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

De acordo com a lei de Fick:

$$\varphi = -D_h \rho_p \frac{\partial q}{\partial r} \quad (\text{Eq. 23})$$

Substituindo a Eq. 23 na Eq. 22 obtém-se:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = D_h \left(\frac{\partial^2 q}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial q}{\partial r} \right) \quad (\text{Eq. 24})$$

em que D_h corresponde ao coeficiente de difusividade homogénea do soluto no adsorvente ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$).

A concentração média de soluto na fase sólida é determinada a partir de:

$$\frac{\partial \langle q \rangle}{\partial t} = \frac{3D_h}{r} \left(\frac{dq}{dr} \right)_{r=R} \quad (\text{Eq. 25})$$

Aplicando as condições iniciais e fronteiras (Eq. 26-28):

$$t=0 \quad q=0 \quad C=C_0 \quad (\text{Eq. 26})$$

$$r=0 \quad \frac{\partial q}{\partial r} = 0 \quad (\text{Eq. 27})$$

$$r=R \quad q=q^* = f(C) \quad (\text{equação de equilíbrio}) \quad (\text{Eq. 28})$$

Resolvendo numericamente a equação diferencial às derivadas parciais (Eq. 24) com as equações iniciais e fronteira (Eq. 26-28) obtém-se o perfil de concentrações dentro da partícula de adsorvente. A concentração do soluto na solução pode ser calculada através da lei de equilíbrio.

Boyd *et al.* (1947) sugerem que a resolução deste sistema de equações resulta em:

$$\frac{q_t}{q_e} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{D_h n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad (\text{Eq. 29})$$

Para tempos de ensaio geralmente curtos a Eq. 29 pode ser resumida a (Ponnusami *et al.*, 2010):

$$\frac{q_t}{q_e} = \frac{6}{R} \left(\frac{D_h}{\pi}\right)^{1/2} t^{1/2} \quad (\text{Eq. 30})$$

1.2.7.3.6. Modelo de difusão intraparticular – partículas porosas

Outro modelo que pode ser aplicado quando a difusão do soluto no interior do adsorvente é controlante é o modelo de difusão em partículas porosas. Este modelo é em tudo semelhante ao descrito anteriormente, mas neste caso existem canais dentro das partículas do adsorvente por onde o adsorbato possa difundir sem estar na forma adsorvida (McKay *et al.*, 1984; Garcia-Reyes e Rangel-Mendez, 2010).

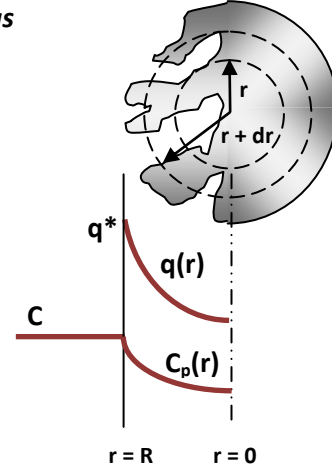


Figura 7. Perfil de concentração na partícula porosa.

Neste caso, o balanço material a um elemento infinitesimal de volume (entre r e $r + dr$) da partícula de adsorvente resulta:

$$(A_p \phi_p)_r = (A_p \phi_p)_{r+dr} + \varepsilon_p \frac{\partial C_p}{\partial t} dV_p + \rho_p \frac{\partial q}{\partial t} dV_p \quad (\text{Eq. 31})$$

em que ε_p é a porosidade da partícula e C_p é a concentração de adsorbato no poro (mg.L^{-1}).

De acordo com a lei de Fick:

$$\phi = -D_{\text{eff}} \rho_p \frac{\partial C_p}{\partial r} \quad (\text{Eq. 32})$$

Substituindo a Eq. 32 na Eq. 31 obtém-se:

$$\varepsilon_p \frac{\partial C_p}{\partial t} + \rho_p \frac{\partial q}{\partial t} = D_{\text{eff}} \left(\frac{\partial^2 C_p}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C_p}{\partial r} \right) \quad (\text{Eq. 33})$$

em que D_{eff} corresponde ao coeficiente de difusividade efectiva do soluto no adsorvente ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$).

As condições iniciais e fronteiras (Eq. 34-36) são:

$$t=0 \quad C_p = 0 \quad (\text{Eq. 34})$$

$$r=0 \quad \frac{\partial q}{\partial r}=0 \quad \frac{\partial C}{\partial r}=0 \quad (\text{Eq. 35})$$

$$r=R \quad q=q^*=f(C) \quad (\text{equação de equilíbrio}) \quad (\text{Eq. 36})$$

A resolução numérica da equação diferencial com as equações iniciais e fronteira conduz à obtenção dos perfis de concentração dentro da partícula.

1.2.7.3.3.7. Modelo de difusão filme-poro

Os modelos referidos até ao momento apenas consideram uma resistência como passo controlante. Porém, há casos em que, quer a resistência no filme, quer a resistência interna têm de ser tidos em conta conjuntamente.

Um dos modelos mais utilizados para descrever o comportamento do processo de adsorção é o de difusão filme-poro. Este modelo pressupõe que as partículas do adsorvente são esféricas, que a difusão radial ocorre apenas no fluído contido dentro dos poros e que se estabelece um equilíbrio instantâneo local entre a concentração adsorvida e a concentração do solutos nos poros (Garcia-Reyes e Rangel-Mendez, 2010; Ponnusani *et al.*, 2010).

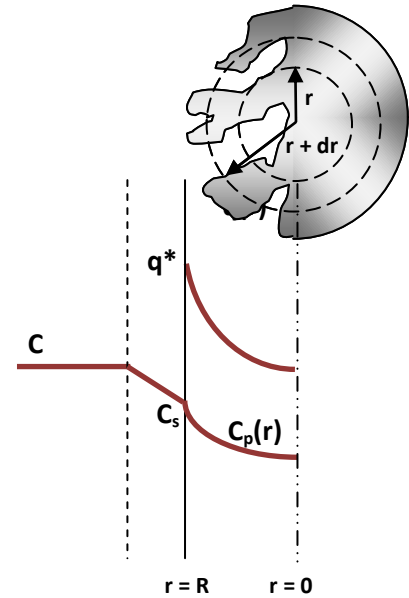


Figura 8. Perfil de concentrações no filme e na partícula.

Mais uma vez é considerado que a taxa de transferência de massa no filme que rodeia as partículas de adsorvente é directamente proporcional à diferença de concentrações no filme, ou seja,

$$-V \frac{dC}{dt} = k_{fd} A_p (C - C_s) \quad (\text{Eq. 37})$$

Já a transferência de massa no meio líquido dentro do poro segue a lei de Fick (Eq. 32). O balanço material a um elemento infinitesimal (entre r e $r+dr$) da partícula de adsorvente é descrito pelas Eq. 31 e 33.

A condição inicial pode ser expressa como:

$$t=0 \quad C=0 \quad 0 \leq r \leq R \quad (\text{Eq. 38})$$

As condições-fronteira são:

$$\frac{\partial C}{\partial r} = 0 \quad r = 0 \quad (\text{Eq. 39})$$

$$k_{fd}(C - C_s) = D_{eff} \left. \frac{\partial C}{\partial r} \right|_{r=R} \quad (\text{Eq. 40})$$

A relação entre a concentração do soluto no fluído contido dentro dos poros e a concentração do soluto adsorvida nas partículas é expressa pela relação de equilíbrio (Eq. 36).

A resolução numérica do sistema de equações anteriores permite determinar o perfil de concentrações na fase fluida contida dentro dos poros.

1.2.7.3.4. Parâmetros termodinâmicos

A lei de Arrhenius permite determinar a energia de activação da adsorção, relacionando a constante de velocidade com a temperatura, ou seja:

$$k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (\text{Eq. 41})$$

em que k é a constante de velocidade, A o factor de Arrhenius, E_a a energia de activação da adsorção (J.mol^{-1}), R a constante dos gases perfeitos ($8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$) e T corresponde à temperatura absoluta (K). O valor obtido de energia de activação pode dar informação sobre a natureza do processo de adsorção (física ou química). Se o valor obtido estiver compreendido entre 5 e 40 kJ.mol^{-1} o mecanismo de adsorção deverá ser principalmente físico. Por outro lado, energias de activação superiores (entre 40 e 800 kJ.mol^{-1}) sugerem adsorção química (Hameed, 2007; Hameed *et al.*, 2007; Abramian e El-Rassy, 2009).

Os parâmetros termodinâmicos como a variação de entalpia e de entropia são determinados a partir da equação de Van't Hoff:

$$\ln K = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{RT} \quad (\text{Eq. 42})$$

em que K é a constante de equilíbrio (q_e/C_e), ΔS° a variação da entropia padrão ($\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$) e ΔH° a variação de entalpia padrão (J.mol^{-1}).

A variação da energia de Gibbs livre padrão é calculada de acordo com a Eq. 43:

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (\text{Eq. 43})$$

em que ΔG° corresponde à variação da energia de Gibbs livre padrão (J.mol^{-1}).

Uma variação de energia de Gibbs livre negativa sugere que o processo de adsorção é espontâneo, enquanto uma variação da entropia positiva indica que ocorreu um aumento da desordem na interface sólido-líquido. Já um valor negativo da variação da entalpia sugere que o

processo de exotérmico. Normalmente, uma variação de entalpia entre 40 e 120 kJ.mol⁻¹ aponta para que o processo de adsorção seja de natureza química (Hameed, 2007).

1.2.7.3.5. Adsorção em leito fixo

Os ensaios de coluna são fundamentais à modelização de sistemas contínuos de adsorção, particularmente ao seu dimensionamento e à avaliação do seu tempo de funcionamento sem necessidade de renovar o material adsorvente. Estas informações podem ser obtidas através das curvas de rupturas, também designadas por curvas de *breakthrough*.

Os processos de adsorção em coluna (sistemas contínuos) não operam em estado estacionário, uma vez que os perfis de concentração na fase líquida e sólida variam com o espaço e tempo. Deste modo, a transferência do soluto da fase líquida para a fase sólida pode ser descrita através da equação de balanço material num elemento de volume da coluna de leito fixo, ou seja,

$$(\varepsilon A)\varphi|_z = (\varepsilon A)\varphi|_{z+dz} + (\varepsilon A dz)\frac{\partial C}{\partial t} + (1-\varepsilon)A dz \rho_p \frac{\partial \langle q \rangle}{\partial t} \quad (\text{Eq. 44})$$

em que ε é a porosidade do leito, A a área de transferência de massa (cm²), φ o fluxo de soluto que atravessa o elemento de volume da coluna (mg.cm⁻².s⁻¹), C a concentração do soluto na fase líquida (mg.L⁻¹), $\langle q \rangle$ a concentração média adsorvida (mg.g⁻¹), t o tempo (s), z a coordenada axial e ρ_p a massa específica das partículas de adsorvente (g.cm⁻³).

De outro modo, a Eq. 44 pode ser expressa por:

$$\varepsilon \frac{\partial \varphi}{\partial z} + \varepsilon \frac{\partial C}{\partial t} + (1-\varepsilon)\rho_p \frac{\partial \langle q \rangle}{\partial t} = 0 \quad (\text{Eq. 45})$$

Considerando que o escoamento é tipo pistão e ocorre difusão axial, então:

$$\varphi = u_i C - D_{ax} \frac{\partial C}{\partial z} \quad (\text{Eq. 46})$$

em que u_i é a velocidade intersticial (cm.s⁻¹) e D_{ax} o coeficiente de difusão axial (cm².s⁻¹).

Substituindo a Eq. 46 na Eq. 45 obtém-se (Chu e Hashim, 2007):

$$u_i \frac{\partial C}{\partial z} - D_{ax} \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} + \frac{\partial C}{\partial t} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \rho_p \frac{\partial \langle q \rangle}{\partial t} = 0 \quad (\text{Eq. 47})$$

As condições inicial e fronteira associadas a esta equação são:

$$t=0 \quad C=q=0 \quad (\text{Eq. 48})$$

$$z=0 \quad -\frac{D_{ax}}{u_i} \frac{\partial C}{\partial z} = C - C_0 \quad (\text{Eq. 49})$$

$$z=L \quad \frac{\partial C}{\partial z} = 0 \quad (\text{Eq. 50})$$

A resolução do sistema de equações que envolve a equação de balanço material à coluna (Eq. 47), a relação de equilíbrio aplicável à interface sólido-líquido ($q=f(C)$), os modelos cinéticos e as condições inicial e fronteira (Eq. 48-50) é complexa, sendo apenas resolúvel através da aplicação de métodos numéricos. Para colmatar esta dificuldade surgiram diferentes modelos matemáticos baseados na equação de balanço material, mas de simples resolução.

Antes de apresentar esses modelos é importante definir quais os parâmetros que podem ser determinados através dos estudos de adsorção em coluna. Tal como foi mencionado anteriormente, o comportamento do processo de adsorção em leito fixo é representado pelas curvas de ruptura ou *breakthrough*. Estas podem ser representadas pela concentração adimensional (C/C_0) em função do tempo de operação ou do volume do efluente tratado (V_{ef}). Este último pode ser expresso a partir da Eq. 51 (Malkock *et al.*, 2006):

$$V_{ef} = Qt \quad (\text{Eq. 51})$$

em que Q é o caudal com que a solução atravessa a coluna de leito fixo ($\text{cm}^3.\text{s}^{-1}$) e t o tempo de operação (s).

Já a quantidade de soluto adsorvida pelo material adsorvente pode ser determinada para cada instante t através de (Malkoc e Nuhoglu, 2006; Han *et al.*, 2009; Uddin *et al.*, 2009; Ahmad e Hameed, 2010):

$$q = Q \int_0^t C_{ads} dt \quad (\text{Eq. 52})$$

em que q é a quantidade de soluto adsorvida (mg) e C_{ads} corresponde à concentração de soluto adsorvida (mg.L^{-1}).

A massa total de soluto que atravessou a coluna (m_{total}) pode ser determinada por:

$$m_{total} = C_0 Qt \quad (\text{Eq. 53})$$

em que C_0 concentração de soluto à entrada da coluna de leito fixo (mg.L^{-1}).

Já a percentagem de soluto removido e a capacidade máxima de adsorção da coluna podem ser determinadas através das Eq. 54 e 55, respectivamente:

$$\% \text{Remoção} = \frac{q_{total}}{m_{total}} \times 100 \quad (\text{Eq. 54})$$

$$q_e = \frac{q_{total}}{m_{ads}} \quad (\text{Eq. 55})$$

em que q_{total} corresponde à quantidade total de soluto adsorvido na coluna (mg), q_e a capacidade máxima de adsorção da coluna (mg.g^{-1}) e m_{ads} a massa de adsorvente existente na coluna (g).

Ainda podem ser definidos outros parâmetros importantes para o estudo da adsorção em coluna, isto é, o número de volumes de leito (BV), o tempo necessário para que o efluente preencha a coluna vazia (EBRT) e a taxa de exaustão do adsorvente. Estes parâmetros podem ser determinados a partir de (Malkoc *et al.*, 2006):

$$BV = \frac{\text{volume de solução tratada}}{\text{volume do leito de adsorção}} = \frac{\text{tempo de operação}}{EBRT} \quad (\text{Eq. 56})$$

$$EBRT = \frac{\text{volume do leito}}{Q} \quad (\text{Eq. 57})$$

$$\text{taxa de exaustão do adsorvente} = \frac{m_{ads}}{V_B} \quad (\text{Eq. 58})$$

É também importante definir os parâmetros de *design* necessários para uma coluna de adsorção. Surge assim o conceito de zona de transferência de massa (ZTM). A ZTM corresponde à porção efectiva do leito na qual o soluto presente no efluente de alimentação é transferido para a fase sólida do sistema – zona aonde ocorre a adsorção (Taty-Costodes, 2005). O fluido quando entra na coluna entra em contacto com um leito virgem e o adsorvente rapidamente adsorve o poluente. Neste momento, o fluido que abandona a coluna está praticamente livre do soluto. À medida que o volume de poluente aumenta no leito da coluna de adsorção, a zona de transferência de massa vai-se formando. Esta movimenta-se ao longo do leito até atingir o fundo do leito, ponto a partir do qual o adsorvente deixa de ter capacidade de reter o soluto – ponto de ruptura (Taty-Costodes, 2005). Na Figura 9 encontra-se uma esquematização do movimento da ZTM ao longo de um leito fixo.

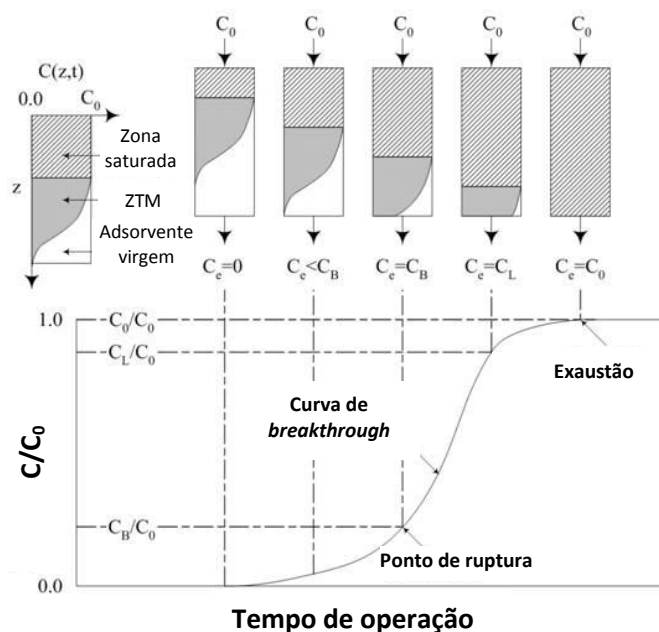


Figura 9. Deslocação de ZTM ao longo de uma coluna de adsorção (adaptado de Vilar, 2006).

O ponto de *breakthrough* e de exaustão são definidos arbitrariamente. Geralmente considera-se o ponto de *breakthrough* como 3-5% da concentração inicial do efluente ou se existir um limite legal para o analito em estudo, esse é fixado. O ponto de exaustão costuma ser fixado entre 90-95% da concentração inicial do efluente (Al-Degs *et al.*, 2009).

Assim, o tempo necessário para a zona de transferência se mover o seu próprio comprimento (t_z) é um dos parâmetros a ser determinados (Goyal *et al.*, 2009):

$$t_z = \frac{V_z}{Q} \quad (\text{Eq. 59})$$

em que V_z corresponde ao volume tratado entre o *breakthrough* e a exaustão (mL) e Q o caudal do efluente (mL.min⁻¹).

O tempo necessário para a ZTM se formar e abandonar o leito de adsorção (t_E) pode ser calculado através de:

$$t_E = \frac{V_E}{Q} \quad (\text{Eq. 60})$$

em que V_E corresponde ao volume tratado até à exaustão (mL).

A velocidade à qual a ZTM se move ao longo do leito de adsorção (U_z) e altura da própria zona de transferência (h_z) pode ser determinada através de (Goyal *et al.*, 2009):

$$U_z = \frac{L}{t_E - t_f} \quad (\text{Eq. 61})$$

$$h_z = \frac{L t_z}{t_E - t_f} \quad (\text{Eq. 62})$$

em que L é a altura total do leito (cm) e t_f o tempo necessário para a zona de adsorção se formar (min).

Este tempo pode ser determinado a partir de:

$$t_f = (1 - F) t_z \quad (\text{Eq. 63})$$

em que F corresponde à fracção de adsorvente presente na ZTM que ainda é capaz de remover analito. Este valor pode ser calculado através da expressão (Goyal *et al.*, 2009):

$$F = \frac{\int_{V_B}^{V_E} (C_0 - C) dV}{C_0 (V_E - V_B)} \quad (\text{Eq. 64})$$

em que C_0 é a concentração inicial de soluto (mg.L⁻¹), C a concentração do soluto a cada instante (mg.L⁻¹) e V_B o volume tratado até ao ponto de *breakthrough* (mL).

A percentagem do leito de adsorvente que está saturado no ponto de ruptura pode ser determinado por:

$$\% \text{ Saturação} = \frac{L + (F - 1)h_z}{L} \quad (\text{Eq. 65})$$

Tal como mencionado anteriormente, para colmatar a dificuldade de resolução do sistema de equações que representa o processo de adsorção em coluna, surgiram diferentes modelos matemáticos baseados na equação de balanço material, mas de simples resolução.

1.2.7.3.5.1. Modelo de Bohart-Adams

O modelo de Bohart-Adams surgiu em 1920 para descrever as curvas de *breakthrough* de um sistema gás-carvão. Porém, a sua utilização tem sido estendida a outros sistemas. Este modelo baseia-se nos seguintes pressupostos: a velocidade de adsorção é proporcional à capacidade residual do adsorvente, a concentração das espécies adsorvidas, a dispersão axial é desprezável (Chu e Hashim, 2007; Han *et al.*, 2009), difusão intraparticular e resistência à transferência de massa externa desprezáveis e o processo é controlado pela reacção química à superfície entre o soluto e o adsorvente ainda disponível (Taty-Costodes *et al.*, 2005). Por esta razão a adsorção pode ser descrita por uma cinética quase-química:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = kC(q_s - q) \quad (\text{Eq. 66})$$

aonde q_s é a capacidade de saturação do material adsorvente (mg.g^{-1}) e k a constante de velocidade ($\text{L.mg}^{-1}.\text{s}^{-1}$).

A equação que representa este modelo resume-se a (Chu e Hashim, 2007; Han *et al.*, 2009):

$$\frac{C}{C_0} = \frac{\exp\left[kC_o\left(t - \frac{L}{u_i}\right)\right]}{\exp\left[kC_o\left(t - \frac{L}{u_i}\right)\right] + \exp\left[\frac{kq_s L}{u_i}\left(\frac{1 - \varepsilon}{\varepsilon}\right)\right] - 1} \quad (\text{Eq. 67})$$

em que C_0 é a concentração inicial de analito (mg.L^{-1}), L o comprimento do leito (cm), u_i a velocidade intersticial (cm.s^{-1}), ε a porosidade do leito e q_s é a capacidade de saturação do material adsorvente (mg.cm^{-3}).

Muitas vezes esta expressão pode ser simplificada assumindo que $t \gg L/u_i$ e considerando que $u = \varepsilon u_i$ e $N_0 = q_s(1 - \varepsilon)$, então:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{\exp(kC_0 t)}{\exp(kC_0 t) + \exp\left(\frac{kN_0 L}{u}\right) - 1} \quad (\text{Eq. 68})$$

em que u é a velocidade superficial (cm.s^{-1}) e N_0 a capacidade de saturação do adsorvente por unidade de volume do leito fixo (mg.cm^{-3}). Normalmente, este modelo é apenas utilizado para descrever a parte inicial das curvas de *breakthrough* ($C/C_0 < 0,15$) (Aksu e Gönen, 2004).

1.2.7.3.5.2. Modelo de BDST (Bed Depth Service Time)

Hutchins propôs uma modificação a este modelo de modo a que este fosse linearizável. Para tal, considerou que na Eq. 68 os termos exponenciais do denominador são sempre muito superiores à unidade. Logo, a equação transforma-se em:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp\left(\frac{kN_0 L}{u} - kC_0 t\right)} \quad (\text{Eq. 69})$$

Tal como o modelo de Bohart-Adams, esta expressão é apenas utilizada para descrever a parte inicial das curvas de ruptura (Suksabye *et al.*, 2008).

1.2.7.3.5.3. Modelo de Thomas

O modelo de Thomas é um dos mais utilizados para descrever o comportamento de adsorção em colunas de leito fixo. Este modelo assenta nos seguintes pressupostos: equilíbrio de adsorção-dessorção de Langmuir, inexistência de dispersão axial, cinética de segunda ordem reversível (Malkoc e Nuhoglu, 2006; Han *et al.*, 2009; Uddin *et al.*, 2009; Ahmad e Hameed, 2010). A maior limitação deste modelo estará relacionada com o facto do modelo se basear numa cinética de segunda ordem, surgindo desvios significativos quando a cinética que rege o processo é diferente ou quando a etapa controlante não é a reacção química. O modelo de Thomas pode então ser expresso por:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp\left[k_{Th} \left(\frac{q_e m_{ads}}{Q} - C_0 t\right)\right]} \quad (\text{Eq. 70})$$

em que, k_{Th} é a constante cinética de adsorção no modelo de Thomas ($\text{mL.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}$), q_e a concentração de equilíbrio de soluto na fase sólida (mg.g^{-1}), m_{ads} a massa de adsorvente que constitui o leito (g) e Q o caudal do efluente a tratar (mL.min^{-1}).

1.2.7.3.5.4. Modelo de Yoon-Nelson

Yoon e Nelson desenvolveram um modelo baseado no pressuposto de que a probabilidade de adsorção de uma molécula de adsorbato é inversamente proporcional à cobertura da superfície e à probabilidade de *breakthrough* do leito. Deste modo, a equação que descreve este modelo é expressa por (Han *et al.*, 2009; Ahmad e Hameed, 2010):

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + (t_{0,5}k_{YN} - k_{YN}t)} \quad (\text{Eq. 71})$$

aonde $t_{0,5}$ e k_{YN} representam tempo para o qual $C/C_0 = 0,5$ (min) e a constante cinética de adsorção no modelo de Yoon-Nelson (min^{-1}), respectivamente.

Este modelo tem a vantagem de não necessitar de informações sobre as características do adsorbato e do adsorvente, bem como das propriedades físicas do leito de adsorção.

1.2.7.3.5.5. Previsão das curvas de breakthrough

Utilizando os resultados obtidos nos estudos *batch* das isotérmicas é possível prever as curvas teóricas de *breakthrough*. Estas poderão ser determinadas através do seguinte procedimento (Kumar e Bandyopadhyay, 2006; Kumar e Chakraborty, 2009):

- (i) Traçar a linha de equilíbrio;
- (ii) Traçar a linha de operação no mesmo gráfico. Esta deverá passar pela origem e pelo ponto comum à linha de equilíbrio (C_0, q_e);
- (iii) A velocidade de transferência do adsorbato da solução para a fase sólida pode ser representada:

$$QdC = K_m(C - C_e)dh \quad (\text{Eq. 72})$$

em que, K_m é o coeficiente de transferência de massa global (que inclui a resistência no filme e a difusão nos poros) ($\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$), C_e é a concentração de equilíbrio do analito na solução ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e dh uma altura diferencial do leito (cm).

O termo $(C - C_e)$ corresponde à força motriz para a adsorção e pode ser determinada pela distância entre a linha de equilíbrio e a de operação, para qualquer valor de q_e . Integrando a equação anterior:

$$h_z = \frac{Q}{K_m} \int_{C_B}^{C_E} \frac{dC}{(C - C_e)} \quad (\text{Eq. 73})$$

em que h_z corresponde à altura da zona de transferência (cm), C_B a concentração do analito no efluente no ponto de *breakthrough* ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) e C_E a concentração do analito no efluente no ponto de exaustão ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

Representando $1/(C-C_e)$ em função de C é possível calcular o valor do integral através da determinação da área abaixo da curva entre o ponto de ruptura e exaustão. Para qualquer valor de h menor que h_z :

$$h = \frac{Q}{K_m} \int_{C_B}^C \frac{dC}{(C - C_e)} \quad (\text{Eq. 74})$$

Dividindo a Eq. 74 pela Eq. 73 obtém-se:

$$\frac{h}{h_z} = \frac{\int_{C_B}^C \frac{dC}{(C - C_e)}}{\int_{C_B}^{C_E} \frac{dC}{(C - C_e)}} = \frac{V - V_B}{V_E - V_B} \quad (\text{Eq. 75})$$

em que V_B e V_E são os volumes totais tratados até ao ponto de ruptura e de exaustão, respectivamente (cm^3) e V o volume de efluente tratado em qualquer ponto entre estes dois limites (cm^3).

Para cada valor de C é calculado $(V - V_B)/(V_E - V_B)$. A representação de C/C_0 em função da razão numérica anterior designar-se-á de curva teórica de *breakthrough*.

1.2.7.3.6. Factores que influenciam o processo

A quantidade de soluto removida de uma solução depende de diversas variáveis do processo como a concentração inicial do analito em estudo, quantidade de adsorvente, tempo de contacto, quantidade de solução a tratar, temperatura, pH, etc.

Os fenómenos de adsorção são normalmente exotérmicos, sendo por isso favorecidos pela diminuição da temperatura. Outro factor determinante no processo de adsorção é o pH. Este pode actuar quer a nível do soluto, quer ao nível da superfície do adsorvente. A actuação ao nível do soluto é bastante importante no caso em que os compostos são ionizáveis (diferentes valores de pK_a). Já a nível da superfície do adsorvente, a alteração do pH é mais relevante nas superfícies com comportamento anfotérico. A eficiência do processo de adsorção é extremamente afectada pelas propriedades do adsorvente (área superficial, porosidade, diâmetro de poros) (Estevinho *et al.*, 2006). Para além disso, depende da concentração dos contaminantes no efluente, mas também da concentração de matéria orgânica presente, uma vez que esta pode competir pelos sítios e superfícies disponíveis no adsorvente (Qi *et al.*, 2007).

Os outros parâmetros estão dependentes do sistema em estudo, não sendo possível indicar uma tendência destes sobre a eficiência do processo de adsorção.

1.2.7.3.7. Aplicações

Embora a adsorção seja um processo conhecido, nos últimos dez anos não têm sido realizados muitos estudos sobre a aplicabilidade desta tecnologia ao tratamento de águas contaminadas com antibióticos. Adams *et al.* (2002) e Méndez-Díaz *et al.* (2010) estudaram a adsorção em carvão activado de imidazoles, sulfonamidas e trimetoprim em sistema fechado. Nestes dois estudos, cerca de 90% dos antibióticos foram removidos. Um estudo similar foi desenvolvido por Kim *et al.* (2010), que investigaram a adsorção do trimetoprim, tendo obtido remoções superiores a 90%. Putra *et al.* (2009) compararam a capacidade de adsorção do carvão activado com a bentonite (argila), utilizando a amoxicilina. Nestes ensaios determinaram a isotérmica de equilíbrio (isotérmica de Langmuir: $q_{\text{máx}} = 47 \text{ mg.g}^{-1}$ para a bentonite e $q_{\text{máx}} = 190 \text{ mg.g}^{-1}$ para o carvão activado) e a cinética de adsorção (cinética de pseudo-segunda ordem: $q_e = 18 \text{ mg.g}^{-1}$, $k_2 = 3,77 \times 10^{-4} \text{ g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, pH = 7 para a bentonite e $q_e = 27 \text{ mg.g}^{-1}$, $k_2 = 0,0144 \times 10^{-4} \text{ g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, pH = 7 para o carvão activado; tempo de contacto = 40 min). Posteriormente utilizaram um efluente real de uma empresa farmacêutica contendo uma concentração inicial de antibiótico de 300 mg.L^{-1} e efectuaram o estudo de adsorção com 1,5 g de adsorvente. Tal como nos casos anteriores, a adsorção foi bastante eficiente (95% remoção para o carvão activado e 88% para a bentonite).

Chen e Huang (2010) analisaram a adsorção de três tetraciclins em óxido de alumínio. Os autores concluíram que cerca de 50% dos antibióticos foram adsorvidos, mas ao longo do processo os compostos sofreram transformações estruturais. Estas transformações terão sido catalisadas pelo próprio material adsorvente, facto que ainda não tinha sido determinado em análises anteriores.

Estes estudos demonstraram que a adsorção é um método efectivo na remoção de antibióticos de matrizes aquosas contaminadas. Ao contrário do que acontece para alguns dos estudos mencionados até ao momento, a adsorção é eficaz no tratamento de efluentes contendo elevadas concentrações de matéria orgânica e/ou de antibióticos.

Esta técnica possui a vantagem de remover os analitos em vez de produzir produtos intermediários que podem ser potencialmente mais perigosos (Putra *et al.*, 2009; Rivera-Utrilla *et al.*, 2009). Contudo, este processo não permite a remoção efectiva dos contaminantes, mas apenas a sua transferência para uma nova fase (adsorvente), onde estarão sob uma forma mais concentrada - produção de um novo resíduo. Este novo resíduo sólido terá de ser subsequentemente tratado (por exemplo, através de incineração).

1.2.7.4. Processos membranares

Os processos membranares são cada vez mais utilizados como processos de tratamento de efluentes, embora sejam pouco aplicados a águas contaminadas com antibióticos. Tal como na

adsorção, esta tecnologia não permite a remoção ou degradação dos contaminantes, mas apenas a sua transferência para uma nova fase (neste caso a membrana).

1.2.7.4.1. Osmose inversa, Nano e Ultrafiltração

A osmose inversa é um dos processos membranares mais estudados (Li *et al.*, 2004; Košutić *et al.*, 2007; Radjenović *et al.*, 2008). Este método difusivo é normalmente aplicado na remoção de moléculas e iões com dimensões elevadas de efluentes líquidos, através da aplicação de pressão na solução de um dos lados da membrana selectiva semi-permeável. Os contaminantes são retidos no lado pressurizado da membrana e o efluente tratado atravessa-a. No caso da osmose inversa, o fluxo ocorre contra o gradiente de concentrações. Esta metodologia é bastante eficiente na redução da concentração de sais dissolvidos, mas apresenta algumas limitações no tratamento de efluentes contendo compostos orgânicos.

O processo de osmose inversa está dependente das propriedades das membranas escolhidas, nomeadamente da sua estrutura (porosidade, resistência química, etc.). As membranas devem ser resistentes ao ataque químico e microbiológico e devem ser mecânica e estruturalmente estáveis durante longos períodos de tempo (Meyer *et al.*, 2003). Por estas razões, as membranas poliméricas são as mais utilizadas. Este tipo de processos não necessita de energia térmica, mas apenas energia eléctrica para alimentar uma bomba, são simples e possuem uma elevada eficiência energética. Contudo, esta técnica também possui desvantagens: as membranas são facilmente danificadas e são susceptíveis a ataques de agentes oxidantes.

Tal como mencionado anteriormente, os poros destas membranas não são capazes de bloquear todas as moléculas ($d_p = 1 \text{ nm}$). Por esta razão, os filtros de carbono são muitas vezes utilizados como técnica complementar (Binnie *et al.*, 2008). Para além disso, a osmose inversa é um processo moroso quando comparado com outras técnicas.

Tal como a osmose inversa, a nano e ultrafiltração são processos membranares (Li *et al.*, 2004; Košutić *et al.*, 2007; Koyuncu *et al.*, 2008; Radjenović *et al.*, 2008). Nestas técnicas a filtração ocorre em fluxo cruzado, permitindo uma separação selectiva dos compostos orgânicos do restante efluente sobre uma membrana semi-permeável. As membranas utilizadas neste processo são geralmente carregadas (grupos carboxílicos e sulfónicos) e, por isso, são os efeitos de repulsão iónica que dominam o processo. Tal como na osmose inversa, é a diferença de pressões entre a alimentação e o filtrado que constitui a força motriz destes processos (Košutić *et al.*, 2007), mas estas técnicas são capazes de remover moléculas de pequenas dimensões.

Existem alguns estudos sobre a aplicabilidade da osmose inversa, nano e ultrafiltração para a remoção de antibióticos. Na maioria dos estudos, as percentagens de remoção obtidas são superiores a 90% para qualquer uma das classes analisadas (Adams *et al.*, 2002; Kőšutić *et al.*, 2007;

Li *et al.*, 2004; Radjenović *et al.*, 2008). Koyuncu *et al.* (2008) obtiveram os valores mais baixos para a remoção de tetraciclinas (50-80%) e sulfonamidas (11-20%).

Tal como a adsorção, estas tecnologias possuem a desvantagem de produzir um novo resíduo sólido. Até ao momento, estas técnicas têm sido utilizadas em combinação com outras metodologias. A osmose inversa, nano e ultrafiltração são processos sensíveis à temperatura (este parâmetro afecta significativamente a pressão de alimentação da bomba e o fluxo hidráulico) e à matéria orgânica presente nas matrizes aquosas. A existência de elevadas concentrações de contaminantes limita a utilização destes processos devido à deterioração da membrana.

1.2.7.4.2. *Permuta iónica*

A permuta iónica é o processo no qual iões presentes numa superfície sólida de um adsorvente são permutados com iões presentes numa fase líquida. Neste processo os catiões são permutados com outros catiões e os aniões com outros aniões, mantendo-se a electroneutralidade em ambas as fases (Choi *et al.*, 2007). As membranas de permuta iónica podem ser consideradas de troca aniónica ou catiónica. As primeiras contêm grupos carregados positivamente na sua superfície ($-\text{NH}_3^+$, $-\text{NRH}_2^+$, $-\text{NR}_2\text{H}^+$, $-\text{NR}_3^+$) e por isso, permitem a passagem dos aniões. Já as membranas de permuta catiónica possuem grupos carregados negativamente ($-\text{SO}_3^-$, $-\text{COO}^-$, $-\text{PO}_3^{2-}$) e permitem a passagem de catiões. Dependendo da sua preparação, as membranas podem ser classificadas em homogéneas ou heterogéneas. Se os grupos carregados estão quimicamente ligados à matriz da membrana, então esta é classificada como homogénea. Se estes grupos estiverem fisicamente incorporados na matriz da membrana esta é considerada heterogénea (Xu, 2005). As membranas mais utilizadas são as poliméricas (resinas de estireno e acrílico) devido à sua estabilidade química e mecânica e à sua elevadas selectividade (Dickert, 2000). No entanto, estas podem também ser preparadas a partir de materiais inorgânicos, nomeadamente zeólitos, bentonite e sais fosfatados. Neste caso, as membranas, para além de serem mais caras, possuem poros de elevadas dimensões e propriedades electroquímicas que não favorecem o processo (Xu, 2005; Nagarale *et al.*, 2006).

Os sistemas de permuta iónica têm sido aplicados no tratamento de águas, nomeadamente de consumo. Todavia, este tipo de metodologia possui a desvantagem de as membranas necessitarem de ser lavadas e regeneradas ao fim de algum tempo de utilização. Outra questão importante é o aparecimento de incrustações nas membranas (*fouling*), que muitas vezes são irreversíveis (Üstün *et al.*, 2007). Por outro lado, este processo tem a vantagem de ser reversível, permitindo a utilização do mesmo adsorvente por longos períodos de tempo e de ser aplicado de forma semi-contínua. Devido à necessidade de regenerar o adsorvente, estes sistemas são normalmente projectados com várias unidades em paralelo de modo a assegurar uma continuidade do tratamento, quando uma ou mais colunas necessitam de regeneração.

Apenas dois artigos foram encontrados sobre a aplicação da troca iônica ao tratamento de efluentes contaminados com antibióticos. Adams *et al.* (2002) estudaram a aplicabilidade de uma resina polimérica para remover trimetoprim, carbadox e sulfonamidas de uma matriz aquosa, tendo verificado que este processo era ineficaz. Choi *et al.* (2007) também estudaram a aplicabilidade de uma outra resina polimérica na remoção de sulfonamidas e tetraciclinas. Os autores obtiveram elevadas taxas de remoção (90% para as sulfonamidas e >80% para as tetraciclinas), mas detectaram algumas interferências com compostos orgânicos. No contexto do tratamento de águas contaminadas com antibióticos, a permuta iônica é uma técnica pouco usada, sendo apenas eficaz na remoção de antibióticos que possuam grupos ionizáveis na sua estrutura.

1.2.7.5. Processos combinados

Tendo em conta que os processos devem ser aplicáveis industrialmente, é necessário estudar a sua integração de modo a maximizar a eficiência de tratamento. Surgem assim os processos combinados. Em alguns casos, os processos de degradação ou remoção não podem ser aplicados isoladamente. Este é o caso da biodegradação, uma vez que os microrganismos são sensíveis aos poluentes tóxicos. Por esta razão, os métodos avançados de oxidação têm sido utilizados como pré-tratamento, de modo a que os contaminantes sejam oxidados a compostos intermediários mais biodegradáveis e menos tóxicos, prevenindo a morte dos microrganismos no tratamento biológico subsequente (Tekin *et al.*, 2006). Uma situação similar é verificada com a osmose inversa, que muitas vezes é aplicada conjuntamente com filtros de carbono. A aplicação combinada da adsorção com métodos avançados de oxidação é também bastante frequente (Klavarioti *et al.*, 2009).

Zhang *et al.* (2006) estudaram a combinação da oxidação de Fenton com a osmose inversa na remoção de amoxicilina de um efluente de uma empresa farmacêutica (80 g.L⁻¹). Os autores começaram por efectuar uma extracção líquido-líquido com diclorometano de modo a removerem alguns dos compostos orgânicos presentes no efluente (nesta etapa 50% do carbono orgânico total foi removido). Seguidamente, efectuaram uma oxidação com reagente de Fenton (H₂O₂:Fe₂SO₄ = 5:1, T = 60 °C, pH = 3) conseguindo uma remoção de carbono orgânico total de 38%. Finalmente, os autores aplicaram um sistema de osmose inversa, atingindo 11% de remoção de COT e aumentando a biodegradabilidade do efluente. Sánchez-Polo *et al.* (2008) investigaram a aplicação simultânea da ozonólise e da adsorção na remoção de imidazoles. Os autores começaram por estudar o efeito da ozonólise no efluente contendo os antibióticos. Verificaram que 90-100% dos compostos foram degradados, mas que apenas 10-20% foram totalmente mineralizados e concluíram ainda que os produtos intermediários eram extremamente tóxicos. Contudo, os autores observaram um aumento na velocidade de degradação/remoção, bem como na taxa de mineralização (≈ 30%) e uma redução na toxicidade do efluente quando testaram a ozonólise na presença de carvão activado. Este

processo combinado permite tratar matrizes aquosas contendo elevadas concentrações de matéria orgânica (por exemplo, água residual municipal), o que não seria possível se se aplicasse apenas a ozonólise. Ötker *et al.* (2005) também realizaram um estudo sobre a aplicação combinada destas duas técnicas para remover enrofloxacin (quinolona). 80% do composto foi adsorvido no zeólito e subsequentemente foi totalmente degradado através da ozonólise. Augugliaro *et al.* (2005) estudaram a remoção da lincomicina através de um método combinado de fotocatalise heterógena com nanofiltração. A lincomicina foi totalmente oxidada e a etapa de nanofiltração permitiu a separação entre as partículas do catalisador e os produtos de degradação formados. Molinari *et al.* (2006) realizaram um estudo similar ao anterior, mas utilizando quinolonas. Neste caso, apenas 66% dos antibióticos foram degradados. Sirtori *et al.* (2009) estudaram a degradação de quinolonas através da combinação de um processo de foto-Fenton solar com um tratamento biológico. A eficiência global de remoção de carbono orgânico dissolvido foi de 95%, dos quais 33% foram obtidos por oxidação com foto-Fenton e 62% através da aplicação do tratamento biológico. As quinolonas foram totalmente degradadas e 90% foram mineralizadas. A aplicação da oxidação com foto-Fenton como método preliminar permitiu aumentar a biodegradabilidade do efluente, possibilitando a utilização posterior de um tratamento biológico. Apesar dos métodos combinados não serem muito aplicados, constituem um processo eficaz no tratamento de matrizes ambientais contaminadas com antibióticos.

1.2.7.6. Análise crítica dos métodos de remoção de antibióticos de matrizes aquosas

Tal como verificado anteriormente, a maioria dos tratamentos aplicados nos sistemas de tratamento de águas convencionais (ETAR's e ETA's) como a coagulação, floculação, sedimentação e filtração, é ineficaz na remoção de antibióticos (Adams *et al.*, 2002; Göbel *et al.*, 2007; Vieno *et al.*, 2007). Normalmente, os métodos biológicos também não podem ser aplicados devido à toxicidade dos efluentes para com os microrganismos. Por esta razão, novas metodologias tiveram de ser testadas, surgindo assim os métodos avançados de oxidação.

Actualmente, os métodos mais estudados para a remoção de antibióticos são a ozonólise e a oxidação de Fenton. Embora a ozonólise possa ser aplicada no tratamento de efluentes com caudais e composições variáveis, o elevado custo do equipamento e a quantidade de energia necessária constituem as maiores desvantagens deste processo. Vários estudos demonstraram que esta técnica é eficiente na remoção de antibióticos. Contudo, os efluentes tratados apresentam baixas taxas de mineralização (mesmo para longos tempos de tratamento) e a sua ecotoxicidade mantém-se praticamente inalterada ou até aumenta, indicando a produção de produtos intermediários mais tóxicos do que os compostos iniciais (Balcioğlu *et al.*, 2003; Arslan-Alaton *et al.*, 2004; Cokgor *et al.*,

2004; Andreozzi *et al.*, 2005; Arslan-Alaton e Coglayan, 2005 e 2006; Dantas *et al.*, 2008; Li *et al.* 2008).

A oxidação com reagente de Fenton (aplicado como sistema homogêneo) também tem sido bastante estudada. Este processo possui a desvantagem de produzir precipitados de oxihidróxidos (se a gama de pH de trabalho não for bem controlada) e do efluente necessitar de um tratamento secundário para se recuperar o catalisador. De modo a aumentar a eficiência da reação de oxidação, esta metodologia é combinada com radiação UV (foto-Fenton). No caso destas duas técnicas, são normalmente atingidas elevadas degradações, acompanhadas por mineralização e por um aumento na biodegradabilidade do efluente (Trovó *et al.*, 2008; Elmolla e Chaudhuri, 2009; Rozas *et al.*, 2010). Estas parecem constituir soluções adequadas ao tratamento de matrizes aquosas contendo antibióticos.

A adsorção é outra técnica que tem vindo a ser estudada como tratamento alternativo às técnicas de oxidação. Em todos os estudos mencionados anteriormente (Tabela 4), a adsorção surge como uma técnica bastante eficiente (remoções superiores a 80%), porém, possui a desvantagem de produzir um novo resíduo. A maior parte dos estudos realizados até ao momento utilizaram carvão activado como adsorvente. Este material é bastante dispendioso e, portanto, seria interessante estudar a aplicabilidade de materiais alternativos de baixo custo, nomeadamente resíduos agrícolas na remoção dos antibióticos. Estes tipos de adsorvente alternativos (casca de avelãs, coco, nozes, amêndoa, arroz, caroço de pêsego, etc) têm sido testados na eliminação de outros micropoluentes (Feng *et al.*, 2004; Pehlivan e Altun, 2008; Vieira *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2010; Rafatullah *et al.*, 2010).

Apesar dos métodos combinados não serem os mais estudados para a remoção de antibióticos, estes parecem ser os mais adequados, reduzindo drasticamente a toxicidade dos efluentes tratados (por exemplo, método de oxidação avançada combinado com tratamento biológico, processo membranas ou mesmo adsorção) (Augugliaro *et al.*, 2005; Ötoker *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006). No entanto, a maior complexidade, custos de operação e por vezes, a impossibilidade de serem utilizados de modo contínuo constituem as principais desvantagens destes métodos.

Uma questão importante para a escolha do método de remoção a utilizar prende-se com a concentração inicial do poluente. Na Tabela 4, pode verificar-se que a maioria dos estudos efectuados utilizou elevadas concentrações iniciais de antibióticos, as quais estão muito longe dos níveis detectados nas matrizes ambientais ($\text{ng}\cdot\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Por esta razão, a maioria dos estudos existentes na literatura apenas ilustram casos específicos (efluentes industriais das empresas farmacêuticas), faltando realizar estudos sobre a aplicabilidade dos processos anteriores aos níveis de concentração detectados no ecossistema.

1.3. Caso de estudo – A Amoxicilina

A amoxicilina é o antibiótico mais consumido em Portugal e um dos mais prescritos na Europa e nos Estados Unidos (Cha *et al.*, 2006; Ferech *et al.*, 2006). Este composto possui várias características que conduzem à sua pseudo-persistência e bioacumulação no meio ambiente. Alguns trabalhos demonstraram que a amoxicilina suscita efeitos tóxicos em organismos aquáticos (Pan *et al.*, 2008) e é suspeita de promover a formação de estirpes bacterianas resistentes. Por estas razões, o estudo da remoção de resíduos de amoxicilina do meio ambiente foi considerado importante, constituindo um caso de estudo bastante atractivo.

1.3.1. Caracterização físico-química

A amoxicilina ($C_{16}H_{19}N_3O_5S$) é um antibiótico β -lactâmico de largo espectro, pertencente à classe das penicilinas (Figura 10). É aplicada quer na medicina veterinária, quer na medicina humana no tratamento de infecções bacterianas (*Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, *Pneumococci*, *Streptococci* e algumas estirpes de *Staphylococci*). Este antibiótico actua através da inibição da síntese da parede celular das bactérias, que a protege do meio que as rodeia (Bebu *et al.*, 2011).

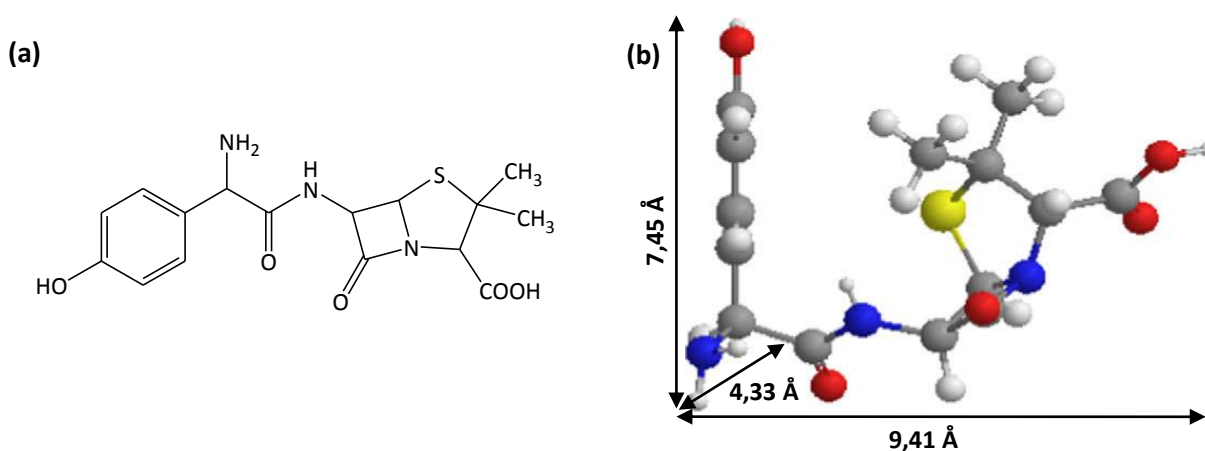


Figura 10. Estrutura química (a) e geometria tridimensional da molécula com indicação da respectiva dimensão (b) de amoxicilina (adaptado de Wang *et al.*, 2009).

Este antibiótico é um composto anfotérico, apresentando três constantes de dissociação (Figura 11). Para valores de pH entre 3 e 6, a amoxicilina encontra-se sob a forma de *zwitterion*, estando as suas formas iónicas em equilíbrio eléctrico (Goddard *et al.*, 1996).

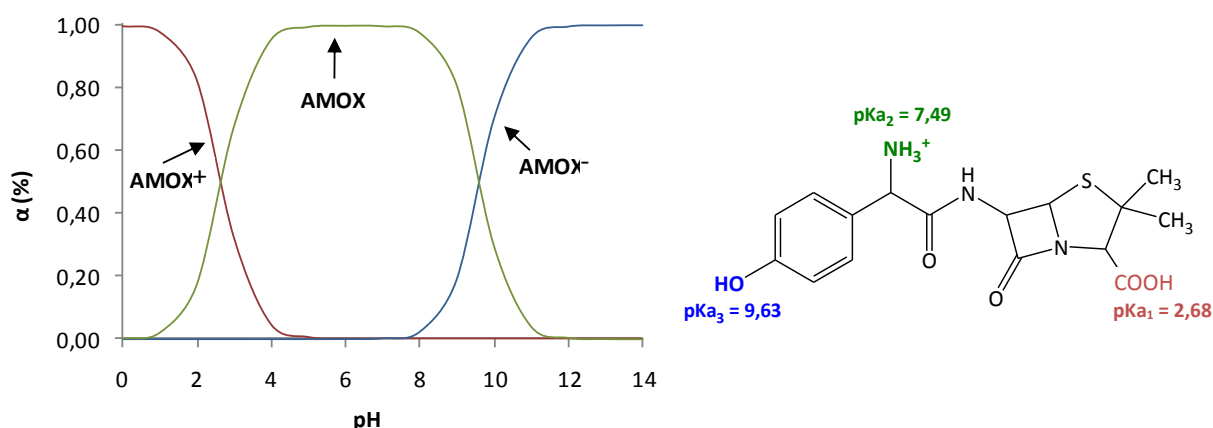


Figura 11. Diagrama de especiação da amoxicilina em função do pH.

Outras propriedades físico-químicas da amoxicilina encontram-se resumidas na Tabela 6.

Tabela 6. Propriedades físico-químicas da amoxicilina (Pavlović *et al.*, 2007).

Massa molar (mg.L^{-1})	365,41
Solubilidade em água a 20 °C (mg.L^{-1})	3430
Solubilidade em solventes orgânicos a 20 °C (mg.L^{-1})	
Metanol	7500
Etanol	3400
Coefficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$)	0,87
Coefficiente de partição carbono orgânico/água ($\log K_{oc}$)	2,94
Coefficiente de partição lama/água (K_d) (L.kg^{-1})	1,06
Constante de Henry a 20 °C	$2,73 \times 10^{-19}$

A existência de um anel β -lactâmico na molécula de amoxicilina torna-a susceptível a uma variedade de processos de degradação (Santos *et al.*, 2007).

1.3.2. Consumo

Tal como referido anteriormente, os antibióticos mais utilizados são as penicilinas. Dentro desta classe, a amoxicilina é um dos compostos mais prescritos na Europa e nos Estados Unidos (Cha *et al.*, 2006; Ferech *et al.*, 2006). De acordo com Bergman *et al.* (2009), na Europa o consumo deste antibiótico ronda as 1,58 – 3,28 DDD/1000 habitantes/dia. Em Portugal, cabe ao Infarmed divulgar anualmente os dados relativos ao mercado de medicamentos. Os dados relativos a embalagens vendidas de amoxicilina entre 2003 e 2009 encontram-se na Figura 12 (Infarmed, 2003 a 2009). Como se pode verificar, o seu consumo tem aumentado nos últimos anos.

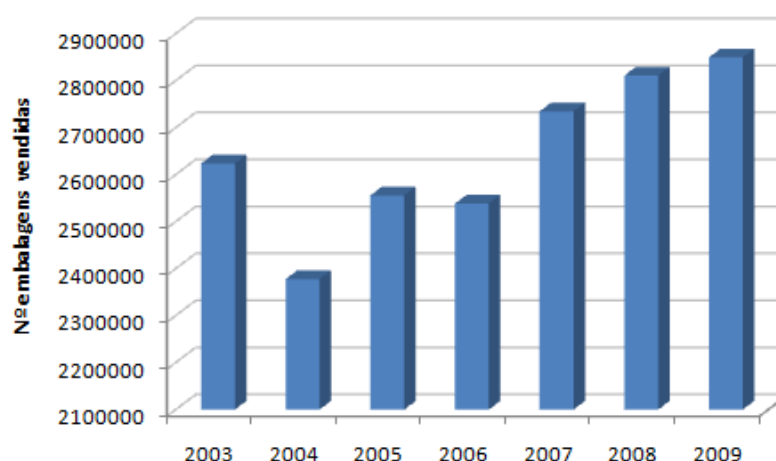


Figura 12. Número de embalagens vendidas de amoxicilina entre 2003 e 2009 em Portugal.

1.3.3. Legislação

Até ao momento ainda não existem limites legais estabelecidos para a amoxicilina em matrizes ambientais. Porém, o regulamento (CEE) n.º 2377/90 impõe um limite máximo para resíduos de amoxicilina em alimentos de origem animal: $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para tecidos comestíveis (músculo, tecido adiposo, fígado e rim) e $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ para leite.

1.3.4. Detecção e impacto ambiental

A amoxicilina é um dos antibióticos pertencente à classe das penicilinas mais prescrito em todo o mundo (Cha *et al.*, 2006; Ferech *et al.*, 2006). Quando esta é ingerida, apenas uma pequena percentagem é absorvida pelo organismo (cerca de 10-20%), sendo a remanescente excretada sob a forma original e/ou metabolizada através das fezes e da urina (Bound e Voulvoulis, 2004). As excreções são encaminhadas para o sistema de esgoto e subsequentemente descarregadas nas ETAR's (Cha *et al.*, 2006). Os efluentes provenientes da produção deste fármaco constituem outra via de contaminação bastante importante.

Devido à elevada solubilidade em água e baixa biodegradabilidade (Xu *et al.*, 2011) deste composto, a maioria das ETAR's não estão preparadas para o remover, acabando por a amoxicilina ser descarregada no meio ambiente (Díaz-Cruz *et al.*, 2003; Hernando *et al.*, 2006). Devido à sua pseudo-persistência e bioacumulação no ambiente, a amoxicilina pode provocar efeitos tóxicos, alterando o equilíbrio natural dos ecossistemas. A presença deste antibiótico nas águas e no solo pode despoletar reacções alérgicas ou até mesmo reacções toxicológicas graves (Rozas *et al.*, 2010). Vários autores verificaram que a amoxicilina provocava efeitos tóxicos em algas e microrganismos aquáticos (Lutzhof *et al.*, 1999; Pascoe *et al.*, 2003; Andreozzi *et al.*, 2004; Brain *et al.*, 2004; Pan *et*

al., 2008). Para além disso, a ocorrência da amoxicilina, bem como outros antibióticos, mesmo em baixas concentrações ($\mu\text{g}\cdot\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) tem promovido a formação de estirpes bacterianas resistentes (Bound e Voulvoulis, 2004; Hernando *et al.*, 2006). Alguma informação toxicológica está presente na Tabela 7.

Tabela 7. Informação toxicológica para a amoxicilina.

Tipo de organismo	Espécie	Dados de ecotoxicidade	Referências
Micro alga unicelular	<i>Pseudokircheriella subcapitata</i>	$\text{EC}_{50} > 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Andreozzi <i>et al.</i> , 2004
Micro alga	<i>Closterium ehrenbergii</i>	$\text{EC}_{50} > 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	
Cianobactéria	<i>Synechococcus leopoliensis</i>	$\text{NOEC} = 0,78 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{EC}_{50} = 2,22 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{LOEC} = 1,56 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
Cianobactéria	<i>Microcystis aeruginosa</i>	$\text{EC}_{50} (72 \text{ h}) = 3,7 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	Lutzhof <i>et al.</i> , 1999
Alga	<i>Selenastrum capricornutum</i>	$\text{NOEC} (72 \text{ h}) = 250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ $\text{EC}_{50} (72 \text{ h}) = 0,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	
Alga	<i>Rhodomonas salina</i>	$\text{EC}_{50} = 3108 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	
Invertebrado	<i>Daphnia magna</i>	$\text{EC}_{50} (48 \text{ h}) > 2300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	Ficha de segurança do produto (Greenstone LLC)
Peixe (<i>Bluegill Sunfish</i>)	<i>Lepomis macrochirus</i>	$\text{EC}_{50} (96 \text{ h}) > 930 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	
Peixe (<i>Rainbow Trout</i>)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	$\text{EC}_{50} (96 \text{ h}) > 1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	
Mamífero	Rato	$\text{LD}_{50} > 15 \text{ g}\cdot\text{Kg}^{-1}$	
Mamífero	Coelho	$\text{LD}_{50} > 12 \text{ g}\cdot\text{Kg}^{-1}$	

O uso intensivo da amoxicilina associado à dificuldade de ser metabolizada reforça de forma significativa a possibilidade de contaminação ambiental. Este antibiótico tem sido detectado em diversas matrizes ambientais (Tabela 8), embora em menor extensão do que seria esperado. Este facto pode estar relacionado, não só com os processos de degradação que podem ocorrer no meio ambiente, mas também com a falta de metodologias analíticas suficientemente sensíveis para detectar este composto em concentrações baixas (ao nível dos $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$).

Como se pode verificar pela observação da Tabela 8, a amoxicilina foi detectada na ordem dos $900 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ em águas hospitalares e entre 18 e $6940 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ em efluentes de ETAR's (saída e entrada). Já em águas de rio e águas marinhas, este composto tem sido detectado entre 2,1 e $1284 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ e 0,6 e $76 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. No entanto, não se encontraram estudos na literatura que refiram a detecção da amoxicilina em águas profundas ou de consumo e em sedimentos. Tendo em conta os valores do coeficiente de partição lama/água ($K_d = 1,06 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$) e o coeficiente de partição carbono orgânico/água ($\log K_{oc} = 2,94$) é expectável que a amoxicilina tenha tendência a ficar adsorvida nos sedimentos e nas lamas formadas nas ETAR's.

Tabela 8. Detecção da amoxicilina em diversas matrizes ambientais em todo o mundo.

Local	Matriz	Concentração (ng.L ⁻¹)	Referências
Alemanha (Westphalia)	Água superficial	2,5-6,0	Christian <i>et al.</i> (2003)
Reino Unido (Gales)	Água superficial	10-622	Kasprzyk-Hodern <i>et al.</i> (2007 e 2008)
Hong Kong (Victoria Harbour)	Água marinha	0,6-76	
	Efluente saída ETAR	60-1670	
Austrália (Queensland)	Água superficial	200	Watkinson <i>et al.</i> (2009)
	Efluente hospitalar	900	
	Efluente entrada ETAR	6940	
	Efluente saída ETAR	50	
Itália (Varese)	Água superficial	2,1	Zuccato <i>et al.</i> (2010)
	Efluente saída ETAR	18	
Hong Kong	Efluente entrada ETAR	54-1550	Leung <i>et al.</i> (2011)
	Efluente saída ETAR	64-1670	
Brasil (São Paulo)	Água superficial	1284	Locatelli <i>et al.</i> (2011)

1.3.5. Análise da amoxicilina em águas

Nas últimas décadas, tem ocorrido um aumento constante da consciencialização sobre as questões relacionadas com a protecção ambiental, nomeadamente sobre o impacto negativo da poluição (impacto directo na saúde ou indirecto através da contaminação dos alimentos ou dos meios abióticos). Esta preocupação crescente despoletou o desenvolvimento de novas técnicas analíticas capazes de identificar os contaminantes e medir a sua concentração nos diferentes meios em que se encontram. Estas novas metodologias analíticas possuem uma maior reprodutibilidade e repetibilidade, bem como limites de detecção mais baixos, permitindo a detecção a níveis vestigiais (Kot-Wasik *et al.*, 2006).

Na literatura estão descritas diversas metodologias analíticas para a determinação da amoxicilina em matrizes aquosas. A maioria dos estudos utiliza uma etapa preliminar de extracção (cujo objectivo é a remoção de interferentes e a pré-concentração da amostra) e uma etapa de análise cromatográfica.

1.3.5.1. Métodos de extracção

Existem diversos estudos que apontam diferentes metodologias de extracção de fármacos de matrizes aquosas, dependendo das características do analito em questão. Os métodos mais usuais de extracção são a extracção em fase sólida (*solid phase extraction* – SPE), microextracção em fase sólida (*solid phase microextraction* – SPME), extracção sorptiva em barra de agitação (*stir-bar sorptive extraction* – SBSE) e microextracção em fase líquida (*liquid-phase microextraction* – LPME)

(Pavlović *et al.*, 2007). Embora diversas técnicas tenham sido utilizadas na extracção de antibióticos de matrizes aquosas, tanto quanto é do conhecimento da autora, apenas a extracção em fase sólida (SPE) tem sido aplicada à análise de amoxicilina.

Na extracção em fase sólida (SPE), os analitos contidos numa matriz aquosa são extraídos conjuntamente com os compostos interferentes (*se existirem*), após passarem por um cartucho contendo uma fase sólida (adsorvente). Esta é geralmente constituída por partículas de pequenas dimensões porosas, nas quais sílica se encontra ligada a uma fase orgânica ou a um polímero orgânico, embora também existam adsorventes baseados em alumina e carvão grafitizado (Supelco, 1998). Esta tecnologia apresenta vantagens em relação aos métodos clássicos: é uma técnica mais rápida e, geralmente, mais eficiente (em termos de % recuperação), envolve um menor manuseamento, reduzindo as probabilidades de perdas e/ou contaminações, permitindo um maior reprodutibilidade nos resultados e a quantidade de solventes utilizada é bastante inferior à necessária para proceder a LLE.

Tal como mencionado anteriormente, em SPE os solutos são extraídos da fase aquosa para uma fase sólida. Existem diferentes tipos de SPE, tendo em conta as interacções estabelecidas entre a matriz líquida e o adsorvente: SPE em fase reversa (extracção de analitos orgânicos polares ou hidrofóbicos de matrizes aquosas), SPE em fase normal (extracção de analitos polares de solventes orgânicos não-polares) e SPE em permuta iónica (extracção de analitos carregados de amostras aquosas ou de solventes orgânicos não-polares).

As principais etapas do processo de extracção de SPE são (Poole *et al.*, 2000):

- (i) **Condicionamento** - antes de se iniciar a retenção dos analitos pela fase estacionária, o leito do adsorvente deve ser preparado de modo a tornar-se compatível com a solução;
- (ii) **Retenção** – a amostra líquida a extrair atravessa a coluna de SPE através da aplicação de pressão ou da utilização de uma bomba. O fluxo deve ser constante e ter em conta as dimensões da coluna e das partículas que constituem o adsorvente;
- (iii) **Lavagem** – esta é efectuada de modo a remover interferentes que se encontrem co-adsorvidos na matriz sólida das colunas de SPE. A remoção de iões inorgânicos do adsorvente sólido pode ser realizada com água, embora a remoção de outros interferentes que se encontrem fracamente adsorvidos tenha de ser realizada com água com 5 – 20% de solvente orgânico adequado. Esta etapa pode ser eliminada ou substituída por uma fase de secagem com vácuo ou com um baixo fluxo de um gás;
- (iv) **Eluição** – nesta fase os analitos adsorvidos são removidos da fase sólida e retornam à fase líquida, recorrendo a solventes orgânicos como eluentes. Estes devem eluir completamente os analitos presentes na fase sólida, utilizando o menor volume possível. O solvente de eluição deve

ser adicionado lenta e cuidadosamente ao adsorvente e deve ser compatível com os métodos analíticos que se vão utilizar posteriormente.

Na Tabela 9, encontram-se resumidas as principais condições de extracção (através de SPE) e de análise para a amoxicilina em águas.

Sacher *et al.* (2001) desenvolveram diferentes métodos para detectar cerca de 60 fármacos em águas profundas. Entre os compostos analisados encontra-se a amoxicilina. Para a sua análise utilizaram cartuchos de SPE Isolut ENV⁺, cuja fase estacionária é fortemente apolar. Os autores obtiveram cerca de 36% de recuperação. Tal situação estará relacionada com o facto de estes cartuchos serem indicados para a extracção de compostos extremamente polares. Lindberg *et al.* (2004) desenvolveram e validaram uma metodologia analítica para antibióticos que representassem diferentes classes. Para tal utilizaram cartuchos de SPE C₂/ENV⁺, apropriados para a extracção de compostos polares (ácidos, bases e compostos não ionizáveis). Estes autores obtiveram recuperações para a amoxicilina entre os 45 e os 103% dependendo do pH inicial da amostra.

Alguns autores estudaram também a eficácia de colunas de troca iónica, uma vez que a molécula de amoxicilina é ionizável e anfotérica, podendo comportar-se como um ácido ou como uma base dependendo do valor de pH. As colunas de fase catiónica (SCX) são apropriadas para a extracção de bases, enquanto as de fase aniónica (SAX) para a extracção de ácidos. Castiglioni *et al.* (2005) e Kasprzyk-Horden *et al.* (2007) estudaram a extracção da amoxicilina usando as colunas de troca catiónica. Em ambos os casos, antes de efectuarem a passagem da amostra pelas colunas ajustaram o pH a 2,0-2,5. A esse valor, a amoxicilina estaria 83% na forma -COOH/-NH₃⁺/-OH e 17% na forma -COO⁻/-NH₃⁺/-OH, podendo estabelecer interacções com a fase estacionária. Benito-Peña *et al.* (2006) estudaram a aplicabilidade das colunas de troca aniónica. De modo a criarem afinidade do composto para com a fase estacionária, ajustaram o pH da amostra a 7,5. A esse valor, a amoxicilina estaria 50% na forma -COO⁻/-NH₃⁺/-OH e 50% na forma -COO⁻/-NH₂/-OH. Os resultados destes ensaios revelaram que as colunas de fase aniónica conduziram a percentagens de recuperação ligeiramente superiores às de fase catiónica.

Na maioria dos estudos efectuados com amoxicilina, os autores optaram por estudar a eficiência das colunas de fase reversa apropriadas para compostos quer hidrofílicos, quer lipofílicos (HLB). Dependendo do modo como é efectuado o condicionamento e a eluição e dos possíveis interferentes existentes na amostra inicial foi possível atingir-se recuperações de 98%. Existem ainda alguns autores que estudaram a possibilidade da aplicação de dois tipos distintos de colunas sequencialmente ou em série, de modo a removerem numa primeira fase possíveis interferentes que pudessem prejudicar a análise subsequente (Bailón-Pérez *et al.*, 2008 e Locatelli *et al.*, 2011).

Tabela 9. Metodologias analíticas para a quantificação e detecção da amoxicilina em matrizes aquosas.

Matriz	Método analíticos	Pré-tratamento	Fase estacionária	Procedimento de extração		Coluna analítica	Fase móvel	% Rec	LD ou LQ* (ng.L ⁻¹)	Referências
Água superficial e de consumo	SPE LC-MS/MS	V _{amostra} = 500 mL pH = 5 (HCl) 1,3 g Na ₂ EDTA	Isolut ENV ⁺ (100 mg/3 mL)	Condicionamento: ---		Nucelosil 120-3-C18 (2 mm x 250 mm; 3 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O (2 mM formiato de amónio) 2. CH ₃ CN / CH ₃ OH (2:1 contendo 2 mM formiato de ammónio)	36%	4,6	Sacher <i>et al.</i> (2001)
				Lavagem: ---						
				Eluição:	5 mL CH ₃ CN 5 mL 90% CH ₃ CN:9,5% H ₂ O: 0,5% trietilamina					
				Evaporação:	N ₂					
				Retoma:	100 µL sol. 5% CH ₃ CN e 95% acetato de amónio 20 mM					
Água residual hospitalar	SPE LC-MS/MS	V _{amostra} = 200-500 mL pH = 3 (H ₂ SO ₄) ou pH neutro	C ₂ /ENV ⁺ (1 g/6 mL)	Condicionamento: 5 mL CH ₃ OH 5 mL 50% H ₂ O/50% CH ₃ OH 5 mL H ₂ O (pH = 3)		YMC Hydrosphere C18 (4,6 mm x 150 mm; 5 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O (0,1% HCOOH) 2. CH ₃ CN (0,1% HCOOH)	45-103%	0,37	Lindberg <i>et al.</i> (2004)
				Lavagem: 5 mL H ₂ O (pH = 3)						
				Eluição:	5 mL trietilamina 5% em CH ₃ OH					
				Evaporação:	N ₂ (até 20 µL)					
				Retoma:	1 mL sol. H ₂ O/CH ₃ CN (95%:5%)					
Água superficial e de consumo	MEKC-DAD	---	---	Injecção directa		Capilar de sílica (50 cm x 75 µm)	Electrólito: 100 mM dodecil sulfato de sódio em 40 mM tetraborato de sódio (pH = 8,5)	----	26000	Nozal <i>et al.</i> (2004)
Água residual urbana	SPE LC-MS/MS	V _{amostra} = 500 mL pH = 2,0 (HCl) 0,5 g Na ₂ EDTA	Oasis MCX (60 mg/3 mL)	Condicionamento: 6 mL CH ₃ OH 3 mL H ₂ O ultra pura 3 mL H ₂ O acidificada (pH = 2)		LUNA C8 (2 mm x 50 mm; 3 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O acidificada (0,1% HCOOH) 2. CH ₃ CN	36%	2,1*	Castiglioni <i>et al.</i> (2005)
				Lavagem: ---						
				Eluição:	2 mL CH ₃ OH 2 mL sol. NH ₄ ⁺ 2% CH ₃ OH 2 mL sol. NaOH 0,2% CH ₃ OH					
				Evaporação:	Ar					
				Retoma:	100 µL CH ₃ COOH 0,01%					

Tabela 9. Metodologias analíticas para a quantificação e detecção da amoxicilina em matrizes aquosas (*continuação*).

Matriz	Método analíticos	Pré-tratamento	Fase estacionária	Procedimento de extração		Coluna analítica	Fase móvel	% Rec	LD ou LQ* (ng.L ⁻¹)	Referências
Água residual	SPE HPLC-DAD	V _{amostra} = 250 mL pH = 7,5	Oasis MAX (500 mg/6 mL)	Condicionamento:	20 mM 6 mL CH ₃ OH 6 mL H ₂ O ultrapura 6 mL tampão fosfato 0,05 M (pH = 7,5)	LUNA C18 (4,6 mm x 150 mm; 5 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O acidificada (0,01% TFA) 2. CH ₃ CN acidificado (0,01% TFA)	39-76%	5900	Benito-Peña <i>et al.</i> (2006)
				Lavagem:	6 mL tampão fosfato (pH = 7,5), contendo 5% CH ₃ OH					
				Eluição:	2 x 1 mL 0,05 M TBA em CH ₃ OH					
				Evaporação:	---					
				Retoma:	Diluição 1:1 com água					
Água superficial e residual	SPE LC-MS/MS	V _{amostra} = 200 mL 1 mL sol. 5% Na ₂ EDTA	Oasis HLB (60 mg/3 mL)	Condicionamento:	3 mL CH ₃ OH 3 mL 0,5 N HCl 3 mL H ₂ O desionizada	MS C18 (2,1 mm x 50 mm; 2,5 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O acidificada (0,1% HCOOH) 2. CH ₃ OH / CH ₃ CN	10-33%	Não quantificada (%Rec < 60%)	Cha <i>et al.</i> (2006)
				Lavagem:	3 mL H ₂ O desionizada					
				Eluição:	3 mL CH ₃ OH					
				Evaporação:	N ₂ (até 50 µL)					
				Retoma:	70 µL H ₂ O (0,1% HCOOH)					
Água superficial	SPE UPLC-MS	V _{amostra} = 1 L pH = 2,5; HCl 0,5 g Na ₂ EDTA	Oasis MCX (60 mg/3 mL)	Condicionamento:	2 mL CH ₃ OH 2 mL H ₂ O (pH = 2,1; HCOOH)	ACQUITY UPLC BEH C18 (1 mm x 100 mm; 1,7 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O acidificada (0,5% CH ₃ COOH) 2. CH ₃ CN acidificado (0,5% CH ₃ COOH)	41-53%	2,5	Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> (2007)
				Lavagem:	2 mL H ₂ O (pH = 2,4)					
				Eluição:	1 mL CH ₃ OH 2 mL NH ₄ OH 5% em CH ₃ OH					
				Evaporação:	TurboVap					
				Retoma:	500 µL 94,5% H ₂ O, 5% CH ₃ OH e 0,5% CH ₃ COOH					

Tabela 9. Metodologias analíticas para a quantificação e detecção da amoxicilina em matrizes aquosas (*continuação*).

Matriz	Método analíticos	Pré-tratamento	Fase estacionária	Procedimento de extracção		Coluna analítica	Fase móvel	% Rec	LD ou LQ* (ng.L ⁻¹)	Referências
Água superficial	SPE MECK-LIF	V _{amostra} = 50 mL pH = 5,5	Amberlite IRA-93 (200 mg/6 mL)	Condicionamento:	5 mL H ₂ O ultra pura (pH = 5,5)	Capilar de sílica (50 cm x 50 µm)	Electrólito: 15 mM dodecil sulfato de sódio em 35 mM tetraborato de sódio (pH = 9,3; 0,5 M HCl)	96,4	45	Serrano e Silva (2007)
				Lavagem:	---					
				Eluição:	500 µL tampão de derivatização					
				Evaporação:	----					
				Retoma:	----					
Água superficial, profunda, marinha	SPE LC-MS/MS	V _{amostra} = 1 L pH = 3; H ₂ SO ₄ 0,2 g Na ₂ EDTA	Oasis MAX (500 mg/6 mL)	Condicionamento:	6 mL CH ₃ OH 6 mL H ₂ O ultra pura 6 mL 10 mmol.L ⁻¹ Na ₂ EDTA	ODS-P (4,6 mm x 250 mm; 3,5 µm)	Eluição com gradiente 1. CH ₃ CN 2. H ₂ O acidificada (0,2% HCOOH)	61-64%	3,2-20*	Xu <i>et al.</i> (2007)
				Lavagem:	10 mL H ₂ O ultra pura (pH = 3)					
				Eluição:	3 x 2 mL CH ₃ OH					
				Evaporação:	N ₂ (até 20 µL)					
				Retoma:	980 µL sol. CH ₃ OH a 40%					
Água superficial, profunda, residual	SPE CE-UV	V _{amostra} = 100 mL	(A) Oasis HLB (60 mg/3 mL) (B) Alumina N (500 mg/3 mL)	Condicionamento:	(A) 2 mL CH ₃ OH 3 mL CH ₃ CN 5 mL H ₂ O desionizada (B) 5 mL H ₂ O desionizada 5 mL CH ₃ CN	Capilar de sílica (64,5 cm x 75 µm)	Electrólito: 175 mM tris(hidroximetil)aminometano (pH = 8; 1 M HCl contendo 20% etanol)	94-97%	800	Bailón-Pérez <i>et al.</i> (2008)
				Lavagem:	---					
				Eluição:	(A) 6 mL CH ₃ CN (B) 3 mL H ₂ O desionizada					
				Evaporação:	N ₂					
				Retoma:	3 mL H ₂ O desionizada					
Água residual	HPLC-DAD	---	---	Injecção directa		Purospher Star C18 (4 mm x 250 mm; 5 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O acidificada (pH = 2,5; ácido o-fosfórico) 2. CH ₃ CN	---	14000	Teixeira <i>et al.</i> (2008)

Tabela 9. Metodologias analíticas para a quantificação e detecção da amoxicilina em matrizes aquosas (*continuação*).

Matriz	Método analíticos	Pré-tratamento	Fase estacionária	Procedimento de extracção		Coluna analítica	Fase móvel	% Rec	LD ou LQ* (ng.L ⁻¹)	Referências
Água residual, marinha, superficial	SPE LC-MS/MS	V _{amostra} = 200 - 500 mL 10 mL sol. 5% Na ₂ EDTA pH = 3; HCOOH	Oasis HLB (200 mg/6 mL)	Condicionamento:	4 mL metanol 4 mL H ₂ O ultra pura	XBridge C18 (2,1 mm x 50 mm; 5 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O acidificada (10 mM HCOOH) 2. CH ₃ OH acidificado (10 mM HCOOH)	87-98%	0,35-13	Minh <i>et al.</i> (2009)
				Lavagem:	2 x 2 mL H ₂ O ultra					
				Eluição:	2 x 2 mL metanol					
				Evaporação:	N ₂ (<500 µL)					
				Retoma:	500-2000 µL H ₂ O					
Água superficial, residual, consumo	SPE LC-MS/MS	V _{amostra} = 100 – 1000 mL pH = 3; H ₂ SO ₄	Oasis HLB (200 mg/6 mL) (500 mg/ 6 mL)	Condicionamento:	---	Synergi Hydro RP (2 mm x 50 mm; 4 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O acidificada (0,1% HCOOH) 2. CH ₃ OH	< 60%	14000	Watkinson <i>et al.</i> (2009)
				Lavagem:	3 mL sol.CH ₃ OH 5%					
				Eluição:	2 x 2 mL CH ₃ OH					
				Evaporação:	Adição de 500 µL de H ₂ O ultrapura N ₂ (até 500 µL)					
				Retoma:	1mL H ₂ O ultrapura					
Água superficial	SPE LC-MS/MS	V _{amostra} = 1L pH = 2,4; HCl 0,2 g Na ₂ EDTA	Cartuchos em série.	Condicionamento:	6 mL CH ₃ OH 6 mL H ₂ O ultra pura 6 mL HCl (pH = 2,4)	Zorbax SB-C18 (2,1 mm x 30 mm; 5 µm)	Eluição com gradiente 1. H ₂ O acidificada (0,1% HCOOH) 2. CH ₃ OH acidificado (0,1% HCOOH)	17-18%	1,4	Locatelli <i>et al.</i> (2011)
			Strata SAX (500 mg/3mL)	Lavagem:	6 mL H ₂ O desionizada					
			Oasis HLB (500 mg/6 mL)	Eluição:	6 mL CH ₃ OH					
				Evaporação:	N ₂					
				Retoma:	1 mL sol. 90% H ₂ O (0,1 % HCOOH) /10% CH ₃ OH					

1.3.5.2. *Métodos de análise instrumental*

Na literatura estão descritas algumas metodologias analíticas (Tabela 9) para a determinação da amoxicilina em matrizes aquosas, especialmente baseadas na cromatografia em fase líquida (HPLC). Nesta técnica os compostos existentes numa amostra são separados numa coluna contendo um material adsorvente como enchimento, de acordo com os coeficientes de partição (fase móvel/ fase estacionária da coluna) de cada composto. Os métodos de cromatografia líquida são, sem dúvida, os mais aplicados na quantificação deste antibiótico. Os detectores de ultravioleta (UV) e de díodos (DAD) têm sido bastante utilizados devido à maior disponibilidade deste tipo de equipamento, e sobretudo, devido à facilidade, rapidez e baixo custo associado à sua utilização. Os detectores de fluorescência (FL) são igualmente aplicados na análise da amoxicilina, mas é necessário efectuar uma etapa prévia de derivatização, uma vez que este antibiótico não possui características fluorescentes. Existem também vários trabalhos que recorrem à detecção por espectrometria de massa (LC-MS). Esta técnica fornece informações importantes sobre o peso molecular, estrutura, identificação, quantidade e pureza de uma amostra através dos espectros de massa gerados. Embora esta técnica constitua uma ferramenta poderosa em análise qualitativa e quantitativa, o seu elevado custo e o tempo de operação ainda constituem um problema (Teixeira *et al.*, 2008). Uma abordagem mais aprofundada sobre os princípios de LC-MS será efectuada no tópico 1.3.5.3.

Para além destas metodologias, têm surgido alguns métodos alternativos para a análise da amoxicilina em matrizes aquosas, como é o caso da electroforese capilar de zona (CZE) e da cromatografia electrocinética micelar (MEKC). Nestas técnicas de electroforese capilar a separação de diferentes espécies iónicas ocorre numa solução electrolítica presente num capilar estreito de sílica. As extremidades do capilar encontram-se imersas na solução electrolítica, bem como dois eléctrodos ligados a uma fonte de alta tensão. A amostra é introduzida no capilar e com a aplicação de alta voltagem, os compostos presentes na amostra são separados de acordo com a sua mobilidade electroforética. Na verdade, os iões podem ser separados quando a sua razão carga/tamanho são diferentes. Antes de estes atingirem a outra extremidade do capilar, as bandas de analito separadas são detectadas directamente através da parede do capilar (condutividade, absorvância, espectros de massa) (Zacharis, 2009). Estas técnicas são vantajosas a nível de rapidez de análise, quantidade de amostra utilizada, elevada eficiência de separação (Nozal *et al.*, 2004; Serrano e Silva, 2007; Bailón-Pérez *et al.*, 2008) e possibilidade de automatização do processo (Bailón-Pérez *et al.*, 2008). No entanto, têm sido mais aplicadas na determinação de antibióticos em amostras farmacêuticas.

1.3.5.3. Princípios gerais de LC-MS

O LC-MS é uma técnica hifenada que combina a capacidade de separação do HPLC com a de detecção do espectrómetro de massa (Figura 13). A aplicação desta metodologia necessita da utilização de uma interface de modo a eliminar o solvente e gerar iões em fase gasosa, mantendo o nível de vácuo necessário para que o espectrómetro de massa funcione correctamente.

Actualmente, a maioria dos equipamentos utiliza ionização a pressão atmosférica (API) (Water Corporation, 2008). Neste caso, a eliminação do solvente e as etapas de ionização ocorrem na fonte, a pressão atmosférica. O princípio de funcionamento da API consiste na nebulização do efluente líquido numa câmara de vaporização a pressão atmosférica seguido do seu transporte como feixe molecular para a zona de alto vácuo do MS (Sheehan e Baars, 2007).

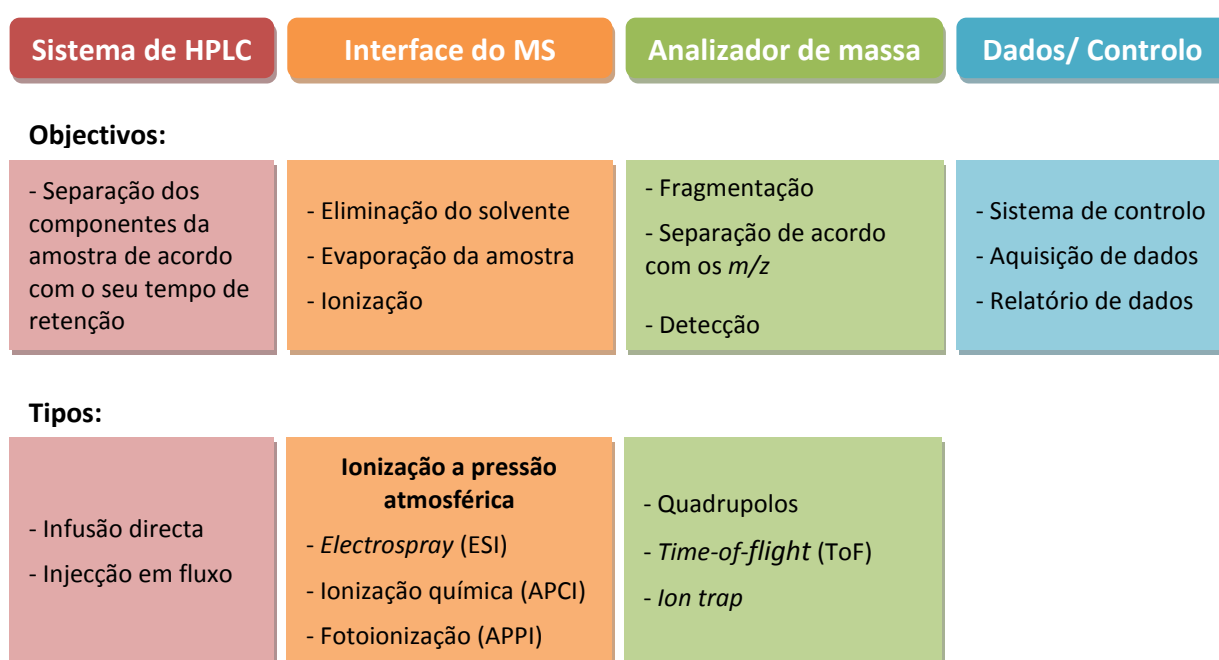


Figura 13. Módulos de um sistema de LC-MS (adaptado de Sheehan e Baars, 2007).

Hoje em dia, a maioria das aplicações envolve ionização por *electrospray* (ESI) e ionização química (APCI). Na ionização por *electrospray*, a amostra proveniente da coluna de HPLC passa por uma agulha, que está rodeada por N_2 gasoso e que é sujeita a uma voltagem elevada. A corrente líquida é nebulizada em pequenas gotículas de carga positiva ou negativa (formação de um aerossol) que são lançadas na câmara de ionização. Os analitos nebulizados são então dessolvatados através do gás de secagem. À medida que as gotículas vão diminuindo de tamanho devido à evaporação do solvente, o campo eléctrico à sua superfície vai aumentando. A determinada altura as repulsões de Coulomb entre as cargas superficiais excedem as forças coesivas devido à tensão superficial e as gotículas rebentam (explosão de Coulomb), formando micro-gotículas carregadas (Hoffmann e Stroobant, 2007). Nesta etapa final não existe um consenso entre diversos autores. Alguns sugerem que os iões

de analito são transferidos para a fase de vapor através da evaporação das gotículas (modelo *charge-residue*), enquanto outros defendem que a sua formação ocorrerá devido à intensidade do campo eléctrico ser suficiente para as desorver para a fase gasosa (modelo *ion-evaporation*) (Niessen, 1999). Neste momento, os iões em fase gasosa são atraídos para o capilar e atravessam-no chegando ao analisador de massa (Figura 14).

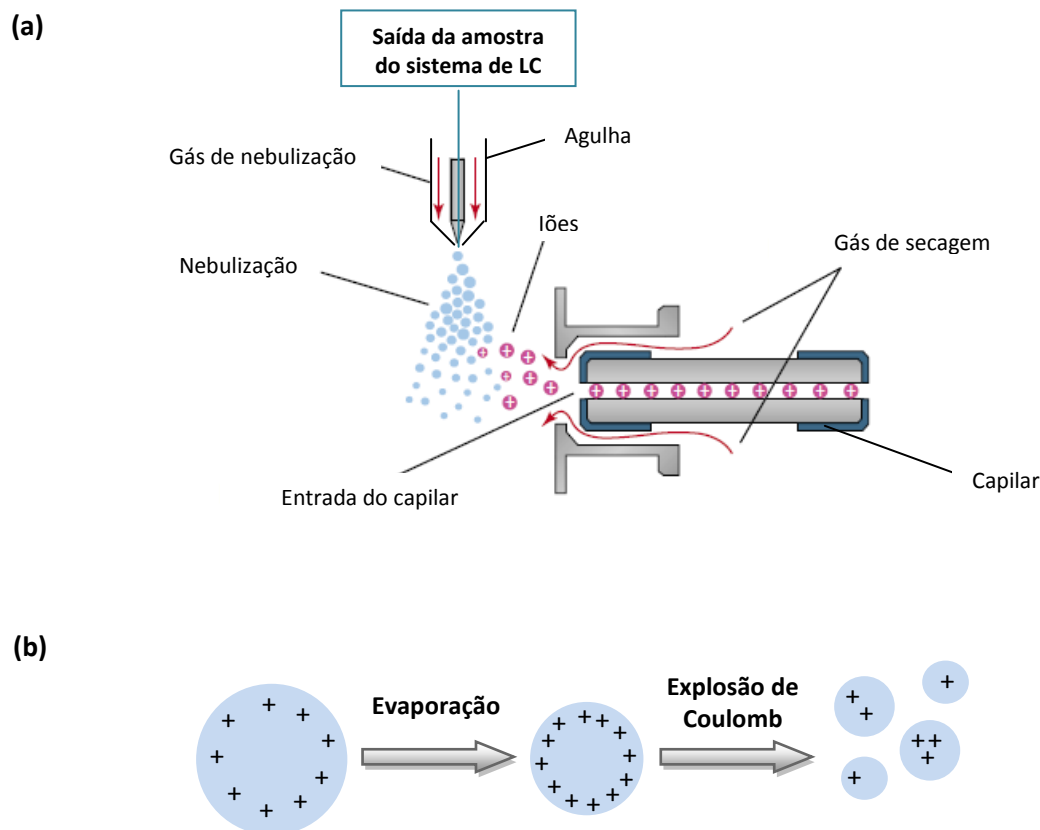


Figura 14. Diagrama de **(a)** fonte de ionização por *electrospray*, **(b)** deformação e explosão de Coulomb (adaptado de Agilent Technologies, 2001).

No caso da ionização química, a amostra proveniente da coluna de HPLC é aquecida à pressão atmosférica num vaporizador a 250 °C – 400 °C, sendo pulverizada. As moléculas de solvente em fase gasosa são então ionizadas pelos electrões gerados numa agulha de corona. Os iões de solvente transferem a sua carga para as moléculas de analito através de reacções químicas (ionização química). Estes são atraídos para o capilar e atravessam-no chegando ao analisador de massa (Figura 15).

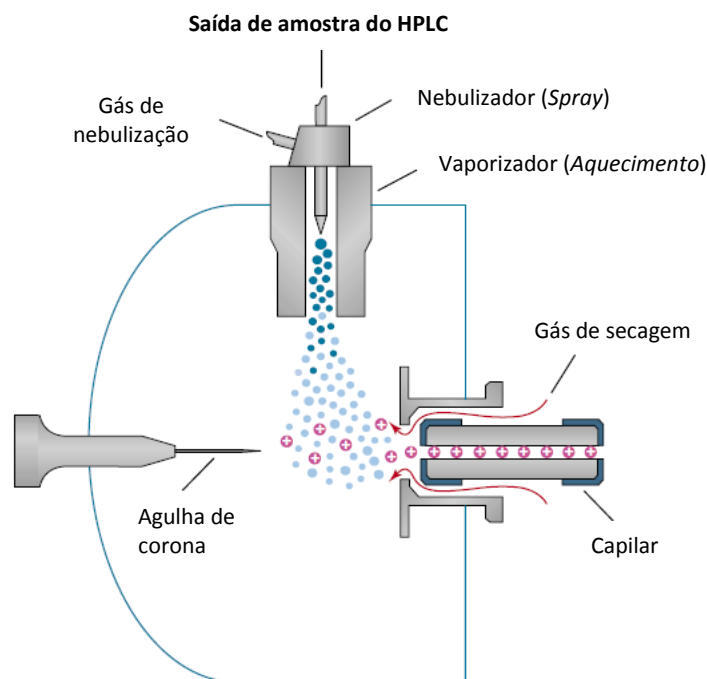


Figura 15. Diagrama da fonte de ionização por ionização química (adaptado de Agilent Technologies, 2001).

Os analisadores mais utilizados neste tipo de instrumentos são os quadrupolos, *ion-trap*, *time-of-flight* (ToF) e combinações dos anteriores, como é o caso dos quadrupolos triplos (QqQ).

Os quadrupolos são os analisadores mais utilizados devido à sua facilidade de utilização, boa linearidade em trabalhos quantitativos, elevada resolução, qualidade dos espectros obtidos e custo (Figura 16). Estes analisadores são compostos por quatro rolos de secção circular ou hiperbólica, posicionados paralelamente numa conformação radial (Hoffmann e Stroobant, 2007). Um par de rolos possui um potencial eléctrico positivo (actua como filtro para massas elevadas) e o outro negativo (actua como filtro para massa baixas). A estes rolos é aplicado um potencial de corrente contínua (DC) e uma voltagem de corrente variável (RF), gerando assim campos electromagnéticos. Esses campos permitem que os iões com uma determinada razão massa carga (m/z) sigam uma trajectória tal que passem pelo centro do quadrupolo, chegando ao detector. Os outros iões são destabilizados e chocam com os rolos do quadrupolo (Agilent Technologies, 2001; Water Corporation, 2008).

Os analisadores quadrupolos podem ser utilizados em modo de varrimento (*Scan*) ou *single ion monitoring* (SIM). Em modo *Scan* o analisador monitoriza uma gama de razões massa carga (m/z), alterando a amplitude entre as voltagens DC e RF em rampa. Já em modo SIM estes parâmetros estão fixos e por isso permitem monitorizar uma massa específica ou uma selecção de massas. Deste modo permite obter uma sensibilidade bastante elevada.

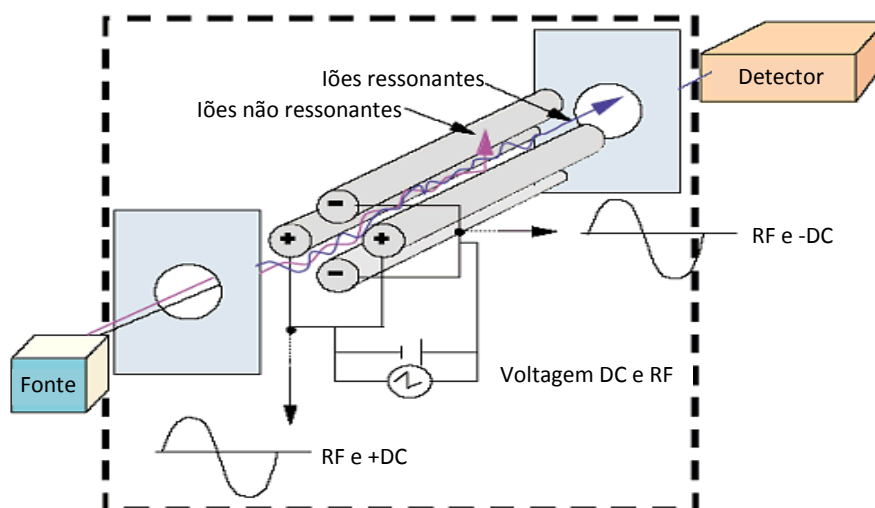


Figura 16. Diagrama de um quadrupolo simples (adaptado de Waters Corporation, 2008).

O princípio de funcionamento dos analisadores *ion-trap* analisadores é armazenar iões num dispositivo constituído por um eléctrodo de anel e dois eléctrodos *end-cap*. Os iões vão sendo introduzidos na *trap* através de pulsos e são estabilizados através da aplicação de uma voltagem RF no eléctrodo de anel. Para se obter uma eficiência máxima os iões devem estar localizados no centro, aonde os campos são mais fortes. Para tal é necessário introduzir-se um gás (*damping gas* – hélio) que colide com os iões e arrefece os ejetados, alterando as suas oscilações até que estes se tornem estáveis (Waters Corporation, 2008). Efectuando variações na voltagem RF e/ou aplicando voltagens suplementares nos eléctrodos *end-cap* é possível: ejectar progressivamente da *trap* iões, manter na *trap* apenas os iões com uma determinada razão m/z e de seguida ejectá-los, manter apenas um determinado ião na *trap* e fragmentá-lo recorrendo a vibrações induzidas (MS/MS) e repetir a operação anterior diversas vezes (MS/MSⁿ) (Waters Corporation, 2008). Na Figura 17 encontra-se uma representação esquemática de um analisador *ion-trap*.

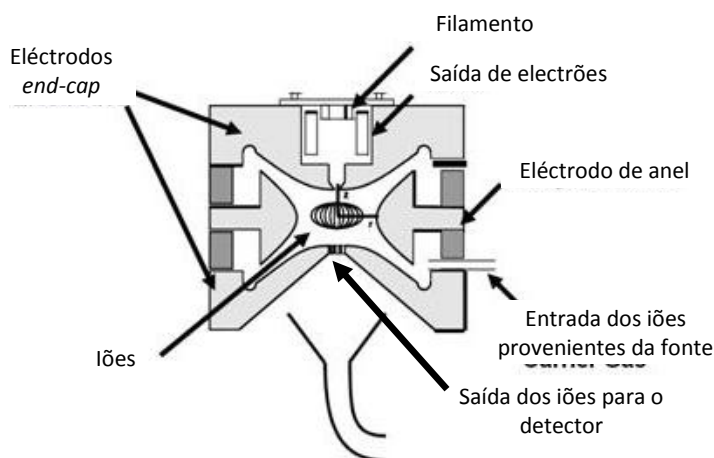


Figura 17. Diagrama de um analisador *ion-trap* (adaptado de Honnold, 2008).

Num analisador *time-of-flight* (TOF) uma força electromagnética uniforme é aplicada a todos os iões ao mesmo tempo, causando a sua aceleração num tubo longo e estreito (*flight-tube*). Os iões com massas menores efectuem aquele percurso mais rapidamente, chegando primeiro ao detector. Logo, a razão massa carga (m/z) dos iões é determinada através do seu tempo de chegada ao detector (Figura 18).

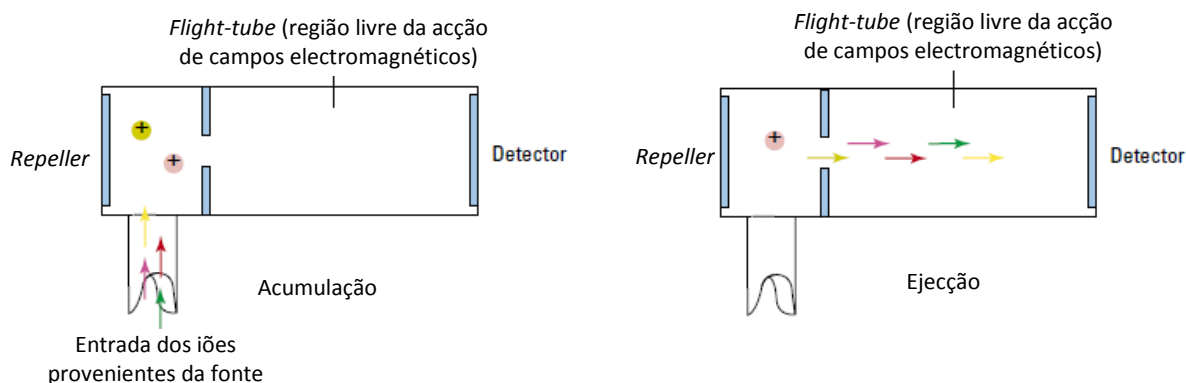


Figura 18. Diagrama de um analisador *time-of-flight* (adaptado de Agilent Technologies, 2001).

Os detectores são as peças de equipamento onde os iões separados pelos analisadores de massa são detectados. Em LC-MS podem ser utilizados detectores electromultiplicadores, fotomultiplicadores e placas de microcanal.

Os electromultiplicadores são constituídos por dínodos de conversão que permitem converter os iões positivos ou negativos em electrões. Estes são amplificados num dispositivo em forma cónica (*channeltron*), produzindo uma corrente eléctrica (Waters Corporation, 2008).

Já nos fotomultiplicadores os iões que saem dos analisadores são convertidos a electrões por um dínodo. Estes atravessam um dispositivo de fósforo, que quando excitado emite fotões. Os fotões atingem um fotocátodo que se encontra na frente do fotomultiplicador, produzindo electrões e o sinal é amplificado pelo fotomultiplicador (Waters Corporation, 2008).

No caso das placas de microcanal, cada microcanal é um electromultiplicador contínuo. Este detector é constituído por uma placa contendo canais cilíndricos curvos e cuja entrada é mantida a um potencial negativo em comparação com a saída. A electromultiplicação é assegurada por uma substância semicondutora que reveste cada canal e que emite electrões secundários. Os canais curvos impedem que os iões positivos se desloquem no sentido da entrada. Na saída da placa, um único ânodo metálico recolhe o fluxo de electrões secundários provenientes de todos os canais e a corrente eléctrica é medida (Hoffmann e Stroobant, 2007).

Tal como referido anteriormente, a espectrometria de massa baseia-se na produção de iões em fase gasosa que são separados, filtrados e detectados atendendo à sua razão massa carga (m/z). O gráfico que relaciona a abundância relativa de cada um dos iões formados com a razão m/z , em cada instante designa-se por espectro de massa.

No caso da ionização por *electrospray* (ESI), tipo de ionização disponível para a realização deste trabalho, ocorre um processo de transferência iónica (doação ou aceitação de um protão). Ou seja, as moléculas de analito são protonadas no modo de ionização positivo e desprotonadas no modo de ionização negativo, podendo ocorrer a formação de aductos que aparecerão nos espectros de massa (Tabela 10).

Tabela 10. Aductos mais comuns em *electrospray* no modo de ionização positiva e negativa (adaptado de Sheehan e Baars, 2007).

Modo Positivo		Modo Negativo	
<i>Ião</i>	m/z	<i>Ião</i>	m/z
$[M+H]^+$	M+1	$[M-H]^+$	M-1
$[M+nH]^{n+}$	$(M+n)/n$	$[M-nH]^{n-}$	$(M-n)/n$
$[M+NH_4]^+$	M+18		
$[M+Na]^+$	M+23		
$[M+K]^+$	M+39		
$M^{n+}+xCH_3CN$	$(M+41x)/n$		
$M^{n+}+xCH_3COOH$	$(M+60x)/n$		
$M^{n+}+xHCOOH$	$(M+46x)/n$		
$M^{n+}+xCH_3OH$	$(M+32x)/n$		

O facto de se poder efectuar simultaneamente aquisição dos dados em modo de ionização positiva e negativo pode também facilitar a identificação dos compostos em estudo, nomeadamente quando os compostos têm características distintas e, por isso, ionizam de modo diferente.

Para a execução deste trabalho utilizou-se um LC-MS Varian 500-MS LC Ion Trap Spectrometer, equipado com uma fonte de ionização a pressão atmosférica por *electrospray*, um analisador de massa *ion-trap* e um detector de massa electromultiplicador.

1.3.6. Métodos de remoção da amoxicilina em águas

Embora a amoxicilina seja um dos antibióticos mais prescritos em todo o Mundo, não tem sido dos compostos mais estudados, nomeadamente no que se refere a métodos de remoção de matrizes ambientais. Tal como referido anteriormente, a amoxicilina possui na sua estrutura um anel β -lactâmico que lhe confere baixa estabilidade, tornando-o susceptível a diversos processos de degradação (Santos *et al.*, 2007), nomeadamente a abertura do anel através de beta-lactamases (enzimas existentes em determinadas bactérias) ou de hidrólise química (Bailón-Pérez *et al.*, 2008). Na sua estrutura também possui um grupo carbonilo, estando sujeita a um ataque nucleofílico (Cha *et al.*, 2006). Devido à instabilidade do anel, seria esperado que este antibiótico fosse menos persistente no meio ambiente. Porém, o seu uso extensivo e contínuo torna-o um composto pseudo-persistente, não sendo por isso possível excluir a sua presença no meio ambiente. De facto, a amoxicilina tem sido detectada entre 0,6 e 6940 ng.L⁻¹ em diferentes matrizes aquosas, incluindo águas marinhas (Tabela 8).

Com a inegável presença deste antibiótico no meio ambiente, surge a necessidade de se adoptar medidas de modo a evitar a proliferação deste problema. Vários métodos de degradação/remoção têm sido estudados para o tratamento de águas contaminadas com amoxicilina (Tabela 11).

Arslan-Alaton e Dogruel (2004) avaliaram e compararam a eficiência de diversos processos avançados de oxidação (ozonólise, fotólise directa e indirecta, oxidação por Fenton e foto-Fenton) no tratamento de um efluente residual de uma empresa farmacêutica contendo como princípio activo a amoxicilina (CQO = 1,6 g.L⁻¹). A eficiência da ozonólise foi testada a diversos valores de pH (pH = 3-11,5) durante uma hora, aplicando cerca de 2750 mg.L⁻¹ de O₃. Os melhores resultados foram obtidos ao valor de pH mais elevado, aonde ocorreu a remoção de cerca de 49% da CQO e uma mineralização de 52%. Estes autores também estudaram o efeito da fotólise directa e indirecta na degradação da amoxicilina. Para tal, efectuaram ensaios irradiando durante 60 min o efluente (pH = 7) na presença de diferentes concentrações de peróxido de hidrogénio (0 mM, 30 mM e 40 mM). Verificaram que a fotólise directa não foi capaz de degradar o antibiótico, mas que utilizando 30 mM H₂O₂ cerca de 22% CQO foi removida e apenas 6% do composto mineralizado. Dois ensaios semelhantes foram realizados para testar a eficiência dos processos de oxidação de Fenton e foto-Fenton. As experiências foram efectuadas a pH = 3, utilizando 20 mM H₂O₂ e 1 mM Fe²⁺. Os autores verificaram que o processo de foto-Fenton conduziu a maiores taxas de degradação e de mineralização (56% remoção de CQO e 51% remoção COT) do que o processo convencional de Fenton (61% remoção de CQO e 33% remoção COT). Os autores efectuaram também um estudo de biodegradabilidade, tendo concluído que este não foi significativamente alterado. Segundo os autores, o processo de ozonólise e de foto-Fenton são os mais promissores tendo em conta as taxas de remoção de CQO e COT. Contudo, é importante referir que uma vez que a remoção de COT não

foi total em nenhuma experiência, seria importante determinar a ecotoxicidade do efluente após os tratamentos de modo a determinar a perigosidade dos produtos intermediários formados ao longo das reacções. Arslan-Alaton *et al.* (2004) efectuaram um estudo sobre a combinação de processos de oxidação químicos (O_3 e O_3/H_2O_2) com processos biológicos (lamas activadas) para a degradação da amoxicilina num efluente industrial (CQO = 615 mg.L^{-1}). Os ensaios foram realizados utilizando um caudal de $2500 \text{ mg/(L.h)}^{-1}$ de O_3 , pH = 2,5-12,0 e concentrações de H_2O_2 entre 2 e 40 mM. Cada um dos processos foi testado separadamente e foram determinadas as condições óptimas (pH = 12, 20 mM H_2O_2). No caso da ozonólise foi atingida uma taxa de remoção de CQO de 56% ao fim de 60 min, enquanto a utilização de peróxido de hidrogénio conduziu a 82% de remoção de CQO no mesmo intervalo de tempo. Os autores também verificaram que a biodegradabilidade do efluente final aumentou. Após este estudo, os efluentes foram pré-tratados durante 20 min por estas metodologias e foram posteriormente sujeitos a um tratamento biológico com lamas activadas durante 24 h. Os processos combinados de O_3 /tratamento biológico e O_3/H_2O_2 /tratamento biológico conduziram a taxas de remoção de CQO de 84 e 79%, respectivamente. Os autores concluíram que estes processos avançados de oxidação são adequados como pré-tratamentos antes de se aplicarem processos biológicos. Contudo, verificaram a existência de uma fracção não-biodegradável no efluente pré-tratado que inibiu o tratamento biológico. Tal como no caso anterior, os autores não efectuaram estudos de ecotoxicidade. Andreozzi *et al.* (2005) também estudaram a degradação de 183 mg.L^{-1} de amoxicilina a pH = 5,5, utilizando $7,68 \text{ mg.L}^{-1}$ de O_3 . Os autores verificaram que ao fim de 4 min cerca de 90% da amoxicilina já tinha sido degradada. Porém, tal como para outras beta-lactamas, apenas 18% tinha sofrido mineralização após 20 min de tratamento. Dada esta taxa de mineralização ser baixa, os autores efectuaram um estudo preliminar sobre os produtos intermediários formados ao longo da reacção. Contudo, apenas conseguiram identificar um produto de degradação formado a partir da adição de um grupo hidroxilo ao anel benzóico. No entanto, não foram efectuados estudos de ecotoxicidade ao efluente tratado.

Trovó *et al.* (2008) estudaram a fotodegradação da degradação da amoxicilina com reagente de Fenton ($C_0 = 42 \text{ mg.L}^{-1}$; pH = 2,5; 2,0 mM H_2O_2 ; 0,20 mM FeOx ou Fe^{3+}). Estes autores verificaram que ao fim de 1 min cerca de 84% da amoxicilina já tinha sido degradada utilizando FeOx, enquanto apenas 62% de degradação tinha sido atingida utilizando Fe^{3+} . Contudo ambas as fontes de ferro conduziram a um valor de mineralização semelhante (85% após 30 min), embora a velocidade de mineralização tenha sido superior para FeOx. A influência do tipo de matriz e de radiação também foram testadas, não revelando quaisquer alterações no resultado mencionado anteriormente. Os autores concluíram então que o processo de foto-Fenton pode ser aplicado com sucesso na degradação de efluentes contendo amoxicilina, mesmo no caso em que as matrizes são complexas (como é o caso dos efluentes de ETAR's). Concluíram também que este processo é bastante

apelativo, uma vez que permite a aplicação de energia solar sem prejudicar a eficiência do processo. Elmolla e Chaudhuri (2009a,b,c) também realizaram três estudos sobre a aplicabilidade do processo de Fenton e foto-Fenton na degradação da amoxicilina ($C_0 = 500 \text{ mg.L}^{-1}$). Num dos estudos (b), os autores começaram por testar as principais variáveis que afectam o processo de foto-Fenton (tempo de reacção, pH, razão molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CQO}$, razão molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$) e consequentemente, a biodegradabilidade do efluente final. A máxima biodegradabilidade do efluente foi determinada após 45 min de reacção utilizando uma razão molar $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CQO} = 2:1$, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 50:1$ e $\text{pH} = 3$. Nestas condições a amoxicilina foi totalmente degradada após 1 min de tratamento e após 45 min cerca de 82,7% da CQO tinha sido removida. Os autores concluíram que o processo de foto-Fenton pode ser utilizado como um pré-tratamento para aumentar a biodegradabilidade de um determinado efluente. Num outro trabalho (c), também ele de foto-Fenton, estes autores estudaram a oxidação de 104 mg.L^{-1} de amoxicilina e avaliaram a influência das mesmas variáveis operatórias. Para este caso chegaram aos seguintes valores para as condições operatórias óptimas: $\text{pH} = 3$, razão molar de $\text{CQO}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 1:1,5:0,075$. Os autores concluíram que após 2 min de tratamento toda a amoxicilina tinha sido degradada, e que após 50 min 81% da CQO tinha sido removida e 58% sofrido mineralização. Verificaram também que os efluentes tratados eram mais biodegradáveis do que o original. Num outro estudo (a), os mesmos autores avaliaram a eficiência do processo de Fenton ($C_0 = 104 \text{ mg.L}^{-1}$). Para este caso, chegaram às seguintes condições óptimas: $\text{pH} = 3$; razão molar de $\text{CQO}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 1:3:0,30$. Verificaram que, tal como no processo de foto-Fenton, após 2 min toda a amoxicilina tinha sido degradada, e que os níveis de CQO removida e de mineralização eram semelhantes nos dois estudos (80% CQO, 53% mineralização). Ay e Kargi (2010) também estudaram a oxidação da amoxicilina (200 mg.L^{-1}) por reagente de Fenton. Estes autores efectuaram um estudo através de desenho experimental de modo a otimizar as condições operatórias deste processo. Verificaram que a máxima degradação (100% em 2,5 min) e mineralização (37% em 15 min) foram obtidas para uma razão mássica $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}/\text{amoxicilina} = 255: 25: 105 \text{ mg.L}^{-1}$. Em nenhum destes trabalhos foi estudada a ecotoxicidade do efluente tratado.

Tal como mencionado anteriormente, a fotocatalise heterogénea constitui outro processo de oxidação avançado que tem sido bastante estudado na degradação de antibióticos. Klauson *et al.* (2010) e Elmolla e Chaudhuri (2010a,b) estudaram a aplicação desta técnica à degradação da amoxicilina. Estes estudos debruçaram-se sobre a aplicabilidade do dióxido de titânio e óxido de zinco como fotocatalisadores. Tal como em estudos semelhantes, as principais variáveis processuais foram avaliadas e determinados os seus valores de modo a que a eficiência do processo seja optimizada ($1 \text{ g.L}^{-1} \text{ TiO}_2$, $\text{pH} = 5$, $\text{H}_2\text{O}_2 = 100 \text{ g.L}^{-1}$ ou $0,5 \text{ g.L}^{-1} \text{ ZnO}$, $\text{pH} = 11$). Os autores verificaram que, em qualquer um destes casos, toda a amoxicilina tinha sido degradada (30 min para $\text{UV}/\text{TiO}_2/\text{H}_2\text{O}_2$ e 180 min para UV/ZnO). No entanto, verificaram que apenas 25% da CQO foi

removida e 15% do composto foi mineralizado, não se tendo verificado um aumento na biodegradabilidade do efluente. Conclui-se assim que durante o processo de tratamento ter-se-ão formado produtos intermediários da reacção.

A oxidação de compostos através de produtos derivados de cloro é uma técnica bastante aplicada, nomeadamente na desinfecção de águas. Porém, existem poucos artigos sobre a utilização desta técnica na degradação de antibióticos. Navalon *et al.* (2008) estudaram a oxidação da amoxicilina ($C_0 = 1,6 \text{ mg.L}^{-1}$) com dióxido de cloro, utilizando razões molares iniciais de ClO_2 /substrato = 0,25-2,00. A eficiência de degradação foi avaliada a valores de pH entre 3,5 e 8,0. Os autores concluíram que o dióxido de cloro reage estequiometricamente com o antibiótico e que a reactividade do ClO_2 face à amoxicilina foi melhorada com o aumento do pH. Ao fim de quatro minutos a amoxicilina foi totalmente degradada, embora a sua mineralização não tenha sido total (detecção de produtos intermediários – derivados de hidroquinona). Tal como nos estudos anteriores, a toxicidade do efluente tratado não foi discutida no artigo.

Outro tipo de tratamento que tem sido pouco investigado para a remoção de antibióticos tem sido a adsorção. Putra *et al.* (2009) compararam a capacidade de adsorção do carvão activado com a bentonite (argila), para a remoção da amoxicilina. Nestes ensaios determinaram a isotérmica de equilíbrio (isotérmica de Langmuir: $q_{\text{máx}} = 47 \text{ mg.g}^{-1}$ para a bentonite e $q_{\text{máx}} = 190 \text{ mg.g}^{-1}$ para o carvão activado) e a cinética de adsorção (cinética de pseudo-segunda ordem: $q_e = 18 \text{ mg.g}^{-1}$ para a bentonite e $q_e = 27 \text{ mg.g}^{-1}$ para o carvão activado; tempo de contacto = 40 min). Posteriormente utilizaram um efluente real de uma empresa farmacêutica contendo uma concentração inicial de antibiótico de 300 mg.L^{-1} e efectuaram o estudo de adsorção com 1,5 g de adsorvente. A adsorção foi bastante eficiente, sendo possível remover 95% da amoxicilina presente em solução com carvão activado e 88% com bentonite.

Como se pode verificar pela descrição efectuada anteriormente, de uma forma geral, todos os processos estudados foram capazes de degradar ou remover a amoxicilina (com a excepção da fotólise), mas em poucos a amoxicilina é totalmente convertida a dióxido de carbono e água, ou seja, apenas ocorre a mineralização parcial (remoção do carbono total entre 6 e 85%). Na verdade, a oxidação de compostos orgânicos não resulta normalmente numa rápida mineralização, formando-se compostos intermediários. Estes compostos podem ser mais tóxicos do que os originais. Por esta razão é de extrema importância avaliar a toxicidade dos efluentes tratados, bem como a sua biodegradabilidade e, eventualmente, determinar quais os produtos intermediários de degradação formados ao longo do processo de modo a determinar a sua perigosidade no meio ambiente.

Na maioria dos casos, o principal objectivo destes tratamentos é aumentar a biodegradabilidade de um efluente contendo compostos refractários para que possam ser subsequentemente tratados em sistemas biológicos. Portanto, é particularmente relevante investigar o dualismo

toxicidade/biodegradabilidade. No entanto esta tarefa nem sempre é fácil. Tendo em vista este objectivo, a maioria dos autores utiliza testes de toxicidade para inferir o comportamento de um determinado efluente em termos de biodegradabilidade (Rizzo, 2011). Contudo, esta metodologia está incorrecta porque, dependendo dos microorganismos utilizados nos testes de toxicidade, os resultados podem subestimar ou sobreestimar os efeitos dos tratamentos na biodegradabilidade (diferentes microorganismos usados em testes de toxicidade ao mesmo efluente podem conduzir a diferentes resultados).

A toxicidade dos efluentes tratados não foi estudada em nenhum dos trabalhos mencionados anteriormente.

De todos os processos estudados pensa-se que a ozonólise poderá não ser o método mais adequado ao tratamento de efluentes contendo amoxicilina. Os efluentes tratados apresentam baixas taxas de mineralização (mesmo para longos tempos de tratamento) e a sua biodegradabilidade mantém-se praticamente inalterada ou até aumenta com o tratamento. Para além disso a esta metodologia estão associados elevados custos de equipamento e de energia.

O processo de fotocatalise heterogénea também conduz a baixas taxas de mineralização. Esta metodologia apresenta como principais desvantagens a necessidade de remover as partículas fotocatalíticas no final do processo (o que aumenta os custos do tratamento) e o facto de estar limitado a efluentes com baixas cargas orgânicas e baixa turvação. Assim, pode-se afirmar que a oxidação com reagente de Fenton e a combinação desta metodologia com radiação UV (foto-Fenton) parecem ser as mais apelativas. No caso da aplicação destas duas técnicas à degradação da amoxicilina, os estudos anteriores mencionam elevadas degradações, acompanhadas por mineralizações moderadas (> 37%) e por um aumento na biodegradabilidade dos efluentes.

Quanto à adsorção, técnica alternativa à oxidação, esta parece ser bastante eficiente na remoção da amoxicilina (remoções superiores a 80%). Porém, possui a desvantagem de produzir um novo resíduo.

Com base nos resultados encontrados na literatura seleccionaram-se para este trabalho dois processos de remoção: adsorção em casca de amêndoa e oxidação com reagente de Fenton. Esta escolha baseou-se no facto de existirem poucos estudos na literatura sobre o processo de adsorção de amoxicilina e nenhum que estudasse a aplicabilidade de produtos excedentários da agricultura como materiais adsorventes. Estes materiais surgem como uma alternativa ao carvão activado, uma vez que este adsorvente é bastante dispendioso e a sua regeneração nem sempre é possível. Embora a aplicação da oxidação com reagente de Fenton para tratamento de águas contaminadas com amoxicilina já tenha sido analisada, as concentrações iniciais estudadas (tal como para o processo da adsorção) eram bastante superiores às detectadas no meio ambiente, o que poderá conduzir a conclusões erróneas e afastadas de situações reais.

Tabela 11. Processos de remoção/degradação da amoxicilina em matrizes aquosas.

Matriz	Concentração	Tratamento	Condições ótimas	Taxa de remoção	Referência
Água residual simulada	CQO = 1,4 g.L ⁻¹	Ozonólise Fotólise directa e indirecta Fenton Foto-Fenton	<i>Ozonólise:</i> 2760 mg.(L.h) ⁻¹ O ₃ pH = 11,5 <i>Fotólise:</i> LP UV a 254 nm pH = 7 30 mM H ₂ O ₂ <i>Foto-Fenton e Fenton:</i> LP UV a 254 nm pH = 3 20 mM H ₂ O ₂ 1 mM Fe ²⁺	- <i>Ozonólise:</i> 49% remoção CQO e 52% remoção de COT - <i>Fotólise:</i> Sem adição de H ₂ O ₂ - não ocorre degradação Adicionando H ₂ O ₂ – 22% remoção CQO 6% remoção COT - <i>Foto-Fenton:</i> 56% remoção CQO e 51% remoção COT - <i>Fenton:</i> 61% remoção CQO e 33 % remoção COT - Baixa biodegradabilidade dos efluentes tratados.	Arslan-Alaton e Dogruel (2004)
Água residual simulada	CQO = 0,83 g.L ⁻¹	Ozonólise	<i>Ozonólise:</i> 2500 mg.(L.h) ⁻¹ O ₃ pH = 12,0 <i>O₃/H₂O₂:</i> 2500 mg.(L.h) ⁻¹ O ₃ pH = 10,5 20 mM H ₂ O ₂	- <i>Ozonólise:</i> 56% remoção CQO - <i>O₃/H₂O₂:</i> 82% remoção CQO - A biodegradabilidade do efluente aumentou com a ozonólise (6 x) e com O ₃ /H ₂ O ₂ (23 x). - O efluente tratado foi submetido a um tratamento biológico com lamas activadas, ocorrendo um aumento da degradação (71-81%).	Arslan-Alaton <i>et al.</i> (2004)
Água desionizada	1,8 g.L ⁻¹	Ozonólise	1,6x10 ⁻⁴ M O ₃ pH = 5,5	- 90% remoção após 4 min - 18% mineralização após 20 min	Andreozzi <i>et al.</i> (2005)
Água residual de uma empresa farmacêutica	CQO = 80 g.L ⁻¹ COT = 19 g.L ⁻¹	Fenton combinado com osmose inversa	<i>Fenton:</i> 10 g.L ⁻¹ H ₂ O ₂ 0,74 g.L ⁻¹ Fe ²⁺ <i>Osmose inversa:</i> Membranas de poliamida	- Extração LLE prévia: 50% remoção COT - Oxidação de Fenton: 38% remoção COT - Osmose inversa: 11% remoção COT	Zhang <i>et al.</i> (2006)
Água destilada	104 mg.L ⁻¹	Cloração	ClO ₂ /antibiótico = 1,00	- Degradação total após 2 h - Foram detectados produtos intermediários	Navalon <i>et al.</i> (2008)
Efluente de ETAR (adição de padrão)	420 mg.L ⁻¹	Foto-Fenton	Luz negra a 365 nm e radiação solar 2,0 mM H ₂ O ₂ 0,20 mM ferrioxalato pH = 2,5	- A degradação da amoxicilina não foi influenciada pelo tipo de radiação ou matriz. - Degradação total após 10 min e 85% mineralização após 30 min.	Trovó <i>et al.</i> (2008)

Tabela 11. Processos de remoção /degradação da amoxicilina em matrizes aquosas (*continuação*).

Matriz	Concentração	Tratamento	Condições óptimas	Taxa de remoção	Referência
Água residual simulada	500 mg.L ⁻¹ CQO = 0,79 g.L ⁻¹	Foto-Fenton	Luz UV a 365 nm H ₂ O ₂ /CQO = 2 (razão molar) H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ = 50 (razão molar) pH = 3-3,5	- Razão máxima de biodegradabilidade (> 0,40) foi obtida após 30-45 min de reacção. - Degradação completa após 1 min - Remoção de COT de 71% após 1 min	Elmolla e Chaudhuri (2009b)
Água destilada	104 mg.L ⁻¹	Fenton	pH = 3 H ₂ O ₂ /CQO = 3 (razão molar) H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ = 10 (razão molar)	- Degradação completa após 2 min - Remoção de CQO = 81,4% em 60 min - Remoção de COT = 54,3% em 60 min	Elmolla e Chaudhuri (2009a)
Água destilada	104 mg.L ⁻¹	Foto-Fenton	Luz UV a 365 nm H ₂ O ₂ /COD = 1,5 (razão molar) H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ = 20 (razão molar) pH = 3	- Degradação completa após 2 min - Remoção de CQO = 80,8% em 50 min - Remoção de COT = 58,4% em 50 min	Elmolla e Chaudhuri (2009c)
Água destilada	20 mg.L ⁻¹	Remoção usando Fe ⁰	ZVI 0,5-g.L ⁻¹	- Remoção total após 3 h - Foram detectados produtos intermediários	Ghauch <i>et al.</i> (2009)
Água destilada Água residual	300 mg.L ⁻¹	Adsorção em carvão activado e bentonite	pH = 2,0 e 4,5 1,5 g adsorvente T = 30 °C	- Em ambas as matrizes obtiveram-se elevadas eficiências de remoção: 95% carvão activado 88% bentonite	Putra <i>et al.</i> (2009)
Água destilada	100-200 mg.L ⁻¹	Fenton	pH = 3,5 H ₂ O ₂ /amox = 2,43 (razão mássica) H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ = 10,2 (razão mássica)	- Completa degradação obtida em 2,5 min e 37% de mineralização em 15 min	Ay e Kargi (2010)
Água destilada	104 mg.L ⁻¹	Fotocatálise heterogénea	Luz UV a 365 nm 0,5 g.L ⁻¹ ZnO pH = 11	- Degradação completa após 180 min de irradiação - Remoção de CQO = 23,9% - Remoção de COD = 9,7%	Elmolla e Chaudhuri (2010b)
Água destilada	1,60 mg.L ⁻¹	Fotocatálise heterogénea	Luz UV a 365 nm 1,0 g.L ⁻¹ TiO ₂ 100 mg.L ⁻¹ H ₂ O ₂ pH = 5	- Sem adição de peróxido de hidrogénio: degradação = 50% remoção de CQO = 81% - Adicionando peróxido de hidrogénio: degradação completa após 30 min remoção de COT = 40% após 24h	Elmolla e Chaudhuri (2010a)
Água destilada	1-100 mg.L ⁻¹	Fotocatálise heterogénea	LP UV a 365 nm e radiação solar 1 g.L ⁻¹ TiO ₂ dopado com 37% C pH = 7	- A degradação sob radiação solar é cerca de 3 vezes mais rápida do que a que ocorre sob radiação artificial. - Degradação de 85% após 2 h - Detectados produtos de degradação	Klauson <i>et al.</i> (2010)

1.4. A casca de amêndoa como adsorvente natural

A amendoeira (*Prunus dulcis*) é uma árvore de pequeno porte, de folha caduca, pertencente à família Rosaceae (Figura 19). A semente do seu fruto é geralmente considerada como um fruto seco: a amêndoa. Originária da Ásia Central, a sua cultura foi difundida na Europa pelos romanos (Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares, 2006).



Figura 19. A amendoeira e o seu fruto.

A produção de amêndoa distribui-se essencialmente por três continentes: América (45%), Europa (24%) e a Ásia (21%). Dentro da Europa os principais produtores são a Espanha e a Itália.

Em 2006, a área desta cultura em Portugal era de cerca de 13957 hectares, tendo-se obtido uma produção anual de cerca de 14000 toneladas. As principais regiões produtoras são o Douro (86% produção) e o Algarve (Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares, 2006). Tendo em conta que cada amêndoa possui em média 50% de casca (em massa), produz-se anualmente grandes quantidades deste sub-produto agrícola (Estevinho, 2006).

1.4.1.1. Estrutura e composição química

A casca de amêndoa é maioritariamente composta por celulose (29-37% m/m), lenhina (25-30%), hemicelulose (26-35%), extractáveis ($\approx 5\%$) e cinzas ($\approx 1\%$) (Caballero *et al.*, 1996; Pehlivan *et al.*, 2009; Nabais *et al.*, 2011).

O principal constituinte da casca de amêndoa é a holocelulose, que engloba duas classes de polissacarídeos – a celulose e a hemicelulose.

A celulose é um polímero linear de cadeia longa composto por 2000 a 15000 unidades de D-glucose ligadas entre si pelos átomos de carbono 1 e 4, formando uma ligação β -glicosídea (Figura 20) num só plano. As unidades básicas deste polímero agrupam-se em feixes paralelos, designados de microfibrilas. A celulose possui grupos hidroxilo uniformemente distribuídos na sua cadeia, que

permitem a formação de ligações por pontes de hidrogénio. Estas ligações (intermoleculares) correspondem a ligações entre grupos hidroxilo de duas cadeias adjacentes de celulose (Solomons e Fryle, 2000). É por esta razão que a celulose, principal constituinte da parede celular das plantas, possui uma estrutura cristalina muito resistente, que confere rigidez, insolubilidade e uma estrutura fibrosa a este polímero. Na estrutura da celulose existem grupos hidroxilo que permanecem livres, formando uma região amorfa, bastante mais reactiva (Tuomela, 2002). De acordo com Fengel e Wegener (1989), na fibra de celulose 55-75% corresponde à região cristalina e 25-45% à região amorfa. Embora a celulose seja praticamente insolúvel em água, os grupos hidroxilo presentes na região amorfa da estrutura podem formar pontes de hidrogénio com moléculas de água, ocorrendo absorção de água e intumescimento da celulose.

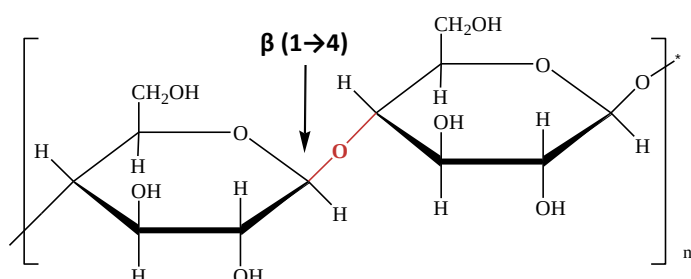


Figura 20. Estrutura química de uma unidade de celulose.

A hemicelulose constitui um grupo heterogéneo de polímeros lineares e ramificados, principalmente composto por cinco estruturas monoméricas: D-glucose, D-manose, D-galactose, D-xilose e L-arabinose (Figura 21). Estas estruturas estão ligadas entre si essencialmente através de ligações β -1,4-glicosídea, embora também seja possível estabelecerem-se ligações do tipo β -1,3-, β -1,6-, α -1,2-, α -1,3- e α -1,6- (Tuomela, 2002).

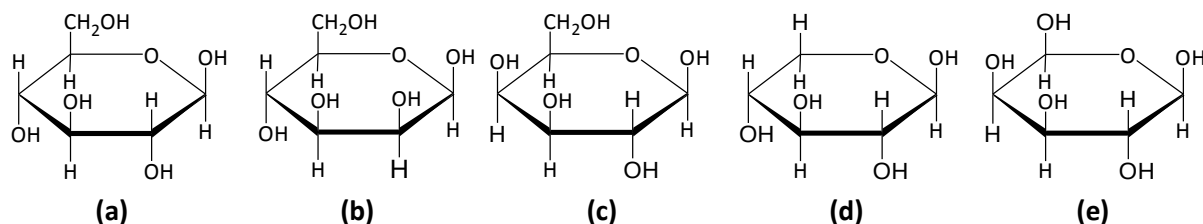


Figura 21. Estruturas monoméricas constituintes da hemicelulose (a) β -D-glucose, (b) β -D-manose, (c) β -D-galactose, (d) β -D-xilose e (e) β -L-arabinose.

A hemicelulose difere de vários aspectos da celulose, principalmente no grau de polimerização, que neste caso não ultrapassa os 200 monómeros. Na sua estrutura pode conter combinações de um único monossacarídeo (homopolímero) como é exemplo o xilano e o glucano, ou de dois ou mais monossacarídeos (heteropolímero). Neste último caso são mais comuns os arabinogalactanos, galactoglucomananos, glucomananos e arabinoxilanos. A sua estrutura amorfa e ramificada garante resistência mecânica à casca (Tuomela, 2002).

A lenhina é um polímero amorfo, aromático, insolúvel, heterogêneo e tridimensional, que possui uma massa molecular de cerca de 10000 e que se encontra nas paredes dos vegetais, conferindo rigidez e resistência mecânica. É constituída por unidades fenil-propeno (Figura 22) e o principal precursor em madeiras macias é o álcool coniferílico, enquanto em madeiras duras é o álcool *p*-cumarílico e sinapílico (Santos, 2001; Tuomela, 2002; Laine, 2005).

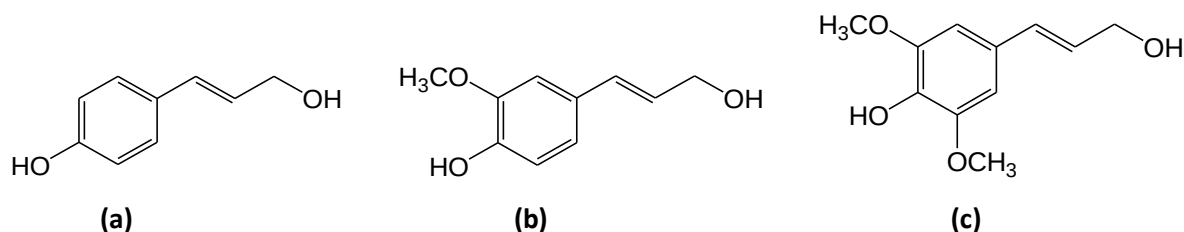


Figura 22. Unidades precursoras da lenhina, (a) álcool *p*-cumarílico, (b) álcool coniferílico, (c) álcool sinapílico.

As ligações mais abundantes entre os monómeros da lenhina são as ligações arilglicerol- β -aril éter (β -O-4, 50-80% das ligações) (Figura 23) que ocorrem devido ao átomo de oxigênio através de uma polimerização desidrogenativa (Fengel e Wegener, 1989; Parijs *et al.*, 2010). Outras ligações do tipo α -O-4, β -5, β - β , 5-O-4, 5-5 e β -1 podem também ocorrer (Achyuthan *et al.*, 2010). Na Figura 24 encontra-se representada a estrutura química hipotética para a lenhina.

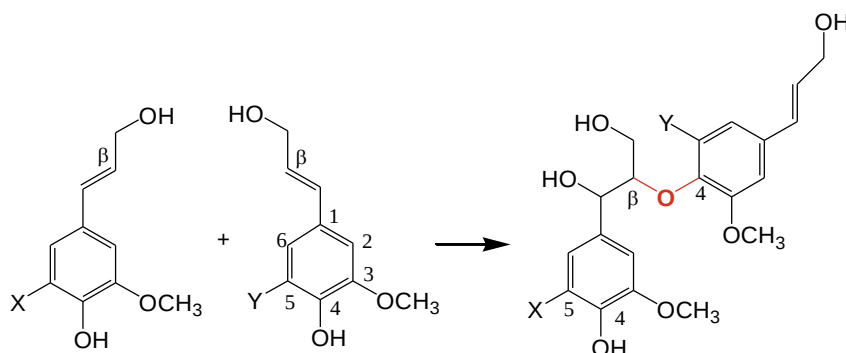


Figura 23. Ligação mais abundante na estrutura da lenhina (β -O-4).

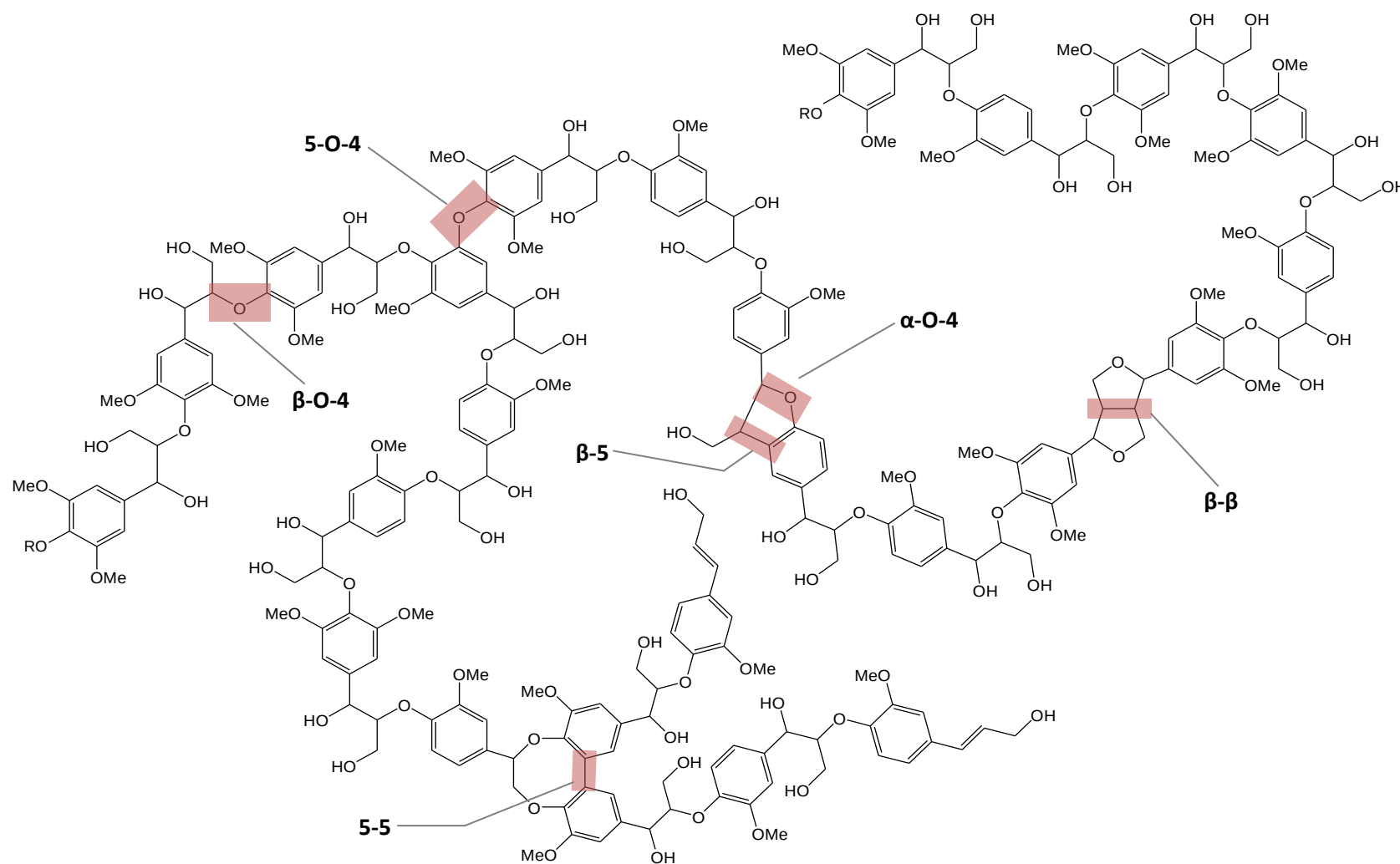


Figura 24. Estrutura química representativa da lenhina (adaptado de Albersheim *et al*, 2010).

Relativamente aos extractáveis, estes englobam um grupo complexo de compostos químicos: gorduras e ácidos gordos, ésteres esterílicos e esteróis, terpenóides (terpenos e polisoprenóides), ceras (álcoois de cadeia longa e os seus ésteres derivados), polifenóis (lignanós, flavonóides, estilbenos, taninos e outros compostos aromáticos) (Figura 25). Estes compostos não estão presentes nas paredes das células das plantas e, por isso, podem ser facilmente removidos utilizando solventes apropriados (éter de petróleo, acetona, etanol, água, etc).

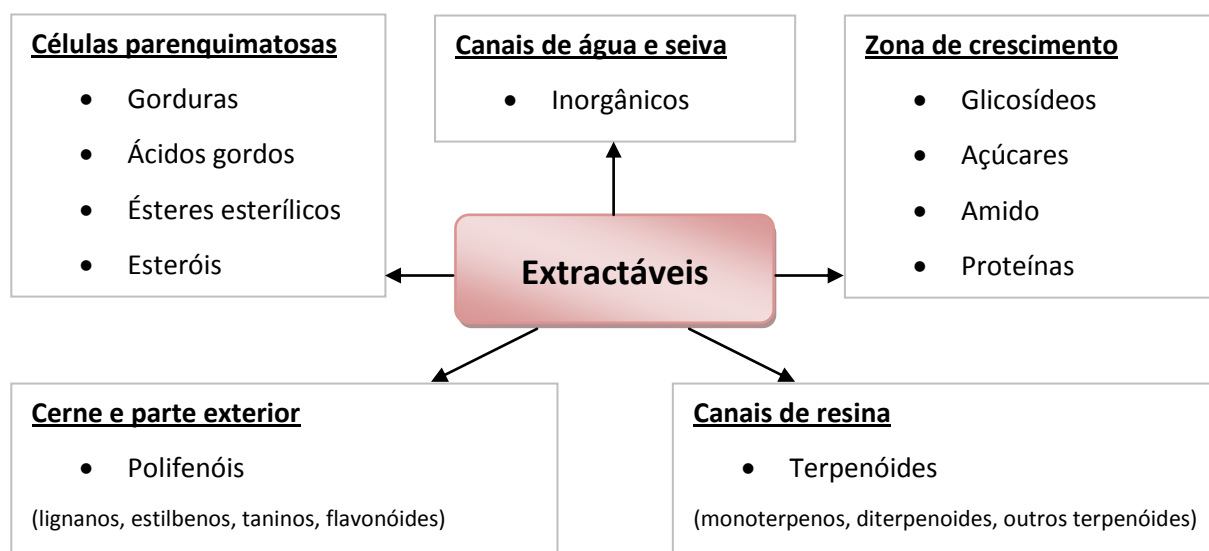


Figura 25. Extractáveis mais abundantes e sua localização na planta (adaptado de Vuorinen, 2011).

As gorduras são ésteres glicéricos de ácidos carboxílicos de longa cadeia alquílica não ramificada (usualmente designados por ácidos gordos). São utilizadas pelas plantas como fontes de energia, tais como os ésteres esterílicos e os esteróis, e encontram-se nas células parenquimatosas. As ceras são ésteres de álcoois gordos, não possuindo unidades de glicerol. Estas actuam como agentes defensivos para as plantas (Figura 26 e 27) (Vuorinen, 2011).

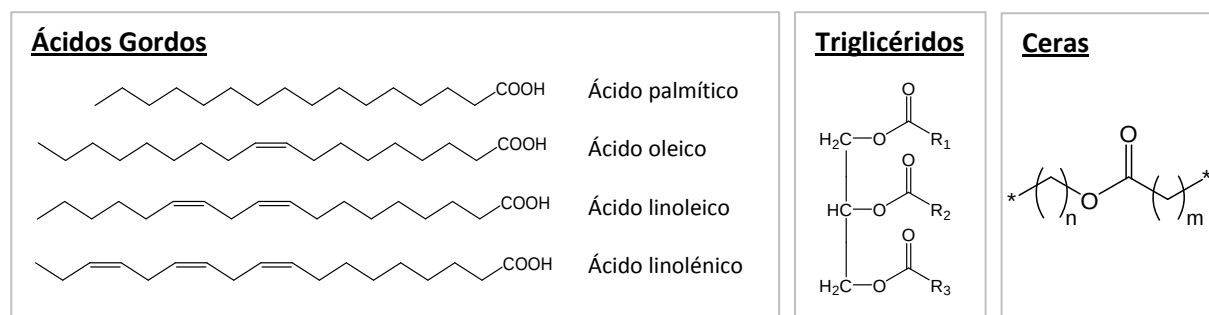


Figura 26. Exemplos de ácidos gordos e estruturas químicas da unidade base de triglicéridos e ceras (R_1 , R_2 e R_3 – cadeia de ácidos gordos).

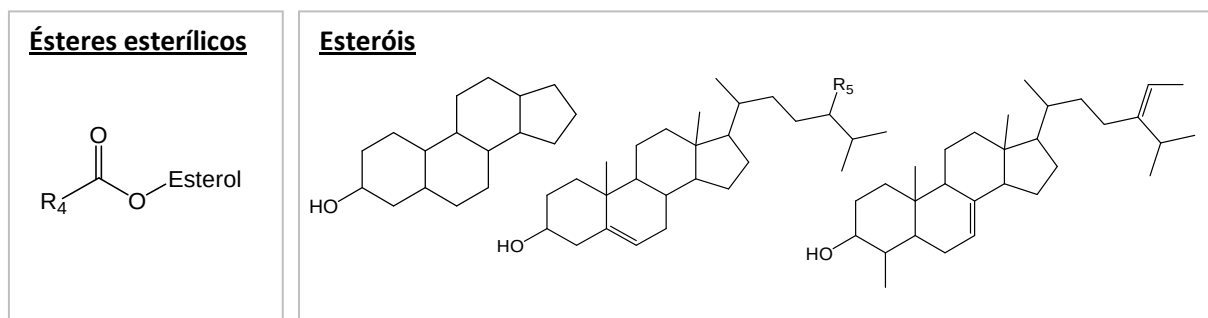


Figura 27. Unidade básica dos ésteres esterílicos (R_4 – cadeia de ácidos gordos saturados e insaturados, C_{14} - C_{20}) e exemplos de esteróis (R_5 – C_2H_5 ou CH_3).

Os terpenos são uma classe de compostos voláteis, geralmente hidrocarbonetos cíclicos e alifáticos, derivados de unidades de isopreno. Os terpenóides possuem diversos grupos funcionais como o hidroxilo, carbonilo e carboxilo (Figura 28). Estes compostos são responsáveis pelas fragrâncias das plantas.

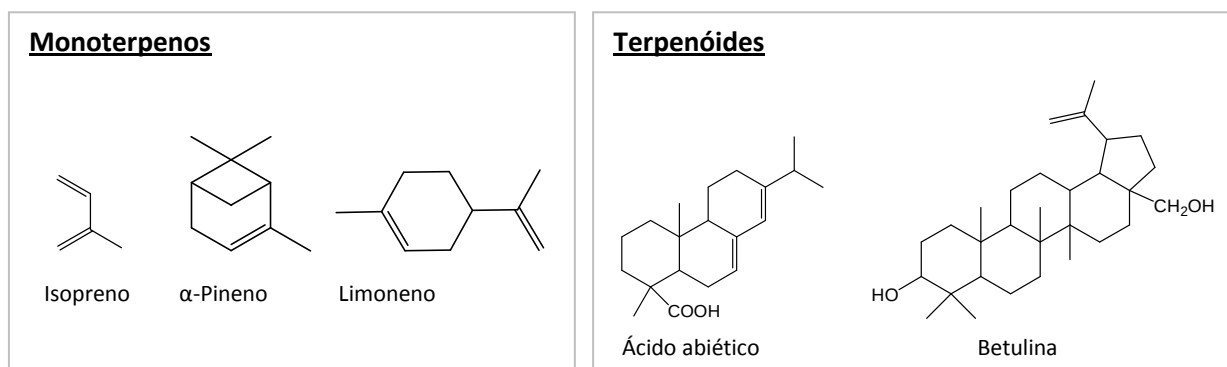


Figura 28. Exemplos de monoterpenos e terpenóides.

Os compostos fenólicos abrangem diversas classes de substâncias, mas todas elas possuem um anel aromático contendo um grupo hidroxilo. Dentro desta classe encontram-se os fenóis mais simples como o ácido gálico, os estilbenos (derivados de 1,2-difeniletano, possuindo um sistema de ligações duplas conjugadas na sua estrutura), lignanos (compostos formados por duas unidades de fenilpropano através de ligações β - β), flavonóides (compostos tricíclicos com uma estrutura C_6 - C_3 - C_6), taninos hidrolisáveis (ésteres de um poliol alifático ou de ácidos fenólicos) e taninos condensados (oligómeros ou polímeros de unidades flavanóis) (Figura 29). Esta classe de compostos é cromófora e responsável pela protecção das plantas (Vuorinen, 2011).

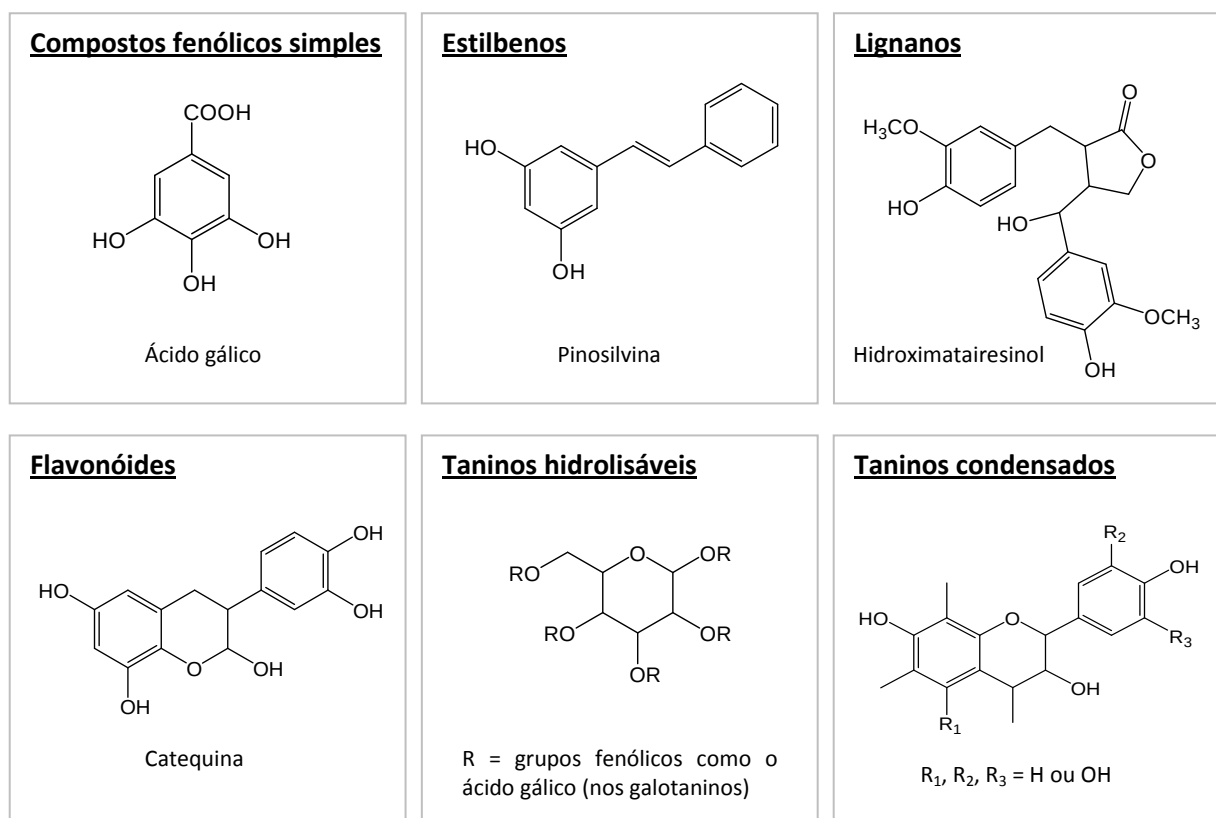


Figura 29. Exemplos de compostos fenólicos presentes nas cascas.

Para além dos compostos mencionados anteriormente, ainda são identificados nos compostos extractáveis proteínas, açúcares, bem como compostos inorgânicos.

1.4.1.2. Importância económica

Nos tratamentos por adsorção de águas contaminadas, os materiais adsorventes mais utilizados são os carvões activados. Porém, estes materiais possuem um elevado custo e são difíceis de regenerar (Estevinho *et al.*, 2007; Crisafully *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2008). Surge assim a necessidade de se estudar materiais alternativos de baixo custo, como produtos excedentários da agricultura ou resíduos de processos industriais.

Diversos sub-produtos agrícolas têm sido estudados como adsorventes para compostos orgânicos e metais pesados, como é o caso das cascas de avelã (Bulut e Tez, 2007; Ferrero, 2007; Kazemipour *et al.*, 2008; Pehlivan e Altun, 2008; Doğan *et al.*, 2009), coco (Amuda *et al.*, 2007; Din *et al.*, 2009), noz (Kazemipour *et al.*, 2008; Pehlivan e Altun, 2008; Zabihi *et al.*, 2010), amêndoa (Bulut e Tez, 2007; Ardejani *et al.*, 2008; Estevinho *et al.*, 2008; Kazemipour *et al.*, 2008; Pehlivan e Altun, 2008), etc. Alguns destes materiais têm sido aplicados directamente, outros têm sido utilizados após um tratamento prévio por activação térmica e/ou química.

Tal como mencionado anteriormente, em Portugal são produzidas anualmente cerca de 14000 toneladas de amêndoa. Tendo em conta que cada amêndoa possui em média 50% de casca (em massa), produzem-se anualmente grandes quantidades deste sub-produto agrícola. Devido à heterogeneidade deste material e da grande diversidade de grupos funcionais existentes à sua superfície, neste estudo utilizou-se este material como adsorvente para o tratamento de águas contaminadas com antibióticos.

1.5. Enquadramento do trabalho

Nos últimos anos, resíduos de antibióticos utilizados quer na medicina humana, quer na veterinária têm sido detectados em águas superficiais, águas de consumo, lençóis freáticos, solos e sedimentos. Embora presentes em níveis vestigiais, estes compostos são bioacumuláveis e pseudo-persistentes, constituindo um risco latente para os organismos aquáticos e terrestres. Estes são também responsáveis pela formação de resistências nas populações bacterianas, impedindo o tratamento de algumas doenças. Torna-se assim indispensável desenvolver novas metodologias de tratamento que sejam eficazes, mas de baixo custo, para a remoção deste tipo de poluentes de matrizes aquosas.

Neste contexto, escolheu-se a amoxicilina como caso de estudo, uma vez que este é o antibiótico beta-lactâmico mais prescritos em toda a Europa.

O principal objectivo deste trabalho foi então avaliar e comparar a eficiência de remoção/degradação da amoxicilina através de duas técnicas alternativas para o tratamento de efluentes: a oxidação com reagente de Fenton e a adsorção com casca de amêndoa. A avaliação do potencial da casca de amêndoa como adsorvente natural constitui uma mais-valia para este trabalho, uma vez que a utilização deste material associa os benefícios ambientais aos benefícios económicos resultantes da conversão de resíduos em matérias-primas. Por outro lado, este estudo explora a aplicabilidade destas metodologias a águas contaminadas com níveis de amoxicilina na ordem dos $\mu\text{g.L}^{-1}$, valores próximos dos detectados no meio ambiente. Tanto quanto é do conhecimento da autora, nenhum estudo foi efectuado até ao momento utilizando valores tão próximos aos detectados na realidade.

CAPÍTULO 2

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1. Reagentes e consumíveis

O padrão de amoxicilina, $\geq 900 \mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ (ref. A8523), foi adquirido à Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Nos ensaios de oxidação foi utilizada uma solução de peróxido de hidrogénio (30%), sulfato de ferro heptahidratado (p.a.), sulfito de sódio (p.a.) e ácido sulfúrico (97%) da marca Merck (Darmstadt, Alemanha).

Nos ensaios de caracterização do material adsorvente utilizou-se ácido clorídrico (37%), cloreto de sódio, carbonato de sódio e hidrogenocarbonato de sódio (p.a.), ácido clorídrico 0,1 N TitriPUR®, hidróxido de sódio 0,1 N e 0,02 N TitriPUR® da Merck (Darmstadt, Alemanha) e hidróxido de sódio ($\geq 98\%$) da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA).

Para a preparação da fase móvel em HPLC-DAD foi utilizado acetonitrilo para HPLC da Panreac (Barcelona, Espanha) e ácido *o*-fosfórico 85% p.a. da Pronolab (Lisboa, Portugal). Já na preparação da fase móvel em LC-MS foi utilizado metanol e água para cromatografia Lichrosolv® e ácido fórmico (89-91%, p.a.) da Merck (Darmstadt, Germany).

Utilizaram-se ao longo do trabalho papel de filtro quantitativo com retenção de partículas entre 5 e 10 μm (West Chester, EUA) e filtros de seringa contendo uma membrana de 0,2 μm PTFE (West Chester, EUA).

2.2. Preparação dos padrões

Uma solução-mãe de amoxicilina $56 \text{ mg}.\text{L}^{-1}$ foi preparada por pesagem rigorosa do padrão comercial e dissolução em água destilada filtrada. A partir desta solução concentrada foram preparados por diluição em água diversas soluções-padrão. Nas medições de volume das soluções-padrão foram utilizadas micropipetas 10-100 μL , 100-1000 μL , 500-5000 μL da marca Eppendorf (Hamburgo, Alemanha). A partir da solução-mãe foi preparado semanalmente uma solução-padrão de controlo em água de $500 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}$. Todas as soluções foram guardadas em frascos de vidro âmbar a 4°C durante um mês.

2.3. Equipamento

Para os ensaios de adsorção utilizou-se uma incubadora (Dortmund, Alemanha). Na preparação do material adsorvente e nos ensaios de caracterização utilizou-se: moinho Retsch ZM 100 (West Yorkshire, UK), peneiros Endecotts (Londres, Reino Unido), mufla Nabetherm C6 (Lilienthal,

Alemanha), coulter counter LS 230 (Miami, USA), porosímetro de mercúrio poremaster-60 Quantachrome (Boynton Beach, EUA), analisador AutosorbTM Quantachrome (Boynton Beach, EUA), analisador elementar CHNS da Carlo Erba instruments, modelo EA 1108 (Milão, Itália), sistema de análise térmica TG 209 F1 Iris[®] Netzsch (Selb, Alemanha), espectrómetro Bomem MB-Series Arid-ZoneTM (Quebec, Canadá) e condutivímetro WTW LF S38 (Weilheim, Alemanha).

Nos ensaios de oxidação foi utilizado um banho termostático Grant LTD6G (Cambridgeshire, Reino Unido) e um microondas Electric Co. WP700P17-3 (2,450 Hz, China). De modo a determinar o teor de carbono total (COT) em algumas amostras que sofreram tratamentos de oxidação utilizou-se um analisador Shimadzu TOC 5000A (Duisburg, Alemanha).

No método analítico desenvolvido em HPLC-DAD utilizou-se um sistema Merck Hitachi LaChrom (Darmstadt, Alemanha) equipado com uma bomba L-7100, um injetor automático L-7250, um detector de díodos (DAD) L-7450 e um sistema de aquisição e tratamento de dados HSM D-7000 (versão 3.1). As análises cromatográficas foram efectuadas usando uma coluna C18 de fase reversa (RP) do tipo Pursopher[®]STAR *endcapped* (250 mm x 4 mm; 5 μ m) em combinação com uma pré-coluna também Pursopher[®]STAR (4 mm x 4 mm; 5 μ m) da marca Merck (Darmstadt, Alemanha).

A identificação dos produtos de degradação da oxidação foi realizada num sistema de LC-MS da marca Varian (Lake Forest, EUA), constituído por um módulo de bombas ProStar, um espectrómetro de massa *Ion Trap* 500-MS equipado com uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI) e um sistema de aquisição de dados Varian MS Workstation (versão 6.9). As análises foram efectuadas utilizando uma coluna C18 Pursuit XRs Ultra (100 mm x 2 mm; 2,8 μ m) em combinação com uma pré-coluna C18 Pursuit[®] (10 mm x 2 mm; 5 μ m) da marca Varian (Lake Forest, EUA).

2.4. Método analítico para a quantificação da amoxicilina em amostras aquosas e para a identificação de produtos de degradação

Para quantificar a amoxicilina em matrizes aquosas desenvolveu-se uma metodologia analítica em HPLC-DAD. As análises cromatográficas foram efectuadas à temperatura ambiente, injectando um volume de amostra de 100 μ L no sistema. Todas as análises foram realizadas em sistema isocrático, usando como fase móvel acetonitrilo (5%) e água acidificada com ácido *o*-fosfórico a pH = 2,5 (95%) a um caudal de 0,8 mL.min⁻¹. As respostas foram monitorizadas numa gama de comprimentos de onda compreendida entre os 220 e 400 nm, embora a absorção UV da amoxicilina tenha sido medida a 230 nm.

Foi também desenvolvida uma metodologia analítica em LC-MS para a determinação da amoxicilina e identificação dos seus produtos de degradação após oxidação com reagente de Fenton. As análises foram efectuadas à temperatura ambiente, injectando um volume de amostra de 10 μ L.

Utilizou-se uma fase móvel composta por 0,1% ácido fórmico em água (A) e metanol (B) a um caudal de $0,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, em sistema de gradiente: 0 min 90% A, 5 min 90% A, 20 min 10% A, 25 min 10% A, 35 min 90% A, 40 min 90% A. O volume injectado foi de $10 \text{ } \mu\text{L}$. O espectrómetro de massa foi utilizado nas seguintes condições: modo positivo, voltagem do capilar de 69 V, voltagem do escudo de 600 V, voltagem da agulha de 3453 V, *RF loading* de 90%, pressão do gás de secagem de 15 psi, temperatura do gás e secagem de $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$, pressão do gás de nebulização de 50 psi, *multiplier offset* de 300 V e gama de varrimento do MS entre $m/z = 50$ e 600.

2.5. Estudos de adsorção

2.5.1. Preparação do material adsorvente

Neste trabalho utilizaram-se cascas de amêndoa como material adsorvente (Figura 30). Estas eram originárias da região do Alto Douro e Trás-os-Montes e foram gentilmente cedidas pela empresa Carqueja Almonds. As cascas recolhidas foram submetidas a uma selecção manual e posteriormente foram lavadas com água destilada de modo a remover possíveis impurezas existentes na sua superfície. Após este processo o material foi seco a $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas. As cascas foram então moídas num moinho Retsch ZM 100 (West Yorkshire, UK), separadas em várias fracções granulométricas com peneiros Endecotts (Londres, Reino Unido) e colocadas na estufa a $110 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas para remoção da humidade. Posteriormente foram mantidas em frascos num exsiccador até ao momento das experiências.

Para a preparação da casca de amêndoa carbonizada seleccionou-se a fracção granulométrica compreendida entre 1000 e $710 \text{ } \mu\text{m}$ para ser queimada numa mufla Nabertherm C6 (Lilienthal, Alemanha) em atmosfera pobre em oxigénio durante 2 horas, a partir do momento em que foi atingida a temperatura final de $700 \text{ }^{\circ}\text{C}$. A casca de amêndoa carbonizada obtida foi então peneirada, lavada sob vácuo com água destilada e seca durante 24h a $110 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Tal como a casca de amêndoa ao natural, esta foi armazenada em frascos num exsiccador.



Figura 30. Fotografias das cascas de amêndoa utilizadas ao longo deste estudo.

De modo a comparar a eficiência de remoção destes adsorventes naturais com os existentes comercialmente, utilizou-se um carvão activado granular Darco® 420-850 μm (20-40 mesh) da marca Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA).

2.5.2. Caracterização do material adsorvente

2.5.2.1. Determinação da granulometria

Para determinar a distribuição do tamanho de partículas de adsorvente utilizou-se um Coulter Counter LS 230 (Miami, EUA) existente no DEQ.

2.5.2.2. Análise por microscopia electrónica de varrimento (SEM)

A microscopia electrónica de varrimento permite a aquisição de imagens da topografia de superfície através do varrimento da amostra com um feixe de electrões de alta energia. Através da interacção entre os electrões incidentes e os átomos da superfície da amostra, também é possível obter informações sobre a sua composição. As imagens da superfície do material adsorvente foram obtidas num microscópio FEI QUANTA 400 FEG ESEM do Centro de Materiais da Universidade do Porto (CEMUP). Para além disso, foi também possível determinar os elementos à superfície com número atómico entre 6 e 92, uma vez que ao sistema anterior se encontra acoplado um espectrómetro de dispersão de energias (EDS) EDAX PEGASUS X4M.

2.5.2.3. Determinação da massa específica real

A determinação da massa específica real foi efectuada por picnometria de hélio existente no DEQ. O picnómetro de hélio é constituído por dois reservatórios de volume conhecido, a câmara onde se coloca a amostra e a câmara de expansão, ligadas entre si por uma válvula. A primeira câmara é mantida à pressão atmosférica, enquanto a segunda câmara contendo hélio é pressurizada. A válvula de expansão é então aberta e o hélio distribuído pelos dois reservatórios. A diminuição de pressão de hélio na segunda câmara corresponde ao volume de espaços vazios existentes na primeira câmara.

2.5.2.4. Determinação da massa específica aparente, porosidade e área superficial externa

Estas determinações foram efectuadas através de um porosímetro de mercúrio Poremaster-60 Quantachrome (Boynton Beach, EUA) que se encontrava ligado a um sistema de aquisição de dados Quantachrome Poremaster for Windows, versão 4.02, existente no DEQ.

Este equipamento possui duas câmaras, uma que funciona a baixas pressões (3,5 a 350 kPa) e que permite determinar a massa específica aparente e a macroporosidade dos materiais e outra a altas pressões (140 kPa a 420 MPa) que permite calcular a porosidade e o diâmetro médio dos poros até à zona da mesoporosidade.

A célula da câmara de baixas pressões é pesada e posteriormente cheia com mercúrio. É aplicado vácuo e efectua-se a pesagem da célula contendo o mercúrio. O mercúrio é então descarregado e é colocada a amostra na célula, efectuando-se o mesmo procedimento. Por fim coloca-se mercúrio na célula que contém a amostra e faz-se novamente uma pesagem. Pelo cálculo das diferenças de massas calcula-se o volume de mercúrio (V_{Hg}) que preenche os poros (Eq. 76):

$$V_{Hg} = \frac{m_{célula+Hg+amostra} - m_{célula} - m_{amostra}}{\rho_{Hg}} \quad (\text{Eq. 76})$$

em que $m_{célula+Hg+amostra}$ corresponde à massa da célula contendo o mercúrio e a amostra, $m_{célula}$ a massa da célula vazia, $m_{amostra}$ a massa da amostra e ρ_{Hg} a massa específica do mercúrio ($\rho_{Hg} = 13,55 \text{ g.cm}^{-3}$).

A massa específica aparente é então calculada através da Eq. 77:

$$\rho_{aparente} = \frac{m_{amostra}}{V_{célula} - V_{Hg}} \quad (\text{Eq. 77})$$

em que $m_{amostra}$ corresponde à massa da amostra, $V_{célula}$ o volume da célula vazia e V_{Hg} o volume de mercúrio que preenche os poros.

Aplicando um método semelhante ao descrito anteriormente à câmara de alta pressão determina-se a porosidade e o diâmetro médio dos poros. A porosidade (ϵ_p) é determinada utilizando a Eq. 78:

$$\epsilon_p = \frac{V_{poros}}{V_{total}} = \frac{V_{Hg(intrudido)}}{V_{célula} + V_{Hg}} \quad (\text{Eq. 78})$$

em que $V_{Hg(intrudido)}$ corresponde ao volume de mercúrio que é intrudido a alta pressão (meso e macroporos), $V_{célula}$ o volume da célula vazia e V_{Hg} o volume de mercúrio que preenche os poros aplicando baixa pressão (macroporos).

Para comparação determinou-se a porosidade teórica (ϵ) do material adsorvente:

$$\epsilon = 1 - \frac{\rho_{aparente}}{\rho_{real}} \quad (\text{Eq. 79})$$

em que, $\rho_{aparente}$ corresponde à massa específica aparente, ρ_{real} à massa específica real (determinada por picnometria de hélio).

O diâmetro médio dos poros (em volume) é definido como o valor de diâmetro para o qual o volume de intrusão de mercúrio é metade do volume total de intrusão por unidade de massa da amostra. Este valor é obtido através da curva experimental de porosimetria (d_v). Paralelamente, é possível determinar-se o diâmetro equivalente de poro. Admitindo um modelo de poros cilíndricos, o diâmetro equivalente de poro (d_p) pode ser calculado tendo por base o volume total de mercúrio intrudido (meso e macroporos) e a área superficial específica externa (A_{sup}):

$$d_p = 4 \times \frac{V_{Hg(intrudido)}}{A_{sup}} \quad (\text{Eq. 80})$$

Tal como mencionado anteriormente, o mercúrio apenas é capaz de penetrar em meso e macroporos. Deste modo, a área superficial obtida através deste método corresponde apenas à área superficial externa. Para o cálculo deste parâmetro é necessário relacionar o trabalho (dW) requerido para mergulhar uma área do material adsorvente (dA_{sup}) em mercúrio com o trabalho fornecido quando uma pressão externa (dP) é aplicada de modo a forçar um determinado volume de mercúrio (dV) a penetrar nos poros do adsorvente, ou seja,

$$dW = \gamma \times \cos \vartheta \times dA_{sup} \quad (\text{Eq. 81})$$

$$dW = -P \times dV \quad (\text{Eq. 82})$$

Logo,

$$\begin{aligned} \gamma \times \cos \theta \times dA_{sup} &= -P \times dV \Leftrightarrow \\ \Leftrightarrow A_{sup} &= -\frac{1}{\gamma \cos \vartheta} \int_0^V P \times dV \end{aligned} \quad (\text{Eq. 83})$$

onde, γ corresponde à tensão superficial do mercúrio ($\gamma = 480 \text{ erg.cm}^{-2}$), θ o ângulo de contacto entre o mercúrio e o adsorvente ($\theta = 140^\circ$) e P a pressão aplicada no mercúrio.

2.5.2.5. Determinação da área superficial total

A determinação da área superficial total foi efectuada por adsorção com N_2 a 77 K, utilizando para isso um analisador AutosorbTM Quantachrome (Boynton Beach, EUA) que se encontrava acoplado a um sistema de aquisição Quantachrome AS1WinTM, versão 2.01, existente no LEPAE. Neste caso, foi utilizado o método B.E.T. (Brunauer-Emmet-Teller), que permite obter a capacidade de adsorção de uma monocamada de moléculas de N_2 a partir de uma isotérmica de adsorção física (Brunauer *et al.*, 1938):

$$\frac{1}{W\left(\frac{P_0}{P} - 1\right)} = \frac{1}{W_m C} + \frac{C-1}{C W_m} \times \frac{P}{P_0} \quad (\text{Eq. 84})$$

onde, P é a pressão de equilíbrio, W é a quantidade total de azoto adsorvida, P_0 é a pressão de vapor do gás, W_m é a capacidade de adsorção da monocamada e C é uma constante do sistema (depende do sistema gás-sólido utilizado).

Este modelo considera as forças de Van der Waals como as únicas responsáveis pelo processo de adsorção e como tal, apenas é aplicado em sistema de adsorção de natureza física. Este modelo assume que as moléculas de adsorbato se distribuem sobre a superfície do adsorvente em camadas sobrepostas infinitamente, que não existe interacção entre cada camada adsorvida e que a teoria de Langmuir pode ser aplicada a cada camada. Devido a estas hipóteses consideradas, este modelo é apenas válido no intervalo $0,05 < P/P_0 < 0,30$, uma vez que a pressões relativas inferiores a 0,05 as heterogeneidades superficiais são muito evidentes e acima de 0,30 pode ocorrer condensação capilar (fenómeno não considerado pelo modelo).

Assim, representando $1/[W(P_0/P-1)]$ em função de P/P_0 na gama $0,05 < P/P_0 < 0,30$ obtém-se uma relação linear. A partir da ordenada na origem e do declive determinou-se a capacidade de adsorção da monocamada. Sabendo este valor é então possível calcular a área específica total:

$$A_{BET} = \frac{N_A \times W_m \times a_m}{M_{N_2}} \quad (\text{Eq. 85})$$

em que, N_A é o número de Avogadro ($N_A = 6,02 \times 10^{23}$ moléculas.mol⁻¹), a_m é a área ocupada por cada molécula de adsorbato ($a_m = 0,162$ nm²) e M_{N_2} é a massa molar do azoto ($M_{N_2} = 28,01$ g.mol⁻¹).

2.5.2.6. Determinação da dureza

A determinação da dureza do material adsorvente foi efectuada seguindo a metodologia sugerida por Ahmedna *et al.* (1997). Cerca de 2 g de adsorvente com granulometria entre 425 – 600 µm foram pesados, colocados num Erlenmeyer de 250 mL juntamente com 10 esferas de vidro ($d = 1,5$ cm, $m = 5,5$ g) e agitados numa orbital GFL 3022 a 200 rpm durante 20 min à temperatura ambiente. Posteriormente o material foi separado num peneiro Endecotts, cujo tamanho de orifícios de passagem era de 425 µm e a fracção retida foi pesada. Os ensaios foram efectuados em duplicado. A dureza foi traduzida através da razão entre a massa das partículas que permaneceram intactas e a massa inicial do adsorvente.

2.5.2.7. *Análise elementar*

Esta análise foi efectuada no Laboratório de Catálise e Materiais da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (LCM). A análise da composição elementar das amostras foi determinada num analisador elementar CHNS da Carlo Erba Instruments, modelo EA 1108 (Milão, Itália) ligado a um computador com um programa de controlo, aquisição e tratamentos de dados Eager 200. Utilizando este equipamento foi possível determinar os teores de carbono, hidrogénio, azoto e oxigénio. Esta determinação foi realizada através da análise por cromatografia gasosa com detecção por condutividade térmica dos produtos de combustão (dióxido de carbono, vapor de água e azoto) resultantes da queima instantânea de cerca de 4 mg de amostra a 1020 °C. A quantificação foi feita através da calibração do equipamento com um padrão de sulfonilamida ($C_6H_8N_2O_2S$). Os ensaios foram realizados em triplicado.

2.5.2.8. *Análise termogravimétrica*

A análise termogravimétrica foi efectuada num sistema de análise térmica TG 209 F1 Iris[®] Netzsch (Selb, Alemanha) do LEPAE e consistiu na determinação por perda de massa durante um processo de aquecimento dos teores de humidade, voláteis, carbono fixo e cinzas.

A metodologia consistiu no aquecimento de cerca de 30 mg de amostra numa atmosfera de azoto ($30 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$) de 25 a 950 °C, a $250 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, seguido de um patamar isotérmico de 9 min. Nos últimos 20 min o gás é alterado para oxigénio ($30 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$) e a temperatura mantida nos 950 °C. A humidade do material é determinada pela perda de massa entre 25 e 110 °C, enquanto a fracção de matéria volátil entre 110 e 950 °C. O carbono fixo é calculado através da perda de massa em atmosfera oxidante enquanto o teor de cinzas corresponde ao resíduo final.

2.5.2.9. *Análise por espectroscopia de infravermelho associado a transformadas de Fourier (FTIR)*

O espectro de infravermelho foi obtido num espectrómetro Bomem MB-Series, Arid-Zone[™] (Quebec, Canadá), existente no DEQ. A gama definida para a energia incidente foi de 4000 a 450 cm^{-1} . O espectro de infravermelho foi obtido com uma resolução de 4 cm^{-1} e 22 scans. min^{-1} .

2.5.2.10. *Análise por espectroscopia de fotoelectrões de raio X (XPS)*

A análise da superfície do material adsorvente foi efectuada através de espectroscopia de fotoelectrões de raio X por um equipamento VG Scientific ESCALAB 200A, com um ânodo de Mg (voltagem de raios X: 15 kV, 300 W, energia da radiação: 1253,6 V) do Centro de Materiais da

Universidade do Porto (CEMUP). Esta técnica consiste na incidência de uma radiação de raios X numa amostra de espessura bastante fina (≈ 1 mm), que é mantida dentro de uma câmara pressurizada (10^{-9} torr) a uma temperatura baixa. Para cada amostra foram obtidos quatro espectros: espectro de XPS (*survey spectra*), espectro de elevada resolução da região C1s (278-296 eV), O1s (526-546 eV) e N1s (392-414 eV). Para obter uma análise detalhada das ligações químicas foi efectuada a deconvolução dos picos do espectro através do ajuste das curvas pelo método dos mínimos quadrados, recorrendo ao programa XPSPEAK, versão 4.1.

2.5.2.11. Determinação da basicidade e acidez totais

Os dois materiais adsorventes (100 mg) foram colocados em contacto com solução de 50 mL HCl 0,1 N em matrizes fechados, durante 48 horas a 20 °C e sob agitação constante. Ao fim desse tempo as suspensões foram filtradas e a basicidade do material determinada através da titulação potenciométrica com NaOH 0,1 N do ácido ainda presente em solução. O procedimento para a determinação da acidez total foi semelhante ao descrito anteriormente, mas inicialmente a solução colocada em contacto com as amostras foi NaOH 0,1 N. Esta base foi posteriormente titulada com 0,1 N HCl.

2.5.2.12. Determinação dos grupos funcionais à superfície

A determinação dos grupos funcionais à superfície dos materiais adsorventes estudados foi efectuada de acordo com o método proposto por Boehm (2002). Tal como na determinação da basicidade e acidez totais, 100 mg de adsorvente foram colocados em contacto com 50 mL de diferentes soluções (NaHCO_3 0,02 N, Na_2CO_3 0,02 N, NaOH 0,02 N) em matrizes fechados e mantidos durante 48 horas a 20 °C, sob agitação constante. Ao fim desse tempo as suspensões foram filtradas e o excesso de base foi titulado com HCl 0,1 N.

Durante o tempo que estiveram em contacto, as soluções básicas reagiram com determinados grupos ácidos presentes na superfície do material adsorvente. Segundo o método de Boehm, NaHCO_3 neutraliza os ácidos carboxílicos, Na_2CO_3 neutraliza os grupos carboxílicos e lactónicos, NaOH 0,02 N neutraliza os grupos carboxílicos, lactónicos e fenólicos e NaOH 0,1 N neutraliza os grupos carboxílicos, lactónicos, fenólicos e carbonilos (Boehm, 2002). A concentração de cada grupo superficial é obtida por diferença entre as diferentes titulações realizadas.

2.5.2.13. Determinação do pH no ponto de carga nula

Na análise do ponto de carga nula foram colocados 50 mL de solução NaCl 0,01M em vários matrizes e fez-se borbulhar azoto de modo a estabilizar o pH da solução e para prevenir a dissolução de CO₂. O pH foi então ajustado entre 2 e 12 através da adição de solução HCl 0,1 M ou NaOH 0,1 M. A cada matraz adicionou-se 150 mg de amostra, deixando-se a suspensão sob agitação a 20 °C, durante 48 h. Ao fim desse intervalo de tempo, mediu-se o pH final da solução. Todos estes ensaios foram efectuados em duplicado.

O pH no ponto de carga nula corresponde ao valor de pH aonde a curva pH final vs pH inicial cruza a linha pH final = pH inicial (Rivera-Utrilla *et al.*, 2001).

2.5.2.14. Determinação dos minerais hidrossolúveis

Para estudar a presença de minerais hidrossolúveis no material adsorvente colocou-se uma suspensão de 1% (m/m) de amostra em água desionizada a agitou-se durante 20 min à temperatura ambiente. De seguida, a condutividade desta suspensão foi medida através de um condutímetro WTW LF S38 (Weilheim, Alemanha). Os ensaios foram realizados em triplicado. Este procedimento foi seguido de acordo com o trabalho de Ahmedna *et al.* (1997).

2.5.3. Ensaio de adsorção em sistema fechado (*Batch*)

Na realização deste trabalho efectuaram-se ensaios de adsorção com casca de amêndoa de modo a testar a sua eficiência na remoção de um antibiótico (amoxicilina) em matrizes aquosas. Também foram realizados alguns estudos comparativos com carvão activado.

Nestes ensaios a concentração de analito retida no material adsorvente foi avaliada através de:

$$q = \frac{(C_0 - C)V}{m} \quad (\text{Eq. 86})$$

em que q é a quantidade de amoxicilina adsorvida (mg.g^{-1}), C_0 e C a concentração inicial de amoxicilina e no instante t (mg.L^{-1}), respectivamente, V o volume da fase aquosa (L) e m a massa de adsorvente utilizada (g).

Já a percentagem de amoxicilina removida do sistema é determinada a partir de:

$$\% \text{Remoção} = \frac{(C_0 - C)}{C_0} \times 100 \quad (\text{Eq. 87})$$

A adequação dos modelos de ajuste aos pontos experimentais foi avaliada através do coeficiente de determinação (R^2) e do desvio-padrão normalizado:

$$\%SD = \sqrt{\frac{\sum \left(\frac{q_{\text{exp}} - q_{\text{calc}}}{q_{\text{exp}}} \right)^2}{n-1}} \times 100 \quad (\text{Eq. 88})$$

em que os subscritos *exp* e *calc* se referem aos valores experimentais e calculados, respectivamente e n ao número de pontos experimentais.

2.5.3.1. Avaliação da adsorção da amoxicilina aos filtros

Nos ensaios de adsorção, as amostras retiradas ao longo do tempo foram filtradas através de papel de filtro de celulose e posteriormente com filtros de seringa contendo uma membrana de PTFE. A adsorção da amoxicilina a estes filtros foi testada através da filtração de um padrão correspondente à concentração máxima da curva de calibração e injeção deste e de um padrão não filtrado em HPLC.

2.5.3.2. Cinética de adsorção

Nos ensaios cinéticos com casca carbonizada de amêndoa 50,0 mg de adsorvente foram equilibrados com 20 mL de água durante 2 horas, em matrizes fechados. Após esse período, estas soluções foram contaminadas com solução-mãe de amoxicilina de concentração 56 mg.L⁻¹ (adição entre 50 e 350 µL). Os matrizes foram colocados numa incubadora (Dortmund, Alemanha) a temperatura constante e as soluções foram agitadas a cerca de 120 rpm com barras magnéticas durante um determinado período de tempo. Ao fim desse tempo, o matraz foi retirado da incubadora e a suspensão filtrada com papel de filtro quantitativo com retenção de partículas entre 5 e 10 µm (West Chester, EUA) e subsequentemente, com filtros de seringa contendo uma membrana de 0,2 µm PTFE (West Chester, EUA). Para além destes ensaios foram realizados também três brancos: foi testado se o papel de filtro utilizado contribuía para a adsorção da amoxicilina, se a água com que as soluções foram preparadas não continha o composto a analisar e se as cascas de amêndoa carbonizadas não libertavam compostos que pudessem interferir na identificação e quantificação do antibiótico. Todos os ensaios foram realizados em duplicado e as amostras foram mantidas a 4 °C até serem analisadas por HPLC-DAD.

2.5.3.3. Isotérmicas de equilíbrio

Os ensaios de equilíbrio com casca de amêndoa carbonizada foram efectuados variando a concentração da solução de amoxicilina e mantendo a massa do adsorvente (50,0 mg). O procedimento seguido foi análogo ao explicado para a determinação das cinéticas da adsorção, mas todas as amostras foram retiradas ao mesmo tempo ao fim de 12 horas. Os ensaios foram realizados em duplicado e as amostras foram mantidas a 4 °C até serem analisadas por HPLC-DAD.

2.5.3.4. Estudos de dessorção

De modo a estudar o processo de dessorção, as cascas de amêndoa carbonizadas utilizadas nos ensaios de adsorção foram imersas em 20 mL de água destilada, previamente filtrada, e foram mantidas a temperatura constante durante 12 h. Após esse período de tempo as suspensões foram filtradas e mantidas a 4 °C até serem analisadas por HPLC-DAD.

2.5.4. Ensaio de adsorção em leito fixo

Parte dos ensaios de adsorção em leito fixo foram realizados numa coluna de vidro de 2 cm de diâmetro e 26 cm de altura. A casca de amêndoa carbonizada foi colocada em água destilada aonde previamente se tinha borbulhado azoto durante 24 horas sob agitação constante. A coluna foi então empacotada de modo a criar um leito compacto e uniforme. No topo deste leito foram colocadas pequenas esferas de vidro de modo a evitar a flutuação de partículas do leito e a permitir uma distribuição uniforme do efluente. Uma solução de amoxicilina foi alimentada através de uma bomba peristáltica pelo topo da coluna. O fluido percorria o leito até ser recolhido na base da coluna à qual se encontrava ligada uma torneira e um grampo de aperto (para regulação do caudal). Em intervalos regulares a amostra era recolhida e posteriormente analisada em HPLC-DAD. Foram realizados ensaios em que se variou a concentração inicial de amoxicilina ($250 - 10000 \mu\text{g.L}^{-1}$), a altura do leito (2-6 cm) e o caudal de alimentação ($6-12 \text{ mL.min}^{-1}$).

De modo a poder estudar a influência do diâmetro da coluna, efectuaram-se alguns ensaios em colunas de plástico de 1 cm de diâmetro e 15 cm de altura. No topo destas colunas foi colocado um fritz de PTFE de modo a evitar a flutuação de partículas. A solução de amoxicilina foi também ela alimentada através de uma bomba peristáltica pelo topo da coluna, mas uma bomba de vácuo foi ligada ao reservatório dos resíduos de modo a controlar o caudal de saída da coluna. As amostras foram retiradas na base da coluna de adsorção. Todos os ensaios foram realizados à temperatura ambiente.

2.6. Ensaio de oxidação

2.6.1. Estudo das interferências das espécies utilizadas na oxidação com reagente de Fenton com a amoxicilina

Neste trabalho foi avaliada a eventual existência de interferências na quantificação da amoxicilina por HPLC-DAD devido à existência de diferentes espécies químicas usadas nos ensaios de oxidação (peróxido de hidrogénio, sulfato de ferro (II), sulfato de ferro (III) e sulfato de ferro (IV)). Para tal prepararam-se diversas soluções de amoxicilina contendo peróxido de hidrogénio, sulfato de ferro e sulfato ([AMOX] = $450-100 \mu\text{g.L}^{-1}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]$ = $0,42-4,28 \text{ mg.L}^{-1}$, $[\text{Fe}^{2+}]$ = $30-350 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $[\text{Na}_2\text{SO}_3]$ = 1 mg.mL^{-1}). Estas soluções foram posteriormente injectadas em HPLC, conjuntamente com padrões de controlo de amoxicilina.

2.6.2. Ensaio de oxidação com reagente de Fenton

Todas as experiências foram efectuadas num reactor fechado termostaticado com 250 mL de capacidade (7,5 cm x 11,5 cm) (Figura 31). Este reactor foi coberto com folha de alumínio de modo a que a solução colocada no seu interior esteja protegida da luz. Utilizou-se uma placa de agitação magnética para promover uma mistura uniforme, um banho termostático para manter a temperatura constante e no topo do reactor foi ainda introduzido um termómetro para se efectuar uma medição contínua da temperatura. Em cada experiência, o reactor foi preenchido com 100 mL de solução aquosa de amoxicilina e o pH ajustado com solução aquosa de H_2SO_4 ou NaOH 1 M. Uma determinada quantidade de sulfato de ferro (II) é então adicionado ao reactor e a reacção de oxidação começa com a adição de peróxido de hidrogénio. Retiraram-se aliquotas do reactor ao longo do tempo para posterior análise cromatográfica. De modo a assegurar a paragem da reacção de Fenton, um excesso de sulfito de sódio anidro foi adicionada a cada uma das aliquotas.

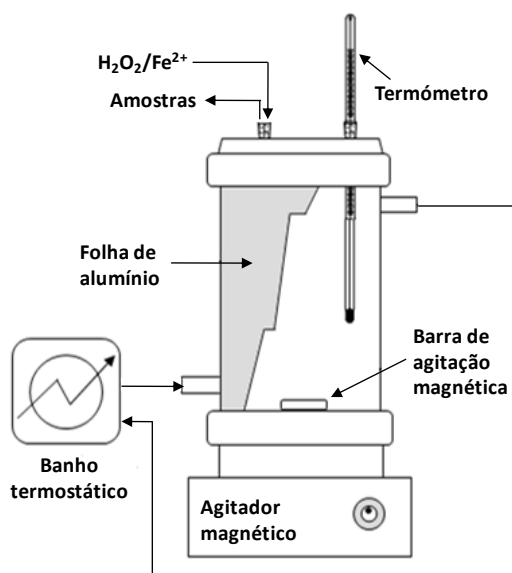


Figura 31. Esquema da montagem experimental para os ensaios de oxidação de Fenton.

2.6.3. Ensaio de oxidação com reagente de Fenton e microondas

Nestes ensaios utilizou-se uma versão modificada de um microondas doméstico Electric Co. WP700P17-3 (2,450 Hz, China), com uma potência máxima de 700 W. Tal como pode ser verificado na Figura 32, um balão de fundo redondo com capacidade de 100 mL foi introduzido no microondas e acoplado a um condensador exterior. Como líquido de arrefecimento utilizou-se água a cerca de 5 °C, proveniente de um banho termoestático. As experiências foram efectuadas dentro de uma *hotte*. No topo do condensador (tubo em L) foi colocado carvão activado de modo a adsorver

qualquer composto que pudesse ser libertado. O condensador foi utilizado de modo a prevenir a evaporação das amostras (minimizar a variação de volume).

Para estas experiências colocou-se num balão de fundo redondo 50 mL de solução aquosa de amoxicilina (cujo pH foi ajustado previamente a 3,5 com solução aquosa de H_2SO_4 1 M) e algumas esferas de vidro. Adicionou-se uma determinada quantidade de sulfato de ferro (II) e de peróxido de hidrogénio e homogeneizou-se a solução. A amostra foi colocada dentro do microondas e irradiada durante um determinado intervalo de tempo. A reacção de oxidação foi parada através da adição de um excesso de sulfito de sódio anidro a cada uma das alíquotas retiradas.

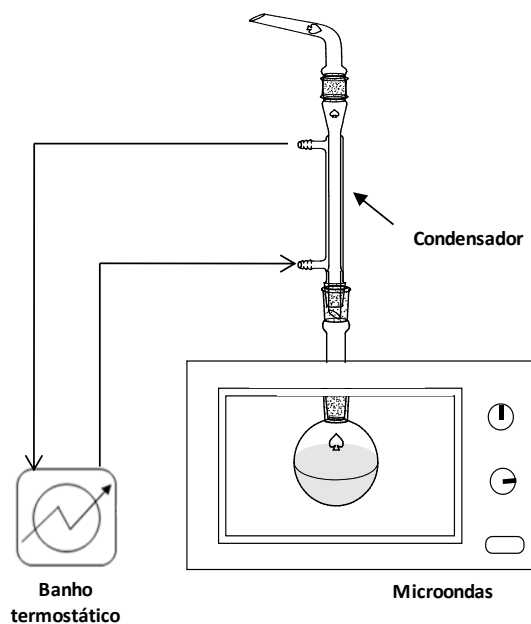


Figura 32. Esquema da montagem experimental para os ensaios de oxidação assistida por microondas.

2.7. Tratamento dos resíduos gerados

Os resíduos líquidos gerados neste trabalho consistiam geralmente em soluções aquosas de amoxicilina (ensaio de adsorção) podendo conter também ferro e vestígios de H_2O_2 (ensaio de oxidação) e/ou acetonitrilo e vestígios de ácido *orto*-fosfórico (injecção em HPLC). Todos estes resíduos foram recolhidos em recipientes fechados, devidamente rotulados e armazenados longe da luz e de fontes de ignição para posterior tratamento por parte do sistema de gestão ambiental da FEUP - EcoFEUP. O resíduo sólido gerado (casca de amêndoa carbonizada contendo amoxicilina) foi também ele armazenado em recipientes fechados e encaminhado para posterior tratamento por incineração.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho pretendeu-se avaliar a degradação/remoção da amoxicilina através da oxidação por reagente de Fenton e da adsorção. Para tal foi necessário desenvolver metodologias analíticas que permitissem analisar as amostras provenientes destes tratamentos (quantificação da amoxicilina em soluções aquosas em contacto com casca de amêndoa e em soluções aquosas após tratamento com reagente de Fenton) e assim, avaliar a eficiência de cada um dos processos.

3.1. Desenvolvimento, implementação e validação de um método de análise de amoxicilina por HPLC-DAD

Com o intuito de detectar e quantificar o antibiótico amoxicilina em matrizes aquosas desenvolveu-se e validou-se um método analítico sensível e expedito. Para tal, recorreu-se à cromatografia de alta eficiência (HPLC) acoplada a um detector de díodos (DAD). O método utilizado baseou-se num método previamente desenvolvido no grupo de investigação (Teixeira *et al.*, 2008).

A identificação do composto foi obtida por injeção directa de padrões de amoxicilina, sendo avaliado o seu tempo de retenção. Na Figura 33 está representado um cromatograma de uma solução-padrão de amoxicilina $450 \mu\text{g.L}^{-1}$.

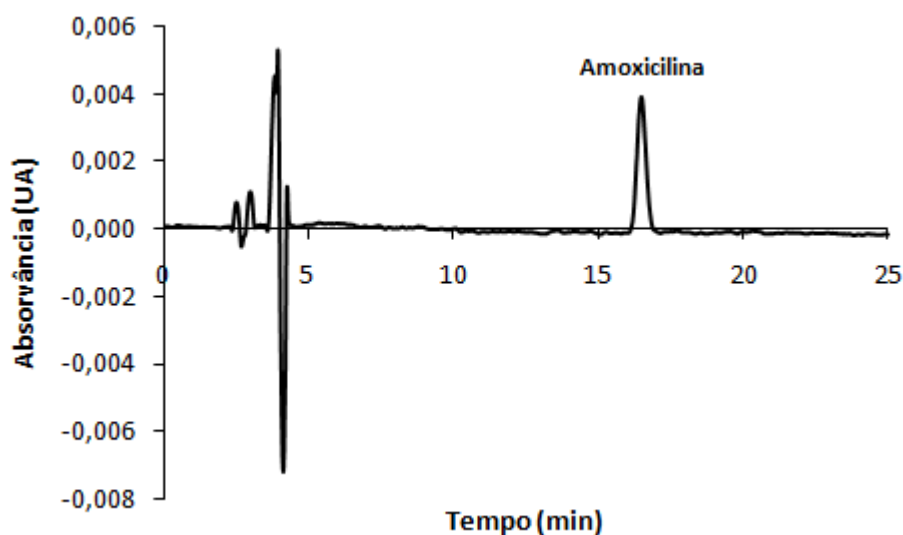


Figura 33. Cromatograma de um padrão de amoxicilina $450 \mu\text{g.L}^{-1}$.

As análises cromatográficas foram realizadas à temperatura ambiente ($T \approx 20 - 28^\circ\text{C}$). Por esta razão, o tempo de retenção da amoxicilina não se manteve constante ao longo de todas as experiências. Nos dias em que a temperatura ambiente era mais baixa, o tempo de retenção aumentava (a adsorção é favorecida pelo abaixamento de temperatura – composto mais retido na

coluna), enquanto um aumento da temperatura conduziu a uma diminuição no tempo de retenção. Para despistar quaisquer dúvidas que pudessem surgir devido a estas alterações no tempo de retenção, antes de injectar qualquer amostra era injectada uma solução padrão de amoxicilina.

O detector de díodos possibilitou também determinar o espectro de absorção do composto em estudo, permitindo a avaliação da pureza dos picos obtidos (Figura 34).

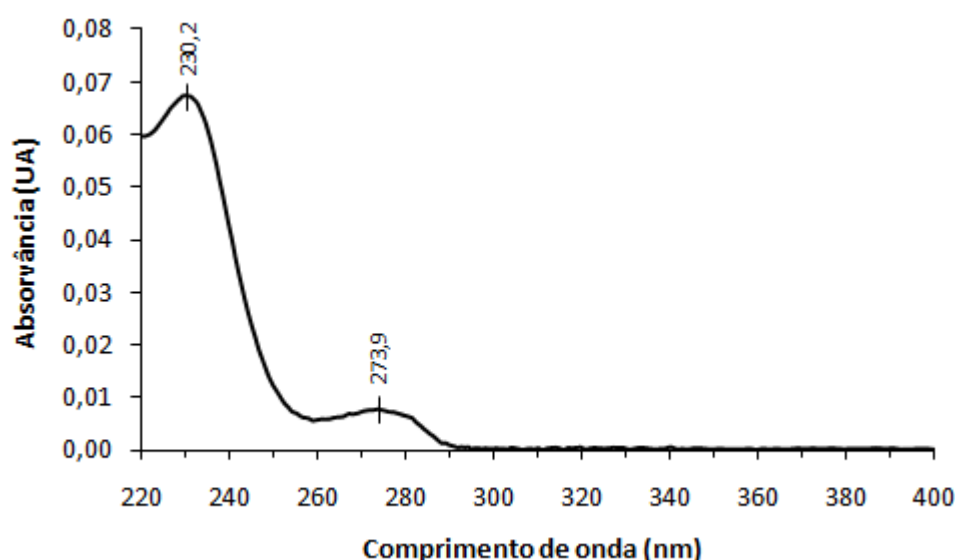


Figura 34. Espectro de absorção de um padrão de amoxicilina 1,5 mg.L⁻¹.

O tempo de retenção, em combinação com a avaliação da pureza e o espectro UV do composto, foi utilizado na identificação do composto.

Para avaliar a qualidade dos resultados experimentais obtidos a partir do método analítico implementado, foram realizados ensaios de validação. Estes permitiram determinar um conjunto de parâmetros estatísticos que possibilitaram a avaliação das características do método:

- Linearidade (recta de calibração e limites de detecção e quantificação);
- Precisão (ensaios de repetibilidade e precisão intermédia);
- Exactidão (ensaios de recuperação pelo método de adição de padrão);
- Incerteza global associada (*bottom-up*, *top-down* e *top-down* modificada).

O procedimento de cálculo para a incerteza global está compilado no Anexo 1.

3.1.1. Linearidade da resposta, limites de detecção e quantificação

Para a construção da recta de calibração foram utilizadas oito soluções padrão de amoxicilina com concentrações entre 25 e 500 $\mu\text{g.L}^{-1}$, tendo sido feita a análise de cada padrão em duplicado. Na Figura 35 apresenta-se a recta de calibração e os limites de confiança associados (95%).

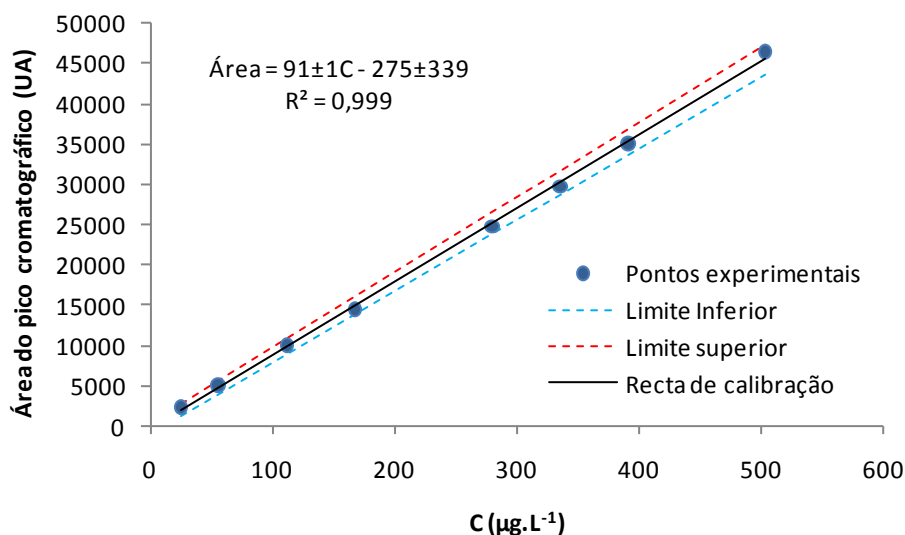


Figura 35. Recta de calibração para a amoxicilina e respectivo intervalo de confiança.

A partir da recta de calibração foi possível obter os parâmetros de quantificação – o declive, a ordenada na origem, o coeficiente de correlação e os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) (Tabela 12). O limite de detecção foi calculado considerando uma razão sinal/ruído (S/N) igual a 3, enquanto o limite de quantificação para $S/N = 10$.

Tabela 12. Parâmetros de quantificação.

Linearidade ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Declive ($\mu\text{V.s.L.}\mu\text{g}^{-1}$)	Ordenada na origem ($\mu\text{V.s}$)	R	Calculado a partir de S/N	
				Limite de detecção ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Limite de quantificação ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
25-500	91 ± 1	-275 ± 339	0,999	7	23

Os laboratórios de controlo de qualidade geralmente utilizam três critérios para admitirem que um método é adequado para ser utilizado em análise (Miller e Miller, 1988):

- Desvio-padrão relativo do declive (s_a/a) inferior a 5%;
- Ordenada na origem conter a própria origem ($b-s_b < 0 < b+s_b$);
- Coeficiente de correlação (R) for superior a 0,995.

Obteve-se um desvio-padrão relativo do declive de 1,3% e um coeficiente de correlação de 0,999. Verificou-se também que a ordenada na origem contém a própria origem, ou seja $b-s_b = -614 < 0 < b+s_b = 64$. Tendo em conta estes critérios, pode-se afirmar que a recta de calibração obtida é adequada para ser utilizada em análise.

3.1.2. Precisão

A precisão pode ser definida como o grau de proximidade entre resultados referentes à mesma amostra. Para o estudo da precisão do método determinou-se a repetibilidade e a precisão intermédia. A repetibilidade é definida como o desvio-padrão relativo de, no mínimo seis determinações, do mesmo padrão nas mesmas condições e no intervalo de tempo mais curto possível. A precisão intermédia é expressa através do desvio-padrão relativo de, no mínimo seis determinações do mesmo padrão, fazendo variar uma das condições experimentais – neste caso o dia de análise.

No trabalho foram testadas soluções padrão de amoxicilina a três níveis de concentração ($25 \mu\text{g.L}^{-1}$, $280 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $504 \mu\text{g.L}^{-1}$) quer para a repetibilidade, quer para a precisão intermédia. Os resultados obtidos estão resumidos na Tabela 13 e estão expressos em termos de coeficiente de variação (%CV).

Tabela 13. Estudo da precisão do método analítico com soluções padrão.

(n = 6)	$25 \mu\text{g.L}^{-1}$	$280 \mu\text{g.L}^{-1}$	$500 \mu\text{g.L}^{-1}$
Repetibilidade (%)	8,0	0,9	0,3
Precisão intermédia (%)	3,8	0,8	1,1

Para além deste estudo com soluções padrão, foram efectuados ensaios de precisão (repetibilidade) em amostras reais (Tabela 14).

Tabela 14. Estudo da precisão (repetibilidade) do método analítico com amostras reais.

Repetibilidade (%) (n = 3)	$25 \mu\text{g.L}^{-1}$	$280 \mu\text{g.L}^{-1}$	$500 \mu\text{g.L}^{-1}$
Adsorção	6,3	0,7	0,1
Fenton	7,9	0,6	0,4

Como se pode verificar, os resultados obtidos para as amostras reais não são significativamente diferentes aos obtidos para as soluções padrão. Por esta razão, utilizaram-se os valores referentes às soluções padrão na avaliação da incerteza global do método.

Normalmente, são considerados aceitáveis valores até 10%, tendo em conta o método empregue e a gama de concentrações de trabalho (na ordem dos $\mu\text{g.L}^{-1}$). Os resultados indicam, portanto, que o método é preciso.

3.1.3. Exactidão

A exactidão mede o grau de proximidade entre o resultado obtido e o resultado esperado. Esta pode ser avaliada utilizando um material de referência certificado ou através de ensaios de recuperação. Para este trabalho a exactidão foi determinada através do método da adição de padrão – seis ensaios a três níveis de concentração ($25 \mu\text{g.L}^{-1}$, $280 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $500 \mu\text{g.L}^{-1}$). A recuperação foi calculada através da razão entre a concentração obtida e a esperada (Tabela 15).

Tabela 15. Estudo da exactidão do método analítico.

(n = 6)	$25 \mu\text{g.L}^{-1}$	$280 \mu\text{g.L}^{-1}$	$500 \mu\text{g.L}^{-1}$
Recuperação $\pm$ desvio-padrão (%)	105 ± 4	99 ± 1	99 ± 1

A recuperação média obtida foi de $(101 \pm 4)\%$, valor considerado aceitável para este tipo de análise. Para além da avaliação da recuperação em soluções padrão foram efectuados testes de recuperação com amostras reais. Utilizando quer amostras de adsorção, quer provenientes da oxidação com reagente de Fenton, foi obtida uma recuperação média de $(102 \pm 2)\%$. Mais uma vez este valor não é significativamente diferente do obtido para as soluções padrão. Por esta razão, utilizaram-se os valores referentes às soluções padrão na avaliação da incerteza global do método.

3.1.4. Avaliação da Incerteza Global

De acordo com a *International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology* o termo incerteza pode ser definido como parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão de valores que podiam ser razoavelmente atribuídos à grandeza sujeita a medição (ISO, 1993). A incerteza pode provir de várias fontes, nomeadamente da amostragem, efeito de matriz e interferentes, condições ambientais, equipamento de medição, valores de referência, aproximações e suposições efectuadas no método e variações aleatórias (Ellisson *et al.*, 2000). É importante não confundir incerteza com erro. Este último é definido como a diferença entre o resultado e o valor real para o parâmetro medido. Como tal, o erro corresponde a um único valor, podendo ser aplicado como correcção a um resultado. Já a incerteza é apresentada sob a forma de gama e não deverá ser utilizada para corrigir resultados.

Existem várias aproximações para o cálculo das incertezas na análise química. A metodologia conhecida por *bottom-up* foi adoptada pela *International Organization for Standardization* (ISO) e pelo *EURACHEM/CITAC Guide* (Ellisson *et al.*, 2000). A incerteza global é determinada através da identificação, estimativa e combinação de todas as fontes de incerteza associadas ao resultado

(Ratola *et al.*, 2006). Esta metodologia possui a vantagem de permitir a interpretação e a avaliação das contribuições individuais das fontes de incerteza, permitindo a detecção das mais significativas.

Outro processo utilizado para a determinação das incertezas é a metodologia *top-down*, adotada pelo *Analytical Methods Committee* e recomendada pela Norma ISO 21748:2004, que permite estimar as incertezas utilizando resultados obtidos através de estudos interlaboratoriais. Uma aproximação deste tipo aplica o modelo da “caixa preta” para estimar a incerteza de elementos característicos do método analítico (exactidão, repetibilidade e reprodutibilidade) (Štěpán *et al.*, 2004). A grande desvantagem desta metodologia reside no facto de, na maioria das vezes, não existirem disponíveis estudos interlaboratoriais consistentes.

Existe ainda outro processo muito mais simples que os descritos anteriormente para estimar incertezas. Horwitz propôs a metodologia *fitness-for-purpose*, derivada a partir de mais do que dez mil estudos interlaboratoriais elaborados pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC). Esta é uma representação empírica do desvio padrão relativo em função da concentração (Figura 36) e constitui uma estimativa simplista, uma vez que não tem em conta as propriedades físico-químicas dos analitos, interferentes na matriz, nem o método analítico utilizado.

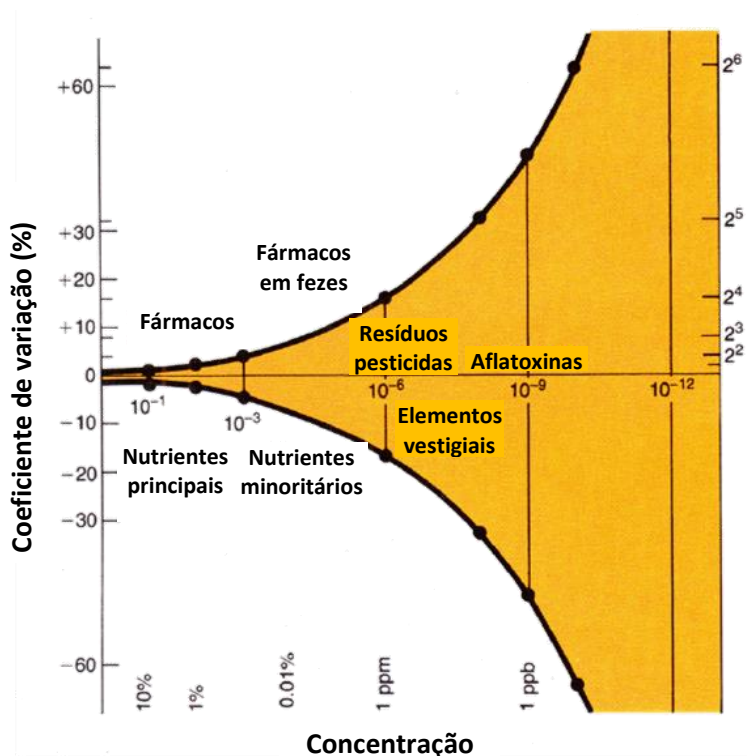


Figura 36. Curva generalizada que relaciona os coeficientes de variação (expressos em potências de 2 na escala do lado direito) com a concentração (expressa em potências de 10). Adaptado de Horwitz (1982).

Através desta curva, Horwitz derivou uma expressão que permite estimar a precisão interlaboratorial:

$$CV(\%) = 2^{1-0,5\log C} = 2C^{-0,1505} \quad (\text{Eq. 89})$$

em que CV corresponde ao coeficiente de variação e C é a concentração do analito expressa em fracção mássica (por exemplo, 1 ppm = 10^{-6}).

Thompson verificou que esta expressão não era aplicável em todos os casos, propondo algumas alterações (Thompson, 2000):

$$\sigma = 0,22C, \text{ se } C < 1,2 \times 10^{-7} \quad (\text{Eq. 90})$$

$$\sigma = 0,02C^{0,8495}, \text{ se } 1,2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0,138 \quad (\text{Eq. 91})$$

$$\sigma = 0,01C^{0,5}, \text{ se } C > 0,138 \quad (\text{Eq. 92})$$

σ corresponde ao desvio padrão e C é a concentração do analito expressa em fracção mássica.

No presente trabalho três aproximações para a estimativa de incertezas foram aplicadas e comparadas: o método proposto pela EURACHEM (*bottom-up*), a metodologia *fitness-for-purpose* e a aproximação *top-down* modificada.

3.1.4.1. Metodologia *bottom-up*

Como foi referido anteriormente, a avaliação da incerteza global, com base na metodologia descrita pela EURACHEM (2000), tem em conta as contribuições de todas as fontes de incerteza, permitindo constatar quais as que mais influenciam o resultado. Consideraram-se quatro fontes essenciais de incerteza: a incerteza associada à preparação de padrões (U_1), a incerteza associada à recta de calibração (U_2) e as incertezas relativas à determinação da precisão (U_3) e exactidão (U_4). Contabilizando a influência de cada uma destas fontes é calculado uma incerteza global (U_{global}). No anexo 1 está resumido o procedimento de cálculo, incluindo todas as expressões necessárias para estimar a incerteza global.

Na Tabela 16 são apresentadas as incertezas associadas às fontes consideradas, assim como o valor da incerteza global.

Tabela 16. Estudo das incertezas associadas a cada uma das fontes e incerteza global.

C ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	% U_1	% U_2	% U_3	% U_4	% U_{global}	% $U_{\text{global}} \text{ expandido}$
25	1,5	20,6	1,5	1,6	20,7	41,5
56	0,8	8,9	1,5	1,6	9,2	18,5
112	1,5	4,2	1,5	1,6	5,0	10,0
168	1,5	2,7	0,3	0,3	3,1	6,3
280	0,9	1,6	0,3	0,3	1,9	3,8
336	0,9	1,4	0,4	0,5	1,8	3,6
392	0,9	1,2	0,4	0,5	1,7	3,4
500	0,9	1,1	0,4	0,5	1,6	3,2

Na Figura 37 estão representados os pesos relativos de cada fonte de incerteza (U_1, U_2, U_3, U_4) para cada concentração de padrão.

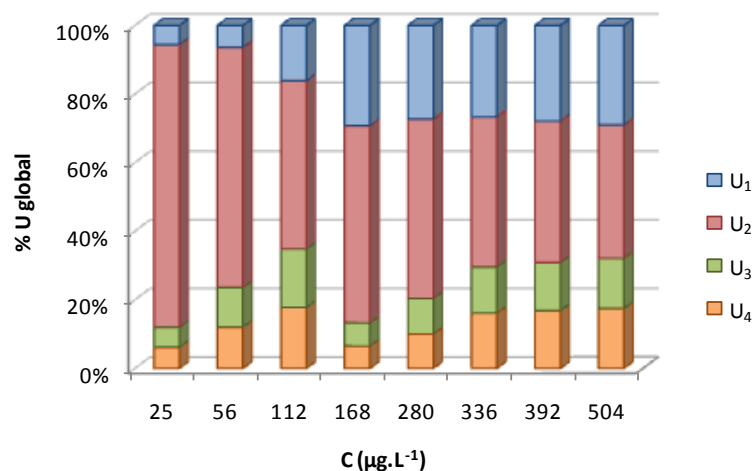


Figura 37. Contribuição das incertezas individuais no resultado da incerteza global.

A contribuição relativa destas fontes é dependente da concentração dos padrões. No entanto, a incerteza associada à recta de calibração (U_2) é a que mais influencia o resultado final. A incerteza da determinação da precisão (U_3) contribui com menos de 15% para a incerteza global, enquanto a preparação dos padrões (U_1) e a exactidão (U_4) tendem a influenciar de igual forma o resultado.

Representando a incerteza global em função da concentração do analito obtém-se uma curva típica (Figura 38).

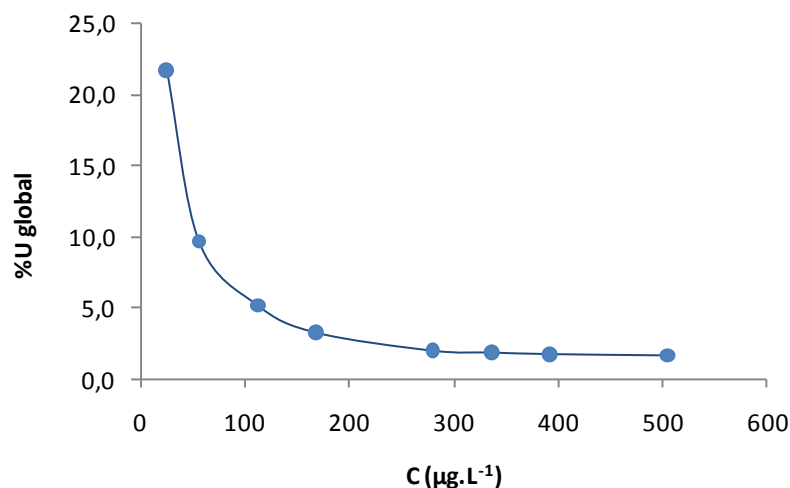


Figura 38. Incerteza global em função da concentração de amoxicilina.

A incerteza global mantém-se praticamente constante para a gama de concentrações mais elevadas ($C > 280 \mu\text{g.L}^{-1}$), aumentando exponencialmente para as concentrações mais baixas.

3.1.4.2. Metodologia *fitness-for-purpose* e metodologia *top-down* modificada

Normalmente, pretende-se que a incerteza associada a um determinado método analítico seja a mais pequena possível. No entanto, o custo das análises é inversamente proporcional à incerteza. É portanto necessário, definir uma situação de compromisso que permita obter uma incerteza adequada aos objectivos do trabalho. Surge assim, o conceito *fitness-for-purpose*.

Horwitz e os seus colaboradores efectuaram mais que dez mil estudos interlaboratoriais e propuseram esta metodologia para avaliar a variabilidade, validar e testar a confiabilidade de um certo conjunto de resultados. Tal como foi referido anteriormente, Thompson verificou que esta metodologia não era a mais adequada para uma gama de concentrações inferiores a $100 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Os resultados obtidos aplicando cada uma destas metodologias encontram-se na Tabela 17.

Tabela 17. Coeficiente de variação calculado com base na metodologia *fitness-for-purpose* e *top-down* modificada para cada concentração de amoxicilina.

		<i>Fitness-for-purpose</i>	<i>Top-down</i> modificada
C ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	C (g/g)	% CV	% CV
25	$2,5 \times 10^{-8}$	27,8	22,0
56	$5,6 \times 10^{-8}$	24,7	22,0
112	$1,1 \times 10^{-7}$	22,2	22,0
168	$1,7 \times 10^{-7}$	20,9	20,9
280	$2,8 \times 10^{-7}$	19,4	19,4
336	$3,4 \times 10^{-7}$	18,9	18,9
392	$3,9 \times 10^{-7}$	18,4	18,4
504	$5,0 \times 10^{-7}$	17,7	17,7

3.1.4.3. Comparação entre as três metodologias estudadas

Após avaliar as incertezas obtidas por cada método, efectuou-se uma comparação entre as três metodologias estudadas (Figura 39). De modo a obter um nível de confiança de aproximadamente 95%, os resultados devem vir expressos sob a forma de incerteza expandida. Para tal, o valor de U_{global} virá afectado de um factor de conversão k , sendo recomendado, para a maioria dos casos, um valor de k igual a 2 (Ellisson *et al.*, 2000).

Como se pode verificar, para padrões de concentração superior a cerca de $112 \mu\text{g.L}^{-1}$ a incerteza estimada pela metodologia *top-down* modificada aproxima-se da incerteza admitida por Horwitz, embora esta última seja maior para padrões de concentração inferior. É importante não esquecer que a metodologia proposta por Horwitz, não tem em conta as propriedades físico-químicas dos analitos, interferentes na matriz, nem o método analítico utilizado. Por isso, para níveis de concentração mais baixos esta estimativa é normalmente desaconselhada.

Através da comparação das metodologias é também possível constatar que as metodologias *top-down* e *fitness-for-purpose* produzem níveis de incerteza superiores ao processo *bottom-up*. Enquanto nas duas primeiras metodologias o parâmetro mais significativo corresponde à precisão, no processo proposto pela EURACHEM a incerteza associada à precisão contribui com menos de 15% para a incerteza global. Por outro lado a metodologia *bottom-up* refere-se a estudos efectuados em apenas um laboratório e para apenas uma metodologia, sendo portanto expectável uma menor variabilidade nos resultados.

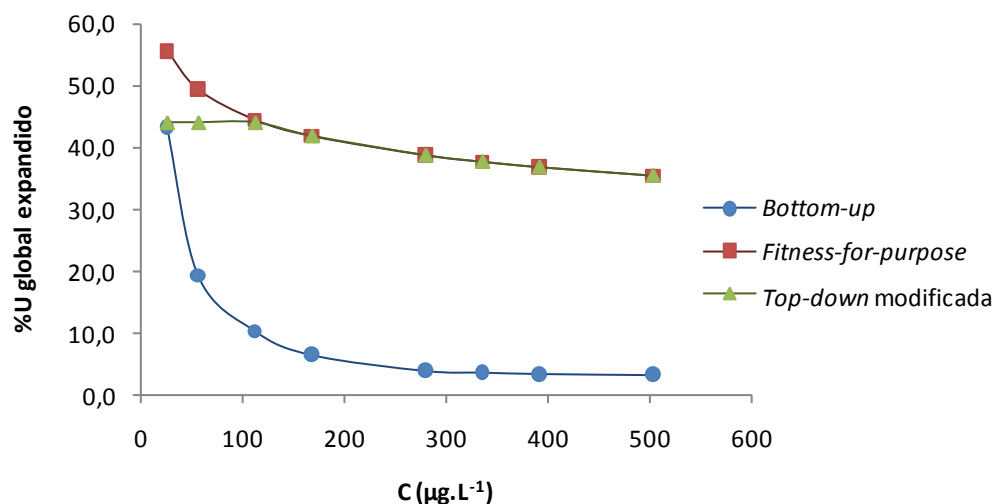


Figura 39. Comparação da incerteza expandida calculada a partir de três aproximações diferentes.

Tal como mencionado anteriormente, o objectivo do método analítico (HPLC-DAD) desenvolvido neste trabalho foi quantificar a amoxicilina em soluções aquosas que estiveram em contacto com casca de amêndoa e em soluções aquosas após tratamento com reagente de Fenton. Porém, efectuou-se uma comparação entre os métodos para detecção de amoxicilina em matrizes aquosas ambientais e a metodologia desenvolvida neste trabalho. Tal como seria de esperar, a grande maioria das metodologias referidas na literatura utilizam o SPE como passo de pré-concentração, conseguindo chegar a limites de detecção bastante baixos (ao nível dos ng.L⁻¹). Contudo, existem dois trabalhos em que a amoxicilina é quantificada por injeção directa (Nozal *et al.*, 2004 e Teixeira *et al.*, 2008). Comparando os limites de detecção obtidos por esses autores e o determinado neste trabalho, verifica-se que o obtido neste estudo (LD = 7 µg.L⁻¹) é da mesma ordem de grandeza (14 e 26 µg.L⁻¹). Relativamente à determinação da incerteza global do método, tanto quanto é do conhecimento da autora, não existe na literatura nenhum estudo referente à amoxicilina que faça esta avaliação.

Os parâmetros de validação obtidos nesta metodologia analítica foram também analisados tendo em conta a Decisão da Comissão 2002/657/EC de 12 de Agosto relativa ao desempenho de métodos

analíticos e à interpretação de resultados. Esta Decisão da Comissão Europeia foi elaborada tendo em conta a determinação de diferentes compostos em produtos de origem animal, mas os requisitos por ela definidos têm sido extendidos a outros tipos de metodologias. Segundo esta Decisão Europeia, uma metodologia analítica é válida se os seguintes critérios forem cumpridos:

- (i) Linearidade: o coeficiente de determinação (R^2) dever ser superior a 0,990
- (ii) Precisão (expressa em termos de precisão intermédia): %CV <35%
- (iii) Exactidão (expressa em termos de recuperação): %CV = 60-120%
- (iv) Limite de quantificação deve estar de acordo com os critérios (ii) e (iii) e deve ser calculado a partir de $S/N = 10$

Avaliando a metodologia analítica desenvolvida à luz desta decisão, verifica-se que todos os requisitos foram cumpridos.

3.1.5. Estudo das interferências das espécies utilizadas na oxidação com reagente de Fenton com a amoxicilina

A existência de interferências cromatográficas devido à presença de diferentes espécies químicas utilizadas na oxidação foi avaliada neste estudo. Para tal começou-se por preparar diferentes soluções individuais de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_2O_2 e Na_2SO_3 , que foram posteriormente injectadas em HPLC. Os cromatogramas obtidos demonstraram a existência de apenas um pico cromatográfico para cada um desses compostos e cujo tempo de retenção era bastante diferente do da amoxicilina ($t_r = 2,3$ min, $t_r = 2,8$ min e $t_r = 2,6$ min, respectivamente). Após este estudo prepararam-se diferentes soluções mistas de amoxicilina com os compostos referidos anteriormente e comparou-se estas áreas com as dos padrões puros de amoxicilina. As concentrações foram escolhidas tendo em conta a concentração máxima e mínima (suficiente para ser detectável em HPLC) esperada de cada uma das espécies em solução. Admitiu-se que uma espécie interfere com a leitura do pico da amoxicilina quando apresenta uma variação em área superior à incerteza analítica para esse nível de concentração. Neste caso, utilizaram-se os valores da incerteza global expandida, uma vez que é realizada uma comparação entre um padrão de amoxicilina em água e amostras contendo outras espécies em solução. É importante referir que na literatura não foi encontrado nenhum estudo semelhante.

No caso dos sistemas homogéneos, quando são retiradas amostras do reactor fechado para posterior análise, a reacção de oxidação pode prosseguir. Uma das maneiras mais usuais de parar esta reacção é adicionar sulfito de sódio às amostras de modo a gastar todo o peróxido de hidrogénio residual (Reacção 44). Esta reacção é praticamente instantânea e irreversível.



Utilizou-se em todas as amostras a mesma quantidade de sulfito (1 mg.mL^{-1}), uma vez que em qualquer um dos casos estudados esta quantidade é muito superior à quantidade estequiométrica necessária. Contudo, inicialmente avaliou-se a interferência do sulfito com o pico cromatográfico da amoxicilina para diferentes concentrações (Figura 40).

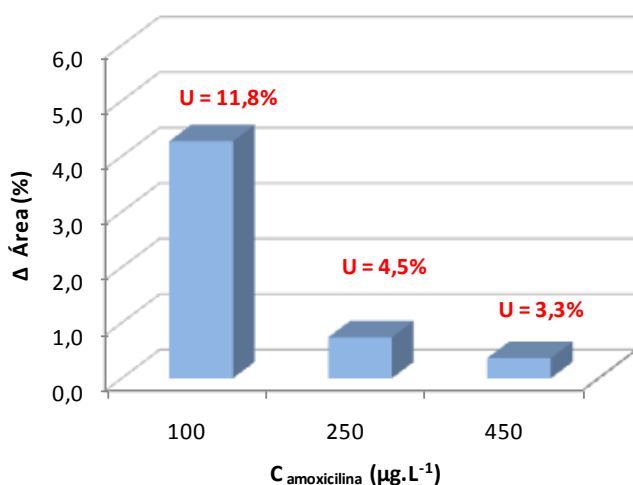


Figura 40. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição de 1 mg.mL^{-1} de Na_2SO_3 .

Os resultados parecem indicar que para concentrações mais baixas de amoxicilina ocorre uma maior variação da área do pico cromatográfico. No entanto, não se pôde afirmar que esta variação era devido à influência do sulfito, uma vez que, para qualquer um dos casos, a variação da área era inferior à incerteza analítica.

A influência do íon Fe^{2+} em solução foi também testada (Figura 41).

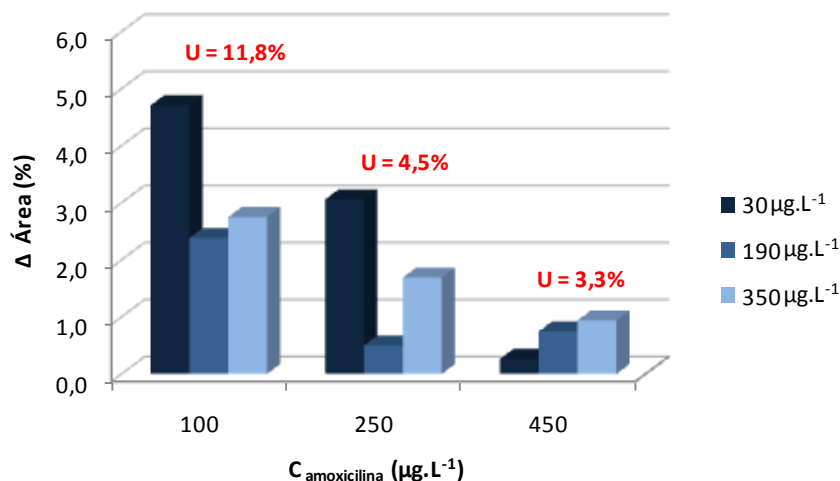


Figura 41. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição de diferentes concentrações de Fe^{2+} .

Mais uma vez os resultados obtidos demonstram que não existem interferências por parte desta espécie química na leitura do pico cromatográfico, pois o valor da variação da área para cada ensaio é inferior ao valor da incerteza global expandida.

Como é sabido, o peróxido de hidrogénio é um agente oxidante. Como tal, seria expectável que a área do pico cromatográfico de uma amostra de amoxicilina contendo este composto fosse inferior à do padrão de controlo (ocorreria degradação da amoxicilina no intervalo de tempo decorrente entre a preparação e injeção da amostra). Assim, optou-se por estudar a influência conjunta de todas estas espécies em solução. Para evitar esta degradação da amoxicilina adicionou-se à solução de antibiótico o sulfito de sódio e só depois o peróxido de hidrogénio e a solução de Fe^{2+} . A gama de concentrações de H_2O_2 e Fe^{2+} testadas corresponderam às condições limite dos ensaios de oxidação. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 42.

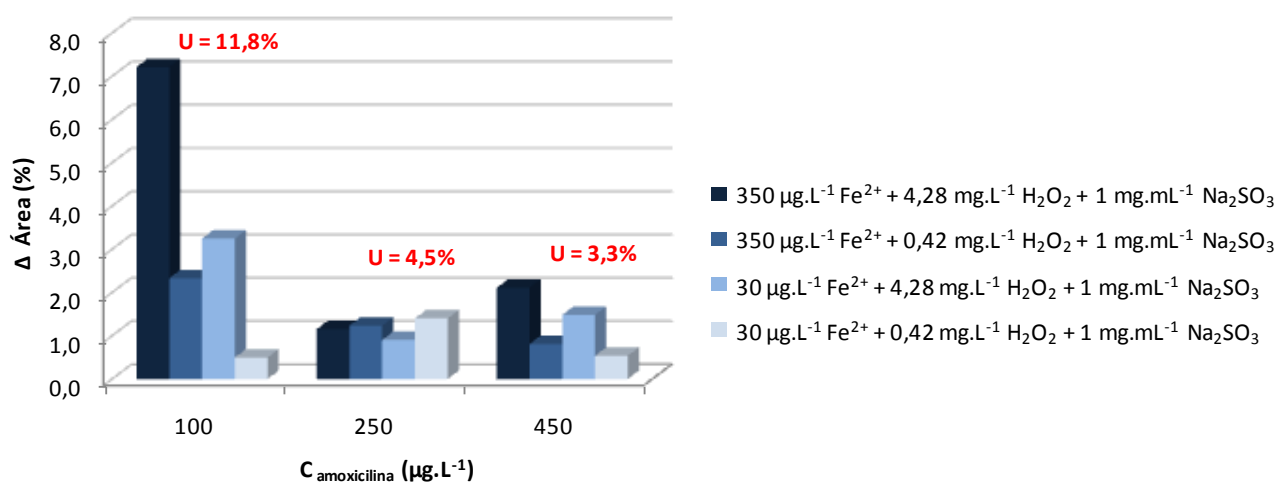


Figura 42. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição das diferentes espécies químicas presentes em solução.

Uma vez mais constata-se que não existem interferências nas leituras cromatográficas, dado que a variação da área para cada ensaio é inferior ao valor da incerteza global expandida para esse nível de concentração.

3.2. Desenvolvimento, implementação e validação de um método de análise de amoxicilina por LC-MS/MS

Para além de uma metodologia analítica em HPLC-DAD para análise da amoxicilina em amostras aquosas provenientes do tratamento por adsorção e com reagente de Fenton, foi também desenvolvida e validada uma outra em LC-MS/MS (método de confirmação). Esta metodologia foi adaptada (utilização de gradiente) de modo a também ser possível determinar possíveis produtos de degradação.

3.2.1. Optimização de uma metodologia em LC-MS/MS

O desenvolvimento de métodos analíticos em sistemas de cromatografia líquida acoplados a espectrómetros de massa nem sempre é uma tarefa fácil, uma vez que existem diversos parâmetros que podem influenciar os resultados finais. O desenvolvimento de uma metodologia em LC-MS consiste essencialmente em três fases (Figura 43): optimização no espectrómetro de massa, na fonte de ionização e optimização cromatográfica.

Neste estudo foram ainda optimizados os valores da amplitude de excitação (CID) e as proporções dos eluentes na fase móvel.

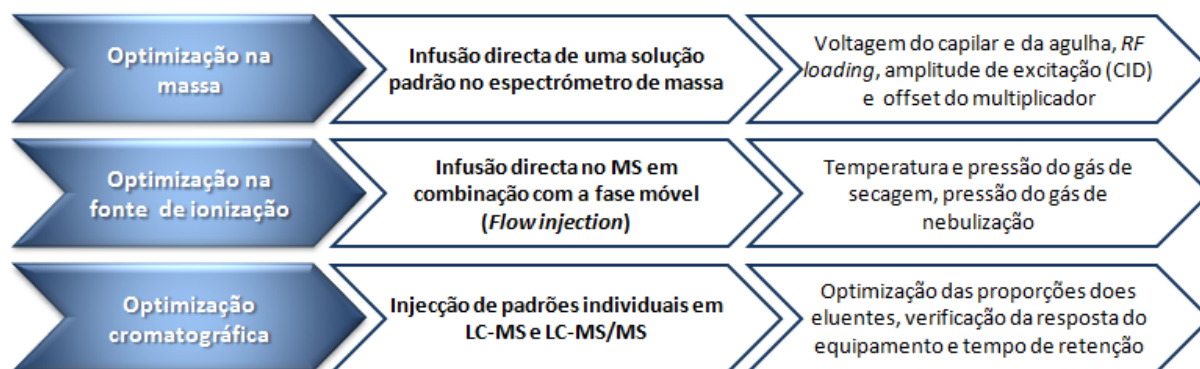


Figura 43. Principais etapas no desenvolvimento de uma metodologia analítica em LC-MS/MS.

3.2.1.1. Optimização na massa

A optimização na massa consistiu na infusão directa de uma solução padrão de amoxicilina 5 mg.L⁻¹ no espectrómetro de massa. Para executar este passo foi necessário escolher o modo de ionização. Como a amoxicilina é um aceitador de protões, o método de análise foi desenvolvido em modo positivo. A optimização no espectrómetro de massa permitiu determinar o espectro de massa do composto ($m/z = 50-600$), bem como o ião precursor necessário para uma segunda fragmentação (MS/MS).

Em condições ácidas, o ião $[M+H]^+$ ($m/z = 366$) é o mais abundante no espectro de massa da amoxicilina em modo positivo (MS). A fragmentação deste ião (MS/MS) produz dois iões produto a $m/z = 349$ (fragmento principal) e $m/z = 208$. O primeiro resulta da perda de um grupo NH_3 ($[M+H-NH_3]^+$), e o outro à abertura e quebra do anel beta-lactâmico com perda do grupo $C_6H_9NO_2S$ ($[M+H-C_6H_9NO_2S]^+$) (Nägele e Moritz, 2005). O fragmento mais abundante foi utilizado como ião de quantificação, enquanto o $m/z = 208$ como ião qualitativo.

Para se determinar a melhor resposta do equipamento, efectuaram-se ensaios através da variação parâmetro a parâmetro da voltagem do capilar, da agulha e *RF loading*. A voltagem do escudo foi mantida a 600 V, de acordo com o fabricante. O *offset* do multiplicador dos electrões foi testado entre 0 e 300 V. Para o mesmo nível de concentração, a resposta obtida a 0 V foi cerca de 100 vezes inferior à obtida a 300 V. Por esta razão, o seu valor foi mantido a 300 V durante as análises. Finalmente a amplitude de excitação (CID) foi determinada, escolhendo a voltagem que maximiza a intensidade do sinal para os iões produto. As condições optimizadas estão resumidas na Tabela 18.

Tabela 18. Condições optimizadas do espectrómetro de massa para a determinação da amoxicilina.

Modo de ionização	Voltagem do capilar (V)	Voltagem da agulha (V)	<i>RF loading</i> (%)	Amplitude de excitação/CID (V)	Multiplicador electrónico (V)	Ião precursor (m/z)	Iões produto (m/z)
Positiva	69	3453	90	1,15	300	366	349, 208

A voltagem do capilar e o *RF loading* são parâmetros dependentes dos compostos estudados. Já a voltagem da agulha não é o factor mais crítico e, por essa razão, um valor entre 3000 e 5000 V é geralmente apropriado para diversos compostos analisados em modo positivo.

3.2.1.2. Optimização na fonte de ionização

Nesta etapa, uma solução padrão de amoxicilina 5 mg.L^{-1} foi injectada directamente no espectrómetro em combinação com fase móvel. A solução de amoxicilina foi injectada em fluxo utilizando $200 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ de uma mistura de metanol/água. De modo a obter um sinal com uma intensidade elevada, a temperatura e pressão do gás de secagem e a pressão do gás de nebulização foram optimizados (Figura 44).

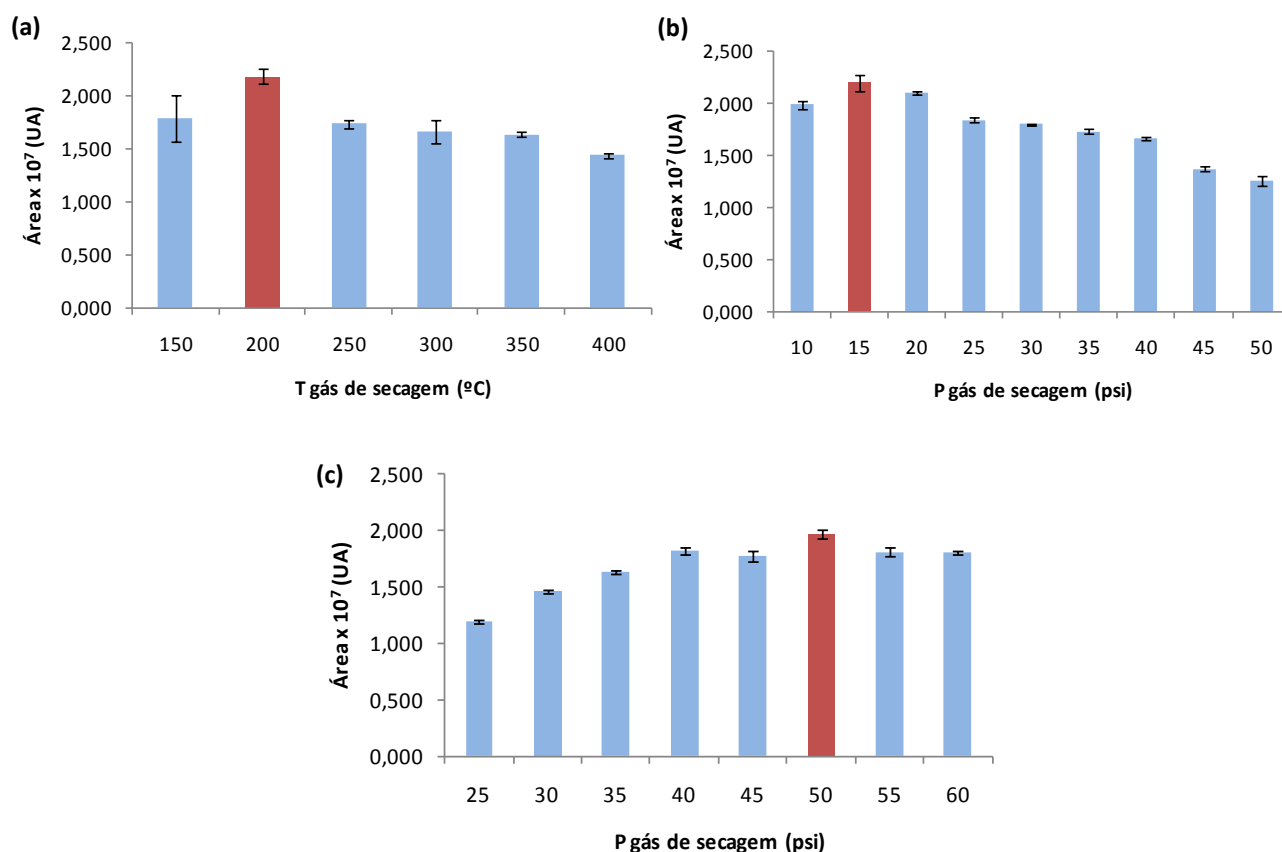


Figura 44. Otimização dos parâmetros da fonte de iões (barras de erro correspondentes ao desvio-padrão): **(a)** Temperatura do gás de secagem ($P_{\text{gás de nebulização}} = 50$ psi, $P_{\text{gás de secagem}} = 30$ psi); **(b)** Pressão do gás de secagem ($P_{\text{gás de nebulização}} = 50$ psi, $T_{\text{gás de secagem}} = 200$ °C); **(c)** Pressão do gás de nebulização ($P_{\text{gás de secagem}} = 15$ psi, $T_{\text{gás de secagem}} = 200$ °C).

As condições óptimas obtidas foram: $T_{\text{gás secagem}} = 200$ °C, $P_{\text{gás de secagem}} = 15$ psi e $P_{\text{gás de nebulização}} = 50$ psi. A temperatura do gás de secagem é um parâmetro importante na otimização da fonte de iões devido à sua influência na eficiência de evaporação (ou seja, a eficiência do transporte do ião de analito da fase aquosa para a fase gasosa). Tal como a voltagem do capilar e o *RF loading*, a pressão do gás de secagem é também dependente do analito em estudo. As pressões do gás de nebulização e de secagem estão relacionadas com o caudal utilizado na fase móvel. Contudo, é usual nas análises de LC-MS/MS empregar caudais na ordem dos 200-300 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Assim, a pressão do gás de nebulização deve ser superior a 40 psi e a pressão do gás de secagem entre 15 e 45 psi (valores de referência do fabricante).

3.2.1.3. *Optimização das condições cromatográficas*

A fase móvel foi escolhida de acordo com o modo de ionização. Tal como mencionado anteriormente, a amoxicilina é um aceitador de prótons e por esta razão é analisada em modo de ionização positiva. Para evitar supressão de sinal e promover a formação de iões $[M+H]^+$ deve ser utilizada uma fase móvel constituída por solventes polares próticos. Por esta razão, foram seleccionados o metanol e a água acidificada com um tampão (0,01% v/v ácido fórmico; pH = 2,5).

De modo a optimizar as condições cromatográficas, utilizou-se uma coluna C18 na qual se injectou um padrão de amoxicilina 1 mg.L^{-1} nas condições determinadas anteriormente. A influência da percentagem de metanol na resposta do equipamento foi estudada (Figura 45).

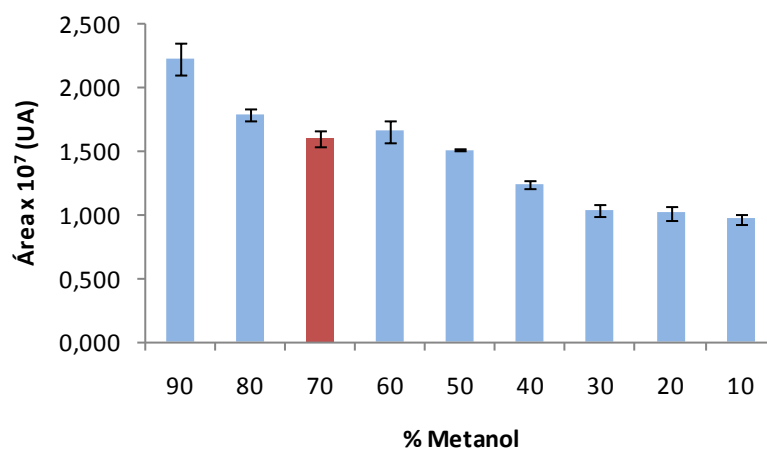


Figura 45. Optimização da composição da fase móvel através da resposta do equipamento em LC-MS (barras de erro correspondentes ao desvio-padrão).

Como se pode verificar, a resposta máxima foi obtida para 90% de metanol. Contudo, utilizando uma fase móvel contendo 90 ou 80% de metanol o pico da amoxicilina perdia definição. Por esta razão optou-se por usar 70% de metanol.

Tal como esperado, o tempo de retenção foi afectado pela composição da fase móvel, variando entre 1,9 (90% de metanol) e 7,5 min (10% de metanol). Nas condições mencionadas anteriormente, o tempo de retenção da amoxicilina foi de $1,9 \pm 0,1$ min.

3.2.2. Validação da metodologia analítica

A quantificação da amoxicilina foi efectuada em LC-MS/MS através do método do padrão externo, na gama $m/z = 100$ -400.

3.2.2.1. Linearidade e limite de quantificação

Para a construção da recta de calibração foram utilizadas dez soluções padrão de amoxicilina preparadas em água de grau de pureza para cromatografia com concentrações entre 5 e 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$, tendo sido feita a análise de cada padrão em triplicado. Na Figura 46 apresenta-se a recta de calibração e os limites de confiança associados (95%).

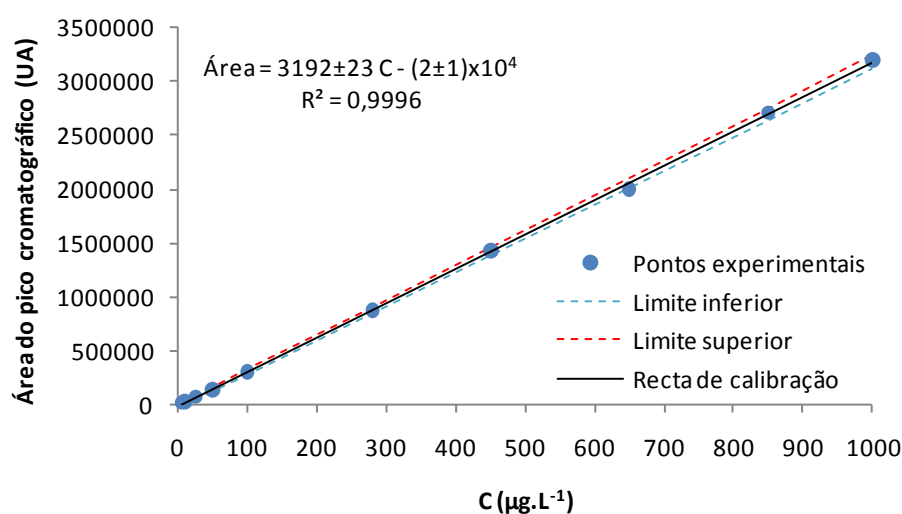


Figura 46. Recta de calibração para a amoxicilina em LC-MS/MS e respectivo intervalo de confiança.

A partir da recta de calibração foi possível obter os parâmetros de quantificação – o declive, a ordenada na origem, o coeficiente de correlação e os limites de detecção ($S/N = 3$) e de quantificação ($S/N = 10$) (Tabela 19).

Tabela 19. Parâmetros de quantificação.

Linearidade ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Declive ($\mu\text{V.s.L.}\mu\text{g}^{-1}$)	Ordenada na origem ($\mu\text{V.s.}$)	R	Calculado a partir de S/N	
				Limite de detecção ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Limite de quantificação ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
5-1000	3192 ± 23	$(-2 \pm 1) \times 10^4$	0,999	2	5

O objectivo deste método analítico foi confirmar a presença e quantificar a amoxicilina em algumas soluções aquosas após tratamento com reagente de Fenton.

Tal como para a metodologia analítica desenvolvida em HPLC-DAD, efectuou-se uma comparação entre os métodos para quantificação de amoxicilina em matrizes aquosas ambientais e este método

de LC-MS/MS. Mais uma vez, os limites de detecção obtidos na literatura por injeção directa (Nozal *et al.*, 2004 e Teixeira *et al.*, 2008) estão na mesma ordem de grandeza do obtido neste estudo.

Os critérios que permitem verificar se um método é adequado para ser utilizado em análise (Miller e Miller, 1988) foram também determinados. Obteve-se um desvio-padrão relativo do declive de 0,7% e um coeficiente de correlação de 0,999. Também se determinou se a ordenada na origem continha a própria origem ($b-s_b < 0 < b+s_b$). No entanto, este último critério não foi cumprido ($b-s_b = -28098$ e $b+s_b = -5585$). Tendo em conta o fim a que se destina esta metodologia, pode-se afirmar que a recta de calibração obtida era adequada para ser utilizada em análise.

3.2.2.2. Ensaios de precisão

A precisão foi avaliada pela repetibilidade (6 injeções do mesmo padrão nas mesmas condições, num curto intervalo de tempo) e pela precisão intermédia (6 injeções do padrão fazendo variar uma condição operatória – dia de análise).

No trabalho foram testados padrões de amoxicilina a dois níveis de concentração ($10 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$) quer para a repetibilidade, quer para a precisão intermédia. Os resultados obtidos estão resumidos na Tabela 20 e estão expressos em termos de coeficiente de variação (%CV).

Tabela 20. Estudo da precisão do método analítico.

(n = 6)	$10 \mu\text{g.L}^{-1}$	$1000 \mu\text{g.L}^{-1}$
Repetibilidade (%)	4,7	2,9
Precisão intermédia (%)	18,9	7,9

Para além deste estudo com soluções padrão, foram efectuados ensaios de precisão (repetibilidade) em amostras reais (provenientes da oxidação com reagente de Fenton). Os resultados obtidos foram semelhantes aos obtidos com soluções padrão (5,2% a $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ e 2,4% a $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$). Por esta razão, utilizaram-se os valores referentes às soluções padrão na avaliação da incerteza global do método.

3.2.2.3. Ensaios de exactidão

Para este trabalho a exactidão foi determinada através do método de adição de padrão – seis ensaios a dois níveis de concentração ($25 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $640 \mu\text{g.L}^{-1}$). A recuperação foi calculada através da razão entre a concentração obtida e a esperada. Para uma solução padrão de concentração $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ obteve-se uma recuperação de cerca de $(109 \pm 15)\%$ e para $640 \mu\text{g.L}^{-1}$ a recuperação foi de $(101 \pm 4)\%$. Foram também efectuados ensaios de recuperação em amostras reais provenientes da oxidação

com reagente de Fenton. A recuperação média obtida foi de $(115 \pm 5)\%$. Mais uma vez como este valor não é significativamente diferente do obtido para as soluções padrão. Por esta razão, utilizaram-se os valores referentes às soluções padrão na avaliação da incerteza global do método.

3.2.3. Avaliação da incerteza global

Tal como na metodologia desenvolvida em HPLC-DAD, a estimativa da incerteza global foi efectuada de acordo com o guia da EURACHEM/CITAC. Na Figura 47 e 48 estão representadas a variação do peso relativo de cada fonte de incerteza individual a incerteza global para cada nível de concentração, respectivamente.

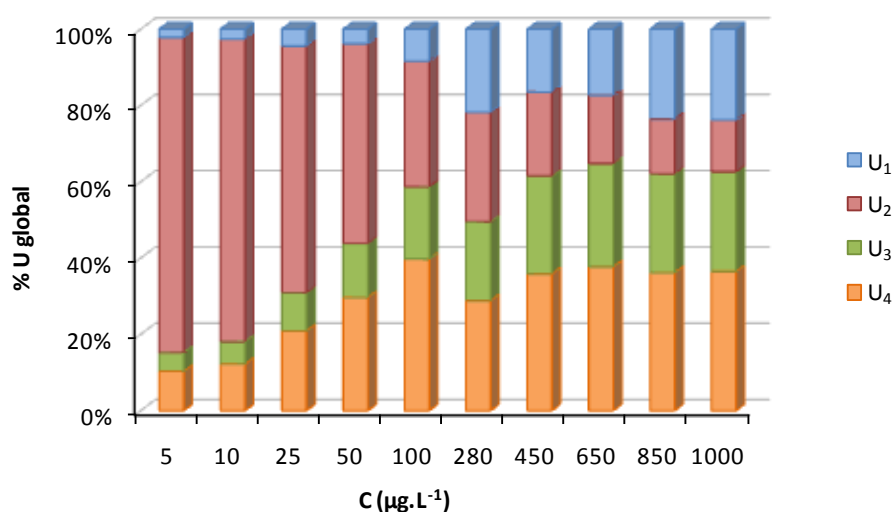


Figura 47. Contribuição das incertezas individuais no resultado da incerteza global.

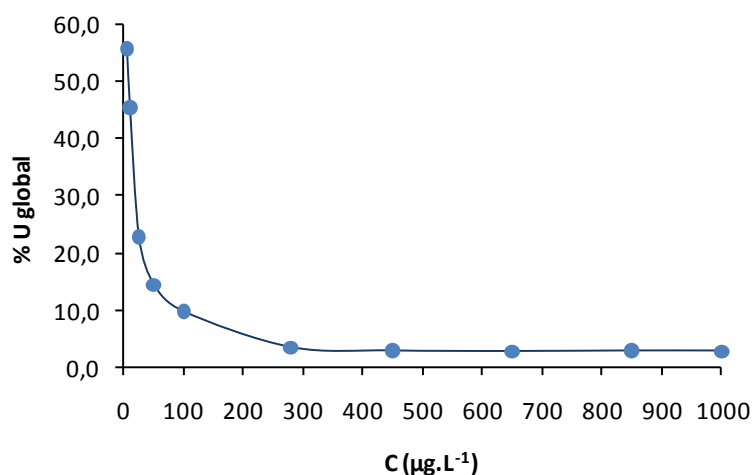


Figura 48. Incerteza global da metodologia de LC-MS/MS para cada nível de concentração de amoxicilina.

A contribuição relativa de cada uma das fontes de incerteza é dependente da concentração dos padrões. No entanto, a incerteza associada à recta de calibração (U₂) é a que mais influencia o

resultado final para os padrões de concentração mais baixa, enquanto a incerteza associada à exactidão (U_4) para os padrões de concentração mais elevada. A incerteza da determinação da precisão (U_3) contribui com menos de 30% para a incerteza global, enquanto a referente à preparação dos padrões (U_1) contribui com menos de 25%. A incerteza global mantém-se praticamente constante para a gama de concentrações mais elevadas ($C > 300 \mu\text{g.L}^{-1}$), aumentando exponencialmente para as concentrações mais baixas.

Tanto quanto é do conhecimento da autora, não existe na literatura nenhum estudo referente à amoxicilina que faça a avaliação da incerteza global.

Os parâmetros de validação obtidos nesta metodologia analítica foram também analisados tendo em conta a Decisão da Comissão 2002/657/EC de 12 de Agosto relativa ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados. Os resultados obtidos cumprem os requisitos propostos por este documento.

3.2.4. Controlo de qualidade dos resultados

Nesta metodologia de LC-MS/MS foi utilizada uma curva de calibração com padrão externo para a quantificação da amoxicilina. De modo a avaliar a estabilidade da resposta ao longo do tempo foi injectado diariamente um padrão de controlo ($280 \mu\text{g.L}^{-1}$). Os resultados obtidos foram organizados numa carta de controlo de Shewart (Figura 49). A construção desta carta é baseada em dois parâmetros: média (μ) e dispersão (avaliada através do desvio-padrão, σ). Os limites de controlo (LC) foram definidos como sendo $\mu \pm 3\sigma$, enquanto os limites de aviso (LA) foram estabelecidos para $\mu \pm 2\sigma$.

De acordo com a norma ISO8258/1993 quaisquer anomalias dever ser verificadas se:

- (i) Um ponto está fora dos limites de controlo estabelecidos;
- (ii) Existem dois pontos sucessivos fora dos limites de aviso;
- (iii) Existem nove pontos consecutivos abaixo ou acima do valor médio;
- (iv) Existem seis pontos consecutivos com uma tendência crescente ou decrescente

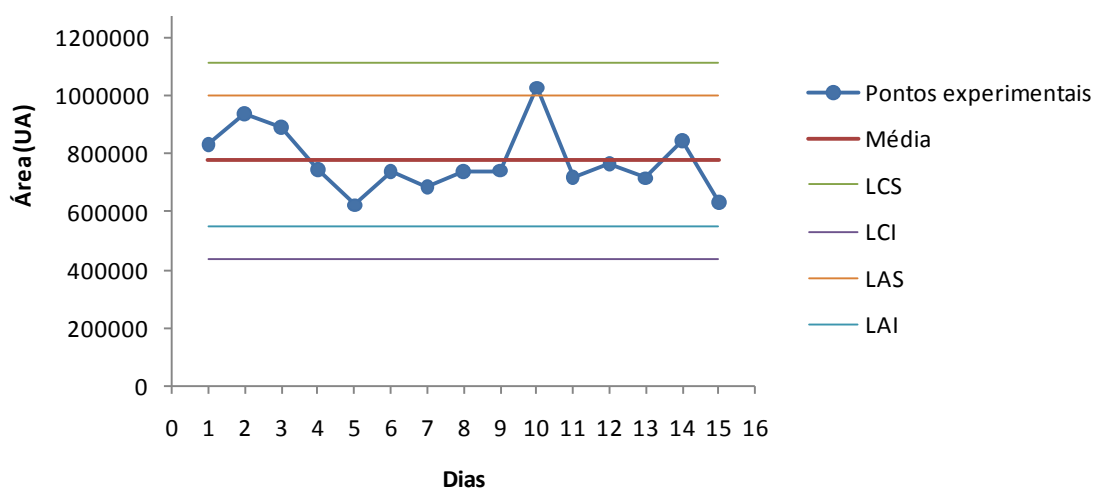


Figura 49. Carta de controle de Shewhart para um padrão de $280 \mu\text{g.L}^{-1}$ de amoxicilina.

Nenhum destes problemas foi verificado na carta de controle, podendo-se concluir que o sistema era estável.

3.2.5. Estudo das interferências das espécies utilizadas na oxidação com reagente de Fenton com a amoxicilina

A existência de interferências cromatográficas devido à presença de diferentes espécies químicas utilizadas na oxidação foi avaliada neste estudo. Para tal, prepararam-se diferentes soluções mistas de amoxicilina com os compostos utilizados na oxidação com reagente de Fenton ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_2O_2 e Na_2SO_3) que se injectaram posteriormente em LC-MS/MS. As áreas obtidas foram comparadas com as dos padrões puros de amoxicilina. Admitiu-se que uma espécie interfere com a leitura do pico da amoxicilina quando apresenta uma variação em área superior à incerteza analítica para esse nível de concentração. Neste caso, utilizaram-se os valores da incerteza global expandida, uma vez que é realizada uma comparação entre um padrão de amoxicilina em água e amostras contendo outras espécies em solução.

Embora esta metodologia tenha sido desenvolvida com o intuito de ser utilizada como um método de confirmação, esta foi adaptada para a determinação de produtos intermediários de degradação da amoxicilina. Deste modo, apenas se efectuaram estudos de interferências para as condições específicas dos ensaios (100 mg.L^{-1} amoxicilina, $522 \text{ mg.L}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$, $21 \text{ mg.L}^{-1} \text{Fe}^{2+}$, $12 \text{ mg.mL}^{-1} \text{Na}_2\text{SO}_3$). É importante referir que na literatura não foi encontrado nenhum estudo semelhante.

Inicialmente foi avaliada a interferência do sulfito de sódio com o pico cromatográfico da amoxicilina para diferentes concentrações (Figura 50).

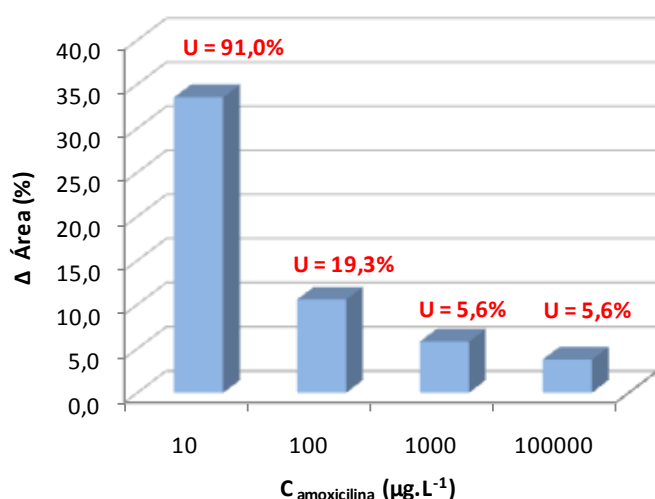


Figura 50. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição de 12 mg.mL^{-1} de Na_2SO_3 .

Os resultados parecem indicar que para concentrações mais baixas de amoxicilina ocorre uma maior variação da área do pico cromatográfico. No entanto, não se pôde afirmar que esta variação ocorreu devido à influência do sulfito, uma vez que, para qualquer um dos casos, a variação da área era inferior à incerteza analítica.

A influência do íon Fe^{2+} em solução foi também testada (Figura 51).

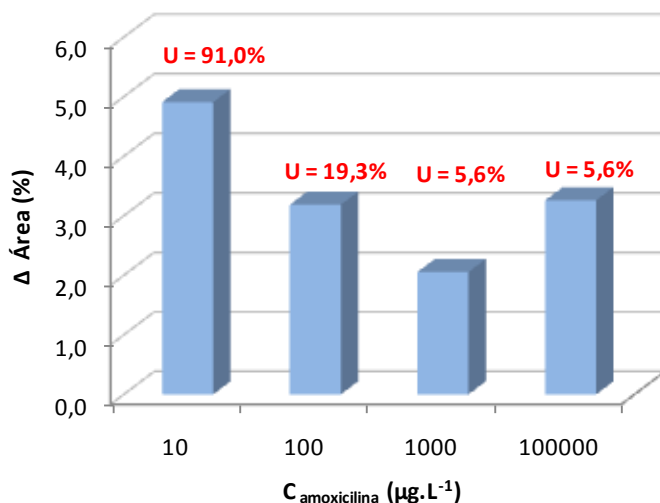


Figura 51. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição de 21 mg.L^{-1} de Fe^{2+} .

Os resultados obtidos demonstram que não existem interferências por parte desta espécie química na leitura do pico cromatográfico, pois o valor da variação da área para cada ensaio é inferior ao valor da incerteza global expandida.

Tal como nos ensaios de interferências em HPLC-DAD, também se estudou a influência conjunta de todas estas espécies em solução. Para evitar esta degradação da amoxicilina adicionou-se à

solução de antibiótico o sulfito de sódio e só depois o peróxido de hidrogénio e a solução de Fe^{2+} . Os resultados obtidos encontram-se na Figura 52.

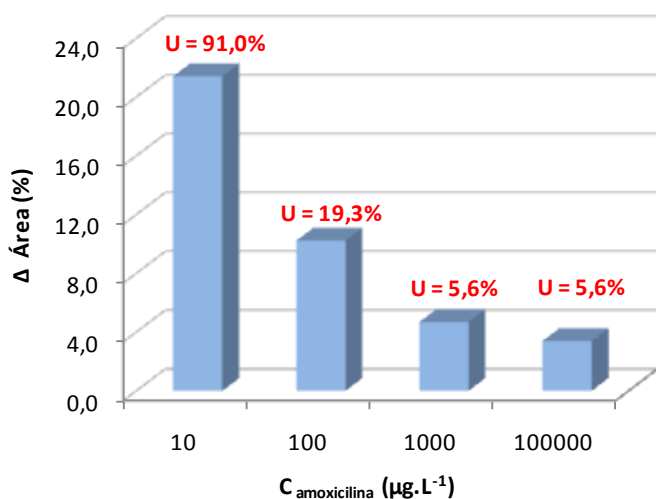


Figura 52. Variação da área do pico da amoxicilina com a adição das diferentes espécies químicas presentes em solução ($21 \text{ mg.L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$, $522 \text{ mg.L}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$, $12 \text{ mg.mL}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_3$).

Uma vez mais constata-se que não existem interferências nas leituras cromatográficas, dado que a variação da área para cada ensaio é inferior ao valor da incerteza global expandida para esse nível de concentração.

3.3. Estudos de Adsorção

3.3.1. Caracterização dos materiais adsorventes

Um dos objectivos deste trabalho foi avaliar a capacidade da casca de amêndoa na adsorção de antibióticos presentes em matrizes aquosas (neste caso específico a amoxicilina). Para tal foi necessário realizar-se uma caracterização física e química dos materiais adsorventes utilizados para que o processo de adsorção pudesse ser interpretado através da compreensão dos mecanismos responsáveis por este fenómeno. Deste modo, foi efectuada uma caracterização quer da casca de amêndoa ao natural, quer da casca de amêndoa carbonizada.

3.3.1.1. Caracterização física

3.3.1.1.1. Distribuição granulométrica

Antes de se efectuarem os estudos de adsorção foi necessário determinar-se a distribuição de tamanhos de partículas do adsorvente utilizado para este estudo. Na Figura 53 apresentam-se os resultados em termos de percentagem em volume de partículas para uma gama de diâmetros compreendida entre 0,040 e 2000 μm .

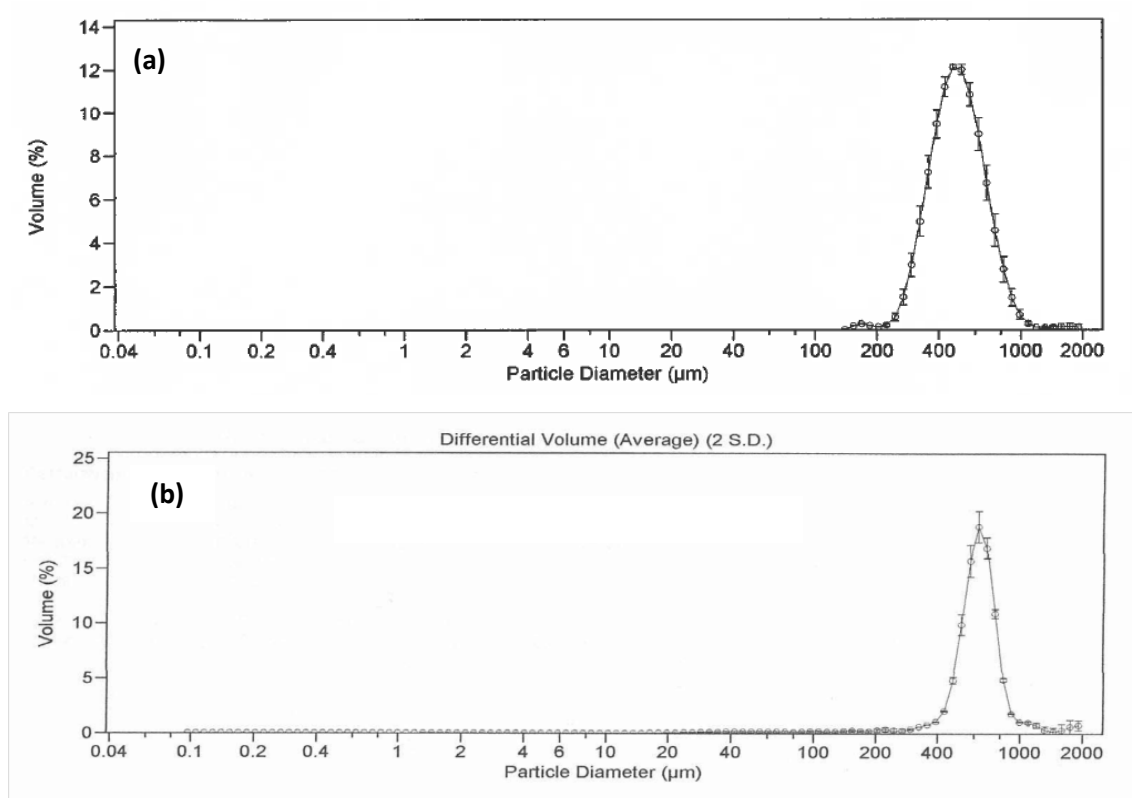


Figura 53. Distribuição do tamanho das partículas de (a) casca de amêndoa ao natural (b) casca de amêndoa carbonizada.

A maioria das partículas de casca de amêndoa ao natural possuía um diâmetro compreendido entre 333,6 e 723,8 μm enquanto as de casca carbonizada entre 436,5 e 815,8 μm . O diâmetro médio das partículas utilizadas para os ensaios de adsorção foi de 516,4 μm e 632,1 μm , respectivamente. Embora partículas de menor diâmetro possuam uma área superficial maior, estas apresentam a desvantagem de serem menos resistentes ao atrito e provocarem maiores perdas de carga quando utilizadas nos ensaios em leito fixo.

3.3.1.1.2. Análise por microscopia electrónica de varrimento (SEM)

A morfologia dos adsorventes utilizados foi estudada através de microscopia electrónica de varrimento. A análise da casca de amêndoa ao natural por SEM já tinha sido efectuada no grupo de investigação (Estevinho *et al.*, 2008). As imagens obtidas da casca de amêndoa ao natural e da casca de amêndoa carbonizada, analisadas em baixo vácuo, encontram-se nas Figuras 54 e 55.

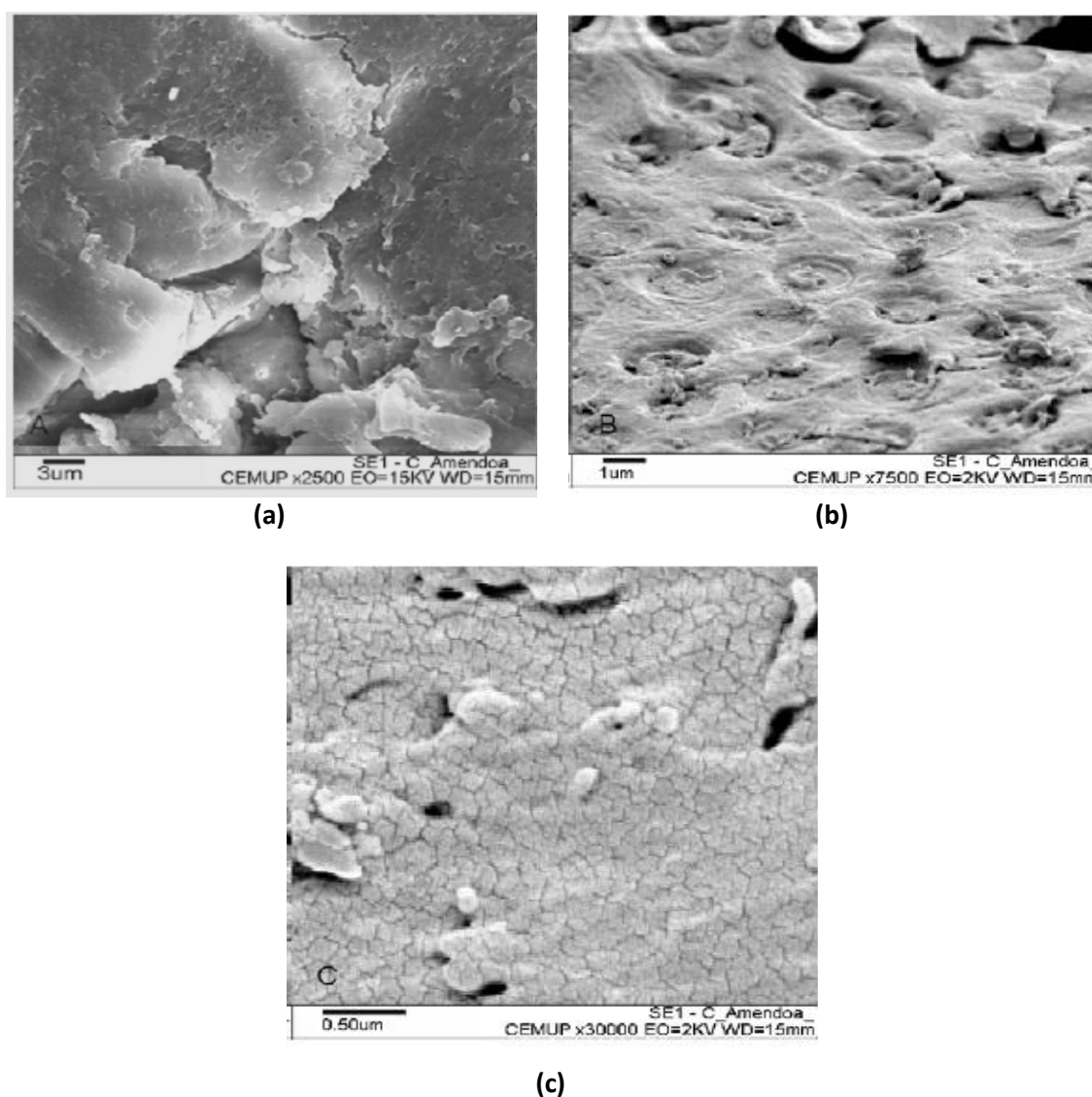


Figura 54. Imagens de microscopia electrónica de varrimento da casca de amêndoa ao natural a diferentes ampliações: **(a)** 2500x, **(b)** 7500x, **(c)** 30000x (adaptado de Estevinho *et al.*, 2008).

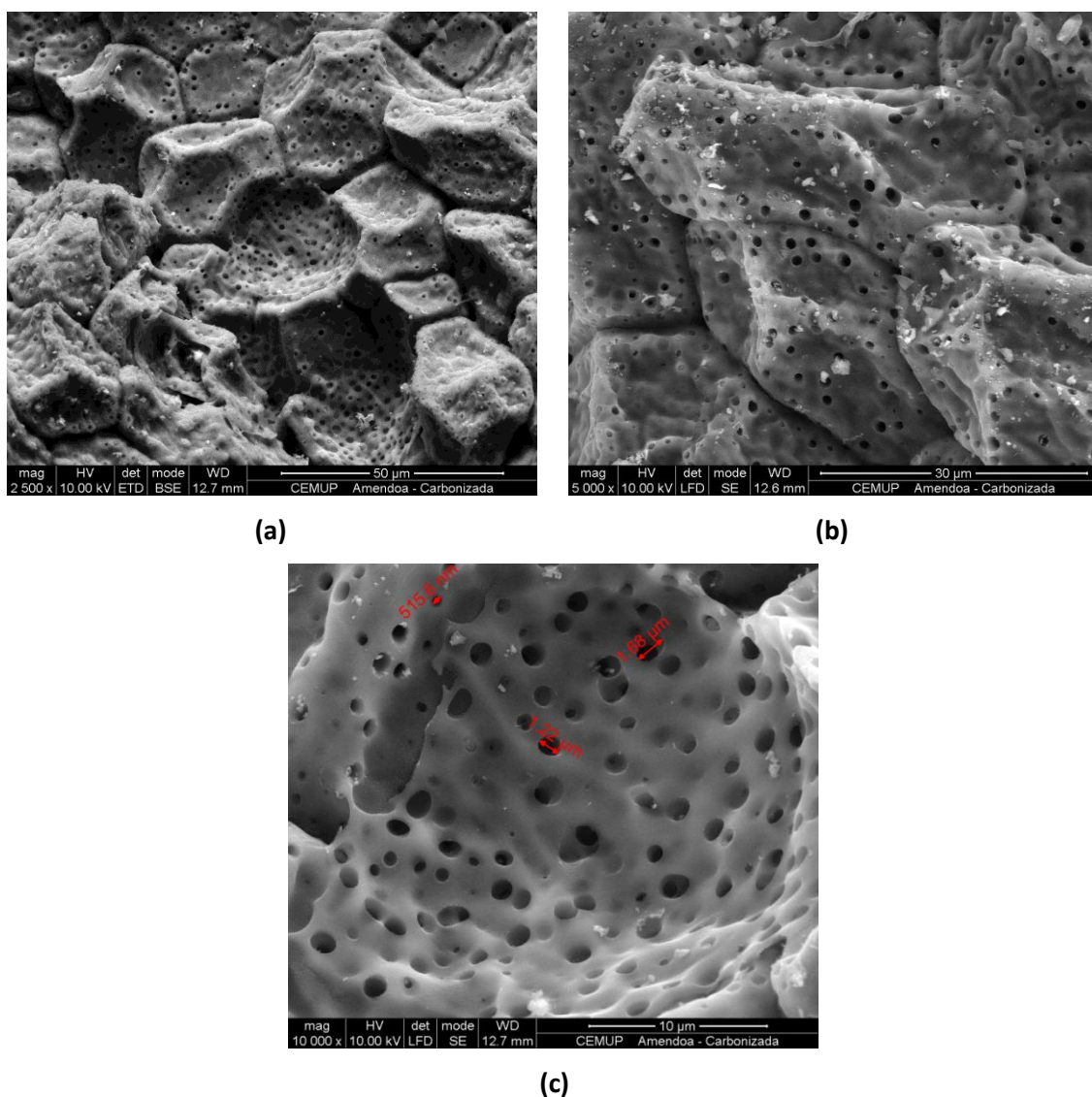


Figura 55. Imagens de microscopia electrónica de varrimento de casca da amêndoa carbonizada a diferentes ampliações: **(a)** 2500x **(b)** 5000x **(c)** 10000x.

As imagens de espectroscopia de varrimento presentes na Figura 54 permitem constatar que a superfície da casca de amêndoa ao natural é bastante heterogênea, apresentando baixa porosidade. Pelo contrário, as imagens obtidas para a casca de amêndoa carbonizada (Figura 55) permitem identificar um maior número de poros distribuídos ao longo de toda a superfície do material, criando-se assim condições propícias à adsorção (pode ocorrer quer na superfície do adsorvente, quer na rede intraparticular). De acordo com estas imagens, os poros existentes serão maioritariamente macro ($d_p > 50$ nm) e mesoporos (2 nm $< d_p < 50$ nm).

3.3.1.1.3. *Massa específica real, aparente, porosidade*

Tal como mencionado anteriormente, as propriedades físicas da superfície dos materiais estudados foram avaliadas através de porosimetria de mercúrio e de picnometria de hélio. É importante salientar que a porosimetria de mercúrio apenas permite determinar poros superiores a 3,5 nm. Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 21.

Tabela 21. Propriedades físicas da casca de amêndoa ao natural e carbonizada.

	Casca ao natural	Casca carbonizada
Massa específica real (g.cm ⁻³)	1,41	1,77
Massa específica aparente (g.cm ⁻³)	1,08	0,95
Porosidade interparticular (%)	18,3	0,6
Porosidade intraparticular (%)	13,2	32,3
Porosidade total (%)	31,5	32,9
Porosidade teórica (%)	23,0	46,0
Volume macro e mesoporos (cm ³ .g ⁻¹) *	0,12	0,34
Diâmetro médio de poros (nm)	54,9	18,3
Gama de porosidade (nm)	10000-3,5	1500-3,5

* Valor estimado tendo em conta a porosidade intraparticular

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios de porosimetria de mercúrio verificou-se que a porosidade total da casca de amêndoa carbonizada é bastante semelhante à natural. No entanto, é importante salientar que a parcela correspondente à porosidade interparticular para a casca de amêndoa ao natural é elevada (superior a 1%), sugerindo uma heterogeneidade nas partículas de casca, que impediu o seu correcto empacotamento para a realização deste ensaio. Este facto explica a razão pela qual a porosidade teórica é neste caso inferior à determinada experimentalmente. A porosidade teórica da casca carbonizada é superior à que foi obtida experimentalmente, indicando a existência de microporos na sua estrutura.

Tal como verificado pelas imagens de SEM, a casca de amêndoa carbonizada apresenta uma estrutura mais porosa do que a casca ao natural, ou seja, o volume de poros é superior para a casca carbonizada.

3.3.1.1.4. Área superficial específica

A área superficial específica foi determinada de dois modos: recorrendo à porosimetria de mercúrio e ao método de B.E.T. Na determinação da área superficial através deste último método, foi necessário traçar-se a isotérmica de adsorção do azoto a 77 K no material adsorvente. Na Figura 56 encontra-se a relação linear da isotérmica de adsorção B.E.T. para $0,05 < P/P_0 < 0,30$.

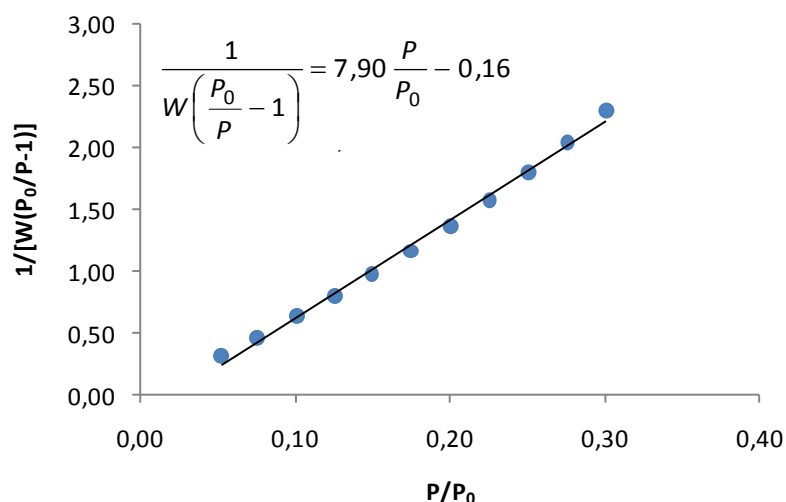


Figura 56. Relação linear da isotérmica de B.E.T. para $0,05 < P/P_0 < 0,30$ para a casca carbonizada de amêndoa.

Os valores obtidos para cada um dos casos estudados encontram-se na Tabela 22.

Tabela 22. Área superficial específica determinada por porosimetria de mercúrio e pelo método B.E.T.

	Casca ao natural	Casca carbonizada
Porosimetria de mercúrio		
$A_{sup} (m^2 \cdot g^{-1})$	19,56	78,50
Método B.E.T.		
$A_{sup} (m^2 \cdot g^{-1})$	n.a.*	450,21

*Não foi possível determinar a área superficial pelo método B.E.T., uma vez que durante o processo ocorreu libertação de óleos que impediu a medição

Como mencionado anteriormente, a porosimetria de mercúrio apenas permite determinar a meso e a macroporosidade dos materiais adsorventes, ou seja, a chamada área superficial externa. Já a aplicação do modelo B.E.T permite calcular a área superficial aparente (tem em conta a área correspondente aos microporos).

Comparando o método B.E.T. com a porosimetria de mercúrio verificou-se que para a casca de amêndoa carbonizada o valor de A_{sup} obtido pelo primeiro método é cerca de seis vezes superior ao

obtido pelo segundo. Esta diferença estará relacionada com a existência de microporos na estrutura do adsorvente. Embora a área superficial por B.E.T. não tenha podido ser determinada para a casca de amêndoa ao natural, não seria expectável que esse valor diferisse substancialmente do valor de porosimetria de mercúrio devido à baixa probabilidade de existirem microporos na estrutura do adsorvente.

Comparando as áreas superficiais da casca de amêndoa ao natural com a da carbonizada observou-se que esta última possui uma área superficial bastante superior. Este facto prova mais uma vez que o tratamento sofrido pela casca alterou as propriedades texturais da superfície, aumentando a sua superfície específica e, conseqüentemente, a sua capacidade de adsorção. O valor obtido ($450,21 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$) é um pouco inferior à maioria dos carvões activados granulados comerciais ($700\text{-}1300 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$) ou em pó ($800\text{-}1800 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$) (Estevinho *et al.*, 2006).

3.3.1.1.5. Dureza do material

Ao longo das experiências de adsorção (quer em sistema fechado, quer em leito fixo), as partículas de adsorvente estão sujeitas a forças de atrito, resultantes do choque entre si. Como consequência, pode ocorrer uma degradação física do material. Este facto toma especial relevância nos ensaios de adsorção em leito fixo, uma vez que a redução do tamanho das partículas pelo atrito pode ditar o fim da vida útil do adsorvente através da colmatação da coluna ou do seu arrastamento com o efluente tratado. Deste modo, é desejável que o material adsorvente ofereça uma boa resistência ao atrito.

Na Tabela 23 são apresentados os resultados de resistência ao atrito através do número de dureza (Ahmedna *et al.*, 1997) para a casca de amêndoa ao natural e carbonizada, bem como para outros carvões.

Tabela 23. Valores de dureza para vários materiais adsorvente.

	Número de dureza (%)	Referência
Casca de amêndoa ao natural	85	
Casca de amêndoa carbonizada	75	
Carvão activado		
Granular	74	Ahmedna <i>et al.</i> , 1997
Casca de nozes-pecã	83	Ahmedna <i>et al.</i> , 1997
Casca de arroz	30	Ahmedna <i>et al.</i> , 1997
Casca de soja	81	Ahmedna <i>et al.</i> , 1997
Caroço de damasco	3	Soleimani e Kaghazchi, 2008

A casca de amêndoa carbonizada utilizada nestas experiências apresenta uma dureza equivalente à do carvão activado comercial, mas um pouco inferior à casca de amêndoa natural.

3.3.1.2. Caracterização química

3.3.1.2.1. Análise Elementar

A análise elementar foi efectuada através da combustão rápida da amostra numa câmara fechada e os gases resultantes (CO_2 , H_2O e N_2) foram quantificados através de cromatografia gasosa. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 24.

Tabela 24. Análise elementar dos materiais adsorventes em percentagem mássica (base seca e sem cinzas).

	%C	%O	%N	%H	Referência
Casca de amêndoa ao natural	50,5	42,7	0,2	6,6	González <i>et al.</i> , 2006
Casca de amêndoa carbonizada	$90,49 \pm 0,03$	$1,10 \pm 0,02^*$	$0,34 \pm 0,07$	$8,07 \pm 0,10$	---
Carvão activado	94,9	3,6	0,2	0,3	Faria <i>et al.</i> , 2004

* O oxigénio foi determinado por diferença

A casca de amêndoa carbonizada é maioritariamente constituída por carbono, possuindo um teor semelhante ao de um carvão activado e, por isso, apresenta uma fracção atómica H/C e O/C muito inferior à da casca natural ($\text{H/C}_{\text{natural}} = 1,55$, $\text{H/C}_{\text{carbonizada}} = 0,14$ e $\text{O/C}_{\text{natural}} = 0,63$, $\text{O/C}_{\text{carbonizada}} = 0,07$). Tal situação seria esperada, uma vez que a casca natural é constituída essencialmente por holocelulose e lenhina, compostos com diferentes grupos funcionais contendo oxigénio.

Aquando da análise da estrutura da casca carbonizada por microscopia electrónica de varrimento foi também possível analisar os elementos à superfície deste material com número atómico entre 6 e 92, porque ao sistema de SEM se encontrava acoplado um espectrómetro de dispersão de energias (EDS). É importante referir que estes resultados apenas fornecem uma ideia sobre a constituição da superfície, uma vez que a amostra para ser analisada tem de ser colocada sobre uma fita de carbono. Como o principal constituinte do adsorvente é exactamente o carbono, poderão ocorrer alguns erros nas leituras. Através da análise de EDS verificou-se que na superfície da casca carbonizada de amêndoa existia cerca de 84,3% C, 14,6% O e 1,1% K.

A detecção de potássio na superfície da casca carbonizada poderá estar relacionada com a existência de cinzas na amostra (sais inorgânicos de K^+).

3.3.1.2.2. Análise Termogravimétrica

As análises termogravimétricas (TG) permitem avaliar a perda de massa do material adsorvente durante o seu aquecimento. Estas análises, numa primeira fase, são efectuadas em atmosfera inerte e de seguida em atmosfera oxidante. A primeira etapa tem como objectivo determinar o teor de voláteis, enquanto na segunda se determina a fracção relativa ao carbono fixo. O resíduo final corresponde à fracção de cinzas. Os resultados das análises TG encontram-se na Figura 57 e Tabela 25.

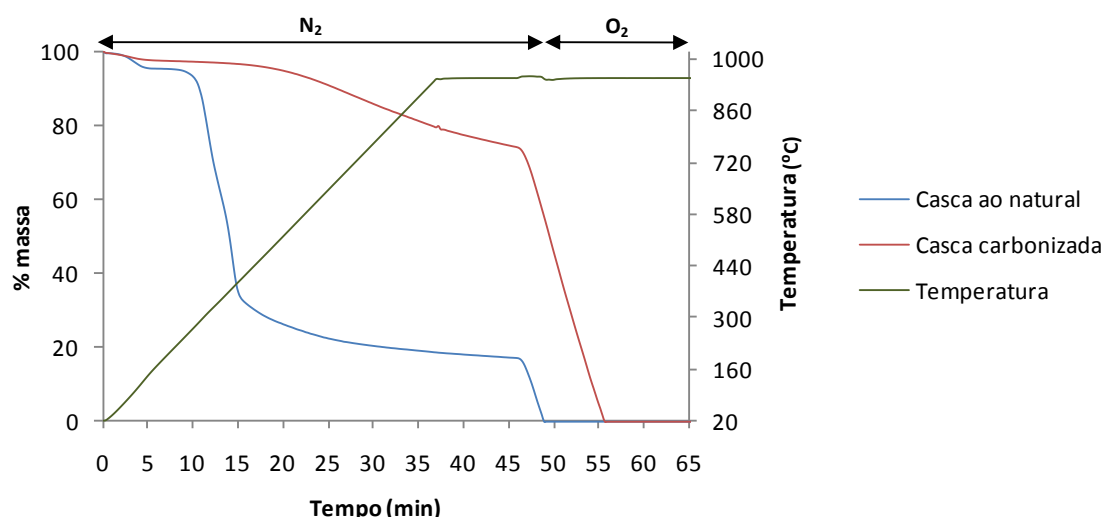


Figura 57. Curvas termogravimétricas para os materiais estudados.

Tabela 25. Análise termogravimétrica dos adsorventes em estudo (fracções mássicas em base seca).

	% Voláteis	% Carbono fixo	% Cinzas
Casca ao natural	82,2	17,8	≈ 0
Casca carbonizada	24,1	75,9	≈ 0
Carvão activado granular*	5,5	88,8	5,7

* Faria *et al.*, 2004

Tal como esperado, a casca de amêndoa ao natural possui um elevado teor de matéria volátil e um menor teor de carbono fixo na sua constituição, quando comparada com a casca carbonizada. Este resultado é, portanto, indicativo da eficácia do processo de carbonização efectuado. Comparando os valores obtidos para a casca carbonizada com valores existentes na literatura para o carvão activado verificou-se que o teor de carbono fixo é um pouco inferior, enquanto a percentagem de compostos voláteis é superior. Ao contrário do carvão activado comercial, a casca carbonizada apresenta um teor em cinzas muito reduzido (abaixo do limite de detecção do equipamento). Na maioria dos casos, a produção de carvão activado ocorre por activação química (ácidos, bases fortes ou sais), seguida de carbonização. São normalmente os compostos utilizados

nessa etapa que constituem as cinzas numa análise termogravimétrica (material inorgânico: sais de Na^+ , K^+ , Ca^{2+}).

Quando tecidos de plantas lenhosas são submetidos a processos de decomposição térmicos em atmosferas inertes e analisados os resultados através de curvas diferenciais termogravimétricas (DTG), são esperados três picos com intensidades consideráveis. O pico normalmente com maior intensidade surge entre os 250 e 350 °C e resulta da degradação da celulose. A decomposição da lenhina é mais lenta, resultando num pico largo, que pode ser identificado entre os 200 e 500 °C. Já um pico de intensidade inferior é normalmente identificado na gama dos 200-300 °C e corresponderá à degradação da celulose (Carrier *et al.*, 2011). Como a maior parte dos compostos naturais possui uma estrutura complexa, é vulgar que as temperaturas típicas de degradação térmica da holocelulose e da lenhina possam ser ligeiramente alteradas.

Estas curvas foram traçadas quer para a casca de amêndoa ao natural, quer para a carbonizada e encontram-se na Figura 58.

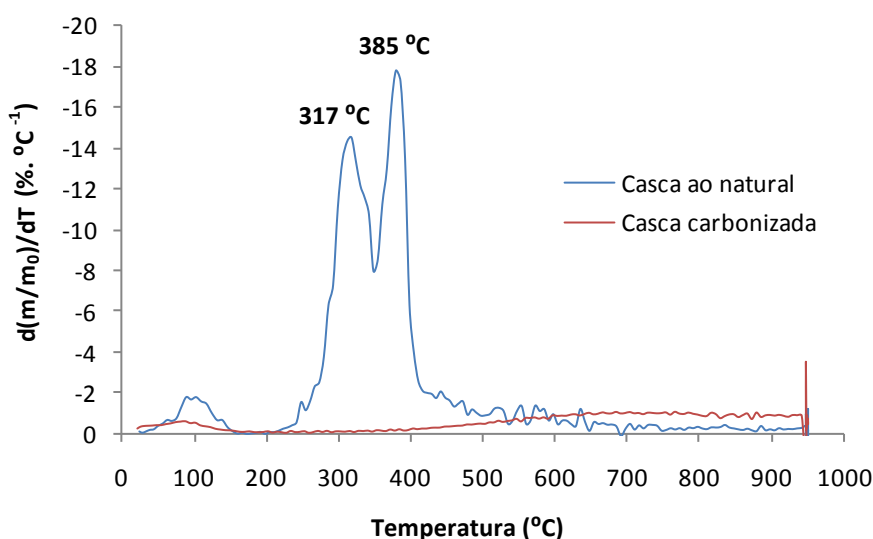


Figura 58. Curvas diferenciais termogravimétricas dos materiais estudados (25 °C.min⁻¹ de N₂ a um caudal de 30 mL min⁻¹).

A curva DTG para a casca de amêndoa ao natural apresenta dois picos, um centrado a cerca de 317 °C e outro mais intenso a cerca de 385 °C. O primeiro estará relacionado com a decomposição da hemicelulose, enquanto o segundo pico deverá corresponder à degradação da celulose. Tal como referido anteriormente, a fracção de lenhina é decomposta numa gama de temperaturas entre os 200 e 500 °C, estando por isso o seu pico sobreposto aos dois anteriores. Da observação da Figura 58, verifica-se ainda um aparecimento de um pico a cerca de 100 °C, que será resultante da evaporação de água presente no material adsorvente. Font *et al.* (1995) obtiveram resultados

semelhantes. A curva correspondente à casca carbonizada não apresenta picos significativos, indicando que a temperatura de carbonização adotada ($T_{\text{carbonização}} = 700\text{ }^{\circ}\text{C}$) foi adequada.

3.3.1.2.3. Análise por espectroscopia de infravermelho associada a transformadas de Fourier (FTIR)

A análise por espectroscopia de infravermelho baseia-se na quantificação da radiação absorvida ou difusa relativamente à incidente. Os espectros de infravermelho resultantes desta análise permitem identificar grupos funcionais presentes na amostra em estudo através dos valores de frequência de absorção ou alternativamente do número de onda específico. Na Figura 59 estão representados os espectros da casca de amêndoa ao natural **(a)** e da casca de amêndoa carbonizada **(b)**. O espectro da casca de amêndoa ao natural já tinha sido obtido no grupo de investigação (Estevinho *et al.*, 2006).

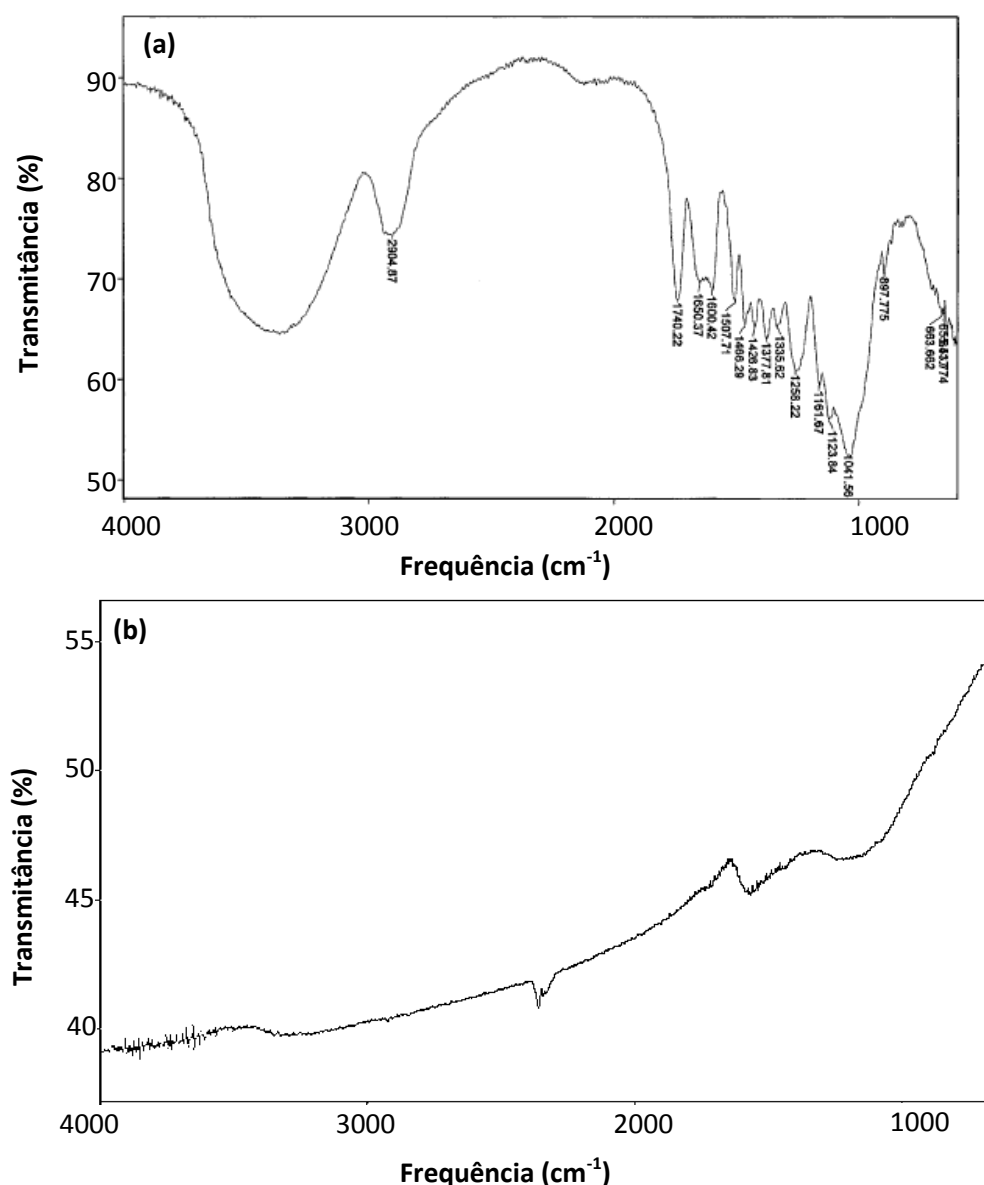


Figura 59. Espectro de infravermelho da casca de amêndoa **(a)** ao natural, **(b)** carbonizada.

O espectro de FTIR obtido para a casca de amêndoa ao natural aponta para a presença de algumas bandas de absorção típicas de materiais lenhocelulósicos. O aparecimento de uma banda larga a 3440 cm^{-1} sugere a presença da ligação O-H (distensão). Pela observação do espectro também foi possível detectar a presença de ligações C-H alifáticas (distensão) e C-H aromáticas (distensão) a cerca de 2904 cm^{-1} . São também evidentes bandas a 1740 e 1650 cm^{-1} , indicando a presença de grupos C=O (existentes por exemplo nos compostos extractáveis), bem como bandas a 1600 e 1507 cm^{-1} resultantes da vibração de distensão das ligações C=C aromáticas (existentes na estrutura da lenhina). Destacam-se ainda bandas a 1466 e 1377 cm^{-1} correspondentes às ligações C-H (flexão) e uma banda a 1161 cm^{-1} , indicando a presença de ligações C-O.

Esta análise por FTIR prova a existência de grupos funcionais no material adsorvente, nomeadamente o grupo -OH que pode ser responsável pelas ligações por pontes de hidrogénio com alguns grupos da amoxicilina (nomeadamente com o grupo fenólico, amina primária e secundária e grupo carboxílico). Embora em menor extensão, podem também ocorrer interacções hidrofóbicas através das ligações C=C aromáticas do material adsorvente e o anel aromático da amoxicilina.

Nos ensaios de adsorção foi também utilizada casca de amêndoa carbonizada. Esta foi obtida através da queima do material a $700\text{ }^{\circ}\text{C}$ numa atmosfera pobre em oxigénio, tendo ocorrido muito provavelmente uma combustão incompleta. O espectro de FTIR obtido para a casca carbonizada possui baixa resolução e praticamente não mostra nenhuma banda de infravermelho relevante. Porém, bandas de baixa resolução aparecem na região da ligação C-O (distensão) $\approx 1000\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$, C-H (flexão) $\approx 1350\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$ e na zona correspondente a CO_2 dissolvido $\approx 2250\text{ cm}^{-1}$. Para valores de frequência mais elevados, surge uma banda larga que não identifica nenhuma ligação específica. Uma vez que este método de caracterização não foi capaz de fornecer informações sobre os possíveis grupos funcionais existentes à superfície do adsorvente, foi necessário recorrer-se à análise do material por espectroscopia de fotoelectrões de raio X.

3.3.1.2.4. *Análise por espectroscopia de fotoelectrões de raio X (XPS)*

A espectroscopia de fotoelectrões utiliza fotoionização e análise da distribuição de energia cinética dos fotoelectrões emitidos para estudar a composição e o estado electrónico da superfície de uma amostra. A incidência de raios X sobre a amostra promove a libertação de electrões das suas camadas mais internas. Estes electrões emitidos são designados de fotoelectrões e possuem uma energia que é característica do nível energético de origem. A análise espectral permite então identificar o átomo de onde provém o electrão, bem como caracterizar o seu estado energético (Hollander e Jolly, 1970). Para além disso, o XPS permite caracterizar diferentes tipos de ligação estabelecidas por esse átomo e avaliar a sua abundância através da medição da intensidade relativa dos picos presentes no espectro (Dreake, 2006).

Para este trabalho apenas se efectuou a análise por XPS da casca de amêndoa carbonizada, uma vez que até ao momento, ainda não existiam resultados suficientes para caracterizar quimicamente este adsorvente. Na análise sumária à superfície foram identificados picos relativos a carbono, oxigénio e azoto (Figura 60 e Tabela 26) e ainda silício em pequenas quantidades. É importante mencionar que o XPS não permite avaliar a presença de hidrogénio.

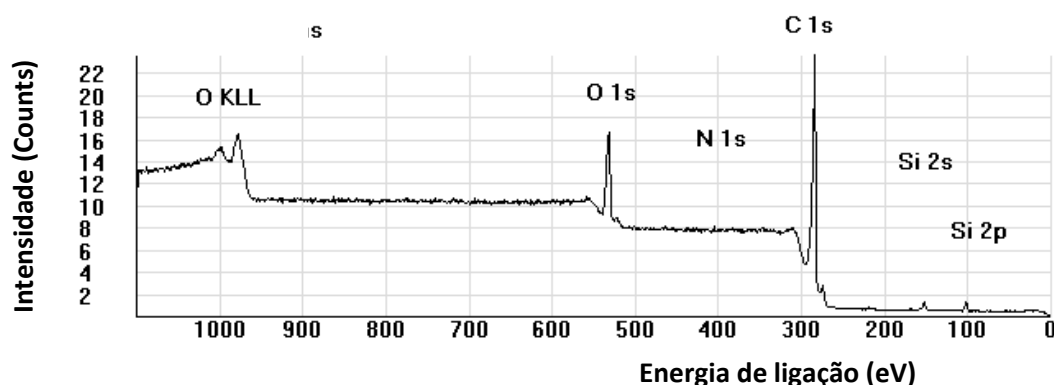


Figura 60. Espectro de XPS para a superfície da casca de amêndoa carbonizada.

Tabela 26. Análise sumária da composição à superfície obtida por XPS em % atómica.

	% C	% O	% N	O/C
Casca de amêndoa carbonizada	85,5	14,3	0,3	0,17

C+N+O = 100%

Os resultados obtidos estão coerentes com os obtidos através da análise elementar, uma vez que o teor mais elevado é o de carbono, seguido do de oxigénio. Quanto às razões atómicas entre oxigénio e carbono verificou-se que a razão obtida por XPS foi superior à obtida por análise elementar ($O/C_{\text{análise elementar}} = 0,07$ e $O/C_{\text{XPS}} = 0,17$). Tal situação estará relacionada não só pelo facto do XPS apenas analisar a superfície química do material, mas também pelos erros associados a cada um dos métodos serem diferentes.

A diferença entre as energias de ligação para os átomos em diferentes ambientes é muito pequena. Por esta razão é necessário efectuar-se a deconvolução dos picos de modo a analisar os resultados de XPS (Feng *et al.*, 2006). Como resultado desta deconvolução obtém-se um fraccionamento dos picos em pesos relativos de cada tipo de ligação. Na Figura 61 está representada a deconvolução do pico de carbono, oxigénio e azoto.

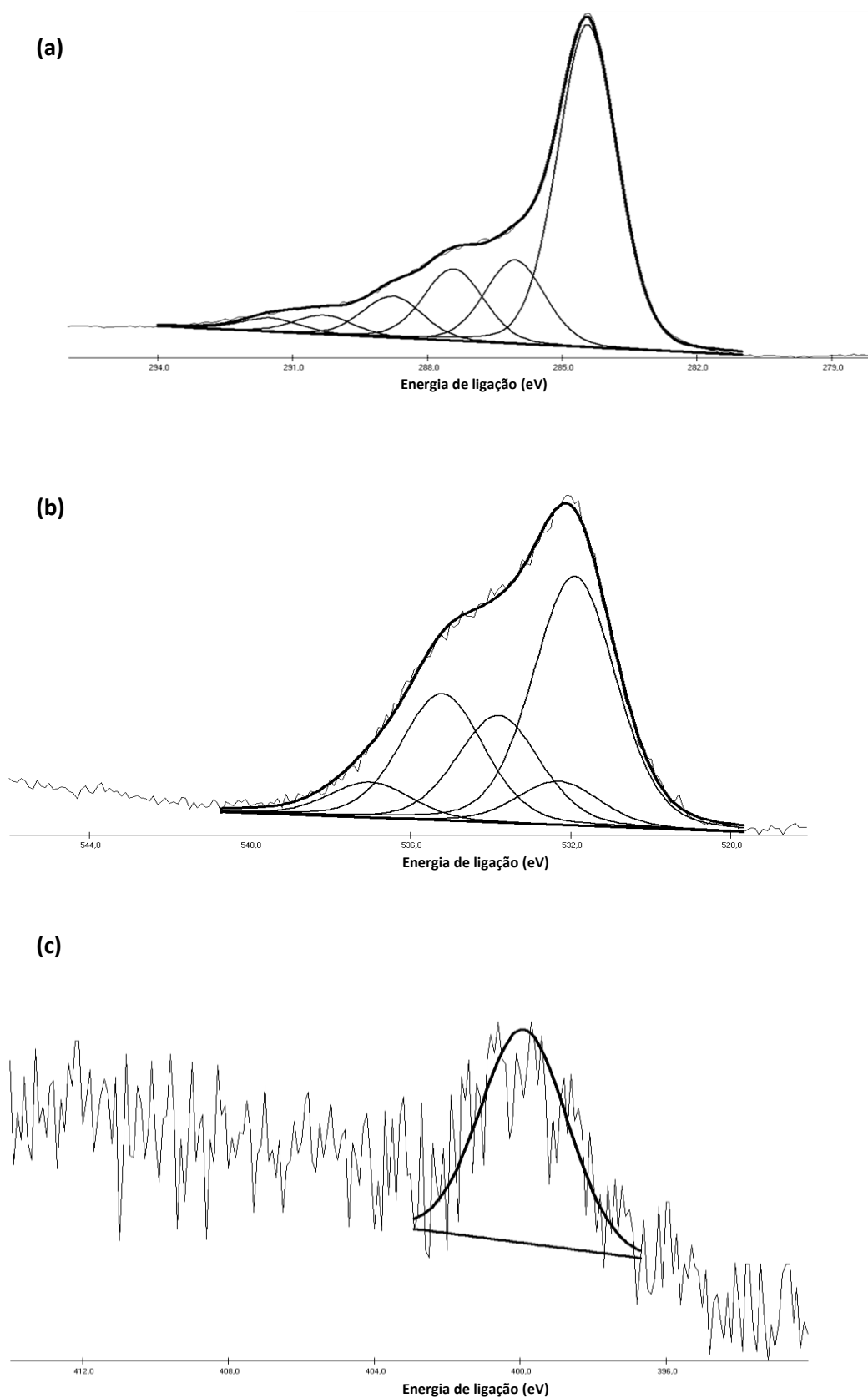


Figura 61. Deconvolução dos picos do espectro de elevada resolução da região (a) C1s (278-296 eV), (b) O1s (526-546 eV) e (c) N1s (392-414 eV).

Na Tabela 27 encontram-se sumarizados os resultados obtidos depois da deconvolução dos picos.

Tabela 27. Intensidade relativa dos tipos de ligação estabelecidas à superfície da casca carbonizada de amêndoa.

	Energia de ligação (eV)			Grupo à superfície	Descrição	% Ligação
	Neste trabalho	Na literatura	Referência			
C 1s	284,4	284,6	Polovina <i>et al.</i> (1997), Terzyk (2001), Zhou <i>et al.</i> (2007)	C-C, C-H	Carbono grafítico	58,5
	286,1	286,0-286,3	Polovina <i>et al.</i> (1997), Terzyk (2001), Zhou <i>et al.</i> (2007)	C-OH, C-O	Fenol, álcool e éter	15,1
	287,4	286,3-287,6	Polovina <i>et al.</i> (1997), Terzyk (2001), Zhou <i>et al.</i> (2007)	C=O, C-N	Carbonilo, quinona e estruturas C-N	13,0
	288,8	288,8-289,1	Polovina <i>et al.</i> (1997), Terzyk (2001), Zhou <i>et al.</i> (2007)	COO	Carboxilo e éster	7,5
	290,3	290,5-291,2	Polovina <i>et al.</i> (1997), Terzyk (2001), Zhou <i>et al.</i> (2007)	C=O, C=C	Carbonato, CO ou CO ₂ ocluso e electrões π do anel aromático	3,4
	291,5	291,0-291,6	Hontoria-Lucas <i>et al.</i> (1995), Terzyk (2001)	Transições π - π	Transições devido a conjugação	2,5
O 1s	531,9	531,0-531,9	De la Puente <i>et al.</i> (1997), Terzyk (2001), Zhou <i>et al.</i> (2007)	C=O	Carbonilo e quinona	44,6
	532,3	532,3-532,8	Zhou <i>et al.</i> (2007)	COOR	Ésteres e anidridos	7,5
	533,8	533,2-533,8	De la Puente <i>et al.</i> (1997)	C-O-R	Oxigénio com ligação simples a carbonos do anel aromático, fenóis, álcoois e éteres	19,3
	535,2	534,3-535,4	Terzyk (2001), Zhou <i>et al.</i> (2007)	COO	Carboxilo	22,4
	537,0	537,0	De la Puente <i>et al.</i> (1997)	C=O	CO ou CO ₂ ocluso	6,3
N 1s	399,9	400,1	Terzyk (2001)	C-N	Estruturas C-N	100

A análise por XPS provou a existência de grupos funcionais à superfície do material adsorvente (por exemplo, C-OH e COOH) que permitem estabelecer ligações por pontes de hidrogénio com alguns grupos da amoxicilina, nomeadamente o grupo fenol, as amins primária e secundária e o grupo carboxílico. Para além disso, esta análise evidencia a existência de electrões π na superfície do adsorvente que podem estabelecer interacções com o anel aromático da amoxicilina. Outra possibilidade, embora menos provável, é a reacção entre o grupo carbonilo da casca carbonizada (C=O de aldeídos ou cetonas) e a amina primária da amoxicilina, formando uma imina.

3.3.1.2.5. Determinação da basicidade e acidez totais e grupos funcionais à superfície

A caracterização superficial dos materiais adsorvente desempenha um papel fundamental nos processos de adsorção, nomeadamente de compostos orgânicos, e permite determinar o tipo de interacções que se estabelece entre adsorbato e adsorvente. Com este intuito aplicou-se o método de Boehm e determinou-se, para além da basicidade e acidez totais, os principais grupos funcionais à superfície dos materiais adsorventes estudados (Tabela 28).

Tabela 28. Valores obtidos para a acidez e basicidade, bem como para os grupos superficiais.

	Grupos carboxílicos ($\mu\text{eq.g}^{-1}$)	Grupos lactónicos ($\mu\text{eq.g}^{-1}$)	Grupos fenólicos ($\mu\text{eq.g}^{-1}$)	Grupos carbonilo ($\mu\text{eq.g}^{-1}$)	Acidez ($\mu\text{eq.g}^{-1}$)	Basicidade ($\mu\text{eq.g}^{-1}$)
Casca ao natural	97,7	92,1	1543,3	908,5	2641,5	782,7
Casca carbonizada	n.d.	67,5	175,4	327,9	570,8	553,4

n.d. – não detectado

O carácter ácido de um material adsorvente está relacionado com a presença de grupos carboxílicos (ou na sua forma cíclica de anidridos), lactonas ou lactóis e grupos fenólicos (Boehm, 2002). Porém a origem da natureza alcalina das superfícies ainda não está perfeitamente definida. Uma das razões para o comportamento alcalino de algumas superfícies, normalmente de carvões, pode estar relacionada com a existência de electrões- π deslocalizados nos planos basais. Outra possibilidade é que este carácter esteja associado a grupos funcionais contendo oxigénio, nomeadamente à existência de estruturas tipo-pironas nas extremidades das camadas poliaromáticas ou de grupos tipo-éteres, cetonas ou grupos quinona (Morán *et al.*, 2004).

Através da análise efectuada verificou-se que a casca de amêndoa ao natural possui um elevado teor de grupos fenólicos e carbonilo e um teor semelhante, mas inferior aos anteriores, de grupos carboxílicos e lactónicos. A existência de grupos fenólicos e de carbonilo poderá ser explicada pela presença de lenhina e de compostos extractáveis como os taninos na composição da casca, enquanto os grupos carboxílico e lactónico devido à presença de compostos extractáveis, como os lignanos e os

ácidos gordos. Quanto à casca de amêndoa carbonizada, esta possui um elevado teor em grupos carbonilo, seguido dos grupos fenólicos e lactónicos. Através desta metodologia não foi possível detectar grupos carboxílicos. Tal como o esperado, os teores obtidos foram inferiores aos da casca de amêndoa ao natural, consequência do processo de carbonização.

Estes resultados estão, de um modo geral, de acordo com os obtidos através de XPS ou da análise por FTIR. Relativamente aos valores obtidos para a acidez e basicidade, verificou-se que a casca de amêndoa carbonizada possui um carácter neutro (quantidade de grupos ácidos semelhante à de grupos básicos), enquanto a casca de amêndoa ao natural possui uma maior acidez (maior quantidade de grupos ácidos do que básicos).

3.3.1.2.6. Determinação do pH no ponto de carga nula

Quando um material adsorvente é colocado em suspensão numa solução electrolítica, desenvolvem-se cargas eléctricas à sua superfície devido à dissociação dos compostos com grupos hidroxilo presentes na superfície e à complexação dos iões do electrólito. Naturalmente, em carvões são os iões H^+ e OH^- que são considerados determinantes, uma vez que são estes iões que exercem controlo da carga e potencial de superfície (Sonnefeld *et al.*, 2001; Khan e Sarwar, 2007). Assim, dependendo do pH da solução e da concentração do electrólito, as superfícies do material adsorvente podem comportar-se como permutadores catiónicos (carga *net* negativa), aniónicos (carga *net* positiva) ou espécies neutras (carga nula). O ponto de carga nula (pzc) corresponde, portanto, ao valor de pH para o qual a carga *net* da superfície é igual a zero (Sposito, 1998; Khan e Sarwar, 2007).

Na Figura 62 está representada a curva resultante da aplicação do método da variação do pH (Rivera-Utrilla *et al.*, 2001) para a determinação do pzc.

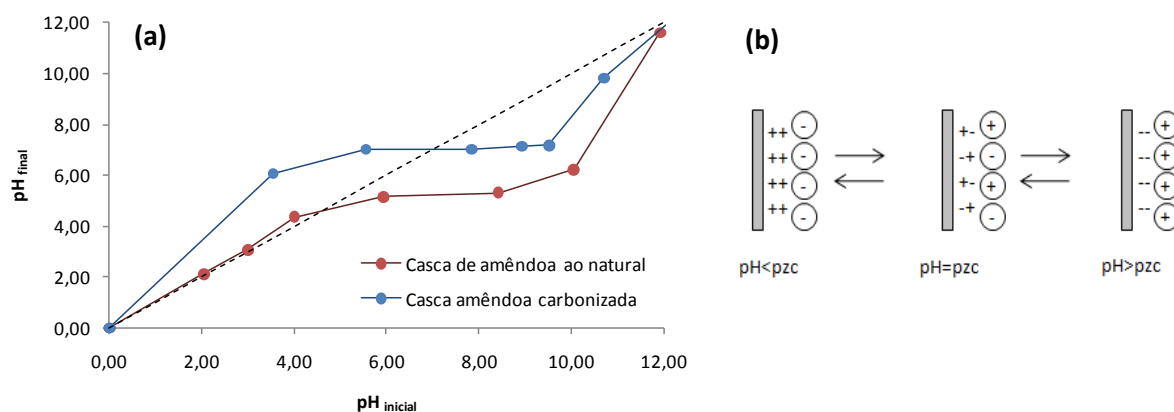


Figura 62. (a) Carga superficial dos materiais adsorventes estudados pelo método da variação do pH, **(b)** representação visual da carga à superfície do adsorvente (adaptado de Khan e Sarwar, 2007).

Como se pode verificar na Figura 62, a casca de amêndoa carbonizada possui um comportamento anfotérico. Quando o pH é inferior ao pzc ($pzc = 7,02 \pm 0,06$), a superfície do adsorvente estará carregada positivamente, enquanto a pH superior estará carregada negativamente. Uma situação semelhante ocorre para a casca de amêndoa ao natural, cujo $pzc = 4,60 \pm 0,03$. Estes valores vêm também confirmar os resultados obtidos no estudo da acidez e basicidade destes materiais adsorventes. De um modo geral verifica-se que a casca de amêndoa ao natural tem uma natureza acídica, enquanto a casca carbonizada é neutra.

3.3.1.2.7. Determinação dos minerais hidrossolúveis

A determinação dos minerais hidrossolúveis foi efectuada através da medição da condutividade. Este teste é bastante comum em carvões activados, uma vez que permite estimar a quantidade de compostos inorgânicos lixiviáveis, as quais são consideradas impurezas e portanto, constituem compostos não desejáveis nos adsorventes (Qureshi, 2007).

Na Tabela 29 encontram-se os resultados obtidos para a casca de amêndoa ao natural e carbonizada, bem como para outros carvões.

Tabela 29. Teores de minerais hidrossolúveis para vários materiais adsorventes.

	Condutividade ($\mu S.cm^{-1}$)	Referência
Casca de amêndoa ao natural	25	
Casca de amêndoa carbonizada	36	
Carvão activado:		
Calgon CPG LF	25	Ahmedna <i>et al.</i> , 1997
Casca de nozes-pecã	170	Ahmedna <i>et al.</i> , 1997
Casca de arroz	90	Ahmedna <i>et al.</i> , 1997
Casca de soja	300	Ahmedna <i>et al.</i> , 1997
Caroço de damasco	295	Soleimani e Kaghazchi, 2008

Tal como esperado, a casca de amêndoa ao natural possui um menor teor em minerais hidrossolúveis do que a casca de amêndoa carbonizada. Normalmente os carvões possuem um maior teor de minerais hidrossolúveis devido à formação de sais inorgânicos aquando da sua preparação. Por outro lado, também se verifica que a condutividade para a casca carbonizada é bastante inferior à de um carvão activado comercial. Isto dever-se-á ao facto de na preparação da casca carbonizada não serem utilizados ácidos e bases inorgânicos para efeitos de activação, bem como às diversas lavagens efectuadas que conduziram à redução da maior parte do material lixiviável.

A partir deste estudo de caracterização dos materiais adsorventes é expectável que a casca de amêndoa carbonizada apresente melhores taxas de remoção, uma vez que apresenta um maior número de poros (Volume de macro e mesoporos = $0,34 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$) e uma área superficial superior (Área superficial B.E.T. = $450,21 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). No entanto, quer a casca de amêndoa ao natural, quer a casca carbonizada possuem grupos que podem estabelecer interações com a molécula em estudo. Os ensaios de FTIR demonstraram que a casca de amêndoa ao natural possuía grupos C-OH que podem estabelecer ligações por pontes de hidrogénio com alguns grupos da amoxicilina (nomeadamente grupo fenólico, amins primária e secundária e grupo carboxílico). Embora em menor extensão também podem ocorrer interações hidrofóbicas através das ligações C=C aromáticas do material adsorvente e o anel aromático da amoxicilina. Relativamente à casca de amêndoa carbonizada, os ensaios de XPS permitiram detectar a existência de alguns grupos funcionais à superfície (por exemplo, C-OH e COOH). Estes grupos, tal como no caso da casca ao natural, permitem estabelecer ligações por pontes de hidrogénio com alguns grupos da amoxicilina. Para além disso, esta análise evidencia a existência de electrões π na superfície do adsorvente que também podem estabelecer interações com o anel aromático da amoxicilina. Outra possibilidade, embora menos provável, é a reacção entre o grupo carbonilo da casca carbonizada (C=O de aldeídos ou cetonas) e a amina primária da amoxicilina, formando uma imina.

A determinação do ponto de carga nula também indica que, quer a casca de amêndoa ao natural, quer a casca carbonizada podem ser adsorventes adequados para a remoção da amoxicilina de águas contaminadas dependendo do pH utilizado. Em ambos os casos é previsível uma maior taxa de remoção para valores de pH próximos do pzc.

3.3.2. Adsorção em sistema fechado

A adsorção em sistema fechado foi estudada para casca de amêndoa carbonizada. Para se poder estabelecer um termo de comparação relativamente à eficiência de remoção, foram também realizados ensaios de adsorção com casca de amêndoa ao natural e carvão activado granular Darco®.

3.3.2.1. Avaliação da adsorção da amoxicilina nos filtros

Tal como mencionado anteriormente, a adsorção da amoxicilina foi testada em filtros de celulose e de PTFE. Um padrão de amoxicilina de $450 \mu\text{g.L}^{-1}$ foi filtrado através de cada uma destas membranas e as soluções resultantes injectadas posteriormente em HPLC. A área do padrão de controlo (sem sofrer filtração) foi comparada com as das soluções filtradas.

Os resultados obtidos mostram que o filtro de celulose retém cerca de 4% da amoxicilina e os de PTFE cerca de 1%. Estes valores são inferiores à incerteza associada ao método analítico. Como tal, estes filtros foram utilizados durante os ensaios de adsorção.

3.3.2.2. Ensaios preliminares com casca de amêndoa ao natural

Os primeiros estudos realizados sobre a adsorção da amoxicilina em matrizes aquosas foram efectuados com casca de amêndoa natural. Testaram-se diversas quantidades de casca, mantendo todos os outros factores constantes (Figura 63).

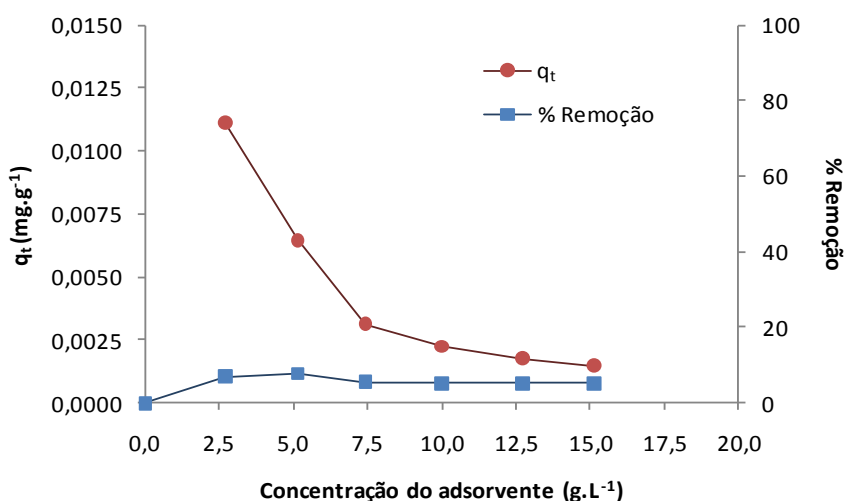


Figura 63. Relação entre a quantidade de casca de amêndoa natural e a de analito adsorvida (tempo de contacto = 400 min, concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, $d_p = 515 \mu\text{m}$, $T = 30^\circ\text{C}$, 120 rpm).

Para todas as quantidades de casca estudadas (50-300 mg) verificou-se que ao fim de 400 min apenas tinha sido removida cerca de 8% da amoxicilina inicial. Por se suspeitar que a cinética de

adsorção com casca de amêndoa é lenta efectuaram-se ensaios similares aos anteriores, mas alterando o tempo de contacto para 5 dias. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 64.

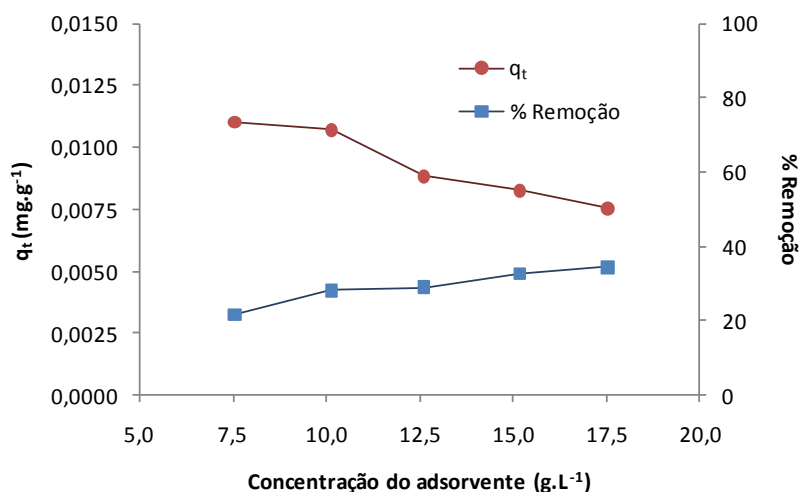


Figura 64. Relação entre a quantidade de casca de amêndoa natural e a de analito adsorvida (tempo de contacto = 6935 min, concentração amoxicilina = 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$, d_p = 515 μm , T = 30 °C, 120 rpm).

Com estes ensaios verificou-se que com qualquer uma das quantidades de adsorvente utilizada, dentro da gama estudada, conduziu a remoções inferiores a 35%, mesmo com um tempo de contacto de cerca de 5 dias.

De modo a avaliar o efeito do tempo de contacto na adsorção com a casca ao natural efectuaram-se ensaios com 300 mg de adsorvente (Figura 65).

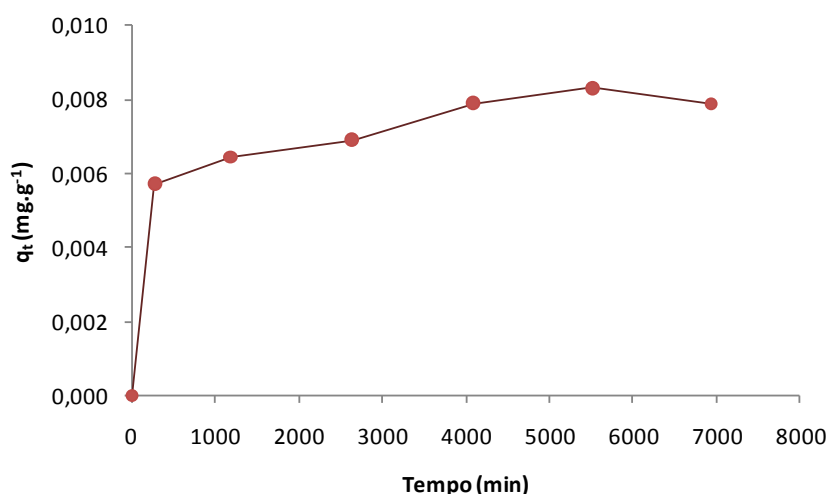


Figura 65. Efeito do tempo de contacto no processo de adsorção (massa de adsorvente = 300 mg, d_p = 510 μm , T = 30 °C, 120 rpm).

Os resultados demonstraram que ao fim dos cinco dias apenas 36% da amoxicilina foi efectivamente removida e que ao fim de 1200 min a quantidade removida tende para um patamar, indicando a proximidade da saturação do adsorvente. Estes ensaios indicam que, tal como esperado pela caracterização dos materiais (área superficial e porosidade baixa), a capacidade de remoção da casca ao natural é bastante diminuta e morosa, não sendo por isso um material adequado para aplicação industrial. De modo a ultrapassar este problema, efectuou-se um pré-tratamento à casca de amêndoa (carbonização). De modo a avaliar o efeito do pré-tratamento do adsorvente, foi realizado um estudo preliminar com este material, utilizando 100 mg de adsorvente nas mesmas condições experimentais (tempo de contacto = 400 min, concentração inicial de amoxicilina = 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$, $d_p = 600 \mu\text{m}$, $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 120 rpm). A eficiência de remoção obtida com pré-tratamento (97%) foi muito superior à obtida utilizando casca de amêndoa ao natural (8%). Este facto explica o grande interesse em aplicar este pré-tratamento ao material adsorvente. Os ensaios subsequentes foram efectuados com a casca carbonizada.

3.3.2.3. Estudo da cinética de adsorção

3.3.2.3.1. Efeito da massa de adsorvente

Este parâmetro está relacionado com a capacidade de adsorção do adsorvente em estudo, para uma determinada concentração de analito. A determinação da massa de adsorvente a utilizar ao longo deste estudo foi efectuada através de ensaios em que se variou a quantidade de casca de amêndoa carbonizada entre 0,8 e 10 g.L^{-1} , mantendo todos os outros factores constantes. Na Figura 66 encontram-se os resultados referentes a esta análise.

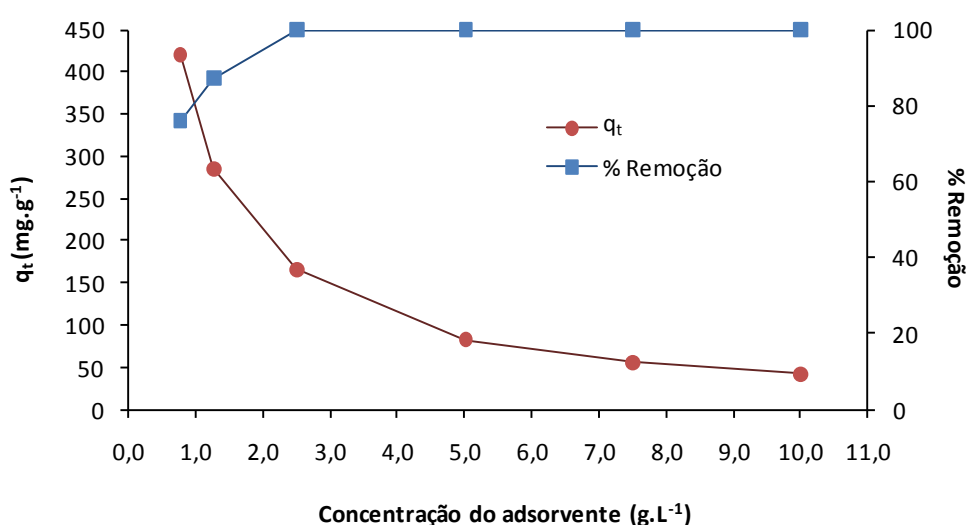


Figura 66. Relação entre a concentração de adsorvente e a quantidade de analito adsorvida (tempo de contacto = 400 min, concentração amoxicilina = 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$, $d_p = 600 \mu\text{m}$, pH = 6,50, $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$, 120 rpm).

De um modo geral, um aumento na concentração do adsorvente resulta num aumento na eficiência de remoção devido ao aumento do número de sítios activos disponíveis (Öztürk e Kavak, 2005). Os resultados obtidos estão de acordo com esta afirmação, uma vez que indicam claramente um aumento da eficiência de remoção com o aumento da concentração de adsorvente até atingir uma concentração óptima ($C_{\text{adsorvente}} = 2,5 \text{ g.L}^{-1}$), a partir da qual a remoção se mantém constante. Verificou-se também uma diminuição da quantidade adsorvida de contaminante por grama de adsorvente com o aumento na concentração do adsorvente. Esta situação pode ser explicada pelo facto da variação na massa de analito adsorvida ser inferior à variação na massa de adsorvente, conduzindo a uma diminuição na razão quantidade adsorvida por grama de adsorvente.

De acordo com os resultados obtidos na Figura 66, foi fixada uma massa de adsorvente de 50 mg ($2,5 \text{ g.L}^{-1}$) de modo a minimizar a quantidade de adsorvente utilizada, mantendo elevadas taxas de remoção.

3.3.2.3.2. Efeito do tempo de contacto e da concentração inicial do analito

Neste estudo foi também avaliado o tempo de contacto para atingir o equilíbrio (intervalo de tempo necessário para que a concentração do analito no sistema não varie mais do que 5%). A quantidade adsorvida foi determinada em função do tempo de contacto e da concentração inicial da amoxicilina (expressa como razão mássica amoxicilina/adsorvente, R). Os resultados são apresentados na Figura 67.

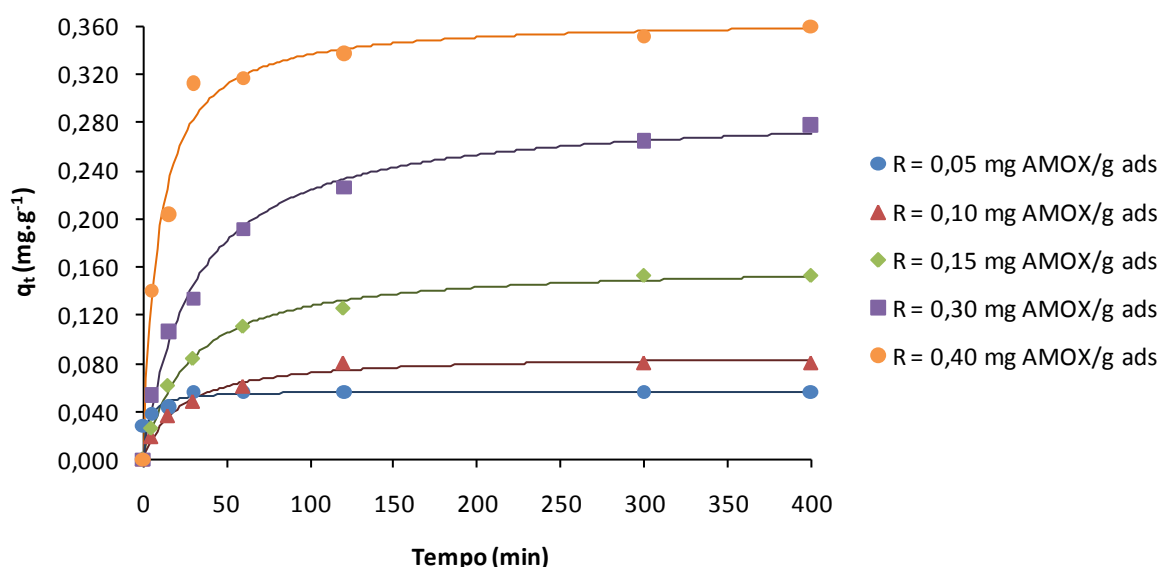


Figura 67. Efeito do tempo de contacto no processo de adsorção a diferentes razões mássicas amoxicilina/adsorvente (massa de adsorvente = 50 mg, $d_p = 600 \mu\text{m}$, $\text{pH} = 6,50$, $T = 30^\circ\text{C}$, 120 rpm; ajuste de pseudo-segunda ordem).

No início, o processo de adsorção é bastante rápido, diminuindo gradualmente até que o equilíbrio seja atingido. Tal como esperado, para as concentrações iniciais mais elevadas e consequentemente, para uma razão mássica amoxicilina/adsorvente também mais elevada, é necessário um tempo superior para atingir o equilíbrio. Após 400 min, foi obtida uma percentagem de remoção média de cerca de 97%. Contudo, para assegurar o equilíbrio entre as duas fases (sólido-líquido) foi estabelecido um tempo de contacto de 720 min (12 horas), uma vez que é necessário garantir que o tempo do ensaio é suficiente para estabilizar o sistema, independentemente da concentração inicial do contaminante.

Alterando a razão mássica de $0,05 \text{ mg.g}^{-1}$ para $0,40 \text{ mg.g}^{-1}$ verificou-se um aumento na quantidade adsorvida de $0,056 \text{ mg.g}^{-1}$ para $0,360 \text{ mg.g}^{-1}$ ao fim de 400 min. Este facto pode ser explicado pelo aumento da força motriz, que permitiu ultrapassar resistências à transferência de massa da amoxicilina entre o meio líquido e a superfície das partículas adsorventes. Para além disso, é sabido que para elevadas concentrações (mantendo constante a massa de adsorvente), existem menos sítios activos disponíveis para ocorrer a adsorção e por isso, a percentagem de remoção diminui de 100% (significa não detectado nas condições experimentais utilizadas) para 96%. Quanto à cinética do processo, é possível prever que para concentrações mais elevadas, a velocidade inicial do processo de adsorção seja também superior.

3.3.2.3.3. Efeito do tamanho de partícula

Para avaliar o efeito do tamanho das partículas da casca de amêndoa carbonizada no processo de adsorção foram efectuados ensaios com $d_p = 600 \mu\text{m}$, $600\text{-}770 \mu\text{m}$ e $770\text{-}1000 \mu\text{m}$ (Figura 68).

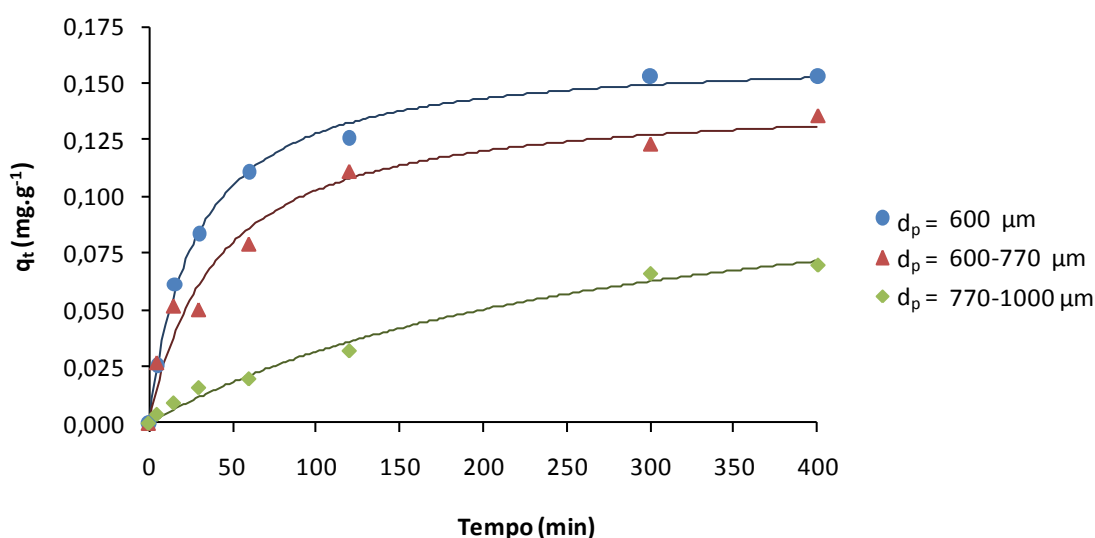


Figura 68. Efeito do tamanho de partícula de adsorvente no processo de adsorção (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, pH = 6,50, T = 30 °C, 120 rpm; ajuste de pseudo-segunda ordem).

Na Figura 68 pode-se observar que a quantidade adsorvida aumentou de $0,070 \text{ mg.g}^{-1}$ para $0,153 \text{ mg.g}^{-1}$ com a diminuição do tamanho das partículas. A mesma tendência foi observada relativamente à eficiência de remoção (aumento de 46% para 100%). Estes resultados já eram expectáveis, uma vez que partículas com menor granulometria possuem uma maior área superficial (Estevinho *et al.*, 2007). Embora a utilização de partículas de pequeno diâmetro conduza a um aumento nas taxas de remoção, a sua aplicação a nível industrial (colunas de leito fixo) é reduzida devido às elevadas perdas de carga e à baixa resistência ao atrito destas partículas. Estes resultados experimentais permitem ainda concluir que a velocidade inicial de adsorção diminui consideravelmente com o aumento do tamanho das partículas. Uma situação semelhante foi reportada por Demirbas *et al.* (2008) para a adsorção de Cr (VI) em carvão activado produzido a partir de casca de amêndoa.

3.3.2.3.4. Efeito da temperatura

O efeito da temperatura no processo de adsorção foi estudado através de uma série de experiências conduzidas a 10°C , 20°C , 30°C e 40°C . Nestas experiências também se testou o efeito da temperatura na degradação da amoxicilina durante 400 min.

Os resultados referentes à degradação da amoxicilina por acção da temperatura demonstraram que entre 10 e 30°C não ocorreu degradação da amoxicilina (degradação $\approx 0,3\%$). No entanto, a 40°C cerca de 7% do composto tinha sido degradado por efeito da temperatura. De modo a ultrapassar esta questão, conjuntamente com os ensaios de adsorção, colocaram-se matrizes na incubadora apenas com solução de amoxicilina que foram retirados ao mesmo tempo que os ensaios anteriores. Desta forma, efectuou-se uma correcção aos valores obtidos, de modo a apenas se contabilizar a quantidade de amoxicilina adsorvida. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 69.

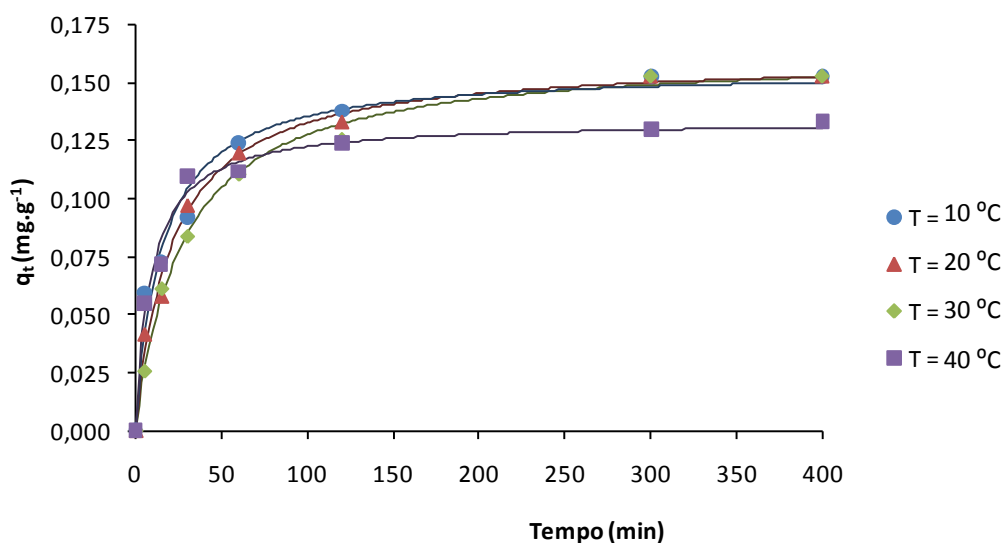


Figura 69. Efeito da temperatura no processo de adsorção (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, $d_p = 600 \mu\text{m}$, $\text{pH} = 6,50$, 120 rpm; ajuste de pseudo-segunda ordem).

Considerando os resultados da Figura 69, verificou-se que na gama de temperaturas entre 10 e 30 °C este parâmetro não parece influenciar significativamente o processo de adsorção. No entanto, para valores de temperatura superiores ocorre uma diminuição na quantidade adsorvida. Uma análise mais aprofundada aos resultados termodinâmicos (ver tópico 3.3.2.5) sugere que este processo é exotérmico. Por esta razão, é esperado que quando a temperatura aumenta, a capacidade máxima de adsorção diminua, o que foi verificado quando o $q_{\text{máx}}$ foi calculado (a partir dos resultados das isotérmicas). Os resultados experimentais permitem ainda concluir que a velocidade inicial de adsorção diminui com o aumento da temperatura de 10 °C para 30 °C. No entanto, para 40 °C verificou-se um aumento da velocidade inicial de adsorção (velocidade inicial máxima para a gama de temperaturas estudadas). Esta situação é inesperada e poderá estar relacionada com o facto de a esta temperatura ocorrer degradação do antibiótico.

Hameed (2007) verificou um comportamento semelhante para a adsorção de 2,4,6-triclorofenol numa argila. De acordo com o autor, um aumento da temperatura conduz ao enfraquecimento das forças entre os sítios activos do adsorvente e as moléculas de adsorbato e entre moléculas adjacentes na fase adsorvida, diminuindo assim a taxa de adsorção. Demirbas *et al.* (2008) também estudaram o efeito da temperatura no processo de adsorção de Cr (VI) em carvão activado produzido a partir de casca de amêndoa. No entanto, estes autores verificaram um comportamento contrário ao descrito até ao momento. No caso estudado, o aumento da temperatura favoreceu o processo de adsorção (processo endotérmico). A mesma situação foi descrita por Hameed *et al.* (2007) na adsorção de um corante em carvão activado preparado a partir de casca de palmeira. Concluiu-se assim que a influência da temperatura nos processos de adsorção é dependente do sistema adsorvente-adsorbato em estudo.

3.3.2.3.5. Efeito do pH

A amoxicilina é um composto anfotérico que apresenta três constantes de dissociação ($\text{pK}_{\text{a}1} = 2,68$, $\text{pK}_{\text{a}2} = 7,49$ e $\text{pK}_{\text{a}3} = 9,63$) e que se encontra sob a forma de *zwitterion* a valores de pH entre 3 e 6. Na sua estrutura possui um anel beta-lactâmico que o torna susceptível a degradação, nomeadamente hidrólise em meio ácido ou básico. Portanto, é expectável que a valores de pH extremos ocorra degradação deste antibiótico. Por esta razão, antes de se efectuar o estudo da influência do pH na adsorção da amoxicilina, estudou-se a influência do pH na sua degradação. Para tal, colocaram-se matrizes com soluções padrão de amoxicilina a diferentes valores de pH durante 400 min na orbital a 30 °C. Após esse período, o pH das soluções foi corrigido para o pH de análise (pH = 6,50). Os resultados obtidos encontram-se na Figura 70.

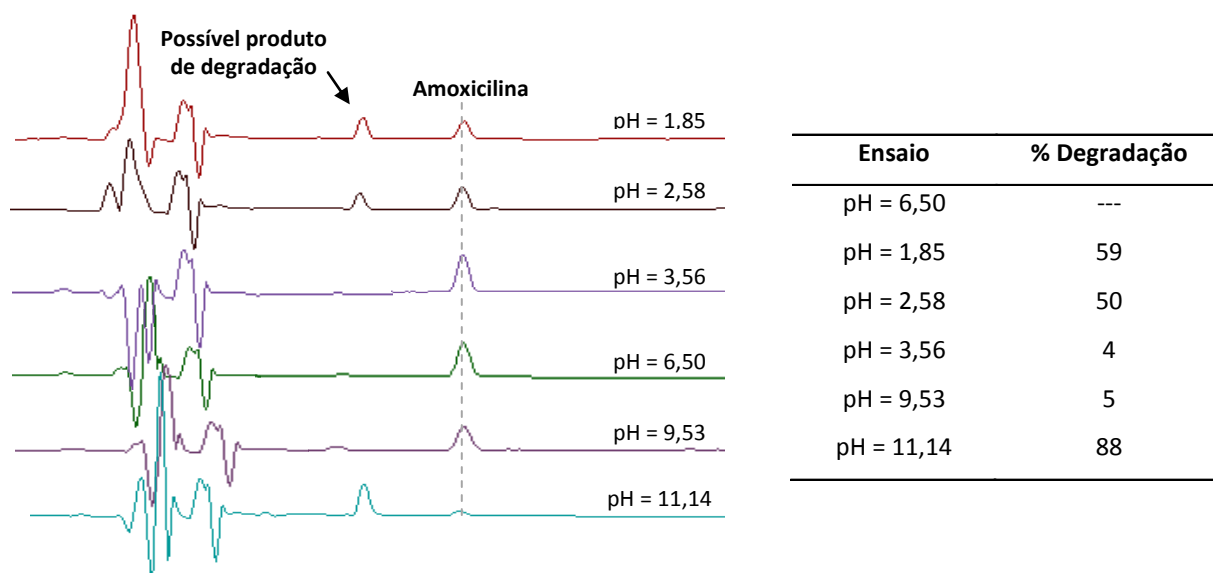


Figura 70. Cromatogramas referentes a soluções de amoxicilina ($450 \mu\text{g.L}^{-1}$) mantidas a diferentes valores de pH durante 400 min a 30°C e respectiva percentagem de degradação.

Uma vez que a degradação é bastante elevada para valores de pH extremos, apenas se realizou um estudo na gama de pH entre 3,56 a 9,53 (Figura 71).

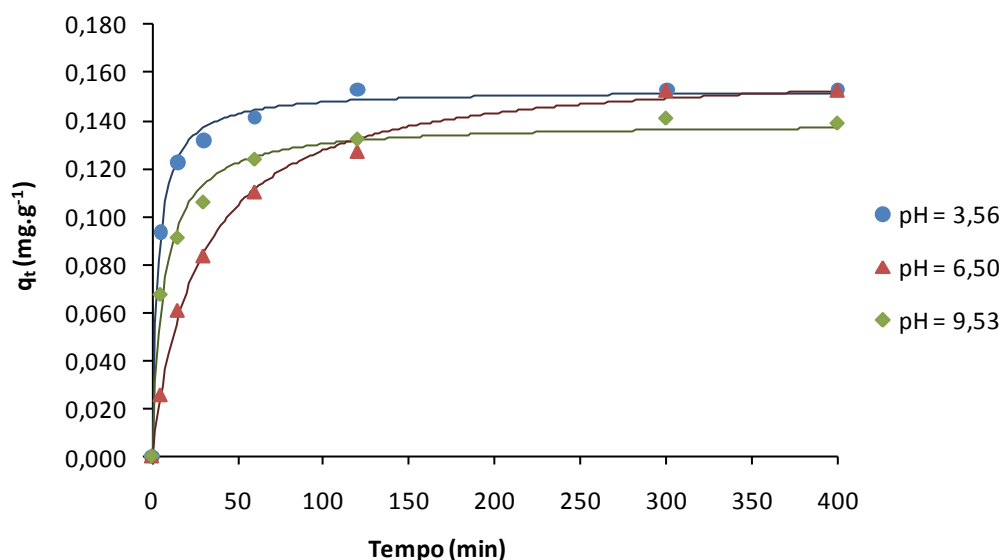


Figura 71. Efeito do pH no processo de adsorção (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, $d_p = 600 \mu\text{m}$, $T = 30^\circ\text{C}$, 120 rpm; ajuste de pseudo-segunda ordem).

A pH = 3,56 a casca de amêndoa carbonizada encontra-se carregada positivamente ($pzc = 7,02$). Já a molécula de amoxicilina encontra-se 88% na forma $-\text{COO}^-/-\text{NH}_3^+/-\text{OH}$ e 12% na forma $-\text{COOH}/-\text{NH}_3^+/-\text{OH}$. Neste caso, o grupo $-\text{COO}^-$ poderá estabelecer interações com a casca carbonizada. Já a pH = 6,50 a superfície da casca carbonizada estará quase na sua forma neutra, enquanto 91% da amoxicilina se encontrará na forma $-\text{COO}^-/-\text{NH}_3^+/-\text{OH}$ e 9% na forma $-\text{COO}^-/-\text{NH}_2/-\text{OH}$. Seria portanto

de esperar que a quantidade removida de amoxicilina fosse mais elevada do que a pH = 3,56. Julga-se possível que esta diferença possa estar relacionada com o arranjo estereoquímico da molécula, ou seja, a impossibilidade de determinado grupo estabelecer interações com a superfície da casca carbonizada. Os ensaios permitiram ainda verificar que a valores de pH elevados ocorre uma diminuição da quantidade de antibiótico adsorvido. A pH = 9,53 a superfície da casca carbonizada encontra-se carregada negativamente, bem como a molécula de amoxicilina (57% na forma $\text{-COO}^-/\text{-NH}_2/\text{-OH}$ e 44% na forma $\text{-COO}^-/\text{-NH}_2/\text{-O}^-$), ocorrendo repulsão entre os grupos da casca e da molécula, o que explica esta diminuição.

A nível industrial (pensando na aplicabilidade desta tecnologia de águas residuais) terá mais interesse a aplicação do processo de adsorção sem ser necessário corrigir o valor de pH dos efluentes a tratar. A partir destes ensaios verificou-se que na gama de pH entre 3,56 e 9,53 é possível obter-se elevadas percentagens de remoção.

Putra *et al.* (2009) testaram a influência do pH na adsorção da amoxicilina em bentonite (argila) e num carvão activado. Os seus ensaios foram realizados a pH ácido (pH = 2 e 5) e neutro (pH = 7). Estes autores verificaram que a remoção máxima para a bentonite foi atingida para pH = 2, enquanto para o carvão activado foi conseguida a pH = 5. De acordo com o valor de pzc para a bentonite (pzc = 3,85), a pH = 2 este adsorvente deverá ter a sua superfície carregada positivamente, bem como a molécula de amoxicilina. Por esta razão, os autores suspeitam que o mecanismo envolvido na adsorção em bentonite seja a de permuta catiónica, ou seja, catiões presentes na estrutura da bentonite são permutados pelos grupos funcionais na amoxicilina que estejam carregados positivamente (-COOH , -NH_3^+). Os autores também determinaram o valor de pzc para o carvão activado, tendo verificado que este ocorre a pH = 4,91. É também a este valor de pH que a adsorção é máxima. Esta situação estará relacionada com o facto de quer a superfície do adsorvente, quer a molécula de amoxicilina estarem no seu estado neutro ($\text{-COO}^-/\text{-NH}_3^+$). Este facto vem corroborar os resultados obtidos neste estudo.

3.3.2.3.6. Modelização da cinética de adsorção

O estudo da cinética de adsorção pretende ser uma ferramenta útil na determinação da taxa de remoção do soluto e, conseqüentemente, no tempo de residência do adsorbato na interface sólido-líquido. A cinética de adsorção da amoxicilina na casca de amêndoa carbonizada foi analisada utilizando cinco modelos diferentes, bem como o mecanismo de adsorção e as possíveis etapas controlantes:

(i) Pseudo-primeira ordem

$$q_t = q_e (1 - e^{-k_1 t}) \quad (\text{Eq. 13})$$

(ii) Pseudo-segunda ordem

$$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + q_e k_2 t} \quad (\text{Eq. 14})$$

(iii) Elovich

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(1 + \alpha \beta t) \quad (\text{Eq. 16})$$

(iv) Difusão externa

$$C_t = C_0 \exp\left(-k_{fd} \frac{3m_{ads}}{V\rho_p R} t\right) \quad (\text{Eq. 20})$$

(v) Difusão intraparticular

$$\frac{q_t}{q_e} = \frac{6}{R} \left(\frac{D_h}{\pi}\right)^{1/2} t^{1/2} \Leftrightarrow q_t = k_{id} t^{1/2} + C \quad (\text{Eq. 30})$$

A Tabela 30 fornece uma comparação entre os parâmetros cinéticos de adsorção para os três primeiros modelos (modelos de reacção química). Os modelos foram ajustados aos dados experimentais, através de uma análise não linear (minimização dos quadrados dos resíduos utilizando a ferramenta *Solver* do *Microsoft Office Excel 2007* e posteriormente o *software* Fig. P 2.98 da *Biosoft*).

O modelo de pseudo-primeira ordem (Eq. 13) não descreve adequadamente o comportamento em toda a gama de tempos de contactos estudados, mas apenas os primeiros pontos experimentais (durante os primeiros 30 minutos). Este facto foi também mencionado em outros estudos de adsorção (Taty-Costodes *et al.*, 2003; Bulut e Tez, 2007). O modelo de Elovich (Eq. 16) não prevê qualquer tipo de mecanismo, mas tem sido utilizado para descrever adsorção química em materiais adsorventes heterogéneos. Este modelo prevê com algum rigor o comportamento ao longo de toda a gama temporal estudada. No entanto, o modelo que melhor prevê o comportamento de adsorção é o de pseudo-segunda ordem (Eq. 14). Esta situação pode ser verificada através dos elevados coeficientes de determinação e dos valores bastante baixos dos desvios padrão normalizados resultantes desta modelização. Uma situação semelhante foi encontrada por Putra *et al.* (2009) no estudo efectuado sobre a adsorção de amoxicilina em matrizes aquosas com carvão activado.

Neste estudo verificou-se que as constantes de velocidade (k_2) deste modelo diminuíam de 2,63 para 0,11 g.(mg.min)⁻¹ com o aumento da concentração inicial de amoxicilina de 150 para 750 µg.L⁻¹. Contudo um aumento da concentração de 750 para 900 µg.L⁻¹ conduziu a um aumento na constante cinética para 0,31 g.(mg.min)⁻¹. Já os valores da velocidade inicial de adsorção ($h = k_2 q_e^2$) aumentaram

com o aumento da concentração de amoxicilina. Este facto poderá estar relacionado com o aumento da força motriz da adsorção, permitindo que as moléculas atinjam mais rapidamente a superfície do adsorvente. Estes resultados demonstram que o processo é extremamente dependente da concentração inicial de analito.

Comparando os resultados obtidos neste estudo com os reportados por Putra *et al.* (2009) verificou-se que as constantes de velocidade obtidas por estes autores, segundo o modelo de pseudo-segunda ordem, para a adsorção da amoxicilina em carvão activado são bastante superiores (na ordem dos 100 g.mg⁻¹.min⁻¹). É importante referir que os ensaios reportados na literatura referem-se à adsorção de 300 mg.L⁻¹ de amoxicilina (concentração cerca de 3 vezes superior à concentração máxima estudada neste trabalho). Tal como mencionado anteriormente, um aumento na concentração inicial conduz ao aumento da força motriz da adsorção, o que permite que as moléculas atinjam mais rapidamente a superfície do adsorvente. Logo, seria de esperar que as constantes de velocidade fossem superiores às determinadas neste trabalho.

Relativamente ao efeito da temperatura verificou-se que para valores entre 10 e 30 °C a constante de velocidade diminuiu de 0,43 para 0,22 g.(mg.min)⁻¹, aumentando novamente para uma temperatura de 40 °C (0,76 g.(mg.min)⁻¹). Este comportamento inesperado estará relacionado com a degradação da amoxicilina a esta temperatura. É possível que a casca carbonizada possa conter na sua composição algum composto que catalise este processo de degradação, conduzindo a valores de cinética superiores aos esperados. Quanto à velocidade de adsorção inicial verificou-se uma diminuição com o aumento da temperatura, vindo confirmar que o processo de adsorção é exotérmico (processo favorecido pela diminuição da temperatura). Os ensaios que permitiram avaliar o efeito da granulometria da casca de amêndoa carbonizada indicaram que quer a constante de velocidade, quer a velocidade inicial de adsorção diminuíram com o aumento do tamanho médio das partículas. A este aumento está associada uma diminuição na área superficial e, consequentemente, no número de centros activos, o que conduz a uma maior competição entre as moléculas de adsorbato. Este facto reflecte-se numa diminuição da velocidade do processo de adsorção. Relativamente à influência do pH na velocidade do processo de adsorção verificou-se que a pH = 6,50 a velocidade de remoção era a mais baixa, obtendo-se, porém, aproximadamente a mesma quantidade adsorvida.

Os resultados obtidos neste estudo apontam para que uma cinética de pseudo-segunda ordem reja o processo de adsorção e, portanto, a etapa controlante seja a adsorção química (Ho e McKay, 1998). A adsorção química envolve transferência electrónica, equivalente à formação de ligações químicas entre adsorbato e adsorvente (Bulut e Tez, 2007; Abramian e El-Rassy, 2009). Putra *et al.* (2009) no seu estudo afirmam que quer os mecanismos de adsorção química, quer de adsorção física devem estar envolvidos na adsorção da amoxicilina em carvão activado.

Tabela 30. Parâmetros cinéticos do modelo de pseudo-primeira e segunda ordem e Elovich para a adsorção de amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada.

Ensaio	Pseudo-primeira ordem					Pseudo-segunda ordem					Modelo de Elovich				
	$q_{e, \text{exp}}$ (mg.g ⁻¹)	$q_{e, \text{calc}}$ (mg.g ⁻¹)	k_1 (min ⁻¹)	R^2	DP (%)	$q_{e, \text{calc}}$ (mg.g ⁻¹)	k_2 (g.mg ⁻¹ .min ⁻¹)	H (mg.g ⁻¹ .min ⁻¹)	R^2	DP (%)	$q_{e, \text{calc}}$ (mg.g ⁻¹)	α (mg.(g.min) ⁻¹)	β (g.mg ⁻¹)	R^2	DP (%)
C₀ (µg.L⁻¹)^a															
150	0,056	0,054 ± 0,003	0,094 ± 0,023	0,913	12,5	0,058 ± 0,003	2,63 ± 0,72	0,0088 ± 0,0025	0,954	6,1	0,060	0,169 ± 0,125	135 ± 25	0,947	8,6
200	0,081	0,080 ± 0,003	0,032 ± 0,004	0,982	15,3	0,087 ± 0,003	0,53 ± 0,08	0,0040 ± 0,0007	0,989	6,3	0,088	0,011 ± 0,004	64 ± 8	0,967	11,7
450	0,153	0,146 ± 0,006	0,028 ± 0,004	0,979	13,0	0,163 ± 0,003	0,22 ± 0,02	0,0059 ± 0,0005	0,997	3,1	0,161	0,013 ± 0,003	32 ± 2	0,990	14,3
750	0,278	0,261 ± 0,012	0,025 ± 0,004	0,977	19,0	0,292 ± 0,008	0,11 ± 0,01	0,0096 ± 0,0012	0,994	10,3	0,285	0,021 ± 0,003	18 ± 1	0,995	5,4
950	0,360	0,341 ± 0,011	0,074 ± 0,010	0,978	11,2	0,365 ± 0,011	0,31 ± 0,05	0,0413 ± 0,0074	0,985	6,7	0,382	0,324 ± 0,282	20 ± 4	0,946	12,3
T (°C)^b															
10	0,153	0,143 ± 0,009	0,043 ± 0,009	0,942	21,2	0,156 ± 0,007	0,43 ± 0,11	0,0104 ± 0,0026	0,971	14,2	0,160	0,045 ± 0,015	41 ± 4	0,984	6,6
20	0,153	0,146 ± 0,006	0,035 ± 0,005	0,977	17,1	0,161 ± 0,007	0,30 ± 0,04	0,0074 ± 0,0011	0,991	11,5	0,162	0,021 ± 0,007	35 ± 4	0,978	10,3
30	0,153	0,146 ± 0,006	0,028 ± 0,004	0,979	13,0	0,163 ± 0,003	0,22 ± 0,02	0,0059 ± 0,0005	0,997	3,1	0,161	0,013 ± 0,003	32 ± 2	0,990	14,3
40	0,134	0,128 ± 0,005	0,068 ± 0,013	0,960	14,4	0,137 ± 0,004	0,76 ± 0,14	0,0143 ± 0,0028	0,983	8,6	0,143	0,097 ± 0,065	53 ± 7	0,967	9,3
d_p (µm)^c															
600	0,153	0,146 ± 0,006	0,028 ± 0,004	0,979	13,0	0,163 ± 0,003	0,22 ± 0,02	0,0059 ± 0,0005	0,997	3,1	0,161	0,013 ± 0,003	32 ± 2	0,990	14,3
600-770	0,136	0,128 ± 0,008	0,019 ± 0,004	0,961	26,6	0,144 ± 0,009	0,17 ± 0,05	0,0035 ± 0,0010	0,971	20,4	0,136	0,007 ± 0,002	34 ± 4	0,980	12,0
770-1000	0,070	0,084 ± 0,014	0,005 ± 0,001	0,969	27,0	0,124 ± 0,027	0,03 ± 0,02	0,0005 ± 0,0003	0,969	24,9	0,076	0,000 ± 0,001	23 ± 7	0,969	22,2
pH^d															
3,56	0,153	0,145 ± 0,006	0,181 ± 0,047	0,937	7,0	0,153 ± 0,004	1,89 ± 0,40	0,0450 ± 0,0100	0,981	2,5	0,161	7,589 ± 3,542	77 ± 7	0,991	5,6
6,50	0,153	0,146 ± 0,006	0,028 ± 0,004	0,979	13,0	0,163 ± 0,003	0,22 ± 0,02	0,0059 ± 0,0005	0,997	3,1	0,161	0,013 ± 0,003	32 ± 2	0,990	14,3
9,53	0,139	0,130 ± 0,006	0,093 ± 0,021	0,944	13,1	0,139 ± 0,004	1,05 ± 0,23	0,0204 ± 0,0045	0,987	6,0	0,147	0,260 ± 0,145	59 ± 5	0,986	5,2

^a Ensaios realizados a 30 °C, pH = 6,50, d_p = 600 µm, 120 rpm; ^b Ensaios realizados com 450 µg.L⁻¹ de amoxicilina, pH = 6,50, d_p = 600 µm, 120 rpm; ^c Ensaios realizados com 450 µg.L⁻¹ de amoxicilina, pH = 6,50, T = 30 °C, 120 rpm; ^d Ensaios realizados com 450 µg.L⁻¹ de amoxicilina, T = 30 °C, d_p = 600 µm, 120 rpm

O processo de adsorção quer seja físico ou químico envolve sempre processos de difusão. O adsorbato tem de sofrer difusão através do meio até à camada fronteira que envolve as partículas de adsorvente e daí até aos sítios activos existentes na estrutura do adsorvente. Logo, o processo de difusão pode ser controlado por uma ou mais das seguintes etapas: difusão no *bulk*, difusão externa e/ou difusão intraparticular (Wang *et al.*, 2008).

No caso da difusão no *bulk*, o adsorbato é transportado através do meio aquoso até ao filme que rodeia o adsorvente. Esta resistência é geralmente reduzida através da agitação da solução porque também o gradiente de concentrações é reduzido. Após esta etapa, o adsorbato deve atravessar a camada fronteira que envolve o adsorvente até à sua superfície – difusão externa. A velocidade de difusão está directamente relacionada com a espessura do filme (em camadas finas a velocidade de difusão é maior). Na difusão intraparticular, o adsorbato deve atravessar os poros até aos sítios activos. O transporte intraparticular pode ocorrer através de difusão nos poros ou através de difusão à superfície. Depois de ultrapassar todas estas etapas, o adsorbato deverá estabelecer interações com os sítios activos na superfície do adsorvente – adsorção.

Como mencionado anteriormente, a difusão no *bulk* raramente é a etapa controlante do processo (Wang *et al.*, 2008). Por esta razão, apenas os mecanismos de difusão externa e intraparticular foram alvo de estudo neste trabalho.

De acordo com o modelo de difusão externa (Eq. 20), a difusão ocorre no filme que envolve as partículas de adsorvente. Caso esta seja uma etapa controlante, a quantidade de amoxicilina no meio líquido (C_t) deverá ser directamente proporcional ao tempo de contacto (t). Na Figura 72 encontra-se representado este modelo para diferentes concentrações iniciais.

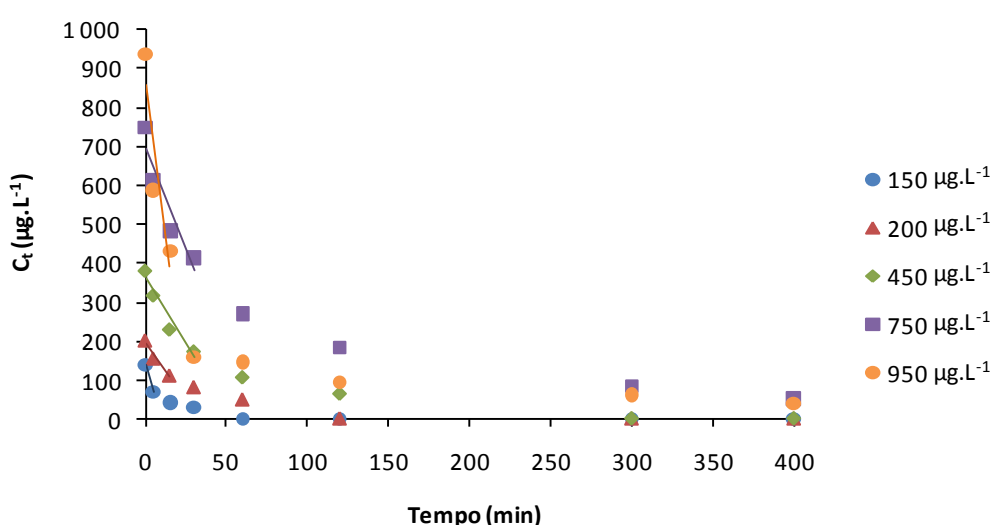


Figura 72. Representação do modelo de difusão externa para diferentes concentrações iniciais de amoxicilina (50 mg adsorvente, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 6,50$, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, 120 rpm).

Este modelo apenas prevê o comportamento dos primeiros pontos experimentais, indicando que a difusão externa não é a etapa controlante em toda a gama estudada, mas provavelmente apenas nos primeiros minutos (15 min).

Outro modelo que assume apenas um tipo de resistência é o modelo de difusão intraparticular (Eq. 30). Segundo este modelo, a difusão ocorre na estrutura porosa do adsorvente e é descrita pela segunda lei de Fick (Aroua *et al.*, 2008). Caso esta seja uma etapa controlante, a quantidade de amoxicilina adsorvida (q_t) deverá ser directamente proporcional a $t^{0,5}$. Na Figura 73 encontra-se a aplicação deste modelo a diferentes concentrações iniciais de amoxicilina.

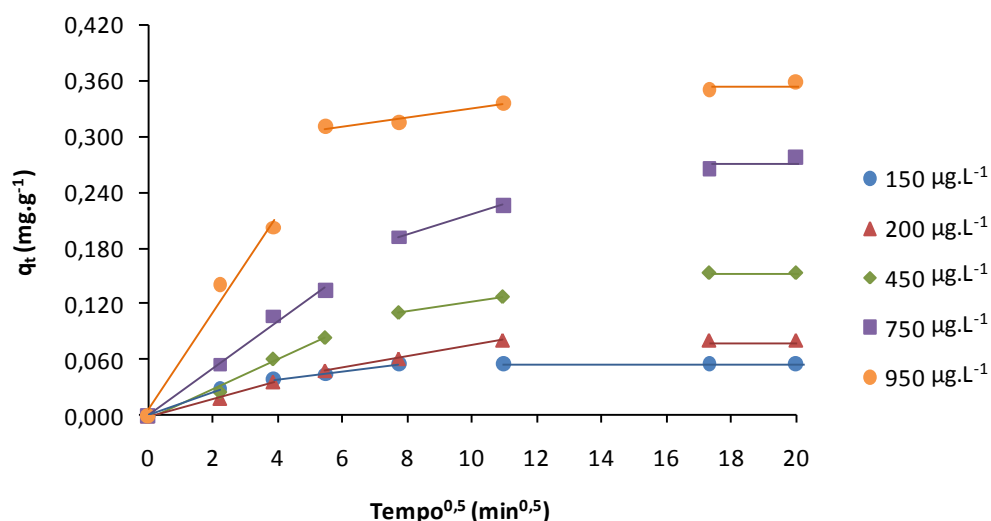


Figura 73. Representação do modelo de difusão intraparticular diferentes concentrações iniciais de amoxicilina (50 mg adsorvente, T = 30 °C, pH = 6,50, d_p = 600 µm, 120 rpm).

Como se pode verificar, a aplicação deste modelo não resulta numa resposta linear em todo o domínio. No entanto, através da representação gráfica é possível definir três regiões distintas, representando diferentes estágios de transferência de massa. A primeira região deverá estar relacionada com a adsorção da amoxicilina nos sítios activos mais disponíveis localizados na superfície externa do adsorvente. A segunda região poderá ser atribuída à difusão intraparticular e finalmente, a terceira região poderá representar o estado de equilíbrio, no qual a quantidade adsorvida é constante (Bulut e Tez, 2007; Wang *et al.*, 2008; Abramian e El-Rassy, 2009). É importante referir que as zonas definidas na Figura 73 apenas são indicativas dos estágios de transferência de massa existentes. Para se poder calcular a constante cinética para cada um dos estágios seriam necessários mais pontos experimentais em cada uma das zonas. Porém, estes resultados indicam que, embora a etapa de difusão intraparticular esteja envolvida no processo de adsorção, esta não corresponde à etapa controlante do processo.

Na Tabela 31 encontram-se os resultados relativos à aplicação dos métodos difusionais acima mencionados a todos os ensaios de adsorção realizados.

Tabela 31. Parâmetros cinéticos do modelo de difusão intraparticular e difusão externa para a adsorção de amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada.

Parâmetros	Difusão intraparticular							Difusão externa			
	$q_{e, \text{exp}}$ (mg.g ⁻¹)	$q_{e, \text{calc}}$ (mg.g ⁻¹)	k_{id} (mg.g ⁻¹ .min ^{-1/2})	C (mg.g ⁻¹)	$D \times 10^{-9}$ (cm ² .s ⁻¹)	R ²	DP (%)	$q_{e, \text{calc}}$ (mg.g ⁻¹)	k_{fd} (cm.min ⁻¹)	R ²	DP (%)
C₀ (µg.L⁻¹)^a											
150	0,056	0,066	0,002 ± 0,001	0,024 ± 0,008	1,49	0,591	17,3	0,056	0,344 ± 0,021	0,958	13,5
200	0,081	0,095	0,004 ± 0,001	0,018 ± 0,008	2,37	0,804	23,2	0,081	0,128 ± 0,012	0,983	15,7
450	0,153	0,175	0,007 ± 0,001	0,026 ± 0,012	2,62	0,874	29,4	0,153	0,098 ± 0,010	0,982	15,9
750	0,278	0,311	0,013 ± 0,002	0,044 ± 0,020	2,66	0,899	19,0	0,299	0,072 ± 0,011	0,977	25,3
950	0,360	0,418	0,014 ± 0,004	0,131 ± 0,047	1,71	0,646	18,9	0,375	0,232 ± 0,010	0,973	14,9
T (°C)^b											
10	0,152	0,176	0,007 ± 0,001	0,042 ± 0,014	2,09	0,803	13,8	0,152	0,152 ± 0,026	0,947	22,5
20	0,148	0,171	0,007 ± 0,001	0,034 ± 0,014	2,36	0,829	17,8	0,148	0,137 ± 0,015	0,977	17,4
30	0,153	0,175	0,007 ± 0,001	0,026 ± 0,012	2,62	0,874	29,4	0,153	0,098 ± 0,010	0,982	15,9
40	0,134	0,157	0,006 ± 0,001	0,047 ± 0,016	1,79	0,694	16,9	0,153	0,162 ± 0,018	0,945	23,2
d_p (µm)^c											
600	0,153	0,175	0,007 ± 0,001	0,026 ± 0,012	2,62	0,874	29,4	0,153	0,098 ± 0,010	0,982	15,9
600-770	0,136	0,148	0,007 ± 0,001	0,017 ± 0,008	3,32	0,924	14,3	0,152	0,054 ± 0,009	0,963	32,5
770-1000	0,074	0,068	0,003 ± 0,001	0,000 ± 0,005	7,12	0,981	43,1	0,077	0,009 ± 0,001	0,982	39,8
pH^d											
3,56	0,156	0,179	0,005 ± 0,002	0,074 ± 0,022	1,23	0,517	16,7	0,156	0,562 ± 0,012	0,965	10,6
6,50	0,153	0,175	0,007 ± 0,001	0,026 ± 0,012	2,62	0,874	29,4	0,153	0,098 ± 0,010	0,982	15,9
9,53	0,139	0,163	0,005 ± 0,001	0,054 ± 0,017	1,61	0,662	15,8	0,154	0,214 ± 0,022	0,937	21,7

^a Ensaios realizados a 303 K, pH = 6,50, d_p = 600 µm, 120 rpm; ^b Ensaios realizados com 450 µg.L⁻¹ de amoxicilina, pH = 6,50, d_p = 600 µm, 120 rpm; ^c Ensaios realizados com 450 µg.L⁻¹ de amoxicilina, pH = 6,50, T = 303 K, 120 rpm; ^d Ensaios realizados com 450 µg.L⁻¹ de amoxicilina, T = 303 K, d_p = 600 µm, 120 rpm

Apesar do modelo de difusão intraparticular não se ajustar adequadamente aos dados experimentais (Tabela 31), efectuou-se, com base neste modelo, uma estimativa dos coeficientes de difusividade (D). De acordo com os resultados obtidos, os coeficientes de difusividade são todos da mesma ordem de grandeza ($10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Este valor é indicativo de que no sistema estudado ocorre adsorção química ($D = 10^{-5} - 10^{-13} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) (Demirbas *et al.*, 2008).

3.3.2.4. Estudo do equilíbrio de adsorção

A distribuição do soluto no equilíbrio é representada através de uma relação entre a quantidade de soluto na fase sólida (q_e) e a concentração final do soluto na fase líquida (C_e), a temperatura constante. Esta relação é designada de isotérmica. Embora existam vários modelos matemáticos que permitem representar esta relação de equilíbrio, apenas quatro vão ser estudados neste trabalho:

(i) Isotérmica linear

$$q_e = K_d C_e \quad (\text{Eq. 8})$$

(ii) Isotérmica de Langmuir

$$q_e = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (\text{Eq. 9})$$

(iii) Isotérmica de Freundlich

$$q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (\text{Eq. 10})$$

(iv) Isotérmica de Temkin

$$q_e = \frac{RT}{b} \ln(AC_e) \quad (\text{Eq. 11})$$

Os parâmetros calculados para todas as isotérmicas de adsorção estão compilados na Tabela 32. O modelo de Langmuir conduz aos valores mais elevados de R^2 e aos mais baixos de desvio-padrão normalizado, sendo assim o modelo que melhor prevê o comportamento dos pontos experimentais (Figura 74).

Analisando os resultados obtidos aplicando o modelo de Langmuir aos pontos experimentais verificou-se que a capacidade máxima da monocamada não se alterou significativamente na gama de temperaturas estudadas ($3,05 \pm 0,09$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a 10°C , ($3,35 \pm 0,06$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a 20°C e ($2,41 \pm 0,03$) $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ a 30°C .

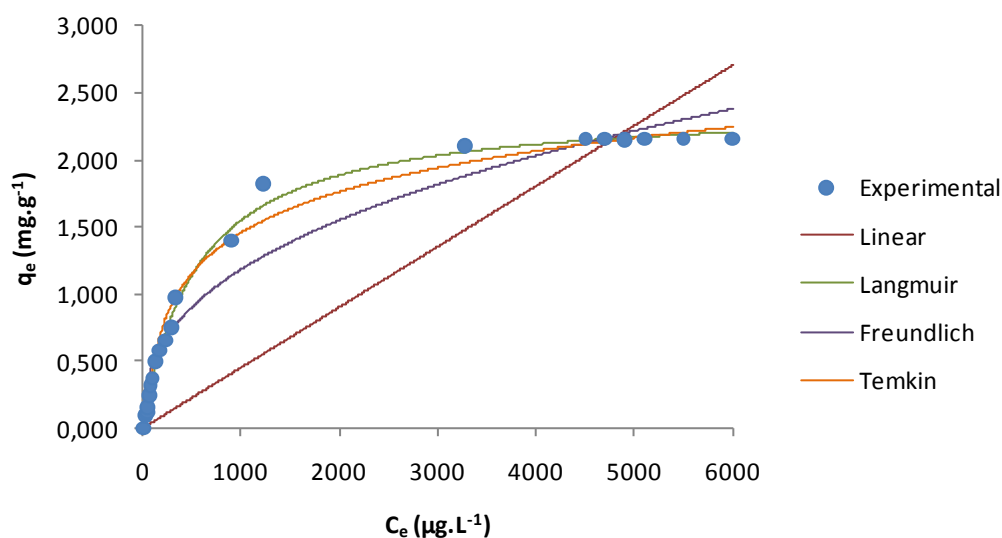


Figura 74. Comparação entre as isotérmicas de adsorção ($T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, $\text{pH} = 6,50$; 120 rpm, tempo de contacto = 12 horas).

Tabela 32. Parâmetros das isotérmicas Linear, Langmuir, Freundlich e Temkin ($d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, $\text{pH} = 6,50$; 120 rpm, tempo de contacto = 12 horas).

	Parâmetros	10 °C	20 °C	30 °C
Isotérmica Linear	$K_d\text{ (L.g}^{-1}\text{)}$	$0,66 \pm 0,08$	$0,64 \pm 0,07$	$0,45 \pm 0,04$
	R^2	0,743	0,752	0,828
	DP (%)	65,6	66,0	69,0
Isotérmica de Langmuir	$q_{\text{max}}\text{ (mg.g}^{-1}\text{)}$	$3,05 \pm 0,09$	$3,35 \pm 0,06$	$2,41 \pm 0,03$
	$K_L\text{ (L. mg}^{-1}\text{)}$	$2,7 \pm 0,4$	$2,2 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,1$
	R^2	0,978	0,994	0,996
	DP (%)	21,6	15,1	17,1
Isotérmica de Freundlich	$K_f\text{ (L.g}^{-1}\text{)}^{(1/n)}$	$1,86 \pm 0,07$	$1,90 \pm 0,08$	$1,18 \pm 0,06$
	n	$3,4 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,3$	$2,6 \pm 0,2$
	R^2	0,961	0,960	0,954
	DP (%)	22,0	23,4	85,3
Isotérmica de Temkin	$A\text{ (L.mg}^{-1}\text{)}$	61 ± 13	39 ± 6	28 ± 2
	$b \times 10^3\text{ (J.g.mol}^{-1}\text{.mg}^{-1}\text{)}$	$4,7 \pm 0,2$	$4,2 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,2$
	R^2	0,977	0,984	0,986
	DP (%)	14,5	16,7	48,0

Putra *et al.* (2009) estudaram as isotérmicas de equilíbrio para a adsorção da amoxicilina em carvão activado e bentonite, tendo verificado que os resultados eram bem descritos quer pelo modelo de Langmuir, quer de Freundlich. Mais uma vez, esta conclusão vem confirmar os resultados obtidos neste estudo. No seu estudo, estes autores verificaram que a capacidade máxima do carvão

activado rondava os 200 mg.g⁻¹, enquanto para a bentonite o valor era inferior, cerca de 50 mg.g⁻¹. Qualquer um dos resultados obtidos por este autor é bastante superior ao determinado neste estudo, demonstrando que a capacidade de adsorção do carvão activado ou da bentonite serão superiores à da casca de amêndoa carbonizada. Porém, para além da capacidade de adsorção é necessário ter em conta o custo do material adsorvente e o tempo de contacto.

3.3.2.5. Estudo dos parâmetros termodinâmicos

Com o intuito de confirmar a natureza do processo de adsorção foram determinados os parâmetros termodinâmicos – entropia (ΔS^0), entalpia (ΔH^0) e energia livre de Gibbs (ΔG^0) – e a energia de activação do processo de adsorção (E_a).

Segundo os resultados obtidos anteriormente, o modelo de pseudo-segunda ordem é aquele que melhor prevê o comportamento deste sistema. Por esta razão, a energia de activação foi determinada a partir da relação entre a constante cinética de pseudo-segunda ordem e a temperatura (Eq. 41). É importante salientar que apenas se consideraram as constantes cinéticas entre 10 e 30 °C, uma vez que se verificou degradação da amoxicilina a temperaturas superiores. Os parâmetros termodinâmicos foram determinados, considerando que a constante de equilíbrio de Langmuir é equivalente a q_e/C_e . Na Tabela 33 encontram-se resumidos os resultados obtidos para este sistema.

Tabela 33. Parâmetros termodinâmicos para a adsorção de amoxicilina em cascas de amêndoa carbonizada.

T (°C)	E_a (kJ.mol ⁻¹)	Parâmetros Termodinâmicos		
		ΔG^0 (kJ.mol ⁻¹)	ΔH^0 (kJ.mol ⁻¹)	ΔS^0 (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)
10		-20,7		
20	-23,8	-21,0	-14,3	22,7
30		-21,2		

A variação da entalpia é negativa, indicando que o processo é exotérmico. Este facto já tinha sido verificado aquando do estudo da cinética do processo a diferentes temperaturas. O valor negativo da energia livre de Gibbs sugere que a adsorção da amoxicilina na casca carbonizada de amêndoa é um processo espontâneo, enquanto o valor positivo de entropia indica um aumento na desordem na interface sólido-líquido durante o processo de adsorção.

Embora os resultados obtidos até ao momento indiquem que a adsorção química é a etapa controlante, os resultados termodinâmicos sugerem que a adsorção física seja a principal etapa deste processo (E_a : 5-40 kJ.mol⁻¹ e ΔH^0 <40 kJ.mol⁻¹) (Hameed, 2007; Hameed *et al.*, 2007; Abramian e El-Rassy, 2009).

Na literatura, tanto quanto é do conhecimento da autora, não existe nenhum estudo termodinâmico para sistemas que envolvessem o estudo da adsorção da amoxicilina. Porém existem estudos de adsorção com outros compostos orgânicos que avaliam estes parâmetros. Abramian e El-Rassy (2009) obtiveram estes parâmetros termodinâmicos para a adsorção de um corante num aerogel de titânio ($\Delta S^0 = -58 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$, $\Delta H^0 = -16,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $\Delta G^0 (303 \text{ K}) = 1,2 \text{ kJ.mol}^{-1}$), enquanto Hameed *et al.* (2007) avaliaram a adsorção de um corante ácido em carvão activado produzido a partir de palma ($\Delta S^0 = 78 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$, $\Delta H^0 = 26,6 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $\Delta G^0 (303 \text{ K}) = -0,9 \text{ kJ.mol}^{-1}$) e Hameed (2007) estudou a adsorção de 2,4,6-triclorofenol em argilas activadas ($\Delta S^0 = -26 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$, $\Delta H^0 = -9,4 \text{ kJ.mol}^{-1}$, $\Delta G^0 (303 \text{ K}) = -1,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$). Comparando estes resultados com os obtidos neste estudo verificou-se que a espontaneidade e a dependência com a temperatura do processo de adsorção está relacionada com o sistema analito - material adsorvente.

3.3.2.6. Estudo de dessorção

Foram efectuados ensaios de dessorção com água de modo a estimar a capacidade de libertação da amoxicilina das cascas de amêndoas carbonizadas. As eficiências de adsorção e dessorção foram comparadas na Figura 75.

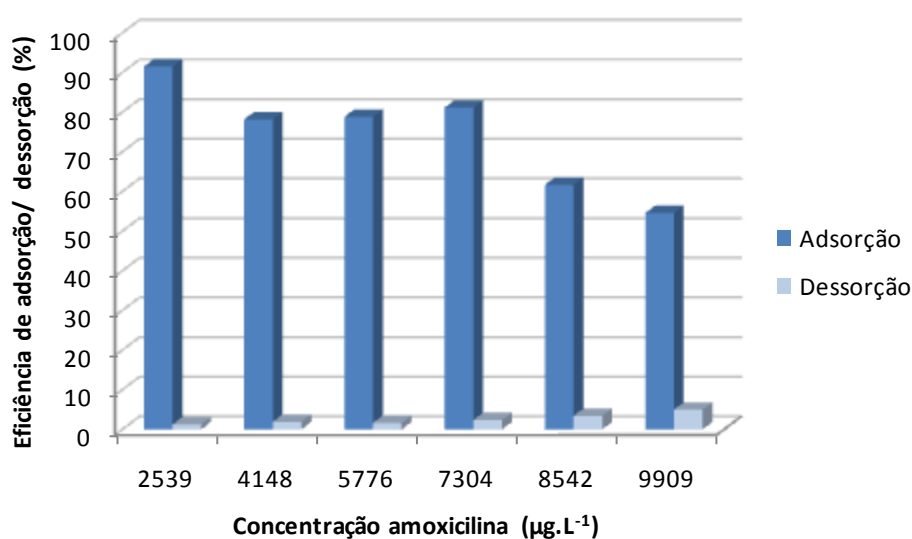


Figura 75. Comparação entre adsorção e dessorção (50 mg adsorvente, $T = 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 6,50$, $d_p = 600 \text{ }\mu\text{m}$, 120 rpm, tempo de contacto = 12 horas).

Enquanto a eficiência de adsorção aumenta na generalidade com a diminuição da concentração inicial, a tendência inversa é observada na dessorção. Este facto sugere que, quando a casca carbonizada está saturada, a amoxicilina é mais facilmente dessorvida. É importante ressaltar que a eficiência de dessorção é bastante baixa (valor máximo de 5%), podendo indicar uma interacção

irreversível entre a amoxicilina e a superfície da casca carbonizada. Esta interacção irreversível entre a casca carbonizada e a amoxicilina sugerem a existência de adsorção química.

3.3.2.6.1. Comparação da adsorção da amoxicilina em diferentes materiais

Depois de avaliar as condições que influenciam o processo de adsorção da amoxicilina pela casca de amêndoa carbonizada, pretendeu-se estudar os mecanismos envolvidos quando se utilizam outros materiais, de forma a perceber com que extensão as diferenças morfológicas e/ou químicas da superfície condicionam os fenómenos envolvidos. Para este estudo mantiveram-se as mesmas condições operatórias ($T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 6,5$, massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, 120 rpm) e comparou-se a remoção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada com casca natural e carvão activado granular comercial Darco[®] 420-850 μm . As principais especificações deste carvão encontram-se na Tabela 34.

Tabela 34. Principais especificações do carvão activado granular.

Características		
Distribuição do tamanho de partículas	$d_p > 850\text{ }\mu\text{m}$	máx. 10%
	$d_p < 420\text{ }\mu\text{m}$	máx. 5%
Número de iodo (mg.g^{-1})	625	
pH (extracto em água)	4,6	
Densidade aparente (g.cm^{-3})	0,40	
Área superficial ($\text{m}^2.\text{g}^{-1}$)	650	
Volume total de poros ($\text{cm}^3.\text{g}^{-1}$)	0,95	
Diâmetro médio das partículas (μm)	700	

O modelo cinético de pseudo-segunda ordem foi aplicado aos pontos experimentais e os resultados encontram-se na Figura 76 e na Tabela 35.

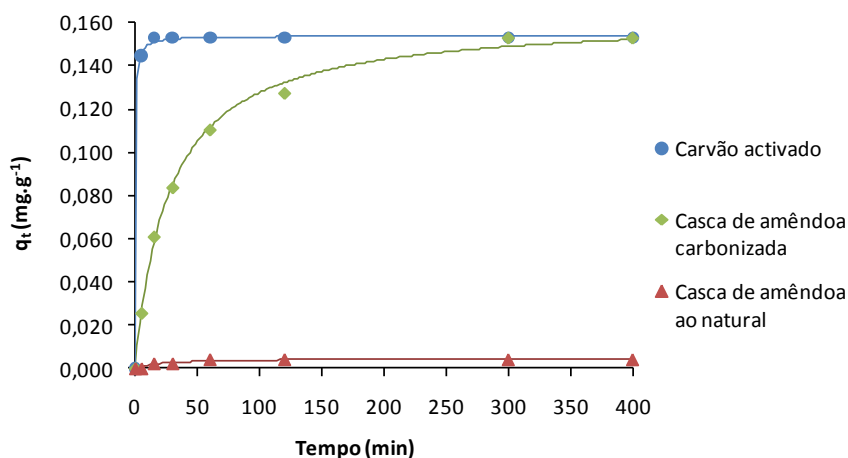


Figura 76. Estudo da aplicabilidade de diferentes materiais ao processo de adsorção (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, $d_p = 600\text{ }\mu\text{m}$, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 120 rpm).

Tabela 35. Parâmetros obtidos para o modelo de pseudo-segunda ordem em diferentes materiais (massa de adsorvente = 50 mg, concentração amoxicilina = 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$, $T = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Ensaio	Pseudo-segunda ordem						
	$q_{e, \text{exp}}$ (mg.g^{-1})	Remoção (%)	$q_{e, \text{calc}}$ (mg.g^{-1})	k_2 ($\text{g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	H ($\text{mg.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	R^2	DP (%)
Carvão activado	0,153	100	$0,154 \pm 0,001$	$22,36 \pm 3,40$	$0,5290 \pm 0,0811$	0,999	0,6
Casca carbonizada	0,153	100	$0,163 \pm 0,003$	$0,22 \pm 0,02$	$0,0059 \pm 0,0005$	0,997	3,1
Casca ao natural	0,004	2,7	$0,005 \pm 0,001$	$8,93 \pm 4,14$	$0,0002 \pm 0,0001$	0,926	12,2

A partir dos parâmetros obtidos verificou-se que o carvão activado e a casca de amêndoa carbonizada foram eficazes na remoção da amoxicilina presente em solução, embora a velocidade da reacção seja bastante superior para o carvão activado (cerca de 100 vezes superior). Os resultados obtidos por Putra *et al.* (2009) corroboram esta situação ($C_0 = 300\text{ mg.L}^{-1}$, 3,5 g adsorvente, $k_2 = 144\text{ g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$).

Para além disso, este aspecto está coerente com a morfologia destes materiais. O carvão activado apresenta uma área superficial de $650\text{ m}^2.\text{g}^{-1}$, bastante superior à da casca de amêndoa ao natural ($20\text{ m}^2.\text{g}^{-1}$) e à casca de amêndoa carbonizada ($450\text{ m}^2.\text{g}^{-1}$), tendo por isso um maior número de centros activos disponíveis. Tal como indicado pelos ensaios preliminares, a casca de amêndoa ao natural apenas removeu cerca de 2,7 % da amoxicilina.

3.3.3. Ensaios de adsorção em coluna de leito fixo

Os resultados obtidos sobre a adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada em sistema *batch* são bastante úteis para a modelização do processo, mas não fornecem toda a informação necessária para se poder efectuar um *scale-up* do processo para sistemas contínuos. Torna-se assim necessário desenvolver ensaios à escala laboratorial que permitam efectuar o correcto dimensionamento dos sistemas contínuos.

Alguns dos resultados apresentados nesta secção foram obtidos conjuntamente com um aluno de Mestrado do DEQ/FEUP, tendo sido, por isso, apresentados anteriormente na sua tese intitulada “Remoção de amoxicilina de matrizes aquosas por adsorção em leito fixo com casca de amêndoa carbonizada” (Silva, 2009).

3.3.3.1. Efeito da concentração do analito

O efeito da concentração inicial de analito na adsorção em leito fixo foi estudado através de uma série de experiências conduzidas entre 250 e 10000 $\mu\text{g.L}^{-1}$ numa coluna de 2 cm de diâmetro, a um caudal de 12 mL.min^{-1} e com um leito de 4 cm (Figura 77). Na Tabela 36 encontram-se resumidos os seguintes parâmetros experimentais: tempo de ruptura (t_b), volume de ruptura (V_b), tempo de exaustão (t_e), volume de efluente tratado (V_{ef}), quantidade de amoxicilina adsorvida na coluna (q_{tot}), eficiência de remoção e capacidade de adsorção da coluna (q_e).

O tempo de ruptura corresponde ao ponto em que o adsorbato surge na corrente de saída da coluna com uma concentração pré-determinada e o tempo de exaustão ao tempo necessário para que a coluna atinja 95% da sua capacidade máxima. Neste trabalho, o tempo de *breakthrough* foi definido como sendo igual ao limite de quantificação da metodologia analítica aplicada (23 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Atendendo a que para alguns ensaios não ocorreu saturação do leito, optou-se por estudar o comportamento de adsorção em coluna de leito fixo após 1000 min.

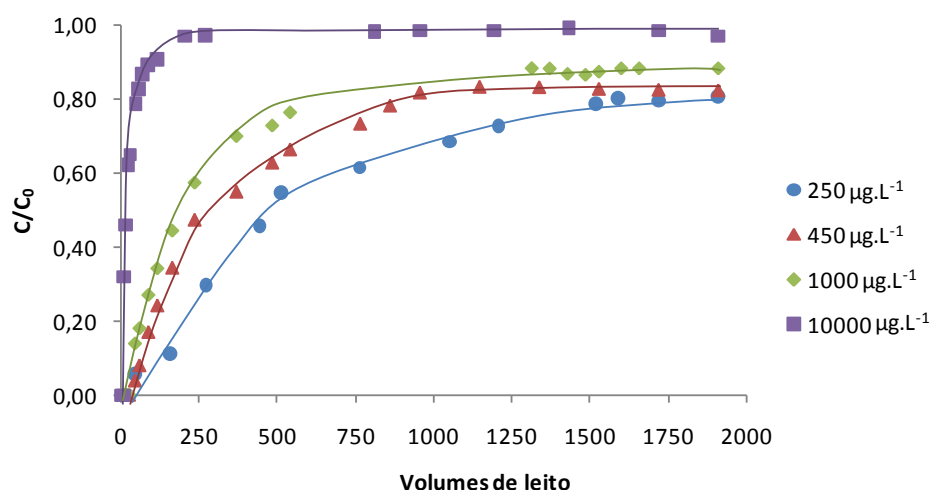


Figura 77. Curvas de ruptura para diferentes concentrações iniciais de amoxicilina ($D_{\text{coluna}} = 2 \text{ cm}$, $L = 4 \text{ cm}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).

Tabela 36. Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada para diferentes concentrações de alimentação ($L = 4 \text{ cm}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).

C_0 ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	t_b (min)	V_b (mL)	t_e (min)	V_{ef} (L)	q_{tot} (mg)	Remoção (%)	q_e (mg.g^{-1})
250 ^(a)	91,3	1095	^(b)	12	2,13	61,3	0,29
450 ^(a)	49,6	595	^(b)		2,39	44,2	0,33
1000 ^(a)	27,9	335	^(b)		4,68	34,4	0,65
10000	10,0	120	259		9,63	7,5	1,42

^(a) Não ocorreu a saturação do leito. Em todas as experiências os parâmetros foram determinados para $t = 1000 \text{ min}$.

^(b) A experiência terminou antes de se atingir a exaustão ($C/C_0 = 0,95$)

Aumentando a concentração inicial de amoxicilina assinalaram-se acentuadas diminuições no tempo de ruptura (ou *breakthrough*). Por exemplo, para uma concentração de $250 \mu\text{g.L}^{-1}$ são necessários 91 minutos para se atingir o tempo de ruptura, enquanto para a concentração de $10000 \mu\text{g.L}^{-1}$ apenas são necessários 10 minutos (Tabela 36).

Para os valores de concentração inicial de amoxicilina mais baixos, o aumento da concentração adimensional ocorreu mais lentamente, apresentando a curva uma forma mais dispersa. No entanto, quando a concentração inicial aumentou as curvas de ruptura possuíam uma forma bastante mais definida com um declive mais acentuado. Esta situação pode ser explicada devido ao facto de concentrações inferiores conduzirem a uma força motriz também inferior, causando um aumento significativo do comprimento da zona de transferência de massa e uma diminuição nos coeficientes de difusão e de transferência de massa (Baral *et al.*, 2009; Ahmad e Hameed, 2010).

Tal como esperado, a quantidade total de amoxicilina adsorvida pelo leito e, consequentemente, a percentagem removida, também foram afectadas pela alteração da concentração na alimentação. Um aumento na concentração inicial da amoxicilina resultou num aumento da quantidade removida, bem como da capacidade de adsorção da coluna (q_e). Este facto estará relacionado com o aumento da força motriz do processo favorecer a adsorção. É importante salientar que o aumento na concentração conduz à existência de uma maior quantidade de soluto (por unidade de volume), o que pode provocar uma saturação mais rápida do material adsorvente (para o mesmo intervalo de tempo, a % remoção é máxima para concentrações mais baixas).

Estes resultados demonstram que uma alteração na concentração da amoxicilina na alimentação afectou a taxa de saturação, bem como os tempos de ruptura, indicando que os processos difusivos que ocorrem durante a adsorção dependem da concentração de analito.

3.3.3.2. Efeito da altura do leito

O efeito da altura do leito da coluna de adsorção foi estudado através de experiências realizadas com leitos de 2, 4 e 6 cm de altura numa coluna de 2 cm de diâmetro alimentada a um caudal de 12 mL.min^{-1} com uma solução de amoxicilina $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 78 e Tabela 37).

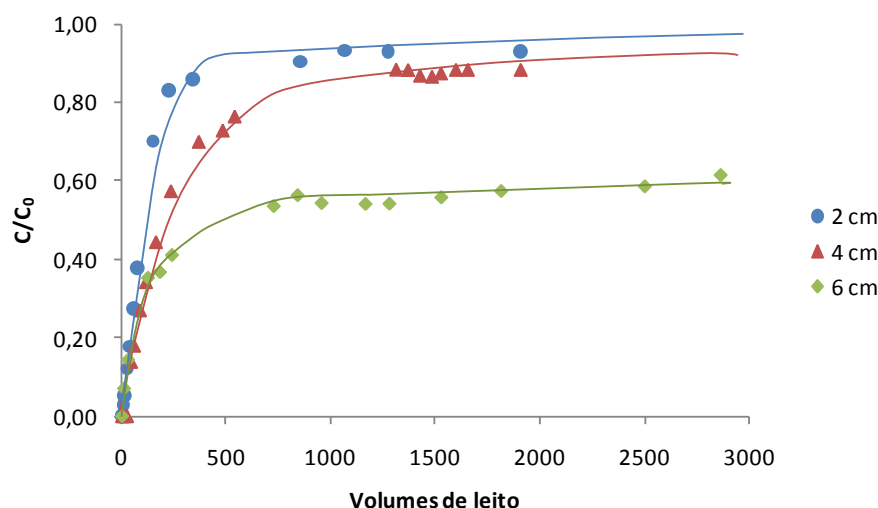


Figura 78. Curvas de ruptura para diferentes alturas de leito ($D_{\text{coluna}} = 2$ cm, concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).

Tabela 37. Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada para diferentes concentrações de alimentação (concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).

L (cm)	t_b (min)	V_b (mL)	t_e (min)	V_{ef} (L)	q_{tot} (mg)	Remoção (%)	q_e (mg.g^{-1})
2 ^(a)	3,9	47	^(b)		1,93	14,2	0,53
4 ^(a)	27,9	335	^(b)	12	4,68	34,4	0,65
6 ^(a)	43,3	520	^(b)		9,14	67,2	0,83

^(a) Não ocorreu a saturação do leito. Em todas as experiências os parâmetros foram determinados para $t = 1000$ min.

^(b) A experiência terminou antes de se atingir a exaustão ($C/C_0 = 0,95$)

Como se pode verificar na Tabela 37, um aumento da altura do leito teve como consequência um aumento do tempo necessário para atingir o *breakthrough*. Isto dever-se-á, por uma lado à maior área superficial disponível para adsorção (maior massa de adsorvente), mas também a uma maior tempo de contacto entre a amoxicilina e a casca de amêndoa (Ahmad e Hameed, 2010). Como consequência desta situação, a quantidade total adsorvida no leito foi superior para os leitos mais altos. Verifica-se também um aumento na capacidade de adsorção da coluna de $0,53 \text{ mg.g}^{-1}$ para $0,83 \text{ mg.g}^{-1}$, bem como um aumento na % remoção (14,2% para 67,2%) com o aumento do leito de 2 para 6 cm.

3.3.3.3. Efeito do caudal de efluente

Neste trabalho também foi estudada a influência do caudal de alimentação. Para tal realizaram-se ensaios com caudais de 6 mL.min^{-1} e 12 mL.min^{-1} , mantendo todos os outros parâmetros constantes

($D_{\text{coluna}} = 2$ cm, concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $L = 4$ cm). Os resultados obtidos encontram-se na Figura 79 e Tabela 38.

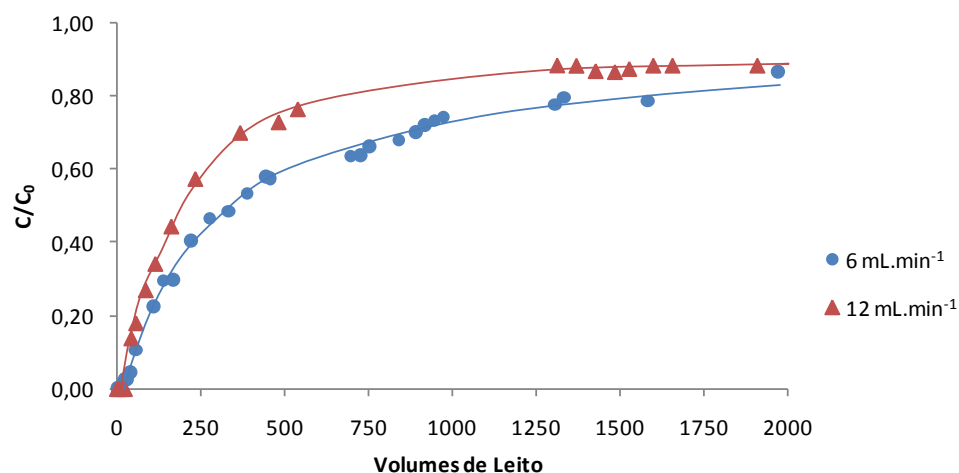


Figura 79. Curvas de ruptura para diferentes caudais ($D_{\text{coluna}} = 2$ cm, concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $L = 4$ cm).

Tabela 38. Adsorção da amoxicilina em casca de amêndoa carbonizada para diferentes concentrações de alimentação (concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).

Q (mL.min^{-1})	t_b (min)	V_b (mL)	t_e (min)	V_{ef} (L)	q_{tot} (mg)	Remoção (%)	q_e (mg.g^{-1})
6 ^(a)	39,9	239	^(b)	6	4,33	63,6	0,60
12 ^(a)	27,9	335	^(b)	12	4,68	34,4	0,65

^(a) Não ocorreu a saturação do leito. Em todas as experiências os parâmetros foram determinados para $t = 1000$ min.

^(b) A experiência terminou antes de se atingir a exaustão ($C/C_0 = 0,95$)

Neste estudo observou-se que com um aumento no caudal o declive das curvas de ruptura aumentava, diminuindo o tempo necessário para se atingir o *breakthrough*. A um caudal mais elevado, a taxa de transferência de massa aumenta, conduzindo a uma rápida saturação do material adsorvente. A quantidade de amoxicilina removida não foi significativamente diferente para os caudais estudados. Já a percentagem de remoção da coluna aumentou de 34,4% para 63,6% com a diminuição do caudal. Este comportamento poderá ser explicado pelo tempo de residência do soluto na coluna ser insuficiente quando se utilizam elevados caudais e por poderem ocorrer limitações difusionais ao nível dos poros do adsorvente, que impedem o estabelecimento do equilíbrio. É no entanto importante ter em conta que a utilização de baixos caudais resulta em tempos de tratamento mais longos.

3.3.3.4. Efeito do diâmetro da coluna

Para completar este estudo ainda se realizaram ensaios com diâmetros distintos de coluna (1 cm e 2 cm). Porém, surgiram alguns obstáculos na realização dos ensaios com a coluna de menor

diâmetro, nomeadamente problemas no empacotamento do leito e em manter o caudal constante. Durante as experiências surgiram bolhas de ar no leito, que acabaram por criar caminhos preferenciais e também dificultar a passagem do efluente. Por outro lado, devido ao estreito diâmetro da coluna e ao deficiente empacotamento do leito ocorreram flutuações no caudal, mesmo quando se utilizou uma bomba de vácuo para tentar solucionar este problema. Os resultados provenientes destas experiências não permitiram retirar conclusões, uma vez que a concentração adimensional sofreu graves flutuações com o tempo. Seria no entanto de prever que diminuindo o diâmetro da coluna, ocorreria uma diminuição na dispersão axial. Esta alteração deveria conduzir a curvas de ruptura com um declive mais pronunciado e por isso, a quantidade total removida deveria ser inferior à da coluna com um maior diâmetro.

3.3.3.5. Modelização dos resultados de adsorção em leito fixo

A adsorção da amoxicilina em leito fixo de casca de amêndoa carbonizada foi analisada utilizando diferentes modelos: Bohart-Adams, *Bed Depth Service Time* (BDST), Thomas e Yoon-Nelson.

Os modelos foram ajustados aos dados experimentais, através de uma análise não linear (minimização dos quadrados dos resíduos utilizando a ferramenta *Solver* do *Microsoft Office Excel 2007* e posteriormente o *software Fig. P 2.98 da Biosoft*). Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 39.

Embora os coeficientes de determinação obtidos tenham sido elevados ($R^2 > 0,89$), verificaram-se desvios consideráveis entre as curvas experimentais e os pontos teóricos. Por outro lado, reparando nos resultados obtidos na Tabela 39 observa-se que para o mesmo ensaio, todos os modelos se ajustam da mesma forma. Na verdade, os modelos de Bohart-Adams, BDST, Thomas e Yoon-Nelson embora tenham parâmetros característicos diferentes, prevêem de um modo geral a mesma capacidade de remoção e as mesmas concentrações adimensionais para uma determinada experiência. Um exemplo desta situação encontra-se expresso na Figura 80.

Se nos debruçarmos sobre as equações que definem estes modelos, é possível verificar que todos eles podem ser expressos através da equação generalizada:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + \exp(k_1 - k_2 t)} \quad (\text{Eq. 93})$$

$$\text{Em que } k_1 = \frac{k_{BA} N_0 L}{u} = t_{0,5} k_{YN} = \frac{k_{Th} q_e m_{ads}}{Q} \text{ e } k_2 = k_{BA} C_0 = k_{YN} = k_{Th} C_0$$

Esta situação já tinha sido mencionada no estudo realizado por Baral *et al.* (2009).

Independentemente desta situação, os parâmetros característicos de cada modelo foram determinados e comparados. O modelo de Bohart-Adams normalmente só prevê satisfatoriamente o comportamento das curvas de ruptura para valores de $C/C_0 < 0,15$. No entanto a modelização foi efectuada com todos os pontos experimentais.

Tabela 39. Valores previstos para os parâmetros dos modelos de Bohart-Adams, BDST, Thomas e Yoon-Nelson aplicando um ajuste não linear.

Modelo de Bohart-Adams					Modelo BDST			
Parâmetros	N_0 (mg.L ⁻¹)	k_{BA} (L.mg. ⁻¹ .h ⁻¹)	R^2	DP (%)	N_0 (mg.L ⁻¹)	k_{BDST} (L.mg. ⁻¹ .h ⁻¹)	R^2	DP (%)
C_0 (µg.L ⁻¹)								
250	237 ± 32	0,49 ± 0,08	0,892	43,4	314 ± 32	0,32 ± 0,08	0,892	43,4
450	208 ± 34	0,57 ± 0,07	0,911	70,4	195 ± 21	0,56 ± 0,07	0,911	70,4
1000	314 ± 36	0,39 ± 0,07	0,946	15,6	295 ± 34	0,39 ± 0,07	0,946	15,6
10000	239 ± 28	0,62 ± 0,09	0,947	14,7	235 ± 27	0,61 ± 0,09	0,947	14,7
L (cm)								
2	67 ± 10	2,22 ± 0,09	0,983	13,8	66 ± 9	2,22 ± 0,50	0,983	13,8
4	314 ± 36	0,39 ± 0,07	0,946	15,6	295 ± 34	0,39 ± 0,07	0,946	15,6
6	133 ± 13	0,70 ± 0,08	0,972	13,3	130 ± 13	0,80 ± 0,09	0,972	13,3
Q (mL.min ⁻¹)								
6	638 ± 45	0,09 ± 0,01	0,905	25,3	585 ± 44	0,09 ± 0,01	0,905	25,3
12	314 ± 36	0,39 ± 0,07	0,946	15,6	295 ± 34	0,39 ± 0,07	0,946	15,6

Modelo de Thomas					Modelo Yoon-Nelson			
Parâmetros	q_e (mg.g ⁻¹)	k_{Th} (L.mg. ⁻¹ .h ⁻¹)	R^2	DP (%)	$t_{0,5}$ (h ⁻¹)	k_{YN} (h ⁻¹)	R^2	DP (%)
C_0 (µg.L ⁻¹)								
250	0,38 ± 0,06	0,49 ± 0,08	0,892	43,4	13,4 ± 2,0	0,14 ± 0,02	0,892	43,4
450	0,34 ± 0,06	0,57 ± 0,07	0,911	70,4	7,6 ± 1,1	0,26 ± 0,07	0,911	70,4
1000	0,51 ± 0,06	0,39 ± 0,07	0,946	15,6	4,5 ± 0,5	0,44 ± 0,08	0,946	15,6
10000	0,44 ± 0,05	0,62 ± 0,09	0,947	14,7	0,4 ± 0,1	6,63 ± 0,04	0,947	14,7
L (cm)								
2	0,23 ± 0,09	2,22 ± 0,50	0,983	13,8	1,0 ± 0,3	2,50 ± 0,80	0,983	13,8
4	0,51 ± 0,06	0,39 ± 0,07	0,946	15,6	4,5 ± 0,5	0,44 ± 0,08	0,946	15,6
6	0,80 ± 0,09	0,22 ± 0,02	0,972	13,3	3,0 ± 0,3	0,90 ± 0,20	0,972	13,3
Q (mL.min ⁻¹)								
6	1,09 ± 0,08	0,09 ± 0,01	0,905	25,3	1,7 ± 0,8	0,10 ± 0,01	0,905	25,3
12	0,51 ± 0,06	0,39 ± 0,07	0,946	15,6	4,5 ± 0,5	0,44 ± 0,08	0,946	15,6

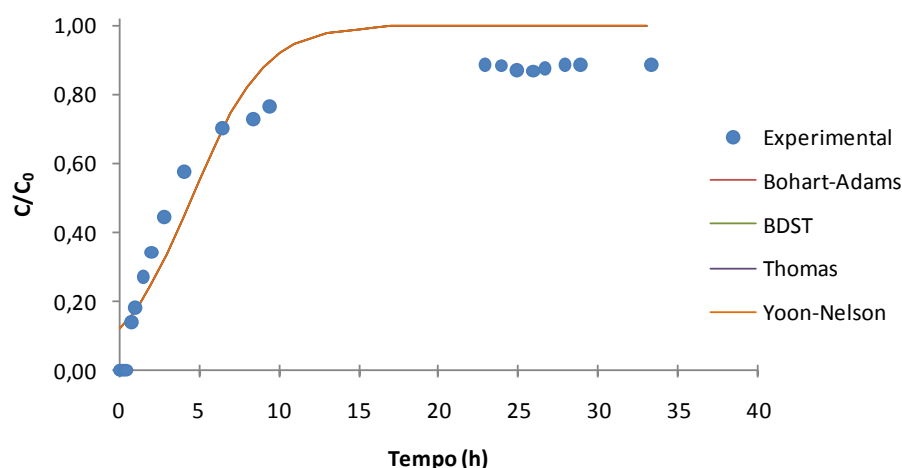


Figura 80. Comparação entre a curva de ruptura da amoxicilina em leito de casca de amêndoa carbonizada e os modelos teóricos aplicados ($D_{\text{coluna}} = 2 \text{ cm}$, concentração amoxicilina = $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$, $L = 4 \text{ cm}$ e $Q = 12 \text{ mL.min}^{-1}$).

Para o modelo de Bohart-Adams e BDST verificou-se que um aumento da concentração do analito não resultou numa alteração significativa da capacidade de adsorção (tendo em conta os erros associados). Já para a variação da altura do leito não se verificou uma tendência na capacidade de adsorção nos dois modelos. Nestas duas situações a constante cinética parece aumentar com o aumento da concentração de analito na alimentação e com a diminuição da altura do leito. Tal pode ser explicado pelo aumento da força motriz, no primeiro caso e pelo menor tempo de contacto entre adsorbato e adsorvente no segundo caso. Quanto à influência do caudal, observou-se que a capacidade de adsorção aumenta com a diminuição do caudal e que a constante cinética diminui. Esta situação indicia que a cinética global do sistema é dominado pela transferência de massa externa.

No modelo de Thomas um aumento na concentração conduz a um aumento na quantidade máxima removida pela coluna, mas a constante de velocidade de Thomas não é significativamente alterada. Já um aumento na altura do leito conduz a um aumento da quantidade removida pela coluna e uma diminuição na constante cinética. Relativamente à alteração dos caudais verificou-se que uma diminuição no caudal conduzia a um aumento na quantidade adsorvida, mas uma diminuição na constante cinética.

Finalmente, para o modelo de Yoon-Nelson observou-se que a constante cinética aumentava com um aumento na concentração inicial, diminuição da altura do leito e aumento do caudal. Tal como esperado, o tempo necessário para atingir 50% do *breakthrough* aumentou com a diminuição dos níveis de concentração inicial e com o aumento da altura do leito. Inesperadamente, nas experiências realizadas este tempo aumentou com o aumento do caudal.

Assim, a capacidade de adsorção da coluna é favorecida por caudais mais baixos, alturas de leito mais elevadas e na gama estudada não parece ser significativamente alterada pela concentração inicial (usualmente concentrações de entrada mais baixas conduzem a capacidades de adsorção mais elevadas).

Para além destes modelos pensou-se avaliar os parâmetros de *design* da coluna utilizando a teoria baseada na zona de transferência de massa (Eq. 59-64). Porém, o cálculo desses parâmetros baseia-se no volume ou tempo de exaustão da coluna, tempo esse que não foi atingido na maioria dos ensaios laboratoriais. Por esta razão não foi possível calcular a altura equivalente à zona de transferência de massa para cada um dos ensaios. Como se pode observar nas Figuras 77 a 79 só a curva traçada com a concentração mais alta de amoxicilina, obteve concentrações à saída muito próximas da concentração de alimentação (ou seja C/C_0 próximo da unidade). Para todas as outras experiências as concentrações adimensionais à saída eram bastante mais baixas, mesmo para aquelas que decorreram durante longos períodos de tempo. Logo, as experiências teriam sido interrompidas antes de se atingir efectivamente a saturação do leito. No entanto, a formação de uma espécie de patamar em algumas curvas de ruptura (concentração adimensional constante ao longo do tempo) levam a suspeitar de que a amoxicilina poderá ter sofrido degradação ao longo dos ensaios, nomeadamente naqueles em que permaneceu maior tempo em contacto com a casca de amêndoa carbonizada. De facto, durante a análise em HPLC de algumas amostras verificou-se a existência de picos desconhecidos que podem estar relacionados com a hidrólise da amoxicilina.

Para as concentrações iniciais estudadas, bem como caudal e altura do leito, foram traçadas curvas de ruptura teóricas obtidas a partir dos dados das isotérmicas (sistema *batch*). Os resultados encontram-se na Figura 81. Como se pode verificar, as curvas teóricas possuem uma forma “típica” das curvas de ruptura (forma em S). Este comportamento discrepante das curvas experimentais pode indicar a existência de um processo de adsorção irreversível em que a difusão nos poros constitui o passo controlante (McCabe *et al.*, 1985). Pensa-se que também seja possível que a forma da curva possa estar relacionada com a existência de dispersão axial no sistema.

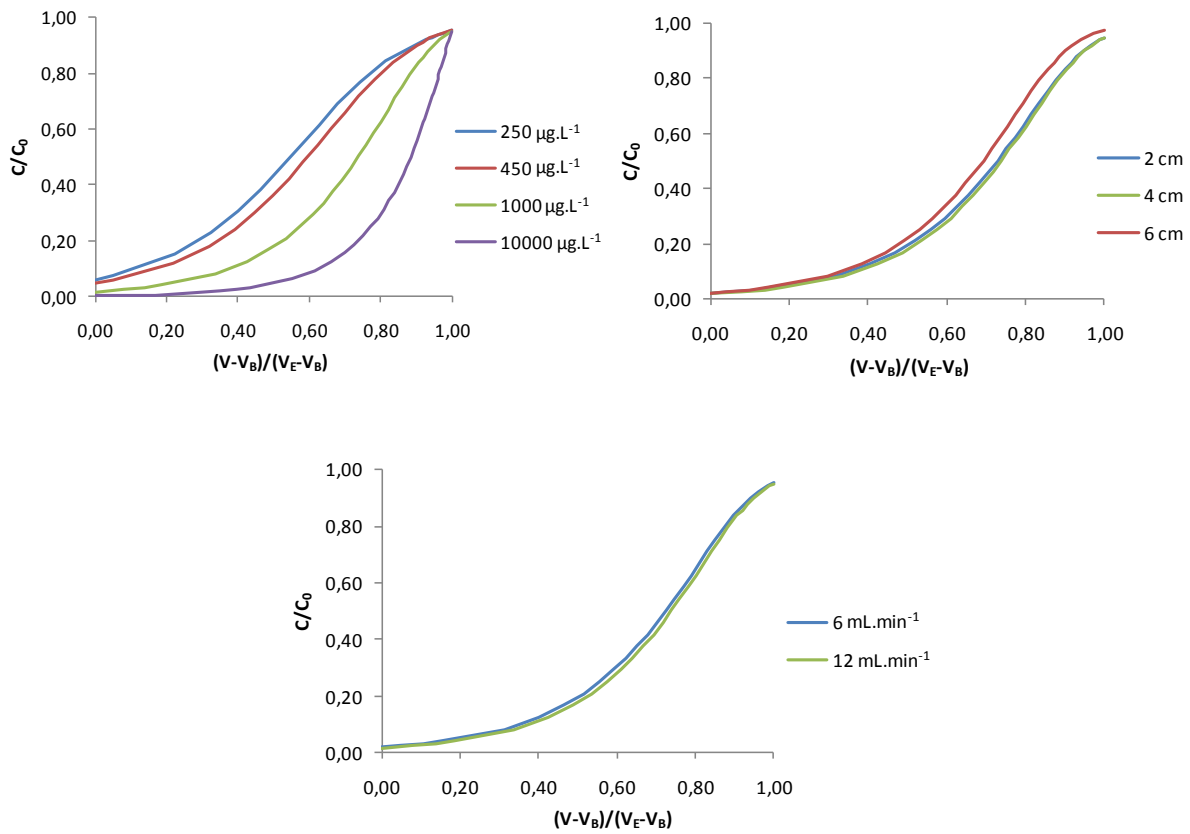


Figura 81. Curvas teóricas de ruptura para as diferentes condições testadas.

3.4. Estudos de Oxidação

3.4.1. Processo de Fenton

No processo de Fenton a produção de radicais hidroxilo depende de vários factores. A influência desses factores na resposta do processo será avaliada, numa primeira aproximação, por uma metodologia tradicional (considerar o efeito de cada variável independentemente, mantendo todas as outras constantes) e posteriormente por uma análise multivariada (desenho experimental).

3.4.1.1. Estudo das principais variáveis do processo

No processo de Fenton, a produção de radicais hidroxilo depende de vários factores tais como pH, concentração de peróxido de hidrogénio, de iões ferro (Fe^{2+}) e de analito, temperatura e tempo de tratamento. Estas foram as variáveis estudadas neste trabalho.

O grau de degradação da amoxicilina nas várias amostras foi avaliado através de análises em HPLC-DAD, mas não foi possível avaliar o seu grau de mineralização (% remoção de carbono orgânico total). Como nestes ensaios foram utilizadas baixas concentrações de amoxicilina ($< 450 \mu\text{g.L}^{-1}$), também a concentração inicial de carbono total é baixa (inferior a $0,27 \text{ mg.L}^{-1}$), não sendo possível efectuar-se determinações deste parâmetro devido ao elevado limite de detecção do equipamento de COT (limite de detecção = 1 mg.L^{-1}).

3.4.1.1.1. Efeito do pH

O valor de pH afecta a produção de radicais hidroxilo e, consequentemente, a eficiência de oxidação. Neste estudo, diferentes valores de pH foram testados na gama compreendida entre 2,9 e 6,5. A escolha desta gama de trabalho foi efectuada tendo em conta os valores de pK_a da molécula de amoxicilina. De modo a efectuar correctamente a quantificação da amoxicilina em HPLC-DAD foi necessário assegurar que em todas as amostras a injectar esta estava presente na mesma forma ($-\text{COO}^-/-\text{NH}_3^+$).

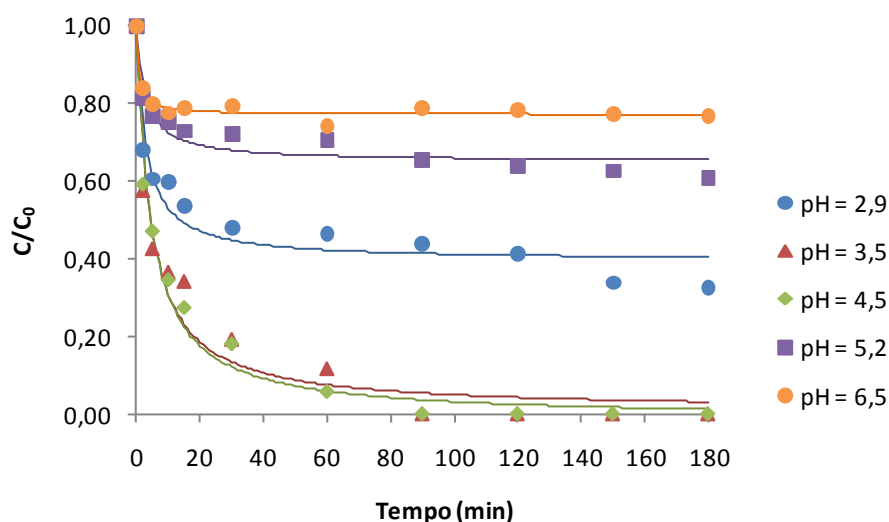


Figura 82. Efeito do pH na degradação da amoxicilina ($T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, concentração $\text{H}_2\text{O}_2 = 2,35\text{ mg.L}^{-1}$, concentração $\text{Fe}^{2+} = 95\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$).

As experiências mostraram que a máxima degradação foi atingida para valores de pH entre 3,5 e 4,5 (Figura 82), tal como mencionado na literatura (Oliveira *et al.*, 2006). Para valores de pH inferiores a 3, a reacção de Fenton é severamente afectada. O peróxido de hidrogénio é mais estável a valores de pH baixos devido à formação do ião oxónio (H_3O_2^+), que aumenta a estabilidade deste oxidante e provavelmente diminui drasticamente a sua reactividade com o ião Fe^{2+} (Elmolla e Chaudhuri, 2009 a, b). Por outro lado, a $\text{pH} = 1\text{-}2$ pode ocorrer uma inibição na formação dos radicais devido à actuação do ião H^+ como *scavenger* (Lucas e Peres, 2006).

Para valores de pH superiores a 4 ocorre a precipitação dos hidróxidos de ferro, inibindo quer a regeneração da espécie activa Fe^{2+} e a formação dos radicais hidroxilo (El-Desoky *et al.*, 2010). Por esta razão os ensaios subsequentes foram efectuados a $\text{pH} = 3,5$.

É importante salientar que em Portugal foi estabelecido um valor limite de emissão para este parâmetro na descarga de águas residuais. De acordo com o Decreto-Lei n.º 236/98, o nível de pH nas águas residuais deve estar contido na gama entre 6 e 9. Por isso, se o valor de pH do efluente tratado for inferior a 6 dever-se-á fazer uma alcalinização do meio. Tal como mencionado anteriormente, a valores de pH superiores a 4 ocorre precipitação de hidróxidos de ferro que poderão ter de ser removidos do efluente final.

Elmolla e Chaudhuri (2009a) também estudaram a degradação de três antibióticos presentes em solução aquosa, entre os quais a amoxicilina ($C_0 = 104\text{ mg.L}^{-1}$), através de um tratamento com reagente de Fenton. Neste processo os três compostos foram degradados conjuntamente e, por isso, a percentagem de degradação foi avaliada em termos de diminuição de CQO do efluente.

Os autores verificaram que o valor de pH é uma das condições operatórias críticas do processo. Tal como neste estudo, verificaram que a gama óptima de trabalho se situa entre $\text{pH} = 3$ e $\text{pH} = 4$ (60

min de reacção: 82-76% CQO removida do efluente). Para valores de pH inferiores a 3 a eficiência do processo foi drasticamente afectada (60 min de reacção: 49-58% CQO removida do efluente). Estes resultados vêm corroborar os obtidos neste trabalho.

3.4.1.1.2. Efeito da concentração do peróxido de hidrogénio

A quantidade de peróxido de hidrogénio é outro parâmetro que influencia o processo de Fenton. Os resultados presentes na Figura 83 demonstram que, na gama estudada, a degradação da amoxicilina é ligeiramente melhorada pelo aumento da concentração de 0,60 para 2,35 mg.L⁻¹. Na mesma figura é possível observar que para concentrações superiores, a percentagem de degradação permanece praticamente inalterada (a única diferença está no aumento da velocidade inicial da reacção para concentrações superiores de oxidante). Este facto já tinha sido mencionado na literatura por diversos autores. Com o aumento da concentração de H₂O₂ este oxidante pode promover um efeito inibitório, actuando como *scavenger* de radicais. Através dessa reacção formam-se outros radicais (HO₂^{*}), que possuem um potencial de oxidação bastante inferior aos dos radicais hidroxilo (Arslan-Alaton *et al.*, 2009).

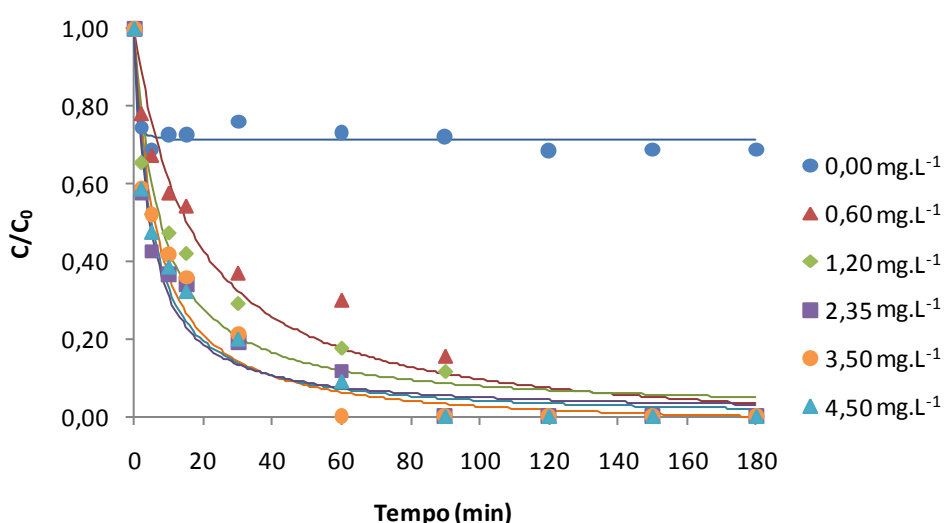


Figura 83. Efeito da concentração de peróxido de hidrogénio na degradação da amoxicilina (T = 40 °C, concentração amoxicilina = 450 µg.L⁻¹, concentração Fe²⁺ = 95 µg.L⁻¹, pH = 3,5).

Resultados similares foram observados por Elmolla e Chaudhuri (2009a) nos seus testes com amoxicilina. A degradação dos antibióticos (representada através da CQO) aumentou com o aumento da concentração de peróxido de hidrogénio até um determinado valor, a partir do qual não se verificou uma alteração significativa na percentagem de degradação.

3.4.1.1.3. Efeito da concentração do ião Fe²⁺

Neste trabalho, foi também estudada a influência da concentração dos iões Fe²⁺ (Figura 84).

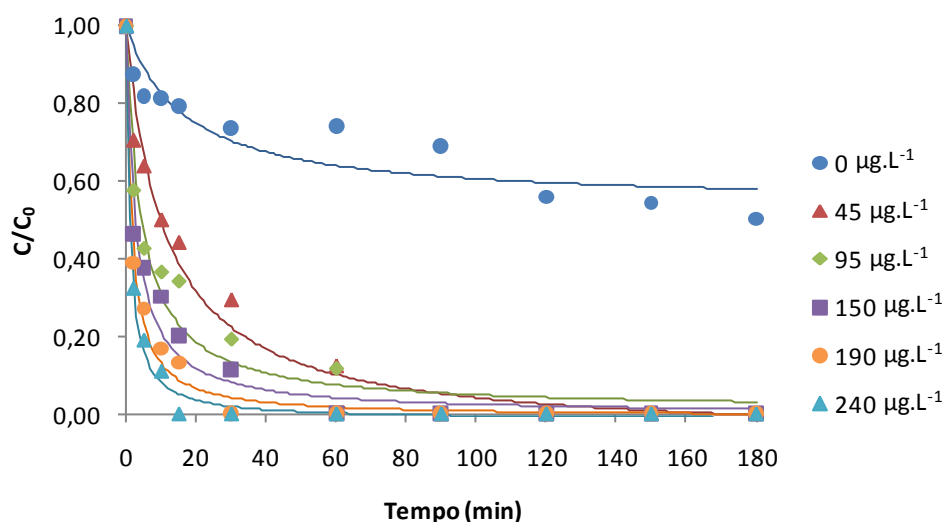


Figura 84. Efeito da concentração de íão Fe^{2+} na degradação da amoxicilina ($T = 40\text{ }^{\circ}C$, concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu g.L^{-1}$, concentração $H_2O_2 = 2,35\text{ mg.L}^{-1}$, $pH = 3,5$).

O íão Fe^{2+} actua na decomposição do peróxido de hidrogénio como um agente catalítico. Na gama estudada verificou-se que quando a concentração de Fe^{2+} aumenta, a taxa de degradação da amoxicilina é também ela aumentada. Para tempos de reacção superiores a 120 min, a degradação total da amoxicilina é atingida para qualquer concentração deste íão. É importante relembrar que em Portugal, de acordo com o Decreto-Lei n.º 236/98, os níveis de ferro nas águas residuais não pode exceder os 2 mg.L^{-1} . As concentrações estudadas encontram-se bastante longe deste valor.

Elmolla e Chaudhuri (2009a) obtiveram resultados um pouco diferentes, tendo verificado que o aumento da concentração de íões Fe^{2+} em solução até um determinado valor conduziu a um aumento da degradação (tempo de reacção = 60 min, degradação máxima em termos de CQO do efluente = 80%). No entanto, a partir dessa concentração a degradação foi severamente afectada (42% CQO removida).

3.4.1.1.4. Efeito da temperatura

Para avaliar o efeito da temperatura foram efectuados diversos ensaios ($T = 20\text{--}60\text{ }^{\circ}C$), estando os resultados presentes na Figura 85. De acordo com esta figura, a velocidade de degradação da amoxicilina aumenta com o aumento de temperatura. Este facto pode ser explicado pela lei de Arrhenius.

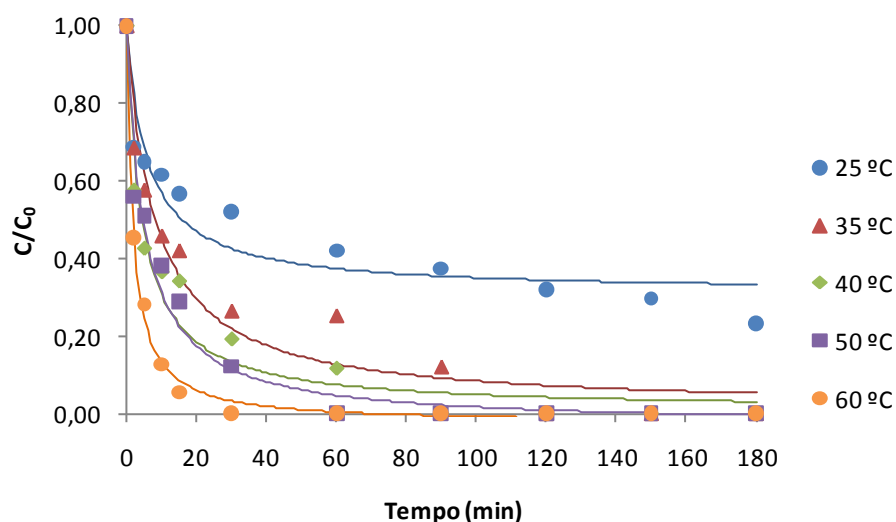


Figura 85. Efeito da temperatura na degradação da amoxicilina (concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, concentração $\text{H}_2\text{O}_2 = 2,35 \text{ mg.L}^{-1}$, concentração $\text{Fe}^{2+} = 95 \mu\text{g.L}^{-1}$, pH = 3,5).

A escolha de uma temperatura elevada de tratamento poderá obrigar a que seja efectuado um arrefecimento do efluente tratado antes de este ser descarregado para o meio ambiente (Decreto-Lei n.º 236/98: a temperatura do meio receptor após a descarga da água residual não deverá sofrer um aumento superior 3°C - medição a 30 m a jusante do ponto de descarga).

3.4.1.1.5. Efeito da concentração inicial de analito

O efeito da concentração inicial de analito na eficiência de degradação foi estudado para as razões molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{amoxicilina} = 56$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 41$. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 86. Após 180 min de reacção, no ensaio realizado com uma concentração inicial de $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, toda a amoxicilina já se encontrava degradada. Porém, nos ensaios realizados a $100, 150$ e $250 \mu\text{g.L}^{-1}$ apenas 51, 55 e 71% da amoxicilina tinha sofrido degradação. Portanto, um aumento na concentração inicial da amoxicilina conduz a um aumento na percentagem de degradação. Como é sabido, a eficiência da oxidação com reagente de Fenton depende da formação dos radicais hidroxilo. Contudo, ocorrem em menor extensão as reacções que conduzem ao *scavenger* de radicais se a concentração de substrato for superior (Tekin *et al.*, 2006). Resultados semelhantes foram obtidos por Elmolla e Chaudhuri (2009a).

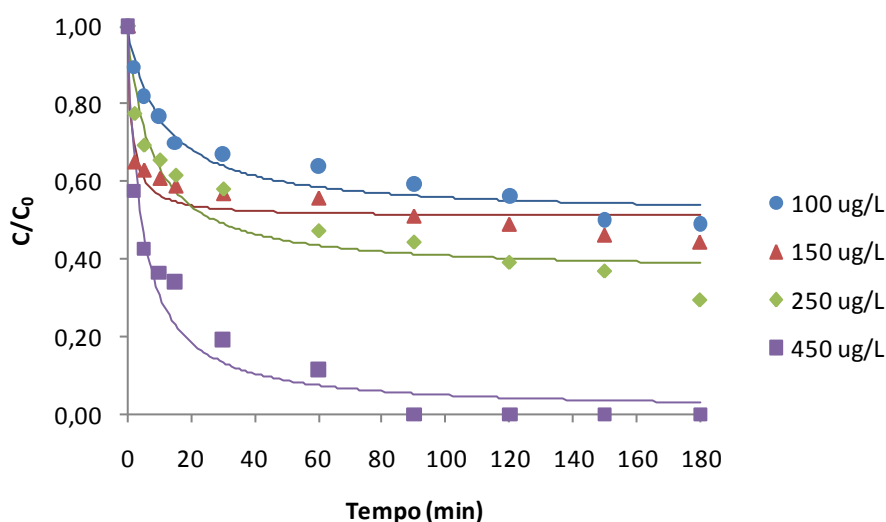


Figura 86. Efeito da concentração inicial de amoxicilina na degradação por reagente de Fenton ($T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, razões molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{amoxicilina} = 56$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 41$, $\text{pH} = 3,5$).

3.4.1.1.6. Efeito do tempo de tratamento

De modo a determinar o tempo necessário para a degradação máxima de amoxicilina, os resultados anteriores foram cuidadosamente analisados. Como pode ser verificado, se se utilizarem baixas concentrações de oxidante e catalisador, o tempo necessário para degradar totalmente este antibiótico é bastante longo. Se, por outro lado, forem utilizadas concentrações superiores, o tempo de tratamento diminui. Logo, é necessário assumir um compromisso entre a quantidade de reagentes a utilizar e o tempo de tratamento. Por esta razão o tempo de tratamento para o estudo posterior com desenho experimental foi fixado em 30 min.

3.4.1.2. Estudo da cinética do processo

O estudo da cinética pretende ser uma ferramenta útil na modelização do processo de oxidação com reagente de Fenton. A cinética da reacção de oxidação da amoxicilina foi analisada através de três metodologias: cinética de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e a partir de uma modelização empírica proposta por Chu *et al.* (2004):

(i) Pseudo-primeira ordem

$$\frac{C}{C_0} = \exp(-k_{ap_1} t) \quad (\text{Eq. 3})$$

(ii) Pseudo-segunda ordem

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{1 + k_{ap_2} C_0 t} \quad (\text{Eq. 5})$$

(iii) Chu

$$\frac{C}{C_0} = 1 - \frac{t}{p + at} \quad (\text{Eq. 7})$$

Segundo a literatura, alguns autores utilizam apenas os pontos experimentais correspondentes à segunda etapa da reacção (estado pseudo-estacionário) para efectuarem o ajuste cinético de pseudo-primeira ordem (Ramirez *et al.*, 2009). No entanto, não foi possível efectuar-se um estudo deste tipo devido ao número reduzido de pontos experimentais.

A Tabela 40 fornece uma comparação entre os parâmetros cinéticos de adsorção para os três modelos mencionados anteriormente. Tal como nos ensaios de adsorção, os modelos foram ajustados aos dados experimentais através de uma análise não linear (minimização dos quadrados dos resíduos utilizando a ferramenta *Solver* do *Microsoft Office Excel 2007* e posteriormente o *software* Fig. P 2.98 da *Biosoft*).

De um modo geral, o modelo proposto por Chu *et al.* (2004) conduziu aos valores mais elevados de R^2 e aos mais baixos de desvio-padrão normalizado, sendo assim o modelo que melhor prevê o comportamento dos pontos experimentais (Figura 87).

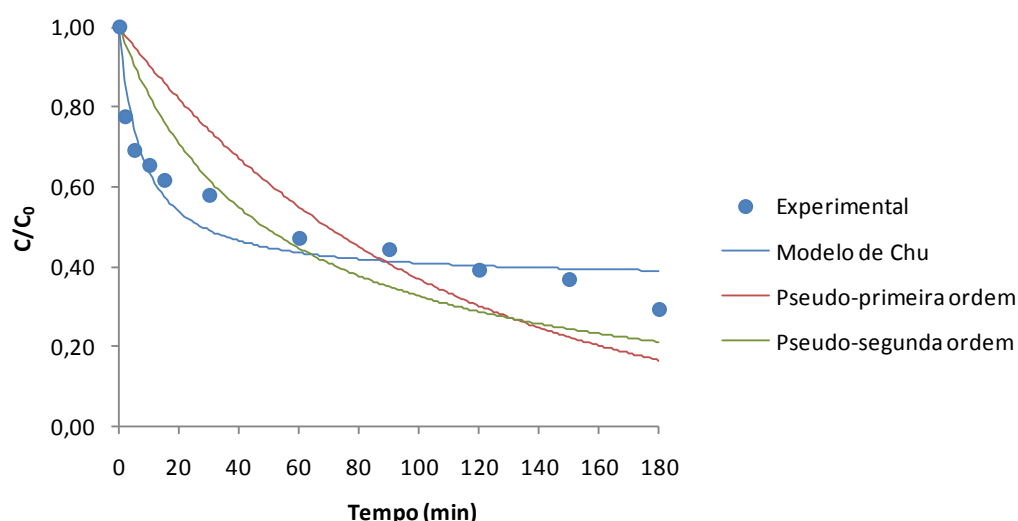


Figura 87. Comparação entre os modelos cinéticos ($T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, concentração amoxicilina = $250\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, razões molares $\text{H}_2\text{O}_2/\text{amoxicilina} = 56$ e $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+} = 41$, $\text{pH} = 3,5$).

Neste estudo verificou-se que, de acordo com o modelo de Chu, a velocidade inicial da reacção ($1/p$) aumentou de 0,046 para 0,228 min^{-1} com o aumento da concentração inicial de amoxicilina de 100 para 450 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Relativamente ao efeito da concentração inicial de peróxido de hidrogénio verificou-se que na experiência que não continha este oxidante, a velocidade inicial da reacção foi máxima (1,422 min^{-1}), mas a capacidade máxima de degradação teórica era bastante baixa (29%). Para concentrações superiores atingiu-se a degradação total e a velocidade inicial da reacção foi bastante similar em todas as experiências. O efeito da concentração inicial dos iões Fe^{2+} na cinética do processo de oxidação foi também testado. Observou-se que a velocidade inicial da reacção aumentou de 0,028 min^{-1} para 0,958 min^{-1} com o aumento da concentração inicial de Fe^{2+} . Relativamente ao efeito da temperatura verificou-se que aumentando a temperatura, a velocidade inicial da reacção também era aumentada. Quanto ao pH verificou-se que variando os valores de pH entre 2,9 e 4,5 a velocidade inicial de degradação não é significativamente alterada, mas tal como verificado anteriormente, a capacidade máxima de degradação aumenta (valor máximo para pH entre 3,5 e 4,5).

Tanto quanto é do conhecimento da autora, apenas existe um estudo sobre a cinética do processo de Fenton para a degradação de uma solução aquosa que continha amoxicilina, para além de outros dois antibióticos beta-lactâmicos (Elmolla e Chaudhuri, 2010c). Na verdade, estes autores apenas estudaram a aplicabilidade da cinética de pseudo-primeira ordem e modelizaram a cinética de mineralização do efluente ($k = 0,01 \text{ min}^{-1}$).

Tabela 40. Parâmetros cinéticos do modelo de pseudo-primeira e segunda ordem e Chu para a oxidação com reagente de Fenton da amoxicilina.

Ensaio	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem				Modelo de Chu			
	k_{ap1} (min^{-1})	R^2	DP (%)	$C_{0, \text{calc}}$ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	k_{ap2} ($\text{g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	R^2	DP (%)	1/a	1/p (min^{-1})	R^2	DP (%)
C_0 ($\mu\text{g.L}^{-1}$) ^a											
100	$0,007 \pm 0,001$	0,822	15,4	94 ± 2	$0,090 \pm 0,002$	0,866	16,0	$0,49 \pm 0,02$	$0,046 \pm 0,007$	0,961	8,0
150	$0,010 \pm 0,002$	0,526	10,2	193 ± 8	$0,074 \pm 0,001$	0,585	34,6	$0,49 \pm 0,02$	$0,378 \pm 0,004$	0,924	13,1
250	$0,005 \pm 0,002$	0,835	3,6	198 ± 5	$0,104 \pm 0,010$	0,890	24,4	$0,63 \pm 0,03$	$0,085 \pm 0,002$	0,927	5,7
450	$0,114 \pm 0,001$	0,856	21,6	466 ± 4	$0,477 \pm 0,008$	0,960	8,1	$0,99 \pm 0,01$	$0,228 \pm 0,002$	0,959	20,0
$C_{H_2O_2}$ (mg.L^{-1})											
0,00	$0,003 \pm 0,001$	0,229	6,0	456 ± 4	$0,009 \pm 0,002$	0,241	23,6	$0,29 \pm 0,02$	$1,422 \pm 0,015$	0,927	3,4
0,60	$0,037 \pm 0,042$	0,946	11,4	441 ± 5	$0,162 \pm 0,008$	0,956	14,5	$1,06 \pm 0,08$	$0,063 \pm 0,006$	0,963	17,8
1,20	$0,070 \pm 0,009$	0,914	24,0	504 ± 10	$0,258 \pm 0,007$	0,951	20,7	$0,99 \pm 0,01$	$0,134 \pm 0,002$	0,950	19,2
2,35	$0,114 \pm 0,001$	0,856	21,6	466 ± 4	$0,477 \pm 0,008$	0,960	8,1	$0,99 \pm 0,01$	$0,228 \pm 0,002$	0,959	20,0
3,50	$0,092 \pm 0,002$	0,932	8,0	426 ± 8	$0,433 \pm 0,003$	0,957	15,1	$1,03 \pm 0,04$	$0,167 \pm 0,003$	0,961	16,2
4,50	$0,106 \pm 0,005$	0,927	19,3	450 ± 8	$0,458 \pm 0,002$	0,968	15,7	$1,01 \pm 0,02$	$0,202 \pm 0,002$	0,968	16,5
$C_{Fe^{2+}}$ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)											
0	$0,005 \pm 0,001$	0,886	1,8	329 ± 5	$0,020 \pm 0,002$	0,891	11,6	$0,45 \pm 0,01$	$0,028 \pm 0,001$	0,847	9,2
45	$0,059 \pm 0,003$	0,962	8,9	527 ± 12	$1,241 \pm 0,120$	0,746	12,9	$1,07 \pm 0,09$	$0,096 \pm 0,006$	0,978	12,0
95	$0,114 \pm 0,001$	0,856	21,6	466 ± 4	$0,477 \pm 0,008$	0,960	8,1	$0,99 \pm 0,01$	$0,228 \pm 0,002$	0,959	20,0
150	$0,182 \pm 0,006$	0,917	18,5	434 ± 8	$0,860 \pm 0,004$	0,971	16,9	$1,00 \pm 0,02$	$0,371 \pm 0,003$	0,971	17,2
190	$0,325 \pm 0,012$	0,951	16,7	527 ± 9	$1,241 \pm 0,009$	0,990	12,9	$1,01 \pm 0,02$	$0,631 \pm 0,006$	0,990	14,0
240	$0,467 \pm 0,008$	0,977	11,2	620 ± 4	$1,664 \pm 0,010$	0,994	7,7	$1,02 \pm 0,03$	$0,958 \pm 0,002$	0,995	9,4

Tabela 40. Parâmetros cinéticos do modelo de pseudo-primeira e segunda ordem e Chu para a oxidação com reagente de Fenton da amoxicilina (*continuação*).

Ensaio	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem				Modelo de Chu			
	k_{ap1} (min^{-1})	R^2	DP (%)	$C_{0, \text{calc}}$ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	k_{ap2} ($\text{g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	R^2	DP (%)	1/a	1/p (min^{-1})	R^2	DP (%)
T (°C)											
25	$0,014 \pm 0,008$	0,830	17,3	459 ± 8	$0,070 \pm 0,002$	0,887	30,0	$0,69 \pm 0,02$	$0,115 \pm 0,006$	0,903	17,9
35	$0,067 \pm 0,004$	0,919	22,3	454 ± 5	$0,262 \pm 0,005$	0,956	21,0	$0,99 \pm 0,01$	$0,123 \pm 0,003$	0,955	19,7
40	$0,114 \pm 0,001$	0,856	21,6	466 ± 4	$0,477 \pm 0,008$	0,960	8,1	$0,99 \pm 0,01$	$0,228 \pm 0,002$	0,959	20,0
50	$0,112 \pm 0,002$	0,944	8,6	492 ± 6	$0,462 \pm 0,004$	0,967	12,1	$1,03 \pm 0,03$	$0,207 \pm 0,001$	0,970	12,4
60	$0,296 \pm 0,006$	0,982	10,6	506 ± 9	$1,222 \pm 0,010$	0,995	24,1	$1,03 \pm 0,05$	$0,565 \pm 0,009$	0,996	17,1
pH											
2,9	$0,011 \pm 0,002$	0,671	20,3	461 ± 2	$0,060 \pm 0,006$	0,767	36,6	$0,61 \pm 0,03$	$0,210 \pm 0,004$	0,929	12,1
3,5	$0,114 \pm 0,010$	0,856	21,6	466 ± 4	$0,477 \pm 0,008$	0,960	8,1	$0,99 \pm 0,01$	$0,228 \pm 0,002$	0,959	20,0
4,5	$0,074 \pm 0,004$	0,858	14,1	395 ± 2	$0,584 \pm 0,012$	0,981	13,9	$1,01 \pm 0,20$	$0,222 \pm 0,003$	0,982	13,6
5,2	$0,004 \pm 0,001$	0,621	4,1	394 ± 6	$0,014 \pm 0,004$	0,666	18,7	$0,35 \pm 0,02$	$0,128 \pm 0,004$	0,920	4,6
6,5	$0,002 \pm 0,001$	0,607	3,0	327 ± 2	$0,008 \pm 0,001$	0,228	16,7	$0,23 \pm 0,04$	$0,293 \pm 0,002$	0,960	1,8

3.4.1.3. Aplicação de desenho de experiências (DoE)

Os ensaios efectuados até ao momento serviram como base à construção de um desenho experimental. Neste caso optou-se por estudar três variáveis (concentração inicial de peróxido de hidrogénio, concentração inicial de ião Fe^{2+} e temperatura), tendo-se fixado o valor de pH em 3,5 e a concentração de amoxicilina em $450 \mu\text{g.L}^{-1}$. A gama de trabalho encontra-se definida na Tabela 41.

Tabela 41. Gama estudada e níveis das variáveis processuais.

Parâmetros	Níveis das variáveis codificadas (x_i)				
	-1,682	-1	0	+1	+1,682
$[\text{H}_2\text{O}_2]$ (mg.L^{-1})	0,42	1,20	2,35	3,50	4,28
$[\text{Fe}^{2+}]$ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	30	95	190	285	350
T ($^{\circ}\text{C}$)	20	30	45	60	70

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 42. Para determinar a repetibilidade, dois ensaios foram realizados no centro do domínio (ensaios 1 e 10). Para estes replicados, a concentração adimensional (C/C_0) após 30 min de tratamento variou entre 0,19 e 0,29, o que corresponde a um desvio-padrão de 0,07, valor aceitável para este tipo de experiências.

Tabela 42. Desenho experimental e respostas baseadas nos ensaios experimentais e nos valores previstos pelo modelo.

Ensaio	X_1	X_2	X_3	C/C_0 , 30 min	C/C_0 , 30 min
	$[\text{H}_2\text{O}_2]$ (mg.L^{-1})	$[\text{Fe}^{2+}]$ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	Experimental	Previsto $\pm$ IC
1	2,35	190	45	0,19	$0,25 \pm 0,09$
2	1,20	95	30	0,43	$0,43 \pm 0,09$
3	1,20	95	60	n.d.	$0,04 \pm 0,09$
4	0,42	190	45	0,17	$0,15 \pm 0,09$
5	1,20	285	60	n.d.	$0,00 \pm 0,09$
6	3,50	95	60	0,21	$0,23 \pm 0,09$
7	2,35	350	45	0,08	$0,06 \pm 0,09$
8	1,20	285	30	0,17	$0,20 \pm 0,09$
9	3,50	285	60	n.d.	$0,04 \pm 0,09$
10	2,35	190	45	0,29	$0,25 \pm 0,09$
11	2,35	30	45	0,47	$0,42 \pm 0,09$
12	3,50	285	30	n.d.	$0,00 \pm 0,09$
13	4,28	190	45	0,19	$0,15 \pm 0,09$
14	3,50	95	30	0,33	$0,38 \pm 0,09$
15	2,35	190	20	0,29	$0,26 \pm 0,09$
16	2,35	190	70	n.d.	$0,00 \pm 0,09$

n.d. – não detectado, IC – intervalo de confiança ($1,96 \times$ desvio-padrão)

Os princípios teóricos necessários para a compreensão desta técnica estatística encontram-se no Anexo II.

O *software JMP 5.0.1.* foi utilizado para calcular os coeficientes da equação de ajuste de segunda ordem e a adequação do modelo foi testada através do teste estatístico ANOVA. A equação polinomial de segunda ordem pode então se expressa por:

$$Y = 0,245 - 0,002 x_1 - 0,107 x_2 - 0,088 x_3 - 0,035 x_1 x_2 + 0,06 x_1 x_3 + 0,048 x_2 x_3 - 0,034 x_1^2 - 0,0004 x_2^2 - 0,046 x_3^2 \quad (\text{Eq. 94})$$

aonde x_1 corresponde à concentração de peróxido de hidrogénio, x_2 à concentração de iões Fe^{2+} e x_3 à temperatura.

A partir da Eq. 94 foi possível concluir que a resposta diminuiu com a concentração de peróxido de hidrogénio, de iões Fe^{2+} e com a temperatura (coeficientes com sinal negativo). A comparação entre os valores previstos pelo modelo e a resposta experimental encontra-se na Figura 88.

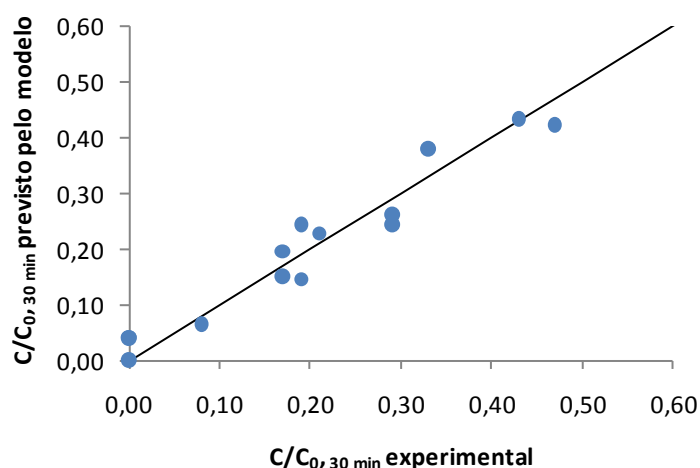


Figura 88. Comparação dos dados experimentais e dos valores previstos pelo modelo.

Como se pode verificar, os valores previstos pelo modelo de segunda ordem são bastante semelhantes aos obtidos experimentalmente. Na Tabela 43 estão resumidos os resultados da análise de variância (ANOVA) a este modelo.

Tabela 43. Teste ANOVA à resposta do modelo.

Fonte de variação	Nº de graus de liberdade	Soma dos quadrados	Média dos quadrados	F	Prob (F> F _{crítico})
Modelo	9	$3,48 \times 10^{-1}$	$3,86 \times 10^{-2}$	12,47	0,0031
Resíduo da regressão	6	$1,86 \times 10^{-2}$	$3,10 \times 10^{-3}$		
Falta de ajuste	5	$1,36 \times 10^{-2}$	$2,72 \times 10^{-3}$		
Erro puro	1	$5,00 \times 10^{-3}$	$5,00 \times 10^{-3}$		

$R^2 = 0,949$

Os resultados demonstram que as variações que ocorrem na resposta estarão associadas ao próprio modelo, e não a erros experimentais. Esta conclusão foi obtida através da comparação entre o valor de F e o de $F_{\text{crítico}}$ ($F > F_{9,6} = 4,1$) e confirmada pela Prob ($F > F_{\text{crítico}}$) $< 0,05$. O valor de R^2 é também indicativo da qualidade do ajuste polinomial. Após estas determinações, as variáveis e as interações que afectam significativamente o processo foram identificadas (Tabela 44 a sombreado) através do teste *t-Student* (Hinkelmann e Kempthorne, 2008).

Tabela 44. Estimativa dos coeficientes do modelo quadrático (b_1 – coeficiente associado à concentração de H_2O_2 , b_2 – coeficiente associado à concentração de Fe^{2+} , b_3 – coeficiente associado à temperatura).

	Termo	Estimativa	Erro padrão	t	Prob (t> t _{crítico})
Variáveis principais	Intercepção	$2,45 \times 10^{-1}$	$0,39 \times 10^{-1}$	6,25	0,0008
	b_1	$-1,93 \times 10^{-3}$	$15,1 \times 10^{-3}$	-0,13	0,9022
	b_2	$-1,07 \times 10^{-1}$	$0,15 \times 10^{-1}$	-7,08	0,0004
	b_3	$-8,84 \times 10^{-2}$	$1,51 \times 10^{-2}$	-5,87	0,0011
Interações	b_{12}	$-3,50 \times 10^{-2}$	$1,97 \times 10^{-2}$	-1,78	0,1256
	b_{13}	$6,00 \times 10^{-2}$	$1,97 \times 10^{-2}$	-3,05	0,0225
	b_{23}	$4,75 \times 10^{-2}$	$1,97 \times 10^{-2}$	2,41	0,0500
	b_{11}	$-3,40 \times 10^{-2}$	$1,83 \times 10^{-2}$	-1,86	0,1120
	b_{22}	$-4,55 \times 10^{-4}$	$1,83 \times 10^{-4}$	-0,02	0,9810
	b_{33}	$-4,64 \times 10^{-2}$	$1,83 \times 10^{-2}$	-2,54	0,0442

Sabendo que os coeficientes afectam significativamente o processo se Prob (t> |t_{crítico}|) $< 0,05$ (nível de confiança de 95%) verificou-se que a concentração inicial de Fe^{2+} (x_2), a temperatura (x_3 , x_3^2) e a sua interacção com a concentração de peróxido de hidrogénio e com a de iões Fe^{2+} (x_1x_3 , x_2x_3) são os que mais afectam o processo.

A análise de Pareto (Figura 89) também fornece informação sobre a importância das variáveis e sobre o peso de cada variável na resposta do modelo (Hammami *et al.*, 2007; Abdessalem *et al.*, 2008; Kralik *et al.*, 2010).

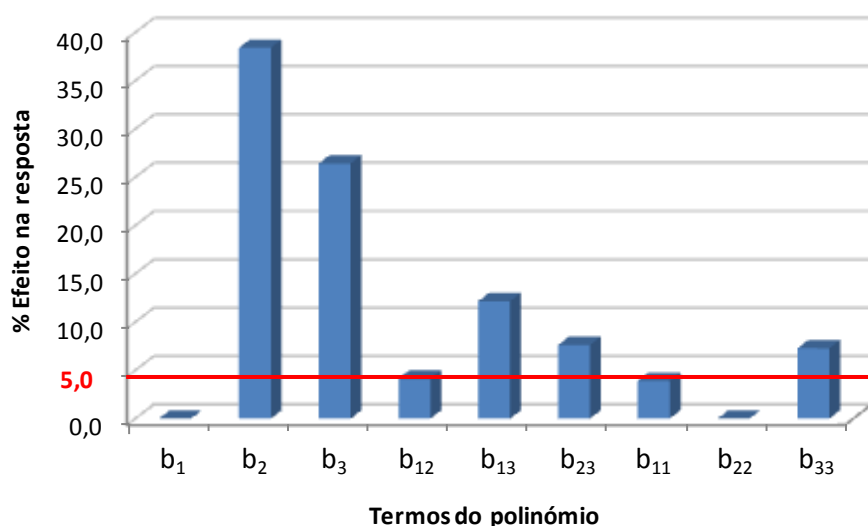


Figura 89. Análise de Pareto (b₁ – coeficiente associado à concentração de H₂O₂, b₂ – coeficiente associado à concentração de Fe²⁺, b₃ – coeficiente associado à temperatura).

A resposta ($C/C_{0, 30 \text{ min}}$) é afectada principalmente pela concentração de Fe²⁺ (38%) e da temperatura (26%).

Ay e Kargi (2010) também efectuaram um estudo sobre a oxidação da amoxicilina utilizando desenho experimental para determinar os efeitos da concentração dos reagentes e do analito no grau de degradação e de mineralização. O seu estudo foi efectuado nas seguintes gamas de concentrações: 10-200 mg.L⁻¹ amoxicilina, 10-500 mg.L⁻¹ H₂O₂ e 0-50 mg.L⁻¹ Fe²⁺. A resposta do sistema a alterações destas variáveis (variáveis independentes) foi avaliada através de um desenho experimental de Box-Behnken e os resultados experimentais foram correlacionados através de um polinómio de segundo grau. Tal como neste trabalho, Ay e Kargi utilizaram o teste de variância ANOVA para determinar a adequação da resposta do modelo (% degradação da amoxicilina e % mineralização após 15 min de tratamento) aos resultados experimentais. Estes autores verificaram que a concentração inicial de amoxicilina e de peróxido de hidrogénio eram as variáveis que mais afectavam a degradação da amoxicilina, enquanto a concentração de peróxido de hidrogénio e iões Fe²⁺ eram as que mais influenciam a mineralização.

Os resultados obtidos neste trabalho foram um pouco diferentes, uma vez que apenas se verificou que a concentração de Fe²⁺ afectava significativamente a resposta do processo (% degradação da amoxicilina após 30 min de tratamento). Esta disparidade de resultados estará relacionada com a diferença de comportamento do sistema de oxidação para distintos níveis de concentração dos reagentes estudados.

3.4.1.4. Resposta de superfície e gráficos de contorno

De modo a avaliar a relação entre as variáveis do processo e a resposta ao tratamento foram obtidas as respostas de superfície (3D) e os gráficos de contorno (2D) para o modelo anterior. Como se pode verificar nas Figuras 90-92, dependendo da temperatura da reacção, da concentração de H_2O_2 e Fe^{2+} , estas variáveis podem ter um efeito positivo ou negativo na degradação da amoxicilina. Na Figura 90 apresenta-se a resposta de superfície para diferentes concentrações iniciais de peróxido de hidrogénio. É possível verificar que para a mesma concentração de Fe^{2+} , um aumento na temperatura nem sempre influencia positivamente a degradação da amoxicilina. Contudo, para o mesmo valor de temperatura, um aumento da concentração de Fe^{2+} conduz a um aumento da degradação do antibiótico até se atingir a degradação total ($C/C_0 = 0$). Tal como esperado, os gráficos de contorno são diferentes consoante a concentração de inicial de oxidante. Para 1,20 mg.L^{-1} e 2,35 mg.L^{-1} , a degradação total apenas é atingida para valores de temperatura bastante elevados ($T > 60$ °C). Para concentrações superiores de H_2O_2 , a degradação total é atingida para concentrações de Fe^{2+} superiores a 318 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para toda a gama de temperaturas estudada. Assim, pode concluir-se que aumentando a concentração do peróxido de hidrogénio é possível ocorrer a degradação total da amoxicilina a níveis mais baixos de temperatura e/ou concentração de Fe^{2+} . Na Figura 91 estão representadas os gráficos de superfície e de contorno para a degradação da amoxicilina (expressa através de concentrações adimensionais) em função da concentração de H_2O_2 e temperatura para concentrações de Fe^{2+} de 95, 190 e 285 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Para os dois primeiros níveis de concentração de Fe^{2+} , a degradação mais elevada ocorreu quando a concentração de H_2O_2 foi mantida no seu valor mínimo (0,42 mg.L^{-1}) e a temperatura no seu máximo (70 °C). Outra possibilidade é utilizar elevadas quantidades de ferro (285 $\mu\text{g.L}^{-1}$) e de peróxido de hidrogénio ($> 2,74 \text{ mg.L}^{-1}$) e baixas temperaturas (< 60 °C). Algumas conclusões obtidas até ao momento podem ser confirmadas pela informação fornecida pela Figura 92. Tal como esperado, a degradação total da amoxicilina a baixas temperaturas apenas ocorre com elevadas concentrações de Fe^{2+} e H_2O_2 . Para aplicações reais em águas residuais, os valores mais baixos de concentração e de temperatura devem ser seleccionados de modo a minimizar o consumo de reagentes e de energia e, consequentemente, os custos de operação. Efectivamente, as Figuras 90-92 mostram que é possível obter elevadas eficiências de degradação utilizando baixas temperaturas e uma concentração moderada de reagentes, ou seja, existem diversas combinações de condições que conduzem à degradação total da amoxicilina.

Ay e Kargi (2010) no seu estudo determinaram apenas uma combinação de condições que conduziram à total degradação da amoxicilina e simultaneamente, permitiu obter um valor máximo de mineralização (37%): 255 mg.L^{-1} H_2O_2 /25 mg.L^{-1} Fe^{2+} /105 mg.L^{-1} amoxicilina.

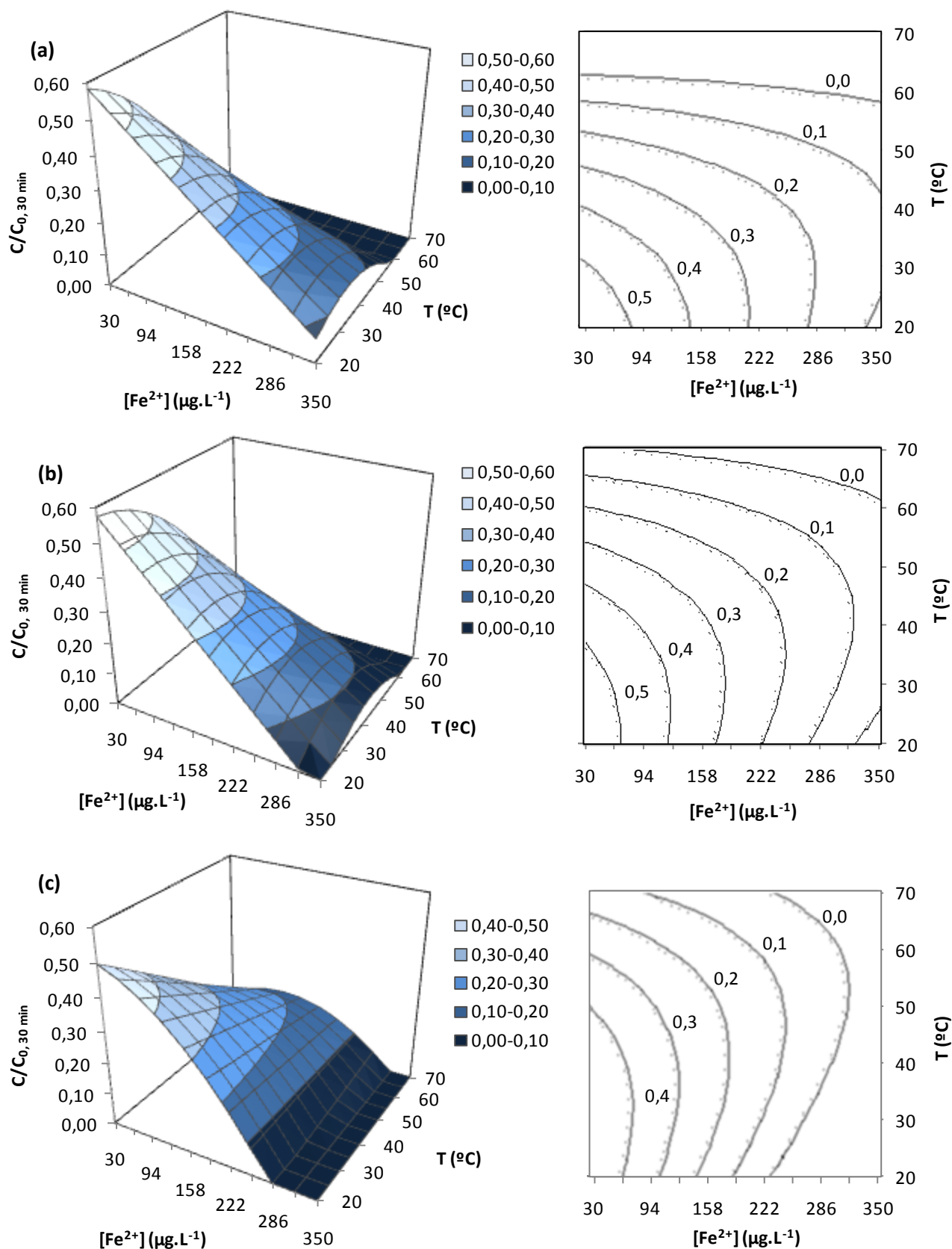


Figura 90. Resposta de superfície e gráfico de contorno para a concentração adimensional de amoxicilina após 30 min de reação em função da concentração inicial de Fe^{2+} e da temperatura (concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, pH = 3,5 e (a) $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1,20 \text{ mg.L}^{-1}$, (b) $[\text{H}_2\text{O}_2] = 2,35 \text{ mg.L}^{-1}$, (c) $[\text{H}_2\text{O}_2] = 3,50 \text{ mg.L}^{-1}$).

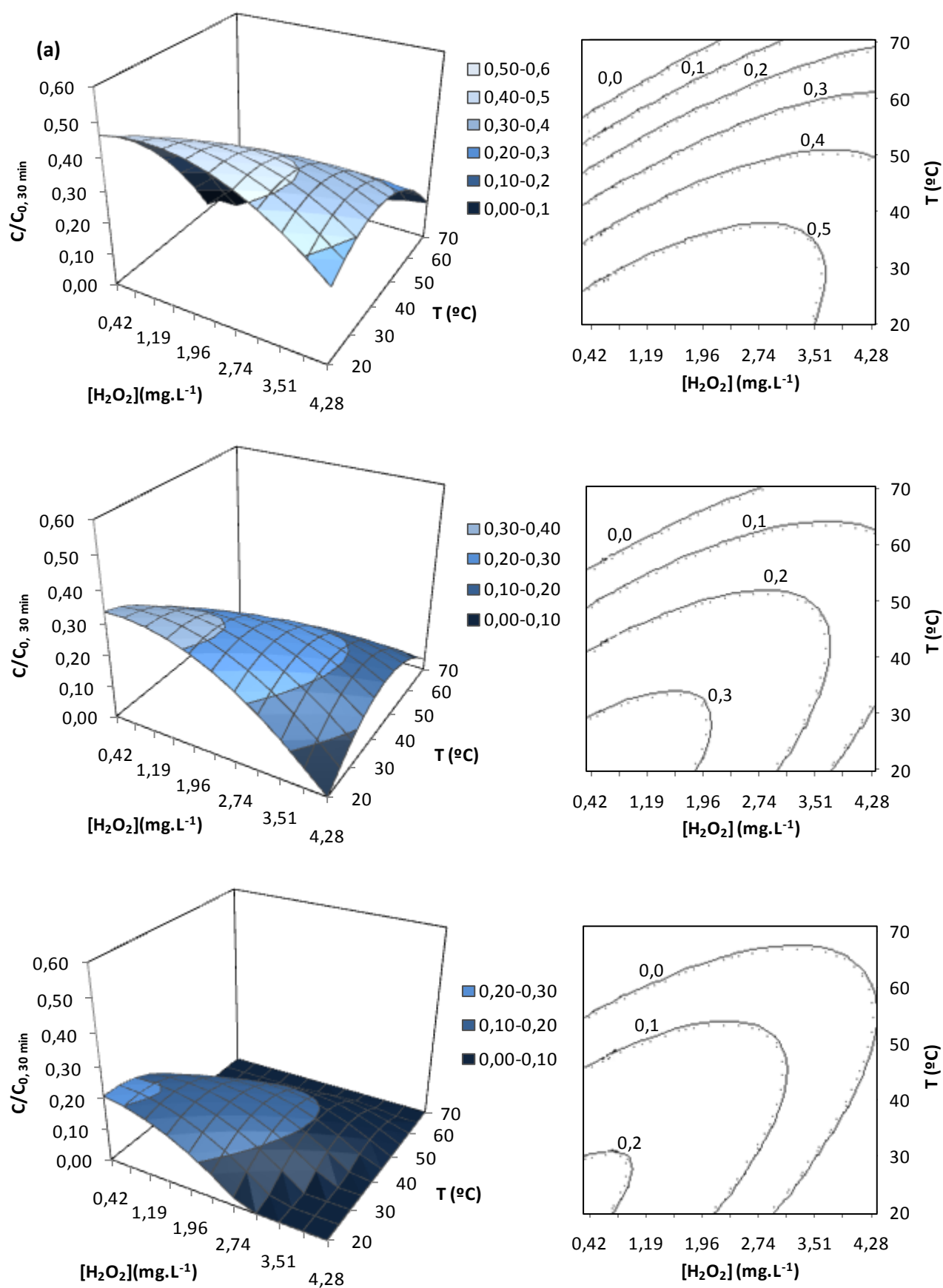


Figura 91. Resposta de superfície e gráfico de contorno para a concentração adimensional de amoxicilina após 30 min de reacção em função da concentração inicial de H_2O_2 e da temperatura (concentração amoxicilina = $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, pH = 3,5 e (a) $[\text{Fe}^{2+}] = 95 \mu\text{g.L}^{-1}$, (b) $[\text{Fe}^{2+}] = 190 \mu\text{g.L}^{-1}$, (c) $[\text{Fe}^{2+}] = 285 \mu\text{g.L}^{-1}$).

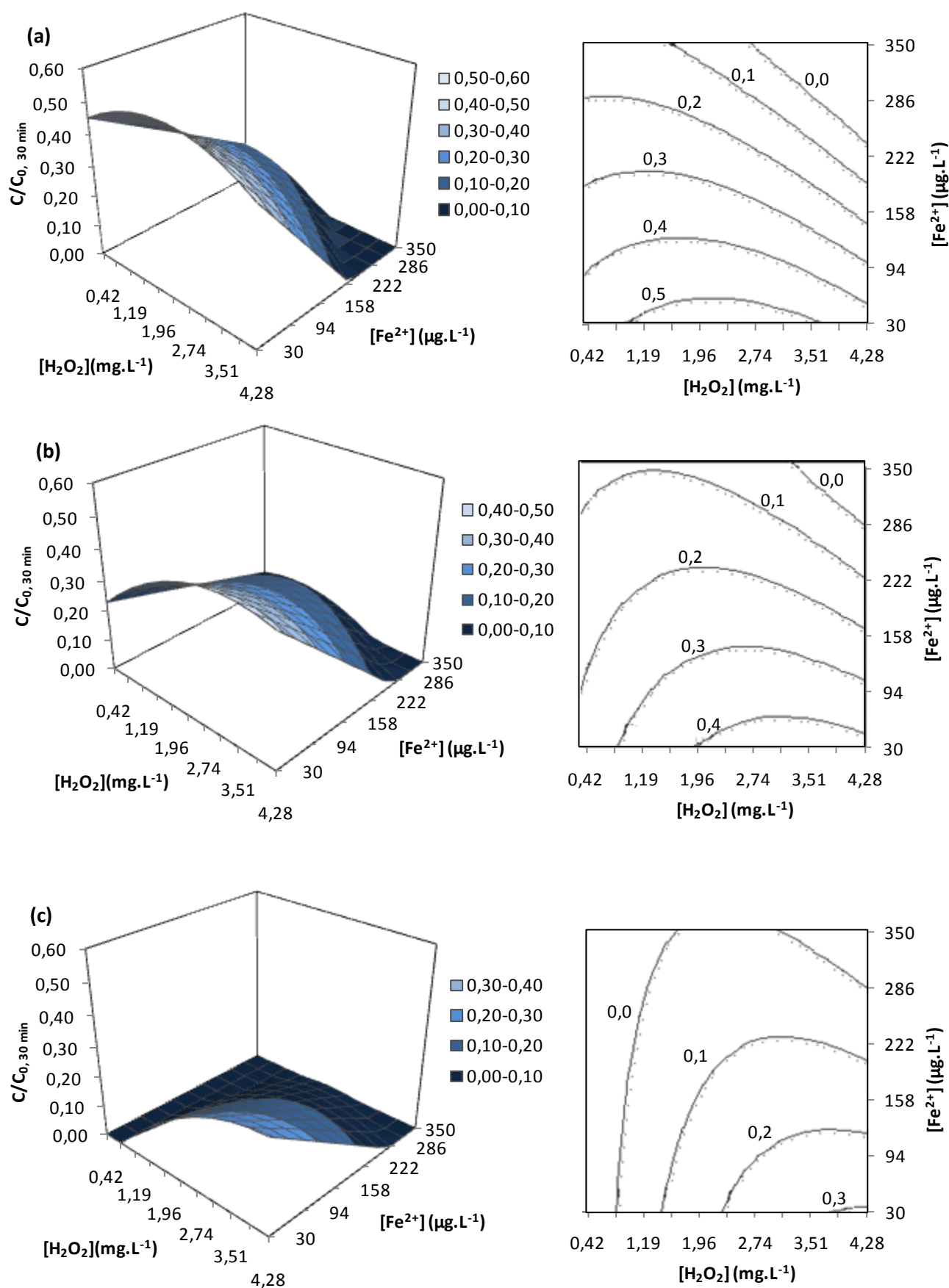


Figura 92. Resposta de superfície e gráfico de contorno para a concentração adimensional de amoxicilina após 30 min de reacção em função da concentração inicial de H_2O_2 e de Fe^{2+} (concentração amoxicilina = 450 μg.L $^{-1}$, pH = 3,5 e (a) $T = 30^\circ C$, (b) $T = 45^\circ C$, (c) $T = 60^\circ C$).

Para além dos estudos mencionados anteriormente foram efectuados experiências adicionais de modo a confirmar a aplicabilidade do modelo empírico.

Tabela 45. Valores de C/C_0 , 30 min obtidos experimentalmente e pelo modelo para o tratamento de $450 \mu\text{g.L}^{-1}$ de amoxicilina através da oxidação com reagente de Fenton.

Condições experimentais			C/C_0 , 30 min Experimental	C/C_0 , 30 min Previsto	
$[\text{H}_2\text{O}_2]$ (mg.L^{-1})	$[\text{Fe}^{2+}]$ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)		Mínimo	Máximo
1,20	95	40	0,30	0,25	0,43
2,35	95	40	0,26	0,26	0,44
3,50	95	40	0,54	0,24	0,42
2,35	190	40	n.d.	0,16	0,34
2,35	95	60	n.d.	0,07	0,25
3,50	190	30	0,17	0,10	0,28

Tal como sugerido pela Tabela 45, apenas pequenos desvios foram detectados entre C/C_0 experimental e os valores previstos pelo modelo.

3.4.1.5. Estudo dos produtos intermediários da reacção de oxidação com reagente de Fenton

Embora estudos referidos na literatura refiram que o antibiótico amoxicilina possa ser completamente degradado através do tratamento com reagente de Fenton, tanto quanto é do conhecimento da autora, não foram publicados estudos sobre os produtos intermediários formados durante este processo, mas apenas durante a oxidação de Fenton assistida por radiação UV (Trovó *et al.*, 2011).

3.4.1.5.1. Estudo das soluções padrão de amoxicilina em HPLC-DAD

Para o estudo dos produtos intermediários da reacção foi necessário efectuar-se as oxidações com reagente de Fenton a um nível de concentração superior aos ensaios realizados até ao momento. Para tal, começou-se por injectar soluções padrão de amoxicilina de concentrações mais elevadas em HPLC. Ao contrário do que se tinha observado com a injeção de padrões de concentrações inferiores a $450 \mu\text{g.L}^{-1}$, aonde mais nenhum pico para além do da amoxicilina tinha sido identificado, foram detectados mais dois picos ao $t_r = 11,7$ min e $t_r = 16,5$ min nos cromatogramas dos padrão de 25, 50 e 100 mg.L^{-1} (Figura 93a).

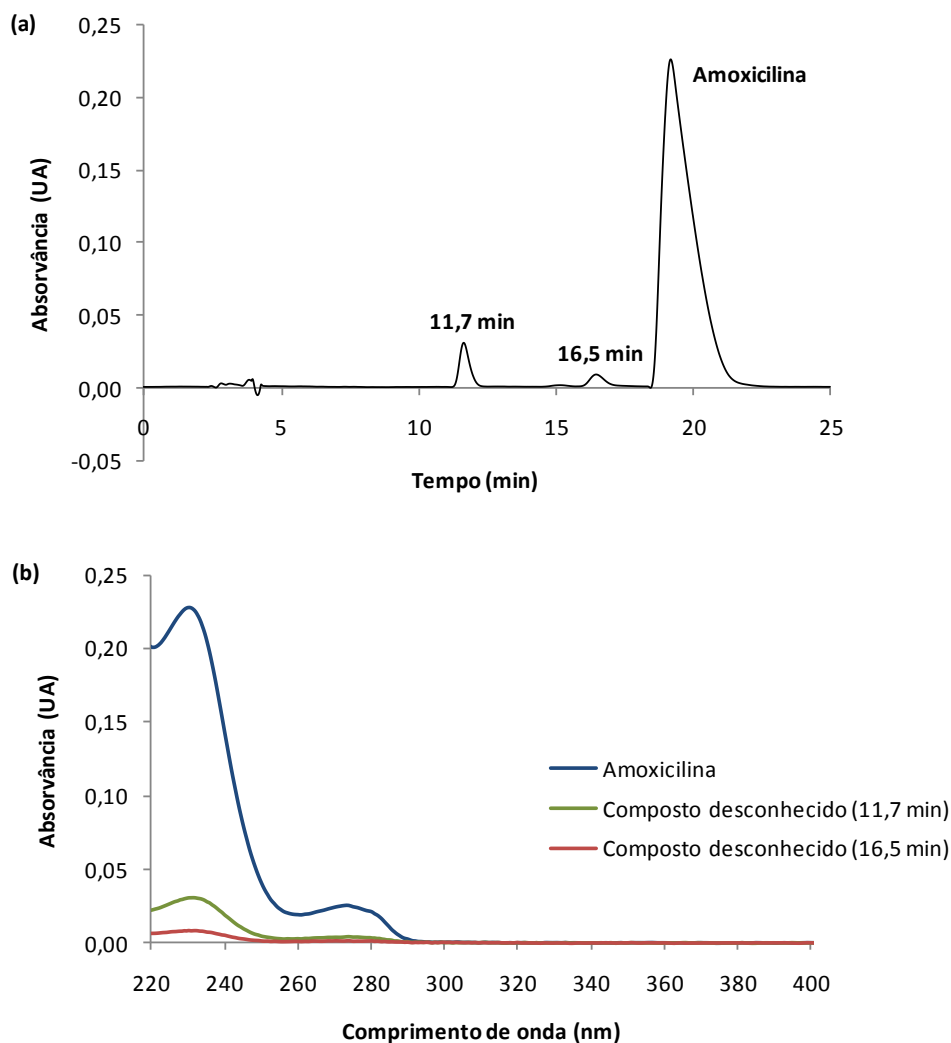


Figura 93. Cromatograma de um padrão de amoxicilina 100 mg L⁻¹ (a) e espectro de absorção (b).

Observando os espectros de absorção dos compostos desconhecidos ($\lambda_{\text{max}}=230$ nm) e comparando com o da amoxicilina (Figura 93b), estes parecem ser bastante similares, o que pode ser indicativo de semelhanças estruturais. Suspeita-se que estes compostos desconhecidos sejam produtos resultantes da hidrólise da amoxicilina, formados quer durante o processo de produção (grau de pureza do padrão comercial de amoxicilina > 90%) ou durante a preparação/armazenamento das soluções aquosas. A identificação destes compostos foi realizada subsequentemente por LC-MS.

3.4.1.5.2. *Produtos intermediários da reacção detectados em HPLC-DAD*

Tal como mencionado anteriormente, a amoxicilina tem sido detectada no meio ambiente a baixos níveis de concentração (ng.L⁻¹-µg.L⁻¹). Por esta razão, os estudos efectuados até este momento foram realizados numa gama baixa de concentrações (100-450 µg.L⁻¹). Porém, para este estudo dos produtos intermediários da reacção efectuaram-se experiências a um nível de concentração de

antibiótico mais elevado, de modo a que fosse possível avaliar o grau de mineralização das reacções e detectar produtos intermediários. Assim, optou-se por realizar estes estudos a 40 °C, utilizando uma razão mássica amoxicilina/H₂O₂ de 0,20 e uma razão mássica amoxicilina/Fe²⁺ de 4,75.

Nestas condições, para uma concentração inicial de amoxicilina de 450 µg.L⁻¹, tinha-se obtido uma remoção total ao fim de 90 minutos (Figura 94). Os cromatogramas traçados em HPLC-DAD e posteriormente em LC-MS para as amostras resultantes deste tratamento não revelaram picos de possíveis produtos intermediários. Nesta experiência não foi possível avaliar o grau de mineralização das amostras (TOC₀ = 0,27 mg.L⁻¹), devido ao elevado limite de detecção do analisador de carbono orgânico total (TOC > 1 mg.L⁻¹). Tal como explicado anteriormente, para ultrapassar estas questões realizaram-se experiências utilizando as mesmas condições operatórias, mas utilizando concentrações iniciais de amoxicilina superiores (25, 50 e 100 mg.L⁻¹).

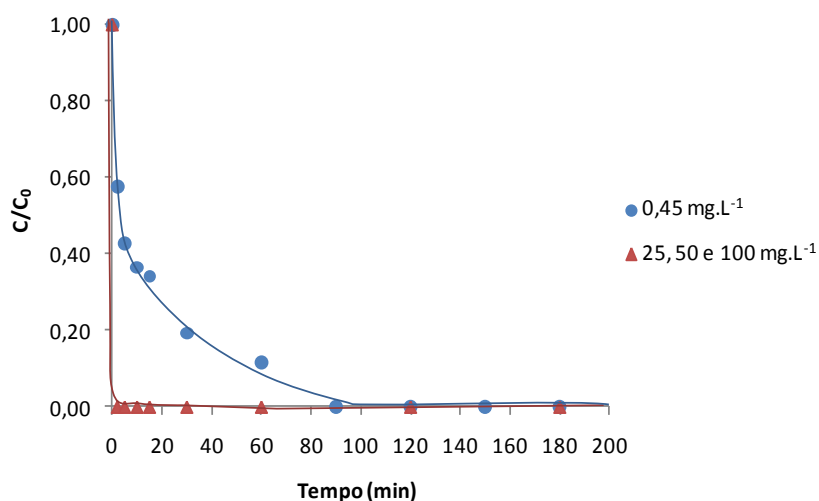


Figura 94. Perfil de degradação da amoxicilina por oxidação com reagente de Fenton (T = 40 °C, pH = 3,5, razão mássica amoxicilina:H₂O₂ = 0,20 e amoxicilina: Fe²⁺ = 4,75).

Como se pode observar na Figura 94, os perfis de degradação da amoxicilina para estas concentrações iniciais são similares, obtendo-se uma remoção total ao fim de apenas 2 min (aumento da velocidade inicial de degradação). A um aumento na concentração inicial de substrato, corresponde uma diminuição na probabilidade de ocorrer reacções de *scavenger* de radicais, conduzindo portanto a um aumento na velocidade inicial da reacção de degradação (Elmolla e Chaudhuri, 2009).

Os ensaios para determinação de carbono orgânico total foram realizados de modo a determinar o grau de mineralização dos efluentes tratados. De facto, nas condições operatórias utilizadas, foi conseguida uma baixa mineralização - cerca de 31% de remoção de TOC após 180 min (Figura 95).

Na literatura existe um número limitado de estudos sobre a aplicabilidade de processos avançados de oxidação para a degradação da amoxicilina. Contudo, alguns deles também estudam a

mineralização do composto. Andreozzi *et al.* (2005) estudou a aplicação da ozonólise, tendo verificado que após 20 min 90% da amoxicilina tinha sido degradada, mas apenas 18% mineralizada. Trovó *et al.* (2008) avaliou a aplicabilidade do processo de oxidação com Foto-Fenton, tendo concluído que após 1 min 84% tinha sofrido degradação e 85% foi mineralizada após 30 min. Elmolla e Chaudhuri (2009a,c e 2010a,b) estudaram diferentes metodologias para a oxidação da amoxicilina em meio aquoso. Verificaram que em todos os métodos estudados a amoxicilina era totalmente degradada, mas que os níveis de mineralização eram diferentes. O processo de Fenton conduziu a 53% de mineralização após 60 min e o de foto-Fenton a 58% após 50 min de tratamento. Aos métodos fotocatalíticos ($\text{TiO}_2/\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ e Zn/UV) estudados estavam associadas taxas de mineralização bastante mais baixas (cerca de 15%). Ay e Kargi (2010) também estudaram a degradação da amoxicilina com reagente de Fenton, tendo verificado que apenas 37% tinha sofrido mineralização, embora a sua degradação tenha sido total.

Os resultados obtidos neste estudo para a mineralização da amoxicilina são superiores aos obtidos por métodos de fotocatalise ou ozonólise, mas um pouco inferiores aos determinados pela maioria dos autores que realizaram ensaios de oxidação com reagente de Fenton.

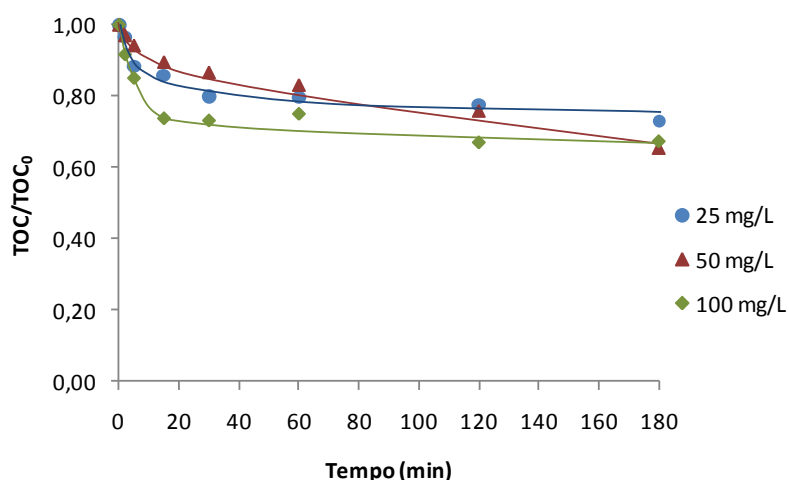


Figura 95. Perfil de mineralização da amoxicilina por oxidação com reagente de Fenton ($T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 3,5$, razão mássica amoxicilina: $\text{H}_2\text{O}_2 = 0,20$ e amoxicilina: $\text{Fe}^{2+} = 4,75$).

A baixa mineralização sugere a existência de produtos de degradação, corroborada pelo aparecimento de dois novos picos cromatográficos em HPLC a um tempo de retenção de 5,4 min e de 7,9 min (Figura 96), cujas áreas aumentam nos primeiros minutos da reacção.

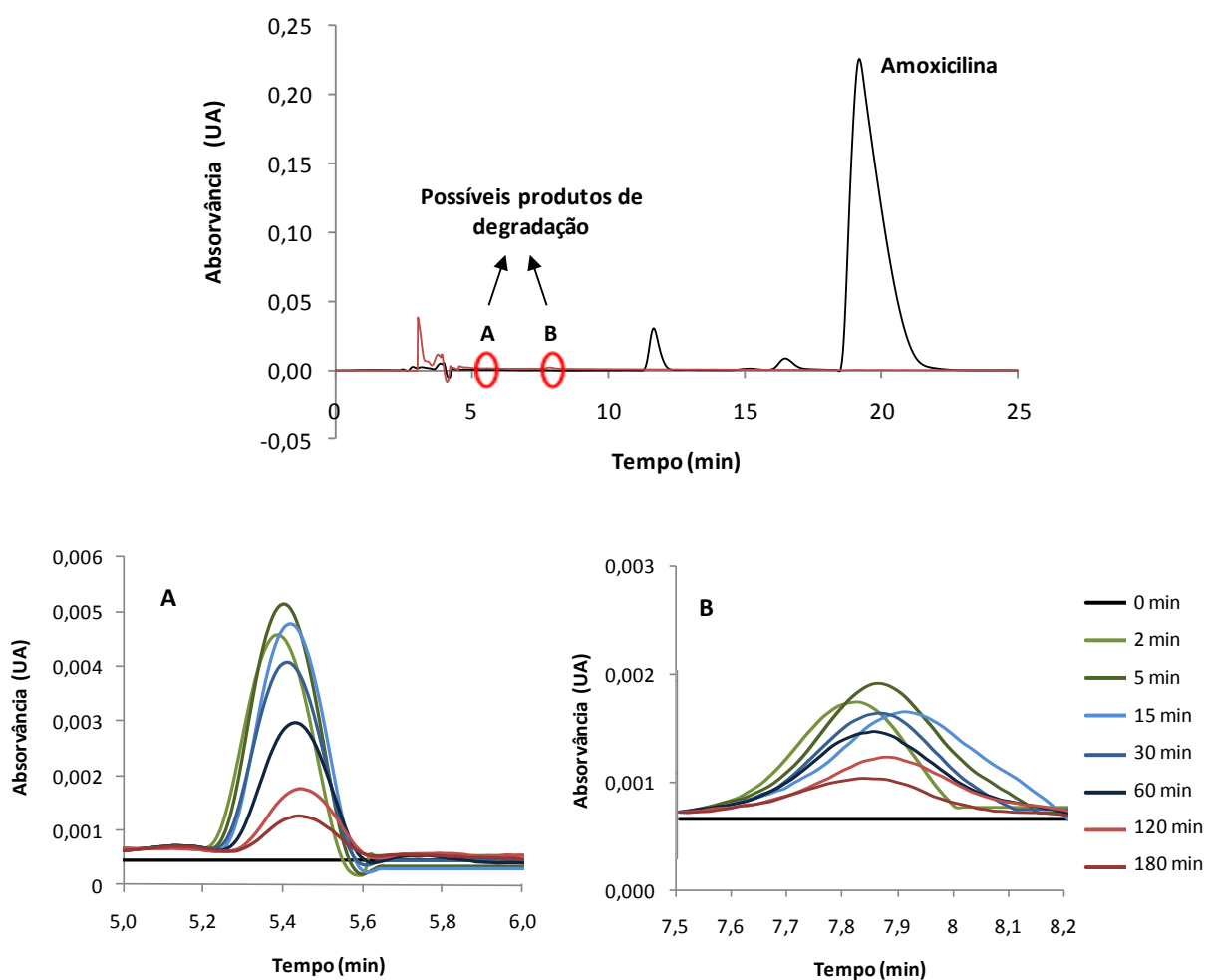


Figura 96. Evolução dos cromatogramas em HPLC-DAD durante a oxidação da amoxicilina 100 mg.L^{-1} com reagente de Fenton.

Os dois compostos desconhecidos detectados nas soluções padrão de amoxicilina desapareceram, indicando que estes compostos foram também eles degradados. De modo a identificar estes produtos intermediários foram efectuadas injeções destas amostras em LC-MS.

3.4.1.5.3. Estudo dos produtos intermediários por LC-MS

Tal como mencionado anteriormente, pelo menos dois produtos de degradação formados durante o tratamento dos efluentes contendo amoxicilina foram detectados em HPLC-DAD. De modo a obter informações sobre o processo de degradação da amoxicilina foram efectuadas análises em LC-MS em modo *full scan* ($m/z = 50\text{-}600$), num espectrómetro de massa *ion trap* equipado com uma fonte de ionização *electrospray* a operar em modo positivo. De modo a confirmar a identificação dos compostos detectados foram também efectuadas análises em MS/MS.

Devido à detecção em HPLC-DAD de outros compostos para além da amoxicilina nas soluções padrão, foram também realizadas análises em LC-MS a estas soluções de modo a identificar estes produtos intermediários/contaminantes (Figura 97).

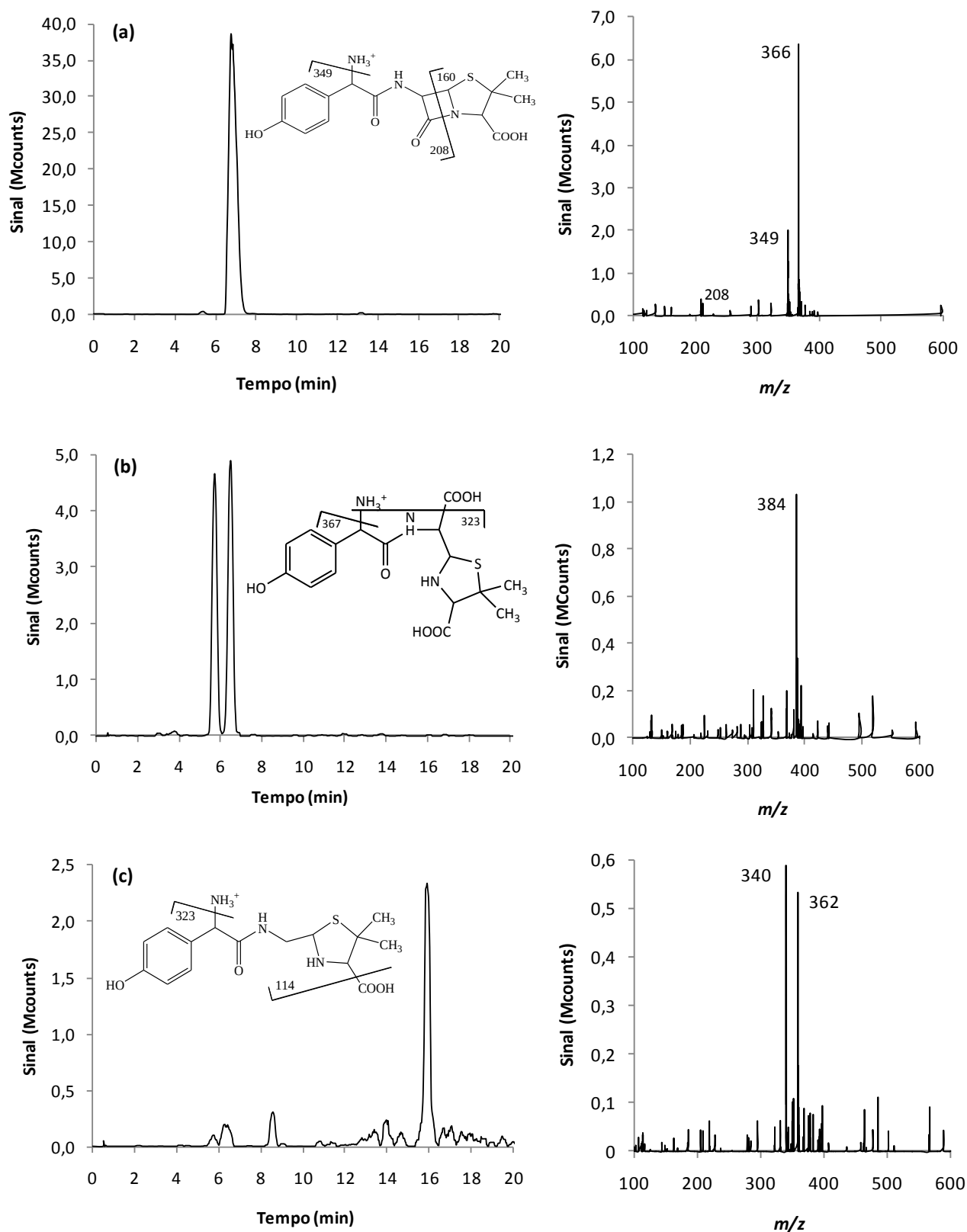


Figura 97. Cromatogramas de íões seleccionados: **(a)** $m/z = 366$, **(b)** $m/z = 384$, **(c)** $m/z = 340$, espectros de LC-MS e estruturas químicas propostas para os compostos detectados na solução padrão de amoxicilina.

Como pode ser observado na Figura 97a, a amoxicilina foi detectada em LC-MS a um tempo de retenção de 6,8 min na sua forma protonada ($m/z = 366$). O seu espectro de massa também evidencia um fragmento a $m/z = 349$, que corresponde à perda de amoníaco da molécula ($[\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S} + \text{H}]^+ - \text{NH}_3$). O ião formado pela perda da molécula de amoníaco constitui o principal fragmento da primeira etapa de MS/MS. A fragmentação de $m/z = 366$ também produz iões $m/z = 208$ e $m/z = 160$, que podem ser atribuídos à fragmentação do anel β -lactâmico.

Tal como esperado, para além da amoxicilina foram detectados mais dois compostos. Dois picos surgiram a tempos de retenção bastante próximos (5,7 e 6,5 min) com o mesmo padrão de fragmentação (Figura 97b). De facto, estes produtos devem ser estereoisómeros e deverão corresponder à forma protonada (5S) e (5R) do ácido penicilóico da amoxicilina ($m/z = 384$, $[\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6\text{S} + \text{H}]^+$) (Nägele e Moritz, 2005). A fragmentação do ião molecular protonado resulta em dois fragmentos: $m/z = 367$ e $m/z = 323$ devido à perda de uma molécula de NH_3 seguida de descarboxilação (espectro MS/MS). Os resultados obtidos em LC-MS permitiram confirmar a identificação destes compostos. Estes foram formados por hidrólise da amoxicilina, através da abertura do anel de quatro membros β -lactâmico, que contem um grupo carboxílico que confere elevada polaridade à molécula. A formação de estereoisómeros ocorre devido ao carbono existente entre o átomo de azoto e de enxofre ser quiral (Trovó *et al.*, 2011).

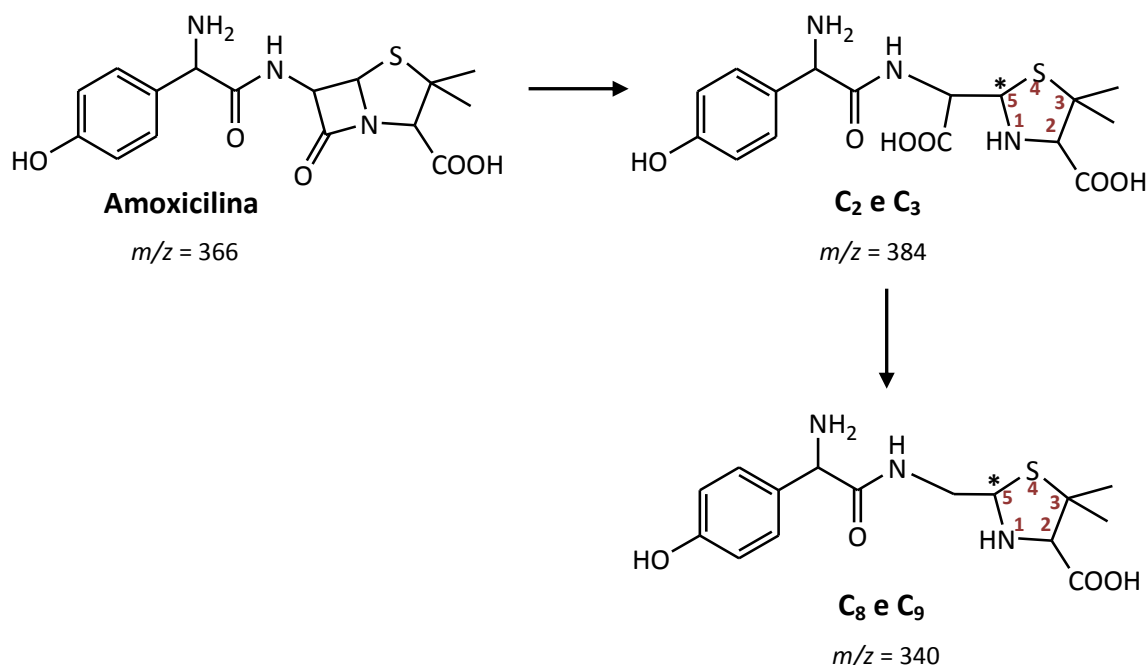
O outro composto (Figura 97c) foi detectado a um tempo de retenção de 8,6 min e apresenta um espectro de massa contendo o ião molecular protonado ($[\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4\text{S} + \text{H}]^+$ a $m/z = 340$) e o seu aducto de sódio ($[\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4\text{S} + \text{Na}]^+$ a $m/z = 362$). Este deverá corresponder ao ácido penilóico da amoxicilina (c), que resulta da descarboxilação do ácido penicilóico (b). O espectro obtido através da análise em MS/MS prova esta hipótese, uma vez que estão presentes fragmentos típicos desta molécula ($m/z = 323$, perda da molécula de NH_3 e $m/z = 114$, descarboxilação).

Após este estudo foram injectadas em LC-MS (em modo de gradiente) as amostras provenientes da oxidação com reagente de Fenton, utilizando as condições analíticas referidas na secção 2.4. Para além do pico da amoxicilina foram detectados oito picos cromatográficos. Na Tabela 46 encontram-se os fragmentos identificados através de LC-MS e LC-MS/MS.

Tabela 46. Informação sobre as espécies químicas observadas em LC-MS/MS.

t_r (min)	Fragmentos MS (m/z)	Fragmentos MS/MS (m/z)	Observações
1,695	<u>363</u> , 227	227, 159	Não identificado (C_1)
5,910	<u>384</u>	367, 323	Identificado como C_2
6,806	384	367, 323	Identificado como C_3
7,278	<u>366</u> , 349	349, 208, 160	Identificado como sendo a amoxicilina
12,251	<u>371</u> , 393	354, 337	Não identificado (C_4)
13,559	349	339, 295	Não identificado (C_5)
14,817	<u>453</u> , 475	436, 323	Não identificado (C_6)
15,165	567, 588	548, 436, 323	Não identificado (C_7)
15,908	340	323, 114	Identificado como C_8
16,516	340	323, 114	Identificado como C_9

A reacção de oxidação com reagente de Fenton ocorreu em meio aquoso e a pH ácido. Logo, tal como seria de esperar foram detectados e identificados picos referentes à hidrólise da molécula. Assim, pensa-se que a primeira etapa corresponderá à abertura do anel de quatro membros beta-lactâmico que conduz à formação dos estereoisómeros C_2 e C_3 do ácido penicilóico. Esta reacção será seguida por uma descarboxilação destes compostos, formando-se os intermediários C_8 e C_9 (Figura 98).

**Figura 98.** Proposta de via de degradação da amoxicilina com reagente de Fenton (*carbono quiral).

3.4.2. Processo de Fenton assistido por microondas

Nos últimos anos têm surgido diversos estudos sobre a aplicabilidade de microondas para promover a degradação oxidativa de diversos compostos refractários, devido à elevada rapidez do processo, elevada taxa de degradação e por ser uma tecnologia “limpa” para o meio ambiente (Cravotto *et al.*, 2007; Gromboni *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007; He *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009).

Neste trabalho, foi avaliada a capacidade das microondas favorecerem a degradação oxidativa da amoxicilina. A influência de alguns parâmetros operacionais também foi avaliada (potência do microondas, tempo de irradiação, quantidade inicial de peróxido de hidrogénio e de iões Fe^{2+}). Tanto quanto é do conhecimento da autora, não existe nenhum trabalho na literatura sobre a aplicabilidade deste método a soluções aquosas contendo amoxicilina.

3.4.2.1.1. Efeito da radiação com microondas

A utilização de microondas conduz a um mecanismo especial de aquecimento quando comparado com o aquecimento tradicional. O processo de aquecimento tradicional depende da transferência de calor para fornecer energia até a uma determinada profundidade de uma amostra. Já no processo de microondas o campo eléctrico existente no corpo da amostra permite que a energia seja rapidamente dissipada para além da superfície da amostra (Yang *et al.*, 2009). Por esta razão o aquecimento por microondas não depende da transferência de calor, diminuindo drasticamente o tempo de aquecimento.

Aquando da aplicação de microondas podem ocorrer diversos mecanismos de aquecimento dependendo da amostra em questão e da frequência da radiação, sendo no entanto, a polarização dipolar o mecanismo mais comum (Gromboni *et al.*, 2007). A polarização dipolar resulta da inércia intermolecular, responsável pela maioria do aquecimento por microondas de sistemas contendo solventes. Quando a molécula dipolar é submetida a um campo alternado de alta frequência, esta tenta girar de acordo com a alteração de direcção do campo eléctrico. A resistência a esta rotação molecular conduz à formação de uma quantidade substancial de energia que se transforma em calor (Remya e Li, 2011).

Submetendo uma solução de amoxicilina $450 \mu\text{g.L}^{-1}$ sem reagente de Fenton a radiação microondas (397 W) durante 5 min verificou-se uma degradação de cerca de 20%. Elmolla e Chaudhuri (2009c) analisaram a degradação da amoxicilina por efeito de radiação UV (6 W, 365 nm) tendo verificado que apenas 3% foi degradada após 5 h de exposição à radiação.

3.4.2.1.2. Efeito da potência do microondas

Para avaliar o efeito da potência do microondas foram efectuados diversos ensaios ($P = 163\text{--}700$ W), estando os resultados presentes na Figura 99. De acordo com esta figura, verificou-se que a partir de uma determinada potência (397 W) a degradação total da amoxicilina foi atingida ao fim de 5 minutos de reacção. Verificou-se também que a cinética de degradação é similar para valores de potência superiores a 397 W.

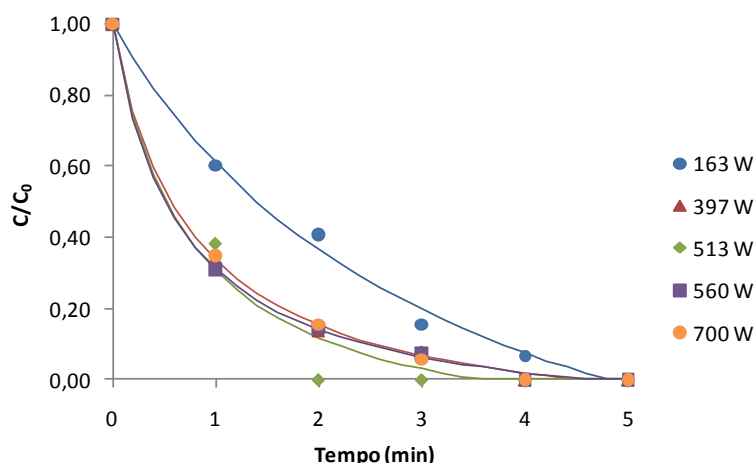


Figura 99. Efeito da potência do microondas na degradação da amoxicilina (concentração amoxicilina = $450\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, concentração $\text{H}_2\text{O}_2 = 2,35\text{ mg.L}^{-1}$, concentração $\text{Fe}^{2+} = 95\text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,5$).

Aumentando a potência do microondas, aumenta também a energia de polarização que conduz à vibração electrónica das moléculas, conduzindo a uma elevação na temperatura. Estes resultados indicam que, apesar de a uma potência superior se atingir uma temperatura mais elevada, a eficiência do processo não é significativamente alterada. Esta situação poderá estar relacionada com o facto de a temperaturas muito elevadas ocorrer a auto-decomposição do peróxido de hidrogénio (formação de H_2O e O_2), não estando por isso disponível para formar radicais hidroxilo.

3.4.2.1.3. Efeito da concentração inicial do peróxido de hidrogénio

A quantidade de peróxido de hidrogénio foi outro dos parâmetros estudados. Os resultados presentes na Figura 100 demonstram que, na gama estudada, a degradação da amoxicilina é melhorada pelo aumento da concentração de $0,00$ para $2,35\text{ mg.L}^{-1}$ (40% para 100% ao fim de 5 min) e a velocidade de degradação aumenta. Para concentrações superiores, ocorre também degradação total, mas a cinética de degradação é mais lenta do que utilizando $2,35\text{ mg.L}^{-1}$ de H_2O_2 .

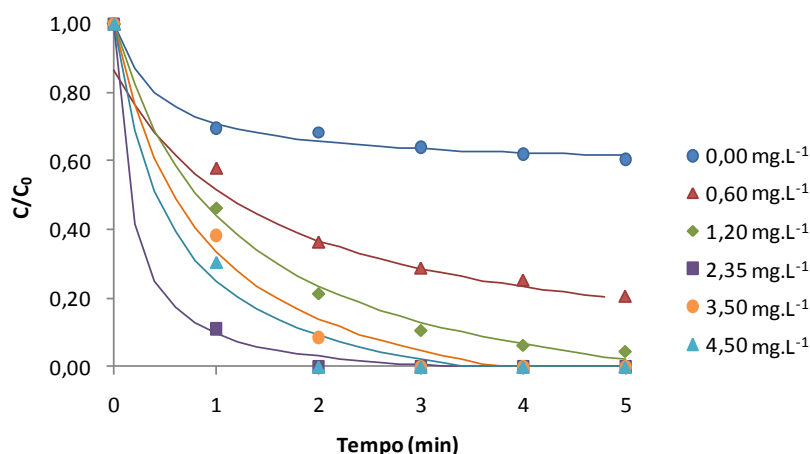


Figura 100. Efeito da concentração inicial de peróxido de hidrogénio na degradação da amoxicilina (concentração amoxicilina = 450 µg.L⁻¹, concentração Fe²⁺ = 95 µg.L⁻¹, potência = 397 W, pH = 3,5).

Quando se aplica radiação microondas o mecanismo de polarização dipolar (que conduz a um aumento substancial da temperatura num curto intervalo de tempo) estimula a formação de radicais hidroxilo a partir do oxidante (Reacção 13) (Remya e Lin, 2011):



Esta formação adicional de radicais conduz a uma degradação mais rápida do poluente. No entanto, tal como na oxidação tradicional com reagente de Fenton, para quantidades elevadas de H₂O₂ pode ocorrer um efeito inibitório, uma vez que este oxidante actua como *scavenger* de radicais.

3.4.2.1.4. Efeito da concentração inicial dos iões Fe²⁺

Neste trabalho, foi também estudada a influência da concentração dos iões Fe²⁺ (Figura 101). Na gama estudada verificou-se que um aumento na concentração de Fe²⁺ conduziu a um aumento na taxa de degradação da amoxicilina. É natural que uma maior quantidade de Fe²⁺ em solução acelere o processo de oxidação, mas também influencia o mecanismo de polarização dieléctrica. A presença de iões em solução, aumentam a quantidade de energia a ser dissipada e consequentemente a temperatura da solução.

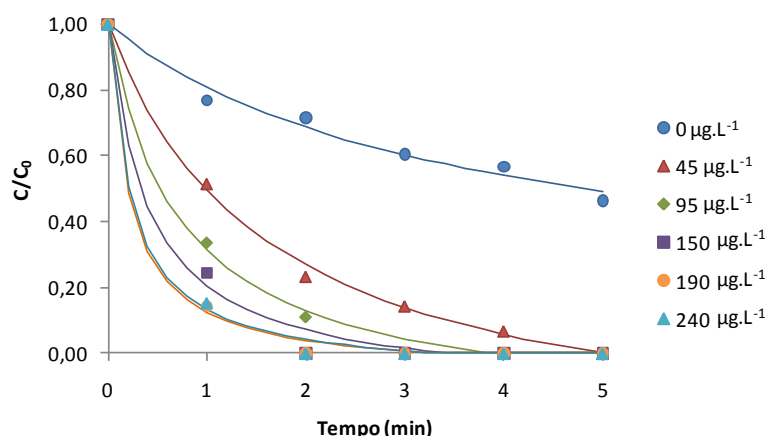


Figura 101. Efeito da concentração inicial de iões Fe^{2+} na degradação da amoxicilina (concentração amoxicilina = 450 $\mu g.L^{-1}$, concentração H_2O_2 = 2,35 $mg.L^{-1}$, potência = 397 W, pH = 3,5).

3.4.2.1.5. Efeito do tempo de reacção

Analisando os resultados obtidos pode observar-se que se forem utilizadas baixas concentrações de oxidante e catalisador, o tempo necessário para degradar totalmente a amoxicilina é mais longo, embora bastante inferior ao necessário aplicando a metodologia tradicional de oxidação com reagente de Fenton. Tal como na oxidação tradicional é necessário assumir um compromisso entre a quantidade de reagentes e o tempo de tratamento.

3.4.2.1.6. Comparação entre o processo de Fenton tradicional e o processo assistido por microondas

Os resultados obtidos na oxidação com reagente de Fenton foram comparados com os obtidos no processo assistido por microondas (Figura 102). Para o mesmo tempo de reacção (5 min) observou-se que a taxa de degradação é sempre superior para a metodologia em que as microondas são aplicadas. Este facto já tinha sido mencionado na literatura por diversos autores (Gromboni *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2009). Uma questão que se coloca neste tipo de metodologia é a sua aplicabilidade industrial (necessidade de uma montagem experimental especial: reactor de vidro, sistema de geração de microondas, permutadores de calor, controladores de temperatura e pressão, válvulas de controlo, etc.) devido aos custos de investimento e manutenção dos equipamentos.

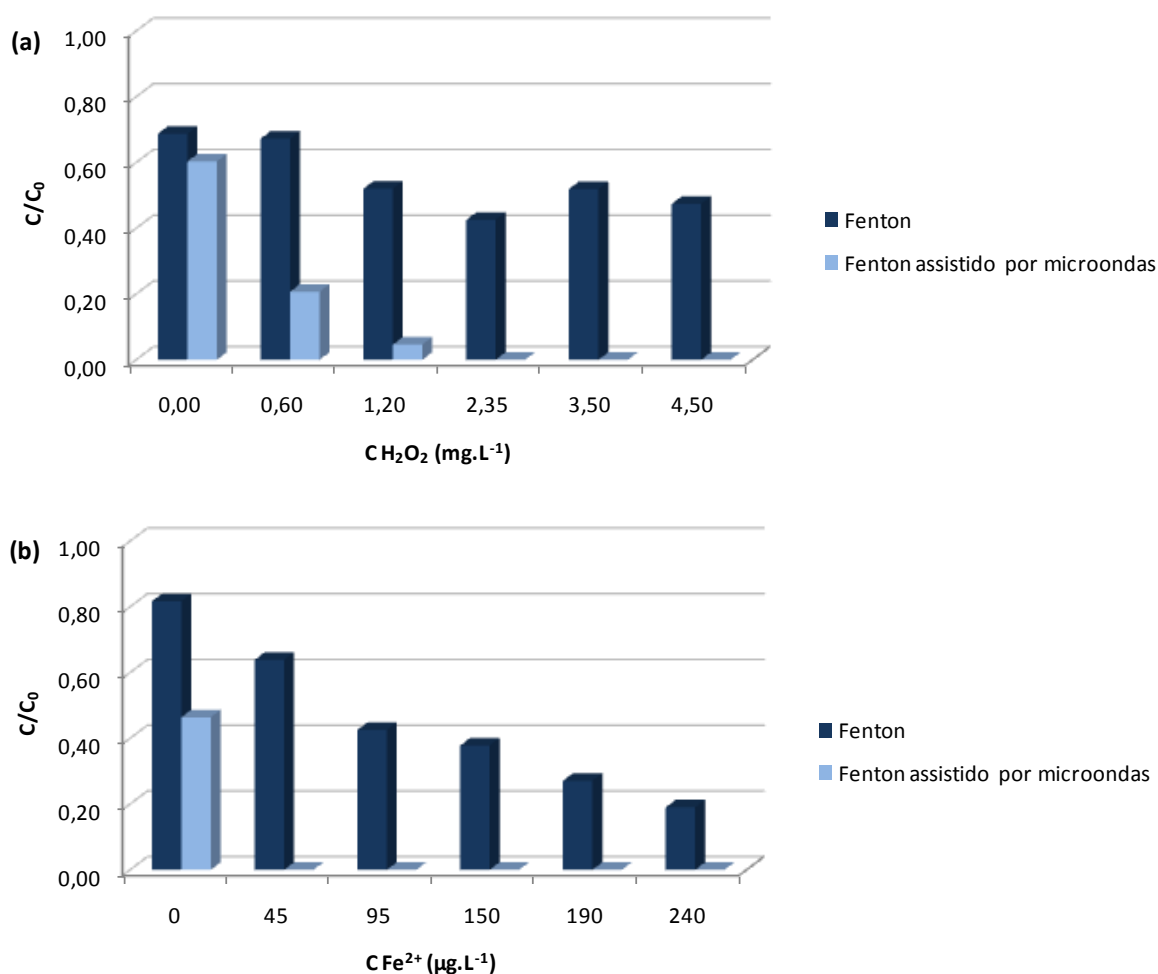


Figura 102. Comparação entre a oxidação de Fenton tradicional e a oxidação de Fenton assistida por microondas: **(a)** efeito da variação da concentração inicial de peróxido de hidrogénio e **(b)** efeito da variação da concentração inicial de iões Fe^{2+} .

3.5. Comparação entre os métodos de adsorção e de oxidação de Fenton

O processo de adsorção possui a vantagem de remover os poluentes em vez de produzir novos compostos que podem ser potencialmente mais perigosos do que os originais. Contudo, este processo não permite a remoção efectiva dos contaminantes, mas apenas a sua transferência para uma nova fase (adsorvente), aonde vão estar numa forma mais concentrada (mesma quantidade retida num menor volume). Este novo resíduo necessita de ser subsequentemente tratado (por exemplo, incineração, aterro, reactivação térmica – muitas vezes modifica a estrutura do material, aumentando a sua área superficial). Outra desvantagem desta metodologia é a necessidade de separar o adsorvente do efluente tratado, embora em sistema contínuo (coluna) esta desvantagem não exista. Contudo, a adsorção é uma tecnologia simples e normalmente capaz de atingir elevadas eficiências. Esta pode ser aplicada a matrizes aquosas contendo elevados níveis de matéria orgânica ou elevadas quantidades de antibióticos.

O tratamento com reagente de Fenton em sistema homogéneo conduz à oxidação dos compostos orgânicos, mas a mineralização total (produção de CO_2 e H_2O) pode não ser conseguida. Por esta razão, produtos intermediários potencialmente mais perigosos do que os compostos originais podem formar-se. As principais desvantagens desta metodologia são a necessidade de trabalhar numa gama relativamente apertada de valores de pH ($\text{pH} = 3,0\text{-}3,5$), necessidade de neutralizar o efluente após o seu tratamento e de recuperar o catalisador através da subida do pH. O aumento do valor de pH para valores superiores a 4 conduz à precipitação de hidróxidos de ferro, sendo necessária uma etapa adicional para remover esta lama produzida do efluente tratado. É de salientar que em Portugal existem valores limite para a emissão de ferro nas águas residuais (não deve exceder 2 mg.L^{-1}), bem como de pH (deve estar contido no intervalo entre 6,0 e 9,0) (Decreto Lei n.º 236/98). No entanto, a oxidação com reagente de Fenton tem a vantagem de utilizar reagentes de baixa toxicidade, de não ter limitações a nível de transferência de massa (considerando o processo homogéneo) e permitir obter elevadas eficiências utilizando uma tecnologia simples. Esta metodologia pode ser aplicada ao tratamento de efluentes com elevadas concentrações de CQO, mas não deve ser utilizada no tratamento de águas contendo elevadas concentrações de iões (como a água do mar), uma vez que Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} e HCO_3^- actuam como *scavengers* dos radicais hidroxilo.

A partir dos dados obtidos neste estudo foi possível verificar-se que ambos os métodos reduziram a quantidade de amoxicilina nas matrizes aquosas. Enquanto a oxidação foi apenas efectiva numa gama de pH entre 3,5 e 4,5, a adsorção pode ser aplicada com sucesso a valores de pH ácido ($\text{pH} = 3,5$) ou a pH neutro. Por outro lado, a reacção de Fenton foi favorecida pelo aumento da temperatura (processo endotérmico), enquanto a adsorção pela sua diminuição (processo exotérmico).

Tendo em conta as vantagens e as desvantagens apresentadas para cada um dos tratamentos e os resultados obtidos é difícil afirmar qual destes métodos é o mais adequado para degradar/remover a amoxicilina de matrizes aquosas. Por esta razão, foi efectuada uma estimativa de custos dos reagentes envolvidos em cada uma destas tecnologias.

Uma análise de custos completa deverá considerar o capital, bem como os custos de operação e de manutenção. Neste trabalho os custos energéticos relacionados com o funcionamento de bombas, agitação, controlo do processo e aquecimento/arrefecimento do efluente não foram considerados, uma vez que os custos energéticos por unidade de efluente tratado à escala laboratorial devem ser cerca de 100 vezes superiores aos de uma planta em grande escala (Bauer e Fallmann, 1997). Os custos relacionados com operações adicionais necessárias como a neutralização, tratamento de lamas e adsorvente também não foram tidos em consideração. Portanto, foi apenas efectuada uma estimativa bruta dos custos totais dos reagentes para estes processos à escala laboratorial.

Os custos médios do oxidante (H_2O_2), catalisador ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), ácido de ajuste do pH (H_2SO_4) e material adsorvente (casca de amêndoa carbonizada) encontram-se discriminados na Tabela 47.

Tabela 47. Estimativa dos preços para os reagentes usados (Cortez *et al.*, 2011, ICIS.com)

Reagente	Unidade	Preço (€)
H_2O_2 (30%)	L	0,330
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	kg	0,134
H_2SO_4	kg	0,063
Adsorvente*	kg	0,144

* O preço do adsorvente foi estimado com base nos custos de carbonização

O preço do adsorvente foi estimado considerando os custos relativos ao processo de carbonização ($P = 1,2$ kW, tempo de operação = 2 horas, 1,5 kg de adsorvente preparado, 0,090 €/kWh). O custo estimado dos reagentes, expressos em $\text{€} \cdot \text{kg}^{-1}$ de amoxicilina removida, encontram-se na Tabela 48.

Tabela 48. Custos totais dos reagentes para a remoção/degradação total da amoxicilina (concentração inicial de amoxicilina = $450 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

Método	Condições operatórias				Custos totais (€.kg ⁻¹ amoxicilina removida)	
Adsorção	pH	T (°C)	Capacidade do adsorvente (mg.g ⁻¹)	t (min)		
	6,5	30	2,5	300	57,60	
	6,5	20	3,6	300	40,00	
	6,5	10	3,2	300	45,00	
	3,5	30	2,5	300	59,85	
Fenton	pH	T (°C)	[H ₂ O ₂] (mg.L ⁻¹)	[Fe ²⁺] (µg.L ⁻¹)	t (min)	Custos totais (€.kg ⁻¹ amoxicilina removida)
	4,5	40	2,35	95	90	5,51
	3,5	40	2,35	95	90	
	3,5	35	2,35	95	120	
	3,5	50	2,35	95	60	7,49
	3,5	60	2,35	95	30	
	3,5	40	0,60	95	120	3,63
	3,5	40	1,20	95	120	4,96
	3,5	40	3,50	95	60	10,02
	3,5	40	4,50	95	90	12,22
	3,5	40	2,35	45	90	7,43
	3,5	40	2,35	150	60	7,56
	3,5	40	2,35	190	30	7,60
	3,5	40	2,35	240	15	7,67

Como se pode verificar, os custos dos reagentes para a adsorção são muito superiores aos obtidos para a oxidação com reagente de Fenton (cerca de 10 vezes). Para além disso, os tempos de tratamento são mais longos para o processo de adsorção. Contudo, os custos energéticos podem ser superiores para a oxidação de Fenton, uma vez que são necessárias temperaturas de operação mais elevadas para obter elevadas degradações. Logo, do ponto de vista dos custos energéticos, a oxidação de Fenton pode ser mais apropriada para efluentes que estejam disponíveis a elevadas temperaturas. Para temperaturas baixas seria necessário efectuar-se uma análise de custos mais cuidada, dado que os baixos custos dos reagentes podem ser compensados pelos elevados custos energéticos necessários para manter o efluente à temperatura desejada. Neste último caso, a remoção da amoxicilina através da adsorção poderia constituir a escolha mais viável.

No entanto é importante não esquecer que a adsorção promove a remoção efectiva do poluente da matriz em que se encontra através de um processo de transferência de massa para outro meio (o adsorvente), enquanto na oxidação com reagente de Fenton ocorre a degradação do composto, não estando por isso assegurada a completa mineralização.

Elmolla e Chaudhuri (2010c) também efectuaram um estudo comparativo de metodologias de oxidação avançadas (oxidação de Fenton, foto-Fenton, fotocatalise heterogénea com ZnO ou TiO₂) que foram aplicadas ao tratamento de efluentes contendo amoxicilina. Segundo estes autores todos os processos conduziram à completa degradação do antibiótico, mas os tempos de tratamento e os graus de mineralização obtidos foram bastante diferentes. Na oxidação com reagente de Fenton 52% do analito foi mineralizado após 50 min de tratamento e totalmente degradado ao fim de 2 min. Já o tratamento durante 50 min por oxidação com foto-Fenton conduziu a um ligeiro aumento no grau de mineralização (58%), tendo-se obtido a mesma degradação no mesmo intervalo de tempo. O processo de foto-Fenton utilizou menores quantidades de reagentes (razão molar CQO/H₂O₂/Fe²⁺ = 1:1,5:0,075 no processo de foto-Fenton e CQO/H₂O₂/Fe²⁺ = 1:3:0,30 no processo de Fenton). Os ensaios de fotocatalise foram bastante mais morosos e bastante mais dispendiosos (preço elevado do fotocatalisador) e conduziram a taxas de degradação elevadas, mas a baixas taxas de mineralização (15%). Segundo a estimativa de custos efectuada por Elmolla e Chaudhuri, o processo de foto-Fenton e o de Fenton parecem ser os que possuem uma relação preço-eficiência mais apelativa. Mais uma vez é preciso ter em atenção que não foram efectuados ensaios de ecotoxicidade, tendo-se apenas verificado um aumento da biodegradabilidade do efluente (CBO₅/CQO = 0,36).

Outra questão importante é a utilização da casca de amêndoa como adsorvente alternativo ao carvão activado. Tanto quanto é do conhecimento da autora, até ao momento não foi publicado

nenhum estudo sobre a aplicabilidade da adsorção utilizando este material excedentário na remoção da amoxicilina de águas contaminadas, nem que comparasse a sua eficiência com o carvão activado.

Como foi mencionado anteriormente, o carvão activado é um adsorvente bastante dispendioso e, na maioria dos casos, difícil de regenerar. Segundo os resultados obtidos neste estudo, a capacidade máxima de adsorção de amoxicilina na casca de amêndoa carbonizada rondou os 4 mg.g^{-1} , enquanto no carvão activado cerca de 200 mg.g^{-1} (Putra *et al.*, 2009). Ou seja, o carvão activado tem uma capacidade de adsorção 50 vezes superior à da casca de amêndoa carbonizada. Considerando que o seu preço de mercado pode atingir os $15\text{€}.\text{kg}^{-1}$, então o preço para remover 1 kg de amoxicilina rondaria os 75€. Já o preço para remover 1 kg de amoxicilina utilizando casca carbonizada seria de cerca de 35€. Ou seja, o processo seria cerca de 50% menos dispendioso. Para além disso, a estimativa do preço da casca de amêndoa foi efectuada tendo em conta os dados laboratoriais, podendo o seu valor, à escala industrial ser menor. A casca de amêndoa constitui uma boa alternativa ao carvão activado.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES

4. CONCLUSÕES

Neste trabalho estudaram-se duas metodologias diferentes para o tratamento de águas contaminadas com amoxicilina: a adsorção em casca de amêndoa e a oxidação com reagente de Fenton. Os resultados referentes à adsorção com casca de amêndoa carbonizada demonstraram que este material é um bom adsorvente e pode ser utilizado como alternativa aos adsorventes convencionais. O processo de adsorção revelou ser dependente da quantidade de adsorvente, da concentração inicial de amoxicilina e do tamanho das partículas de adsorvente. Embora os ensaios cinéticos tenham apontado para 400 min como o tempo necessário para atingir 97% de remoção, os dados de equilíbrio foram obtidos após 720 min (12 horas). Foram estabelecidos como condições óptimas de adsorção: 50 mg de adsorvente, 303 K e diâmetro da partícula = 600 μm . Os resultados experimentais permitiram concluir que o modelo cinético de pseudo-segunda ordem e a isotérmica de Langmuir representavam adequadamente o processo de adsorção ($q_{\text{máx}} = 2\text{-}4 \text{ mg.g}^{-1}$). Os parâmetros termodinâmicos foram também avaliados neste estudo, indicando que o processo de adsorção é exotérmico ($\Delta H^0 < 0$) e espontâneo ($\Delta G^0 < 0$). Nos ensaios de dessorção obtiveram-se baixas eficiências (máximo de 5%). A combinação de baixas eficiências de dessorção com o facto do modelo cinético de pseudo-segunda ordem ser aquele que melhor prevê o comportamento experimental sugere que a adsorção química é a etapa controlante. Por outro lado, os resultados termodinâmicos apontam para que a adsorção física seja a principal etapa deste processo (E_a : 5-40 kJ.mol^{-1} e $\Delta H^0 < 40 \text{ kJ.mol}^{-1}$).

Para além dos ensaios em sistema fechado, foram realizados estudos de adsorção numa coluna de leito fixo (sistema contínuo). Nesses ensaios foi avaliada a influência da concentração da amoxicilina no efluente a tratar, da altura do leito e do caudal de alimentação na capacidade de adsorção da coluna.

Concluiu-se que o aumento da concentração da amoxicilina no efluente de alimentação conduziu ao aumento da capacidade de adsorção da coluna e à diminuição do tempo de *breakthrough* (maior quantidade de amoxicilina introduzida por unidade de tempo). Verificou-se que a capacidade de adsorção da coluna aumentou com o aumento da altura do leito e a diminuição do caudal de alimentação. Em nenhuma das experiências foi atingida a saturação da coluna, mesmo naquelas em que os tempos de operação foram bastante elevados. Ao contrário do que seria esperado, em alguns ensaios formou-se um patamar para valores da concentração adimensionais bastante inferiores à unidade. Pensa-se que em alguns casos ocorreu a degradação da amoxicilina, uma vez que nas análises de HPLC de algumas amostras foram detectados picos desconhecidos que poderão estar relacionados com produtos de degradação deste composto. De modo a modelizar o comportamento

da coluna de adsorção em leito fixo foram aplicados os modelos teóricos de Bohart-Adams, BDST, Thomas e Yoon-Nelson aos dados experimentais. Os parâmetros característicos de cada um dos modelos foram determinados por regressão não linear. Estes modelos mostraram-se incapazes de prever satisfatoriamente o comportamento experimental. Na verdade, a forma das curvas de ruptura obtidas é bastante diferente da teórica (curvas em forma de S), podendo indicar que o processo de adsorção em sistema contínuo é irreversível e que a etapa controlante é a difusão nos poros.

Neste estudo, foi também estudada a oxidação da amoxicilina por reagente de Fenton. Verificou-se que este processo depende de diversas variáveis, nomeadamente a concentração do peróxido de hidrogénio e de Fe^{2+} , temperatura e pH. Foram efectuados alguns ensaios preliminares, considerando o efeito de cada variável independentemente e mantendo todas as outras condições constantes. Estas experiências foram efectuadas de modo a estabelecer as gamas de trabalho e estabelecer o valor de pH mais apropriado para a reacção (pH = 3,5).

Após estes ensaios, foi aplicado um desenho experimental para avaliar o efeito da concentração de H_2O_2 , Fe^{2+} e temperatura na degradação da amoxicilina ($450 \mu\text{g.L}^{-1}$) após 30 min de tratamento a pH = 3,5. Os resultados experimentais foram ajustados a um modelo de segunda ordem. Esta metodologia permitiu concluir que entre estas três variáveis, apenas a temperatura e a concentração de Fe^{2+} afectam estatisticamente a resposta (concentração adimensional de amoxicilina após 30 min). Para além disso, concluiu-se que o efeito de cada variável depende do valor das outras devido à existência de interacções cruzadas. Assim, cada uma das variáveis pode influenciar positiva ou negativamente a degradação da amoxicilina. O modelo prevê que a degradação total da amoxicilina pode ser obtida numa gama alargada de condições (concentração de peróxido de hidrogénio = 3,50-4,28 mg.L^{-1} , concentração de Fe^{2+} = 254-350 $\mu\text{g.L}^{-1}$, temperatura = 20-40 °C). Os efluentes tratados segundo esta metodologia foram posteriormente analisados em LC-MS de modo a avaliar a formação de produtos de degradação (e, indirectamente o grau de mineralização). Diversos compostos intermediários foram detectados, mas apenas foi possível identificar dois deles (produtos de hidrólise).

Foram também efectuadas experiências de oxidação com reagente de Fenton assistida por microondas. A utilização da radiação microondas aumentou significativamente a taxa de degradação (afectando a cinética do processo) da amoxicilina. Considerando condições operatórias semelhantes, o processo assistido por microondas permitiu degradar totalmente o antibiótico ao fim de 5 min, enquanto o processo de Fenton tradicional demorou cerca de 90 min.

Os resultados obtidos demonstraram que quer a adsorção em casca de amêndoa carbonizada, quer a oxidação com reagente de Fenton são métodos promissores para o tratamento de águas contaminadas com este antibiótico.

Os resultados obtidos foram comparados com os poucos estudos existentes na literatura. No entanto, é necessário ter em conta que esses estudos utilizam concentrações iniciais de amoxicilina bastante superiores às encontradas no meio ambiente.

Comparando os resultados de adsorção com os existentes na literatura verificou-se que o processo de adsorção de amoxicilina com carvão activado (Putra *et al.*, 2009) foi modelizado através de uma cinética de pseudo-segunda ordem ($k_2 \approx 100 \text{ g.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) e uma isotérmica de Langmuir ($q_{\text{máx}} = 200 \text{ mg.g}^{-1}$), apresentando um comportamento semelhante neste trabalho. No entanto, a capacidade máxima de remoção do carvão activado é bastante superior ao da casca de amêndoa carbonizada (máximo de 4 mg.g^{-1}) e a cinética de adsorção bastante mais rápida (um comportamento semelhante foi observado no estudo com carvão activado efectuado neste trabalho). Esta situação estará relacionada com o facto do carvão activado possuir uma área superficial bastante superior ($1093 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$), possuindo assim um maior número de centros activos disponíveis para a adsorção. Tendo em conta estes resultados, é necessária uma maior quantidade de casca de amêndoa carbonizada e provavelmente um maior tempo de contacto para remover a mesma quantidade de amoxicilina. No entanto, o custo do carvão activado é bastante superior ao deste material natural após carbonização, acabando pelo processo de adsorção com casca carbonizada poder apresentar uma relação custo-eficiência mais apelativa do que o carvão activado. Para corroborar esta ideia seria necessário efectuar uma análise de custos bastante mais aprofundada.

Na literatura também estão descritas algumas metodologias para degradação de amoxicilina de matrizes aquosas aplicando métodos avançados de oxidação (ozonólise, Fenton, foto-Fenton e catálise heterogénea). De entre estes métodos, a catálise heterogénea e a ozonólise apresentam a relação eficiência/custo mais baixa. Ou seja, os teores de amoxicilina degradados são baixos ou então é necessário um elevado tempo de tratamento para os atingir (Andreozzi *et al.*, 2005; Elmolla e Chaudhuri, 2010a,b). Por outro lado, as taxas de mineralização obtidas são bastante baixas (cerca de 15%) e a biodegradabilidade dos efluentes é praticamente inalterada, ou até aumenta, corroborando a hipótese de que os produtos intermediários da reacção são mais tóxicos do que os compostos originais. Para além disso, a produção de ozono acarreta elevados custos de equipamento e de energia e no caso da fotocatalise heterogénea os catalisadores são bastante dispendiosos. A nível processual, a ozonólise está limitada por questões de transferência de massa, necessitando de maiores quantidades de oxidante para tratar a mesma carga de poluente. A fotocatalise heterogénea não tem aplicabilidade industrial, uma vez que a necessidade de elevadas quantidades de catalisador tornam o efluente opaco, diminuindo a capacidade de penetração de radiação e, consequentemente, a eficiência do processo. Para além disso, é necessário após o tratamento separar as finas partículas em suspensão do efluente tratado, o que acarreta custos acrescidos ao processo.

Na literatura, os autores apontam para que os processos de Fenton e foto-Fenton sejam aqueles que possuem uma relação eficiência/custo mais apelativa (Elmolla e Chaudhuri, 2009a,b,c; Ay e Kargi, 2010). De um modo geral, estas técnicas conduziram a elevadas taxas de degradação após curtos períodos de tempo e a taxas moderadas de mineralização (37-60%). São técnicas consideradas “limpas” e utilizam reagentes não tóxicos e de baixos custos. Os resultados obtidos vêm corroborar os obtidos na literatura. Embora, na maioria dos estudos o efluente tratado possua uma biodegradabilidade superior ao efluente inicial, é essencial efectuar-se um estudo da ecotoxicidade do efluente, despistando a possibilidade dos produtos intermediários da reacção produzidos serem mais tóxicos do que o composto original.

Desta forma pode-se afirmar que ambos os métodos abordados neste trabalho são eficientes e de baixo custo, vindo assim este estudo demonstrar a possível utilização destas técnicas na descontaminação de águas contendo amoxicilina.

SUGESTÕES PARA TRABALHO FUTURO

Neste trabalho foi estudada a adsorção em casca de amêndoa carbonizada e a oxidação por reagente de Fenton de um dos antibióticos mais consumidos em Portugal, a amoxicilina. Foram estudadas diversas variáveis processuais e estimaram-se alguns parâmetros que permitem prever a capacidade de remoção/degradação da amoxicilina. Contudo, alguns dos aspectos que se julgam de maior importância, e que poderiam ser estudados num trabalho futuro são:

- Estudo mais aprofundado do mecanismo de adsorção, nomeadamente com ensaios em contínuo;
- Desenvolvimento/aplicação de modelos de adsorção que descrevam adequadamente a realidade experimental (enfoque para o sistema contínuo);
- Avaliação da regeneração do material adsorvente;
- Estudo mais aprofundado sobre os produtos intermediários de degradação por reagente de Fenton;
- Avaliação da ecotoxicidade dos efluentes tratados por oxidação;
- Estudo da degradação da amoxicilina por oxidação com foto-Fenton, dando maior relevância à utilização de luz solar;
- Estudo da aplicação de métodos combinados com os anteriores;
- Realização de experiências com outras matrizes reais (efeito competitivo de interferentes na matriz);
- Estudo económico que fundamente as perspectivas promissoras da utilização destas metodologias à escala industrial;
- Alargamento do estudo, testando as condições óptimas determinadas para cada um dos processos, a outros antibióticos pertencentes a classes distintas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdessalem, A.K., Oturan, N., Bellakhal, N., Dachraoui, M., Oturan, M.A., 2008. Experimental design methodology applied to electron-Fenton treatment for degradation of herbicide chlortoluron. *Appl. Catal. B.: Environ.* 78, 334-341
- Abellán, M.N., Bayarri, B., Giménez, J., Costa, J., 2007. Photocatalytic degradation of sulfamethoxazole in aqueous suspension of TiO₂. *Appl. Catal., B* 74, 233-241
- Abia, A.A., Didi, O.B., Asuquo, E.D., 2006. Modelling of Cd²⁺ sorption kinetics from aqueous solutions onto some thiolated agricultural waste adsorbents. *J. Applied. Sci.* 6, 2549-2556
- Abramian, L., El-Rassy, H., 2009. Adsorption kinetics and thermodynamics of azo-dye orange II onto highly porous titania aerogel. *Chem. Eng. J.* 150, 403-410
- Acero, J.L., Benitez, F.J., Real, F.J., Roldan, G., 2010. Kinetics of aqueous chlorination of some pharmaceuticals and their elimination from water matrices. *Water Res.* 44, 4158-4170
- Achille, G.N., Yilian, L., 2010. Mineralization of organic compounds in wastewater contaminated with petroleum hydrocarbon using Fenton's reagent: a kinetic study. *J. Am. Sci.* 6, 58-66
- Achyuthan, K.E., Achyuthan, A.M., Adams, P.D., Dirk, S.M., Harper, J.C., Simmons, B.A., Singh, A.K., 2010. Supramolecular Self-Assembled Chaos: Polyphenolic Lignin's Barrier to Cost-Effective Lignocellulosic Biofuels. *Molecules* 15, 8641-8688
- Adams, C., Asce, M., Wang, Y., Loftin, K., Meyer, M., 2002. Removal of Antibiotics from surface and distilled water in conventional water treatment processes. *J. Environ. Eng.* 128, 253-260
- Addamo, M., Augugliaro, V., Di Paola, A., Gracia-López, E., Loddo, V., Marci, G., Palmisano, L., 2005. Removal of drugs in aqueous systems by photoassisted degradation. *J. Appl. Electrochem.* 35, 765-774
- Agilent Technologies, 2001. Basics of LC/MS. www.agilent.com/chem (acedido em Julho de 2011)
- Ahmad, A.A., Hameed, B.H., 2010. Fixed-bed adsorption of reactive azo dye onto granular activated carbon prepared from waste. *J. Hazard. Mater.* 175, 298-303
- Ahmedna, M., Johns, M.M., Clarck, S.J., Marshal, W.E., Rao, R.M., 1997. Potential of agricultural by-product-based activated carbons for use in raw sugar decolourisation. *J. Sci. Food Agric.* 75, 117-124
- Aksu, Z., Gönen, F., 2004. Biosorption of phenol by immobilized activated sludge in a continuous packed bed: prediction of breakthrough curves. *Process Biochem.* 39, 599-613

- Albersheim, P., Darvill, A., Roberts, K., Sederoff, R., Staehelin, A., 2010. Plant cell walls. Garland Science, New York, USA
- Al-Degs, Y.S., Khraisheh, M.A.M, Allen, S.J., Ahmad, M.N., 2009. Adsorption characteristics of reactive dyes in columns of activated carbon. *J. Hazard. Mater.* 165, 944-949
- Amuda, O.S., Giwa, A.A., Bello, I.A., 2007. Removal of heavy metal from industrial wastewater using modified activated coconut shell carbon. *Biochem. Eng. J.* 36, 174-181
- Andreozi, R., Canterino, M., Marotta, R., Paxeus, N., 2005. Antibiotic removal from wastewaters: The ozonation of amoxicillin. *J. Hazard. Mater.* 122, 243-250
- Andreozi, R., Caprio, V., Ciniglia, C., De Champdore, M., Lo Giudice, R., Marotta, R., Zuccato, E., 2004. Antibiotics in the environment: occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin. *Environ. Sci. Technol.* 38, 6832-6838
- Andreozi, R., Caprio, V., Insola, A., Marotta, R., 1999. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catal. Today* 53, 51-59
- Anotai, J., Lu, M.-C., Chewpreecha, P., 2006. Kinetics of aniline degradation by Fenton and electro-Fenton processes. *Water Res.* 40, 1841-1847
- Arami, M., Limaee, N.Y., Mahmoodi, N.M., Tabrizi, N.S., 2006. Equilibrium and kinetics studies for the adsorption of direct and acid dyes from aqueous solution by soy meal hull. *J. Hazard. Mater.* 135, 171-179
- Ardejani, F.D., Badii, K., Limaee, N.Y., Shafaei, S.Z., Mirhabibi, A.R., 2008. Adsorption of direct red 80 dye from aqueous solution onto almond shells: effect of pH, initial concentration and shell type. *J. Hazard. Mater.* 151, 730-737
- Arikan, O.A., 2008. Degradation and metabolization of chlortetracycline during the anaerobic digestion of manure from medicated calves. *J. Hazard. Mater.* 158, 485-490
- Aroua, M.K., Leong, S.P.P., Teo, L.Y., Yin, C.Y., Daud, W.M.A.W, 2008. Real-time determination of kinetics of adsorption of lead (II) onto palm shell-based activated carbon using ion selective electrode. *Bioresour. Technol.* 99, 5786-5792
- Arslan-Alaton, I., Caglayan, A.E., 2005. Ozonation of Procaine Penicillin G formulation effluent. Part I: Process optimization and kinetics. *Chemosphere* 59, 31-39
- Arslan-Alaton, I., Caglayan, A.E., 2006. Toxicity and biodegradability assessment of raw and ozonated procaine penicillin G formulation effluent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 63, 131-140

- Arslan-Alaton, I., Dogruel, S., 2004. Pre-treatment of penicillin formulation effluent by advanced oxidation processes. J. Hazard. Mater. B112, 105-113
- Arslan-Alaton, I., Dogruel, S., Baykal, E., Gerone, G., 2004. Combined chemical and biological oxidation of penicillin formulation effluent. J. Environ. Manage. 73, 155-163
- Arslan-Alaton, I., Gurses, F., 2004. Photo-Fenton-like and Fenton-like oxidation of Procaine Penicillin G formulation effluent. J. Photochem. Photobiol., A 165, 165-175
- Arslan-Alaton, I., Tureli, G., Olmez-Hanci, T., 2009. Treatment of azo dye production wastewaters using Photo-Fenton like advanced oxidation processes: optimization by response surface methodology. J. Photochem. Photobiol. A 202, 142-153
- Augugliaro, V., García-López, E., Loddo, V., Malato-Rodríguez, S., Maldonado, I., Marci, G., Molinari, R., Palmisano, L., 2005. Degradation of lincomycin in aqueous medium: Coupling of solar photocatalysis and membrane separation. Sol. Energy 79, 402-408
- Ay, F., Catalkaya, E.C., Kargi, F., 2009. A statistical experiment design approach for advanced oxidation of Direct Red azo-dye by photo-Fenton treatment. J. Hazard. Mater. 162, 230-236
- Bailón-Pérez, M.I., Garcia-Campaña, A.M., Cruces-Blanco, C., del Olmo Iruela, M., 2008. Trace determination of β -lactam antibiotics in environmental aqueous samples using off-line and on-line preconcentration in capillary electrophoresis. J. Chromatogr. A 1185, 273-280
- Balcıoğlu, I.A., Ötoker, M., 2003. Treatment of pharmaceutical wastewater containing antibiotics by O_3 and O_3/H_2O_2 processes. Chemosphere 50, 85-95
- Bannister, B., 2000. Lincosaminides, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology, John Wiley & Sons, New York
- Baral, S.S., Das, N., Ramulu, T.S., Sahoo, S.K., Das, S.N., Chaudhury, G.R., 2009. Removal of Cr(VI) by thermally activated weed *Salvinia cucullata* in a fixed-bed column. J. Hazard. Mater. 161, 1427-1435
- Baran, W., Sochacka, J., Wardas, W., 2006. Toxicity and biodegradability of sulfonamides and products of their photocatalytic degradation in aqueous solutions. Chemosphere 65, 1295-1299
- Batt, A.L., Kim, S., Aga, D.S., 2007. Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations. Chemosphere 68, 428-435
- Batt, A.L., Snow, D.D., Aga, D.S., 2006. Occurrence of sulphonamide antimicrobials in private water wells in Washington County, Idaho, USA. Chemosphere 64, 1963-1971

- Bauer, R, Fallmann, H., 1997. The photo-Fenton oxidation-A cheap and efficient wastewater treatment method. *Res. Chem. Intermed.* 23, 341-354
- Bautista, P., Mohedano, A.F., Gilarranz, M.A., Casas, J.A., Rodriguez, J.J., 2007. Application of Fenton oxidation to cosmetic wastewaters treatment. *J. Hazard. Mater.* 143, 128–134
- Bautitz, I.R., Nogueira, R.F.P., 2007. Degradation of tetracycline by photo-Fenton process – Solar irradiation and matrix effect. *J. Photochem. Photobiol., A* 187, 33-39
- Bautitz, I.R., Nogueira, R.F.P., 2010. Photodegradation of lincomycin and diazepam in sewage treatment plant effluent by photo-Fenton process. *Catal. Today* 151, 94-99
- Bebu, R., Szabó, L., Leopold, N., Berindean, C., David, L., 2011. IR, Raman, SERS and DFT study of amoxicillin. *J. Mol. Struct.* 993, 52-56
- Becker, M., Zittlau, E., Petz, M., 2004. Residue analysis of 15 penicillins and cephalosporins in bovine muscle, kidney and milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 520, 19-32
- Behnajady, M.A., Modirshahla, N., Ghanbary, F., 2007. A kinetic model for the decolorization of C.I. Acid Yellow 23 by Fenton process. *J. Hazard. Mater.* 148, 98-102
- Benito-Peña, E., Partal-Rodera, A.I., León-González, M.E., Moreno-Bondi, M.C., 2006. Evaluation of mixed mode solid phase extraction cartridges for the preconcentration of beta-lactam antibiotics in wastewater using liquid chromatography with UV-DAD detection. *Anal. Chim. Acta* 556, 415-422
- Bergman, M., Nyberg, S.T., Huovinen, P., Paakkari, P., Hakanen, A.J., The Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance, 2009. Association between antimicrobial consumption and resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 912-917
- Binnie, C., Kimber, M., Smethurst, G., 2002. Basic water treatment. Thomas Telford Ltd., 3rd ed.
- Bobu, M., Yediler, A., Siminiceanu, I., Schulte-Hostede, S., 2008. Degradation studies of ciprofloxacin on a pillared iron catalyst. *Appl. Catal., B* 83, 15-23
- Boehm, H.P., 2002. Surface oxides on carbon and their analysis: a critical assessment. *Carbon* 40, 145-149
- Borders, D., 2000. Antibiotics, Survey in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- Boreen, A.L., Arnold, W.A., McNeill, K., 2004. Photochemical fate of sulfa drugs in the aquatic environment: Sulfa drugs containing five-membered heterocyclic groups. *Environ. Sci. Technol.* 38, 3933-3940

- Bound, J.P., Voulvoulis, N., 2004. Pharmaceuticals in the aquatic environment – a comparison on risk assessment strategies. *Chemosphere* 56, 1143-1155
- Bound, J.P., Voulvoulis, N., 2006. Predicted and measured concentrations for selected pharmaceuticals in UK rivers: Implications for risk assessment. *Water Res.* 40, 2885-2892
- Boxall, A.B.A., Johnson, P., Smith, E.J., Sinclair, C.J., Stutt, E., Levy, L.S., 2006. Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *J. Agric. Food Chem.* 54, 2288-2297
- Boyd, G.E., Adamson, A.W., Myers Jr., L.S., 1947. The Exchange Adsorption of Ions from Aqueous Solutions by Organic Zeolites. II. Kinetics. *J. Am. Chem. Soc.*, 69, 2836–2848
- Brain, R.A., Hanson, M.L., Solomon, K.R., Brooks, B.W., 2008. Aquatic plants exposed to pharmaceuticals: effects and risks. *Rev. Environ. Contam. T* 192, 67-115
- Brain, R.A., Johnson, D.J., Richards, S.M., Sanderson, H., Sibley, P.K., Solomon, K.R., 2004. Effects of 25 pharmaceutical compounds to *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test. *Environ Toxicol Chem* 23, 371-382
- Brimble, M.A., 2003. Polyether Antibiotics, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- Britto, J.M., Rangel, M.C., 2008. Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais. *Quím. Nova* 31, 114-122
- Brown, K.D., Kulis, J., Thomson, B., Chapman, T.H., Mawhinney, D.B., 2006. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. *Sci. Tot. Environ.* 366, 772-783
- Brunauer, S., Emmet, P.H., Teller, E., 1938. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *J. Am. Chem. Soc.* 60, 309-319
- Bulut, Y., Tez, Z., 2007. Adsorption studies on ground shells of hazelnut and almond. *J. Hazard. Mater.* 149, 35-41
- Caballero, J.A., Font, R., Marcilla, A., 1996. Comparative study of the pyrolysis of almond shell ashes and their fractions, holocellulose and lignin. Product yields and kinetics. *Thermochim. Acta* 276, 57-77
- Calamari, D., Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., 2003. Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in Northern Italy, *Environ. Sci. Technol.* 37, 1241–1248
- Calza, P., Medana, C., Pazzi, M., Baiocchi, C., Pelizzetti, E., 2004. Photocatalytic transformations of sulphonamides on titanium dioxide. *Appl. Catal., B* 53, 63-69

Carrier, M., Loppinet-Serani, A., Denux, D., Lasnier, J.-M., Ham-Pichavan, F., Cansell, F., Aymonier, C., 2011. Thermogravimetric analysis as a new method to determine lignocellulosic composition of biomass. *Biomass Bioenergy* 35, 298-307

Castiglioni, S., Bagnati, R., Calamari, D., Fanelli, R., Zuccato, E., 2005. A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. *J. Chromatogr. A* 1092, 206-215

Catalkaya, E.C., Kargi, F., 2007. Effects of operating parameters on advanced oxidation of diuron by the Fenton's reagent: A statistical design approach. *Chemosphere* 69, 485-492

Cavalleri, B., Parenti, F., 2001. Glycopeptides (Dalbaheptides), in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York

Cha, J.M., Yang, S., Carlson, K.H., 2006. Trace determination of β -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1115, 46-57

Chamarro, E., Marco, A., Esplugas, S., 2001. Use of Fenton reagent to improve organic chemical biodegradability. *Water Res.* 35, 1047-1051

Chang, X., Meyer, M.T., Liu, X., Zhao, Q., Chen, H., Chen, J., Qiu, Z., Yang, L., Cao, J., Shu, W., 2010. Determination of antibiotics in sewage from hospitals, nursery and slaughter house, wastewater treatment plant and source water in Chongqing region of Three Gorge Reservoir in China. *Environ. Pollut.* 158, 1444-1450

Chatzitakis, A., Berberidou, C., Paspaltsis, I., Kyriakou, G., Slaviadis, T., Poullos, I., 2008. Photocatalytic degradation and drug activity reduction of Chloramphenicol. *Water Res.* 42, 386-394

Chelliapan, S., Wilby, T., Sallis, P.J., 2006. Performance of an up-flow anaerobic stage reactor (UASR) in the treatment of pharmaceutical wastewater containing macrolide antibiotics. *Water Res.* 40, 507-516

Chen, W.-R., Huang, C.-H., 2010. Adsorption and transformation of tetracycline antibiotics with aluminium oxide. *Chemosphere* 79, 779-785

Chiang, L.-C., Chang, J.-E., Wen, T.-C., 1995. Indirect oxidation effect in electrochemical oxidation treatment of landfill leachate. *Water Res.* 29, 671-678

Choi, K.-J., Son, H.-J., Kim, S.-H., 2007. Ionic treatment for removal of sulphonamide and tetracycline classes of antibiotic. *Sci. Total Environ.* 387, 247-256

- Christian, T., Schneider, R.J., Färber, H.A., Skutlarek, D., Meyer, M.T., Goldbach, H.E., 2003. Determination of antibiotic residues in manure, soil and surface waters. *Acta Hydroch. Hydrob.* 31, 36-44
- Chu, K.H., Hashim, M.A., 2007. Copper biosorption on immobilized seaweed biomass: Column breakthrough characteristics. *J. Environ. Sci.* 19, 928-932
- Chu, W., Kwan, C.Y., Chan, K.H., Chong, C., 2004. An unconventional approach to studying the reaction kinetics of the Fenton's oxidation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Chemosphere* 57, 1165-1171
- Chung, H.-H., Lee, J.-B., Chung, Y.-H., Lee, K.-G., 2009. Analysis of sulfonamide and quinolone antibiotic residues in Korean milk using microbial assays and high performance liquid chromatography. *Food Chem.* 113, 297-301
- Cokgor, E.U., Arslan-Alaton, I., Karahan, O., Dogruel, S., Orhon, D., 2004. Biological treatability of raw and ozonated penicillin formulation effluent. *J. Hazard. Mater.* B116, 159-166
- Comissão das Comunidades Europeias. Decisão da Comissão de 12 de Agosto de 2002 que dá a execução ao disposto da Directiva 96/23/CE do Conselho relativamente ao desempenho de métodos analíticos e à interpretação dos resultados. *Off. J. Eur. Comm.* L 221, 8-36
- Cooney, D.O., 1999. Adsorption design for wastewater treatment. Lewis Publishers, USA, Boca Raton
- Cortez, S., Teixeira, P., Oliveira, R., Mota, M., 2011. Evaluation of Fenton and ozone-based advanced oxidation processes as mature landfill leachate pre-treatments. *J. Environ. Manag.* 92, 749-755
- Costanzo, S.D., Murby, J., Bates, J., 2005. Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic environment. *Mar. Pollut. Bull.* 51, 218-223
- Cravotto, G., Di Carlo, S., Ondruschka, B., Tumiatti, V., Roggero, C.M., 2007. Decontamination of soil containing POPs by the combined action of solid Fenton-like reagents and microwaves. *Chemosphere* 69, 1326-1329
- Crisafulli, R., Milhorne, M.A.L., Cavalcante, R.M., Silveira, E.R., De Keukeleire, D., Nascimento, R.F., 2008. Removal of some polycyclic aromatic hydrocarbons from petrochemical wastewater using low-cost adsorbents of natural origin. *Biores. Technol.* 99, 4515-4519
- Dantas, R.F., Contreras, S., Sans, C., Esplugas, S., 2008. Sulfamethoxazole abatement by means of ozonation. *J. Hazard. Mater.* 150, 790-794
- de Boer, J.H., 1953. *The Dynamical Character of Adsorption*, Oxford University Press, Oxford

- De Witte, B., Dewulf, J., Demeestere, K., Van Langenhove, H., 2009. Ozonation and advanced oxidation by the peroxone process of ciprofloxacin in water. *J. Hazard. Mater.* 161, 701-708
- Debore, M., von Gunten, U., 2008. Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment – Kinetics and mechanisms: A critical review. *Water Res.* 42, 13-51
- Demirbas, E., Dizge, N., Sulak, M.T., Kobya, M., 2009. Adsorption kinetics and equilibrium of copper from aqueous solutions using hazelnut shell activated carbon. *Chem. Eng. J.* 148, 480-487
- Díaz-Cruz, M.S., López de Alda, M.J., Barceló, D., 2003. Environmental behaviour and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends Anal. Chem.* 22, 340-351
- Dickert, C., 2007. Ion exchange, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.). *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*. John Wiley & Sons, New York
- Din, A.T.M., Hameed, B.H., Ahmad, A.L., 2009. Batch adsorption of phenol onto physiochemical-activated coconut shell. *J. Hazard. Mater.* 161, 1522-1529
- Doğan, M., Abak, H., Alkan, M., 2009. Adsorption of methylene blue onto hazelnut shell: Kinetics, mechanism and activation parameters. *J. Hazard. Mater.* 164, 172-181
- Dolliver, H., Kumar, K., Gupta, S., 2007. Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. *J. Environ. Qual.* 36, 1224-1230
- Drake, G.W.F. (Ed.), 2006. *Springer Handbook of atomic, molecular and optical physics*, Springer, 1st edition, Germany
- Eckenfelder Jr., W.W., 2000. *Industrial Water Control*, 3rd ed., McGraw-Hill, Boston.
- El-Desoky, H.S., Ghoneim, M.M., El-Sheikh, R., Zidan, N.M., 2010. Oxidation of Levafix CA reactive azo-dyes in industrial wastewater of textile dyeing by electro-generated Fenton's reagent. *J. Hazard. Mater. B* 175, 858-865
- Ellisson, S.L.R., Rosslein, M., Williams, A. (Eds.), 2000. *EURACHEM/CITAC Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, Second Edition, Teddington, UK
- Elmolla, E., Chaudhuri, M., 2009a. Optimization of Fenton process for treatment of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution. *J. Hazard. Mater.* 170, 666-672
- Elmolla, E., Chaudhuri, M., 2009b. Improvement of biodegradability of synthetic amoxicillin wastewater by photo-Fenton process. *World Appl. Sci. J.* 5, 53-58
- Elmolla, E., Chaudhuri, M., 2009c. Degradation of the antibiotics amoxicillin, ampicillin and cloxacillin in aqueous solution by the photo-Fenton process. *J. Hazard. Mater.* 172, 1476-1481

- Elmolla, E., Chaudhuri, M., 2010a. Photocatalytic degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution using UV/TiO₂ and UV/H₂O₂/TiO₂ photocatalysis. *Desalin.* 252, 46-52
- Elmolla, E., Chaudhuri, M., 2010b. Degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution by the UV/ZnO photocatalytic process. *J. Hazard. Mater.* 173, 445-449
- Elmolla, E.S., Chaudhuri, M., 2010c. Comparison of different advanced oxidation processes for treatment of antibiotic aqueous solution. *Desalination* 256, 43–47
- Estevinho, B.N., Martins, I., Ratola, N., Alves, A., Santos, L., 2007. Removal of 2,4-dichlorophenol and pentachlorophenol from waters by sorption using coal fly ash from a Portuguese thermal power plant. *J. Hazard. Mater.* 143, 535-540
- Estevinho, B.N., Ratola, N., Alves, A., Santos, L., 2006. Pentachlorophenol removal from aqueous matrices by sorption with almond shell residues. *J. Hazard. Mater. B* 137, 1175-1181
- Estevinho, B.N., Ribeiro, E., Alves, A., Santos, L., 2008. A preliminary feasibility study for pentachlorophenol column sorption by almond shell residues. *Chem. Eng. J.* 136, 188-194
- European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC), ESAC Yearbook 2008, Antuérpia, Bélgica: Universidade de Antuérpia, 2010. http://www.esac.ua.ac.be/download.aspx?c=* ESAC2&n=50036&ct=50033&e=50420 (acedido em Maio de 2011)
- Fan, X., Haob, H., Shen, X., Chena, F., Zhang, J., 2011. Removal and degradation pathway study of sulfasalazine with Fenton-like reaction. *J. Hazard. Mater.* 190, 493–500
- Faria, P.C.C., Orfão, J.J.M., Pereira, M.F.R., 2004. Adsorption of anionic and cationic dyes on activated carbons with different surface chemistries. *Water Res.* 38, 2043-2052
- Farré, M., Pérez, S., Kantiani, L., Barceló, D., 2008. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Trends Anal. Chem.* 27, 991-1007
- Feitosa-Felizzola, J., Chiron, S., 2009. Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France). *J. Hydrol.* 364, 50-57
- Feng, Q., Lin, Q., Gong, F., Sugita, S., Shoya, M., 2004. Adsorption of lead and mercury by rice husk ash. *J. Colloid Interface Sci.* 278, 1-8
- Feng, X., Dementev, N., Feng, W., Vidic, R., Borguet, E., 2006. Detection of low concentration oxygen containing functional groups on activated carbon fiber surfaces through fluorescent labeling. *Carbon* 44, 1203-1209

Fengel, D., Wegener, G., 1989. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walker de Gruyter, Germany, Berlin

Ferdig, M., Kaleta, A., Buchberger, W., 2005. Improved liquid chromatographic determination of nine currently used (fluoro)quinolones with fluorescence and mass spectrometric detection for environmental samples. *J. Sep. Sci.* 28, 1448–1456

Ferech, M., Coenen, S., Dvozkova, K., Hendrickx, E., Suetens, C., Goossens, H., 2006. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient penicillin use in Europe. *J. Antimicrob. Chemother* 58, 408-412

Ferrero, F., 2007. Dye removal by low cost adsorbents: Hazelnut shells in comparison with wood sawdust. *J. Hazard. Mater.* 142, 144-152

Font, R., Marcilla, A., Garcia, A.N., Caballero, J.A., Conesa, J.A., 1995. Kinetic models for the thermal degradation of heterogeneous materials. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 32, 29-39

Fowler, R.H., Guggenheim, E.A., 1939. Statistical Thermodynamics, Cambridge University Press, London

Franco, J.H.R., 2008. Homogeneous and heterogeneous oxidation of the azo dye orange II with Fenton's reagent-based processes. Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Engenharia Química e Biológica. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Freundlich, H., 1906. Adsorption in solution. *Phys. Chem.* 57, 384-410

Fu, J.F., Zhao, Y.Q., Xue, X.D., Li, W.C., Babatunde, A.O., 2009. Multivariate-parameter optimization of acid blue-7 wastewater treatment by Ti/TiO₂ photoelectrocatalysis via the Box-Behnken design. *Desalination* 243, 42-51

Fujishima, A., Zhang, X., Tryk, D.A., 2007. Heterogeneous photocatalysis: From water photolysis to applications in environmental cleanup. *Int. J. Hydrogen Energy* 32, 2664 – 2672

Gan, S., Lau, E.V., Ng, H.K., 2009. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J. Hazard. Mater.* 172, 532-549

Garcia-Reyes, R.B., Rangel-Mendez, J.R., 2010. Adsorption kinetics of chromium (III) ions on agro-waste materials. *Biores. Technol.* 101, 8099–8108

Giokas, D.L., Vlessidis, A.G., 2007. Application of a novel chemometric approach to the determination of aqueous photolysis rates of organic compounds in natural waters. *Talanta* 71, 288-295

- Göbel, A., McArdell, C.S., Joss, A., Siegrist, H., Giger, W., 2007. Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Sci. Total Environ.* 372, 361-371
- Goddard, A.F., Jessa, M.J., Barrett, D.A., Shaw, P.N., Idström, J.-P., Cederberg, C., Spiller, R.C., 1996. Effect of omeprazole on the distribution of metronidazole, amoxicillin, and claritromycin in human gastric juice. *Gastroenterology* 111, 358-367
- González, J.F., Gañán, J., Ramiro, A., González-García, C.M., Encinar, J.M., Sabio, E., Román, S., 2006. Almond residues gasification plant for generation of electric power. Preliminary study. *Fuel Process. Technol.* 87, 149-155
- González, O., Sans, C., Esplugas, S., 2007. Sulfamethoxazole abatement by photo-Fenton. Toxicity, inhibition and biodegradability assessment of intermediates. *J. Hazard. Mater.* 146, 459-464
- Gromboni, C.F., Kamogawa, M.Y., Ferreira, A.G., Nóbrega, J.A., Nogueira, A.R.A., 2007. Microwave-assisted photo-Fenton decomposition of chlorfenvinphos and cypermethrin in residual water. *J. Photochem. Photobiol. A* 185, 32-37
- Guedes, A.M.F.M., Madeira, L.M.P., Boaventura, R.A.R., Costa, C.A.V., 2003. Fenton oxidation of cork cooking wastewater-overall kinetic analysis. *Water Res.* 37, 3061-3069
- Guinea, E., Brillas, E., Centellas, F., Cañizares, P., Rodrigo, M.A., Sáez, C., 2009. Oxidation of enrofloxacin with conductive-diamond electrochemical oxidation, ozonation and Fenton oxidation: A comparison. *Water Res.* 43, 2131-2138
- Gulkaya, I., Surucu, G.A., Dilek, F.B., 2006. Importance of H_2O_2/Fe^{2+} ratio in Fenton's treatment of a carpet dyeing wastewater. *J. Hazard. Mater. B* 136, 763-769
- Gunten, U., 2003. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Res.* 37, 1443-1467
- Halling-Sorensen, B., Nielsen, S.N., Lanzky, P.F., Ingerslev, F., Lützholt, H.C.H., Jorgensen, S.E., 1998. Occurrence, Fate and Effects of pharmaceutical Substances in the Environment – A Review. *Chemosphere* 36, 357-393
- Hameed, B.H., 2007. Equilibrium and kinetics studies of 2,4,6-trichlorophenol adsorption onto activated clay. *Colloids Surf. A* 307, 45-52
- Hameed, B.H., Ahmad, A.A., Aziz, N., 2007. Isotherms, kinetics and thermodynamics of acid dye adsorption on activated palm ash. *Chem. Eng. J.* 133, 195-2003
- Hammami, S., Oturan, N., Bellakhal, N., Dachraoui, M., Oturam, M.A., 2007. Oxidative degradation of direct orange 61 by electro-Fenton process using a carbon felt electrode: Application of the experimental design methodology. *J. Electroanal. Chem.* 610, 75-84

- Han, R., Wang, Y., Zhao, X., Wang, Y., Xie, F., Cheng, J., Tang, M., 2009. Adsorption of methylene blue by phoenix tree leaf powder in a fixed-bed column: experiments and prediction of breakthrough curves. *Desalination* 245, 284–297
- Hassan, H., Hameed, B.H., 2011. Fe–clay as effective heterogeneous Fenton catalyst for the decolorization of Reactive Blue 4. *Chem. Eng. J.*, doi:10.1016/j.cej.2011.04.040
- He, Z., Yang, S., Ju, Y., Sun, C., 2009. Microwave photocatalytic degradation of Rhodamine B using TiO₂ supported on activated carbon: Mechanism implication. *J. Environ. Sci.* 21, 268-272
- Hernandez, R., Zappi, M., Colucci, J., Jones, R., 2002. Comparing the performance of various advanced oxidation processes for treatment of acetone contaminated water. *J. Hazard. Mater.* 92, 33-50
- Hernando, M.D., Mezcuá, M., Fernández-Alba, A.R., Barceló, D., 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* 69, 334-342
- Hill, T.L., 1946. Localized and mobile adsorption and desorption, *J. Chem. Phys.* 14, 441-453
- Hinkelmann, K., Kempthorne, O. 2008. *Design and Analysis of Experiments – Introduction to Experimental Design*. John Wiley & Sons, Inc, New Jersey, USA
- Hirose, J., Kondo, F., Nakano, T., Kobayashi, T., Hiro, N., Ando, Y., Takenaka, H., Sano, K., 2005. Inactivation of antineoplastics in clinical wastewater by electrolysis. *Chemosphere* 60, 1018-1024
- Ho, Y.S., McKay, G., 1998. A comparison of chemisorption kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents. *Process Saf. Environ. Prot.* 76, 332-340
- Hoffmann, E., Stroobant, V., 2007. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. John Wiley & Sons, 3rd edition, Chichester, England
- Hollander, J.M., Jolly, W.L., 1970. X-Ray Photoelectron Spectroscopy, *Acc. Chem. Res.* 3, 193-200
- Honnold, R., 2008. *Hardware Overview: Introduction to Ion Trap*. Varian, Alemanha
- Hontoria-Lucas, C., López-Penado, A.J., López-González, J.D., Rojas-Cervantes, M.L., Martín-Aranda, R.M., 1995. Study of oxygen-containing groups in a series of graphite oxides: physical and chemical characterization. *Carbon* 33, 1585-1592
- Horwitz, W., 1982. Evaluation of Analytical Methods used for Regulation of Food and Drugs. *Anal. Chem.* 54, 7A-76A
- Hsueh, C.L., Huang, Y.H., Wang, C.C., Chen, C.Y., 2005. Degradation of azo dyes using low iron concentration of Fenton and Fenton-like system. *Chemosphere* 58, 1409–1414

Hu, L., Flanders, P.M., Miller, P.L., Strathmann, T.J., 2007. Oxidation of sulfamethoxazole and related antimicrobial agents by TiO_2 photocatalysis. *Water Res.* 41, 2612-2626

Huber, M., Korhonen, S., Ternes, T., von Gunten, U., 2005a. Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water Res.* 39, 3607-3617

Huber, M.M., Canonica, S., Park, G.-Y., von Gunten, U., 2003. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1016-1024

Huber, M.M., Gobel, A., Joss, A., Hermann, N., Löffler, D., McArdell, C.S., Ried, A., Siegrist, H., Ternes, T.A., von Gunten, U., 2005b. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal wastewater effluents: a pilot study. *Ozone Sci. Eng.* 39, 4290-4299

ICIS.com, Indicative chemical prizes. <http://www.icis.com/StaticPages/a-e.htm> (acedido em Junho 2011)

Ikehata, K., Naghashkar, N.J., El-Din, M.G., 2006. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. *Ozone Sci. Eng.* 28, 353-414

Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED), 2005. Estatística do Medicamento 2003. INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento e Direcção de Economia do Medicamento e Produtos de Saúde, Lisboa, Portugal

Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED), 2006. Estatística do Medicamento 2004. INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento e Direcção de Economia do Medicamento e Produtos de Saúde, Lisboa, Portugal

Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED), 2007. Estatística do Medicamento 2005. INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento e Direcção de Economia do Medicamento e Produtos de Saúde, Lisboa, Portugal

Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED), 2008. Estatística do Medicamento 2006. INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento e Direcção de Economia do Medicamento e Produtos de Saúde, Lisboa, Portugal

Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED), 2008. Estatística do Medicamento 2007. INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento e Direcção de Economia do Medicamento e Produtos de Saúde, Lisboa, Portugal

Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED), 2009. Estatística do Medicamento 2008. INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento e Direcção de Economia do Medicamento e Produtos de Saúde, Lisboa, Portugal

Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento (INFARMED), 2010. Estatística do Medicamento 2009. INFARMED - Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento e Direcção de Economia do Medicamento e Produtos de Saúde, Lisboa, Portugal

ISO 8258, 1993. Shewhart Control Charts & Technical Corrigendum, International Organization for Standardization, Geneva, Suíça

ISO, 1993. International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology, Second Edition, Geneva, Switzerland

Jacobsen, A.M., Halling-Sorensen, B., Ingerslev, F., Hansen, S.H., 2004. Simultaneous extraction of tetracycline, macrolide and sulphonamide antibiotics from agricultural soils using pressurised liquid extraction, followed by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1038, 157-170

Jara, C.C., Fino, D., Specchia, V., Saracco, G., Spinelli, P., 2007. Electrochemical removal of antibiotics from wastewater. *Appl. Catal., B* 70, 479-487

Jiao, S., Zheng, S., Yin, D., Wang, L., Chen, L., 2008. Aqueous photolysis of tetracycline and toxicity of photocatalytic products to luminescent bacteria. *Chemosphere* 73, 377-382

Jossens, L., Prausnitz, J.M., Fritz, E.U., Myers, A.L., 1978. Thermodynamics of multi-solute adsorption from dilute aqueous solutions. *Chem. Eng. Sci.* 33, 1097-1106

Kadam, S.S., Mahadik, K.R., Bothara, K.G., 2007. Principles of Medicinal Chemistry – Volume I, Nirali Prakashan, 18th Edition, Pune, India

Kadow, J.F., Barrett, J.F., Beaulieu, D., Dougherty, T.J., Meanwell, N.A., Ohemeng-Paratek, K.A., Ryan, B., 2002. Antibacterial Agents Quinolones, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York

Kang, N., Lee, D.S., Yoon, J., 2002. Kinetic modeling of Fenton oxidation of phenol and monochlorophenols. *Chemosphere* 47, 915-924

Kaniou, S., Pitarakis, K., Barlagianni, I., Poulios, I., 2005. Photocatalytic oxidation of sulfamethazine. *Chemosphere* 60, 372-380

Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2007. Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography-positive electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1161, 132-145

- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2008. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res.* 42, 3498-3518
- Kazemipour, M., Ansari, M., Tajrobehkar, S., Majdzadeh, M., Kermani, H.R., 2008. Removal of lead, cadmium, zinc, and copper from industrial wastewater by carbon developed from walnut, hazelnut, almond, pistachio shell, and apricot stone. *J. Hazard. Mater.* 150, 322-327
- Kemper, N., 2008. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol. Indic.* 8, 1-13
- Khan, M.N., Sarwar, A., 2007. Determination of points of zero charge of natural and treated adsorbents. *Surf. Rev. Lett.* 14, 461-469
- Kim, S.-C., Carlson, K., 2006. Occurrence of ionophore antibiotics in water and sediments of a mixed-landscape watershed. *Water Res.* 40, 2549-2560
- Kim, S.H., Shon, H.K., Ngo, H.H., 2010. Adsorption characteristics of antibiotics trimethoprim on powdered and granular activated carbon. *J. Ind. Eng. Chem.* 16, 344-349
- Kirst, H., 2001. Antibiotics Macrolides, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- Klauson, D., Babkina, J., Stepanova, K., Krichevskaya, M., Preis, S., 2010. Aqueous photocatalytic oxidation of amoxicillin. *Catal. Today* 151, 39-45
- Klavarioti, M., Mantzavinos, D., Kassinos, D., 2009. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environ. Int.* 35, 402-417
- Kosma, C.I., Lambropoulou, D.A., Albanis, T.A., 2010. Occurrence and removal of PPCPs in municipal and hospital wastewaters in Greece. *J. Hazard. Mater.* 179, 804-817
- Košutić, K., Dolar, D., Ašperger, D., Kunst, B., 2007. Removal of antibiotic from model wastewater by RO/NF membrane. *Sep. Purif. Technol.* 53, 244-249
- Kot-Wasik, A., Dębska, J., Namieśnik, J., 2007. Analytical techniques in studies of the environmental fate of pharmaceuticals and personal-care products. *Trend Anal. Chem.* 26, 557-568
- Koyuncu, I., Arıkan, O.A., Wiesner, M.R., Rice, C., 2008. Removal of hormones and antibiotics by nanofiltration membranes. *J. Membr. Sci.* 309, 94-101
- Kralik, P., Kusic, H., Koprivanac, N., Bozic, A.L., 2010. Degradation of chlorinated hydrocarbons by UV/H₂O₂: The application of experimental design and kinetic modeling approach. *Chem. Eng. J.* 158, 154-166

- Kremer, M.L., 1999. Mechanism of the Fenton reaction. Evidence for a new intermediate. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1, 3595-3605
- Kümmerer, K., 2009. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. *Chemosphere* 75, 417-434
- Kumar, K., Gupta, S.C., Baidoo, S.K., Chander, Y., Rosen, C.J., 2005. Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *J. Environ. Qual.* 34, 2082-2085
- Kumar, P. S., Ramalingam, S., Senthamarai, C., Niranjanaa, M., Vijayalakshmi, P., Sivanesan, S., 2010. Adsorption of dye from aqueous solution by cashew nut shell: Studies on equilibrium isotherm, kinetics and thermodynamics of interactions, *Desalination*, 52-60
- Kumar, P.A., Chakraborty, S., 2009. Fixed-bed column study for hexavalent chromium removal and recovery by short-chain polyaniline synthesized on jute fiber. *J. Hazard. Mater.* 162, 1086-1098
- Kumar, U., Bandyopadhyay, M., 2006. Fixed bed column study for Cd(II) removal from wastewater using treated rice husk. *J. Hazard. Mater. B* 129, 253-259
- Laine, C., 2005. Structures of hemicelluloses and pectins in wood and pulp. Dissertation for the degree of Doctor of Science in Technology. Helsinki University of Technology, Finland, Helsinki
- Lange, F., Cornelissen, S., Kubac, D., Sein, M.M., von Sonntag, J., Hannich, C.B., Golloch, A., Heipieper, H.J., Möder, M., von Sonntag, C., 2006. Degradation of macrolide antibiotics by ozone: A mechanistic case study with clarithromycin. *Chemosphere* 65, 17-23
- Langmuir, I., 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *J. Am. Chem. Soc.* 40, 1361-1403
- Leung, H.W., Minh, T.B., Murphy, M.B., Lam, J.C.W., So, M.K., Martin, M., Lam, P.K.S., Richardson, B.J., 2011. Distribution, fate and risk assessment of antibiotics in sewage treatment plants in Hong Kong, South China. *Environ. Int.*, doi:10.1016/j.envint.2011.03.004
- Li, K., Yediler, A., Yang, M., Schulte-Hostede, S., Wong, M.H., 2008. Ozonation of oxytetracycline and toxicological assessment of its oxidation by-products. *Chemosphere* 72, 473-478
- Li, S.-Z., Li, X.-Y., Wang, D.-Z., 2004. Membrane (RO-UF) filtration for antibiotic wastewater treatment and recovery of antibiotics. *Sep. Purif. Technol.* 34, 109-114
- Lin, A.Y.-C., Lin, C.-F., Chiou, J.-M. P., Hong, K.A., 2009b. O₃ and O₃/H₂O₂ treatment of sulphonamide and macrolide antibiotics in wastewater. *J. Hazard. Mater.* 171, 452-458

- Lin, A.Y.-C., Tsai, Y.-T., 2009a. Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan's surface water: Impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities. *Sci. Tot. Environ.* 407, 3793-3802
- Lin, S.H., Lo, C.C., 1997. Fenton process for treatment of desizing wastewater. *Water Res.* 31, 2050-2056
- Lindberg, R., Jarnheimer, P.-A., Olsen, B., Johansson, M., Tysklind, M., 2004. Determination of antibiotic substances in hospital sewage water using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards. *Chemosphere* 57, 1479-1488
- Lindner, K.R., Bonner, D.P., Koster, W.H., 2000. Monobactams, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- Lissemore, L., Hao, C., Yang, P., Sibley, P.K., Mabury, S., Solomon, K.R., 2006. An exposure assessment for selected pharmaceuticals within a watershed in Southern Ontario. *Chemosphere* 64, 717-729
- Locatelli, M.A.F., Sodr , F.F., Jardim, W.F., 2011. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 385-393
- Lu, M.-C., Chang, Y.-F., Chen, I.-M., Huang, Y.-Y., 2005. Effect of chloride ions on the oxidation of aniline by Fenton's reagent. *J. Environ. Manage.* 75, 177-182
- Lucas, M.S., Peres, J.A., 2006. Decolorization of the azo dye Reactive Black 5 by Fenton and photo-Fenton oxidation. *Dyes Pigm.* 71, 236-244
- Lunar, L., Sicilia, D., Rubio, S., Pérez-Bendito, D., Nickel, U., 2000. Degradation of photographic developers by Fenton's reagent: condition optimization and kinetics for metol oxidation. *Water Res.* 34, 1791-1802
- Lutzhof, H.C.H., Halling-Sorensen, B., Jorgensen, S.E., 1999. Algal toxicity of antibacterial agents applied in Danish farming. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36, 1-6
- Malik, P.K., Saha, S.K., 2003. Oxidation of direct dyes with hydrogen peroxide using ferrous ion as catalyst. *Sep. Purif. Technol.* 31, 241-250
- Malkoc, E., Nuhoglu, Y., 2006. Removal of Ni(II) ions from aqueous solutions using waste of tea factory: Adsorption on a fixed-bed column. *J. Hazard. Mater.* B135, 328-336

- Malkoc, E., Nuhoglu, Y., Dundar, M., 2006. Adsorption of chromium (VI) on pomace—An olive oil industry waste: Batch and column studies. *J. Hazard. Mater.* B138, 142-151
- Martínez, D., Cugat, M.J., Borrull, F., Calull, M., 2000. Solid-phase extraction coupling to capillary electrophoresis with emphasis on environmental analysis. *J. Chromatogr. A* 902, 65-89
- Martinez, J.L., 2009. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environ. Pollut.* 157, 2893-2902
- Marzo, A., Bo, L.D., 1998. Chromatography as an analytical tool for selected antibiotic classes: a reappraisal addressed to pharmacokinetic application, *J. Chromatogr. A* 812, 17-34
- McArdell, C.S., Molnar, E., Suter, M.J.-F., Giger, W., 2003. Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed, Switzerland. *Environ. Sci. Technol.* 37, 5479–5486
- McCabe, W.L., Smith, C.J., Harriott, P., 1985. *Unit Operations of Chemical Engineering*, McGraw-Hill International Editions, 4th Edition, Singapura, 692-702
- McGregor, D., 2000. Aminoglycosides, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- McKay, G., Allen, S.J., McConvey, I.F., Wallerst, J.H.R., 1984. External mass transfer and homogeneous solid-phase diffusion effects during the adsorption of dyestuffs. *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.* 23, 221-226
- Melo, S.A.S., Trovó, A.G., Bautitz, I.R., Nogueira, R.F.P., 2009. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Quim. Nova* 32, 188-197
- Méndez-Díaz, J.D., Prados-Joya, G., Rivera-Utrilla, J., Leyva-Ramos, R., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M.A., Medellín-Castillo, N.A., 2010. Kinetic study of the adsorption of nitroimidazole antibiotics on activated carbons in aqueous phase. *J. Colloid Interface Sci.* 345, 481-490
- Meyer, D.E., Williams, M., Bhattacharvya, D., 2003. Reverse osmosis, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*. John Wiley & Sons, New York
- Migliore, L., Cozzolino, S., Fiori, M., 2003. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants, *Chemosphere* 52, 1233-1244
- Miller, J.C., Miller, J.N., 1988. *Statistics for analytical chemistry*, 2nd Edition, Ellis Horwood, Chichester, England

- Minh, T.B., Leung, H.W., Loi, I.H., Chan, W.H., So, M.K., Mao, J.Q., Choi, D., Lam, J.C.W., Zheng, G., Martin, M., Lee, J.H.W., Lam, P.K.S., Richardson, B.J., 2009. Antibiotics in the Hong Kong metropolitan area: Ubiquitous distribution and fate in Victoria Harbour. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 1052-1062
- Molinari, R., Pirillo, F., Loddo, V., Palmisano, L., 2006. Heterogeneous photocatalytic degradation of pharmaceuticals in water by using polycrystalline TiO_2 and a nanofiltration membrane reactor, *Catal. Today* 118, 205-213
- Mompelat, S., LeBot, B., Thomas, O., 2009. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environ. Int.* 35, 803-814
- Mor, A., 2001. Antimicrobial Peptides, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- Morán, M.A.M., Suárez, D., Menéndez, J.A., Fuente, E., 2004. On the nature of Basic sites on carbon surfaces: an overview. *Carbon* 42, 1219-1225
- Morse, A., Jackson, A., 2004. Fate of amoxicillin in two water reclamation system. *Water Air Soil Pollut.* 157, 117-132
- Nabais, J.M.V., Laginhas, C.E.C., Carrott, P.J.M., Carrott, M.M.L.R., 2011. Production of activated carbons from almond shell. *Fuel Process. Technol.* 92, 234-240
- Nagarale, R.K., Gohil, G.S., Shahi, V.K., 2006. Recent developments on ion-exchange membranes and electro-membrane processes. *Adv. Colloid Interface Sci.* 119, 97-130
- Nägele, E., Moritz, R., 2005. Structure elucidation of degradation products of the antibiotic amoxicillin with ion trap MS(n) and accurate mass determination by ESI TOF. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.* 16, 1670-1676
- Navalon, S., Alvaro, M., Garcia, H., 2008. Reaction of chlorine dioxide with emergent water pollutants: Products study of the reaction of three β -lactams antibiotics with ClO_2 . *Water Res.* 42, 1935-192
- Niessen, W.M.A., 1999. State-of-art in liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 856, 179-197
- Nozal, L., Arce, L., Ríos, A., Valcárcel, M., 2004. Development of a screening method for analytical control of antibiotic residues by micellar electrokinetic capillary chromatography, *Anal. Chim. Acta* 523, 21-28
- Ntampeglitis, K., Riga, A., Karayannis, V., Bontozoglou, V., Papapolymerou, G., 2006. Decolorization kinetics of Procion H-exl dyes from textile dyeing using Fenton-like reactions. *J. Hazard. Mater.* 136, 75-84

Observatório dos Mercados Agrícolas e das Importações Agro-Alimentares, 2006. Dados referentes ao ano de 2006. http://www.observatorioagricola.pt/item.asp?id_item=134 (acedido em Junho 2011)

Ofomaja, A.E., 2010. Intraparticle diffusion process for lead (II) biosorption onto mansonia wood sawdust. *Biores. Technol.* 101, 5868–5876

Ohno, M., Otsuka, M., Okamoto, Y., Yagisawa, M., Kondo, S., 2010. Antibiotics, in: Ullmann, F. (Eds.), *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim

Oliveira, R., Almeida, M.F., Santos, L., Madeira, M., 2006. Experimental design of 2,4-dichlorophenol oxidation by Fenton's reaction. *Ind. Eng. Chem. Res.* 45, 1266-1276

Önal, Y., Akmil-Başar, C., Sarıcı-Özdemir, Ç., 2007. Investigation kinetics mechanisms of adsorption malachite green onto activated carbon. *J. Hazard. Mater.* 146, 194-203

Ötker, H.M., Akmehmet-Balcıoğlu, I., 2005. Adsorption and degradation of enrofloxacin, a veterinary antibiotic on natural zeolite. *J. Hazard. Mater.* 122, 251-258

Öztürk, N., Kavak, D., 2005. Adsorption of boron from aqueous solutions using fly ash: Batch and column studies. *J. Hazard. Mater.* B127, 81–88

Palmer, P.M., Wilson, L.R., O'Keefe, P., Sheridan, R., King, T., Chen, C.-Y., 2008. Sources of pharmaceutical pollution in the New York City Watershed. *Sci. Tot. Environ.* 394, 90-102

Palominos, R., Freer, J., Mondaca, M.A., Mansilla, H.D., 2008. Evidence for hole participation during photocatalytic oxidation of the antibiotic flumequine. *J. Photochem. Photobiol., A* 193, 139-145

Palominos, R., Mondaca, M.A., Giraldo, A., Peñeuela, G., Pérez-Moya, M., Mansilla, H.D., 2009. Photocatalytic oxidation of the antibiotic tetracycline on TiO₂ and ZnO suspensions. *Catal. Today* 144, 100-105

Pan, X., Deng, C., Zhang, D., Wang, J., Mu, G., Chen, Y., 2008. Toxic effects of amoxicillin on the photosystem II of *Synechocystis* sp. Characterized by a variety of in vivo chlorophyll fluorescence tests. *Aquat. Toxicol.*, 207-213

Panizza, M., Cerisola, G., 2009. Direct and mediated anodic oxidation of organic pollutants. *Chem. Rev.* 109, 6541-6569

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, 1998. Directiva 98/83/CE do Conselho de 3 de Novembro de 1998 relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano. *Off. J. Eur. Comm.* L 330, 32-54

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, 2000. Directiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 23 de Outubro de 2000 que estabelece um quadro de acção comunitária no domínio da política da água. Off. J. Eur. Comm. L 327, 1-72

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, 2001. Directiva 2001/82/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 6 de Novembro de 2001 que estabelece um código comunitário relativo aos medicamentos veterinários. Off. J. Eur. Comm. L 311, 1-66

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, 2001. Directiva 2001/83/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 6 de Novembro de 2001 que estabelece um código comunitário relativo aos medicamentos para uso humano. Off. J. Eur. Comm. L 311, 67-128

Pascoe, D., Karntanut, W., Müller, C.T., 2003. Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the *cnidarian Hydra vulgaris*. Chemosphere 51, 521–528

Pavlović, D.M., Babić, S., Horvat, A.J.M., Kaštelan-Macan, M., 2007. Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. Trends Anal. Chem. 26, 1062-1075

Pehlivan, E., Altun, T., 2008. Biosorption of chromium(VI) ion from aqueous solutions using walnut, hazelnut and almond shell. J. Hazard. Mater. 155, 378-384

Pehlivan, E., Altun, T., Cetin, S., Bhanger, M.I., 2009. Lead sorption by waste biomass of hazelnut and almond shell. J. Hazard. Mater. 167, 1203-1208

Pérez-Moya, M., Graells, M., Castells, G., Amigó, J., Ortega, E., Buhigas, G., Pérez, L.M., Mansilla, H.D., 2010. Characterization of the degradation performance of the sulfamethazine antibiotic by photo-Fenton process. Water Res. 44, 2533-2540

Polovina, M., Babić, B., Kaluderović, B., Dekanski, A., 1997. Surface characterization of oxidized activated carbon cloth. Carbon 35, 1047-1052

Ponnusami, V., Rajan, K.S., Srivastava, S.N., 2010. Application of film-pore diffusion model for methylene blue adsorption onto plant leaf powders. Chem. Eng. J. 163, 236–242

Ponsford, R.J., 2000. Penicillins and Other β -Lactams, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology, John Wiley & Sons, New York

Poole, C.F., Gunatilleka, A.D., Sethuraman, R., 2000. Contributions of theory to method development in solid-phase extraction. J. Chromatogr. A 885, 17-39

Puente, G., Pis, J.J., Menéndez, J.A., Grange, P., 1997. Thermal stability of oxygenated functions in activated carbons. J. Anal. Appl. Pyrolysis 43, 125-138

Putra, E.K., Pranowo, R., Sunarso, J., Indraswati, N., Ismadji, S., 2009. Performance of activated carbon and bentonite for adsorption of amoxicillin from wastewater: mechanism, isotherms and kinetics. *Water Res.* 43, 2419-2430

Qiang, Z., Adams, C., Surampalli, R., 2004. Determination of ozonation rate constants for Lincomycin and Spectinomycin. *Ozone Sci. Eng.* 26, 525-537

Qui, S., Schideman, L., Mariñas, B.J., Snoeyink, V.L., 2007. Simplification of the IAST for activated carbon adsorption of trace organic compounds from natural water. *Water Res.* 41, 440-448

Qureshi, K., Bhatti, I., Kazi, R., Ansari, A.K., 2007. Physical and Chemical Analysis of Activated Carbon Prepared from Sugarcane Bagasse and Use for Sugar Decolorisation. *Eng. Technol.* 34, 194-198

Radjenović, J., Petrović, M., Ventura, F., Barceló, D., 2008. Rejection of pharmaceuticals in nanofiltration and reverse osmosis membrane drinking water treatment. *Water Res.* 42, 3601-3610

Rafatullah, M., Sulaiman, O., Hashim, R., Ahmad, A., 2010. Adsorption of methylene blue on low-cost adsorbents: A review, *J. Hazard. Mater.* 177, 70-80

Ramirez, J. H., Costa, C.A., Madeira, L.M., 2005. Experimental design to optimize the degradation of the synthetic dye Orange II using Fenton's reagent. *Catal. Today* 107-108, 68-76

Ramirez, J. H., Duarte, F.M., Martins, F.G., Costa, C.A., Madeira, L.M., 2009. Modelling of the synthetic dye Orange II degradation using Fenton's reagent: from batch to continuous reactor operation. *Chem. Eng. J.* 148, 394-404

Ramirez, J.H., Lampinen, M., Vicente, M.A., Costa, C.A., Madeira, L.M., 2008. Experimental design to optimize the oxidation of orange II dye solution using a clay-based Fenton-like catalyst. *Ind. Eng. Chem. Res.* 47, 284-294

Ratanatamskul, C., Chintitanun, S., Masomboon, N., Lu, M.-C., 2010. Inhibitory effect of inorganic ions on nitrobenzene oxidation by fluidized-bed Fenton process. *J. Mol. Catal. A- Chem.* 331, 101-105

Ratola, N., Santos, L., Herbert, P., Alves, A., 2006. Uncertainty associated to the analysis of organochlorine pesticides in water by solid-phase microextraction/gas chromatography–electron capture detection—Evaluation using two different approaches. *Anal. Chim. Acta* 573–574, 202–208

Redlich, O., Peterson, D.L., 1959. A useful adsorption isotherm, *J. Phys. Chem.* 63, 1024–1026

Regulamento (CE) N.º 542/2008 da Comissão de 16 de Junho de 2008 que altera os anexos I e II do Regulamento (CEE) n.º 2377/90 do Conselho que prevê um processo comunitário para o estabelecimento de limites máximos de resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos de

origem animal, no que diz respeito à ciflutrina e à lectina extraída do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*). Jornal Oficial da União Europeia L157, 43-45

Regulamento (CEE) N.º 2377/90 do Conselho de 26 de Junho de 1990 que prevê um processo comunitário para o estabelecimento de limites máximos de resíduos de medicamentos veterinários nos alimentos de origem animal. Jornal Oficial das Comunidades Europeias L224, 1-113

Regulamento (EC) N.º 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho de 22 de Setembro de 2003 relativo aos aditivos destinados à alimentação animal. Jornal Oficial das Comunidades Europeias L 268, 29-43

Remya, N., Lin, J.-G., 2011. Current status of microwave application in wastewater treatment—A review. Chem. Eng. J. 166, 797-813

Reyes, C., Fernández, J., Freer, J., Mondaca, M.A., Zaror, C., Malato, S., Mansilla, H.D., 2006. Degradation and inactivation of tetracycline by TiO₂ photocatalyst. J. Photochem. Photobiol., A 184, 141-146.

Rivas, F.J., Beltrán, F.J., Frades, J., Buxeda, P., 2001. Oxidation of p-hydroxybenzoic acid by Fenton's reagent. Water Res. 35, 387-396

Rivera-Utrilla, J., Bautista-Toledo, I., Ferro-García, M.A., Moreno-Castilla, C., 2001. Activated carbon surface modifications by adsorption of bacteria and their effect on aqueous lead adsorption. J. Chem. Technol. Biotechnol. 76, 1209-1215

Rivera-Utrilla, J., Prados-Joya, G., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M.A., Bautista-Toledo, I., 2009. Removal of nitroimidazole antibiotics from aqueous solution by adsorption/ bioadsorption on activated carbon. J. Hazard. Mater. 170, 298-305

Rizzo, L., 2011. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. Water Res. 45, 4311-4340

Roberts, J., 2000. Cephalosporins, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology, John Wiley & Sons, New York

Rodrigues, C.S.D., Madeira, L.M., Boaventura, R.A.R., 2009. Optimization of the azo dye Procion Red-H-EXL degradation by Fenton's reagent using experimental design. J. Hazard. Mater. B 164, 987-994

Rozas, O., Contreras, D., Mondaca, M.A., Pérez-Moya, M., Mansilla, H.D., 2010. Experimental design of Fenton and photo-Fenton reactions for the treatment of ampicillin solutions. J. Hazard. Mater. 177, 1025-1030

Ruthven, D., 2000. Fundamentals of adsorption, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.). Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology. John Wiley & Sons, New York

Ruthven, D.M., 2001. Adsorption, Fundamentals, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.). Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology. John Wiley & Sons, New York

Sacher, F., Lange, F.T., Brauch, H.-J., Blankenhorn, I., 2001. Pharmaceuticals in groundwaters. Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. J. Chromatogr. A 938, 199-210

Sánchez-Polo, M., Rivera-Utrilla, J., Prados-Joya, G., Ferro-García, M.A., Bautista-Toledo, I., 2008. Removal of pharmaceutical compounds, nitroimidazoles, from waters by using the ozone/carbon systems. Water Res. 42, 4163-4171

Santos, L.M.C., 2001. Resíduos com interesse agrícola. Evolução de parâmetros da sua compostagem. Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

Santos, S.M., Henriques, M., Duarte, A.C., Esteves, V.I., 2007. Developement and application of a capillary electrophoresis based method for the simultaneous screening of six antibiotics in spiked milk samples. Talanta 71, 731-737

Saracco, G., Solarino, L., Aigotti, R., Specchia, V., Maja, M., 2000. Electrochemical oxidation of organic pollutants at low electrolyte concentrations. Electrochim. Acta 46, 373-380

Sarmah, A.K., Meyer, M.T., Boxall, A.B.A., 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. Chemosphere 65, 725-759

Sawyer, C., McCarty, P., Parkin, G., 2002. Chapter 3. Basic Concepts from Physical Chemistry. Chemistry for Environmental Engineering and Science, McGraw-Hill Science, 5th edition, USA, New York

Seifrtová, M., Nováková, L., Lino, C., Pena, A., Solich, P., 2009. An overview of analytical methodologies for the determination of antibiotics in environmental waters. Anal. Chim. Acta 649, 158-179

Seifrtová, M., Pena, A., Lino, C.M., Solich, P., 2008. Determination of fluoroquinolone antibiotics in hospital and municipal wastewaters in Coimbra by liquid chromatography with a monolithic column and fluorescence detection. Anal. Bioanal. Chem 391, 799-805

- Serrano, J.M., Silva, M., 2007. Use of SDS micelles for improving sensitivity, resolution, and speed in the analysis of β -lactam antibiotics in environmental waters by SPE and CE. *Electrophoresis* 28, 3242–3249
- Shan, A.Y., Ghazi, T.I.M., Rashid, S.A., 2010. Immobilisation of Titanium Dioxide onto Supporting Materials in Heterogeneous Photocatalysis: A Review. *Appl. Catal., A*, doi:10.1016/j.apcata.2010.08.053.
- Shaojun, J., Shourong, Z., Daqiang, Y., Lianhong, W., Liangyan, C., 2008. Aqueous oxytetracycline degradation and the toxicity change of degradation compounds in photoirradiation process. *J. Environ. Sci.* 20, 806-813
- Sharma, V.K., 2008. Oxidative transformations of environmental pharmaceuticals by Cl_2 , ClO_2 , O_3 , and Fe (VI): Kinetics assessment. *Chemosphere* 73, 1379-1386
- Sheehan, T., Baars, B., 2007. Atmospheric Pressure Ionization. Varian, Alemanha
- Shemer, H., Kunukcu, Y.K., Linden, K.G., 2006. Degradation of the pharmaceutical Metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes. *Chemosphere* 63, 269-276
- Siedlecka, E.M., Więckowska, A., Stepnowski, P., 2007. Influence of inorganic ions on MTBE degradation by Fenton's reagent. *J. Hazard. Mater.* 147, 497-502
- Silva, J., 2009. Remoção de amoxicilina de matrizes aquosas por adsorção em leito fixo com casca de amêndoa carbonizada, Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química e Biológica. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto
- Sim, W.-J., Lee, J.-W., Lee, E.-S., Shin, S.-K., Hwang, S.-R., Oh, J.-E. 2011. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. *Chemosphere* 82, 179-186
- Sips, R., 1948. On the structure of a catalyst surface. *J. Chem. Phys.* 16, 490–495
- Sirtori, C., Zapata, A., Oller, I., Gernjak, W., Agüera, A., Malato, S., 2009. Decontamination industrial pharmaceutical wastewater by combining solar photo-Fenton and biological treatment. *Water Res.* 43, 661-668
- Situ, C., Elliott, C.T., 2005. Simultaneous and rapid detection of five banned antibiotic growth promoters by immunoassay. *Anal. Chim. Acta* 529, 89-96
- Soleimani, M., Kaghazchi, T., 2008. Activated hard shell of apricot stones: a promising adsorbent in gold recovery. *Chin. J. Chem. Eng.* 16, 112-118

- Solomons, G., Fryle, C., 2000. Organic Chemistry, John Wiley & Sons, 7th Edition, USA, New York
- Sonnefeld, J., 2001. On the influence of background electrolyte concentration on the position of the isoelectric point and the point of zero charge. *Colloids Surf., A* 190, 179–183
- Southgate, R., Osborne, N.F., 2000. Carbapenems and Penems, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- Sposito, G., 1998. On points of zero charge. *Environ. Sci. Technol.* 32, 2815-2819
- Stackelberg, P.E., Gibbs, J., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., Lippincott, R.L., 2007. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Sci. Total Environ.* 377, 255-272
- Štěpán, R., Hajšlová, J., Kocourek, V., Tichá, J., 2004. Uncertainties of gas chromatographic measurement of troublesome pesticide residues in apples employing conventional and mass spectrometric detectors. *Anal. Chim. Acta* 520, 245–255
- Stockinger, H., Heinzle, E., Kut, O., 1995. Removal of Chloro and Nitro Aromatic Wastewater Pollutants by Ozonation and Biotreatment. *Environ. Sci. Technol.* 29, 2016-2022
- Sui, Q., Huang, J., Deng, S., Yu, G., Fan, Q., 2010. Occurrence and removal of pharmaceuticals, caffeine and DEET in wastewater treatment plants of Beijing, China. *Water Res.* 44, 417-426
- Suksabye, P., Thiravetyan, P., Nakbanpote, W., 2008. Column study of chromium (VI) adsorption from electroplating industry by coconut coir pith. *J. Hazard. Mater.* 160, 56-62
- Sum, P.-E., 2004. Tetracyclines, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- Sun, S.-P., Li, C.-J., Sun, J.-H., Shi, S.-H., Fan, M.-H., Zhou, Q., 2009. Decolorization of an azo dye Orange G in aqueous solution by Fenton oxidation process: Effect of system parameters and kinetic study. *J. Hazard. Mater.* 161, 1052-1057
- Supelco, 1998. Guide to Solid Phase Extraction – Bulletin 910, Sigma-Aldrich Co.
- Tamimi, M., Qourzal, S., Barka, N., Assabbane, A., Ait-Ichou, Y., 2008. Methomyl degradation in aqueous solutions by Fenton's reagent and the photo-Fenton system. *Sep. Purif. Technol.* 61, 103-108
- Tamtam, F., Mercier, F., Le Bot, B., Eurin, J., Dinh, Q.T., Clément, M., Chevreuil, M., 2008. Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions. *Sci. Tot. Environ.* 393, 84-95

- Taty-Costodes, V.C., Fauduet, H., Porte, C., Delacroix, A., 2003. Removal of Cd(II) and Pb(II) ions from aqueous solutions by adsorption onto sawdust of *Pinus sylvestris*. J. Hazard. Mater. 105, 121-142
- Taty-Costodes, V.C., Fauduet, H., Porte, C., Ho, Y.-S., 2005. Removal of lead (II) ions from synthetic and real effluents using immobilized *Pinus sylvestris* sawdust: Adsorption on a fixed-bed column. J. Hazard. Mater. B123, 135-144
- Teixeira, I., 2008. Consumo de Antimicrobianos em Portugal - Dia Europeu dos Antibióticos, Observatório do Medicamento e Produtos de Saúde, INFARMED, Lisboa
- Teixeira, S., Delerue-Matos, C., Alves, A., Santos, L., 2008. Fast screening procedure for antibiotics in wastewaters by direct HPLC-DAD analysis. J. Sep. Sci. 31, 2924 – 2931
- Tekin, H., Bilkay, O., Araberk, S.S., Balta, T.H., Ceribasi, I.H., Sanin, F.D., Dilek, F.B., Yetis, U. 2006. Use of Fenton oxidation to improve the biodegradability of a pharmaceutical wastewater. J. Hazard. Mater. 136, 258-265
- Temkin, M.I., Pyzhev, V., 1940. Kinetics of ammonia synthesis promoted iron catalysts. Acta Physiochim. URSS 12, 327-356
- Ternes, T.A., Stüber, J., Herrmann, N., McDowell, D., Ried, A., Kampmann, M., Teiser, B., 2003. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater. Water Res. 37, 1976-1982
- Terzyk, A.P., 2001. The influence of activated carbon surface chemical composition on the adsorption of acetaminophen (paracetamol) in vitro. Part II. TG, FTIR, and XPS analysis of carbons and the temperature dependence of adsorption kinetics at the neutral pH. Colloids Surf., A 177, 23-45
- Thompson, M., 2000. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. Analyst 125, 385-386
- Trovó, A.G., Melo, S.A.S., Nogueira, R.F.P., 2008. Photodegradation of the pharmaceuticals amoxicillin, bezafibrate and paracetamol by the photo-Fenton process – application to sewage treatment plant effluent. J. Photochem. Photobiol., A 198, 215-220
- Trovó, A.G., Nogueira, R.F.P., Agüera, A., Fernandez-Alba, A.R., Malato, S., 2011. Degradation of the antibiotic amoxicillin by photo-Fenton process – Chemical and toxicological assessment. Water Res. 45, 1394-1402
- Trovó, A.G., Nogueira, R.F.P., Agüera, A., Sirtori, C., Fernández-Alba, A.R., 2009. Photodegradation of sulfamethoxazole in various aqueous media: Persistence, toxicity and photoproducts assessment. Chemosphere 77, 1292-1298

- Tuomela, M., 2002. Degradation of lignin and other ¹⁴C-labelled compounds in compost and soil with an emphasis on white-rot fungi. Academic dissertation in Microbiology, Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, Finland, Helsinki
- Uddin, T., Rukanuzzaman, Khan, M.R., Islam, A., 2009. Adsorption of methylene blue from aqueous solution by jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) leaf powder: A fixed-bed column study. *J. Environ. Manage.* 90, 3443–3450
- Üstün, G.E., Solmaz, S.K.A., Birgül, A., 2007. Regeneration of industrial district wastewater using a combination of Fenton process and ion exchange – A case study. *Resour. Conserv. Recycl.* 52, 425–440
- van Parijs, F.R.D., Morreel, K., Ralph, J., Boerjan, W., Merks, R.M.H., 2010. Modeling Lignin Polymerization. I. Simulation Model of Dehydrogenation Polymers. *Plant Physiology* 153, 1332–1344
- Vieira, A.P., Santana, S.A.A., Bezerra, C.W.B., Silva, H.A.S., Chaves, J.A.P., Melo, J.C.P., Filho, E.C.S., Airoidi, C., 2009. Kinetics and thermodynamics of textile dye adsorption from aqueous solutions using babassu coconut mesocarp. *J. Hazard. Mater.* 166, 1272–1278
- Vieno, N.M., Hrkki, H., Tuhkanen, T., Kronberg, L., 2007. Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5077–5084
- Vilar, V., 2006. Remoção de iões metálicos em solução aquosa por resíduos da indústria de extracção agar. Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto para a obtenção do grau de Doutor em Engenharia Química. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto
- Vilar, V.J.P., Botelho, C.M.S., Boaventura, R.A.R., 2007. Chromium and zinc uptake by algae *Gelidium* and agar extraction algal waste: Kinetics and equilibrium. *J. Hazard. Mater.* 149, 643–649
- Vilar, V.J.P., Botelho, C.M.S., Boaventura, R.A.R., 2008. Copper removal by algae *Gelidium*, agar extraction algal waste and granulated algal waste: Kinetics and equilibrium. *Biores. Technol.* 99, 750–762
- Vuorinen, T., 2011. Extractives in wood and their behavior in pulping. *Forest Products Chemistry*, Department of Forest Products Technology, Helsinki University of Technology, Finland, Helsinki
- Walker, G.M., Hansen, L., Hanna, J.-A., Allen, S.J., 2003. Kinetics of a reactive dye adsorption onto dolomitic sorbents. *Water Research* 37, 2081–2089
- Walling, C., 1975. Fenton's reagent revisited. *Acc. Chem. Res.* 8, 125–131

- Wang, J., Liu, Q., Zhang, G., Li, Z., Yang, P., Jing, X., Zhang, M., Liu, T., Jiang, Z., 2009. Synthesis, sustained release properties of magnetically functionalized organic-inorganic materials: Amoxicillin anions intercalated magnetic layered double hydroxides via calcined precursors at room temperature. *Solid State Sci.* 11, 1597-1601
- Wang, S., 2008. A comparative study of Fenton and Fenton-like reaction kinetics in decolourisation of wastewater. *Dyes Pigments* 76, 714-720
- Wang, S., Li, H., 2005. Dye adsorption on unburned carbon: Kinetics and equilibrium. *J. Hazard. Mater. B* 126, 71-77
- Wang, X.S., Li, Z.Z., Tao, S.R., 2009. Removal of chromium (VI) from aqueous solution using walnut hull. *J. Environ. Manage.* 90, 721-729
- Wang, X.S., Zhou, Y., Jiang, Y., Sun, C., 2008. The removal of basic dyes from aqueous solutions using agricultural by-products. *J. Hazard. Mater.* 157, 374-385
- Waters Corporation, 2008. LC/MS – Interfacing HPLC and MS. <http://www.waters.com/WatersDivision/ContentD.asp?watersit=EGOO-66YNU9> (acedido em Fevereiro de 2008)
- Waters Corporation, 2008. The mass spectrometer: instrument architectures and main characteristics. <http://www.waters.com/WatersDivision/ContentD.asp?watersit=EGOO-66MNYR> (acedido em Fevereiro de 2008)
- Watkinson, A.J., Murby, E.J., Kolpin, D.W., Costanzo, S.D., 2009. The occurrence of antibiotics in an urban watershed; From wastewater to drinking water. *Sci. Tot. Environ.* 407, 2711-2723
- Weidner-Wells, M.A., Macielag, M.J., 2003. Antibacterial Agents Sulfonamides, in: Kirk, E.R., Othmer, D.F., Kroschwitz, J.I., Howe-Grant, M. (Eds.), *Kirk-Othmer Encyclopedia Chemical Technology*, John Wiley & Sons, New York
- Wise, R. Antimicrobial resistance: priorities for action, 2002. *J. Antimicrob. Chemoth.* 49, 585-586
- Wu, C., Witter, J.D., Spongberg, A.L., Czajkowski, K.P., 2009. Occurrence of selected pharmaceuticals in an agricultural landscape, western Lake Erie basin. *Water Res.* 43, 3407-3416
- Wu, Y., Zhou, S., Zheng, K., Ye, X., Qin, F. 2011. Mathematical model analysis of Fenton oxidation of landfill leachate. *Waste Manage.* 31, 468-474
- Xu, H., Cooper, W.J., Jung, J., Song, W., 2011. Photosensitized degradation of amoxicillin in natural organic matter isolate solutions. *Water Res.* 45, 632-638
- Xu, T., 2005. Ion exchange membranes: state of their development and perspective. *J. Membr. Sci.* 263, 1-29

- Xu, W.-H., Zhang, G., Zou, S.-C., Li, X.-D., Liu, Y.-C., 2007. Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environ. Pollut.* 145, 672-679
- Yang, Y., Wang, P., Shi, S., Liu, W., 2009. Microwave enhanced Fenton-like process for the treatment of high concentration pharmaceutical wastewater. *J. Hazard. Mater.* 168, 238-245
- Yap, C.L., Gan, S., Ng, H.K., 2011. Fenton based remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soils. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.01.026
- Yiruhan, Wang, Q.-J., Mo, C.-H., Li, Y.-W., Gao, P., Tai, Y.-P., Zhang, Y., Ruan, Z.-L., Xu, J.-W., 2010. Determination of four fluoroquinolone antibiotics in tap water in Guangzhou and Macao. *Environ. Pollut.* 158, 2350-2358
- Yoon, J., Lee, Y., Kim, S., 2001. Investigation of the reaction pathway of OH radicals produced by Fenton oxidation in the conditions of wastewater treatment. *Water Sci. Technol.* 44, 15-21
- Yoon, Y., Ryu, J., Oh, J., Choi, B.-G., Snyder, S.A., 2010. Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea). *Sci. Tot. Environ.* 408, 636-643
- Zabihi, M., Asl, A.H., Ahmadpour, A., 2010. Studies on adsorption of mercury from aqueous solution on activated carbons prepared from walnut shell. *J. Hazard. Mater.* 174, 251-256
- Zacharis, C., 2009. Capillary Electrophoresis. *SciTopics*. <http://www.scitopics.com/CapillaryElectrophoresis.html> (acedido em Agosto de 2011)
- Zazouli, M.A., Susanto, H., Nasser, S., Ulbricht, M., 2009. Influences of solution chemistry and polymeric natural organic matter on the removal of aquatic pharmaceutical residuals by nanofiltration, *Water Res.* 43, 3270-3280
- Zhang, G., Ji, S., Xi, B., 2006. Feasibility study of treatment of amoxicillin wastewater with a combination of extraction, Fenton oxidation and reverse osmosis. *Desalination* 196, 32-42
- Zhang, Z., Shan, Y., Wang, J., Ling, H., Zang, S., Gao, W., Zhao, Z., Zhang, H., 2007. Investigation on the rapid degradation of congo red catalyzed by activated carbon powder under microwave irradiation. *J. Hazard. Mater.* 147, 325-333
- Zhou, J.-H., Sui, Z.-J., Zhu, J., Li, P., Chen, D., Dai, Y.-C., Yuan, W.-K., 2007. Characterization of surface oxygen complexes on carbon nanofibers by TPD, XPS and FT-IR. *Carbon* 45, 785-796
- Zorita, S., Martensson, L., Mathiasson, L., 2009. Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Sci. Tot. Environ.* 407, 2760-2770

Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Melis, M., Fanelli, R., 2010. Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment. *J. Hazard. Mater.* 179, 1042-1048

ANEXOS

ANEXO I. DETERMINAÇÃO DA INCERTEZA GLOBAL

Incerteza associada à preparação de padrões, U_1

As incertezas associadas à preparação dos padrões foram determinadas recorrendo à expressão:

$$U_1 = u_{st} = \sqrt{\sum_i \left(\frac{\Delta m_i}{m_i} \right)^2} \quad (\text{AI.1})$$

em que Δm_i corresponde ao erro associado a um equipamento de medida e m_i o valor medido por este equipamento.

As incertezas associadas aos equipamentos de medida foram estimadas a partir dos intervalos de confiança indicados nos mesmos e considerando uma distribuição triangular. De acordo com a EURACHEM, se um limite $\pm c$ é dado sem um limite de confiança e os valores extremos do intervalo não são prováveis, normalmente é apropriado assumir uma distribuição triangular, ou seja,

$$u(x) = \frac{c}{\sqrt{6}} \quad (\text{AI.2})$$

Incerteza associada à recta de calibração, U_2

A incerteza associada ao traçado da recta de calibração foi calculada através da razão entre o desvio-padrão para uma dada concentração, s_{x_0} , e a respectiva concentração, x_0 .

$$U_2 = \frac{s_{x_0}}{x_0} = \frac{1}{x_0} \frac{s_{y/x}}{a} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{a^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (\text{AI.3})$$

em que $s_{y/x}$ é o desvio-padrão residual, a o declive da regressão linear, m o número de replicados efectuados, n corresponde ao número de padrões utilizados no traçado da recta de calibração, y_0 é o valor da área para cada x_i , $\bar{y}$ é a média dos valores de y_i experimentais, x_i é o valor da concentração do padrão i utilizado na recta de calibração e $\bar{x}$ corresponde à média dos valores de x_i .

Incerteza associada à precisão, U_3

O valor da incerteza associada à precisão foi calculado a partir de:

$$U_3 = \frac{s}{y_{med} \sqrt{n}} \quad (\text{AI.4})$$

em que s é o desvio-padrão dos ensaios de precisão, y_{med} o valor da área média dos ensaios para uma determinada concentração e n o número de ensaios.

Incerteza associada à exactidão, U_4

A incerteza associada à exactidão é determinada de um modo bastante semelhante à incerteza associada à precisão, ou seja:

$$U_4 = \frac{s(\eta)}{\sqrt{n}} \quad (\text{AI.5})$$

em que $s(\eta)$ é o desvio-padrão relativo da percentagem média de recuperação e n o número de ensaios.

Incerteza Global, U

A incerteza global é determinada pela raiz quadrada da soma dos quadrados de cada uma das incertezas mencionadas anteriormente:

$$U = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 + U_4^2} \quad (\text{AI.6})$$

ANEXO II. DESENHO EXPERIMENTAL

Em diversas situações, o número de factores que podem influenciar os resultados de um ensaio laboratorial é bastante elevado. De modo a se obter a máxima eficiência do processo de um determinado processo é necessário otimizar essas condições experimentais. Até ao momento, a maior parte dos estudos publicados baseavam-se numa abordagem tradicional, que consistia em ir estudando um factor de cada vez, considerando o efeito de cada variável independentemente e mantendo todas as outras constantes. Contudo esta metodologia não considerava as interações entre os parâmetros e, consequentemente, o seu efeito sob a resposta do processo. Com o intuito de ultrapassar esta desvantagem, surgiram as metodologias de desenho experimental. Estas baseiam-se em processos de planeamento de experiências que permitem a obtenção de dados que são posteriormente analisados mediante métodos estatísticos. Esta abordagem estatística permite efectuar uma análise multivariada, utilizando um número mínimo de experiências (Oliveira *et al.*, 2006; Ay *et al.*, 2008; Arslan-Alaton *et al.*, 2009).

A metodologia de resposta de superfície (RSM) é utilizada quando diversas variáveis podem influenciar a resposta do processo. Esta metodologia permite estimar uma relação entre as variáveis dependente (resposta) e as independentes, bem como otimizar as relevantes para um determinado processo (Arslan-Alaton *et al.*, 2009). Portanto, a ideia principal da resposta de superfície é usar uma técnica estatística eficiente para a optimização de diversas variáveis, efectuando o mínimo número de experiências de modo a obter uma resposta optimizada. Diferentes tipos de desenho de superfície (Figura All.1) podem ser aplicados, nomeadamente desenho composto central (*central composite design-CCD*) e Box-Behnken (BBD) (Catalkaya e Kargi, 2007; Ay *et al.*, 2009).

O desenho composto central, também designado por desenho de Box-Wilson, é quadrático e rotativo. As combinações das variáveis encontram-se nos vértices e centro do espaço variável, bem como a uma distância fixa α do centro do domínio. Este valor de α é determinado pelo número de factores elevado a 0,25. O desenho experimental composto modificado de Box-Behnken é também um desenho quadrático independente, rotativo e requer três níveis para cada factor em estudo. Neste modelo as combinações das variáveis encontram-se nos pontos médios das arestas do espaço variável e no centro. O facto de não possuir pontos nos vértices do espaço variável (pontos extremos) pode constituir uma vantagem quando as combinações impostas são impossíveis de testar devido a restrições processuais. O modelo de Box-Behnken exige um menor número de experiências do que as outras metodologias e, de uma forma geral, é tão eficiente como o desenho composto central (Ay *et al.*, 2009). Estes modelos são os mais aplicados no traçado de respostas de superfície (Fu *et al.*, 2009).

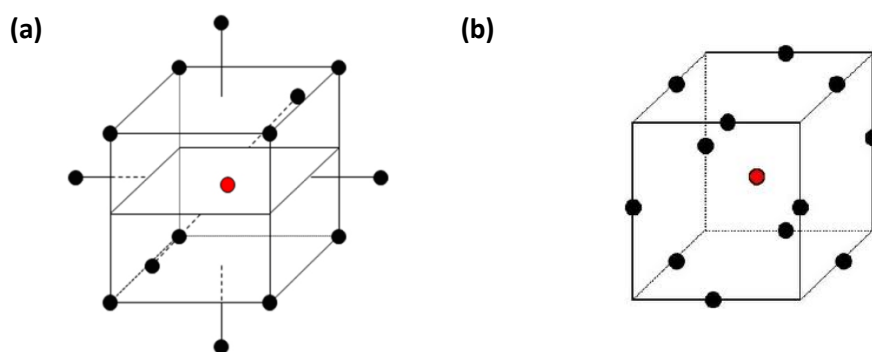


Figura AII.1. Comparação entre os pontos do desenho composto central e do desenho de Box-Behnken.

Tal como mencionado anteriormente, o desenho experimental e a metodologia de resposta de superfície (RSM) são ferramentas úteis para verificar os efeitos dos diferentes factores e das suas interações na resposta do processo, numa determinada gama e com um número mínimo de experiências. O procedimento de optimização envolve o estudo da resposta obtida para o desenho estatístico delineado, a estimativa dos coeficientes através do ajuste das funções-resposta aos pontos experimentais, a previsão da resposta do modelo ajustado e a verificação da adequação do modelo.

A aplicação da metodologia de resposta de superfície permite estabelecer uma relação matemática entre as variáveis dependente e independente e otimizar o processo em estudo. Os dados experimentais são ajustados por uma equação polinomial de segunda-ordem (Arslan-Alaton *et al.*, 2009; Rodrigues *et al.*, 2009), ou seja,

$$Y = b_0 + \sum_i^n b_i x_i + \sum_i^n b_{ii} x_i^2 + \sum_{j>i}^n \sum_{i=1}^n b_{ij} x_i x_j \quad (\text{AII. 1})$$

em que Y corresponde à resposta do processo, x_i às variáveis codificadas independentes, b_0 o termo correspondente à intercepção, b_i determina a influência da variável i na resposta (termo linear), b_{ii} determina a forma da curva (efeito quadrático) e b_{ij} corresponde ao termo que determina o efeito de interação entre a variável i e j .

De modo a converter as variáveis naturais (X_i) em variáveis adimensionais e codificadas (x_i) recorre-se à equação AII.2 (Oliveira *et al.*, 2006):

$$x_i = \frac{X_i - X_0}{\Delta X} \quad (\text{AII. 2})$$

onde X_0 corresponde ao valor da variável i no centro do domínio ($x_i = 0$) e ΔX à diferença entre as variáveis $x_i = +1$ e $x_i = 0$.

A análise estatística dos resultados é efectuada através de testes de variância ANOVA, que avaliam a adequação do modelo de ajuste. As variações que ocorrem na resposta podem ser

atribuídas ao modelo e não a erros aleatórios se o valor de $F_{calculado}$ for superior ao valor tabelado de F de Fisher ($F_{critico}$) e, conseqüentemente, se a probabilidade de F for inferior a 0,05 (para um nível de confiança de 95%). O valor de $F_{calculado}$ relaciona a variância associada ao modelo com a variância associada ao erro experimental e pode ser determinado a partir de (Rodrigues *et al.*, 2009):

$$F_{calculado} = \frac{MS_{modelo}}{MS_{erro}} \quad (AII. 3)$$

$$MS_{modelo} = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y}_{rep})^2}{df_{modelo}} \quad (AII. 4)$$

$$MS_{erro} = \frac{\sum_{i=1}^n (\bar{y}_{rep} - y_i)^2}{df_{erro}} \quad (AII. 5)$$

em que MS corresponde à variância associada ao modelo e ao erro experimental, $\hat{y}_i$ o valor estimado pelo modelo para cada conjunto de valores de variáveis, y_i o valor experimental de cada conjunto de valores de variáveis, $\bar{y}_{rep}$ a média dos valores experimentais das réplicas no ponto médio, df o número de graus de liberdade.

O teste de t -Student é utilizado para determinar quais os parâmetros e/ou interações que têm significado estatístico. Se a probabilidade de t é inferior a 0,05, o parâmetro ou interação é significativo. A análise de Pareto é também uma ferramenta útil para analisar quais as variáveis e interações mais significativas para o factor de resposta. Neste caso é calculado a percentagem de cada efeito na resposta (P_i) de acordo com a equação AII. 6 (Hammami *et al.*, 2007; Abdessalem *et al.*, 2008):

$$P_i = \frac{b_i^2}{\sum_i^n b_i^2} \times 100 \quad (AII. 6)$$

Os efeitos significativos são aqueles que são superiores à margem de erro do processo (no caso em que se considera um nível de confiança de 95%, a margem de erro corresponde a 5%).

Com a resposta ao processo é possível traçar-se gráficos de contorno e de superfície. Nos primeiros (representações bi-dimensionais) todos os pontos que conduzem à mesma resposta estão ligados entre si, produzindo linhas de contorno – linhas de isoresposta. Já os gráficos de superfície (representações tridimensionais) permitem uma percepção mais clara da resposta com a variação dos parâmetros escolhidos.