



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

João Filipe Reis

TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS  
REMOÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUAS RESIDUAIS COM MICROALGAS

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada  
pelo Professor Doutor André Monteiro Pais Teixeira Pereira e  
coorientada pela Professora Doutora Angelina Lopes Simões Pena  
apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Outubro de 2021

1 2



9 0

FACULDADE DE FARMÁCIA  
UNIVERSIDADE DE  
COIMBRA

João Filipe Reis

**TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS**  
**REMOÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUAS RESIDUAIS COM**  
**MICROALGAS**

Dissertação no âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar orientada pelo Professor  
Doutor André Monteiro Pais Teixeira Pereira e coorientada pela Professora  
Doutora Angelina Lopes Simões Pena apresentada à Faculdade de  
Farmácia da Universidade de Coimbra

Outubro de 2021

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de demonstrar a minha gratidão a todas as pessoas que me ajudaram e apoiaram durante este percurso académico, e que sem elas a realização desta dissertação não teria sido possível.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao meu orientador, o Professor Doutor André Pereira e a Professora Doutora Angelina Lopes Simões Pena pelo desafio proposto e por toda a disponibilidade, apoio e ajuda que me proporcionou durante a realização desta dissertação.

À Professora Doutora Liliana Silva e à Mestre Célia Laranjeiro por me terem recebido tão bem e por toda a ajuda e orientação técnico-científica que me facultaram no laboratório de Bromatologia e Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

À minha família, sobretudo aos meus pais e irmão, pela confiança que em mim depositaram e por me terem permitido chegar até aqui.

À minha namorada Andreia pelo apoio incondicional, companheirismo, amizade e por todas as palavras de incentivo.

Aos meus amigos e colegas de licenciatura e de mestrado, Pedro Pires, Catarina Perdigão, Bruno Costa, Daniel Ribeiro, Sérgio Ribeiro, Ana Martins, Laura Ribeiro, Gonçalo Pereira, Miguel Oliveira, David Coelho, Maria Casimiro e Rita Barata.

Obrigado à Universidade de Coimbra por me terem acolhido tão bem e pelas ferramentas que me permitiram adquirir ao longo destes anos em que fui com bastante orgulho um estudante desta prestigiada instituição.

Aos restantes familiares e amigos um enorme obrigado por toda a força, incentivo, confiança, ajuda e companheirismo prestados durante esta jornada.

Obrigado a todos!

## RESUMO

O crescimento exponencial do consumo de medicamentos a nível global e o risco ecológico causado pela libertação de fármacos em ambientes aquáticos, têm sido um tópico fulcral nos debates e investigações da comunidade científica. São necessários mais estudos de modo a compreender-se os possíveis efeitos a longo prazo destes na desregulação do bom funcionamento dos ecossistemas e das cadeias tróficas.

As Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETARs) funcionam como a nossa linha da frente no combate à poluição aquática causada pelos nossos resíduos. Consiste num processo em que as águas provenientes de origem doméstica e industrial são tratadas de modo a reduzirem os seus níveis de poluição para valores aceitáveis, para serem novamente devolvidas ao meio ambiente.

Neste estudo, em parceria com o projeto “*GreenTreat*”, coordenado pelo “Centro de Ciências do Mar” (CCMAR) da Universidade do Algarve (UALG), pretendemos detetar a ocorrência de fármacos, em amostras de águas residuais da ETAR da “Quinta do Lago” em Almancil, antes e depois de serem submetidas a um tratamento de remoção de fármacos com recurso a fotobiorreactores que continham microalgas.

Nas amostras recolhidas, pesquisaram-se 18 fármacos diferentes, pertencentes a diferentes grupos farmacoterapêuticos, através de uma extração em fase sólida (SPE) seguida por uma cromatografia líquida acoplada a deteção por massa (LC/MSn). Nos resultados obtidos apenas foram detetados quatro fármacos nas amostras de água, a sertralina (SER), o citalopram (CIT), o naproxeno (NPX) e a ciprofloxacina (CIP).

Devido aos baixos valores detetados, não se conseguiu tirar conclusões sobre a eficácia de remoção de fármacos por este tratamento terciário com recurso a microalgas.

Uma das hipóteses consideradas para o baixo número de fármacos detetados pode ser o facto de a ETAR onde se realizou a amostragem se localizar numa zona turística, onde ocorreu uma redução populacional bastante significativa devido aos efeitos pandémicos do ano de 2020.

**Palavras-chave:** ETARs, Águas Residuais, Sertralina, Citalopram, Contaminantes Ambientais.

## Abstract

The ecological risk caused by the release of drugs in aquatic environments, associated with the exponential growth in the consumption of medicines at a global level, has been a central topic in the debates and investigations carried out by the scientific community. The long-term effects that these can have on the dysregulation of the proper functioning of ecosystems and food chains are not yet well known.

Wastewater Treatment Plants (WWTPs) work as our front line of the fight we waged against the water pollution caused by our waste, in which water from domestic and industrial sources are treated in order to reduce pollution levels to acceptable levels to be returned to the environment again.

In this project, in partnership with the “GreenTreat” project, coordinated by the “Center for Marine Sciences” (CCMAR) of the University of Algarve (UALG), we intend to detect the occurrence of drugs, in wastewater effluent samples from the WWTP “Quinta do Lago” in Almacil, before and after undergoing a drug removal treatment using microalgae.

In the samples collected, evidence was sought for 18 different chemical compounds used in the production of drugs, through a solid phase extraction (SPE) followed by a liquid chromatography coupled to mass detection (LC/MSn). In the results obtained, only evidence of 4 drugs were detected in the water samples, sertraline (SER), citalopram (CIT), ciprofloxacin (CIP) and naproxen (NPX).

One of the hypotheses considered for the small number of chemicals detected, comes from the fact that the WWTP where the sampling took place, is located in a tourist area, which due to the pandemic effects of the year 2020 felt a very significant reduction in population density, therefore, with less population, there is a decrease in the production of domestic waste associated with the consumption of medicines.

**Keywords:** WWTPs, Wastewaters, Sertraline, Citalopram, Environmental Contaminants.

## **Objetivos**

Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de remoção de diferentes tipos de fármacos em águas residuais, através da incorporação de fotobiorreatores com microalgas no tratamento de polimentos numa estação de tratamento de águas residuais.

## ÍNDICE GERAL

Agradecimentos .....	ii
Resumo .....	iii
Abstract.....	iv
Objetivos .....	v
Índice de Tabelas.....	vii
Índice de Figuras.....	viii
Lista de Siglas, Acrônimos e Abreviaturas .....	ix

### Parte I – Revisão Bibliográfica

1.1. Introdução .....	2
1.2. Enquadramento teórico .....	3
1.3. Origem e destino de Fármacos no ambiente .....	4
1.3.1. Origem.....	5
1.3.2. Padrões de consumo .....	6
1.3.3. Propriedades físico-químicas.....	7
1.3.4. Antidepressivos.....	11
1.3.5. Anticonvulsivos.....	13
1.3.6. Anti-inflamatórios.....	14
1.3.7. Antibióticos .....	16
1.3.8. Hipolipemiantes .....	17
1.3.9. Hormonas .....	18
1.4. Ocorrência .....	19
1.5. Toxicidade ambiental .....	24
1.6. Estações de tratamento de águas residuais .....	26
1.7. Microalgas no tratamento de águas residuais .....	29

### Parte II – Parte Experimental

2.1. Materiais e métodos.....	34
2.1.1. Amostragem .....	34
2.1.2. Preparação das amostras - Extração.....	39
2.1.3. Condições cromatográficas (HPLC) .....	39
2.2. Resultados e discussão .....	41
2.2.1. Revalidação do método .....	41
2.2.2. Resultados e discussão .....	43
2.3. Conclusão .....	48
3. Referências Bibliográficas.....	50

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Comparação dos níveis de DDD obtidos em 2010 e 2019 de 4 géneros de fármacos em alguns países da U.E.....	6
<b>Tabela 2:</b> Propriedades físico-químicas dos fármacos em estudo.....	7
<b>Tabela 3:</b> Concentrações médias em ng/L de antidepressivos detetados em amostras recolhidas em ETARs portuguesas.....	21
<b>Tabela 4:</b> Concentrações médias em ng/L de fármacos detetados em amostras recolhidas em ETARs portuguesas.....	22
<b>Tabela 5:</b> Concentrações em ng/L de antidepressivos detetados em amostras recolhidas de uma ETAR centralizada numa comunidade no Oeste dos E.U.A., e de um riacho e rio onde desaguam as águas da ETAR. ....	23
<b>Tabela 6:</b> Concentrações médias detetadas em afluentes e efluentes de 5 ETARs portuguesas e respetivas percentagens de remoção.....	24
<b>Tabela 7:</b> Valores de PNEC (ng/L) para a toxicidade ecológica em organismos aquáticos .....	25
<b>Tabela 8:</b> Amostras recolhidas no outono de 2019 e concentrações de fármacos detetados.....	36
<b>Tabela 9:</b> Amostras recolhidas no inverno de 2020 e concentrações de fármacos detetados.....	37
<b>Tabela 10:</b> Amostras recolhidas no verão de 2020 e concentrações de fármacos detetados.....	38
<b>Tabela 11:</b> Amostras recolhidas no outono de 2020 e concentrações de fármacos detetados .....	38
<b>Tabela 12:</b> Percentagem de gradientes durante o tempo de análise.....	41
<b>Tabela 13:</b> Valores de LOD, LOQ, RSD e recuperação média para todos os fármacos em estudo.....	42
<b>Tabela 14:</b> Amostras recolhidas positivas com o respetivo local de recolha e concentração (ng/L).....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> <i>Boxplot</i> com as concentrações médias, máximas e mínimas de vários produtos farmacêuticos detetados em afluentes de águas residuais .....	20
<b>Figura 2:</b> ETAR do Choupal (Coimbra) .....	29
<b>Figura 3:</b> sistema de tratamento de águas residuais com recurso a microalgas RAB, da empresa “ <i>Gross-Wen Technologies</i> ” .....	32
<b>Figura 4:</b> fotobiorreatores com microalgas onde foi aplicado o tratamento terciário às águas residuais da ETAR da Quinta do Lago .....	35
<b>Figura 5:</b> Esquema do circuito de águas dentro da ETAR e locais de recolha das amostras .....	35
<b>Figura 6:</b> Sistema de HPLC Thermo Finnigan .....	40
<b>Figura 7:</b> Espetrómetro de massa de armadilha de iões linear LTQ XL .....	40
<b>Figura 8:</b> Concentrações de fármacos (ng/L) detetadas nas amostras recolhidas no outono de 2019 .....	44
<b>Figura 9:</b> Concentrações de fármacos (ng/L) detetadas nas amostras recolhidas no inverno de 2020 .....	44
<b>Figura 10:</b> Concentrações de fármacos (ng/L) detetadas nas amostras recolhidas no verão de 2020 .....	45
<b>Figura 11:</b> Concentrações de fármacos (ng/L) detetadas nas amostras recolhidas no outono de 2020 .....	45

## LISTA DE SIGLAS, ACRÓNIMOS E ABREVIATURAS

ADT - Antidepressivos tricíclicos  
AIE - Anti-inflamatórios esteroides  
AINE - Anti-inflamatórios não esteroides  
APIs - Compostos farmacêuticos ativos  
CIP - ciprofloxacina  
COX - Ciclooxigenase  
DDD - Dose diária definida  
DNA - ácido desoxirribonucleico  
E.U.A - Estados Unidos da América  
EC<sub>50</sub> - concentração efetiva  
ETAR - Estação de tratamento de águas residuais  
HDL - High Density Lipoprotein  
HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência  
IMAO - Antidepressivos inibidores de monoamina oxidase  
IRSN - Inibidores de recaptção de serotonina e noradrenalina  
ISRS - Inibidor seletivo de recaptção de serotonina  
Ka - Constante de acidez  
LC<sub>50</sub> - concentração letal  
LDL - Low Density Lipoproteins  
LIT - Armadilha de iões linear  
LOD - Limite de deteção  
LOEC - menor concentração com efeito observado  
LOEL - nível mais baixo com efeito observado  
LOQ - Limite de quantificação  
LQ - Inferior ao limite de quantificação  
LTQ - Armadilha linear quádrupla  
Mg - Miligrama  
MI - Mililitro  
N.E. - Não eliminado  
NET - Transportador de Noradrenalina  
Ng - Nanograma  
NO<sub>EC</sub> - concentração sem efeito observado  
NOEL - nível sem efeito observado

NPX - naproxeno

OCDE - (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico)

OD - Oxigênio dissolvido

OMS - Organização mundial de saúde

PCBs - Bifenilos policlorados

PEC - *Predicted Effect Concentration*

PIB - Produto interno bruto

PNEC - *Predicted No-Effect Concentration*

PSPT - Perturbações de stresse pós-traumático

RNA<sub>m</sub> - ácido ribonucleico mensageiro

RSD - Desvio padrão relativo

SERT - Transportador de seretonina

SNC - Sistema nervoso central

U.E. - União Europeia

UV - Ultravioleta

V - Volt

## **Parte I – Revisão Bibliográfica**

## I.I. INTRODUÇÃO

Devido a diversas atividades humanas menos sustentáveis, os ecossistemas estão cada vez mais pressionados, o que pode promover alterações que afetem inclusive o próprio Homem. Por esse motivo é importante uma mudança de paradigma que permita a sustentabilidade de todo o ecossistema. Estes objetivos podem ser atingidos de diversas formas, sendo uma delas o tratamento mais ecológico e sustentável das águas residuais produzidas pela atividade humana.

As águas residuais, que têm a denominação comum de esgotos, podem ser definidas como águas alteradas/contaminadas, nomeadamente pela adição de sólidos orgânicos dissolvidos ou em suspensão, que resultam dos resíduos produzidos pela sociedade (Sonune *et al.*, 2004). O tratamento destas águas assenta principalmente na remoção e decomposição parcial dos sólidos orgânicos putrescíveis em sólidos minerais ou relativamente estáveis, de forma a minimizar as consequências da sua devolução ao meio ambiente (Sonune *et al.*, 2004).

O presente estudo encontra-se inserido no projeto “GreenTreat”, que visa encontrar soluções sustentáveis para o tratamento terciário de águas residuais urbanas através da utilização de microalgas. Sendo o foco desta dissertação os efeitos que determinadas misturas de microalgas podem ter no tratamento terciário de águas residuais nomeadamente na remoção de fármacos.

A seleção dos fármacos a estudar teve por base o seu consumo, toxicidade, persistência, legislação e ocorrência em outros estudos. Estes estão divididos em 6 grupos farmacoterapêuticos; antidepressivos (citalopram, fluoxetina, sertralina), anti-inflamatórios (diclofenac, naproxeno, Ibuprofeno, 4'-hidroxi diclofenac, acetaminofeno), antibióticos (ciprofloxacina, eritromicina, azitromicina, claritromicina), anticonvulsivo (carbamazepina), hormonas (estrone, estradiol, etinilestradiol) e reguladores lipídicos (bezafibrato, gemfibrozil).

As águas residuais foram submetidas a um tratamento com microalgas dentro do circuito de águas da ETAR para verificar a capacidade de remoção de fármacos através deste tratamento terciário.

Por um lado, este projeto tem um grande potencial por procurar ajudar a reduzir os níveis de contaminação aquática produzidos pelo Homem, tentando encontrar métodos mais financeiramente e ecologicamente sustentáveis, permitindo adicionalmente obter um subproduto com algum valor económico e uma energia renovável. Por outro, é um processo pouco dispendioso, podendo ser posto em prática em países com menos recursos.

## I.2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

A água é um dos recursos naturais mais imprescindíveis e importantes para o Homem, mas o acesso a água potável em países em desenvolvimento e a qualidade desta nos países industrializados têm atingido valores e proporções preocupantes (Muñoz *et al.*, 2009). A poluição de águas residuais domésticas, agrícolas e industriais é despoletada por diversos fatores e práticas de origem humana que libertam para o meio ambiente contaminantes orgânicos e inorgânicos. Tais como altas concentrações de nitratos, fosfatos e compostos de carbono, microplásticos e metais pesados que causam enormes pressões nas cadeias alimentares em todos os níveis tróficos (Wollmann *et al.*, 2019).

Devido a esta grande panóplia de contaminantes e às condições regionais envolvidas, o tratamento de águas residuais deve reger-se por vários métodos de tratamento e tecnologias, aliados a diversos métodos de monitorização e análises das águas, por forma a garantir a aplicação das melhores técnicas para a resolução de cada situação (Wollmann *et al.*, 2019).

Nos dias de hoje, os medicamentos estão enraizados no quotidiano de quase todos os seres humanos, sendo imprescindíveis para a saúde pública de toda a população. Sem eles a nossa esperança média de vida seria bastante mais baixa, como era comum no mundo pobre e pré-moderno (Roser *et al.*, 2013), no qual a taxa de mortalidade infantil era muito elevada e qualquer mínima patologia podia levar a um desfecho fatal. Desde 1900 que a esperança média duplicou os seus valores, muito devido aos avanços científicos nos diversos campos da medicina e à melhoria das condições de vida.

A utilização em massa de medicamentos contribui para diversos distúrbios e impactos ambientais associados à sua utilização. Visto serem bens indispensáveis para o nosso sucesso enquanto espécie, é necessário realizar avaliações de risco bem estruturadas e completas sobre a presença e o impacto que estes podem ter no meio ambiente, de modo a conseguirmos cumprir a Diretiva-Quadro da Água da União Europeia (EU) (DQA) (Robles-Molina *et al.*, 2014).

Desde há cerca de 20 anos que as pesquisas ambientais têm incidido, para além dos poluentes ambientais mais comuns como os PCBs (bifenilos policlorados), dioxinas e pesticidas, em poluentes provenientes de produtos de origem farmacêutica e de higiene pessoal, que contaminam o ambiente sobretudo através das águas residuais domésticas (Daughton *et al.*, 1999).

Apesar da comunidade científica incidir cada vez mais o foco dos seus estudos nos efeitos ecotoxicológicos associados a compostos farmacêuticos ativos (APIs) no meio

ambiente, ainda muito pouco se sabe sobre os seus efeitos a longo prazo nos ecossistemas aquáticos.

Adicionalmente, têm sido identificados, cada vez mais, diferentes tipos de substâncias ativas de fármacos no meio ambiente, devido ao desenvolvimento e aprofundamento das metodologias analíticas de deteção dos mesmos (Gonzalez-Rey *et al.*, 2013).

Na União Europeia são utilizadas mais de 3 000 substâncias no fabrico de medicamentos como analgésicos, contraceptivos, anti-inflamatórios, tranquilizantes, betabloqueadores, entre outros. Durante e após os tratamentos médicos que requerem a utilização destes fármacos, os humanos acabam por excretar alguns destes produtos químicos intactos e outros metabolizados pelo organismo, o que leva a que muitos destes compostos bioativos entrem nas águas residuais afetando os seres vivos que possam entrar em contacto com as mesmas (Ternes *et al.*, 2004).

Estima-se que haja um aumento exponencial do consumo de fármacos, que levará a um aumento da pressão que estes exercem no meio ambiente, ao longo dos próximos anos. Isto deve-se muito ao aumento das condições de vida, à diminuição do preço e aumento de oferta de fármacos, e ao aumento da esperança média de vida da população, que levará a que exista uma população cada vez mais idosa, que maioritariamente necessitará de regimes terapêuticos diários, que incluem muitas vezes cinco ou mais medicamentos (Kümmerer, 2010).

### **I.3. ORIGEM E DISSEMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM ÁGUAS RESIDUAIS**

Nos ecossistemas aquáticos são libertadas diariamente grandes quantidades de substâncias orgânicas e inorgânicas, causando contaminação e poluição ambiental (Abdel-Raouf *et al.*, 2012). Muitas das vezes, esta disseminação de substâncias é protagonizada pelas águas residuais. Assim sendo, é necessário promover o desenvolvimento de métodos e tratamentos de maneira a conseguir dar resposta a este flagelo ambiental da uma maneira rápida, económica e ambientalmente sustentável.

A poluição ambiental causada por produtos químicos produzidos para medicamentos humanos e veterinários geralmente não advém do seu processo de fabrico, visto que as indústrias farmacêuticas, na maioria dos casos, apresentam maneiras eficazes para eliminar os seus resíduos. Deve-se, contudo, ao seu uso generalizado e contínuo ao longo de vários anos, à sua incorreta eliminação por parte dos utilizadores e às excreções biológicas dos seres vivos que os consomem (Jones *et al.*, 2003).

### **1.3.1. ORIGEM**

Uma das principais vias de entrada de fármacos nos recursos hídricos é através das secreções humanas, em que a maioria das doses administradas de alguns medicamentos pode ser excretada totalmente inalterada. Além disto, os metabolitos podem ser reconvertidos nas substâncias ativas por meio de ações bacterianas (Jones *et al.*, 2003).

Nos países em desenvolvimento, infelizmente, só uma pequena proporção das águas residuais produzidas pela população chega a ser tratada antes de voltar a ser libertada na natureza. Por exemplo, no caso da América Latina, apenas 15%, por vezes até menos, destas águas é tratada, o que leva a um grande perigo para a saúde pública (Pan American Health Organization, 2000).

Vários estudos comprovam que a degradação no meio ambiente da maioria dos fármacos presentes em águas residuais é de tal forma difícil que chega a afetar negativamente vários níveis das cadeias tróficas dos ecossistemas (Dębska *et al.*, 2004).

Existem diferentes tipos águas residuais geradas pela sociedade e pelo nosso modo de vida, tais como as águas residuais resultantes das atividades industriais e outras instituições, águas residuais domésticas, águas provenientes de esgotos industriais, infiltrações e fossas sépticas. E, nas ETARs, acabam por ser também gerados outros tipos de águas contaminadas que necessitam de ser submetidas a tratamentos, como por exemplo as águas provenientes das lavagens de filtros e equipamentos (Henze *et al.*, 2008).

Todavia, de um modo geral, as águas residuais podem ser divididas em dois grandes tipos: águas residuais de origem doméstica, que resultam das atividades domésticas e sanitárias do ser humano no seu dia-a-dia, e águas residuais de origem industrial, que geralmente são motivo de maior alarme, dado que no decorrer do processo de fabricação industrial, podem ser contaminadas por compostos tóxicos para os ecossistemas. Em suma, as águas residuais urbanas acabam então por ser uma junção das residuais domésticas com industriais e/ou pluviais (provenientes da chuva).

### **1.3.2. PADRÕES DE CONSUMO**

A quantidade de fármacos que podem representar um risco para os ecossistemas pode ser estimada através da porção de medicamentos utilizados na medicina humana (Almeida *et al.*, 2014), mas a obtenção destes dados é difícil e nem sempre fidedigna, até porque em vários casos as estatísticas não incluem os medicamentos hospitalares ou medicamentos não sujeitos a receitas médicas (Grung *et al.*, 2008).

O incremento de doenças a nível global será causado maioritariamente pelo constante aumento do envelhecimento da população, e trará piores consequências em países onde predominam as classes sociais baixa ou média baixa. Cerca de 23% da carga global de doenças surge em pessoas com mais de 60 anos de idade, e as principais doenças que acabam por atingir a população idosa são as doenças respiratórias, as patologias músculo-esqueléticas, o cancro, as doenças cardiovasculares e os distúrbios mentais e neurológicos (Prince *et al.*, 2015).

Através dos dados fornecidos de 2010 e de 2019 pela OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) podemos verificar um aumento geral da DDD (dose diária definida) por cada 1000 habitantes ao dia dos seguintes grupos terapêuticos de fármacos em alguns países da U.E. Na Tabela I podemos verificar que os valores de DDD cresceram praticamente em todos os casos.

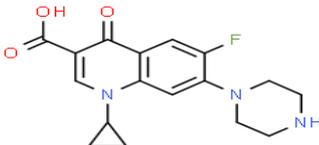
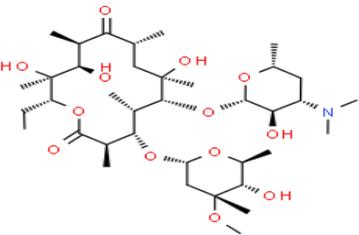
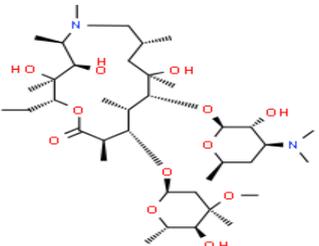
**Tabela I** - Comparação dos níveis de DDD obtidos em 2010 e 2019 de 4 grupos farmacoterapêuticos em alguns países da U.E. (dados fornecidos pelo website OECD.Stat, no dia 20 de julho de 2021).

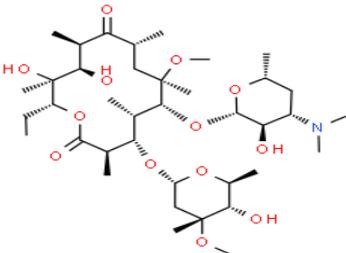
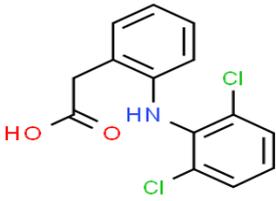
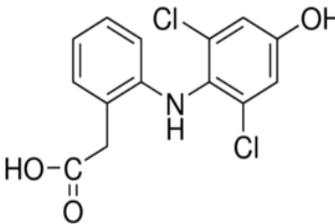
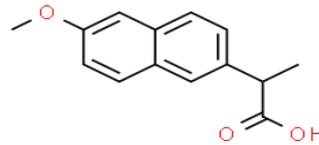
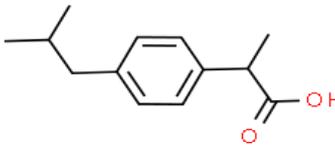
	Analgésicos		Antidepressivos		Sistema cardiovascular		Sistema respiratório	
	2010	2019	2010	2019	2010	2019	2010	2019
Alemanha	23,4	27,2	46,7	60,3	635,7	754,2	69,8	72,8
Áustria	10,3	14,4	54,2	62,0	270,3	329,1	39,8	41,1
Bélgica	14,4	23,5	68,7	81,9	486,6	476,9	104,8	105,6
Eslovénia	16,9	23,3	44,1	63,3	545,1	558,4	62,9	76,0
Espanha	36,5	56,4	61,2	83,6	401,5	448,5	91,6	100,0
Hungria	6,4	8,3	26,4	29,5	690,4	726,9	63,9	66,2
Luxemburgo	30	30,5	50,1	53,8	344,7	311,9	71,9	70
Países Baixos	13,4	9,6	40,4	47,9	410,1	453,0	101,5	111,6
Portugal	18,4	21,5	78,7	123,7	408,8	410,7	81,6	100,9

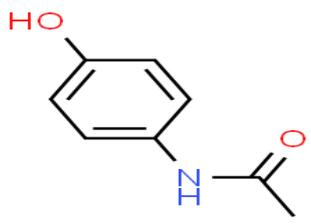
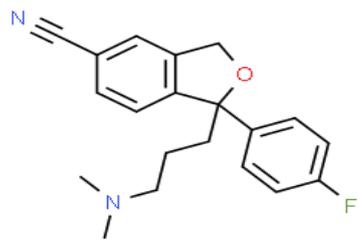
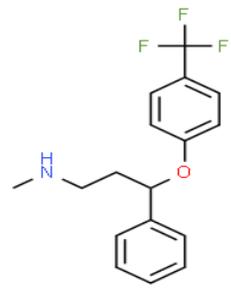
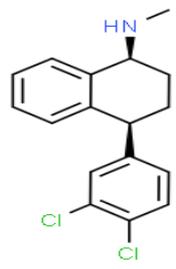
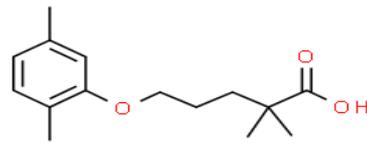
### I.3.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

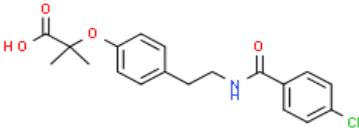
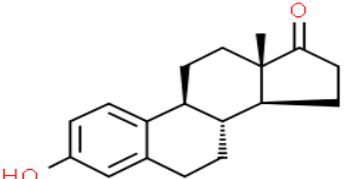
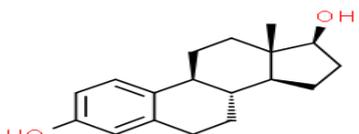
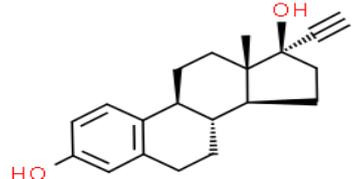
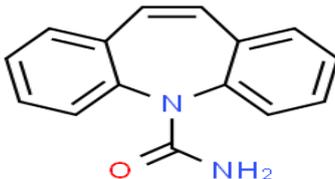
Na Tabela seguinte apresentam-se as propriedades físico-químicas dos fármacos em estudo. É de realçar que o pKa é calculado pelo logaritmo negativo da constante de acidez (Ka) e quanto menor for o pKa, maior é a acidez do composto e maior a sua tendência para ionização a pH neutro (Chang *et al.*, 2013).

**Tabela 2** - Propriedades físico-químicas dos fármacos em estudo (dados fornecidos dos websites *Chemspider* e *Drugbank*) (CHANG, R; GOLDSBY, K. A. Equilíbrios ácido-base e equilíbrios de solubilidade. In CHANG, R; GOLDSBY, K. A. - Química. 11ª Edição. AMGH Editora, 2013. ISBN 0073402680. p. 753-754.

Composto farmacêutico	Grupo Farmacoterapêutico	pKa	Peso molecular (g/mol)	Estrutura Química
Ciprofloxacina	Antibiótico (Quinolona)	5,76/8,68	331,34	 <chem>C17H18FN3O3</chem>
Eritromicina	Antibiótico (Macrólido)	8,38/12,44	733,93	 <chem>C37H67NO13</chem>
Azitromicina	Antibiótico (Macrólido)	9,57/12,43	748,98	 <chem>C38H72N2O12</chem>

Claritromicina	Antibiótico (Macrólido)	8,38/12,46	747,95	 $C_{38}H_{69}NO_{13}$
Diclofenac	Anti-inflamatório não esteroide	-2,1/4,0	296,15	 $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$
4'-Hidroxi Diclofenac	Metabolito do Diclofenac (Ácido monocarboxílico)	-0,59/3,76	312,15	 $C_{14}H_{11}Cl_2NO_3$
Naproxeno	Anti-inflamatório não esteroide	-4,8/4,19	230,26	 $C_{14}H_{14}O_3$
Ibuprofeno	Anti-inflamatório não esteroide	4,85	206,28	 $C_{13}H_{18}O_2$

Acetaminofeno	Analgésico antipirético	-4,4/9,46	151,16	 <chem>CC(=O)Nc1ccc(O)cc1</chem> $C_8H_9NO_2$
Citalopram	Antidepressivo	9,78	324,40	 <chem>CN(C)CCC(C1=CC=C(C=C1)F)C2=CC=C(C=C2)OC#N</chem> $C_{20}H_{21}FN_2O$
Fluoxetina	Antidepressivo	9,8	309,33	 <chem>CNCC(C1=CC=CC=C1)Oc2ccc(cc2)C(F)(F)F</chem> $C_{17}H_{18}F_3NO$
Sertralina	Antidepressivo	9,85	306,23	 <chem>CN[C@@H]1CC[C@H](c2ccc(Cl)c(Cl)c2)C1c3ccccc3</chem> $C_{17}H_{17}Cl_2N$
Gemfibrozil	Hipolipemiante	-4,8/4,42	250,33	 <chem>CC(C)(C)C(=O)OCCOC1=CC=C(C=C1)OC</chem> $C_{15}H_{22}O_3$

Bezafibrato	Hipolipemiante	-0,84/3,83	361,82	 $C_{19}H_{20}ClNO_4$
Estrona	Hormona	-5,4/10,33	270,37	 $C_{18}H_{22}O_2$
Estradiol	Hormona	-0,88/10,3	272,38	 $C_{18}H_{24}O_2$
Etinilestradiol	Hormona	-1,7/10,33	296,40	 $C_{20}H_{24}O_2$
Carbamazepina	Anticonvulsivo	-3,8/15,96	236,27	 $C_{15}H_{12}N_2O$

### 1.3.4. ANTIDEPRESSIVOS

Os antidepressivos são fármacos amplamente prescritos por médicos em todo o mundo a pacientes que sofrem de problemas ao nível do foro psicológico e que se podem manifestar através de sintomas como perturbações de ansiedade, distímia ou depressões (Calza *et al.*, 2021). Segundo a OMS (2017), a depressão é o maior contribuinte da incapacidade para a atividade produtiva, sendo também a perturbação que mais contribui para as mortes por suicídio, que chegam a quase 800 000 por ano.

Estes fármacos atuam principalmente ao nível do Sistema Nervoso Central (SNC), causando alterações ao nível dos neurotransmissores de noradrenalina e serotonina, fazendo variar os seus níveis de concentração (Hilal-Dandan *et al.*, 2014). A serotonina e a noradrenalina são monoaminas que regulam e influenciam vários campos e que influenciam o nosso comportamento, como por exemplo ao nível da aprendizagem, memória, sono, humor, desejo sexual e dor (Berger *et al.*, 2009). Estes neurotransmissores têm transportadores específicos, que se encontram na membrana dos neurónios pré-sinápticos, o Transportador de Serotonina (SERT – *Serotonin Transporter*) e o Transportador de Noradrenalina (NET – *Norepinephrine Transporter*) (Katzung, 2012).

Os antidepressivos inserem-se na categoria dos fármacos psicotrópicos, e para este grupo não existe uma classificação farmacoterapêutica consistente, por isso a sua categorização é realizada de acordo com a sua estrutura química, uso clínico ou alvo bioquímico e efeito farmacológico (Rang *et al.*, 2012).

Os antidepressivos tricíclicos (ADT) foram os primeiros a ser descobertos, seguidos pela descoberta acidental dos antidepressivos inibidores de monoamina oxidase (IMAO) no início da década de 50. Os ADT inibem de forma não seletiva a recaptação de serotonina, norepinefrina e dopamina nas vesículas de armazenamento pré-sináptico e, apesar de terem demonstrado bons resultados no tratamento de sintomatologia depressiva, caíram em desuso devido a efeitos secundários adversos associados à sua toma. Já os IMAO atuam através da inibição da enzima monoamina oxidase (Ferguson, 2001).

Em 1988, a Fluoxetina foi o primeiro antidepressivo inibidor seletivo de recaptação de serotonina (ISRS) a ser introduzido no mercado norte-americano. Desde então são os antidepressivos mais utilizados globalmente devido à sua segurança em sobredosagem e à baixa probabilidade de ocorrência de efeitos secundários de baixo risco, aliadas à boa relação custo/benefício, à elevada tolerabilidade do organismo, à facilidade de uso e ao amplo espectro de utilização para tratamentos de várias patologias (Katzung, 2012).

A inibição da recaptação da serotonina pelo SERT leva um aumento de concentração deste neurotransmissor na fenda sináptica, causando uma constante estimulação do neurónio pós-sináptico e transmissão do impulso nervoso (Coleman *et al.*, 2019). Como esta monoamina é um importante modelador do humor, o aumento da sua quantidade e expressão nos neurónios irá reprimir as sensações e episódios depressivos (Katzung, 2012).

O mesmo processo ocorre também com a noradrenalina, com a toma de inibidores de recaptação de serotonina e noradrenalina (IRSN). Neste caso, levando ao aumento de concentração de serotonina e noradrenalina, devido à inibição da recaptação destes neurotransmissores, por ligação aos transportadores SERT e NET. Os antidepressivos tricíclicos (ADT) também funcionam através deste mecanismo, exercendo alterações sobre os recetores muscarínicos, histamínicos e  $\alpha$ -adrenérgicos (Khushboo, 2017).

A sertralina é um antidepressivo pertencente à classe dos ISRS, muito utilizado globalmente e com altos níveis de eficácia em tratamento de doentes que sofrem com depressão, perturbações obsessivo-compulsivas e ataques de pânico (Pohl *et al.*, 1998). Atualmente, é o único ISRS aprovado para tratamentos de perturbações de stresse pós-traumático (PSPT), revelando uma alta eficácia em pacientes do sexo feminino e que sofrem de PSPT não induzida por combates (Comer *et al.*, 2000). Apesar de não se saber ao certo as causas que levam ao aparecimento desta perturbação, existem fatores biológicos comuns entre estes pacientes, nomeadamente um aumento dos níveis sanguíneos de corticotrofina e de cortisol e um aumento da ativação do sistema nervoso simpático (Comer *et al.*, 2000).

O mecanismo de ação da sertralina funciona através da inibição da recaptação seletiva de serotonina nas fendas sinápticas dos neurónios, levando a um aumento da concentração de serotonina no encéfalo (DeVane *et al.*, 2002). A sertralina pode ser administrada a pacientes idosos, não apresentando efeitos cardiovasculares ou anticolinérgicos, mas pode causar alguns problemas gastrointestinais, como diarreia e náuseas, e disfunção sexual masculina associada a distúrbios ejaculatórios, como acontece com alguns medicamentos com função inibitória de serotonina (Murdoch *et al.*, 1992). Estes efeitos secundários negativos tendem a ser leves e a desaparecer com a continuidade do tratamento (Murdoch *et al.*, 1992).

O citalopram, tal como a sertralina, pertence ao grupo dos antidepressivos ISRS e tem um efeito de ação semelhante. Comparado com outros agentes antidepressivos, o citalopram é bem tolerado pelo organismo, não causando efeitos adversos ao nível do sistema cardiovascular nem causando convulsões ou efeitos sedativos. Pode apenas causar efeitos anticolinérgicos residuais, como pequenas náuseas em cerca de 20% dos pacientes, e

aumento de transpiração, insónias e dor de cabeça em cerca de 15% dos consumidores (Milne *et al.*, 1991).

É um medicamento prescrito maioritariamente em pacientes com grandes perturbações depressivas, onde se verificam melhorias acentuadas nos sintomas entre 30% a 70% dos doentes, o que o torna um antidepressivo muito prescrito devido aos bons índices de resultados e baixos riscos associados à sua toma (Milne *et al.*, 1991).

Quando ingerido pelo Homem, cerca de 12% do citalopram é excretado sem sofrer qualquer tipo de metabolização (Bachour *et al.*, 2020). Os restantes 88% são metabolizados no organismo nos derivados ativos citalopram-N-óxido, desmetilcitalopram, didesmetilcitalopram e no derivado inativo ácido propiónico deaminado. Todos estes metabolitos são inibidores seletivos de recaptção de serotonina e a sua meia-vida de eliminação do organismo é de cerca de 36 horas (Bachour *et al.*, 2020).

A fluoxetina é maioritariamente metabolizada ao nível hepático, dando origem ao seu principal metabolito ativo, a norfluoxetina. E é excretada principalmente através da urina, onde cerca de 10% da fluoxetina chega a ser excretada inalterada (Levy *et al.*, 1996).

A sertralina apresenta um tempo de vida no nosso organismo de cerca de 22 horas e também é metabolizada ao nível hepático. O seu principal metabolito é a desmetilsertralina, que apresenta um efeito semelhante ao da sertralina mas bastante mais fraco, por isso o seu efeito clínico é negligenciável (Owens *et al.*, 1997).

Na maioria dos casos, após o consumo de antidepressivos, o metabolismo humano não consegue sintetizar todos os componentes presentes no medicamento, havendo uma biotransformação em metabolitos biologicamente ativos que são posteriormente excretados pelo organismo (Metcave *et al.*, 2010). Depois de excretados, estes químicos acabam por entrar em ecossistemas aquáticos, maioritariamente através de efluentes de ETARs e de águas residuais hospitalares (Calza *et al.*, 2021). Várias classes de antidepressivos foram detetadas em águas residuais não tratadas e tratadas para consumo Humano em estudos realizados nos E.U.A., na Europa e no Canadá (Metcave *et al.*, 2010).

### **1.3.5. ANTICONVULSIVOS**

Os anticonvulsivos são uma classe de fármacos utilizados para a prevenção e tratamento de pacientes com crises convulsivas e epiléticas, sendo por vezes também utilizados em terapias associadas a tumores cerebrais e no tratamento de pacientes com patologias com dores persistentes associadas, funcionando como alternativa à utilização de medicamentos anti-inflamatórios ou antidepressivos (Shannon *et al.*, 2005).

Os anticonvulsivos têm mecanismos de ação semelhantes aos anestésicos locais e aos antiarrítmicos, atuando maioritariamente nos canais de sódio dos neurónios (Tikhonov et al., 2017). Anticonvulsivos bastante utilizados globalmente como a fenitoína, a carbamazepina e a lamotrigina são moléculas eletroneutras, com grupos polares não ionizáveis numa extremidade da molécula e com composto hidrocarboneto aromático na outra extremidade (Tikhonov et al., 2017).

A carbamazepina, que é o principal antiepiléptico utilizado para o tratamento de pequenas crises, tem como mecanismo de ação o bloqueio de os canais de sódio (Lages, 2011). A sua presença no meio ambiente tem aumentado devido à sua baixa capacidade de biodegradação e alta resistência molecular. A sua metabolização ocorre principalmente ao nível hepático e é eliminada pelas vias renais, excretando os seus metabolitos para as águas residuais, promovendo a sua contaminação (Moya-Llamas et al., 2017). Este químico é um composto muito tóxico para os organismos cnidários, sendo o seu principal metabolito o composto ativo carbamazepina-10,11-epóxido. Este composto ativo chega a constituir cerca de 1% da urina excretada por humanos que utilizam medicamentos cuja carbamazepina é a principal substância ativa (Lages, 2011).

A carbamazepina é excretada principalmente através da urina, onde por vezes é expelida inalterada, e o seu principal metabolito ativo é a carbamazepina-10,11-epóxido, que é encontrada nas fezes e urina humana que utilizam este anticonvulsivo diariamente (Bernus et al., 1996).

### **1.3.6. ANTI-INFLAMATÓRIOS**

Os anti-inflamatórios, tal como o nome indica, servem para combater os processos inflamatórios que surgem como resposta do sistema imunitário a uma lesão de tecidos ou infeção, e apresentam também propriedades analgésicas. A sua utilização a nível global data de há milhares de anos, onde inicialmente começaram a serem utilizados para o tratamento de febres, dores e inflamações pelas autoridades médicas Romanas, Egípcias e Gregas (Rainsford, 2007).

As drogas anti-inflamatórias analgésicas começaram por ser produzidas através de extratos de plantas que continham salicilato, como os salgueiros (*Salix alba*), e, em meados do século XIX, iniciou-se a primeira produção em massa de ácido acetilsalicílico, o primeiro anti-inflamatório comercializado mundialmente, conhecido popularmente como Aspirina (Rainsford, 2007).

Estes fármacos podem ser divididos em dois grupos: os anti-inflamatórios não esteroides (AINE) e os anti-inflamatórios esteroides (AIE).

Os AINE são dos medicamentos mais consumidos em todo o mundo devido à sua elevada taxa de eficácia no tratamento de inflamações e de distúrbios clínicos, tais como osteoartrite, artrite reumatoide, gota, dismenorreia, dor de cabeça e dor dentária. Porém, o seu uso crónico pode, por vezes, causar problemas gastrointestinais, lesões hepáticas, alterações na função renal e efeitos na pressão arterial (Ong *et al.*, 2007).

O seu modo de atuação baseia-se na inibição da produção das prostaglandinas, que são sinais químicos lípidos, através da inativação da enzima ciclooxigenase (COX), a qual é responsável pela produção destes sinais (Vane *et al.*, 1998).

O metabolismo do diclofenac ocorre maioritariamente no fígado onde ocorrem vários processos de hidroxilação aromática e conjugação. Os principais metabolitos que resultam deste processo são o 4-hidroxiclofenac e o 5-hidroxiclofenac, que posteriormente podem ser encontrados na urina, plasma ou biliar dos consumidores de diclofenac (Bort *et al.*, 1999). Este anti-inflamatório está associado a casos de toxicidade hepática ocasional, devido a formação de metabolitos tóxicos que interferem com o bom funcionamento dos hepatócitos (Bort *et al.*, 1999).

O naproxeno e o ibuprofeno são ambos metabolizados no fígado e partilham algumas enzimas no seu processo metabólico tais como a P450, a sulfotransferase, a UDP-glucuronosiltransferase. No caso do ibuprofeno, cerca de 2% é excretado na urina inalterado, e o seu principal metabolito é o 2-hidroxi-ibuprofeno. 95% do naproxeno ingerido é excretado através da urina, onde cerca de 1% deste fármaco é excretado inalterado e, durante o seu metabolismo, ocorre a formação do seu principal metabolito, o 6-dimetil-naproxeno (Sanoh *et al.*, 2012).

O acetaminofeno, também apelidado de paracetamol, tem uma biodisponibilidade bastante elevada que ronda os 88% e a sua metabolização ocorre ao nível do fígado, rins e intestino delgado, onde são produzidos vários metabolitos tais como o glucuronídeo, que é um metabolito inativo que representa 57% dos metabolitos urinários do acetaminofeno.

Menos de 5% do acetaminofeno é excretado inalterado, e entre 5-10% é excretado sob a forma de N-acetil- $\beta$ -benzoquinona amina, um metabolito altamente reativo que é responsável pela hepatotoxicidade associada ao consumo de paracetamol (Mazaleuskaya *et al.*, 2015).

### **I.3.7. ANTIBIÓTICOS**

A primeira vez que a palavra antibiótico foi utilizada na literatura científica foi em 1941, por Selman Waksman, que descreveu um antibiótico como qualquer molécula feita a partir de um microrganismo, que inibe o crescimento e combate infecções causadas por outros microrganismos (Clardy *et al.*, 2009).

Os antibióticos são dos medicamentos mais prescritos por médicos em todo o mundo, e têm várias formas de atuação contra as bactérias. Por exemplo, alguns antibióticos são bactericidas, o que significa que o seu mecanismo de ação levará à morte bacteriana, e outros são bacteriostáticos, ou seja, funcionam através da inibição da multiplicação bacteriana (Kümmerer, 2003).

A ação de inibição bacteriana pode-se dar de várias formas, dependendo do tipo de antibiótico, mas os mecanismos mais comuns de atuação funcionam através de uma inibição da capacidade da bactéria em formar parede celular, ou numa inibição no metabolismo celular, não havendo conseqüentemente uma produção de energia, causando, por sua vez, a morte da bactéria (Kümmerer, 2003).

A era dos antibióticos começou em 1945, com o início da produção em massa da penicilina, que é produzida através de um fungo, e da produção de cloranfenicol, estreptomicina e tetraciclina, que são produzidas por bactérias (Clardy *et al.*, 2009).

Hoje em dia, alguns dos primeiros antibióticos produzidos têm-se tornado ineficazes para combater organismos patogênicos humanos devido à resistência que estes têm adquirido ao longo da sua evolução nos últimos anos, daí ser importante a investigação e a inovação contínua de antibióticos, bem como a sua utilização consciente (Clardy *et al.*, 2009).

O desenvolvimento e a seleção de bactérias resistentes a antibióticos e outros agentes anti-infecciosos constituem uma grande ameaça para a saúde pública, por isso a sua utilização deve ser prudente e devemos tentar limitar ao máximo a sua utilização (Kümmerer, 2003).

Existem seis classes principais de antibióticos, nomeadamente os Aminoglicosídeos, Cefalosporinas, Fluoroquinolonas, Macrolídeos, Penicilinas e Tetraciclina (Bayarski, 2006).

A eritromicina, azitromicina e claritromicina pertencem ao grupo dos Macrolídeos, que atuam ao nível dos ribossomas bacterianos, impedindo a produção de proteínas. Mas a sua utilização contínua pode causar problemas no estômago (Kümmerer, 2003).

Já a ciprofloxacina pertence ao grupo das Fluoroquinolonas, que atuam afetando a replicação do DNA bacteriano, ou seja, são antibióticos bacteriostáticos. São fármacos que não devem ser tomados durante a gravidez e podem causar pequenos problemas de curta duração no sistema digestivo (Kümmerer, 2003).

A ciprofloxacina é parcialmente metabolizada no fígado em quatro metabolitos, a desetilenociprofloxacina, a sulfociprofloxacina, a oxociproloxacina e a formilciprofloxacina. Cerca de 50% das doses orais ingeridas de ciprofloxacina são excretadas inalteradas na urina, e a percentagem de metabolitos na urina ronda os 15% (Al-Omar, 2005).

A claritromicina também é metabolizada principalmente no fígado, onde dá origem ao metabolito ativo 14-hidroxi-claritromicina, que é um metabolito que apresenta propriedades que juntamente com a claritromicina, contribuem na eliminação de agentes patogénicos (LeBel, 1993).

Cerca de 10 metabolitos diferentes resultam do processo de metabolização da azitromicina, e nenhum destes apresenta atividade antimicrobiana. A excreção biliar representa um papel fulcral na sua eliminação, juntamente com a urina e fezes, onde cerca de 20% deste fármaco é excretado inalterado (LeBel, 1993).

A eritromicina é inativada pelo ácido gástrico e é um fármaco absorvido maioritariamente no intestino delgado. Entre 2 a 5% de eritromicina ingerida é excretada na forma ativa através da urina e a sua metabolização ocorre no fígado (LeBel, 1993).

### **1.3.8. HIPOLIPEMIANTE**

Os Hipolipemiantes têm como principal função a regulação dos níveis de colesterol no sangue, com o intuito de diminuir o risco de ocorrência de hipercolesterolemia, que pode levar ao aparecimento de aterosclerose. Este é um fator de risco para o surgimento de doença arterial coronária que poderá levar a enfartes do miocárdio ou acidentes vasculares cerebrais (Simons, 1986).

Existem várias classes de medicamentos Hipolipemiantes, tais como os fibratos, a niacina e as estatinas (Fiegenbaum *et al.*, 2006).

O gemfibrozil e o bezafibrato pertencem ambos à classe dos fibratos e a sua ação causa uma diminuição do nível dos triglicéridos plasmático e do colesterol, levando a uma diminuição da concentração sanguínea do colesterol LDL (Low Density Lipoproteins) e a um aumento do colesterol HDL (High Density Lipoproteins). A sua atuação funciona através de alterações de transcrição de genes para o RNAm (ácido ribonucleico mensageiro), que codificam nos ribossomas proteínas que atuam ao nível do metabolismo de lipoproteínas (Staels *et al.*, 1998).

O colesterol é uma molécula anfipática (hidrofílica) com estrutura tetracíclica e composto por 27 átomos de carbono (Nelson *et al.*, 2014). Este é imprescindível para o bom funcionamento celular, visto que é necessário para a formação e regulação da fluidez das

membranas celulares. Nas células dos mamíferos constitui cerca de 30% a 40% das suas membranas plasmáticas (Pinkwart et al., 2019).

O risco de morte cardíaca súbita encontra-se ligado diretamente ao *ratio* entre o colesterol LDL e HDL, pelo que é necessário controlarmos regularmente estes valores (Kunutsor et al., 2019).

O bezafibrato é metabolizado a nível hepático e excretado através da urina e fezes, onde cerca de 40% é excretado inalterado. Como resultado do seu metabolismo obtêm-se vários compostos polares, hidroxil e glicuronídeos. A biossíntese do colesterol é reduzida pelo bezafibrato, estimulando o catabolismo da lipoproteína mediada pelo recetor de LDL (Abshagen et al., 1979).

O Gemfibrozil é absorvido pelo trato gastrointestinal e apresenta uma biodisponibilidade próxima de 100%. Durante o seu processo de metabolismo este sofre oxidações do grupo metilo, originando os seus metabolitos principais: hidroximetilo e carboxilo. Cerca de 76% deste fármaco é eliminado através da urina e fezes, onde em média 6% da sua dose total é excretada inalterada (labeling.pfizer, 2020).

### **1.3.9. HORMONAS**

A palavra hormona foi utilizada pela primeira vez em 1905 pela comunidade científica e deriva da palavra grega “*hormon*”, que significa “excitar”. As hormonas são substâncias químicas produzidas por glândulas ou células do sistema endócrino, que são transportadas pelo sangue até um alvo específico no organismo, onde, em baixas concentrações, exercem um efeito de regulação de várias funcionalidades imprescindíveis para o bom funcionamento do nosso organismo (Silverthorn, 2010).

A estrona, o etinilestradiol e o estradiol pertencem ao grupo dos estrogénios, que são hormonas femininas produzidas pelos ovários e pela placenta durante a gravidez (Marieb, 2013). Apresentam várias funções tais como a manutenção e desenvolvimento das características sexuais secundárias femininas, regulação do ciclo menstrual e ovário, capacidade reprodutiva e manutenção da gravidez. A principal atividade biológica dos estrogénios incide sobre o esteroide 17 $\beta$ -hidroxil (Kushnir et al., 2008).

É importante uma correta regulação dos valores sanguíneos destes estrogénios endógenos para a prevenção de distúrbios relacionados com hormonas sexuais, tais como a amenorreia (ausência de menstruação) e a oligomenorreia (menstruação com frequência anormal), menopausa precoce, osteoporose, doenças cardiovasculares, doenças neurológicas e deficiências na puberdade (Kushnir et al., 2008).

Os estrogénios sintéticos são utilizados no fabrico de contraceptivos hormonais e em tratamentos contra sintomas mais incómodos da menopausa por milhões de mulheres em todo o mundo (Sitruk-Ware *et al.*, 2011). A utilização e consumo mundial de estrona, de etinilestradiol e de estradiol, leva a que estes sejam diariamente descarregados no meio ambiente em grandes concentrações, causando efeitos de desregulação endócrina para os organismos vestigiais (Koh *et al.*, 2008).

Nos ecossistemas aquáticos, a origem principal de estrona e estradiol provém da urina e das fezes de animais pelo que sempre existiram no meio ambiente, enquanto que o etinilestradiol atinge as águas residuais principalmente através da urina de mulheres que consomem pílulas anticoncepcionais que contêm este fármaco (Rocha *et al.*, 2019).

Após a sua metabolização, os estrogénios originam vários tipos de metabolitos, entre estes destacam-se o 2-hidroxi-estrona e o 2-hidroxi-estradiol, que também têm atividades funcionais semelhantes aos estrogénios (synlab, 2021).

## **1.4. OCORRÊNCIA**

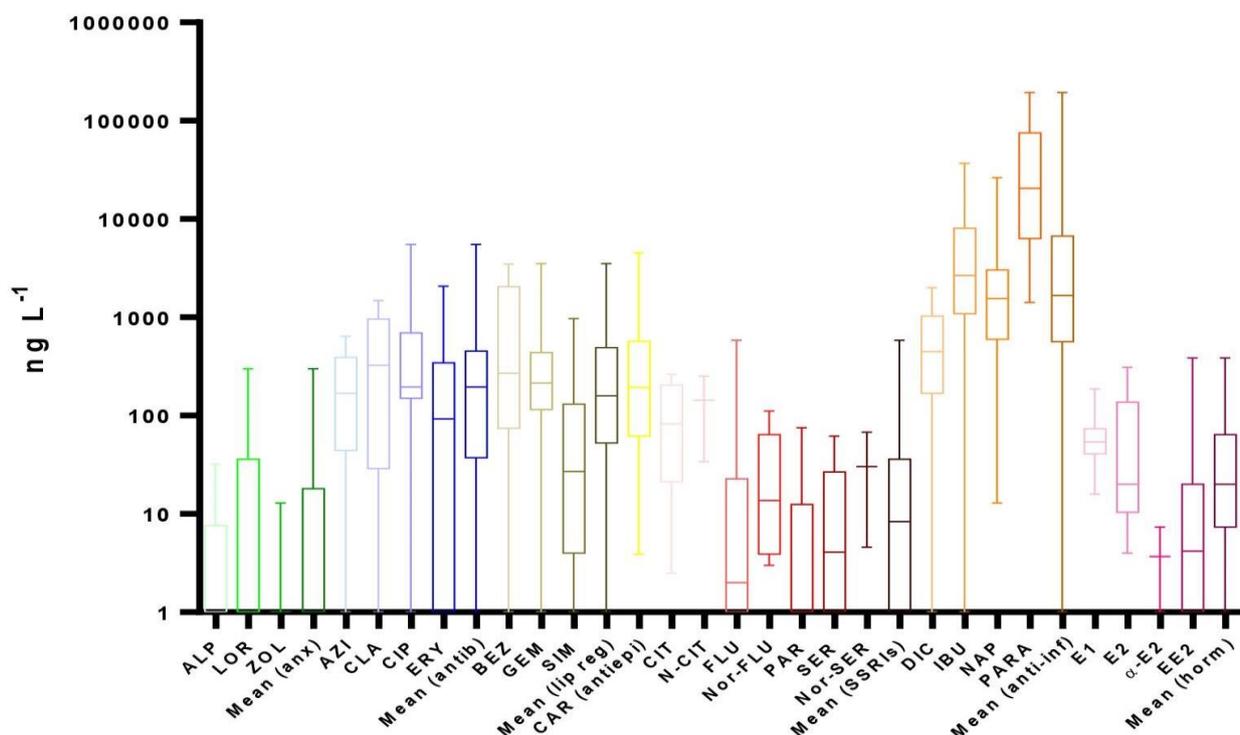
Devido ao progresso das metodologias analíticas, desde meados dos anos 70 que têm sido cada vez mais detetados fármacos, e os seus metabolitos em ecossistemas aquáticos (Simazaki *et al.*, 2015). A ocorrência de fármacos no meio ambiente geralmente está associada ao PIB de cada país, onde se verifica uma ligação entre os níveis de poluição e a economia. Quando a economia de um país cresce, a poluição nele também aumenta, mas quando a riqueza do país atinge níveis elevados, os níveis de poluição acabam por melhorar, devido a ETARs mais eficientes e a maiores níveis de educação da população (Segura *et al.*, 2015).

Existem vários parâmetros que podem influenciar as concentrações de fármacos nos meios aquáticos. Nas ETARs e nas águas superficiais, a época do ano, a temperatura, o tipo de ETAR, a luz solar são só alguns dos parâmetros que podem influenciar a ocorrência de fármacos (Pereira *et al.*, 2016).

Atualmente a ocorrência de fármacos nos ecossistemas aquáticos a nível mundial é uma realidade inquestionável que tem vindo a aumentar constantemente. Tal como se pode verificar na Figura 1, elaborada por Pereira (2020), tendo por base a informação que este autor recolheu de uma grande diversidade de artigos científicos recentes relacionados com a temática em questão.

A eficácia de remoção da carbamazepina pelas ETARs é, na maioria dos casos, inferior a 10%, atingindo níveis de remoção máximos na ordem dos 53% em alguns casos. No caso

de ETARs que utilizam tratamento por lamas ativadas, foram detetadas taxas de remoção na ordem dos 0%, revelando uma gigantesca ineficácia que deve ser combatida e melhorada (Zhang *et al.*, 2008).



**Figura I** - Gráfico *Boxplot* com as concentrações médias, máximas e mínimas de vários fármacos detetados em afluentes de águas residuais. ALP – alprazolam, LOR – lorazepam, ZOL – Zolpidem, Anx – ansiolíticos, AZI – azitromicina, CLA – claritromizina, CIP – ciprofloxacina, ERY – eritromicina, Antib – antibióticos, BEZ – bezafibrato, GEM – gemfibrozil, SIM – sinvastatina, Lip reg – reguladores lipídicos, CAR – carbamazepina, CIT – citalopram, N-CIT – Desmetilcitalopram, FLU – fluoxetina, Nor-FLU – norfluoxetina, PAR – paroxetina, SER – sertralina, Nor-SER – desmetilsertralina, SSRIs – inibidores seletivos de reabsorção de sertralina, DIC – diclofenac, IBU – ibuprofeno, NAP – naproxeno, PARA – paracetamol, anti-inf – anti-inflamatórios, E1 – estrona, E2 – estradiol, EE2 – etinilestradiol, horm – hormonas.

Este gráfico permite visualizar as concentrações médias de fármacos detetados em vários afluentes de águas residuais por todo o mundo, e podemos verificar que em alguns casos atingem valores de mg/L. Também podemos verificar que os anti-inflamatórios são o grupo de fármacos detetado em maiores concentrações, seguido pelos antibióticos e pelos anticonvulsivos.

Em todos os grupos de fármacos, podem-se verificar variações nas concentrações detetadas entre os diferentes fármacos, como por exemplo nos anti-inflamatórios, as concentrações médias detetadas de paracetamol chegam às 10 µg/L, enquanto que a concentração média de diclofenac não atinge 1 µg/L. Isto ocorre devido às diferentes taxas de consumo, popularidade e venda de fármacos, e devido aos diferentes processos de metabolização e excreção que ocorrem no nosso organismo.

Foi realizado um estudo em 2013, em que foram recolhidas amostras de água em afluentes e efluentes de 15 ETARs portuguesas durante as quatro estações do ano, com o intuito de verificar a presença e as concentrações de citalopram, setralina, paroxetina e fluoxetina, que são quatro dos antidepressivos ISRS mais utilizados em Portugal (Silva *et al.*, 2014). Os resultados, demonstrados na Tabela 3, revelam que o citalopram foi o antidepressivo mais detetado, e as maiores concentrações foram detetadas no outono, e as menores no verão. A fluoxetina e a sertralina apenas foram detetadas em amostras de afluentes e as percentagens de remoção mostram que as ETARs portuguesas não se encontram completamente capazes de remover na totalidade estes fármacos das suas águas, visto que a percentagem de remoção média foi de 82,24% (Silva *et al.*, 2014).

A única ETAR em que foram detetados os quatro antidepressivos em estudo foi a ETAR 2, que se encontra na região Norte de Portugal e que trata águas residuais domésticas e industriais para o rio Tua. Abrange uma população pequena de cerca de 10000 pessoas, e o processo de tratamento posto em prática no tratamento de estas águas foi o de lamas ativadas com aeração prolongada, que é um tipo de tratamento terciário com recurso a UV (Silva *et al.*, 2014). Por outro lado, podemos verificar que algumas das 15 ETARs em estudo não revelaram qualquer indício de contaminação por estes quatro antidepressivos.

**Tabela 3** - Concentrações médias em ng/L de antidepressivos detetados em amostras recolhidas nos afluentes e efluentes de 15 ETARs portuguesas, e a estação do ano em que foram recolhidas as amostras contaminadas.

Antidepressivo (ng/L)	ETAR	Estação do ano	Afluente	Efluente	Remoção (%)
Citalopram	2	Inverno	137,40	87,10	36,50
		Primavera	101,20	n.d.	100,00
		Verão	172,00	n.d.	100,00
		Outono	213,60	n.d.	100,00
	3	Inverno	99,20	n.d.	100,00
		Outono	158,30	n.d.	100,00
	5	Inverno	125,70	82,80	34,55
	7	Primavera	167,20	n.d.	100,00
	8	Inverno	110,50	n.d.	100,00
	10	Outono	162,20	89,70	44,56
	11	Inverno	100,50	n.d.	100,00
	13	Primavera	179,70	n.d.	100,00
		Verão	167,70	94,90	44,03
Outono		170,30	95,60	44,02	
Fluoxetina	2	Outono	120,70	n.d.	100,00
	6	Outono	157,40	n.d.	100,00
	10	Outono	105,80	n.d.	100,00
Paroxetina	2	Primavera	186,40	n.d.	100,00
		Outono	185,60	n.d.	100,00
	10	Outono	137,90	81,10	41,12
Setralina	2	Primavera	100,40	n.d.	100,00

(n.d. – não detetado).

Em 2013 foi iniciada uma investigação pela Universidade de Coimbra, em que foram procurados indícios de 11 fármacos muito consumidos pela população portuguesa, em amostras de águas residuais recolhidas na primavera e no verão em afluentes e efluentes de 15 diferentes ETARs portuguesas. As concentrações médias obtidas encontram-se na seguinte tabela, bem como as percentagens de remoção dos fármacos realizadas pelas ETARs (Pereira *et al.*, 2015).

Como podemos verificar através dos dados da Tabela 4, a capacidade de remoção das ETARs para o Gemfibrozil e Diclofenac, apresentaram percentagens relativamente baixas em comparação com os outros fármacos. Como seria de esperar, as concentrações de Paracetamol foram as mais elevadas detetadas.

**Tabela 4** - Concentrações médias em ng/L de fármacos detetados em amostras recolhidas nos afluentes e efluentes de ETARs portuguesas.

Fármacos (ng/L)	Afluente		Efluente		Remoção (%)	
	Primavera	Verão	Primavera	Verão	Primavera	Verão
Alprazolam	-	-	-	-	-	-
Lorazepam	19,5	-	20,5	-	N.E.	-
Zoldipem	-	-	-	-	-	-
Azitromicina	14,4	-	-	0,8	100	N.E.
Ciprofloxacina	8,1	1300,2	11,9	261,7	N.E.	79,9
Benzafibrato	11,3	331,8	2,6	68,9	77,2	79,2
Gemfibrozil	10,6	103,2	7,3	45,9	31,0	55,5
Sinvastatina	7,8	639,6	9,1	-	100	98,6
Diclofenac	8,7	46	3,1	26,7	64,6	42,0
Ibuprofeno	404,4	505,2	20,7	33,3	94,9	93,4
Paracetamol	2987,4	4084,6	6,1	-	99,8	100

(N.E. – não eliminado, fármacos cujas concentrações nos efluentes foram superiores a nos afluentes).

Em 2018, foi realizada uma investigação pela Universidade Murray, no estado de Kentucky nos E.U.A, em que foram procurados indícios de fármacos neuropsiquiátricos, legais e ilegais, como estimulantes, opioides, alucinogénios, antidepressivos e sedativos. As amostras de água foram recolhidas no rio Clark e num riacho nas imediações (*Bee Creek*), ambos com ligação direta a uma ETAR, de onde também foram recolhidas amostras para análise (Skees *et al.*, 2018). Na Tabela 5, encontram-se os valores médios detetados para 5 diferentes antidepressivos em ng/L.

**Tabela 5** - Concentrações em ng/L de antidepressivos detetados em amostras recolhidas de uma ETAR centralizada numa comunidade no Oeste dos E.U.A., e de um riacho e rio onde desaguam as águas da ETAR.

Antidepressivos (ng/L)	ETAR Afluente	ETAR Efluente	Riacho	Rio Montante	Rio Jusante
Sertralina	54,9	24,5	24,2	6,10	3,80
Fluoxetina	31,5	13,4	9,60	3,50	< LQ
Venlafaxina	350	362	243	2,60	84,5
Citalopram	278	144	95,1	3,80	4,90
Metilfenidato	10,7	< LQ	3,90	2,70	< LQ

(< LQ – inferior ao limite de quantificação).

Posto isto, este estudo permite concluir que os tratamentos aplicados a águas residuais nas ETARs para remoção de fármacos devem ser melhorados, sobretudo no caso dos antidepressivos. O aumento do consumo destes medicamentos levará a uma maior contaminação dos nossos recursos hídricos. Nos cinco exemplos estudados, verifica-se que as concentrações que chegam à ETAR são elevadas e, quando as águas são devolvidas ao ecossistema, ainda apresentam valores significativos destes químicos, revelando que os tratamentos aplicados não são muito eficazes. Neste caso em particular, os valores das amostras recolhidas no riacho são bastante elevados, provavelmente devido ao facto de este ser o elo de ligação entre a ETAR e o rio e de serem águas com menor caudal e com menos circulação.

Em 2014, foi realizado um estudo na ETAR de Beirolos, em Lisboa, em que foram recolhidas amostras de águas residuais durante sete meses, para determinar a presença de fármacos e a eficácia de remoção dos tratamentos realizados pela ETAR. As concentrações mais altas detetadas de anti-inflamatórios foram de 42 µg/L de Ibuprofeno, e as percentagens de remoção mais baixas foram de 38,9% e 17,2% para o diclofenac e indometacina (Gaffney *et al.*, 2017). Estes valores revelam uma realidade preocupante, da quantidade de fármacos que diariamente não conseguimos tratar e que acabam então por ser libertados no meio ambiente.

Em 2020 realizou-se um estudo em Lisboa, no qual foram executadas quatro campanhas de recolhas de amostras de águas residuais em afluentes e efluentes de 5 ETARs portuguesas localizadas em Évora, Reguengos de Monsaraz, Borba, Redondo e Portel. Este trabalho foi realizado com o intuito de verificar a ocorrência e a eficiência de remoção de

fármacos por estas ETARs. Os resultados obtidos estão expressos na seguinte Tabela 6 (Silva et al., 2021).

**Tabela 6** - Concentrações médias detetadas em afluentes e efluentes de 5 ETARs portuguesas e respetivas percentagens de remoção.

FÁRMACOS	Afluente (µg/L)	Efluente (µg/L)	Remoção (%)
Eritromicina	0,17	0,099	41,8
Azitromicina	0,15	0,11	26,7
Claritromicina	0,26	-	100
Diclofenac	1,69	1,6	5,3
Naproxeno	8,0	0,25	96,9
Ibuprofeno	12,1	0,32	97,4
Bezafibrato	0,67	0,089	86,7
Carbamazepina	0,30	0,36	- 20
Cortisona	0,12	-	100
Testosterona	0,051	-	100

Com os dados obtidos neste estudo podemos verificar a importância que as ETARs têm no tratamento e remoção de fármacos de águas residuais, mas por outro lado verificamos que em alguns fármacos, as percentagens de remoção são bastante baixas. Pelo que é importante realizar estas monitorizações para melhorar e adaptar as técnicas de tratamento utilizadas pelas ETARs.

## 1.5 TOXICIDADE AMBIENTAL

Os efeitos de fármacos para organismos-alvo, como para humanos, são bem conhecidos e estudados, no entanto, existem poucos estudos sobre o efeito de fármacos em organismos não alvo (Petrie et al., 2021). Os fármacos são introduzidos continuamente no meio ambiente, e apenas em 1985 é que começou a surgir interesse e apreensão por parte da comunidade científica em relação à ameaça dos recursos hídricos e dos organismos aquáticos causada pelas concentrações de fármacos presentes nos sistemas hídricos (Pereira et al., 2020).

Os efeitos provocados pelos fármacos nos organismos aquáticos são diretamente influenciados pelo tempo de exposição, pelas concentrações presentes e pelo tipo de fármaco (Kümmerer, 2008). Mas cada vez mais assistimos a um aumento da variedade de

substâncias químicas presentes no meio ambiente, que conseqüentemente podem levar a alterações no mecanismo de ação farmacológico, visto que o comportamento de um fármaco pode ser alterado pela presença de outro, e estes podem ter efeitos antagonistas em conjunto com substâncias que funcionem através do mesmo mecanismo de ação (Kümmerer, 2008).

Estas misturas de fármacos que existem nos ecossistemas aquáticos tornam mais difícil a elaboração de uma previsão das conseqüências associadas a estas contaminações, e dificulta os processos de tratamentos.

O efeito de bioacumulação, de biomagnificação (aumento das concentrações de fármacos em níveis mais elevados nas cadeias tróficas) e da sorção (processo absorção e adsorção a ocorrer simultaneamente) são parâmetros que influenciam e aumentam os valores de toxicidade de um determinado fármaco (Zenker *et al.*, 2013).

A toxicidade pode-se dividir em toxicidade aguda e crónica. A toxicidade aguda é expressa pelos seguintes parâmetros: a concentração efetiva ( $EC_{50}$ ), que é a concentração em que uma substância tóxica provoca uma resposta em 50% da população em estudo, e a concentração letal ( $LC_{50}$ ), que é a concentração a que uma substância tóxica consegue provocar a morte de metade da população em estudo (Costa *et al.*, 2008).

Já a toxicidade crónica pode ser manifestada pelos seguintes parâmetros: nível sem efeito observado (NOEL), ou concentração sem efeito observado (NOEC), e nível mais baixo com efeito observado (LOEL), ou menor concentração com efeito observado (LOEC) (Costa *et al.*, 2008).

Com estes parâmetros podemos ainda calcular a “*Predicted No-Effect Concentration*” (PNEC) e a “*Predicted Effect Concentration*” (PEC), que representam uma estimativa das concentrações que podem causar algum tipo de efeito toxicológico nos organismos (Jager *et al.*, 2006).

Na seguinte Tabela 7 temos representados os valores de PNEC (ng/L) calculados para a toxicidade em organismos aquáticos (algas, invertebrados e peixes) obtidos nos estudos de Minguez e colaboradores (2016) e de Tran e colaboradores (2018).

**Tabela 7** - Valores de PNEC (ng/L) para a toxicidade ecológica em organismos aquáticos (Minguez *et al.*, 2016) (Tran *et al.*, 2018).

FÁRMACOS	PNEC (ng/L)
Acetaminofeno	1400
Azitromicina	500
Bezafibrato	230
Carbamazepina	25
Ciprofloxacina	1200
Citalopram	3030
Claritromicina	70
Diclofenac	50
Eritromicina	103
Estradiol	10
Estrona	18
Etinilestradiol	1
Fluoxetina	200
Gemfibrozil	78
Ibuprofeno	10
Naproxeno	330
Sertralina	150

## 1.5. ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS

A história do tratamento de águas residuais com recurso a ETARs iniciou-se em Stahnsdorf, na Alemanha há pouco mais de 100 anos (Monte *et al.*, 2016). O principal objetivo final da ETAR (Figura 1) é devolver ao meio ambiente as águas residuais por elas recebidas e tratadas, de uma forma segura para os sistemas ecológicos.

Geralmente, as ETARs iniciam o seu processo com um tratamento preliminar, onde as águas são inicialmente recebidas e filtradas, seguido por 3 fases de tratamento; a fase de tratamento primário em que são removidas as suspensões formadas por partículas sólidas; a fase de tratamento secundário, que consiste na remoção da matéria orgânica (com utilização de bactérias), e a fase de tratamento terciário que geralmente envolve maiores custos associados (Ziajahromi *et al.*, 2017).

Sobretudo em zonas áridas e semiáridas, a água é cada vez mais um recurso escasso, daí ser necessário economizar e reutilizar ao máximo as fontes deste recurso natural

(Pescod, 1992). Hoje em dia vão sendo introduzidas novas formas de tratamento primário e secundário das águas residuais, com o objetivo de eliminar mais facilmente os materiais que assentam no fundo destas águas e para oxidar e eliminar o material orgânico nelas presente (Abdel-Raouf *et al.*, 2012).

O tratamento primário resulta numa remoção física, com recurso a uma peneira, dos sólidos presentes nas águas residuais que geralmente é seguida por processos de coagulação e floculação para remoção de partículas dissolvidas e substâncias coloidais. É de salientar que este processo é ineficaz para a remoção de fármacos e produtos químicos (Luo *et al.*, 2014).

No processo de tratamento secundário ocorre uma remoção dos fármacos através de vários processos, incluindo dispersão, diluição, biodegradação, partição e transformação abiótica (Luo *et al.*, 2014). Durante este tratamento podem ser aplicados diferentes tipos de processos e técnicas de tratamentos, podendo serem sistemas de tratamento biológico de biomassa fixa, como os leitos percoladores, ou sistemas de biomassa em suspensão, como por exemplo lamas ativadas, que são atualmente um dos processos mais amplamente utilizado em ETARs por todo o mundo (Du *et al.*, 2018).

As lamas ativadas têm como principal objetivo reduzir a procura bioquímica de oxigênio, nutrientes e poluentes como produtos farmacêuticos, de higiene pessoal e produtos químicos domésticos das águas residuais, através de um processo de autodepuração (Du *et al.*, 2018).

A concentração de oxigénio dissolvido (OD) é um parâmetro muito importante durante todo o tratamento por lamas ativadas, e devido às variadas atividades microbianas que estão presentes durante o tratamento, uma pequena mudança nas condições do tratamento, como por exemplo um pequeno aumento da temperatura das águas residuais nos reatores, podem afetar os valores de concentração de OD, afetando a eficácia do tratamento (Du *et al.*, 2018).

Já os leitos percoladores, também conhecidos por filtros biológicos, são um processo simples de leito fixo em que a água percola um meio poroso insaturado, através de processos biológicos aeróbios, até chegar a um sistema de drenagem inferior para recolha da água residual previamente percolada (El Haouti *et al.*, 2015).

Por fim, a fase de tratamento terciário em que são removidos organismos patogénicos e nutrientes em excesso, como azoto e fósforo, que são das principais causas do processo de eutrofização (crescimento excessivo de plantas aquáticas) (Monte *et al.*, 2016). Só no fim de serem submetidas a estas 3 fases de tratamento é que as águas residuais estão aptas para serem reintroduzidas no meio ambiente, de uma maneira ecologicamente segura e sem criar grandes alterações nos ecossistemas aquáticos.

Têm sido aplicados novas formas de tratamentos terciário com maior eficiência de remoção, mas alguns destes novos métodos envolvem altos custos de construção, manutenção e energia, como por exemplo processos de oxidação avançados que utilizam UV, ultrafiltração ou peróxido de hidrogênio (He *et al.*, 2016). Apesar da elevada eficácia de remoção de fármacos associada à aplicação de tratamentos terciários, o seu elevado custo de execução leva em que alguns países não seja tão frequente a sua utilização, mas no continente europeu, a maioria das ETARs compreende este tratamento (Papageorgiou *et al.*, 2016).

Podem ser ainda aplicados tratamentos de efluentes adicionais, como por exemplo as lagoas de polimento, que são um procedimento inodoro que combina um tratamento aeróbio com um tratamento anaeróbio, e têm como finalidade a remoção complementar de matéria orgânica. A matéria orgânica é oxidada e depositada no fundo da lagoa, formando bancos de sedimentos com colônias de algas que existem nas lagoas (Nascimento, 2014).

Sendo as águas residuais um dos principais meios de transporte de fármacos para o meio ambiente, a eficiência e o bom funcionamento das ETARs minimizam a contaminação ambiental, reduzindo o risco de estes estarem presentes nas águas para consumo humano.

Em Portugal, o Decreto-Lei n.º 152/97, de 19 de junho de 1997, estabelece as normas para recolha, tratamento e descarga de águas residuais urbanas e industriais no meio aquático e, desde então, já sofreu diversas alterações, sendo a alteração mais recente a do Decreto-Lei n.º 133/2015, que transpõe a Diretiva n.º 91/271/CEE.

Este documento especifica os métodos a utilizar, em Portugal, para o tratamento destas águas, tendo em consideração o equivalente populacional da região e os tipos de zonas, as quais podem ser sensíveis ou menos sensíveis. As zonas sensíveis são constituídas pelos lagos de água doce, naturais ou artificiais, que estejam eutróficos ou suscetíveis de se tornarem num futuro próximo, e as águas doces superficiais destinadas à captação de água potável. As zonas menos sensíveis são consideradas as baías abertas, estuários e outras águas costeiras com uma boa renovação de água.

A título de exemplo, os artigos n.º 6 e n.º 7 definem os tratamentos a que as águas residuais devem ser sujeitas conforme a sua inserção em zonas sensíveis ou menos sensíveis. Por sua vez, o artigo n.º 8 especifica o modo como deve ser escolhido o tratamento apropriado para cada caso.

Com o aumento constante das concentrações de produtos farmacêuticos em águas residuais, devem ser implementadas cada vez mais medidas e mudanças na legislação em vigor. A título de exemplo, não existe legislação que limite a quantidade de fármacos que

uma ETAR em Portugal pode libertar para o meio ambiente, nem existem estipulados limites máximos permitidos de fármacos em águas superficiais, como rios e em lagoas.



**Figura 2** - ETAR do Choupal (Coimbra) Imagem Online: <https://www.diariocoimbra.pt/noticia/55825> (acesso em junho de 2020).

## **1.6. MICROALGAS NO TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUAIS**

As microalgas são algas de pequenas dimensões unicelulares ou constituídas por poucas células, que têm a capacidade de converter dióxido de carbono em alimentos bioativos de alto valor ou até mesmo combustíveis (Walker *et al.*, 2005). Estes microrganismos fotossintéticos são também úteis em aplicações de biorremediação e como biofertilizantes para fixação de nitrogénio (Munoz *et al.*, 2006). Apesar de apenas serem conhecidas cerca de 35 000 espécies diferentes, estima-se que possam existir até 800 000 espécies, pelo que é fundamental apostar em mais estudos relacionados com a temática.

As microalgas são um recurso biológico que apresenta bastante flexibilidade e várias multifuncionalidades que podem ser aproveitadas durante os seus sistemas de crescimento. Uma dessas vantagens é que são culturas capazes de serem produzidas durante todo o ano e que requerem um relativamente baixo consumo de água, podem também crescer em praticamente todos os meios aquosos e podem utilizar nutrientes das águas residuais como aditivos para o seu crescimento (Umamaheswari *et al.*, 2016).

A utilização de microalgas como tratamento de águas começou a receber mais atenção a partir de 1950 (Oswald *et al.*, 1957), quando começaram a ser aplicadas em biotratamentos terciários de ETARs (remoção de nutrientes em excesso e compostos tóxicos) com

produção final de biomassa. Tal é possível devido à capacidade que as microalgas têm em usar nitrogênio e fósforo inorgânico para o seu crescimento e também devido à sua capacidade de remoção de metais pesados e compostos orgânicos tóxicos, não criando poluição secundária (Abdel-Raouf *et al.*, 2012).

Várias espécies de microalgas apresentam ainda uma flexibilidade metabólica, sendo, por isso, capazes realizar metabolismos fotoautotrófico, mixotrófico ou heterotrófico consoante as condições do meio (Hu *et al.*, 2018), o que é uma vantagem que deve ser aproveitada para o tratamento de águas residuais.

Geralmente nas produções de microalgas, estas realizam metabolismo fotoautotrófico, que significa que durante o processo de fotossíntese, apenas é utilizado carbono inorgânico como fonte de energia, para a produção dos compostos orgânicos utilizados pelas algas. No crescimento heterotrófico as microalgas utilizam fontes de carbono orgânico, como glicose ou carbono orgânico como fonte de energia para os processos metabólicos. O metabolismo mixotrófico permite que as algas consigam utilizar carbono orgânico e inorgânico como fonte de energia para realizarem fotossíntese e as várias vias metabólicas (Babaei *et al.*, 2018).

A biomassa de microalgas resultante da sua utilização para remoção de contaminantes em fluxos de águas residuais oferece uma panóplia de opções com grande potencial de produção de bioprodutos sustentáveis, tais como biofertilizantes, rações para animais ou produção de ácidos gordos e proteínas, que podem ser utilizados em contextos de economia circular com bases biológicas (Venkata Mohan *et al.*, 2016). Nos últimos 10 anos, várias empresas, principalmente no Reino Unido, Austrália e E.U.A. têm-se dedicado à produção de biomassa de algas através de águas residuais (Wollmann *et al.*, 2019).

A utilização de microalgas em ETARs revê-se em dois objetivos principais: melhoria de desempenho dos sistemas bacterianos utilizados, fornecendo oxigênio adicional proveniente dos processos fotossintéticos, e absorção/transformação direta dos contaminantes (Wollmann *et al.*, 2019).

Recentemente, as pesquisas associadas a esta temática têm utilizado maioritariamente cianobactérias e microalgas convencionais, devido às suas capacidades de acumulação de elevados níveis de amido e lípidos e aos baixos custos de produção, tais como algas dos géneros *Chlorella*, *Arthrospira* e *Scenedesmus* (Sirin *et al.*, 2015).

Os processos mais utilizados em ETARs para tratamentos de águas domésticas são os de lamas bacterianas em tanques agitados, que apresentam limitações quanto à remoção de metais pesados, fósforo e azoto, que podem ser suprimidas com a utilização de microalgas em sistemas de fotobiorreatores (Wollmann *et al.*, 2019).

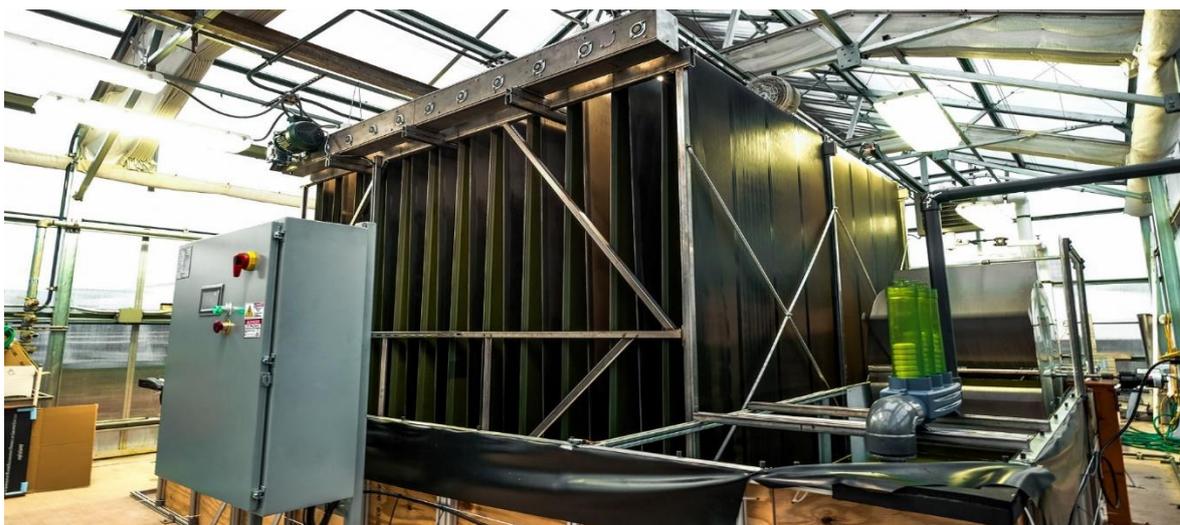
Na Austrália já foram colocados em prática sistemas de tratamento para vários tipos de águas residuais em que são usados fotobiorreatores fechados com microalgas que utilizam como fonte de energia radiação fotossinteticamente ativa. A biomassa proveniente deste processo é utilizada na produção de um gás biológico rico em metano que, posteriormente, é utilizado na produção de eletricidade (Montingelli *et al.*, 2015).

A “*Algae Systems*” é uma empresa Norte Americana fundada em 2009 que criou um sistema *offshore* de fotobiorreatores flutuantes de policulturas de algas dos géneros *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Cryptomonas*, que utilizam apenas luz e dióxido de carbono ambiental como fontes de energia (Novoveská *et al.*, 2016). Este sistema permite tratar cerca de 19 000 litros diários de águas residuais municipais, com uma eficiência de remoção de 75% de azoto e de 93% de fósforo e procura biológica de oxigénio. A biomassa resultante de algas é depois processada em terra por um sistema de liquefação hidrotérmica e é reencaminhada para produção de combustíveis renováveis e fertilizantes (Novoveská *et al.*, 2016).

Outro exemplo dos vários tipos de técnicas que utilizam microalgas para tratamento de águas residuais é o sistema de biofilme giratório de algas (RAB) (Figura 2) da empresa americana “*Gross-Wen Technologies*”, em que as algas crescem verticalmente em cintos transportadores que estão constantemente em movimento a passar por água contaminada. Para além das grandes percentagens de remoção de azoto e fósforo, a remoção da biomassa resultante, que depois é utilizada para produção de fertilizantes e bioplásticos, é bastante rápida e pouco dispendiosa (Gross *et al.*, 2013).

Em 2020 foi realizado um estudo em Barcelona (Espanha), em que foram testadas as capacidades de remoção de farmacêuticos sob condições ambientais normais, de águas residuais submetidas a um tratamento secundário em lagoas com microalgas, em comparação com o método clássico utilizado de lamas ativadas. No tratamento com microalgas foram utilizadas águas previamente submetidas a um tratamento primário, e águas sem tratamento primário, como forma de testarem a necessidade da realização deste procedimento (García *et al.*, 2020).

A investigação comprovou que o tratamento secundário com microalgas representa uma alternativa viável mais sustentável e de menor custo, tendo os resultados revelado percentagens de remoção de fármacos, metabolitos, produtos de transformação e micropoluentes orgânicos geralmente mais elevadas ou semelhantes aos valores recolhidos nas águas residuais submetidas ao tratamento com lamas ativadas. Também se concluiu que no tratamento com microalgas, não é estritamente necessário a realização de um tratamento primário antecipadamente, logo a não concretização desta etapa poderá trazer benefícios económicos (García *et al.*, 2020).



**Figura 3** - Sistema de tratamento de águas residuais com recurso a microalgas RAB, da empresa “Gross-Wen Technologies”, imagem online: <https://algaebiomass.org/blog/10671/gross-wen-technologies-gwt-joins-algae-biomass-organizations-gold-membership/> (acesso em abril de 2021).

## **Parte II – Parte Experimental**

## 2.1. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1.1. AMOSTRAGEM

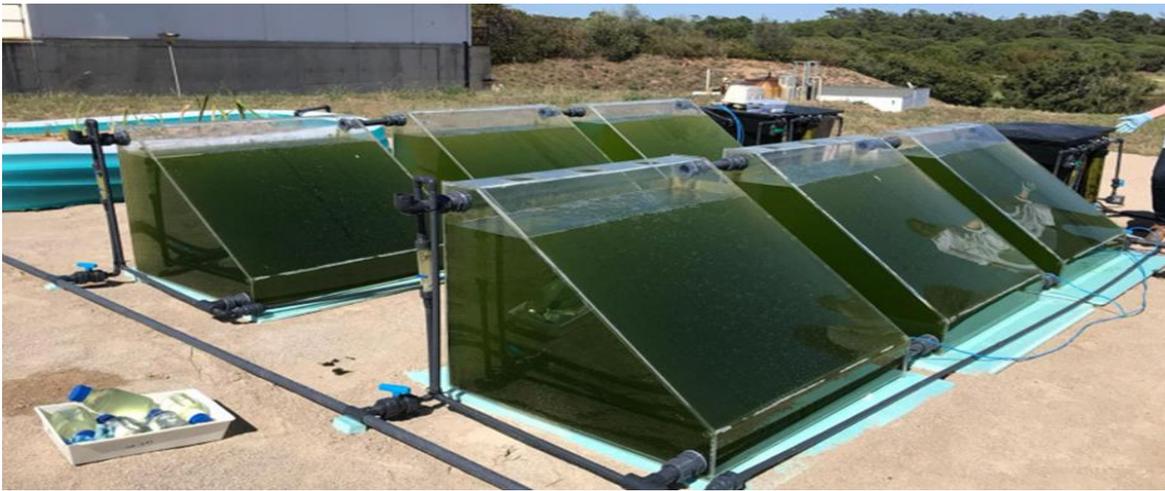
No presente trabalho foi testado um tratamento terciário com recurso a fotobiorreatores com microalgas, onde as águas residuais foram colocadas durante cerca de 48 horas. Nos reatores deixou-se desenvolver um *bloom* natural de microalgas que se encontravam presentes naquelas águas.

Neste *bloom* natural, ocorreu a proliferação de vários organismos, tais como cianobactérias, clorófitas e populações de bactérias que variam bastante de acordo com as estações em que foram recolhidas as amostras. Algumas das espécies de microalgas identificadas em grande número foram os géneros de algas verdes *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Desmodesmus*.

*Chlorella* são algas verdes unicelulares, de morfologia esférica, cujas culturas são bastantes fáceis de manusear e apresentam crescimentos bastante rápidos e previsíveis, por estas razões, estas algas pertencem ao grupo dos protistas fotossintéticos mais utilizados pela comunidade científica como organismo modelo experimental (Krienitz *et al.*, 2015).

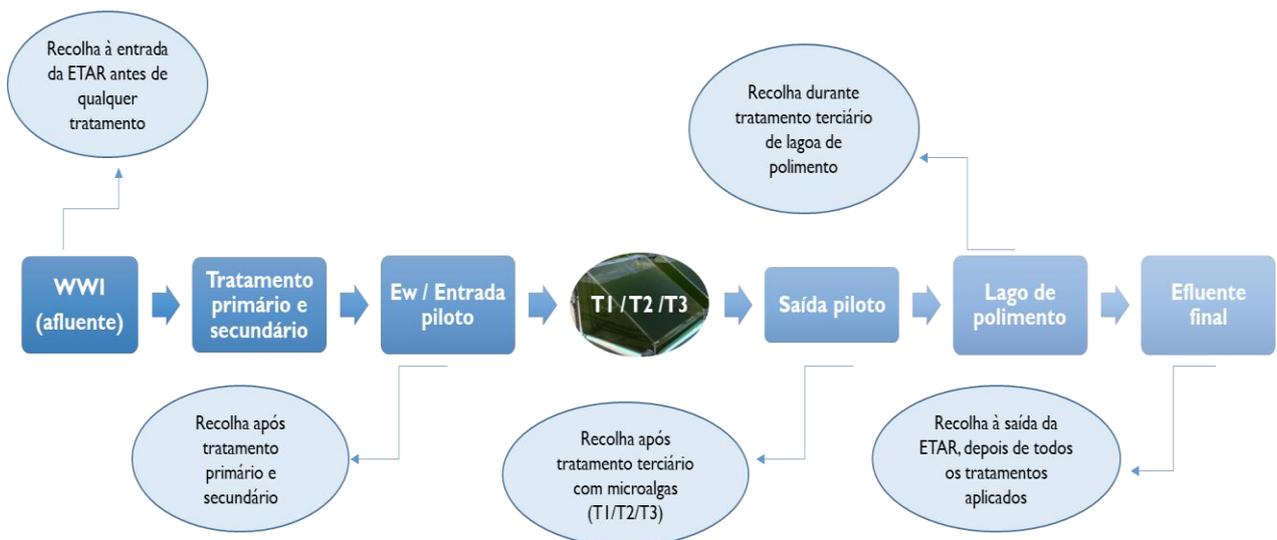
*Scenedesmus* também são algas verdes, não móveis, coloniais, e foram das primeiras algas estudadas em laboratório, visto que apresentam taxas de crescimento bastante rápidas e são fáceis de manusear (Lürling, 2003). São muito resistentes a variações do meio ambiente, e adaptam-se com facilidades a condições adversas, pelo que se encontram entre os géneros de algas de água doce mais comuns em todo o mundo (Lürling, 2003). A produção de biodiesel através do óleo deste género de algas tem sido um tema muito investigado pela comunidade científica, como excelente alternativa aos combustíveis fósseis (Mamo *et al.*, 2019).

*Desmodesmus* são um género de algas verdes de água doce da família Scenedesmaceae, que tem sido investigada como forma de tratamento terciário anaeróbico para remoção de nutrientes de águas residuais e produção de biomassa nos últimos anos (Ji *et al.*, 2014).



**Figura 4** - Fotobiorreatores com microalgas onde foi aplicado o tratamento terciário às águas residuais da ETAR da Quinta do Lago, imagem *online*: <https://www.ccmr.ualg.pt/en/project/greentreat-integrated-sustainable-process-tertiary-treatment-urban-wastewater-using> (acesso em abril 2021).

Este trabalho incluiu um total de 66 amostras que foram recolhidas em seis pontos do circuito efetuado pelas águas residuais na ETAR. Na zona de saída da ETAR (efluente), antes e após os três pontos intermédios adicionados ao circuito de águas da ETAR que eram os fotobiorreatores com microalgas onde se realizou o tratamento terciário experimental, na zona de entrada da ETAR (afluente), e de um tratamento de lago de polimento. Na Figura 5 podemos verificar onde se situaram os pontos de recolhas das amostras.



**Figura 5** - Esquema do circuito de águas dentro da ETAR e locais de recolha das amostras.

No outono de 2019, inverno de 2020 e verão de 2020 foram recolhidas amostras à saída dos três fotobiorreatores e do local Ew/entrada piloto. O tempo de retenção

hidráulica foi de 48 horas, com exceção de alguns ensaios realizados no inverno e verão em que se fizeram experiências com 24 horas. No outono de 2020 recolheram amostras na lagoa de polimento, afluente e efluente final da ETAR, e entrada e saída piloto.

As amostras foram armazenadas em recipientes de polietileno de alta densidade e foram acidificadas a pH 3 com ácido fórmico e congeladas de forma a não existirem alterações das propriedades físico-químicas durante o processo de transporte até ao laboratório.

Nas seguintes Tabelas 8, 9, 10 e 11, temos representada as amostras recolhidas por estação do ano, com os respetivos locais de recolha.

**Tabela 8** - Amostras recolhidas no outono de 2019 e concentrações de fármacos detetados.

<b>Código interno</b>	<b>Semana</b>	<b>Local de recolha</b>
1.O	W1	Ew1
2.O	W1	T1
3.O	W1	T2
4.O	W1	T3
5.O	W2	Ew2
6.O	W2	T1
7.O	W2	T2
8.O	W2	T3
9.O	W3	Ew3
10.O	W3	T1
11.O	W3	T2
12.O	W3	T3
13.O	W4	Ew4
14.O	W4	T1
15.O	W4	T2
16.O	W4	T3
17.O	W5	Ew5
18.O	W5	T1
19.O	W5	T2
20.O	W5	T3

Legenda: W1 – semana 1, Ew1 – água de entrada nos fotobiorreatores, T1 – saída do fotobiorreator 1, T2 – saída do fotobiorreator 2, T3 – saída do fotobiorreator 3.

**Tabela 9** - Amostras recolhidas no inverno de 2020 e concentrações de fármacos detetados.

<b>Código interno</b>	<b>Semana</b>	<b>Local de recolha</b>
1.1	W1	Ew1 (WCS)
2.1	W1	T1
3.1	W1	T2
4.1	W1	T3
5.1	W1	Ew1 (WCS2)
6.1	W1	T1
7.1	W1	T2
8.1	W1	T3
9.1	W2	Ew2 (WCS)
10.1	W2	T1
11.1	W2	T2
12.1	W2	T3
13.1	W2	Ew2 (WCS2)
14.1	W2	T1
15.1	W2	T2
16.1	W2	T3
17.1	W3	Ew3 (WCS)
18.1	W3	T1
19.1	W3	T2
20.1	W3	T3
21.1	W3	Ew3 (WCS2)
22.1	W3	T1
23.1	W3	T2
24.1	W3	T3

Legenda: W1 – semana 1, Ew1 – água de entrada nos fotobiorreatores, T1 – saída fotobiorreator 1, T2 – saída do fotobiorreator 2, T3 – saída do fotobiorreator 3, WCS – tempo de retenção hidráulica de 48 horas, WCS2 – retenção hidráulica de 24 horas.

**Tabela 10** – Amostras recolhidas no verão de 2020 e concentrações de fármacos detetados.

<b>Código interno</b>	<b>Semana</b>	<b>Local de recolha</b>
<b>1.V</b>	W1	Ew1 (WCS)
<b>2.V</b>	W1	T2
<b>3.V</b>	W1	Ew1 (WCS2)
<b>4.V</b>	W1	T2
<b>5.V</b>	W2	Ew2 (WCS)
<b>6.V</b>	W2	T2
<b>7.V</b>	W2	Ew2 (WCS2)
<b>8.V</b>	W2	T2

Legenda: W1 – semana 1, Ew1- água de entrada nos fotobiorreatores, T2 – saída do fotobiorreator 2, WCS – tempo de retenção hidráulica de 48 horas, WCS2 – retenção hidráulica de 24 horas.

**Tabela 11** – Amostras recolhidas no outono de 2020 e concentrações de fármacos detetados.

<b>Código interno</b>	<b>Local de recolha</b>
<b>1.O2</b>	Saída Piloto
<b>2.O2</b>	Entrada Piloto
<b>3.O2</b>	Saída Piloto
<b>4.O2</b>	Entrada Piloto
<b>5.O2</b>	Saída Piloto
<b>6.O2</b>	Entrada Piloto
<b>7.O2</b>	Saída Piloto
<b>8.O2</b>	Entrada Piloto
<b>9.O2</b>	WWI
<b>10.O2</b>	Entrada Piloto
<b>11.O2</b>	Lagoa de polimento
<b>12.O2</b>	Efluente final
<b>13.O2</b>	WWI
<b>14.O2</b>	Entrada Piloto
<b>15.O2</b>	Lagoa de polimento
<b>16.O2</b>	Efluente final

Legenda: WWI – afluente ETAR.

## 2.1.2. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS – EXTRAÇÃO

Inicialmente as amostras foram colocadas à temperatura ambiente para descongelarem. Posteriormente, foram filtradas utilizando dois filtros diferentes, primeiro com um filtro de membrana de 0,45 µm e em seguida com um filtro de membrana de 0,2 µm, de maneira a eliminar interferentes para os passos seguintes.

Depois das amostras filtradas, foi novamente verificado o pH das amostras e acertado a pH3 com ácido fórmico, de maneira a garantir uma correta precipitação e retenção de alguns compostos no passo seguinte.

De seguida realizou-se uma extração em fase sólida com colunas Oasis HLB Prime 6cc (200mg). Estas colunas permitem fixar no seu enchimento compostos de acordo com as suas características hidrofílicas e lipofílicas. Também apresentam a vantagem de limpar mais adequadamente as amostras, removendo vários tipos de impurezas como sais, fosfolípidos e proteínas, que iriam dificultar a obtenção de uma matriz de resultados nos próximos passos. Em seguida as colunas foram ativadas com 2 ml metanol (CH<sub>3</sub>OH), que serve como ativador universal para colunas, e 2 ml de água, impedindo que estas fiquem secas.

Após o sistema de extração em fase sólida estar pronto a ser utilizado, passou-se 250 ml de cada amostra pelas colunas devidamente identificadas pela respetiva amostra. No final da passagem das amostras pelas colunas, estas foram lavadas com uma solução de 5 ml de metanol e água (10:90) e secaram durante 15 minutos. Depois do período de secagem, as colunas foram eluídas com 6 ml de metanol e voltaram a secar durante 15 minutos. O passo de adição do eluente serve para diluir e desagregar os compostos do enchimento das colunas de extração em fase sólida.

Para concluir, as amostras com o eluente foram submetidas a uma corrente suave de azoto gasoso a 40°C numa hote, de maneira a serem evaporadas até à sua secura.

## 2.1.3. CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS (HPLC)

As análises cromatográficas foram realizadas com um sistema de HPLC “*Thermo Finnigan*” (Figura 6), acoplada a uma armadilha de iões linear (LIT-MS) “*LTQ XL, Thermo Scientific*” (Figura 7), ambas fabricadas em São José, na Califórnia, E.U.A.



**Figura 6** - Sistema de HPLC Thermo Finnigan; Imagem Online: <https://conquerscientific.com/cq-product/autosampler-surveyor-thermofinnigan/> (acesso em março de 2021).



**Figura 7** - Espectrômetro de massa de armadilha de íons linear LTQ XL; Imagem Online: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/IQLAAEGAAVFACZMAIK#/IQLAAEGAAVFACZMAIK> (acesso em março de 2021).

Para a realização do processo de cromatografia foi utilizada uma coluna analítica “Waters Sherisorb ODS2” (5 $\mu$ m, 4,6 mm id x 10 mm) produzida pela empresa “Waters Corporation” na cidade de Milford, nos E.U.A.

As amostras secas, resultantes dos procedimentos de extração e limpeza previamente realizados, foram dissolvidas em 0,50 ml de uma solução de metanol e água (10:90) e, seguidamente, a solução foi microfiltrada. O volume de injeção utilizado foi de 20  $\mu$ l (*loop parcial*), com um fluxo de 200  $\mu$ l/min.

Foram utilizados dois sistemas de gradientes: o gradiente (A), constituído por uma solução de água e ácido fórmico 0,1%, e o gradiente (B), de metanol e ácido fórmico 0,1%. A percentagem de gradientes durante o tempo da análise pode ser observada na Tabela 14.

**Tabela 12** - Percentagem de gradientes durante o tempo de análise.

Tempo (minutos)	Gradiente A	Gradiente B
0,00	90 %	10 %
3,00	90 %	10 %
3,10	55 %	45 %
5,00	55 %	45 %
8,00	15 %	85 %
9,00	15 %	85 %
9,10	5 %	95 %
14,00	5 %	95 %
14,10	90 %	10 %
30,00	90 %	10 %

A espectrometria de massa foi operada no modo de ionização com um *electrospray* negativo e um positivo, tendo ainda sido utilizado nitrogénio como gás nebulizador a um fluxo de bainha de 70 (unidade arbitrária) e a um fluxo de varredura de 10 (unidade arbitrária). As tensões da fonte e do capilar foram mantidas a 4,0 V e a 15V e as temperaturas foram mantidas a 0°C e 235°C, respetivamente.

O gás de colisão utilizado foi hélio, com uma energia de colisão normalizada entre os 15,0% e os 37,0%, dependendo do composto alvo de cada caso.

## 2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.2.1. REVALIDAÇÃO DO MÉTODO

A validação da metodologia analítica permite-nos garantir a veracidade dos nossos resultados e, para isso, foi realizada uma revalidação do método para avaliar a exatidão, precisão, sensibilidade, linearidade e o efeito de matriz (Sousa *et al.*, 2011).

A linearidade foi determinada com recurso a curvas de calibração, através de fortificações, com 8 concentrações diferentes entre 30 ng/L a 300 ng/L, e de padrões com 8 concentrações diferentes entre 15 µg/L e 150 µg/L.

Os coeficientes de correlação ( $r^2$ ) das curvas de calibração das soluções padrão e das amostras fortificadas foram apropriados, tendo apresentado valores entre 0,9994 e 1.

O efeito matriz, que permite garantir que não existem componentes presentes nas amostras que poderiam causar alterações na quantificação analítica dos resultados, obteve valores entre 98,18 e 103,90%, portanto foi negligenciado.

Os valores do limite de detecção (LOD), os valores de limite de quantificação (LOQ), o desvio padrão relativo (RSD) e a % média de recuperação dos fármacos em estudo estão representados na Tabela 15.

**Tabela 13** - Valores de LOD, LOQ, RSD e recuperação média para todos os fármacos em estudo.

FÁRMACOS	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)	RSD (%)	Recuperação (%)
Ciprofloxacina	4,75	14,40	0,55	100,33
Eritromicina	6,49	19,68	0,61	100,33
Azitromicina	2,12	6,42	0,68	100,06
Claritromicina	5,23	15,85	0,86	101,18
Diclofenac	7,31	22,16	0,44	101,35
4'-Hidroxi Diclofenac	8,84	26,78	1,07	101,89
Naproxeno	7,91	23,97	1,13	102,24
Ibuprofeno	2,71	8,21	0,35	100,19
Acetaminofeno	6,11	18,52	0,44	99,91
Citalopram	1,77	5,36	0,31	100,07
Fluoxetina	2,25	6,80	0,36	101,05
Sertralina	5,53	16,75	1,14	99,70
Gemfibrozil	9,12	27,65	2,21	100,97
Bezafibrato	7,33	22,21	1,12	101,36
Estrona	9,47	28,70	1,41	110,41
Estradiol	8,06	24,41	0,38	102,71
Etinilestradiol	8,71	26,38	1,21	101,94
Carbamazepina	3,41	10,33	0,69	99,63

A exatidão dos resultados, que foi calculada através dos ensaios de recuperação apresentou valores médios que variam entre os 99,63% e os 110,41% e os valores de precisão entre os 0,31% e os 2,21%. Já os valores do LOD variaram entre os 2,12 ng/L e os 9,47 ng/L e os valores do LOQ variaram entre os 5,36 ng/L e os 28,70 ng/L. Os ensaios de recuperação foram realizados a partir de três replicados, um para cada uma das concentrações, em 3 dias diferentes, e cada extrato foi analisado três vezes.

## 2.2.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Da análise geral dos resultados, constata-se a presença de somente quatro fármacos: a sertralina, a ciprofloxacina, o naproxeno e o citalopram, em apenas oito das 66 amostras recolhidas para este estudo. Foram estas as amostras 1.O, 9.I, 11.I, 1.V, 2.O2, 4.O2, 9.O2 e 13.O2., como podemos verificar na seguinte Tabela 16.

**Tabela 14** - Amostras recolhidas positivas com o respetivo local de recolha e concentração (ng/L).

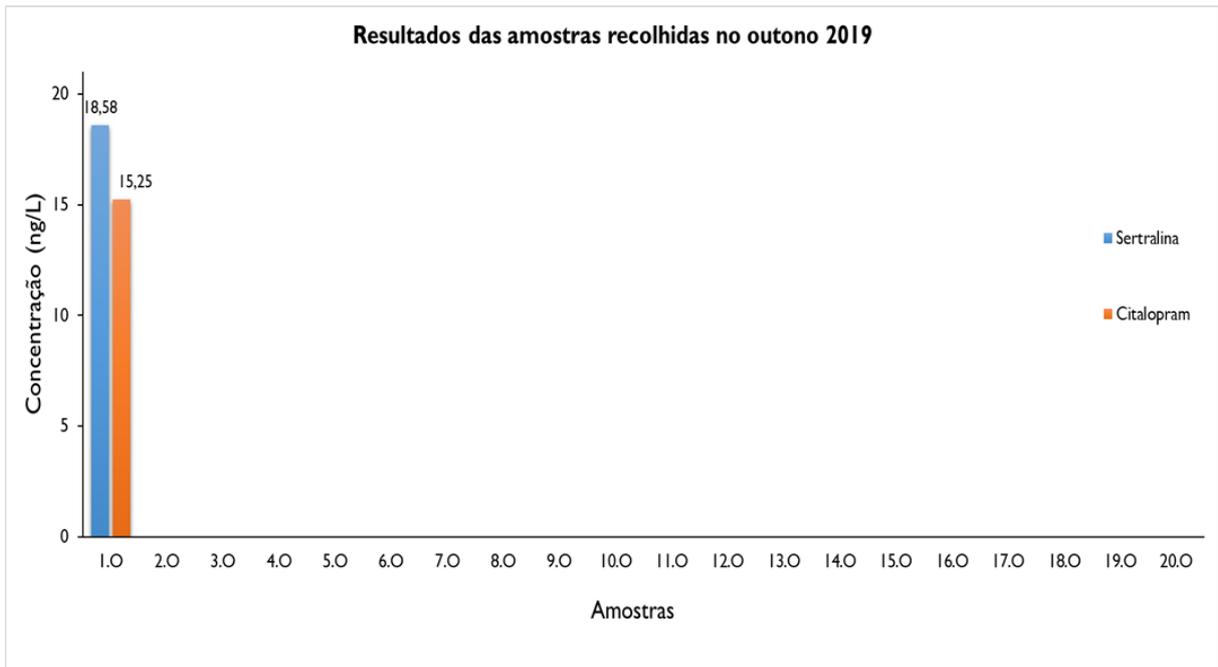
Código interno	Local de recolha	Concentrações (ng/L)
1.O	Ew	CIT – 15,25 SER – 18,58
9.I	Ew	SER – 17,97
11.I	T2	CIT – 14,98
1.V	Ew	SER – 19,62
2.O2	Entrada Piloto	CIT – 16,81
4.O2	Entrada Piloto	CIT – 18,13 SER – 21,06
9.O2	WWI	NPX – 20,93 SER – 22,45
13.O2	WWI	CIP – 10,67 CIT – 19,77 SER – 24,14

Legenda: SER – sertralina, CIT – citalopram, NPX – naproxeno, CIP – ciprofloxacina, WWI – afluente ETAR, T2 – saída do fotobiorreator 2, Ew- água de entrada nos fotobiorreatores.

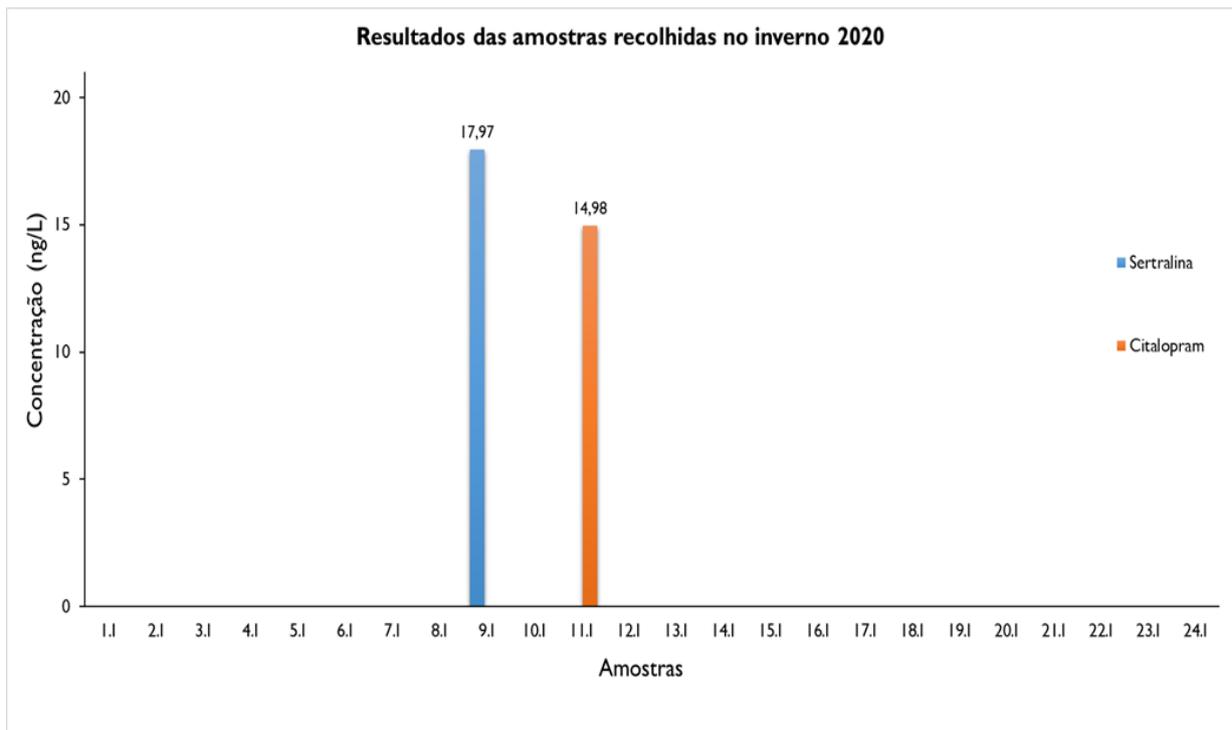
As amostras 1.O, 9.I, 1.V, 2.O2 e 4.O2 foram recolhidas na entrada piloto, após os tratamentos primários e secundários realizados pela ETAR, e antes do tratamento terciário com microalgas. A amostra 11.I foi recolhida no tanque número dois, durante o tratamento com microalgas, e as amostras 9.O2 e 13.O2 foram recolhidas no afluente à entrada da ETAR antes de serem submetidos a qualquer tipo de tratamento.

Os teores mais elevados foram detetados para a sertralina, com uma concentração máxima de 24,14 ng/L, e a concentração mínima detetada foi de 10,67 ng/L de ciprofloxacina.

Nos gráficos seguintes (Figura 8,9,10 e 11) encontram-se as amostras em que foram detetados os vários fármacos em estudo, bem como as suas respetivas concentrações (ng/L).



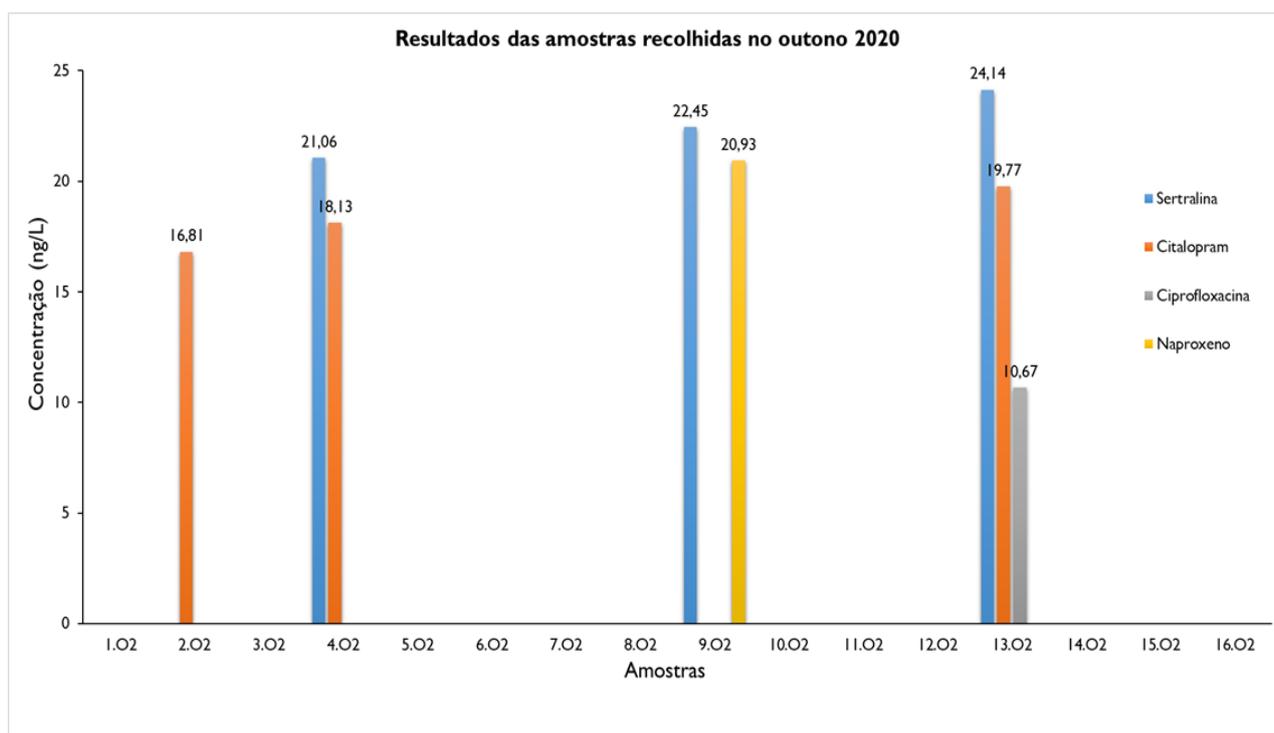
**Figura 8** – Concentrações de fármacos (ng/L) detetadas nas amostras recolhidas no outono de 2019.



**Figura 9** - Concentrações de fármacos (ng/L) detetadas nas amostras recolhidas no inverno de 2020.



**Figura 10** - Concentrações de fármacos (ng/L) detetadas nas amostras recolhidas no verão de 2020.



**Figura 11** - Concentrações de fármacos (ng/L) detetadas nas amostras recolhidas no outono de 2020.

A baixa deteção de fármacos verificada pode ser uma consequência direta da baixa densidade populacional na zona do Algarve no momento da recolha das amostras. Esta foi iniciada no outono de 2019, momento do ano em que a densidade populacional é mais reduzida devido ao facto de esta ser uma zona de turismo balnear, tendo-se prolongado até ao outono de 2020, ano este marcado pela pandemia de COVID-19, que também levou à deslocação de menos pessoas a esta zona, devido às restrições de circulação impostas pelos vários governos. Tendo em conta que a “Quinta do Lago” é uma zona principalmente turística, o número da sua população acabou por ser afetado drasticamente durante estes últimos anos pandémicos.

Por outro lado, seria expectável que se encontrassem grandes quantidades antidepressivos nas amostras, sobretudo a partir de março de 2020, pois o consumo geral deste tipo de medicamentos em Portugal aumentou com a decorrer da pandemia (Estrela et al., 2020).

As duas amostras em que foram detetadas o antibiótico e o anti-inflamatório, ciprofloxacina e naproxeno respetivamente, foram ambas recolhidas no afluente da ETAR, que são águas não submetidas a qualquer tipo de tratamento, pelo que são resultados expectáveis que confirmam a presença crescente de fármacos nos ecossistemas aquáticos.

Todas as amostras positivas recolhidas à entrada do teste piloto continham citalopram e/ou sertralina, pelo que podemos retirar que os tratamentos secundários aplicados nesta ETAR não apresentam uma eficácia muito elevada em termos de remoção de antidepressivos.

Durante o tratamento terciário com algas foi apenas detetada uma amostra que continha as concentrações mais baixas de citalopram detetadas, que foi a amostra 11.1. Isto revela alguma eficácia do tratamento com fotobiorreatores na remoção de antidepressivos, visto que apenas foi detetado citalopram e em concentrações mais baixas relativamente às concentrações detetadas à entrada do teste piloto.

Nas amostras recolhidas depois do tratamento terciário com microalgas, na lagoa de polimento e no efluente final, nunca foram detetadas concentrações de fármacos, o que revela dados animadores, visto que não foram encontrados fármacos a serem devolvidos ao meio ambiente.

As nossas amostras à entrada dos fotobiorreatores podem ser comparadas com amostras recolhidas à saída de ETARs onde não seja aplicada este tratamento, à semelhança do que aconteceu nos estudos a seguir mencionados.

Nas 5 amostras positivas recolhidas à entrada dos fotobiorreatores, foram detetadas concentrações de citalopram entre 15,25 ng/L e 18,13 ng/L, e no estudo realizado por Silva e

colaboradores (2014), a concentração média de citalopram detetada em efluentes de 15 ETARs portuguesas ronda os 90,02 ng/L, pelo que podemos retirar que os valores de citalopram detetados antes do tratamento terciário com microalgas, é bastante baixo comparativamente com a média.

A sertralina também foi detetada nas amostras à entrada dos fotobiorreatores com concentrações entre 17,97 ng/L e 21,06 ng/L, e no mesmo estudo de 2014, a sertralina não foi detetada em nenhuma amostra de efluentes de ETARs, pelo que em comparação com este estudo, as nossas amostras apresentam valores de sertralina superiores.

Nas amostras recolhidas no afluente da ETAR da Quinta do Lago, foram detetadas concentrações de 10,67 ng/L de ciprofloxacina, 20,93 ng/L de naproxeno, 19,77 ng/L de citalopram, e 22,45 ng/L e 24,14 ng/L de sertralina.

No estudo de Silva e colaboradores (2014), a concentração média de citalopram detetada nos afluentes de ETARs em Portugal é de 147,54 ng/L, pelo que, em comparação, a concentração de citalopram por nós detetada é bastante baixa. Neste mesmo trabalho de 2014, foram detetadas amostras de sertralina num afluente de uma ETAR que rondam valores médios de 100,40 ng/L.

Num outro estudo realizado por Gaffney e colaboradores (2017), os valores médios de concentração de naproxeno, e ciprofloxacina em afluentes de uma ETAR, localizada em Lisboa, são de 7900 ng/L e 2000 ng/L respetivamente, pelo que, em comparação, os valores que obtivemos destes dois contaminantes também não parecem ser motivo para alarme.

De acordo com os dados representados na Tabela 8, todas as concentrações obtidas nas amostras positivas estão a baixo dos valores de PNEC para organismos aquáticos, logo a probabilidade de promoverem toxicidade no meio aquático recetor é bastante baixa.

Devido ao facto de termos recolhido poucas amostras positivas, não conseguimos retirar conclusões neste estudo em relação às variações do tempo de retenção hidráulicos aplicados, aos diferentes fotobiorreatores utilizados, e às diferentes estações do ano, onde poderíamos comparar a influência da radiação solar e da temperatura.

## 2.3. CONCLUSÃO

O principal objetivo desta dissertação era avaliar a capacidade de remoção de fármacos presentes em águas residuais através de um tratamento terciário com recurso a fotobiorreatores com microalgas. Para tal, recolheram-se amostras de água provenientes de vários pontos de tratamento da ETAR da Quinta do Lago, em Almancil, e de três tanques com microalgas, onde as águas permaneceram submetidas a este tratamento que durou entre 24 e 48 horas.

Todavia, este estudo acabaria por ser limitado pelo facto de se ter encontrado um reduzido número fármacos nas amostras de água. Concretamente, os resultados obtidos demonstraram uma baixa diversidade de fármacos, tendo apenas aparecido indícios de apenas quatro fármacos – dois antidepressivos, um anti-inflamatório e um antibiótico –, em oito das 66 amostras recolhidas.

Das oito amostras positivas, duas delas foram recolhidas, na zona de entrada na ETAR, antes de serem submetidas a qualquer tipo de tratamento e, como seria de esperar, foram as amostras que demonstraram maior variabilidade de fármacos detetados.

Cinco amostras recolhidas à entrada do teste piloto apresentaram concentrações de citalopram e/ou sertralina. E uma amostra recolhida num dos fotobiorreatores com microalgas testou positivo para o antidepressivo citalopram.

Estes dados podem demonstrar que os tratamentos aplicados nesta ETAR em específico são adequados para a maioria dos fármacos e têm valores de eficácia e eficiência de remoção de certo modo animadores, visto que só foram detetados sinais de contaminação com dois fármacos, em 18 possíveis, nas amostras recolhidas durante e após os tratamentos da ETAR. No entanto, estes dois fármacos pertencem à classe dos antidepressivos, o que pode indicar que a eficácia de remoção de antidepressivos pode vir a ser melhorado nesta ETAR.

Os resultados das amostras de água submetidas aos dois dias de tratamento nos fotobiorreatores também são de certa forma favoráveis uma vez que só foram detetados níveis de contaminação numa amostra. Esta foi a amostra número 11.1, que continha citalopram, revelando que, especificamente para este antidepressivo, este tratamento terciário não apresenta uma eficácia total.

Ainda assim, as conclusões que se podem retirar acerca da eficácia do tratamento aplicado com microalgas não são cientificamente muito completas, visto que a água antes do teste piloto já se encontrava pouco contaminada com fármacos, revelando uma boa eficácia

dos tratamentos primários e secundários aplicados nesta ETAR. Por outro lado, foram poucas as amostras recolhidas à entrada da ETAR. Assim, pode-se dizer que a amostragem deste projeto poderia ter sido mais linear e complexa uma vez que, como foram recolhidas poucas amostras de algumas zonas, não é possível retirar conclusões muito fidedignas.

Uma das hipóteses consideradas para o baixo número de fármacos detetados pode ser o facto de a ETAR onde se realizou a amostragem se localizar numa zona turística. E, devido aos efeitos pandémicos do ano de 2020, ter ocorrido uma redução bastante significativa da densidade populacional, o que levou a um decréscimo da produção de resíduos domésticos associados ao consumo de medicamentos.

Por outro lado, o facto de terem sido detetados maioritariamente antidepressivos pode também estar ligado à pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2, dado que, segundo Estrela e colaboradores (2020) e segundo o INFARMED, esta teve um grande impacto na saúde mental dos portugueses, levando a um aumento do consumo de antidepressivos.

Tal como mencionado anteriormente, o facto de não se terem obtido muitas amostras contaminadas de águas residuais antes do teste piloto acaba por ser uma limitação para este trabalho pois, assim, não é possível verificar ao certo a capacidade de remoção deste tratamento com microalgas. Este pode ser o ponto de partida para estudos futuros.

Para testarmos melhor a capacidade de remoção e as vantagens associadas à aplicação do tratamento terciário em causa, dever-se-ia realizar um trabalho em que seriam colocadas águas residuais controladamente contaminadas com diferentes tipos de fármacos, e com diferentes níveis de concentrações desses fármacos, por forma a verificarmos a verdadeira eficácia associada à aplicação deste método de tratamento.

Para se ter a certeza da eficácia dos tratamentos aplicados, deveria igualmente ser conduzido um estudo em que fossem recolhidas e testadas mais amostras de água à entrada e à saída da ETAR, possibilitando a comparação entre as concentrações de entrada e saída e respetivas percentagens de remoção, e também respetivo impacto da aplicação do tratamento terciário com fotobiorreatores em comparação com outros tratamentos terciários.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF; N., AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. - **Microalgae and wastewater treatment**. Saudi Journal of Biological Sciences, 19:3 (2012) 257-275.

ABSHAGEN, U. et al. - **Disposition pharmacokinetics of bezafibrate in man**. European Journal of Clinical Pharmacology. 16:1 (1979) 31-38. doi:10.1007/BF00644963

Águas do Algarve | Grupo Águas de Portugal – **Saneamento de Águas Residuais – Tecnologias de Tratamento** [Último acesso em dezembro de 2019]. Disponível em: <https://www.aguasdoalgarve.pt/content/tecnologias-de-tratamento>

Águas do Norte | Grupo Águas de Portugal – **Educação Ambiental – Ciclo Urbano da Água – Tratamento de Águas Residuais** [Último acesso em dezembro de 2019]. Disponível em: <http://www.adnorte.pt/pt/educacao-ambiental/ciclo-urbano-da-agua/tratamento-de-aguas-residuais/?id=116>

ALMEIDA, A. et al. - **Human and Veterinary Antibiotics Used in Portugal-A Ranking for Ecosurveillance**. Toxics. 2 (2014) 188–225.

AL-OMAR, M. A. - **Ciprofloxacin: drug metabolism and pharmacokinetic profile**. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. 31 (2005) 209-214.

BABAEI, A. et al. - **Evaluation of nutrient removal and biomass production through mixotrophic, heterotrophic, and photoautotrophic cultivation of chlorella in nitrate and ammonium wastewater**. International Journal of Environmental Research. 12:2 (2018) 167-178.

BACHOUR, R. L. et al. - **Behavioral effects of citalopram, tramadol, and binary mixture in zebrafish (*Danio rerio*) larvae**. Chemosphere. 238 (2020) 124587.

BAYARSKI, Y. – **Antibiotics and Their Types, Uses and Side Effects**. Antibiotics and Their Types, Uses and Side Effects. (2006). [Último acesso em maio de 2020] Disponível em: [http://hamiltoncountypreppers.org/Antibiotics\\_and\\_Their\\_Types.pdf](http://hamiltoncountypreppers.org/Antibiotics_and_Their_Types.pdf)

BERGER, M.; GRAY, J. A.; ROTH, B. L. - **The expanded biology of serotonin**. Annual Review of Medicine. 60:1 (2009) 355-366.

BERNUS, I. et al. - **Dose-dependent metabolism of carbamazepine in humans**. Epilepsy Research. 24:3 (1996) 163-172.

- BORT, R. *et al.* - **Hepatic metabolism of diclofenac: role of human CYP in the minor oxidative pathways.** *Biochemical Pharmacology*. 58:5 (1999) 787-796.
- CALZA, P. *et al.* - **Study of the photoinduced transformations of sertraline in aqueous media.** *Science of The Total Environment*. 756 (2021) 143805.
- CCMAR - **GreenTreat: An Integrated, Sustainable Process for the Tertiary Treatment of Urban Wastewater using Microalgae in the Algarve region.** [Último acesso em abril de 2020]. Disponível em: <https://www.ccmар.ualg.pt/en/project/greentreat-integrated-sustainable-process-tertiary-treatment-urban-wastewater-using>
- CHANG, R; GOLDSBY, K. A. Equilíbrios ácido-base e equilíbrios de solubilidade. In CHANG, R; GOLDSBY, K. A. - **Química**. 11<sup>a</sup> Edição. AMGH Editora, 2013. ISBN 0073402680. p. 753-754.
- CLARDY, J.; FISCHBACH, M.; CURRIE, C - **The natural history of antibiotics.** *Current Biology*. 19:11 (2009) R437.
- COLEMAN, J. A. *et al.* - **Serotonin transporter–ibogaine complexes illuminate mechanisms of inhibition and transport.** *Nature*. 569:7754 (2019) 141–145.
- COMER, A. M.; FIGGITT, D. P. - **Sertraline: a review of its therapeutic use in post-traumatic stress disorder.** *CNS Drugs*. 14:5 (2000) 391-407.
- COSTA, C. R. *et al.* - **A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e Métodos de avaliação.** *Química Nova*. 31:7 (2008) 1820–1830.
- DAUGHTON, C. G.; TERNES, T. A. - **Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?** *Environmental health perspectives*. 107:6 (1999) 907-938.
- DE JESUS GAFFNEY, V. *et al.* - **Occurrence and behaviour of pharmaceutical compounds in a Portuguese wastewater treatment plant: Removal efficiency through conventional treatment processes.** *Environmental Science and Pollution Research*. 24:17 (2017) 14717-14734.
- DĘBSKA, J.; KOT-WASIK, A.; NAMIEŚNIK, J. - **Fate and analysis of pharmaceutical residues in the aquatic environment.** *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 34:1 (2004) 51-67.
- MINISTÉRIO DO AMBIENTE - **Decreto-Lei n.º 133/2015, de 13 de julho.** Lisboa: Diário da República [Último acesso em fevereiro de 2021]. Disponível em: <https://dre.pt/home/-/dre/69778945/details/maximized>

MINISTÉRIO DO AMBIENTE - **Decreto-Lei n.º 152/97, 19 de junho** (alterado por Decretos-Lei n.º 348/98, 261/99, 172/2001, 149/2004, 198/2008, 133/2015). Lisboa: Diário da República [Último acesso em fevereiro de 2021]. Disponível em: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/365343/details/maximized>

DEVANE, C. L.; LISTON, H. L.; MARKOWITZ, J. S. - **Clinical pharmacokinetics of sertraline**. *Clinical Pharmacokinetics*. 41:15 (2002) 1247-1266.

Diário de Coimbra. **CTGA assegura fiscalização na remodelação da ETAR do Choupal**. (2020). Disponível em: <https://www.diariocoimbra.pt/noticia/55825>

DU, X. *et al.* - **Dissolved oxygen control in activated sludge process using a neural network-based adaptive PID algorithm**. *Applied Sciences*. 8:2 (2018) 261.

EL HAOUTI, R. *et al.* - **The use of titaniferous sieved sand for the treatment of domestic wastewater in the percolation infiltration process**. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Researches*. 2:2 (2015) 58-71.

ESTRELA, M. *et al.* - **The use of antidepressants, anxiolytics, sedatives and hypnotics in Europe: focusing on mental health care in Portugal and prescribing in older patients**. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 17:22 (2020) 8612.

FERGUSON, J. M. *et al.* - **ISRS antidepressant medications: adverse effects and tolerability**. *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry*. 3:1 (2001) 22.

FIEGENBAUM, M.; HUTZ, M. H. - **Farmacogenética de fármacos hipolipemiantes**. *Medicina, Ribeirão Preto*. 39:4 (2006) 543-553.

GARCÍA-GALÁN, M. J., *et al.* - **Fate of priority pharmaceuticals and their main metabolites and transformation products in microalgae-based wastewater treatment systems**. *Journal of Hazardous Materials*. 390 (2020) (121771).

GONZALEZ-REY, M.; BEBIANNO, M. J. - **Does selective serotonin reuptake inhibitor (ISRS) fluoxetine affects mussel *Mytilus galloprovincialis*?** *Environmental Pollution*. 173 (2013) 200-209.

Gross-Wen Technologies (GWT) - **Joins the Algae Biomass Organization's Gold Membership**. [Último acesso em março de 2020] Disponível em: <https://algaebiomass.org/blog/10671/gross-wen-technologies-gwt-joins-algae-biomass-organizations-goldmembership>

- GROSS, M., *et al.* - **Development of a rotating algal biofilm growth system for attached microalgae growth with in situ biomass harvest.** *Bioresource Technology*, 150 (2013) 195–201.
- GRUNG, M., *et al.* - **Environmental assessment of Norwegian priority pharmaceuticals based on the EMEA guideline.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 71:2 (2008) 328-340.
- HE, Y., *et al.* - **Degradation of pharmaceuticals in wastewater using immobilized TiO<sub>2</sub> photocatalysis under simulated solar irradiation.** *Applied Catalysis B-Environmental*. 182 (2016) 132-141.
- HENZE, M.; COMEAU, Y. - **Wastewater characterization.** *Biological wastewater treatment: Principles modelling and design.* (2008) 33-52.
- HILAL-DANDAN, R.; BRUTON, L. L. - **Manual de Farmacologia e Terapêutica de Goodman & Gilman.** 2ª Edição. McGraw Hill, 2014. ISBN: 9788580554502
- HU, J., *et al.* - **Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: a review.** *Biotechnology Advances*. 36:1 (2018) 54–67.
- INFARMED - **Base de dados de medicamentos.** [Último acesso em 21 de dezembro de 2020]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/servicos-on-line/pesquisa-do-medicamento>
- JAGER, T. *et al.* - **Making sense of ecotoxicological test results: towards application of process-based models.** *Ecotoxicology*. 15:3 (2006) 305-314.
- Jl, F. *et al.* - **Biomass production and nutrients removal by a new microalgae strain *Desmodesmus sp.* in anaerobic digestion wastewater.** *Bioresource Technology*. 161 (2014) 200-207.
- JONES, O. A.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. - **Potential impact of pharmaceuticals on environmental health.** *Bulletin of the World Health Organization*. 81:10 (2003) 768-76. ISSN 0042-9686.
- KATZUNG, B. G. - **Basic and clinical Pharmacology.** 12ª Edição. McGraw-Hill, 2012. ISBN: 978-0-07-176402-5
- KHUSHBOO, S. B. - **Antidepressants: mechanism of action, toxicity and possible amelioration.** *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 3:5 (2017) 437–448.

- KOH, Y. K. K. *et al.* - **Treatment and removal strategies for estrogens from wastewater.** *Environmental Technology.* 29:3 (2008) 245-267.
- KRIENITZ, L.; HUSS, V. A.; BOCK, C. - **Chlorella: 125 years of the green survivalist.** *Trends in plant science.* 20:2 (2015) 67-69.
- KÜMMERER, K. - **Significance of antibiotics in the environment.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 52:1 (2003) 5-7.
- KÜMMERER, K. - **Pharmaceuticals in the Environment. Sources Fate, Effects and Risks.** 3ª Edição. Springer, 2008. ISBN: 978-3-540-74663-8
- KÜMMERER, K. - **Pharmaceuticals in the Environment.** *Annual Review of Environment and Resources.* 35 (2010) 57–75.
- KUNUTSOR, S. K. *et al.* - **Is high serum LDL/HDL cholesterol ratio an emerging risk factor for sudden cardiac death? Findings from the KIID study.** *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis.* 24:6 (2016) 600-608.
- KUSHNIR, M. M. *et al.* - **High-sensitivity tandem mass spectrometry assay for serum estrone and estradiol.** *American Journal of Clinical Pathology.* 129:4 (2008) 530-539.
- LAGES, A. D. S. - **Presença ambiental de resíduos de fármacos: fontes, concentrações, efeitos potenciais e formas de tratamento.** Porto: Universidade Fernando Pessoa, 2011. Monografia.
- LEBEL, M. - **Pharmacokinetic properties of clarithromycin: a comparison with erythromycin and azithromycin.** *Canadian Journal of Infectious Diseases.* 4:3 (1993) 148-152.
- LEVY, N. B. *et al.* - **Fluoxetine in depressed patients with renal failure and in depressed patients with normal kidney function.** *General Hospital Psychiatry.* 18:1 (1996) 8-13.
- LUO, Y. *et al.* - **A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment.** *Science of The Total Environment.* 473-474 (2014) 619-641.
- LÜRLING, M. F. L. L. W. - **Phenotypic plasticity in the green algae *Desmodesmus* and *Scenedesmus* with special reference to the induction of defensive morphology.** *Annales de Limnologie: International Journal of Limnology.* 39:2 (2003) 85-101.

MAMO, T. T.; MEKONNEN, Y. S. - **Microwave-Assisted Biodiesel Production from Microalgae, Scenedesmus Species, Using Goat Bone-Made Nano-catalyst.** Applied Biochemistry and Biotechnology. 190:4 (2019) 1147-1162

MARIEB, E. - **Human Anatomy & Physiology.** 9ª Edição. Benjamin-Cummings, 2013. ISBN 0321871901

MAZALEUSKAYA, L. L. *et al.* - **PharmGKB summary: pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses.** Pharmacogenetics and Genomics. 25:8 (2015) 416.

METCALVE, C. D. *et al.* - **Antidepressants and their metabolites in municipal wastewater, and downstream exposure in an urban watershed.** Environmental Toxicology and Chemistry. 29:1 (2010) 79-89.

MILNE, R. J.; GOA, K. L. - **Citalopram. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in depressive illness.** Drugs. 41:3 (1991) 450-477.

MINGUEZ, L. *et al.* - **Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France.** Environmental Science and Pollution Research. 23:6 (2016) 4992-5001.

MONTE, M. H. *et al.* - **Tratamento de Águas Residuais – Operações e Processos de Tratamento Físico e Químico.** Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos, Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Universidade da Beira Interior, 2017. ISBN 978-989-8360-32-8

MONTINGELLI, M. E.; TEDESCO, S.; OLABI, A. G. - **Biogas production from algal biomass: a review.** Renewable and Sustainable Energy Reviews. 43 (2015) 961–972.

MOYA-LLAMAS, M. J. *et al.* - **Influencia de la carga orgánica en la degradación biológica anaerobia de la carbamazepina presente en aguas residuales urbanas.** In: 21ST INTERNATIONAL CONGRESS ON PROJECT MANAGEMENT AND ENGINEERING. Cádiz, 2017. ISBN 13 978-84-697-6121-2

MUÑOZ, I. *et al.* - **Chemical evaluation of contaminants in wastewater effluents and the environmental risk of reusing effluents in agriculture.** Trends in Analytical Chemistry. 28:2 (2009) 676–694.

MUNOZ, R.; GUIEYSSE, B. - **Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review.** Water Research. 40:15 (2006) 2799-2815.

MURDOCH, D.; MCTAVISH, D. - **Sertraline. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in depression and obsessive-compulsive disorder.** *Drugs.* 44:4 (1992) 604-624.

NASCIMENTO, T. E. P. F. - **Lodo em lagoas de polimento: acúmulo e implicações no comportamento hidrodinâmico e no desempenho do sistema.** Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais, 2014. Dissertação de mestrado.

NELSON, D. L.; COX, M. M. - **Princípios de Bioquímica de Lehninger.** 7ª Edição. Artmed Editora, 2014. ISBN 9788582715338

Notícias ao minuto. **"Cheiros nauseabundos": CDU alerta para descargas poluentes de ETAR.** (2018). Disponível em: <https://www.noticiasao minuto.com/politica/1080868/cheiros-nauseabundos-cdu-alerta-para-descargas-poluentes-de-etar>

Notícias ao minuto. **Sistema de alerta através da análise das águas residuais vai ser estudado.** (2020) Disponível em :<https://www.noticiasao minuto.com/economia/1452133/sistema-de-alerta-atraves-da-analise-das-aguas-residuais-vai-ser-estudado>

NOVOVESKÁ, L. *et al.* - **Optimizing microalgae cultivation and wastewater treatment in large-scale offshore photobioreactors.** *Algal Research.* 18 (2016) 86-94.

OECD, Organisation for Economic Co-operation and Development - **Pharmaceutical consumption. Heal. Glance OECD Indic.** [Último acesso em 20 de julho de 2021]. Disponível em: <https://stats.oecd.org/Index.aspx?ThemeTreeId=9>

ONG, C. K. S. *et al.* - **An evidence-based update on nonsteroidal anti-inflammatory drugs.** *Clinical medicine & research.* 5:1 (2007) 19-34.

Oswald, W.; Gotass, H. - **Photosynthesis in sewage treatment.** *Transactions of the American Society of Civil Engineers.* 122 (1957) 73-105.

OWENS, M. J. *et al.* - **Neurotransmitter receptor and transporter binding profile of antidepressants and their metabolites.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 283:3 (1997) 1305-1322.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION - **Natural disasters: protecting the public's health.** Pan American Health Org, 2000. ISBN 92 75 11575 3

PAPAGEORGIOU, M.; KOSMA, C.; LAMBROPOULOU, D. - **Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece.** *Science of The Total Environment.* 543 (2016) 547–569.

- PEREIRA, A. M. *et al.* (2016) **Assessing environmental risk of pharmaceuticals in Portugal: an approach for the selection of the Portuguese monitoring stations in line with Directive 2013/39/EU.** *Chemosphere*. 144 (2016) 2507-2515.
- PEREIRA, A. M. *et al.* - **Selected pharmaceuticals in different aquatic compartments: Part I-Source, fate and occurrence.** *Molecules*. 25:5 (2020) 1026.
- PEREIRA, A. M. *et al.* - **Environmental impact of pharmaceuticals from Portuguese wastewaters: geographical and seasonal occurrence, removal and risk assessment.** *Environmental research*. 136 (2015) 108-119.
- PESCOD, M. B. - **Wastewater treatment and use in agriculture.** *Irrigation and Drainage*. 47 (1992).
- PETRIE, B.; CAMACHO-MUÑOZ, D. - **Analysis, fate and toxicity of chiral non-steroidal anti-inflammatory drugs in wastewaters and the environment: a review.** *Environmental Chemistry Letters*. 19:1 (2021) 43-75.
- Pfizer | Farmacêutica - **Resumo das características do medicamento.** [Último acesso em 10 de junho de 2021]. Disponível em: <http://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=3972>
- PINKWART, K. *et al.* - **Nanoscale dynamics of cholesterol in the cell membrane.** *Journal of Biological Chemistry*. 294:34 (2019) 12599-12609.
- POHL, R. B.; WOLKOW, R. M.; CLARY, C. M. - **Sertraline in the treatment of panic disorder: a double-blind multicenter trial.** *American Journal of Psychiatry*. 155:9 (1998) 1189-1195.
- PRINCE, M. J. *et al.* - **The burden of disease in older people and implications for health policy and practice.** *The Lancet*. 385:9967 (2015) 549-562.
- RAINSFORD, K. D. - **Anti-inflammatory drugs in the 21st century.** *Sub-cellular Biochemistry*. 42 (2007) 3-27.
- RANG, H. P. *et al.* - Chemical transmission and drug action in the central nervous system. In RITTER, J. M. *et al.* - **Rang and Dale Pharmacology.** 9ª Edição. Elsevier Health Sciences, 2012. ISBN 9788595151192. p. 442-446.
- ROBLES-MOLINA, J. *et al.* - **Multi-residue method for the determination of over 400 priority and emerging pollutants in water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry.** *Journal of Chromatography A*. 1350 (2014) 30-43.

- ROCHA, M. J.; ROCHA, E. - **Estrona, estradiol, etinilestradiol e diclofenac em águas superficiais portuguesas e sua contextualização internacional.** Recursos Hídricos. 40:1 (2019).
- ROSER, M.; ORTIZ-OSPINA, E.; RITCHIE, H. - **Life expectancy.** Our World in Data. (2013).
- SANOH, S. *et al.* - **Predictability of metabolism of ibuprofen and naproxen using chimeric mice with human hepatocytes.** Drug Metabolism and Disposition. 40:12 (2012) 2267-2272.
- SEGURA, P. A. *et al.* - **Global occurrence of anti-infectives in contaminated surface waters: Impact of income inequality between countries.** Environment International. 80 (2015) 89–97.
- SHANNON, H. E.; EBERLE, E. L.; PETERS, S. C. - **Comparison of the effects of anticonvulsant drugs with diverse mechanisms of action in the formalin test in rats.** Neuropharmacology. 48:7 (2005) 1012-1020.
- SILVA, L. J. *et al.* - **A one-year follow-up analysis of antidepressants in Portuguese wastewaters: occurrence and fate, seasonal influence, and risk assessment.** Science of The Total Environment. 490 (2014) 279-287.
- SILVA, S. *et al.* - **Characterization of Five Portuguese Wastewater Treatment Plants: Removal Efficiency of Pharmaceutical Active Compounds through Conventional Treatment Processes and Environmental Risk.** Applied Sciences. 11:16 (2021) 7388.
- SILVERTHORN, D. U. - **Fisiologia humana: uma abordagem integrada.** 5ª Edição. Artmed Editora, 2010. ISBN 9788536322841
- SIMAZAKI, D. *et al.* - **Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health.** Water Research. 76 (2015) 187–200.
- SIMONS, L. A. - **Interrelations of lipids and lipoproteins with coronary artery disease mortality in 19 countries.** The American Journal of Cardiology. 57:14 (1986) G5-G10.
- ŞIRIN, S.; SILLANPÄÄ, M. - **Cultivating and harvesting of marine alga *Nannochloropsis oculata* in local municipal wastewater for biodiesel.** Bioresource Technology. 191 (2015) 79-87.

SITRUK-WARE, R.; NATH, A. - **Metabolic effects of contraceptive steroids.** Reviews in endocrine and metabolic disorders. 12:2 (2011) 63-75.

Skees, A. J. *et al.* - **Contamination profiles, mass loadings, and sewage epidemiology of neuropsychiatric and illicit drugs in wastewater and river waters from a community in the Midwestern United States.** Science of The Total Environment. 631 (2018) 1457-1464.

SONUNE, A.; GHATE, R. - **Developments in wastewater treatment methods.** Desalination. 167 (2004) 55-63.

SOUSA, M. A. *et al.* - **Cleanup strategies and advantages in the determination of several therapeutic classes of pharmaceuticals in wastewater samples by SPE-LC-MS/MS.** Analytical and Bioanalytical Chemistry. 399:2 (2011) 807–822.

STAELS, B. *et al.* - **Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism.** Circulation. 98:19 (1998) 2088-2093.

Synlab | Farmacêutica – **Metabolitos de Estrogénios** – [Último acesso em 10 de agosto de 2021] Disponível em: <https://www.synlab.pt/Media/PDF/SYNLAB.PT/teste-metabolitos-estrogenios.pdf>

TERNES, T. A.; JOSS, A.; SIEGRIST, H. - **Peer reviewed: scrutinizing pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment.** Environmental Science & Technology. 38:20 (2004) 392A-399A.

TIKHONOV, D. B.; ZHOROV, B. S. - **Mechanism of sodium channel block by local anesthetics, antiarrhythmics, and anticonvulsants.** Journal of General Physiology. 149:4 (2017) 465-481.

TRAN, N. H.; REINHARD, M.; GIN, K. Y. H. - **Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions - a review.** Water Research. 133 (2018) 182-207.

UMAMAHESWARI, J.; SHANTHAKUMAR, S. - **Efficacy of microalgae for industrial wastewater treatment: a review on operating conditions, treatment efficiency and biomass productivity.** Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. 15:2 (2016) 265-284.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. - **Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action.** Inflammation Research. 47:2 (1998) 78-87.

VENKATA MOHAN, S. *et al.* - **Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: critical review and future perspectives.** Bioresource Technology. 215 (2016) 2-12.

WALKER, T. L. *et al.* - **Microalgae as bioreactors.** Plant cell reports. 24:11 (2005) 629-641.

WOLLMANN, F. *et al.* - **Microalgae wastewater treatment: biological and technological approaches.** Engineering in Life Sciences. 19:12 (2019) 860-871.

W.H.O., World Health Organization (2017) - **Depression and other common mental disorders: global health estimates.** World Health Organization, 2017.

ZENKER, A. *et al.* - **Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment.** Journal of Environmental Management. 133 (2014) 378-387.

ZHANG, Y.; GEIBEN, S. U.; GAL, C. - **Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies.** Chemosphere. 73:8 (2008) 1151-1161.

ZIAJAHROMI, S. *et al.* - **Wastewater treatment plants as a pathway for microplastics: development of a new approach to sample wastewater-based microplastics.** Water Research. 112 (2017) 93-99.