



**Mestrado em Qualidade e Gestão do Ambiente**

**Remoção de Carbamazepina em água e efluentes domésticos.  
Avaliação da capacidade de depuração de leitos construídos  
de macrófitas e novos adsorventes.**



**Patrícia Martins Gonçalves**

Dissertação apresentada na Universidade de Évora para obtenção do grau de  
Mestre em Qualidade e Gestão do Ambiente

**Orientadora: Professora Doutora Ana Paula Honrado Pinto**

**Évora, 2009**

**Mestrado em Qualidade e Gestão do Ambiente**

**Remoção de Carbamazepina em água e efluentes domésticos.  
Avaliação da capacidade de depuração de leitos construídos  
de macrófitas e novos adsorventes.**

**Patrícia Martins Gonçalves**

Dissertação apresentada na Universidade de Évora para obtenção do grau de Mestre  
em Qualidade e Gestão do Ambiente

**Orientadora: Professora Doutora Ana Paula Honrado Pinto**

**Évora, 2009**

## **Agradecimentos**

À Professora Ana Dordio e ao Professor Doutor Alfredo Palace Carvalho pelos conhecimentos científicos transmitidos, pela orientação, incentivo, apoio, compreensão, dedicação, amizade e disponibilidade evidenciada durante a realização deste trabalho.

À Professora Doutora Ana Paula Honrado Pinto pela disponibilidade, dedicação, conhecimentos científicos e importantes contribuições para realização deste trabalho.

À Lúcia pela sua amizade, ajuda cedida, disponibilidade e pelos momentos de partilha e conversa.

Aos meus amigos, que sempre me apoiaram, estiveram comigo quando mais precisei e sempre acreditaram em mim, em especial à Aninhas, à Carol, à Claudia, à Juliana e à Lena.

Aos meus pais por toda a ajuda, pela compreensão, apoio, incentivo, confiança e valores que sempre me transmitiram.

À minha irmã, pelo seu entusiasmo, ajuda, incentivo e apoio sempre presentes.

A todos os meus colegas e amigos que me acompanharam ao longo deste percurso, agradeço o apoio e a amizade manifestados.



186179

"Nada é difícil se for dividido em pequenas partes."

Henry Ford

## Resumo

A presença de vários compostos, nos efluentes das estações de tratamento de águas residuais (ETARs), tem sido confirmada na bibliografia. Uma opção para a remoção de fármacos em efluentes domésticos passa pela implementação de leitos construídos de macrófitas (LCMs). Assim, este trabalho teve como objectivo avaliar a eficiência de um microcosmos LCM's, utilizando como matriz de suporte a LECA e plantado com *Typha* spp. ou *Phragmites australis*, para a remoção de carbamazepina (CB) de efluentes domésticos em diferentes períodos anuais (Verão e Inverno). Foram também realizados neste trabalho ensaios de remoção de CB em soluções aquosas utilizando como potencial matriz de suporte a cortiça.

As principais conclusões deste estudo permitiram verificar que a matriz de suporte, LECA 2/4, foi responsável pela remoção da maior parte da carbamazepina presente no efluente, mas a presença das plantas contribuíram para uma remoção adicional do fármaco. Sendo assim, as condições de eficiência máxima de remoção verificaram-se nos ensaios com plantas e durante o período de verão.

Os estudos com a cortiça demonstraram que este material possui elevada eficiência de remoção da CB, muito superior aos valores exibidos pela LECA, o que o qualifica como um material alternativo com elevado potencial de depuração de soluções aquosas contaminadas com o fármaco.

# Removal of carbamazepine from water and wastewater. Evaluation of the depuration capacity of constructed wetlands and new adsorbents.

## Abstract

The presence of a wide range of drugs in the effluents of wastewater treatment plants (WWTPs) has been confirmed in the bibliography. One option for the removal of pharmaceuticals from effluents of WWTPs is the implementation of constructed wetlands systems (CWS). In this context, a study was conducted to assess the ability of microcosm constructed wetland systems planted with different macrophytes (*Typha* spp. or *Phragmites australis*) and using light expanded clay aggregates (LECA) in different annual periods (Summer and Winter).

Further experiments were also carried out to evaluate the CB removal efficiency from aqueous solutions using cork residues.

The main conclusions that derive from this work are that LECA was responsible for the removal of most CB present in the effluent, but the presence of both *macrophytes* contributed also to an additional removal of the pharmaceutical, especially in summer conditions.

The studies with cork showed that this material has a high efficiency of CB removal, much larger than the values obtained with LECA, which qualifies it as an alternative material with great potential for treatment of aqueous solutions contaminated with this pharmaceutical.

## Índice geral

Agradecimentos.....	i
Resumo .....	ii
Abstract .....	iii
Índice de figuras .....	v
Índice de tabelas.....	vii
Abreviaturas.....	viii
1. Objectivos .....	1
2. Introdução.....	2
2.1 Os fármacos no ambiente.....	3
2.2 Ocorrência e impacto dos fármacos no ambiente.....	5
2.3 Caracterização e problemas ambientais associados à CB.....	10
2.4 Leitos construídos de macrófitas (LCMs) como uma possível tecnologia de tratamento de água contaminada.....	12
4.2.1 Tipos de LCMs.....	18
2.4.2 Componentes dos LCMs .....	20
2.5 Métodos analíticos para a determinação de fármacos em amostras ambientais .....	31
2.5.1 Preparação de amostras.....	31
2.5.2 Cromatografia líquida de elevada eficiência - <i>High Performance Liquid Chromatography</i> - HPLC .....	35
3. Metodologia experimental.....	38
3.1 Quantificação da carbamazepina em solução aquosa (água e efluente doméstico) .....	38
3.1.1 Optimização das condições de SPE.....	38
3.1.2. Doseamento da CB por HPLC/UV-Vis em solução aquosa.....	38

3.2 Avaliação da capacidade de remoção da CB em LCMs plantados com <i>Typha</i> spp. e <i>Phragmites australis</i> .....	40
3.2.1 Recolha e aclimação das plantas .....	40
3.2.2 Montagem dos ensaios.....	40
3.2.3 Operação dos LCMs e recolha de amostras.....	41
3.3 Ensaio de avaliação da capacidade de remoção da CB pela cortiça em solução aquosa.....	42
3.3.1 Caracterização físico-química do meio filtrante .....	42
3.3.2 Montagem dos ensaios.....	43
3.4 Análise estatística dos resultados.....	44
4. Resultados e Discussão .....	45
4.1 Optimização das metodologias analíticas.....	45
4.1.1. Quantificação da CB em solução.....	45
4.2 Avaliação da capacidade de remoção de CB em LCMs plantados com <i>Typha</i> spp. ou <i>Phragmites australis</i> .....	49
4.2.1 Caracterização físico-química do meio filtrante e do efluente.....	49
4.2.2 Cinética de remoção da CB em solução aquosa.....	51
4.3 Ensaio de avaliação da capacidade de remoção de CB pela cortiça.....	55
4.3.1 Caracterização físico-química.....	55
4.3.2 Ensaio em solução aquosa contendo CB .....	57
5. Conclusões .....	64
Bibliografia.....	66
Anexos.....	88

### **Índice de figuras**

Figura 1- Diversos percursos ambientais dos fármacos. ....	4
Figura 2- Zona húmida natural.....	13
Figura 3- Principais processos de remoção/degradação que ocorrem nos LCMs....	15

Figura 4- Imagens de sistemas de LCMs. ....	16
Figura 5- Sistemas com fluxo superficial. ....	19
Figura 6- Sistema fluxo sub-superficial. ....	19
Figura 7- Fluxo sub-superficial horizontal (FSSH). ....	20
Figura 8- Fluxo sub-superficial vertical (FSSV). ....	20
Figura 9- Argila expandida (LECA). ....	21
Figura 10- Imagem com diferentes tipos de granulado de cortiça. ....	23
Figura 11- Diferentes acções das plantas na remoção de poluentes em efluentes..	24
Figura 12- Várias espécies de macrófitas utilizadas em LCMs.....	26
Figura 13- Imagens das plantas <i>Typha</i> spp. (a) e <i>Phragmites australis</i> (b).....	27
Figura 14- Etapas básicas do procedimento de SPE: (A) condicionamento; (B) adição da amostra; (C) lavagem do cartucho e (D) eluição dos analitos. ....	34
Figura 15- a) Esquema representativo de um sistema de HPLC; b) Fotografia do equipamento de HPLC utilizado. ....	37
Figura 16- Selecção das plantas de <i>Typha</i> spp. para a montagem do ensaio. ....	40
Figura 17- Fotografia dos leitos de <i>Phragmites australis</i> e <i>Typha</i> spp. ....	41
Figura 18- Cromatograma de um padrão de CB (tr = 4.09 minutos).....	45
Figura 19- Rectas de calibração utilizadas na quantificação da CB em solução aquosa: a) RC1: recta de calibração para o intervalo de concentrações de 0.25 a 5.0 mg L <sup>-1</sup> ; b) RC2: recta de calibração para o intervalo de concentrações de 1.0 a 60 mg L <sup>-1</sup> .....	46
Figura 20- Eficiência de recuperação da CB para os diferentes cartuchos de SPE, a diferentes valores de pH.....	47
Figura 21- Eficiência de recuperação da CB para o cartucho Lichrolut® RP-18, sem passo de lavagem e com um passo de lavagem com água a pH 2.0 e 7.0.....	48
Figura 22- Imagem da LECA obtida através de microscópio electrónico de varrimento.....	50
Figura 23- Cinética de remoção da CB em leitos com LECA, sem plantas, no período de inverno e verão. ....	51
Figura 24- Cinética de remoção da CB em leitos com LECA, plantados com <i>Phragmites australis</i> , no período de inverno e verão.....	52
Figura 25- Cinética de remoção da CB em leitos com LECA, plantados com <i>Thypa</i> spp., no período de inverno e verão.. ....	53

Figura 26- Distribuição, em percentagem da massa total das amostras (n=3), pelas diferentes classes granulométricas avaliadas por crivagem.....	56
Figura 27- Percentagens médias da massa das amostras (n=3) que passou por cada crivo. ....	57
Figura 28- Remoção de CB pela cortiça para as diferentes concentrações do composto em água, após 144h de tempo de retenção.....	58
Figura 29- Relação entre a quantidade de CB removido e a concentração inicial deste composto em solução aquosa.....	59
Figura 30- Cinética de remoção da CB em solução aquosa.....	59
Figura 31- Remoção de CB a partir de soluções aquosas contendo apenas CB ou soluções contendo CB, ibuprofeno e ácido clofíbrico, após 144 h de tempo de retenção.....	60
Figura 32- Remoção de CB a partir de soluções aquosas contendo apenas CB ou soluções contendo efluente doméstico dopado com CB, após 144 h.....	61
Figura 33- Cinética de remoção da CB pela cortiça e pela LECA 2/4 para uma concentração inicial em solução aquosa de 35 mg L <sup>-1</sup> . ....	62
Figura 34- Relação entre a quantidade de CB removida pela LECA e pela cortiça para as diferentes concentrações de CB em água. ....	63

### Índice de tabelas

Tabela 1- Tipo e concentração de fármacos e seus metabolitos encontrados em amostras ambientais ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ). ....	6
Tabela 2- Percentagem de remoção de fármacos e seus metabolitos encontrados em ETARs. ....	9
Tabela 3- Propriedades físicas – químicas e farmacológicas da CB. ....	10
Tabela 4- Principais metabolitos da carbamazepina ....	12
Tabela 5- Dimensões e propriedades da LECA.....	23
Tabela 6- Características da cortiça. ....	24
Tabela 7- Principais características de algumas espécies de macrófitas emergentes .....	27
Tabela 8- Características fisiológicas da <i>Typha</i> spp.....	28
Tabela 9- Características fisiológicas da <i>Phragmites australis</i> . ....	29

Tabela 10- Influência do volume de amostra na recuperação de CB usando o cartucho LiChrolut® RP-18.....	49
Tabela 11- Parâmetros de caracterização do efluente utilizado nos ensaios.....	51
Tabela 12- Percentagem de remoção de CB nos diferentes leitos no período de inverno e verão após um tempo de retenção de 168 h.....	54
Tabela 13- Algumas características físico-químicas avaliadas para a cortiça.....	57

## Abreviaturas

- » ANOVA - Análise de variância
- » C18 - Octadecil
- » CB - Carbamazepina
- » CB – DiOH-10,11- dihidro-10,11- dihidroxicarbamazepina
- » CB-10OH - 10,11-dihidro-10- hidroxicarbamazepina
- » CB-2OH - 2-hidroxicarbamazepina
- » CB-3OH - 3-hidroxicarbamazepina
- » CB-EP - 10,11-dihidro-10,11-epoxicarbamazepina
- » CQOt - Carência química de oxigênio total
- » CQOd - Carência química de oxigênio total
- » CWS - Constructed Wetlands Systems: Leitos Construídos de Macrófitas
- » DP- Desvio Padrão
- » ETAR - Estação de Tratamento de Águas Residuais
- » FSS - Sistemas de fluxo sub-superficial
- » FSSH - Sistemas de fluxo sub-superficial horizontal
- » FSSV - Sistemas de fluxo sub-superficial vertical
- » HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
- » Kow – Coeficiente de partição octanol água
- » LECA – *Light Expanded Clay Aggregates*
- » LCMs – Leitos Construídos de Macrófitas
- » LDI - Limite de Detecção Instrumental
- » LQI - Limite de Quantificação Instrumental
- » LQO – Limite de Quantificação de todo o método
- » pKa – Constante de ionização

- » RSD - *Relative Standard Deviation*: Desvio Padrão relativo
- » SPE - *Solid-Phase Extraction*: Extração em fase sólida
- » SST - Sólidos Suspensos Totais
- » tr – Tempo de retenção
- » UV – Ultravioleta
- » Vis – Visível
- » WWTPs – Wastewater Treatment Plants: Estação de Tratamento de Águas Residuais

## 1. Objectivos

A realização deste trabalho teve como objectivo principal avaliar a capacidade de microcosmos de Leitos Construídos de Macrófitas (LCMs) plantados com *Typha* spp. ou *Phragmites australis* e contendo como matriz de suporte LECA, para remover CB de efluentes domésticos. Porque os LCMs são sistemas biológicos, foi também neste trabalho estudada a eficiência de remoção da CB em diferentes períodos anuais (Verão e Inverno), a fim de observar a influência das condições sazonais na eficiência de remoção deste fármaco.

Um passo preliminar importante foi ainda a optimização das metodologias analíticas para a quantificação da CB em solução aquosa (água e efluente).

Apesar da utilização da LECA como matriz de suporte nos LCMs ter mostrado em estudos anteriores bons resultados no que respeita à remoção de vários fármacos de águas e efluentes, continuam a ser pesquisados materiais que possam ainda melhorar os resultados já obtidos com a LECA. Com esse objectivo foram também realizados neste trabalho ensaios de remoção de CB em soluções aquosas utilizando como potencial bioadsorvente a cortiça.

## 2. Introdução

As novas tecnologias e o desenvolvimento industrial têm vindo a proporcionar um aumento de qualidade de vida das populações, no entanto vêm acompanhados de um agravamento de vários problemas ambientais. O desenvolvimento de inúmeras substâncias biologicamente activas e a ampliação da sua aplicação a nível da indústria, agricultura e medicina tornou-se um importante assunto ambiental actual, não só pela sua utilização indiscriminada durante décadas mas também pela sua elevada persistência. Neste momento a comunidade científica debate-se com a falta de informação toxicológica sobre as reais consequências da libertação destas substâncias no meio ambiente e falta de métodos analíticos para as identificar e quantificar.

Um dos fármacos frequentemente encontrados nos meios hídricos, devido à sua baixa biodegradabilidade, é a carbamazepina (CB), uma droga anti-epilética, usada no tratamento de algumas doenças neurológicas (Leikin e Paloucek, 2007). Esta é muitas vezes detectada em efluentes de estações de tratamento de águas residuais (ETARs) e águas superficiais (Rabiet *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2007; Focazio *et al.*, 2008; Miège *et al.*, 2009). Várias investigações em amostras de influentes e efluentes de diferentes ETARs mostram que a sua remoção por tratamento convencional não é significativa (Heberer, 2002b; Clara *et al.*, 2005; Vieno *et al.*, 2007; Miège *et al.*, 2009). As consequências ambientais resultantes da descarga de fármacos nos meios aquáticos conduzem à necessidade urgente de encontrar formas de reter e remover estes poluentes, antes destes alcançarem os cursos de água. Perante isto, os leitos construídos de macrófitas (LCMs) surgem como um sistema alternativo, barato e fácil de executar em larga escala, no tratamento de águas residuais urbanas (Fent *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2007).

Neste trabalho apresenta-se uma proposta de utilização de fito-ETARs para remover CB em solução aquosa, utilizando como matriz de suporte LECA e duas espécies de plantas a *Phragmites australis* e a *Typha* spp. Adicionalmente são avaliadas as potencialidades de utilização de um bioadsorvente como a cortiça, para utilização futura em LCMs.

## 2.1 Os fármacos no ambiente

O contínuo crescimento exponencial da população humana implica um aumento correspondente no consumo de água e obriga a um necessário crescimento das produções agrícola, industrial e farmacêutica, com consequências inevitáveis sob o ponto de vista ambiental. A quantidade limitada de água potável disponível para uso no futuro, como recurso para a produção de alimentos e para consumo, é um dos maiores desafios enfrentados no Mundo.

A ocorrência de fármacos no ambiente foi referida pela primeira vez em 1976 por Garrison *et al.* nos Estados Unidos, quando foi detectado ácido clofíbrico em águas residuais tratadas em concentrações de 0.8 a 2.0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Na Europa, os primeiros estudos significativos sobre a ocorrência de fármacos em águas superficiais foram registados em meados dos anos 80 (Waggott, 1981; Watts *et al.*, 1983; Richardson e Bowron, 1985). Após estes estudos, a ocorrência de fármacos em amostras ambientais tem sido investigada em vários países: Brasil (Stumpf *et al.*, 1999), Canadá (Lishman *et al.*, 2006; Hao *et al.*, 2006; Comeau *et al.*, 2008), Reino Unido (Ashton *et al.*, 2004; Zhang e Zhou, 2007; Kasprzyk-Hordern *et al.*, 2008), França (Andreozzi *et al.*, 2003; Rabiet *et al.*, 2006; Leclercq *et al.*, 2009), Alemanha (Ternes, 1998; Heberer, 2002a; Weigel *et al.*, 2004; Hernando *et al.*, 2006a; Osenbrück *et al.*, 2007), Grécia (Koutsouba *et al.*, 2003; Andreozzi *et al.*, 2003), Itália (Andreozzi *et al.*, 2003; Zuccato *et al.*, 2005), Espanha (Hernando *et al.*, 2006a; Carballa *et al.*, 2008; Kuster *et al.*, 2008), Suécia (Andreozzi *et al.*, 2003; Bendz *et al.*, 2005; Zorita *et al.*, 2009), Estados Unidos (Stackelberg *et al.*, 2004; Benotti e Brownawell, 2007; Palmer *et al.*, 2008; Benotti *et al.*, 2009), entre outros.

Para além da descarga de águas residuais (domésticas e hospitalares), outros percursos de entrada dos fármacos a nível ambiental derivam da sua aplicação em piscicultura; da sua libertação accidental durante os processos de fabrico; da forma incorrecta de eliminação dos produtos fora do período de validade; da aplicação ao solo de materiais orgânicos contaminados (ex. estrumes) e ainda da excreção pelo homem e animais (figura 1).

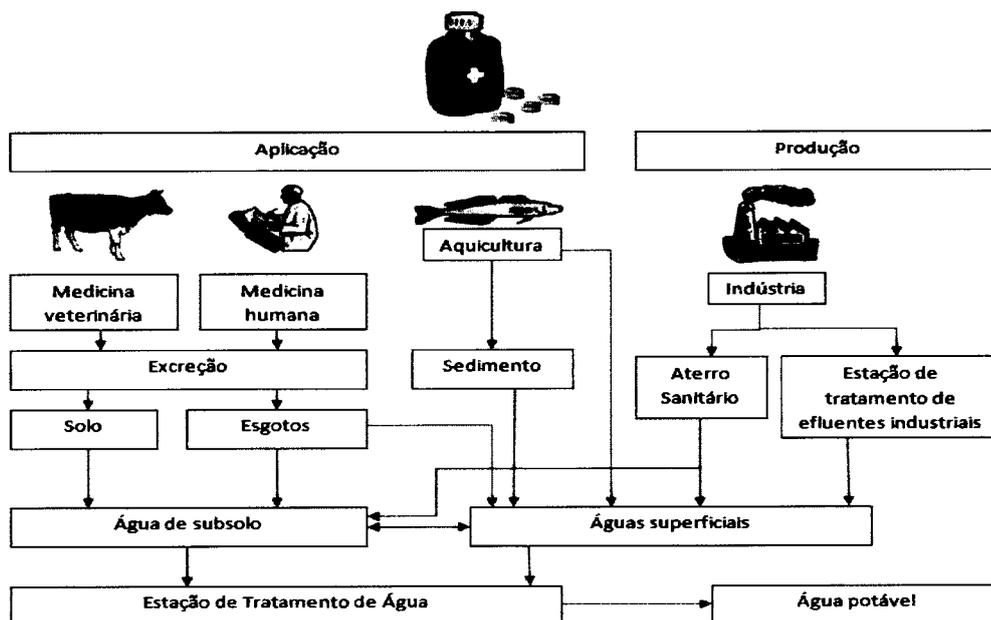


Figura 1- Diversos percursos ambientais dos fármacos (adaptado de Bila e Dezotti, 2003; Boxall *et al.*, 2004).

Actualmente na união Europeia cerca de 3000 substâncias diferentes são usadas para diversas terapêuticas, como analgésicos (ex. ácido acetilsalicílico, diclofenac, naproxeno), antibióticos (ex. tetraciclina, sulfametazina), anti-depressivos (ex. carbamazepina, fluoxetina), anti-inflamatórios (ex. ibuprofeno), contraceptivos (17 $\alpha$ -etinilestradiol), reguladores lípidicos (ex. bezafibrato, clofibrato, gemfibrozil),  $\beta$ -bloqueadores (ex. betaxolol, bisoprolol, metoprolol), broncodilatadores (ex. clenbuterol, fenoterol, salbutamol), entre outros (Fent *et al.*, 2006; Palmer *et al.*, 2008).

Após a sua ingestão os fármacos são excretados naturalmente pelo organismo (qualquer organismo, humano ou animal, excreta 50 a 90% de cada fármaco na forma da sua substância activa, isto é, inalterado), sendo depois encaminhados para as ETARs, as quais em muitos casos têm uma capacidade muito limitada para os remover completamente durante os respectivos processos de depuração (Daughton e Ternes, 1999; Ternes *et al.*, 2002; Petrović *et al.*, 2003; Carballa *et al.*, 2004; Larsen *et al.*, 2004; Stackelberg *et al.*, 2004). Assim, vários fármacos de diferentes classes foram encontrados em concentrações na faixa dos ng –  $\mu\text{g L}^{-1}$  em amostras de águas subterrâneas, águas superficiais e água potável, situadas a jusante de ETARs e também em outras matrizes ambientais como solos e sedimentos (Heberer, 2002b; Andreozzi *et al.*, 2003a; Boxall, *et al.*, 2004; Stackelberg *et al.*, 2004; Fent *et al.*, 2006; Hernando *et al.*, 2006a; Benotti e Brownawell, 2007; Palmer *et al.*, 2008; Benotti *et al.*, 2009). Apesar das

concentrações individuais dos compostos serem baixas não são conhecidos os efeitos que uma exposição continuada e repetida de uma mistura de substâncias activas e outros compostos químicos podem ter na saúde humana e nos ecossistemas (Jones *et al*, 2005; Carlsson *et al*, 2006). O perigo ambiental dos fármacos como poluentes reside no facto de serem persistentes e apresentarem carácter lipofílico, o que lhes confere capacidade de bioacumulação nos organismos vivos podendo causar danos nos ecossistemas aquáticos (Carlsson *et al*, 2006).

## 2.2 Ocorrência e impacto dos fármacos no ambiente

Não se conhece completamente o destino e efeito da maioria das substâncias farmacológicas quando introduzidas no ambiente (Fent *et al.*, 2006; Santos *et al*, 2007; Aga, 2008). A acumulação destes compostos no ambiente pode trazer graves consequências, embora actualmente, para a maioria dos compostos e respectivos metabolitos não se possuam dados suficientes de ecotoxicidade e biodegradabilidade, o que dificulta a previsão dos seus efeitos em humanos, organismos aquáticos e ecossistemas. Talvez a maior preocupação relativa à exposição de organismos aquáticos e terrestres aos fármacos seja que os seus efeitos poderão ser tão subtis que não se possam detectar. Como consequência, poderá registar-se uma acumulação dessas alterações imperceptíveis até que ocorra um impacto significativo, não necessariamente ao nível dos organismos individuais mas sim em toda uma população, talvez após várias gerações (Joss *et al.*, 2005; Fent *et al.*, 2006).

A reactividade redox específica dos fármacos está na base dos seus respectivos efeitos biológicos, metabolismo, eliminação e toxicidade. A exposição a estes produtos pode alterar o estado oxidativo das células e assim aumentar o stress oxidativo. O biota aquático exposto a estes compostos farmacêuticos pode sofrer danos extensos, uma vez que não são tão eficientes como os mamíferos em eliminar drogas lipofílicas e radicais de oxigénio. Num estudo recente, observou-se que a CB, efectivamente, pode induzir um metabolismo oxidativo no cnidário *Hydra attenuata* (Quinn *et al.*, 2004).

O que mais contribuiu para o défice de informação actual sobre o efeito da entrada de fármacos e respectivos metabolitos no ambiente, especialmente em águas, foi a inexistência de métodos analíticos adequados à sua determinação,

aliada à sua diversidade de propriedades químicas e à complexidade das matrizes onde se encontram (Daughton e Ternes, 1999; Gros *et al.*, 2006a; Gentili *et al.*, 2008; Bueno *et al.*, 2009; Dordio *et al.*, 2009).

A análise de fármacos e respectivos metabolitos em amostras ambientais (ex. efluentes de ETARs, águas superficiais e subterrâneas), requer ainda o desenvolvimento de métodos mais sensíveis para a detecção de concentrações na faixa das ng – µg L<sup>-1</sup>. Tal como já foi descrito, a grande maioria dos fármacos pode ser excretada através da urina ou fezes na sua forma original ou como metabolitos biologicamente activos (Reemtsma e Quintana, 2006). Uma vez nas ETARs, estes compostos permanecem estáveis, mesmo após tratamentos convencionais e/ou tratamentos avançados. Por esta razão a descarga destas águas residuais tem sido identificada como o principal percurso de exposição ambiental dos ecossistemas a estes compostos (Gedhardt e Schröder, 2007). Os resíduos farmacêuticos mais comumente encontrados estão sumarizados na tabela 1, juntamente com a gama de concentrações reportada na literatura e o tipo de água onde são encontrados.

Tabela 1- Tipo e concentração de fármacos e seus metabolitos encontrados em amostras ambientais (µg L<sup>-1</sup>).

Composto	Água superficial	Água subterrânea	Água potável	Efluentes de ETARs	Referências
<b>Analgésicos e anti-inflamatórios</b>					
Ibuprofeno	< 2	< 2	< 2	30	(Lin <i>et al.</i> , 2005)
	152	-	<12	6900	(Hernando <i>et al.</i> , 2006b)
	5850	-	510-1350	-	(Loraine and Pettigrove, 2006)
	0.3-4.5	0.2-0.6	-	20-220	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	(28) 38	-	-	(65) 137	(Kim <i>et al.</i> , 2007)
	-	-	-	(0.8) 24.6	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
	3400	-	-	(236) 424	(Boxall, <i>et al</i> 2004)
Cetoprofeno	(22) 48	-	-	(236) 424	(Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> , 2009)
	30	< 2	< 2	< 2	(Lin <i>et al.</i> , 2005)
	< 26	-	< 26	< 75	(Hernando <i>et al.</i> , 2006a)
	2.8-15	2.8-15	-	20-1080	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
-	-	-	(0.21) 1.62	(Miège <i>et al.</i> , 2009)	
Naproxeno	30	< 1	< 1	170	(Lin <i>et al.</i> , 2005)
	70	-	-	630	(Hernando <i>et al.</i> , 2006a)
	(11) 18	-	-	(128) 483	(Kim <i>et al.</i> , 2007)

Continuação Tabela 1

Composto	Água superficial	Água subterrânea	Água potável	Efluentes de ETARs	Referências
Diclofenac	-	< 2	< 2	< 2	(Lin <i>et al.</i> , 2005)
	72	< 7	-	1420	(Hernando <i>et al.</i> , 2006a)
	1.4-33	-	1.4-2.5	210-490	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	(3.0) 6.8	-	-	(40) 127	(Kim <i>et al.</i> , 2007)
	-	-	-	(0.42) 1.95	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
<b>Reguladores lipídicos do sangue</b>					
Ácido clofibrico	(66) 550	-	-	(360) 1600	(Ternes, 1998)
	-	< 18	-	-	(Sacher <i>et al.</i> , 2001)
	35	-	< 17	107	(Hernando <i>et al.</i> , 2006a)
	(14.7) 118.5	-	-	-	(Moder <i>et al.</i> , 2007)
	-	-	-	(0.15) 0.23	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
Gemfibrozil	(6.6) 9.1	-	-	(11.2) 17	(Kim <i>et al.</i> , 2007)
Bezafibrato	3100	-	-	(2200) 4600	(Ternes, 1998)
	3100	-	-	-	(Boxall, 2004)
	< 2	-	-	-	(Hao <i>et al.</i> , 2006)
<b>Beta-bloquedores</b>					
Atenolol	-	< 8.2	-	-	(Sacher <i>et al.</i> , 2001)
	10-60	-	-	160	(Bendz <i>et al.</i> , 2005)
	-	-	-	(0.15) 0.38	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
	(63) 258	-	-	(2870) 7602	(Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> , 2009)
Metoprolol	-	-	-	10-390	(Andreozzi <i>et al.</i> , 2003)
	2.2	-	-	-	(Boxall, 2004)
	30-70	-	-	190	(Bendz <i>et al.</i> , 2005)
Sotalol	-	560	-	-	(Sacher <i>et al.</i> , 2001)
<b>Compostos neuroactivos</b>					
Fluoxetina	1.7	-	-	NA	(Kim <i>et al.</i> , 2007)
Carbamazepina	(250) 1100	-	-	(2100) 6300	(Ternes, 1998)
	60-1500	-	258	-	(Stackelberg <i>et al.</i> , 2004)
	< 8	< 6	< 6	420 <sup>c</sup>	(Lin <i>et al.</i> , 2005)
	1100	-	-	-	(Boxall, 2004)
	24.56	14-43	-	160-290	(Rabiet <i>et al.</i> , 2006)
	(25) 61	-	-	(226) 729	(Kim <i>et al.</i> , 2007)
	-	-	-	(0.52) 2.30	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
(11) 27	-	-	(2499) 4596	(Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> , 2009)	

Continuação Tabela 1

Composto	Água superficial	Água subterrânea	Água potável	Efluentes de ETARs	Referências
Cafeína	6	-	-	-	(Boxall, 2004)
<b>Antibióticos</b>					
Sulfametoxazol	(20) 36	< 50	-	-	(Stackelberg <i>et al.</i> , 2004)
	10	-	-	70	(Benz <i>et al.</i> , 2005)
	70	-	-	-	(Weigel <i>et al.</i> , 2004)
	-	-	-	(0.07) 0.32	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
Ofloxacina	-	-	-	120-580	(Andreozzi <i>et al.</i> , 2003)
Tetracilina	280	-	-	-	(Boxall, 2004)
Ciprofloxacina	-	-	-	250	(Zuccato <i>et al.</i> , 2005)

Devido à contínua entrada dos fármacos no ambiente aquático, nomeadamente através das descargas pontuais de águas residuais, estes são considerados compostos “pseudopersistentes”. Para avaliar a persistência de um composto, tanto a transformação e/ou degradação do composto, bem como a sua taxa de entrada no ambiente devem ser consideradas (Stackelberg *et al.*, 2003; Gómez *et al.*, 2007). A sua persistência no ambiente aliada a outros factores como a produção em grandes quantidades, baixa solubilidade em água, resistência à actividade metabólica e a apresentação de actividade biológica durante largos períodos temporais, são factores problemáticos em termos ambientais (Boxall *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2008). Muitos dos compostos que foram encontrados em águas superficiais e águas residuais tratadas são, na sua maioria, da classe dos anti-inflamatórios, antibióticos, reguladores lipídicos, beta-bloqueadores ou drogas neuroactivas (Nikolaou *et al.*, 2007; Aga, 2008; Miège *et al.*, 2009). Entre os compostos neuroactivos, a CB, a fluoxetina e o diazepam são as substâncias mais estudadas e frequentemente detectadas, sendo que a CB tem uma presença especialmente comum em ambientes aquáticos devido a um longo historial de uso clínico e um comportamento bastante recalcitrante (Heberer, 2002a; Putschew e Jekel, 2007).

Entre os fármacos mais consumidos, os mais difíceis de biodegradação normalmente tendem a ter uma maior presença quer em águas residuais tratadas quer em amostras ambientais. Contudo, a presença de alguns compostos mais biodegradáveis pode ainda ocorrer em efluentes de ETARs, mesmo que os processos de tratamento convencionais possam atingir elevada eficiência na

remoção de alguns destes compostos (tabela 2). Todavia, as elevadas quantidades de alguns dos fármacos mais consumidos presentes no influente irá resultar, mesmo após um tratamento eficiente, na descarga de alguns destes compostos nos meios hídricos receptores.

**Tabela 2-** Percentagem de remoção de fármacos e seus metabolitos encontrados em ETARs.

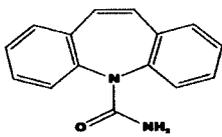
<b>Composto</b>	<b>Percentagem de remoção em ETARs</b>	<b>Referências</b>
Ácido clofibríco	15-34	(Stumpf <i>et al.</i> , 1999)
	< 0	(Heberer, 2002b)
	0	(Tauxe-Wuersch <i>et al.</i> , 2005)
	20-40	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
Ibuprofeno	60-70	(Carballa <i>et al.</i> , 2004)
	80-100	(Clara <i>et al.</i> , 2005)
	> 90	(Nakada <i>et al.</i> , 2006)
	98	(Roberts and Thomas, 2006)
	95	(Gómez <i>et al.</i> , 2007)
	88-93	(Santos <i>et al.</i> , 2007)
	80	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
Carbamazepina	8	(Heberer, 2002b)
	< 20	(Clara <i>et al.</i> , 2005)
	< 45	(Nakada <i>et al.</i> , 2006)
	20	(Gómez <i>et al.</i> , 2007)
	0-25	(Santos <i>et al.</i> , 2007)
	-121	(Vieno <i>et al.</i> , 2007)
	< 20	(Miège <i>et al.</i> , 2009)
Atenolol	< 10 (0-10)	(Andreozzi <i>et al.</i> , 2003)
	< 0	(Bendz <i>et al.</i> , 2005)
	40	(Lee <i>et al.</i> , 2007)
	76	(Maurer <i>et al.</i> , 2007)
	58	(Vieno <i>et al.</i> , 2007)
	< 20	(Miège <i>et al.</i> , 2009)

Os dados publicados existentes mostram que a maioria dos fármacos detectados mundialmente é também largamente prescrita em Portugal de acordo com o INFARMED. Notoriamente, todavia, não há estudos publicados da sua prevalência em Portugal até à data e a caracterização do cenário português relativamente a contaminação de águas com fármacos terá ainda de ser feita.

### 2.3 Caracterização e problemas ambientais associados à CB

A CB tem sido uma das drogas anti-epilépticas mais usadas desde a sua intervenção clínica em meados dos anos 60. A CB é usada no tratamento da epilepsia e como estabilizador do humor na doença bipolar (psicoses maníaco-depressivas). É também usada no tratamento de outras desordens neurológicas como esquizofrenia resistente, comportamento psicótico associado a demência e desordens de stress pós-traumático (Leikin e Paloucek, 2007). Em seguida apresenta-se na tabela 3 as principais propriedades físico-químicas e farmacológicas da CB.

Tabela 3- Propriedades físicas – químicas e farmacológicas da CB.

Propriedades		Referências
Nome IUPAC	Benz(b,f)azapina-5-carboxamida	Farmacopeia Portuguesa VII
Estrutura		Farmacopeia Portuguesa VII
Número de registo (CAS)	298-46-4	
Fórmula molecular	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	Farmacopeia Portuguesa VII
Classe terapêutica	Analgésico e anti-epilético	Farmacopeia Portuguesa VII
Peso molecular	236.27 mol g <sup>-1</sup>	
Solubilidade em água a 25°C	17.7 mg L <sup>-1</sup>	Scheytt <i>et al.</i> , 2005
Constante de ionização, pKa	13.9	Jones <i>et al.</i> , 2002
	14	Scheytt <i>et al.</i> , 2005
log K <sub>ow</sub>	2.45	SRC, 2009
Constante de Henry 25°C	1.08×10 <sup>-10</sup> atm m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup>	SRC, 2009
Pressão vapor a 25°C	2.45×10 <sup>-10</sup> bar	SRC, 2009
λ <sub>max</sub> (absorção em água)	210 nm	

A dose usual para um adulto são 400-1200 mg dia<sup>-1</sup> em 2 a 4 doses. Para crianças com idades compreendidas entre 12-15 anos a dose máxima é de 1000 mg dia<sup>-1</sup>, e para indivíduos com mais de 15 anos é de 1200mg dia<sup>-1</sup>, contudo, alguns pacientes necessitam de 1600 a 2400 mg dia<sup>-1</sup> (Leikin e Paloucek, 2007).

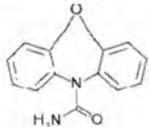
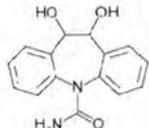
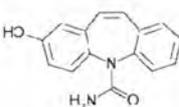
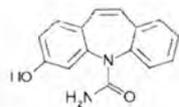
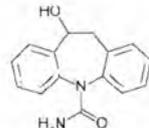
Relativamente à metabolização da CB esta é metabolizada no fígado dando origem a um epóxido estável e outros metabolitos. Os estudos publicados identificam 33 metabolitos da CB em urina humana e de ratos (Miao e Metcalfe, 2003; Aga, 2008; Leclercq *et al.*, 2009), os principais são apresentados na tabela 4. Cinco metabolitos da carbamazepina foram também já detectados em amostras de influentes e efluentes de ETARs (Miao e Metcalfe, 2003; Miao *et al.*, 2005; Petrovic e Barceló, 2007; Aga, 2008; Zhang *et al.*, 2008; Leclercq *et al.*, 2009). Contudo, apenas a CB e o 10,11- dihidro-10,11-dihidroxicarbamazepina (CB-DiOH) foram detectados em águas superficiais (Miao e Metcalfe, 2003).

A principal via metabólica é a oxidação da carbamazepina em 10,11-dihidro-10,11-epoxicarbamazepina (CB-EP) por enzimas como CYP3A4 (E.C. 1.14.13.97) e, CYP2C8 (E.C. 1.14.14.1.). De seguida, ocorre a hidratação deste metabolito em CB-DiOH e em 10,11-dihidro-10- hidroxicarbamazepina (CB-10OH) e por fim a conjugação destes com glucuronido (Miao e Metcalfe, 2003; Miao *et al.*, 2005; Leclercq *et al.*, 2009). A outra via inclui a oxidação da CB em 2-hidroxicarbamazepina (CB-2OH) e 3-hidroxicarbamazepina (CB-3OH) e consequente conjugação com glucuronido (Miao *et al.*, 2005; Leclercq *et al.*, 2009).

Tal como já foi dito a CB é altamente resistente quer à biodegradação no meio aquático quer durante os processos biológicos convencionais de tratamento das águas residuais (Stamatelatou *et al.*, 2003; Petrovic e Barceló, 2007; Aga, 2008; Kümmerer, 2008; Zhang *et al.*, 2008; Leclercq *et al.*, 2009) e foi proposta como marcador antropogénico de contaminação urbana devido é sua persistência (cerca de 100 dias) em efluentes e águas superficiais (Clara *et al.*, 2004).

O tipo de reacções adversas mais frequentes em humanos que ocorrem devido à ingestão deste fármaco são desequilíbrios gastrointestinais (náuseas, vômitos, dores estomacais, anorexia, dores abdominais, diarreia, obstipação, pancreatite) e desequilíbrios do sistema nervoso central (sonolência, tonturas, fadiga, ataxia, confusão, dor de cabeça, meningite) (Leikin e Paloucek, 2007).

**Tabela 4-** Principais metabolitos da carbamazepina (Miao e Metcalfe, 2003; Miao et al., 2005; Leclercq et al., 2009)

Estrutura	Composto	Abreviatura	Fórmula molecular	Peso molecular
	carbamazepina-10,11-epóxido	CB-EP	$C_{15}H_{12}N_2O$ 2	252.09
	trans-10,11-dihidroxi-10,11-dihidrocarbamazepina	CB-DiOH	$C_{15}H_{14}N_2O$ 3	270.10
	2 - hidroxycarbamazepina	CB-2OH	$C_{15}H_{12}N_2O$ 2	252.09
	3 - hidroxycarbamazepina	CB-3OH	$C_{15}H_{12}N_2O$ 2	252.09
	10,11-dihydro-10-hydroxycarbamazepine	CB-10OH	$C_{15}H_{14}N_2O$ 2	254.10

Os medicamentos à venda em Portugal são o Tegrol<sup>®</sup> e alguns medicamentos genéricos como Carbamazepina Alter, Carbamazepina Generis, Carbamazepina Mylan e Carbamazepina Normon (INFARMED, 2008).

## 2.4 Leitos construídos de macrófitas (LCMs) como uma possível tecnologia de tratamento de água contaminada.

Os leitos construídos de macrófitas (LCMs), também designados por zonas húmidas construídas, são sistemas essencialmente biológicos de tratamento de águas e efluentes em que são utilizadas culturas de plantas que interactivam directamente com os contaminantes e/ou servem de suporte a microrganismos que irão degradar os poluentes presentes (Novais *et al.*, 1996, Cabral, 2004).

O uso de zonas húmidas para tratar efluentes não é uma ideia nova. Há milhares de anos atrás, as zonas húmidas naturais (figura 2) eram usadas pelos

chineses e egípcios para limpar efluentes líquidos, no entanto a primeira zona húmida construída foi usada em 1904 na Austrália. Mesmo depois disso o uso destes sistemas teve uma aderência lenta e limitada. O primeiro registo do uso de plantas no tratamento de efluentes foi em 1952 por Seidel, na Alemanha, que explorou a remoção de fenol por *Scirpus lacustris*, utilizando brita como meio de suporte (Mazzola *et al.*, 2005).

O conceito do uso de zonas húmidas para melhorar a qualidade da água foi criado na Europa nos anos 50 quando cientistas observaram o melhoramento da qualidade da água dos esgotos municipais que era lançada em zonas húmidas naturais (Kadlec e Knight, 1996). No início dos anos 80 a ideia de construir zonas húmidas com o objectivo de remover poluentes e desenhadas para servir um determinado local começou a desenvolver um campo de pesquisa científico. Desde então, a maioria da pesquisa sobre zonas húmidas construídas tem tido lugar no sul dos Estados Unidos, Europa e Austrália e tem envolvido uma larga gama de águas residuais incluindo esgotos municipais, lixiviados de aterro, escoamentos de minas, efluentes de pasta de papel, águas pluviais e águas residuais agrícolas (Duarte, 2002; Mabough *et al.*, 2005; Nyquist e Greger, 2008).

A utilização destes sistemas para depuração de efluentes domésticos de pequenas povoações rurais, condomínios privados, unidades hoteleiras isoladas e similares é já uma prática corrente em vários países da Europa, como, por exemplo, Reino Unido, Áustria, Holanda e República Checa (Kadlec e Knight, 1996; Dias, 1998; Vymazal *et al.*, 1998; Sundaravadivel e Vigneswaran, 2001; Tanaka *et al.*, 2006; Maine *et al.*, 2009).

Em Portugal, os primeiros sistemas de depuração baseados nos princípios dos sistemas de zonas húmidas construídas apareceram na década de setenta (Dias, 1998).



Figura 2- Zona húmida natural.

As zonas húmidas construídas ou leitos construídos de macrófitas, em contraste com as zonas naturais, são sistemas artificiais que são projectados e construídos para permitir o tratamento de efluentes domésticos, agrícolas ou industriais por optimização dos processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem nas zonas naturais (Masbough, 2005; Novais e Dias, 2005; Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b). Os mecanismos de depuração são extremamente diversificados e ocorrem quer ao nível das plantas, quer ao nível da matriz e dos microrganismos que a colonizam, ou seja, resultam da actividade combinada do complexo substrato/microrganismos/plantas (Duarte, 2002; Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b).

O design deste tipo de sistemas depende de um determinado número de factores, incluindo: o volume de água que é descarregada; o tipo de poluentes a remover; as normas de descarga; área disponível e ainda tipo de plantas e microrganismos. Os LCMs removem os poluentes da água por diversos mecanismos nomeadamente físicos, químicos e biológicos que incluem: sedimentação, precipitação, adsorção, assimilação por parte da vegetação e transformações produzidas pelos microrganismos (Stottmeister *et al.*, 2003; Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b). Estes processos são comuns a todos os sistemas de LCMs, no entanto a variabilidade nos componentes funcionais de cada um (como profundidade da água, matriz de suporte, vegetação, características do efluente, nível de fluxo, temperatura, etc.) dificulta a previsão de resposta destes sistemas no tratamento de águas residuais ou a comparação de resultados em diferentes áreas geográficas. Os dados publicados até à data revelam alta eficiência na remoção de sólidos suspensos e matéria orgânica dissolvida na maioria dos sistemas, sendo também encontrado na literatura uma vasta gama de resultados na remoção de nutrientes e metais (Brix e Arias, 2005; Langergraber *et al.*, 2007; Behrends *et al.*, 2007; Nyquist e Greger, 2008; Maine *et al.*, 2009).

Nestes sistemas e devido à elevada actividade biológica que comportam, a carga orgânica dos efluentes, domésticos, agrícolas ou industriais, é transformada em subprodutos inofensivos ou em nutrientes essenciais para os seres vivos que habitam estes ecossistemas, e no final obtém-se, em geral, biomassa, materiais húmicos e gases atmosféricos (ex. CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, N<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O), ocorrendo também a remoção de poluentes inorgânicos (ex. metais pesados, nitratos, fosfatos, cloretos, etc.) e agentes patogénicos devido não só à intensa actividade biológica, mas igualmente à variedade de processos físicos e químicos que aí ocorrem.

A compreensão dos principais componentes do sistema, as suas interações e processos de remoção que podem ocorrer é fundamental para otimizar a eficiência de depuração dos LCMs. Alguns dos principais processos de depuração presentes em LCMs estão apresentados na figura 3.

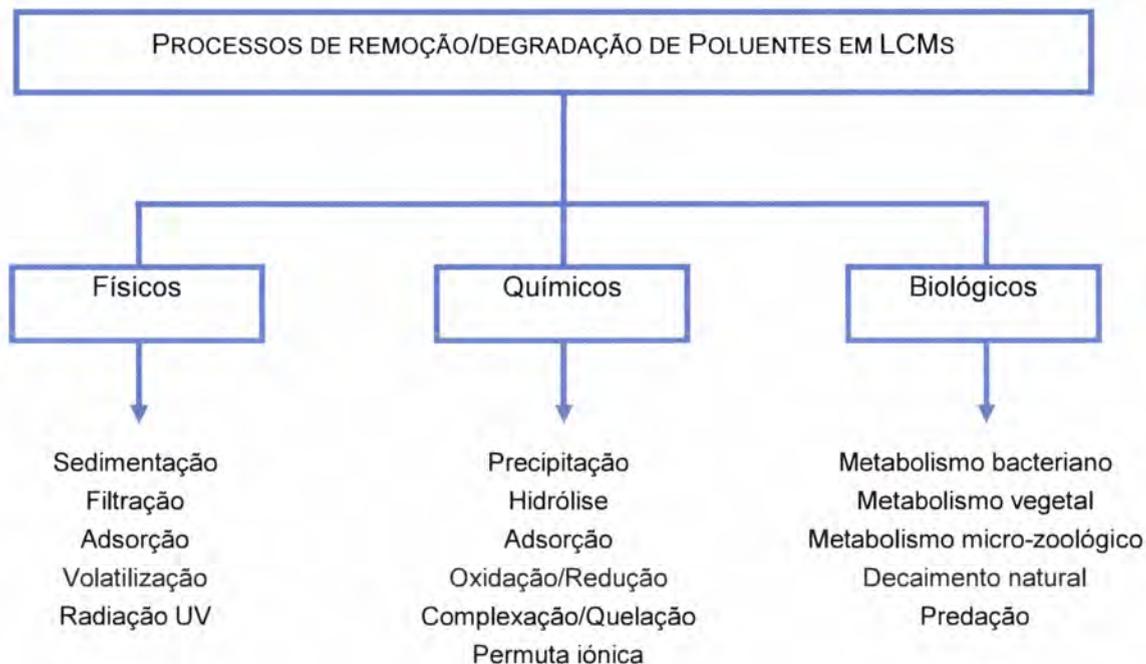


Figura 3- Principais processos de remoção/degradação que ocorrem nos LCMs (Imfeld *et al.*, 2009).

Os LCMs baseiam-se em áreas inundadas ou saturadas contidas num leito artificial preenchido com solo artificial, cujas dimensões dependem do tipo e quantidade do efluente a tratar. O fundo e os taludes do leito devem ser impermeabilizados, de modo a impedir a contaminação dos solos e águas subterrâneas e assegurar a retenção de água necessária à manutenção da vegetação. Para tal existem protecções impermeáveis de lona, manta, asfalto ou argila compactada (Costa *et al.*, 2003). A matriz é cultivada por espécies seleccionadas de plantas adaptadas à vida em zonas húmidas, trata-se de espécies hidrófitas geralmente designadas por macrófitas (Silvestre e Jesus, 2002), são apresentados alguns exemplos na figura 4.



Figura 4- Imagens de sistemas de LCMs.

O efluente é introduzido no leito, percorrendo a matriz através de um escoamento horizontal e/ou vertical, onde entra em contacto com a zona radicular das macrófitas. O processo depurativo aí efectuado caracteriza-se por uma interacção complexa de processos químicos, físicos e biológicos, e por uma acção concertada entre a matriz de suporte, os rizomas e raízes das plantas e os microrganismos adaptados à toxicidade do efluente (Esmeraldo, 1996; Freitas *et al.*, 1996; Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b).

A utilização de plantas foi desenvolvida como um tratamento secundário e/ou terciário alternativo que demonstrou ser eficiente na remoção de uma ampla gama de substâncias orgânicas, nutrientes e metais pesados (Hidalgo *et al.*, 2005). O papel das plantas é essencial no funcionamento dos leitos, pois para além dos benefícios operacionais elas constituem um suporte para o crescimento microbiano, ajudam na filtração, promovem a remoção de determinados poluentes através da sua absorção, adsorção, volatilização ou degradação, transferem o oxigénio para a rizosfera e controlam o crescimento de algas por impedirem a penetração da luz solar. Para além disto, as plantas exsudam compostos orgânicos que servem de substrato para o metabolismo microbiano (Duarte, 2002; Cabral 2004; Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b).

A matriz ou meio de suporte não se limita a ser um suporte para o crescimento das plantas, tem também um papel importante no processo depurativo

na medida em que sustenta o desenvolvimento microbiano, promove a filtração e a remoção de alguns contaminantes do efluente por troca iónica e adsorção. Durante a passagem do efluente através da matriz, ocorre um conjunto de processos físicos, químicos e biológicos que permitem remover, estabilizar e/ou degradar os poluentes. Assim, a matéria orgânica, sólidos em suspensão, compostos azotados, macronutrientes (ex. fósforo), metais pesados, pesticidas, microrganismos patogénicos e outros poluentes podem ser removidos do efluente, durante o tempo de residência deste nos leitos (Cheng *et al.*, 2002; Brix e Arias, 2005; Behrends *et al.*, 2007; Nyquist e Greger, 2008; Maine *et al.*, 2009; Torrens *et al.*, 2009)

Os LCMs são sistemas de depuração com que, tal como em outros processos de tratamento, se pretende devolver à água as condições ou características de qualidade que ela tinha antes do seu uso. Estes sistemas podem funcionar como processo de afinação ou como processo de depuração integral de efluentes domésticos ou industriais, dependendo das características do efluente a tratar e do seu grau de pré-tratamento. A sua simplicidade torna os LCMs sistemas efectivos no tratamento de resíduos de pequenas comunidades. Uma vez construídos com a topografia adequada, exigem apenas pequenas quantidades de energia, tornando-se assim adequados para zonas subdesenvolvidas e rurais. (Denny 1997, Cabral 2004).

O tratamento secundário ou terciário de efluentes domésticos com LCMs tem dado origem a águas residuais finais de boa qualidade, tornando possível o seu lançamento em meios receptores hídricos ou a sua reutilização para fins não considerados nobres como a irrigação restrita (Costa *et al.*, 2003).

Os processos que ocorrem nos LCMs são influenciados por uma série de factores, que podem ser agrupados em três grandes grupos (Giraud *et al.*, 2001):

★ Factores externos

- Características do efluente;
- Características climáticas do local de implementação dos leitos (ex. precipitação, evapotranspiração e temperatura).

★ Factores de projecto

- Pré-tratamento;
- Tipo de fluxo;
- Tipo de matriz de suporte;
- Tipo de vegetação;

- População microbiana;
  - Tempo de retenção hidráulica;
  - Carga hidráulica;
- ★ Factores de operação e outros
- Necessidade de nutrientes;
  - Idade do leito;
  - Desenho conceptual e layout.

Os LCMs apresentam não só uma elevada eficiência na remoção de uma grande variedade de poluentes presentes nos efluentes, como também uma gama de aplicações bastante alargada a um preço relativamente mais baixo, comparativamente a outros processos conhecidos, e com uma boa integração paisagística. Em relação aos sistemas convencionais apresentam ainda a vantagem da não utilização de órgãos mecânicos, ausência de consumos energéticos e de lamas residuais (Novais e Dias, 2005).

A utilização destes sistemas tem sido estudada para a remoção de compostos orgânicos difíceis de degradar, nomeadamente pesticidas (Micknney e Schoch, 2000; Braskerud e Haarstad, 2003; Sherrard *et al.*, 2004), outros compostos aromáticos, entre os quais o clorobenzeno e antraceno (Giraud *et al.*, 2001; Davies *et al.*, 2006; Braeckevelt *et al.*, 2008) e, mais recentemente, fármacos (Matamoros *et al.*, 2005; Matamoros e Bayona, 2006; Dordio *et al.*, 2009b).

Os LCMs tem como função prioritária o tratamento de efluentes, no entanto, podem servir de habitat para várias espécies aquáticas e para exploração ambiental e educacional.

#### **4.2.1 Tipos de LCMs**

A forma como o efluente percorre o sistema permite-nos distinguir dois tipos diferentes de LCMs:

##### **a) Sistemas com fluxo superficial**

Neste sistema o efluente percorre lentamente uma bacia ou canal que suporta uma variedade de vegetação, estando a água acima da superfície do substrato (figura 5). O substrato deve ser bastante impermeável para que o efluente tenha um escoamento superficial. As plantas utilizadas nos sistemas com fluxo superficial podem ser macrófitas fixas emergentes ou submersas, ou macrófitas flutuantes,

como exemplo de plantas vulgarmente utilizadas nestes sistemas temos os jacintos ou as lentilhas de água.

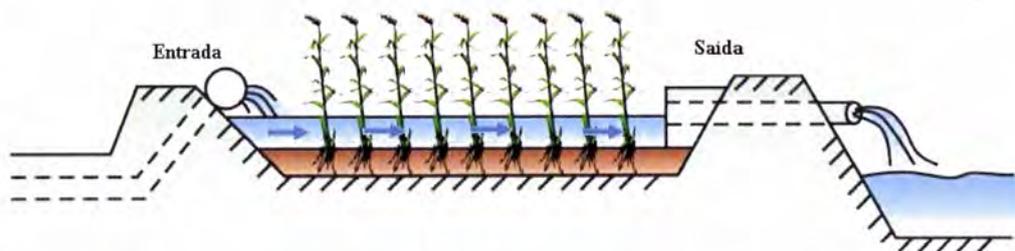


Figura 5- Sistemas com fluxo superficial.

#### b) Sistemas de fluxo sub-superficial (FSS)

Estes sistemas são geralmente construídos usando como substrato material poroso, por exemplo: solo, areia ou gravilha. O efluente percorre o leito abaixo da superfície, através do substrato. As plantas utilizadas nestes sistemas são plantas enraizadas, sendo a acção degradativa devida a uma interacção entre estas, os microrganismos que se desenvolvem na rizosfera e a matriz de suporte. Este foi o tipo de LCM escolhido para a realização deste trabalho.

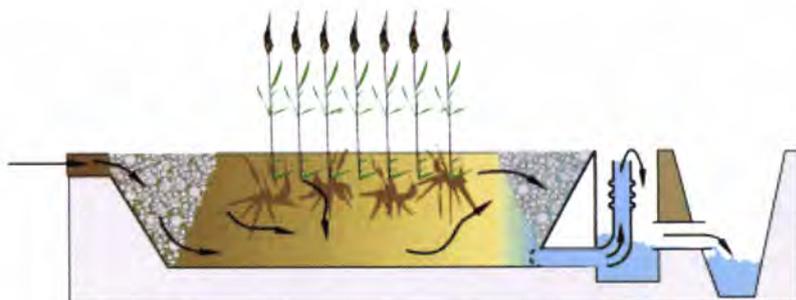


Figura 6- Sistema fluxo sub-superficial.

Os sistemas de leitos construídos de macrófitas de fluxo sub-superficial (LCMs-FSS) podem ser classificados segundo a localização da entrada e saída do efluente (Dias, 1998; Novais *et al.*, 1996) em:

#### ❖ Sistemas de fluxo sub-superficial horizontal (FSSH)

Este é o tipo de LCMs mais utilizado. O efluente é descarregado por um distribuidor, flui lentamente através do leito no sentido horizontal até atingir a zona de saída onde é colectado antes de ser descarregado (figura 7).

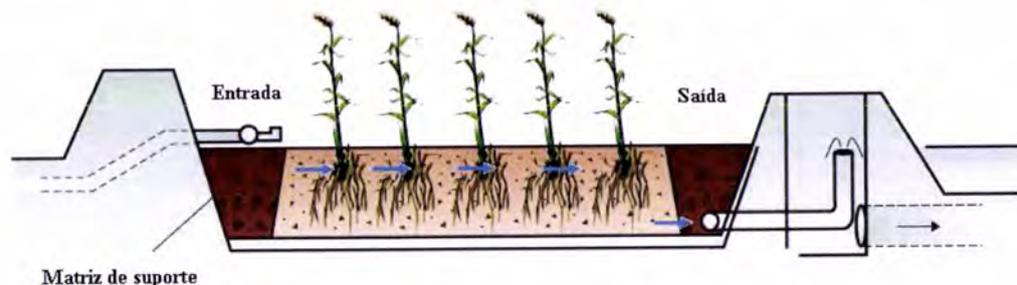


Figura 7- Fluxo sub-superficial horizontal (FSSH).

#### ❖ Sistemas de fluxo sub-superficial vertical (FSSV)

Quando o fluxo é vertical o efluente é distribuído intermitentemente por toda a superfície, desloca-se através da matriz por percolação e é posteriormente recolhido por um sistema de recolha na base (figura 8).

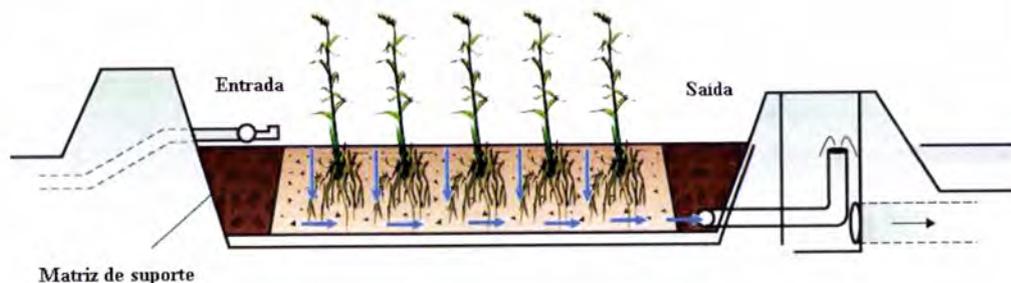


Figura 8- Fluxo sub-superficial vertical (FSSV).

### 2.4.2 Componentes dos LCMs

A simplicidade do funcionamento natural apresentada pelos LCMs pode obscurecer a complexidade de interações requeridas para o tratamento efectivo de uma água residual. Ao contrário das zonas naturais, os LCMs são projectados para atingir certo desempenho, exigindo uma monitorização regular que o assegure (Silvestre e Jesus, 2002). A construção e a operação bem sucedida deste tipo de sistemas requer a compreensão dos componentes presentes bem como das suas inter-relações (Duarte, 2002). Os componentes fundamentais dos LCMs, como já foi dito anteriormente, incluem a matriz de suporte, a vegetação e os microrganismos, que em conjunto, são responsáveis pelos processos de remoção de poluentes do sistema.

### **Matriz de suporte**

A matriz de suporte utilizada nos LCMs condiciona a complexa variedade de processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem durante a depuração do efluente no sistema. Contribui também de uma forma indirecta para a depuração dos poluentes, proporcionando um substrato sólido para o crescimento das plantas e sustentando o crescimento e a actividade microbiana na sua superfície (Davis, 1998, Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b).

A matriz é caracterizada por propriedades como: capacidade de troca iónica, área superficial específica, condutividade hidráulica, pH, textura, estrutura, entre outras, as quais condicionam quer a permeabilidade e capacidade de drenagem do sistema, quer a sua eficiência na remoção de poluentes (Yang *et al.*, 1997; Stottmeister *et al.*, 2003). Uma vez que o tipo de matriz vai afectar o escoamento e o desempenho do sistema, a sua selecção deve ter em conta os objectivos de tratamento pretendidos. Nomeadamente, partículas de maior tamanho produzem enchimentos com maior condutividade hidráulica e porosidade, mas possuem menor área específica para a fixação de biofilmes (Calheiros *et al.*, 2008). A condutividade hidráulica deve ser suficiente para permitir que o escoamento da água residual seja sub-superficial sem causar problemas de acumulação de água, escoamento superficial e escoamentos preferenciais no interior do leito, susceptíveis de provocar uma diminuição no rendimento (Silvestre e Jesus, 2002).

Os tipos de matrizes mais utilizados nos LCMs-FSS são a areia, a gravilha e solos orgânicos. Actualmente são cada vez mais testados e utilizados materiais argilosos (ex. argila expandida, vermiculite, etc.), por apresentarem uma elevada capacidade de remoção/degradação de alguns poluentes orgânicos como pesticidas e fármacos (Yang *et al.*, 1997; Thorstensen *et al.*, 2001; Calheiros *et al.*, 2008; Dordio *et al.*, 2009a).



Figura 9- Argila expandida (LECA).

Neste trabalho foi testada como matriz de suporte uma argila expandida (*Light Expanded Clay Aggregate* - LECA) com a designação comercial de LECA 2/4 (figura 9). Os factores que conduziram à escolha da utilização da LECA como meio filtrante neste trabalho foram o facto de esta possuir elevada superfície específica, elevada porosidade e condutividade hidráulica, uma boa capacidade de troca iónica e capacidade de adsorção, aliados a um baixo custo de aquisição. Estas características garantem um bom desenvolvimento microbiano, permitem um bom arejamento e um contacto efectivo entre o efluente e as partículas da matriz, factores muito importantes na adsorção das moléculas que se pretendem remover. Este conjunto de factores faz com que este material apresente uma elevada capacidade de remoção de alguns poluentes orgânicos como pesticidas e fármacos (Dordio *et al.*, 2007; Calheiros *et al.*, 2008; Dordio *et al.*, 2009a).

A LECA devido às suas características apresenta também menos problemas de colmatção, do que algumas das matrizes tradicionalmente usadas (ex. vermiculite, areia, montmorilite, gravilha)

A LECA é sintetizada a partir de argila natural com características expansivas que é colocada em fornos rotativos de secagem na presença de dolomite ( $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$ ) à temperatura de 1200°C. Através deste processo a argila transforma-se em grânulos esféricos com uma estrutura alveolar e uma superfície externa dura, porosa e de cor castanha (Johansson, 1997; Zhu *et al.*, 1997; Brix *et al.*, 2001).

A LECA é um produto natural que não contém substâncias perigosas, é inerte, tem pH neutro, não se degrada com a água, e tem excelentes propriedades de isolamento térmico e acústico. Trata-se de um material bastante versátil com um crescente número de aplicações, na indústria da construção onde é usada como material de enchimento de blocos de construção, material de isolamento térmico e acústico e revestimento de chaminés. É também usada em instalações de tratamento de águas em processos de filtração e purificação de águas residuais municipais e água potável assim como noutros processos de filtração, incluindo os relacionados com águas industriais e de piscicultura. Recentemente tem tido uma utilização crescente como matriz de suporte em LCMs (Johansson, 1997; Zhu *et al.*, 1997; Brix *et al.*, 2001; Dordio *et al.*, 2007; Calheiros *et al.*, 2008; Dordio *et al.*, 2009a). A LECA é comercializada em diferentes classes granulométricas apresentadas na tabela 5.

Tabela 5- Dimensões e propriedades da LECA (Catálogo LECA; Maxit).

	Classes Granulométricas Nominais			
	8/16	3/8	2/4	0/2
Massa volumétrica seca ( $\text{Kg m}^{-3}$ )	300±10%	350±10%	500±8%	700±8%
Classes granulométricas reais ( $\varnothing$ mm)	12.5-22	5.5-12.5	1.6-5.5	0-1.6
Resistência à compressão (MPa)	>0.8	>1.2	>3.0	-
Condutividade térmica ( $\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	0.10	0.11	0.13	0.13
Absorção de água por imersão (% em volume às 24h)	6.5	5.8	10	10
Variações ponderais em ambientes seco e húmido	Material não higroscópico			
pH	9-10	9-10	9-10	9-10
Permeabilidade	Elevada	Elevada	Boa	-

Com o objectivo de encontrar materiais com potencial para utilização em LCMs, neste trabalho foi ainda estudado um material que poderá ter viabilidade na remoção/degradação de poluentes orgânicos: a cortiça.

A cortiça é a casca do sobreiro, espécie que cresce principalmente na região do Mediterrâneo. A casca de sobreiro é um tecido vegetal composto por um aglomerado de células preenchidas por uma mistura gasosa semelhante ao ar e revestidas por camadas alternadas de celulose e suberina (Silvestre *et al.*, 2008). Existem já alguns estudos publicados sobre a utilização deste material como bioadsorvente para remoção de pesticidas (Domingues *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2005; Domingues *et al.*, 2007; Mestre *et al.*, 2007). Tal com a LECA, a cortiça é comercializada em diferentes classes granulométricas (figura 10). A cortiça utilizada neste trabalho, foi exactamente um granulado com granulometria entre os 5–2.83 mm. Algumas das principais características da cortiça são apresentadas na tabela 6.



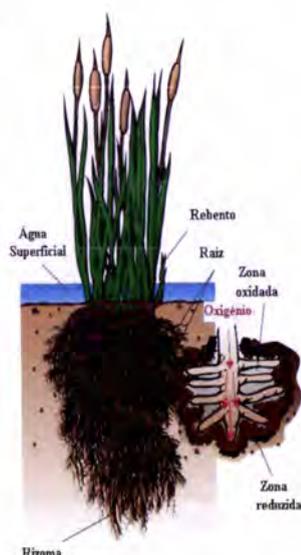
Figura 10- Imagem com diferentes tipos de granulado de cortiça.

Tabela 6- Características da cortiça.

<b>Densidade</b>	0.12 – 0.20
<b>Elasticidade e Resiliência</b>	Muito flexível
<b>Superfície específica</b>	Elevada
<b>Impermeabilidade</b>	Impermeável a líquidos e gases
<b>Resistente ao uso</b>	Resistente ao desgaste coeficiente de atrito elevado

### Vegetação

A importância da vegetação nos LCMs, tal como já foi dito anteriormente, reside fundamentalmente em benefícios físicos relacionados com a presença destas. Um dos seus principais papéis é a remoção e retenção de nutrientes evitando assim a eutrofização dos sistemas. Quando as plantas possuem raiz na matriz de suporte, com crescimento vertical e horizontal praticamente permanente, as suas raízes e rizomas sulcam a matriz, estabelecendo permanentemente micro canais para obstar a colmatção, ajudando também a unir as partículas do substrato e criando uma grande área superficial para a remoção de nutrientes (Stottmeister *et al.*, 2003). As plantas participam também directamente na remoção de alguns poluentes por adsorção, volatilização, absorção, excreção de enzimas que ajudam na degradação bioquímica e estimulando o desenvolvimento microbiano (figura 11) (Imfeld *et al.*, 2009).



- Volatilização de poluentes
  - Atenuar a luz, reduzindo o crescimento do fitoplâncton e algas
  - Influência no microclima
  - Redução da velocidade do vento, reduzindo o risco de ressuspensão de sólidos depositados
  - Aspecto estético
  - Armazém de nutrientes
  - Filtro
- 
- Suporte para o desenvolvimento de microrganismos
  - Fornecer oxigênio, promovendo a biodegradação
  - Absorção de poluentes
  - Liberação de enzimas, hormonas etc.
  - Rizofiltração
  - Estabilizar a superfície de sedimentos, reduzindo a erosão
  - Prevenir a colmatção do meio nos sistemas de fluxo vertical

Figura 11- Diferentes acções das plantas na remoção de poluentes em efluentes (adaptado de Vymazal, 1998).

As plantas proporcionam também superfícies para a ligação de filmes microbianos, transferem oxigénio para a coluna de água através das raízes e rizomas, proporcionam isolamento térmico e permitem controlar o crescimento de algas por restrição à penetração de luz. As espécies com aerênquima, assim como as espécies que possuem caules ocos, como as *Phragmites* spp., possuem maiores concentrações internas de oxigénio e, conseqüentemente, um maior potencial para o fornecer (Silvestre e Jesus, 2002). O crescimento das macrófitas vai ainda reduzir a velocidade do fluxo, aumentando a sedimentação e o tempo de contacto entre o efluente e a área superficial da planta o que permite um aumento da remoção dos compostos (Brisson e Chazarenc, 2008). Verifica-se ainda que ao nível das raízes as plantas libertam consideráveis quantidades de carbono, o qual serve de alimento para a população microbiana presente. Outra fonte viável deste composto é a decomposição da matéria vegetal, que geralmente se encontra disposta em múltiplas camadas de restos orgânicos criando um substrato extremamente poroso que favorece a fixação microbiana. Estas plantas têm ainda a vantagem de proporcionar um habitat para a vida selvagem e tornar os sistemas de tratamento sob o ponto de vista paisagístico mais agradáveis (Silvestre e Jesus, 2002; Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b).

De acordo com Vymazal *et al.*, 1998 e Korkusuz (2005), existem vários grupos de plantas macrófitas, destacando-se os seguintes:

- *Macrófitas emergentes* – plantas enraizadas no solo com a maior parte dos caules e folhas fora de água, como por exemplo o caniço (*Phragmites australis*), as espadanas (*Typha latifolia*), os juncos do pântano ou lírios do pântano (*Íris pseudocorus*), e o junco (*Scirpus lacustris*). Encontram-se geralmente nas margens dos cursos e massas de água.

- *Macrófitas flutuantes* – plantas que flutuam à superfície da água, não estando enraizadas no leito, como por exemplo, o jacinto-aquático (*Eichhornia crassipes*), as lentilhas-de-água (*Lemna* spp.) e a azola (*Azolla filiculoides*). Têm a maior parte dos caules e folhas emersos.

- *Macrófitas enraizadas com folhas flutuantes* – plantas enraizadas ou ancoradas ao leito mas que têm a maioria das folhas à superfície, como por exemplo de a pinheirinha de água (*Myriophyllum aquaticum*), e os nenúfares (*Nymphaea* sp. e *Nuphar* sp.);

- *Macrófitas submersas* – plantas enraizadas ou ancoradas ao leito ou em suspensão na água, que têm as partes vegetativas abaixo da superfície da água

embora, muitas vezes, os órgãos reprodutores estejam à superfície ou acima dela. Alguns exemplos são o limo mesteo (*Potamogeton pectinatus*) e *Elodea canadensis*.

A dinâmica de crescimento destas plantas depende das condições ambientais tais como a profundidade da água, as condições nutritivas e a competição com outras espécies (Guerra e Ibarrola, 1996, Duarte, 2002; Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b). De um modo geral, as macrófitas emergentes são utilizadas na sua maioria no tratamento secundário de efluentes, enquanto as macrófitas flutuantes são geralmente utilizadas apenas no tratamento terciário de efluentes com o intuito de remover essencialmente nutrientes (Duarte, 2002).

Nos sistemas de fluxo sub-superficial utilizam-se normalmente as seguintes espécies de macrófitas: *Scirpus* spp., *Typha* spp., *Phragmites* spp., *Íris* spp., *Juncus* spp. e *Cyperus* spp. (figura 12) (Dias *et al.*, 2002; Stottmeister *et al.*, 2003; Belmont *et al.*, 2004; Toet *et al.*, 2005).

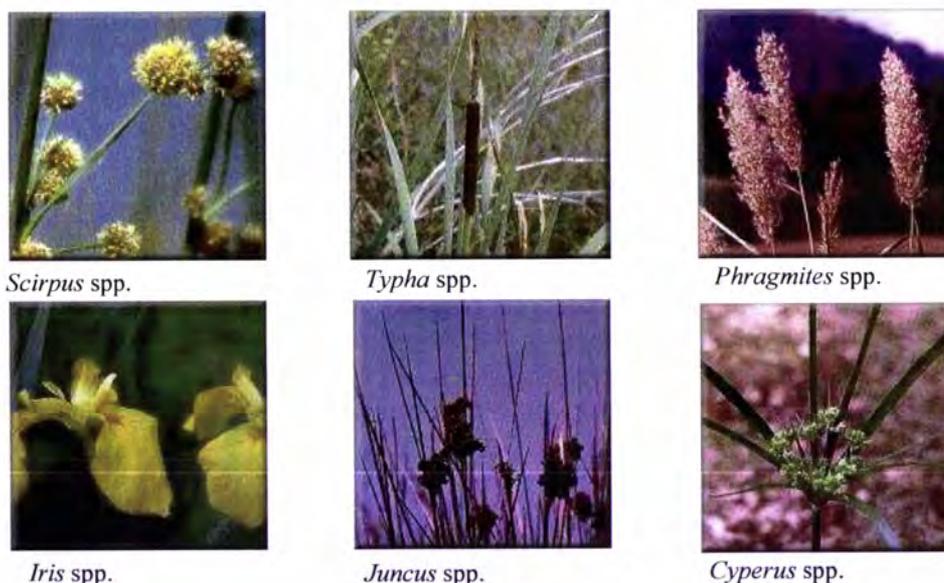


Figura 12- Várias espécies de macrófitas utilizadas em LCMs.

A selecção do tipo de macrófitas a utilizar depende de vários parâmetros: a área de terreno disponível, a altura do leito, o tipo de fluxo, o tipo de plantas infestantes naturais da região e as características do efluente a tratar, nomeadamente a sua fitotoxicidade (Calheiros *et al.*, 2008; Maine *et al.*, 2009).

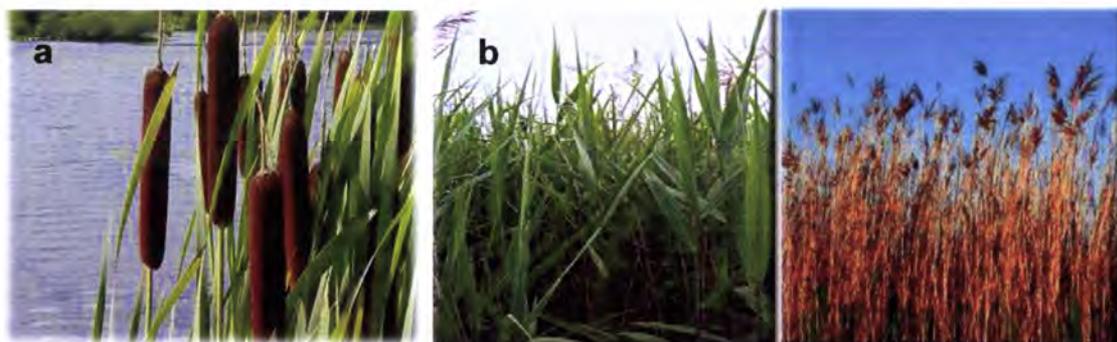
É muito importante seleccionar uma ou várias espécies com capacidade para crescerem rapidamente no tipo de efluente que se pretende depurar. Devem ser resistentes a pragas e doenças e compatíveis com os factores hidrológicos do

sistema, e por outro lado não devem ser muito vulneráveis à ocorrência de variações no seu habitat (Brisson e Chazarenc, 2008; Maine *et al.*, 2009). Algumas características das espécies de macrófitas emergentes estudadas neste trabalho são apresentadas na tabela 7.

**Tabela 7-** Principais características de algumas espécies de macrófitas emergentes (Cooper *et al.*, 1996)

Espécies	Temperatura Desejada (°C)	Salinidade		Taxa de crescimento 1º ano	Penetração típica das raízes (m)	Produção Anual Peso Seco (g)
		máx. tolerada (g L <sup>-1</sup> )	Ph Ótimo			
<i>Typha</i> spp.	10-30	30	4.0-10.0	Rápida	0.3-0.4	30
<i>Phragmites</i> spp.	12-33	45	2.0-8.0	Muito rápida	>0.6	40

No tratamento de um efluente contaminado com fármacos é importante conhecer a resistência das plantas ao fármaco ou fármacos a remover, a sua capacidade de absorção destes poluentes, assim como a sua capacidade de estimular o desenvolvimento microbiano de espécies capazes de degradar os fármacos em questão. Entre as plantas mais utilizadas em LCMs para o tratamento de águas e efluentes encontramos a *Typha* spp. e a *Phragmites australis* (Stottmeister *et al.*, 2003; Amaya-Chavez *et al.*, 2006; Hadad *et al.*, 2006; Calheiros *et al.*, 2008; Maine *et al.*, 2009). Estas espécies têm um crescimento rápido, são pouco vulneráveis a variações no seu habitat e existem estudos que comprovam a sua eficiência na remoção de fármacos (Matamoros *et al.*, 2005; Matamoros e Bayona, 2006; Brisson e Chazarenc, 2008; Dordio *et al.*, 2009), por essa razão estas foram as plantas escolhidas para este estudo.



**Figura 13-** Imagens das plantas *Typha* spp. (a) e *Phragmites australis* (b).

A *Typha* spp. é uma planta erecta que pode atingir os 2 a 3 metros de altura. Geralmente cresce junto às margens mas podem ser encontradas na água a profundidades de 0.9 – 1m. As folhas são em forma de fita, planas e com cerca de 25 mm de largura e as flores encontram-se numa densa espiga cilíndrica que normalmente é mais alto que as folhas (figura 13a). A sua propagação faz-se através de rizomas e/ou sementes. Varias espécies de *Typha* spp. encontram-se em solos húmidos, pântanos e águas pouco profundas.

A *Typha* spp. possui um crescimento rápido e um bom desenvolvimento do sistema radicular, é fácil de propagar, é resistente a pragas e doenças e é uma infestante (o que a torna menos vulnerável a variações que possam ocorrer no seu habitat). Estudos efectuados com esta espécie têm revelado significativos sucessos na remoção de diversos pesticidas e outros compostos orgânicos dificilmente biodegradáveis (Amaya-Chavez *et al.*, 2006; Hadad *et al.*, 2006; Dordio *et al.*, 2007; Dordio *et al.*, 2009b), sendo uma das espécies frequentemente seleccionadas como componente vegetal em LCMs (Langan e Hoagland, 1996; Davis, 1998; Wilson *et al.*, 2000; Belmont *et al.*, 2004; Amaya-Chavez *et al.*, 2006; Dordio *et al.*, 2007; Dordio *et al.*, 2009b). As principais características fisiológicas desta espécie apresentam-se na tabela 8.

**Tabela 8-** Características fisiológicas da *Typha* spp.

	<i>Typha</i> spp.
<b>Família</b>	<i>Typhaceae</i>
<b>Nome comum</b>	Tábua, Murrão dos fogueteiros
<b>Ocorrência</b>	Lugares húmidos e arenosos, pântanos
<b>Duração</b>	Planta perene
<b>Porte</b>	Planta de caule erecto ascendente com folhas lineares mais largas que os caules. Altura aprox. 2.5 m
<b>Época de floração</b>	Junho a Agosto
<b>Fruto</b>	Extremidade cilíndrica-aquénio
<b>Reprodução</b>	Semente ou propagação vegetativa
<b>Indicador ecológico</b>	Solos lodosos/arenosos

(Fonte: Flora Vasculare de Andalucia Ocidental, 1987; Flora Portuguesa, 1988; Atlas Classificatório de la flora de España Peninsular e Balear, 1996)

*Phragmites* é um género botânico pertencente à família Poaceae. A planta é comumente conhecida pelo nome de caniço-de-água ou simplesmente caniço. A

*Phragmites australis* é uma gramínea perene que cresce até 6-12 metros de altura, originalmente nativa da Eurásia e África encontra-se agora distribuída por todo o mundo (figura 13b). Trata-se de uma planta lenhosa, rizomatosa, emersa ou parcialmente submersa, até 2 m de altura. As flores agrupam-se em panículas amplas com espiguetas que possuem duas a oito flores afastadas, são vermelhas escuras com longos pêlos sedosos (Flora Portuguesa, 1988; Flora Vasculare de Andalucia Ocidental, 1987). Geralmente cresce à beira de ribeiras, rios, lagoas, pântanos e zonas de escorrência, distribuindo-se em várias regiões de Portugal. A sua propagação é essencialmente vegetativa. As principais características fisiológicas desta espécie apresentam-se na tabela 9.

Tabela 9- Características fisiológicas da *Phragmites australis*.

	<i>Phragmites australis</i>
Família	Graminaea
Nome comum	Caniço
Ocorrência	Margens dos rios, ribeiras e lagoas
Duração	Planta perene
Porte	Planta lenhosa, rizomatosa, emersa ou parcialmente submersa, até 2 m de altura. Caule sob a forma de colmo erecto. Folhas planas, linear-lanceoladas, com 0.8-3.5 cm de largura
Época de floração	Julho a Setembro
Reprodução	Semente ou propagação vegetativa
Indicador ecológico	Solos lodosos/arenosos

(Fonte: Flora Vasculare de Andalucia Ocidental, 1987; Flora Portuguesa, 1988; Atlas Classificatório de la flora de España Peninsular e Balear, 1996)

### **Microrganismos**

A matriz de suporte constitui um bom habitat para a fixação e desenvolvimento de uma vasta comunidade biológica incluindo bactérias aeróbias, anaeróbias e facultativas, fungos, algas, protozoários, nemátodos e também alguns animais superiores como larvas de insectos, formigas, caracóis, minhocas e outros animais. A actividade microbiana tem especial importância na transformação do azoto orgânico em diversas formas com utilidade biológica, bem como na conversão de formas insolúveis de fósforo em formas solúveis, que assim ficam disponíveis para serem absorvidas pelas plantas. Análises a diferentes amostras de terra e raízes retiradas de LCMs, demonstraram que o número e diversidade de

microrganismos presentes na região fora da zona das raízes é muito menor do que a presente junto aos rizomas. Por outro lado constatou-se que a população microbiana presente num solo idêntico mas sem plantas era muito reduzida, o que dá relevo à acção da vegetação. As elevadas densidades populacionais microbianas, explicam, em parte, a elevada capacidade depurativa de efluentes em LCMs (Hatano, 1994; Dordio *et al.*, 2008a; Dordio *et al.*, 2008b).

O número, tipo e actividade dos diversos grupos de organismos estão interligados entre si e dependem das condições ambientais prevaletentes a cada momento. A actividade microbiana varia sazonalmente, sendo menor nos meses mais frios. Isto ocorre devido á desactivação de enzimas, as quais tem uma actividade óptima entre 20 e 30°C. Geralmente, os aumentos de temperatura promovem o crescimento microbiano. Verifica-se que a população microbiana se ajusta rapidamente às variações das condições ambientais e que são estas que fundamentalmente determinam o sentido em que a actividade dessas populações se desenvolve, mais do que a espécie ou o número de microrganismos presentes (Botelho da Costa, 1991).

A acção microbiana na matriz depende, entre outros factores, de:

- » Quantidade e tipo de nutrientes disponíveis;
- » Temperatura;
- » pH;
- » Grau de oxigenação e condições de humidade;
- » Interações entre espécies microbianas;
- » Presença de raízes e rizomas e a extensão do sistema radicular;
- » Presença de substâncias tóxicas e inibidoras.

Existem vários estudos sobre os diversos microrganismos com capacidade para degradar pesticidas e fármacos, entre os quais podemos encontrar bactérias como *Burkholderia*, *Rhodobacter*, *Lysobacter*, *Nocardioides*, *Acidovorax*, *Pseudomonas* (Balcke *et al.*, 2004; Ramos *et al.*, 2005).

Os invertebrados, como os insectos e vermes, contribuem para o processo de tratamento fragmentando os detritos e consumindo matéria orgânica. As larvas de muitos insectos são aquáticas e consomem quantidades significativas de matéria orgânica durante o seu estado larvar, que pode durar vários anos (Silvestre e Jesus, 2002). Neste trabalho não foi feita qualquer quantificação da remoção por actividade microbiana dos leitos uma vez que já foi referido por alguns autores que a CB é um

fármaco de difícil biodegradação e fracamente eliminado, independentemente do tempo de retenção, sendo que após os tratamentos biológicos das ETARs sofre em média uma eliminação que varia entre os 7 e 8% (Ternes, 1998; Heberer, 2002b; Clara *et al.*, 2004; Fent *et al.*, 2006).

## **2.5 Métodos analíticos para a determinação de fármacos em amostras ambientais**

Para a determinação de fármacos, diferentes métodos analíticos são descritos na literatura, os quais são principalmente válidos para matrizes biológicas como sangue, tecido e urina, sendo que algumas modificações nestes métodos poderão ser suficientes para a análise de amostras ambientais. No entanto, a análise de fármacos em efluentes de ETARs, águas superficiais e subterrâneas, e água potável requer ainda o desenvolvimento de métodos mais sensíveis para a sua detecção dada a baixa concentração ambiental destes compostos ( $\text{ng-}\mu\text{g L}^{-1}$ ) (Hao *et al.*, 2007, Dordio *et al.*, 2009a)

A análise de fármacos compreende basicamente as etapas de extracção e pré-concentração do analito, eliminação de interferentes, separação, detecção e quantificação.

### **2.5.1 Preparação de amostras**

Este processo, consiste essencialmente na conversão de uma matriz complexa numa amostra adequada para análise, provocando modificações nas interacções químicas do composto com o meio em que se encontra. Estas interacções afectam a aplicabilidade de diferentes técnicas para preparação de amostras e os métodos analíticos, bem como a sua eficiência e reprodutibilidade. Assim, para a preparação das amostras, é muito importante ter informações sobre as propriedades físicas e químicas do analito (Reemtsma e Quintana, 2006; Pavlovic *et al.*, 2007). A maioria dos fármacos tem carácter ácido e/ou básico e a sua taxa de ionização depende da constante de acidez (valores do pKa) e é controlada pelo pH da solução. Com este conhecimento, podemos escolher a melhor opção para a extracção dos fármacos, por exemplo, o valor do pKa permite o ajuste do valor de pH da solução da amostra. Parâmetros como o  $\log K_{ow}$  mostram também a afinidade

dos compostos para a água ou meios apolares (Reemtsma e Quintana, 2006; Pavlovic *et al.*, 2007).

A preparação da amostra pode ser conseguida empregando um grande número de técnicas, mas todos os métodos têm os mesmos objectivos principais (Smith, 2003; Pavlovic *et al.*, 2007):

- remover potenciais interferências;
- aumentar a concentração de um analito;
- se necessário, converter um analito numa forma mais apropriada para a análise;
- obter um método robusto e reprodutivo que seja independente das variações na matriz da amostra.

A preparação da amostra deve também ser ajustada à análise final, considerando os métodos de quantificação e/ou identificação a usar e o grau de exactidão requerido, tanto quantitativo como qualitativo. Dado que a maioria dos fármacos estão presentes no ambiente em concentrações muito reduzidas, a utilização de técnicas que possibilitem a pré-concentração dos analitos é indispensável.

### **Extracção em fase sólida (*Solid-Phase Extraction* – SPE)**

Para a extracção e/ou pré-concentração de fármacos em amostras ambientais a extracção em fase sólida (*Solid Phase Extraction*-SPE) é uma das técnicas de extracção mais usadas na preparação de amostras aquosas e tem sido muito utilizada na extracção e pré-concentração de fármacos ambientais em águas contaminadas (Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2007; Cueva-Mestanza *et al.*, 2008; Lacey *et al.*, 2008; Zorita *et al.*, 2008).

A técnica de SPE tem sido muito utilizada na extracção e pré – concentração de fármacos e pesticidas, entre outros analitos (Gros *et al.*, 2006a).

A técnica de SPE consiste numa separação baseada nos mecanismos da cromatografia líquida de baixa pressão, mas quando comparada com o método clássico, a técnica de SPE minimiza o volume de amostra e solvente utilizados, bem como o tempo e o esforço necessários para a análise, com maiores recuperações, reprodutibilidade e selectividade. O procedimento geral deste método consiste em fazer passar a amostra por uma coluna de SPE devidamente condicionada ajustando o pH e a força iónica para optimização da retenção dos analitos (Barker,

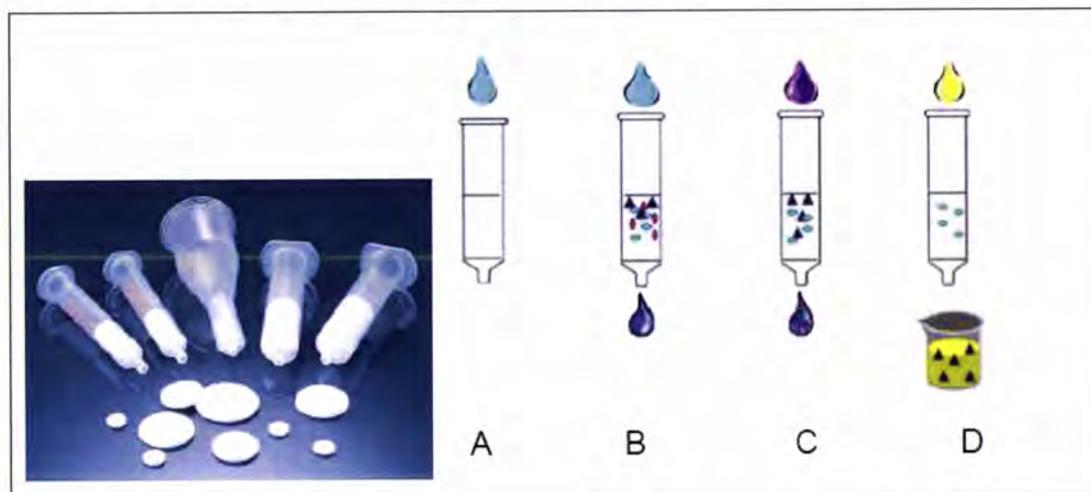
2000; Rial-Otero *et al.*, 2007). Com este procedimento, os analitos que têm afinidade para o adsorvente sólido ficam retidos, enquanto os restantes compostos passam sem sofrer retenção na coluna de SPE (Barker, 2000; Rial-Otero *et al.*, 2007). Em seguida os analitos retidos são recuperados mediante eluição do cartucho com um solvente adequado, em geral, aquele que possibilita a utilização da técnica de análise instrumental posterior. A selectividade do processo depende da escolha adequada do adsorvente e do solvente utilizado para a eluição (Barceló e Hennion, 1997; Rial-Otero *et al.*, 2007).

Os principais objectivos da técnica de SPE são: reduzir o nível de interferentes, minimizar o volume final de amostra e fornecer a fracção de analito em solvente compatível com a técnica instrumental que posteriormente vai ser utilizada.

As etapas envolvidas no procedimento de SPE (figura 14) são basicamente divididas em (Ulrich, 1997; Lanças, 2004; Rial-Otero *et al.*, 2007; Vieno *et al.*, 2006; Zhang e Zhou, 2007):

- i. **Condicionamento do enchimento** - activação do adsorvente com um solvente adequado para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra, permitindo disponibilizar os sítios activos, sendo que o material contido no cartucho não pode secar. A secagem pode criar vários problemas, como caminhos preferenciais, comprometendo a separação;
- ii. **Introdução da amostra** - a amostra cujo volume pode ser de alguns mililitros até algumas centenas de mililitros, é adicionada ao dispositivo de SPE, podendo ainda ser vantajoso o controlo do pH ou da força iónica para a retenção mais efectiva do(s) analito(s) alvo no enchimento seleccionado. No caso de volumes significativos, a aplicação de vácuo torna-se uma ferramenta indispensável, sendo necessário controlar a velocidade do fluxo uma vez que a mesma poder influenciar o fenómeno de retenção associado;
- iii. **Limpeza do enchimento** - com recurso a solventes adequados, no sentido de remover potenciais interferentes;
- iv. **Eluição e recolha do analito**: o objectivo principal deste passo é eluir ou remover os compostos alvo retidos no enchimento, sendo seleccionado um solvente com polaridade adequada. Para uma melhor e mais eficiente eluição,

é recomendado que o solvente eleito interaja com o enchimento durante o tempo mínimo necessário. O ideal é eluir com um pequeno volume (geralmente <10 mL) de solvente orgânico (ex. metanol, acetonitrilo, acetato de etilo ou acetona), para que a solução recolhida já se encontre em concentração apropriada para a análise.



**Figura 14-** Etapas básicas do procedimento de SPE: (A) condicionamento; (B) adição da amostra; (C) lavagem do cartucho e (D) eluição dos analitos (Lanças, 2004).

A eficiência da remoção do analito dos cartuchos de SPE está directamente relacionada com a escolha do adsorvente (Lin *et al.*, 2005; Rial-Otero *et al.*, 2007). Os adsorventes mais utilizados na extracção de fármacos em soluções aquosas (água e águas residuais) incluem adsorventes apolares (ex: LiChrolut® RP-18), de troca-iónica (ex: Oasis® MCX) e adsorventes de natureza polimérica (ex: Oasis® HLB) (Zorita *et al.*, 2008). No entanto, a eficiência do procedimento de SPE também é altamente dependente do tipo de matriz e das suas interacções com o adsorvente e os analitos (Pavlovic *et al.*, 2007).

Normalmente os adsorventes mais utilizados são constituídos por sílica modificada, tais como sílica C18, que são utilizados para reter compostos hidrofóbicos (Rodríguez-Mozaz *et al.*, 2007). No entanto, ultimamente, os cartuchos feitos com material adsorvente co-polimérico como os Oasis® HLB, MCX e MAX têm tido grande utilização na análise ambiental de compostos farmacêuticos, porque mostram uma maior estabilidade para uma vasta gama de valores de pH.

Os adsorventes Oasis® HLB são fabricados a partir de co-polímeros constituídos por unidades lipofílicas de polidivinilbenzeno e unidades hidrofílicas de N-vinilpirrolidona (Vieno *et al.*, 2006). Como tal, podem ser usados para reter compostos polares e não polares.

Tal com os HLB, os Oasis® MCX (*mixed-mode cation exchange*) e MAX (*mixed-mode anion exchange*) apresentam alta selectividade para compostos básicos e ácidos, respectivamente.

Neste trabalho os cartuchos LiChrolut® RP-18 e Oasis® HLB foram os cartuchos de SPE testados para extracção da CB em soluções aquosas contaminadas a diferentes valores de pH.

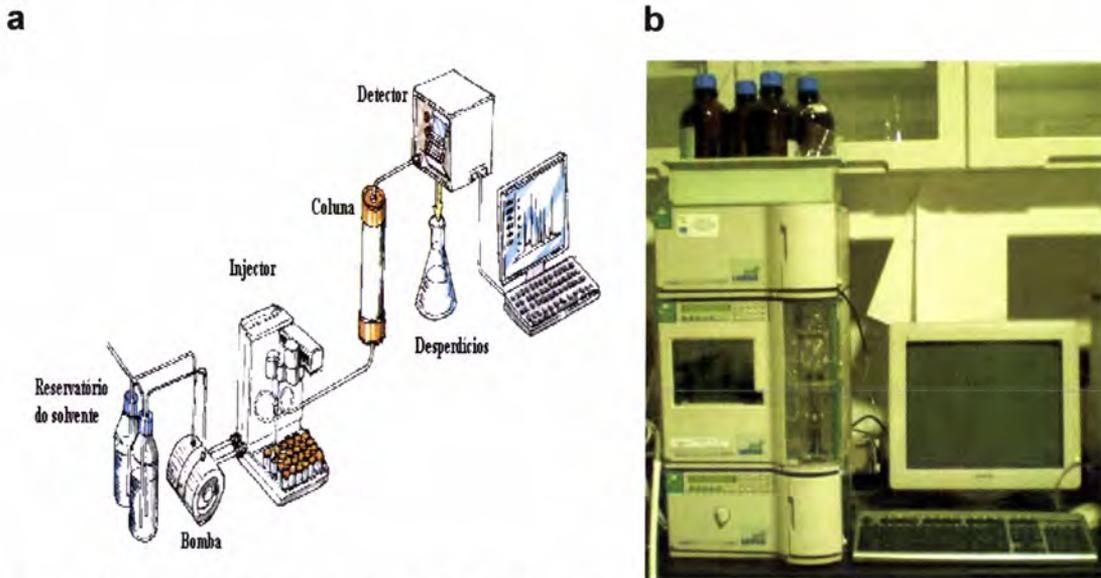
### **2.5.2 Cromatografia líquida de elevada eficiência - *High Performance Liquid Chromatography* - HPLC**

Os fármacos como a CB encontram-se no ambiente em baixas concentrações o que requer procedimentos analíticos altamente selectivos e sensíveis para a sua detecção e quantificação (Zorita *et al.*, 2008). Neste sentido, a cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*- HPLC) e a cromatografia gasosa (*Gas Chromatography*-GC) são as técnicas mais usuais na quantificação destes poluentes (Santos *et al.*, 2005; Vieno *et al.* 2006). Contudo, porque muitos destes analitos não são estáveis termicamente, requerendo um passo extra de derivatização antes da sua análise por GC (Santos *et al.*, 2005), a cromatografia líquida (HPLC) é geralmente o método analítico escolhido (Fatta *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008; Kostopoulou e Nikolaou, 2008).

O equipamento de HPLC é constituído por um reservatório de solventes, uma bomba de alta pressão, um sistema de injeção da amostra, uma coluna e um detector (figura 15):

- Os solventes que constituem a fase móvel devem apresentar um elevado grau de pureza e estar livres de oxigénio e outros gases dissolvidos;
- A bomba é um componente muito importante num equipamento de HPLC pois deve proporcionar ao sistema um fluxo contínuo, estável e com boa reprodutibilidade possibilitando a percolação da fase móvel e da amostra através da coluna cromatográfica. A presença de um sistema de desgaseificação associado à bomba elimina a necessidade de desgaseificação dos solventes antes da sua utilização para análise;

- Sistema de injeção da amostra, a injeção pode ser manual (através da introdução da amostra num septo de borracha com uma microseringa de vidro) ou automática com recurso a um injektor automático. Esta última opção permite a automatização da análise e uma maior reprodutibilidade nos resultados;
- As colunas cromatográficas são geralmente feitas de ácido inoxidável e têm dimensões variáveis. A natureza de fase estacionária tem uma influência muito grande na separação cromatográfica. Para a análise e separação de fármacos ácidos como a CB são geralmente usadas colunas apolares feitas de sílica substituída com grupos octadecilo (C18) (Santos *et al.*, 2005). A cromatografia efectuada com estas colunas denomina-se cromatografia em fase reversa e a eluição dos compostos faz-se por diferenças de partição dos compostos entre a fase estacionária e a fase móvel. Quanto mais apolar for o analito maior o seu tempo de retenção na coluna;
- Os detectores são aparelhos sensíveis à concentração da amostra, permitindo obter uma resposta linear numa grande gama de concentrações do analito. Os detectores mais usados na análise de fármacos em águas são o detector de UV-Vis (Cueva-Mestanza, 2008) e o detector de massa (Lacey *et al.*, 2008; Zorita *et al.*, 2008), sendo este último o mais selectivo e sensível, permitindo atingir menores limites de quantificação dos analitos em amostras ambientais (Zhang e Zhou, 2007; Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2007; Zorita *et al.*, 2008). Porém, é um método mais caro, e a interface de electrospray (ESI), a mais usada em LC-MS para análise de resíduos de fármacos, é muito susceptível aos componentes da matriz, o que pode resultar na supressão de sinal do analito. Os detectores de UV-VIS baseiam-se na Lei de Lambert-Beer, a partir da qual é possível determinar a concentração da amostra ( $c$ ), uma vez que esta apresenta uma relação linear com a absorvência,  $A$ :  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$ , onde  $b$  é o *percurso óptico* e  $\epsilon$  a *absortividade*, que é característica de cada composto (Skoog *et al.*, 1998). Ao eluir um analito pela célula do detector vai haver absorção da radiação incidente com um comprimento de onda previamente seleccionado, dando origem a um sinal no cromatograma. Para cada analito existe uma gama de concentrações a determinar experimentalmente em que a lei de Lambert-Beer se aplica (Skoog *et al.*, 1998).



**Figura 15-** a) Esquema representativo de um sistema de HPLC; b) Fotografia do equipamento de HPLC utilizado.

Para análise quantitativa de um analito preparam-se soluções padrão dos analitos na gama de concentrações em que existe uma relação linear entre a absorvência e a concentração - método da curva de calibração. Estas soluções são injectadas no HPLC e os resultados das áreas, obtidos para os picos dos diferentes padrões do analito, são colocados num gráfico: área vs concentração. Com o auxílio de uma folha de cálculo é verificada a linearidade e é determinada a equação da recta ( $y = mx+b$ ), que pode ser usada para a determinação da concentração do analito em amostras com concentração desconhecida.

### 3. Metodologia experimental

#### 3.1 Quantificação da carbamazepina em solução aquosa (água e efluente doméstico)

##### 3.1.1 Optimização das condições de SPE

Com o objectivo de otimizar a recuperação da CB de uma solução aquosa dopada com o fármaco, testaram-se diferentes cartuchos de SPE: LiChrolut® RP-18 (Merck; 500 mg; 3 mL) e Oasis® HLB (Waters Corporation; 200 mg; 6 mL). O pH das soluções contendo a CB foi ajustado para valores de 2.0 e de 7.0 usando  $H_3PO_4$  (José Manuel dos Santos; P.A. 95%) ou NaOH (José Manuel dos Santos; P.A.), antes da percolação através dos cartuchos de SPE. Após o condicionamento dos cartuchos com 5 mL de metanol e 5 mL de água carregaram-se os mesmos com um volume conhecido de amostra. De seguida secaram-se os cartuchos sob vácuo durante 15 minutos e eluiu-se a CB retida no enchimento com 5 mL de metanol (VWR BDH Prolabo; pureza 99,8%). Após a eluição, procedeu-se à evaporação do solvente num evaporador rotativo a 30°C e redissolveu-se o resíduo seco com 1.0 mL de água Milli-Q (Simplicity® UV, Millipore Corp., France) (Dordio *et al.*, 2009a). Foram feitas cinco réplicas para ambos os cartuchos testados e para todas as condições experimentais usadas. O procedimento de pré-concentração optimizado foi posteriormente validado para diferentes volumes de amostra e concentração de analito.

##### 3.1.2. Doseamento da CB por HPLC/UV-Vis em solução aquosa

Para se proceder ao doseamento da CB em solução aquosa (água e efluente), realizaram-se análises por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) num aparelho Elite LaChrom, equipado com uma bomba Hitachi L-2130, detector UV – Hitachi L- 2400 e amostrador automático Hitachi L-2200 ligado a um loop de amostra de 20µL. A coluna analítica de fase reversa utilizada foi uma Zorbax Eclipse XDB-C18 (250 mm × 4.6 mm, tamanho das partículas: 5.0 µm). A fase móvel consistiu num sistema binário de solventes: A- acetonitrilo e B- água acidificada com  $H_3PO_4$  (0.1%, v/v). O volume de amostra injectado foi de 20 µL e o fluxo da fase móvel foi de 1 mL min<sup>-1</sup>. Todas as análises foram feitas à temperatura ambiente. A eluição ocorreu por gradiente, iniciando com 50% de A e 50% de B, passando aos 3 minutos para 75% de A e 25% de B, num total de 12 minutos. A detecção foi feita a

210 nm. Realizaram-se três réplicas das injecções de cada amostra, que foram previamente filtradas através de um filtro de 0.45 µm de membrana de nylon (VWR International, West Chester, USA;PA).

A quantificação da CB foi feita pelo método da recta de calibração. Para preparar as soluções padrão pesaram-se 0.100 g de CB (Sigma-Aldrich; pureza > 99%) que se dissolveu em 10 mL de metanol, tendo o volume de 1 L sido aferido com água Milli-Q, obtendo-se uma solução padrão com uma concentração de 100 mg L<sup>-1</sup>. Por diluição desta solução em água destilada, prepararam-se padrões para construir duas rectas de calibração com as concentrações de 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 4.0 e 5.0 mg L<sup>-1</sup> e 1.0, 5.0, 10.0, 20.0, 35.0, 50.0 e 60.0 mg L<sup>-1</sup>. A primeira recta foi utilizada na quantificação da CB nos ensaios com LCMs e para alguns ensaios dos estudos de remoção com a cortiça, a segunda recta foi sempre usada para os ensaios de remoção com a cortiça. Fizeram-se 3 réplicas para cada solução padrão, as quais foram injectadas 5 vezes.

A detecção e quantificação dos limites experimentais (LQI- Limite de Quantificação Instrumental e LDI -Limite de Detecção Instrumental) para a detecção cromatográfica foram obtidas a partir da determinação da concentração correspondente ao sinal de ruído (*signal-to-noise ratios*) de 3 e 10, respectivamente (Miller e Miller 2000).

O limite de quantificação (LOQ) de todo o método analítico (incluindo o passo de concentração das amostras por SPE) foi calculado recorrendo à seguinte equação (Vieno *et al.*, 2006):

$$\text{LOQ} = (\text{LQI} \times 100) / (\text{Rec} (\%) \times C)$$

LOQ – Limite de Quantificação

LQI – Limite de Quantificação Instrumental (mg L<sup>-1</sup>);

% Rec – média da percentagem de recuperação da CB no passo de pré-concentração por SPE;

C - factor de concentração (foi o usado o valor máximo de 25).

A repetibilidade e reprodutibilidade do sistema de HPLC/UV-Vis, bem como todo o método analítico foram analisados. Assim, para a avaliação da repetibilidade do sistema de HPLC/UV-Vis efectuaram-se injecções consecutivas da mesma solução padrão mantendo as mesmas condições de operação do equipamento. Para

a avaliação da reprodutibilidade do sistema efectuaram-se injeções da mesma solução padrão em diferentes dias, usando diferentes lotes de solventes como fase móvel.

### 3.2 Avaliação da capacidade de remoção da CB em LCMs plantados com *Typha* spp. e *Phragmites australis*

#### 3.2.1 Recolha e aclimação das plantas

Plantas jovens de *Typha* spp. e *Phragmites australis* foram recolhidas e lavadas com água corrente para remover partículas de solo/sedimentos. Após este procedimento, as plantas foram dispostas em recipientes de 10 litros e mantidas apenas em água com sistema de arejamento artificial durante cerca de 3 semanas numa câmara de ambiente controlado (CPM-Fitoclima) com as seguintes condições: temperatura de 22°C, intensidade luminosa programada de 100%, humidade relativa programada de 70 % e fotoperíodo de 12 horas. Após este período inicial de aclimação, substituiu-se a água por uma solução nutritiva de Hoagland modificada. Após um período de aclimação das plantas de cerca de 6 semanas, e depois do desenvolvimento de novas raízes e folhas, seleccionaram-se plantas em estado vegetativo semelhante para a montagem dos ensaios (figura 16).



Figura 16- Seleção das plantas de *Typha* spp. para a montagem do ensaio.

#### 3.2.2 Montagem dos ensaios

Foram montados 9 microcosmos de leitos construídos de macrófitas em recipientes de PVC (0.6 m de largura x 0.5 m de comprimento e 0.4 m de fundo), utilizando como matriz de suporte LECA (2/4) lavada. O nível de água foi mantido ligeiramente abaixo da superfície da LECA, correspondendo a uma taxa de inundação de aproximadamente 100%. Foram plantados no total 6 leitos, 3 leitos

com plantas jovens provenientes de rebentos de *Typha* spp. e 3 leitos com plantas jovens provenientes de rebentos de *Phragmites australis* (figura 17) Para o estudo sobre a capacidade de remoção da CB pela LECA, foram ainda utilizados 3 leitos não plantados.



**Figura 17-** Fotografia dos leitos de *Phragmites australis* e *Typha* spp.

Utilizaram-se também 3 recipientes adicionais, que foram cheios com a solução de efluente dopado com CB e sem conter plantas ou material de suporte, sendo o objectivo avaliar a biodegradação do composto no efluente doméstico.

### **3.2.3 Operação dos LCMs e recolha de amostras**

Porque os LCMs são sistemas biológicos, houve a necessidade de um período de aclimação das plantas e microrganismos às condições de ensaio, permanecendo as plantas nas condições do ponto 3.2.2 durante cerca de 3 meses. Gradualmente a água foi substituída por efluente doméstico, permanecendo as plantas neste meio o tempo suficiente para aclimação à fitotoxicidade do efluente. O efluente doméstico utilizado foi recolhido na etapa de tratamento secundário numa ETAR que serve uma pequena comunidade rural de cerca de 400 habitantes. O processo de tratamento usado nesta ETAR inclui, gradagem, sedimentação primária e tratamento convencional de lamas activadas. O efluente utilizado no estudo foi caracterizado pela determinação dos seguintes parâmetros de qualidade de águas residuais de acordo com os métodos APHA-AWWA-WPCF: i) sólidos suspensos totais (SST); ii) pH e iii) teor em matéria orgânica ( $CQO_t$  e  $CQO_d$ ). Todos estes parâmetros foram analisados em amostras após filtração por  $0.45\mu m$ .

Em seguida todos os leitos foram cheios com efluente dopado com uma concentração de 1 mg CB L<sup>-1</sup>. Os leitos funcionaram em modo descontínuo (*batch mode*), mantendo-se a quantidade de solução inicial e sem escoamento/passagem de qualquer outro tipo de solução durante a realização do ensaio. Foram realizados 2 ensaios para diferentes condições atmosféricas, um de inverno (Dezembro; temperatura média de 12°C) e outro de verão (Junho; temperatura média de 26°C), a fim de observar a influência das condições sazonais na resposta fisiológica das plantas. Durante o ensaio foram recolhidas amostras da solução dos leitos contendo a CB em períodos de: 0, 6, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas. Durante a realização dos ensaios a água perdida pelos leitos por evapotranspiração foi repostada com água destilada antes da recolha das amostras. Os ensaios foram realizados em estufas localizadas na Herdade da Mitra (Universidade de Évora). Sempre que necessário as amostras de solução recolhidas nos leitos, para os vários tempos de retenção, sofreram um passo de pré-concentração por SPE utilizando as condições previamente optimizadas (ponto 3.1.1). A quantificação da CB nas amostras foi feita por HPLC/UV-Vis de acordo com o descrito no ponto 3.1.2.

### **3.3 Ensaio de avaliação da capacidade de remoção da CB pela cortiça em solução aquosa**

#### **3.3.1 Caracterização físico-química do meio filtrante**

Para a caracterização físico-química da cortiça determinou-se a classe granulométrica, o coeficiente de uniformidade, a porosidade do meio (volume de vazios), a densidade aparente, o pH em água e a condutividade eléctrica.

A distribuição granulométrica por classes, do material, foi efectuada recorrendo ao método convencional de crivagem através da passagem da amostra por uma coluna de crivos com malha cada vez mais apertada (6.3; 5.0; 4.0; 2.83; 2.0; 0.85 e 0.25 mm), por acção da gravidade e de agitação mecânica (número de réplicas, n = 3) (Day, 1965). O valor de d<sub>10</sub> (tamanho efectivo das partículas), de d<sub>60</sub> e o coeficiente de uniformidade (U) foram estimados a partir da representação gráfica da distribuição das classes granulométricas do material. Estes são os parâmetros que tradicionalmente são usados para efectuar a caracterização granulométrica de materiais. O tamanho efectivo das partículas (d<sub>10</sub>) corresponde ao diâmetro (em mm) para o qual 10% da amostra é mais fina que a medida desse diâmetro. O valor d<sub>60</sub> corresponde ao diâmetro (em mm) para o qual 60% da amostra

é mais fina que a medida desse diâmetro. O coeficiente de uniformidade é dado pela razão entre os valores de  $d_{60}$  e  $d_{10}$  (AWWA, 1998).

A porosidade do meio (o volume de vazios) foi determinada a partir da quantidade de água necessária para saturar um volume conhecido do material (100 ml;  $n = 5$ ) (Brix *et al.*, 2001; Del Bubba *et al.*, 2003). A densidade aparente foi determinada com base na razão entre o peso seco e o volume aparente do material ( $n = 5$ ) (Brix *et al.*, 2001).

O pH em água foi determinado numa suspensão aquosa contendo o material a analisar e água na proporção de 1:2.5 (m/v), após agitação da suspensão durante 30 minutos ( $n = 4$ ) (McLean, 1982; Punchooa *et al.*, 1999).

A condutividade eléctrica foi determinada numa solução contendo 25 ml de água destilada e 10 g do material a analisar, após agitação durante 30 minutos, utilizando um condutímetro Crison Micro CM 2202 ( $n = 4$ ) (Punchooa *et al.*, 1999).

### 3.3.2 Montagem dos ensaios

#### ***Ensaio em solução aquosa contendo CB***

Com o objectivo de se determinar a eficiência de remoção da CB, usando a cortiça como bioadsorvente, realizaram-se ensaios em que se colocaram em contacto, cortiça e soluções aquosas com diferentes concentrações de CB. Como a cortiça, na forma em que é comercializada, apresenta um elevado teor de partículas finas foi necessário proceder, antes dos ensaios experimentais, à sua lavagem, de modo a retirar-lhes o máximo de partículas finas. O material foi lavado várias vezes com água destilada, até não serem visíveis partículas em suspensão na água de lavagem. Posteriormente, a cortiça foi seca em estufa até peso constante. Sendo posteriormente pesada e usada nos ensaios.

A razão entre o volume de solução (50 ml) e a massa do material (5.0 g) foi estabelecida de modo a que correspondesse a uma taxa de inundação de 100%, pois esta seria a situação verificada num contexto de aplicação prática em LCMs, situação que permitiria um melhor contacto entre a solução e a matriz de suporte, e consequentemente uma maior remoção do composto.

A quantidade removida do composto estudado, foi determinada pela diferença entre a concentração inicial e a respectiva concentração de CB em solução, após o tempo de retenção considerado.

A montagem do ensaio foi feita utilizando 15 copos de vidro contendo cada um 5.0 g de cortiça e 50 ml de solução aquosa contendo CB. Foram testadas 5 concentrações diferentes: 1.0; 5.0; 10; 26; 35 mg CB L<sup>-1</sup>, preparadas a partir de uma solução padrão de 100 mg L<sup>-1</sup>. A duração total dos ensaios foi de 144 horas, pois verificou-se que passado esse tempo não se registava qualquer aumento na remoção do composto estudado. Deste modo, as leituras por HPLC/UV-Vis foram efectuadas após: 0, 6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas.

Todos os ensaios foram realizados no escuro, de modo a evitar a fotodegradação do composto.

Os ensaios foram realizados em descontínuo, à escala laboratorial e utilizando sempre 3 réplicas.

### ***Ensaio em solução aquosa contendo CB e outros fármacos***

De forma a verificar interferências provenientes da presença de outros compostos em solução (ex. outros fármacos) foram ainda realizados ensaios em condições idênticas às descritas no ponto acima, mas contendo em solução mais dois fármacos (ibuprofeno e ácido clofibríco), para além da CB. Foram testadas 5 concentrações diferentes para os 3 fármacos: 1.0; 5.0; 10; 26 e 35 mg L<sup>-1</sup>, preparadas com as respectivas substâncias activas (ibuprofeno – Sigma-Aldrich, pureza 99.8%; ácido clofibríco – Sigma-Aldrich, pureza 97%).

### ***Ensaio em efluente doméstico contendo CB***

De forma a verificar interferências provenientes da composição do efluente utilizado foram ainda realizados ensaios em condições idênticas às descritas acima, mas usando efluente doméstico dopado com CB. As concentrações testadas, foram à semelhança dos ensaios descritos acima, de: 1.0; 5.0; 10; 26 e 35 mg L<sup>-1</sup>.

## **3.4 Análise estatística dos resultados**

Todos os resultados apresentados foram expressos como média ± desvio padrão (DP). No tratamento estatístico dos dados experimentais obtidos recorreu-se ao auxílio do programa Microsoft® EXCEL. Com o objectivo de avaliar a existência de diferenças significativas entre os valores experimentais obtidos recorreu-se à análise de variância (ANOVA). Neste trabalho, a ANOVA foi sempre efectuada para um nível de significância de  $p < 0.05$ .

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Optimização das metodologias analíticas

#### 4.1.1. Quantificação da CB em solução

Para quantificar a CB em solução aquosa foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência com um detector de UV-Vis. A análise cromatográfica foi feita utilizando uma coluna de fase reversa e a eluição realizada por gradiente (ver ponto 3.1.2). O perfil cromatográfico foi traçado a 210 nm que corresponde ao máximo de absorvência da CB (figura 18).

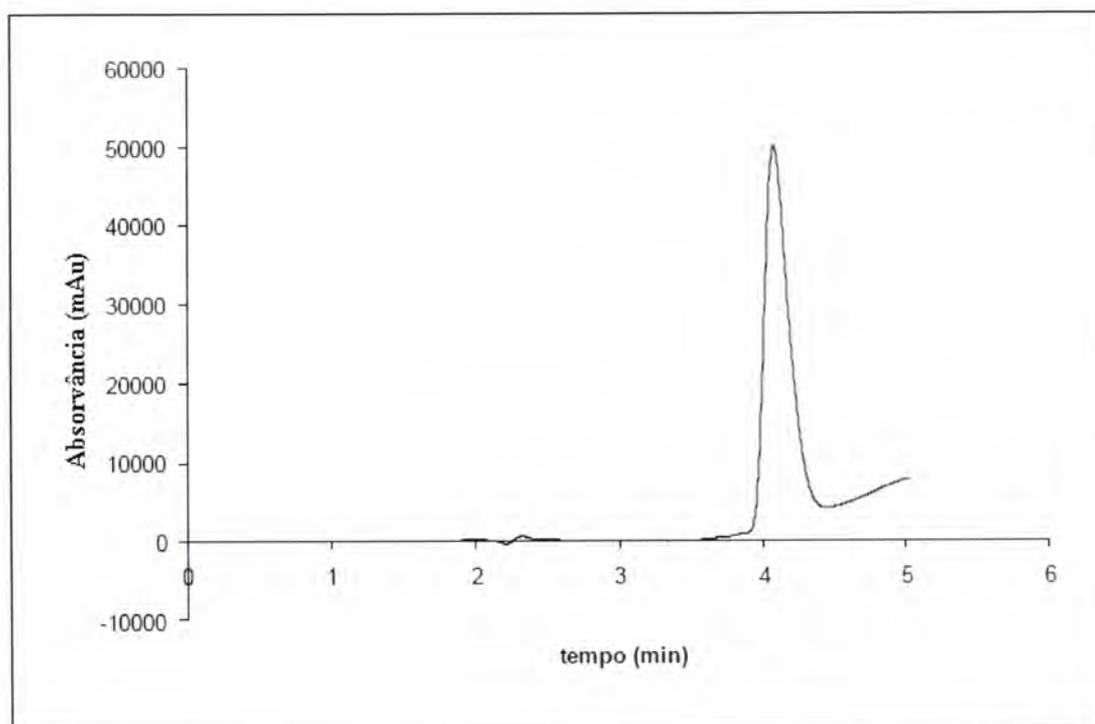
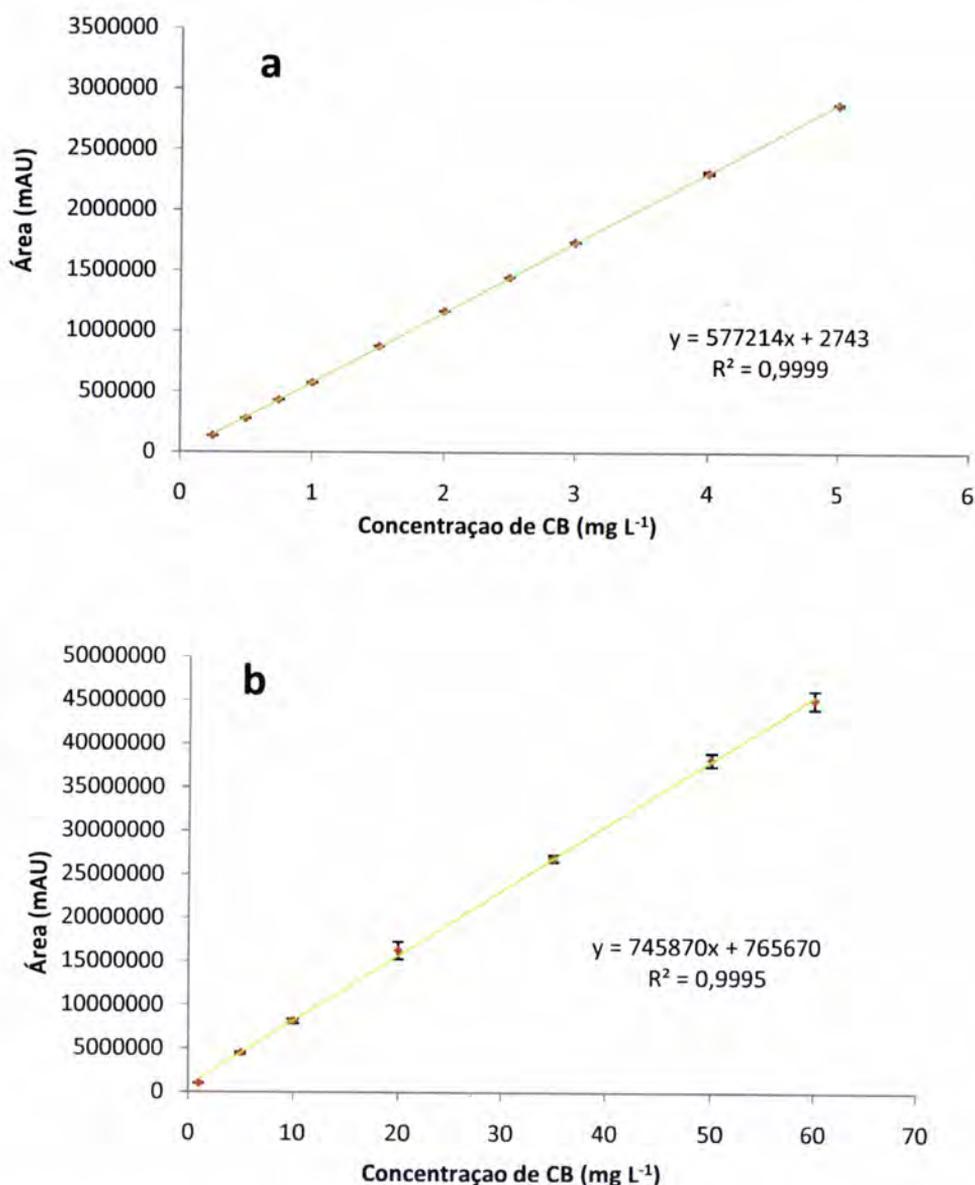


Figura 18- Cromatograma de um padrão de CB ( $t_r = 4.09$  minutos).

A quantificação da CB foi feita recorrendo ao método de cálculo da recta de calibração. Para diminuir o erro na quantificação e devido à diferença na concentração das amostras, foram construídas duas rectas de calibração (figura 19; Anexo A).



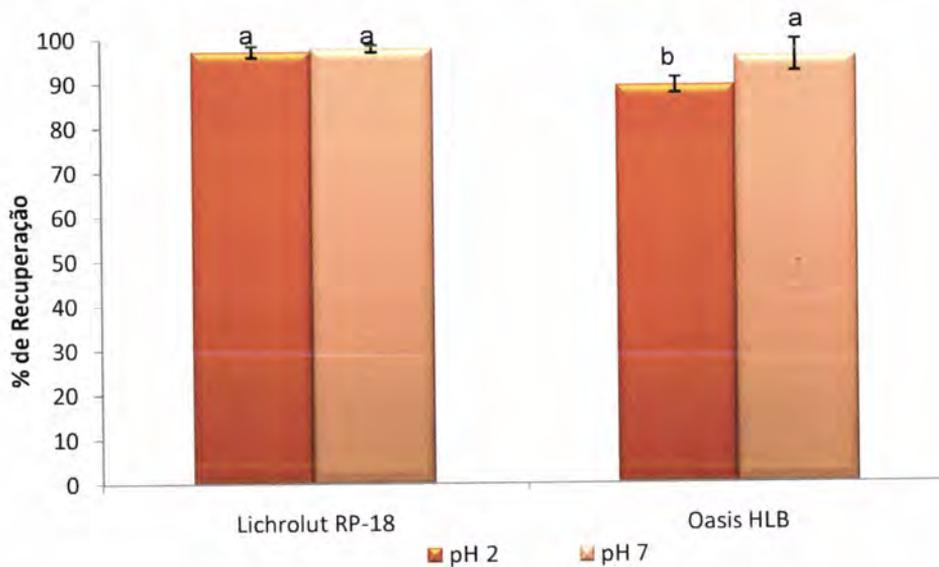
**Figura 19-** Rectas de calibração utilizadas na quantificação da CB em solução aquosa: a) RC1: recta de calibração para o intervalo de concentrações de 0.25 a 5.0  $\text{mg L}^{-1}$ ; b) RC2: recta de calibração para o intervalo de concentrações de 1.0 a 60  $\text{mg L}^{-1}$ . As barras de erro verticais indicam  $\pm$  DP ( $n=15$ ).

A metodologia de HPLC/UV-Vis desenvolvida para a quantificação da CB apresentou uma elevada reprodutibilidade e repetibilidade ( $RSD < 2\%$ ), um limite de detecção instrumental (LDI) de  $25.3 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $96.2 \mu\text{g L}^{-1}$  e um limite de quantificação (LQI) de  $84.4 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $3208.1 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, para RC1 e RC2. Estes valores correspondem respectivamente à concentração do analito cujo sinal é igual ao branco mais 3 e 10 vezes o desvio padrão (Miller e Miller, 2000). Contudo para algumas amostras a concentração de CB foi inferior ao LOQ do método analítico por

injecção directa, sendo por isso necessário recorrer a um método de pré-concentração de amostra.

A extracção em fase sólida, SPE, é o método mais utilizado para a extracção e concentração de analitos polares em amostras de águas (Boxall *et al.*, 2004), e foi o método utilizado para concentrar a CB nas soluções em estudo neste trabalho (ver ponto 3. *Metodologia experimental*). Para tal, testaram-se 2 cartuchos de SPE construídos a partir de materiais diferentes, que incluíam a sílica modificada, LiChrolut® RP-18 e materiais poliméricos, Oasis® HLB. Adicionalmente, foi testado para cada cartucho, dois valores de pH da amostra (2 e 7).

A figura 20 (Anexo B) sumariza a eficiência dos cartuchos de SPE testados.

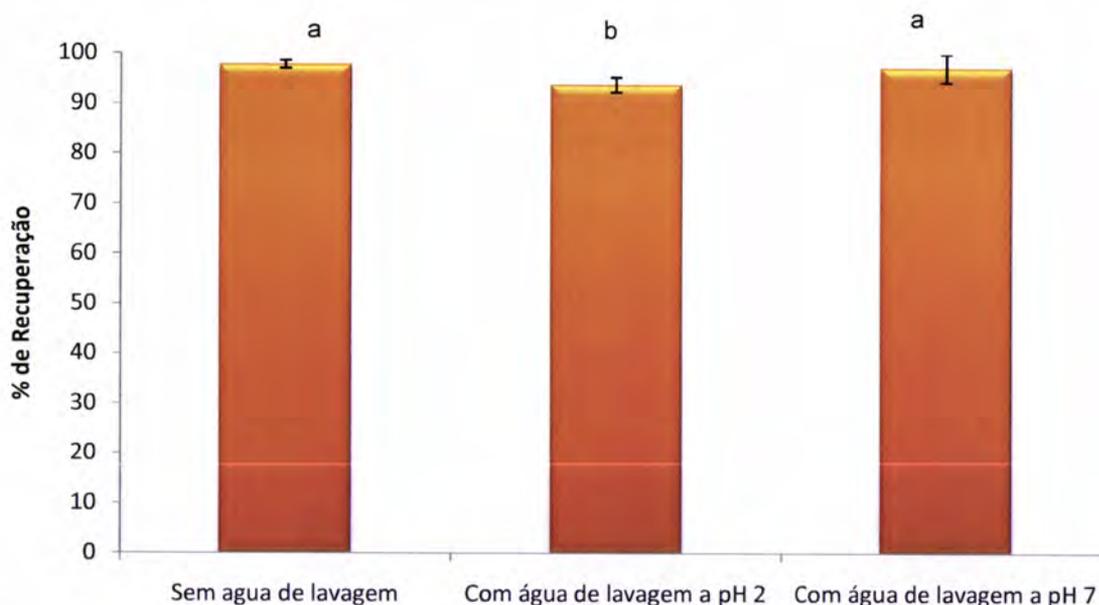


**Figura 20-** Eficiência de recuperação da CB para os diferentes cartuchos de SPE, a diferentes valores de pH. As barras de erro verticais indicam  $\pm$  DP (n= 9). As diferentes letras representam valores significativamente diferentes (P <0.05).

Da análise da figura 20 verifica-se que o valor de pH da amostra não afectou a recuperação da CB para os cartuchos Lichrolut® RP-18, embora com os cartuchos Oasis® HLB tenham sido alcançados valores mais elevados de recuperação para um pH de 7.0. Os valores ligeiramente superiores obtidos com os cartuchos Lichrolut® RP-18 para as amostras com pH de 7.0 não foram, no entanto, estatisticamente diferentes dos obtidos com os Oasis® HLB para o mesmo valor de pH (Anexo B). Assim, dado que os cartuchos Lichrolut® RP-18 são mais baratos, estes foram os usados na extracção e concentração das amostras.

Porque na bibliografia alguns autores sugerem que um passo de lavagem com água, após a percolação da amostra através do cartucho, pode permitir a eliminação de alguns interferentes presentes na matriz e aumentar a percentagem de recuperação dos fármacos no pré-tratamento por SPE (Rial-Otero *et al*, 2007; Cueva-Mestanza *et al.*, 2008), foram feitos alguns estudos adicionais para avaliar esse efeito. Assim para o cartucho LiChrolut® RP18 foi avaliada a taxa de recuperação de CB num pré-tratamento por SPE (i) sem passo de lavagem e (ii) com um passo de lavagem com água a um pH de 2.0 ou de 7.0. Os resultados obtidos encontram-se apresentados na figura 21, que mostra que há diferenças significativas quando se introduz um passo de lavagem com água a um pH de 2.0, traduzido numa perda no valor da percentagem de recuperação da CB.

Por outro lado, um passo de lavagem com água a um pH de 7.0 não conduziu a alterações significativas na recuperação da CB (figura 21, Anexo B).



**Figura 21-** Eficiência de recuperação da CB para o cartucho LiChrolut® RP-18, sem passo de lavagem e com um passo de lavagem com água a pH 2.0 e 7.0. As barras de erro verticais indicam  $\pm$  DP ( $n=9$ ). As diferentes letras representam valores significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

Para testar a possibilidade de decréscimo na recuperação de CB, quando se introduzem volumes crescentes de solução aquosa no cartucho LiChrolut® RP-18, realizaram-se várias experiências fazendo variar o volume (2.0; 10.0 e 25.0 mL) da

amostra (água e efluente), mas mantendo a mesma quantidade final de CB. Depois da eluição do analito, deixou-se secar o cartucho, redissolveu-se para uma concentração final de  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  e analisou-se por HPLC/UV-Vis. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 10.

**Tabela 10-** Influência do volume de amostra na recuperação de CB ( $\pm$  DP; n=9), usando o cartucho LiChrolut® RP-18. As diferentes letras indicam valores significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) (Anexo B).

Volume (mL)	% Recuperação de CB
2.0	$98.1 \pm 1.0^a$
10.0	$97.8 \pm 0.80^a$
25.0	$96.9 \pm 1.7^a$

Os valores médios da taxa de recuperação apresentados na tabela 10 mostram que o aumento de volume, tem uma influência não significativa nas taxas de recuperação da CB.

O limite de quantificação do método analítico completo (incluindo o passo de pré-concentração) foi de  $3.45 \mu\text{g L}^{-1}$  para RC1 (Anexo A), o qual foi suficientemente baixo para a quantificação da CB neste estudo.

## 4.2 Avaliação da capacidade de remoção de CB em LCMs plantados com *Typha* spp. ou *Phragmites australis*

### 4.2.1 Caracterização físico-química do meio filtrante e do efluente

O meio filtrante utilizado nos ensaios realizados em leitos com plantas foi a LECA 2/4. A LECA 2/4 foi escolhida para meio filtrante dos leitos porque estudos prévios mostraram que este material possui uma boa capacidade de remoção de alguns compostos orgânicos (ex. fármacos), enquanto outros materiais frequentemente utilizados não demonstraram resultados tão satisfatórios (Dordio *et al.*, 2009a; Dordio *et al.*, 2007). Os critérios de selecção da matriz de suporte utilizada foram então, além da elevada capacidade de retenção de diversos compostos orgânicos referida acima, também a sua elevada capacidade tampão e uma adequada condutividade hidráulica, aliados a um baixo custo de aquisição. A caracterização físico-química deste material encontra-se descrita no Anexo C. A

LECA é um material argiloso, composto por vários minerais, apresentando deste modo uma composição mineralógica bastante complexa. É um material de elevada porosidade, tal como se pode visualizar na figura 22, a qual resulta da libertação de bolhas de gás aquando do tratamento térmico durante a sua produção (Dordio *et al.*, 2009a; Drizo *et al.*, 1999; Brix *et al.*, 2001).



**Figura 22-** Imagem da LECA obtida através de microscópio electrónico de varrimento (Dordio *et al.*, 2009a).

A LECA (2/4) usada nos ensaios foi bastante uniforme em termos do tamanho das partículas com um valor de coeficiente de uniformidade ( $U=1.32$ ) muito próximo da unidade e desta forma com a maioria das suas partículas (93.3 %) possuindo diâmetros compreendidos entre os 2.83-5.00 mm, valores que vão de encontro aos usados noutros estudos para materiais a usar como matrizes em LCMs (Vymazal *et al.*, 1998; Sundaravadivel e Vigneswaran, 2001). A LECA apresentou uma alcalinidade pronunciada (pH em água de  $9.93\pm 0.02$ ). Estas características podem ser atribuídas à presença de componentes alcalinos tais como óxidos e carbonatos, tal como foi verificado numa caracterização mineralógica por difracção de raios-X (Dordio *et al.*, 2009). A porosidade aparente (ou espaço vazio) da LECA é elevada ( $46\%\pm 1$ ), o que permite maiores áreas de contacto com a solução e pode contribuir para a boa condutividade hidráulica medida ( $7.7\times 10^{-3} \text{ m}^3.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ).

A água residual utilizada nos ensaios foi recolhida após a etapa de tratamento secundário numa ETAR de uma pequena comunidade rural. Alguns dos parâmetros de caracterização do efluente doméstico usado são apresentados na tabela 11.

**Tabela 11-** Parâmetros de caracterização ( $\pm$  DP, n = 5) do efluente utilizado nos ensaios.

Pârametros	Média $\pm$ DP
pH	8.06 $\pm$ 0.05
SST (mg L <sup>-1</sup> )	47 $\pm$ 3
CQO <sub>t</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	127 $\pm$ 2
CQO <sub>d</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	76 $\pm$ 2

SST – Sólidos Suspensos Totais; CQO<sub>t</sub> – Carência Química em Oxigênio Total; CQO<sub>d</sub> - Carência Química em Oxigênio Dissolvido.

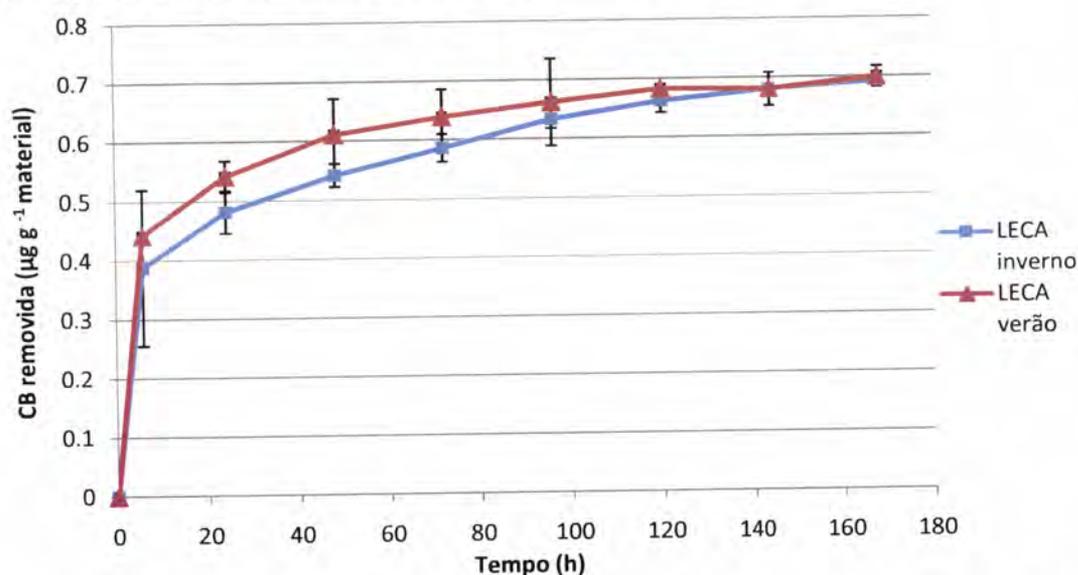
A carga orgânica e os sólidos suspensos desta água residual foram de certa forma elevados aquando da recolha, mas ainda assim dentro dos limites legais de descarga em meios hídricos (DL 236/98).

#### 4.2.2 Cinética de remoção da CB em solução aquosa

Foram estudados alguns factores que influenciam o funcionamento dos LCMs, com o objectivo de determinar a sua eficiência na remoção do fármaco CB de efluentes domésticos. Assim foram realizados ensaios para avaliar a influência de: i) tempo de retenção; ii) absorção da CB pelas plantas; iii) condições sazonais (inverno e verão).

##### *Remoção de CB pela LECA (ensaios de verão e Inverno)*

Na figura 23 (Anexo D) mostra-se a variação da remoção da CB pela LECA ao longo do tempo de ensaio nas condições de verão e inverno.

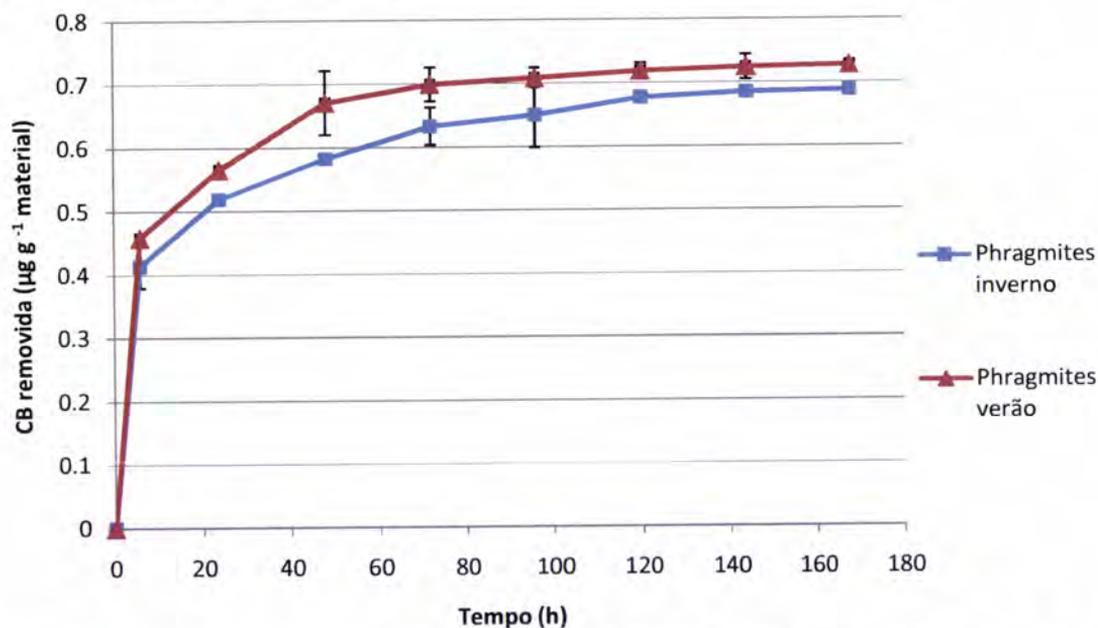


**Figura 23-** Cinética de remoção da CB em leitos com LECA, sem plantas, no período de inverno e verão. As barras de erro indicam  $\pm$  DP (n=9).

A cinética é caracterizada por um passo inicial rápido resultante da adsorção da CB sobre a superfície da LECA, através do qual a maior parte do composto é removido nas primeiras 6 horas. Subsequentemente, um processo mais lento é responsável pela remoção adicional de CB que estabiliza a tempos de equilíbrio que rondam as 96-120 horas (figura 23). Este processo mais lento estará associado a fenômenos de difusão, através dos quais o composto é adsorvido no interior da estrutura dos grânulos da LECA. Da observação da figura 23 verifica-se também que a cinética no período de inverno é, como se esperaria, ligeiramente mais lenta do que no verão, embora a remoção final do composto seja similar.

### Remoção de CB em leitos plantados

Na figura 24 (Anexo D) mostra-se a variação da remoção da CB nos leitos plantados com *Phragmites australis* em LECA ao longo do tempo de ensaio nas condições de verão e inverno.

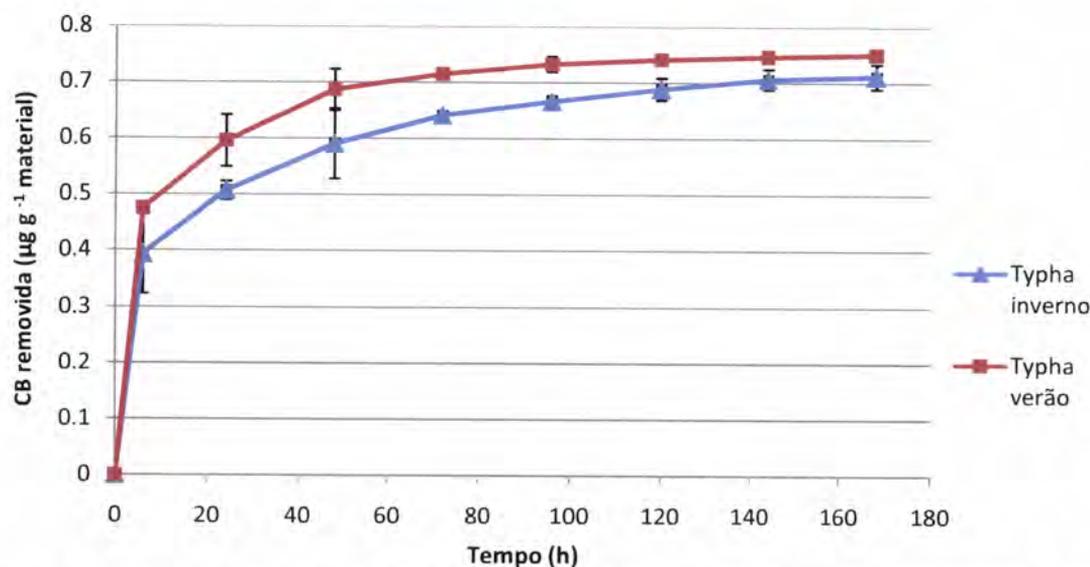


**Figura 24-** Cinética de remoção da CB em leitos com LECA, plantados com *Phragmites australis*, no período de inverno e verão. As barras de erro indicam  $\pm$  DP (n=9).

A cinética é também caracterizada por um passo inicial rápido resultante da adsorção da CB sobre a superfície da LECA, verificando-se que, do total da quantidade de CB removida, mais de 50% é retida na LECA logo durante as primeiras 6 horas. Subsequentemente, um processo mais lento é responsável pela remoção adicional de CB que estabiliza a tempos de equilíbrio que rondam as 72-

120 horas. Da observação da figura 24 verifica-se ainda que a cinética no período de inverno é também mais lenta do que no verão, como é normal, mas verificou-se nos leitos plantados com *Phragmites australis* que a remoção final do composto no período de verão foi superior à observada no inverno, em contraste com o que tinha sido obtido nos leitos de LECA não plantados. Tal facto deverá estar relacionado com uma maior rapidez dos fenómenos de adsorção a temperaturas mais altas no período de verão, mas também a uma actividade vegetativa mais elevada das plantas e ao aumento da sua transpiração, o que também é indicativo da contribuição das plantas nos processos de remoção do composto.

Na figura 25 (Anexo D) mostra-se a variação da remoção da CB nos leitos de LECA plantados com *Typha* spp., ao longo do tempo de ensaio nas condições de verão e inverno.



**Figura 25-** Cinética de remoção da CB em leitos com LECA, plantados com *Typha* spp., no período de inverno e verão. As barras de erro indicam  $\pm$  DP (n=9).

O comportamento cinético observado nos leitos de LECA plantados com *Typha* spp. é muito semelhante ao já observado anteriormente nos leitos plantados com *Phragmites australis*.

Para se poder efectuar a comparação da performance obtida em cada um dos tipos de leitos, nomeadamente os não-plantados, plantados com *Phragmites australis* e plantados com *Typha* spp., apresentam-se na tabela 12 as remoções médias obtidas para cada leito nos períodos de inverno e verão.

**Tabela 12-** Percentagem de remoção (média±DP; n=9) de CB nos diferentes leitos no período de inverno e verão após um tempo de retenção de 168 h.

Sistema	Época	% Remoção
<i>Typha spp.</i>	Inverno	84.3 ± 2.6
	Verão	88.9 ± 0.2
<i>Phragmites australis</i>	Inverno	81.5 ± 0.1
	Verão	86.2 ± 0.6
LECA	Inverno	82.0 ± 0.2
	Verão	82.8 ± 2.1

Entre as condições de inverno e verão obtiveram-se remoções de 84.3-88.9%, 81.5-86.2% e 82.0-82.8% para os leitos com *Typha spp.*, *Phragmites australis* e LECA, respectivamente. No ensaio realizado no inverno verificou-se que os valores de remoção são semelhantes para os leitos sem plantas e os leitos plantados. Por outro lado, nos ensaios de verão nota-se um aumento da remoção de CB, em relação aos valores de Inverno, e maior diferença entre a remoção final nos leitos com plantas e sem plantas. Sendo assim, as condições de eficiência máxima de remoção verificam-se nos ensaios com plantas e durante o período de verão. Este facto poderá dever-se, principalmente, às diferenças de temperatura e a diferenças do estado vegetativo das plantas entre os dois períodos. A taxa de transpiração é a variável chave que determina a taxa de absorção de compostos orgânicos como a CB a partir da solução i.e. uma taxa de transpiração mais elevada no verão possibilita que a absorção do composto se processe a uma taxa mais elevada.

Os compostos xenobióticos não possuem transportadores específicos nas membranas celulares e, conseqüentemente, são transportados unicamente de uma forma passiva por difusão. Existem características de hidrofobicidade adequadas para este tipo de transporte e que consistem em valores de  $\log K_{ow}$  entre 0.5 e 3.5, correspondentes a uma hidrofobicidade moderada (Pilon, 2005). Compostos hidrofílicos ( $\log K_{ow} < 0.5$ ) têm pouca tendência a atravessar o ambiente hidrofóbico das membranas celulares, enquanto que compostos com uma elevada hidrofobicidade ( $\log K_{ow} > 3.5$ ) são retidos nestas e têm pouca tendência a sofrer

transferência para o ambiente aquoso extramembranar (Pilon, 2005). A CB é uma substância moderadamente hidrofóbica ( $\log K_{ow} = 2.45$ ) e portanto é razoável admitir que, pelo menos em parte, a sua remoção nos leitos plantados seja devido à sua absorção pelas plantas e translocação através do sistema vascular. Contudo, apesar de nos leitos com plantas a remoção ser maior, a diferença é inferior a 10%. Como tal a remoção deve-se principalmente aos processos físicos que ocorrem na matriz de suporte, situação esta que estará relacionada com a escala do ensaio e estado vegetativo das plantas.

Após as 96 h a remoção do composto nos leitos com plantas e sem plantas começa a atingir um equilíbrio. Nas primeiras horas a remoção é essencialmente devida aos processos físicos que ocorrem na matriz de suporte mas a partir das 96 horas, o sistema evolui para uma remoção mais eficiente proporcionada pela presença das plantas. Nota-se ainda que a remoção de CB é superior no período de verão e mais evidente nos leitos com plantas, algo que seria esperado uma vez que as temperaturas altas de verão afectam a cinética dos processos envolvidos na remoção do composto (adsorção mais rápida, estado vegetativo mais activo, aumento da transpiração das plantas, maior actividade microbiana, maior evapotranspiração).

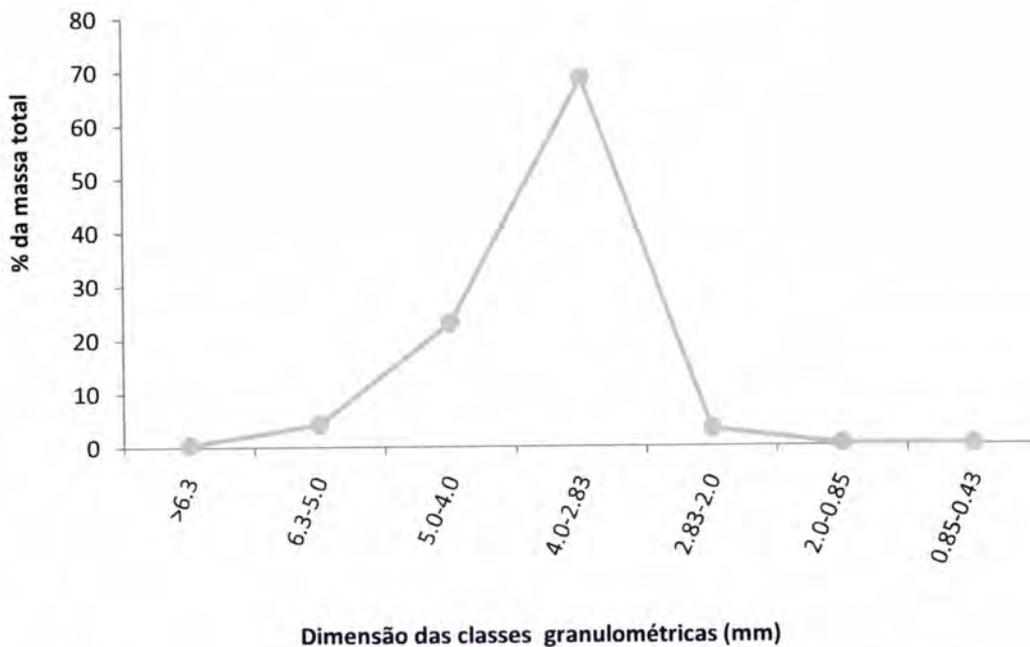
### **4.3 Ensaio de avaliação da capacidade de remoção de CB pela cortiça**

#### **4.3.1 Caracterização físico-química**

A utilização de bioadsorventes como filtros no tratamento de águas e efluentes líquidos pode apresentar funções adicionais que vão para além da simples filtração. A sua elevada área superficial pode permitir a retenção de poluentes por fenómenos de adsorção para além de poder constituir um suporte para o crescimento da população microbiana bem como para o desenvolvimento das plantas no caso da sua aplicação como matriz de suporte em LCMs. A capacidade de adsorção dos bioadsorventes depende, no entanto, das propriedades químicas e físicas do material escolhido. Assim, neste trabalho foram realizados ensaios utilizando cortiça granulada (ponto 3.3), para avaliar a capacidade desta poder ser utilizada como meio filtrante e/ou matriz de suporte em LCMs. O granulado de cortiça é um subproduto de um dos principais sectores económicos em Portugal. Este é um material barato que já demonstrou ter uma boa capacidade de adsorção

de vários poluente orgânicos nomeadamente pesticidas (Domingues *et al.*,2005; Silva *et al.*, 2005; ; Domingues *et al.*, 2007; Mestre *et al.*, 2007). A aplicação ambiental que se pretende estudar neste trabalho poderá constituir uma interessante forma de aproveitamento destes resíduos, contribuindo também para uma maior valorização económica do material.

Para caracterizar em termos de granulometria o material usado, determinaram-se as suas classes granulométricas, nomeadamente o tamanho efectivo das partículas ( $d_{10}$  e  $d_{60}$ ) e o coeficiente de uniformidade ( $d_{60}/d_{10}$ ) das amostras utilizadas. Na figura 26 apresenta-se, para a cortiça usada nos ensaios, a distribuição das partículas pelas classes granulométricas.



**Figura 26-** Distribuição, em percentagem da massa total das amostras (n=3), pelas diferentes classes granulométricas avaliadas por crivagem.

O tamanho efectivo das partículas ( $d_{10}$  e  $d_{60}$ ) e o coeficiente de uniformidade ( $d_{60}/d_{10}$ ) podem ser estimados a partir da figura 27, a qual evidencia as percentagens da massa que passou por cada crivo.

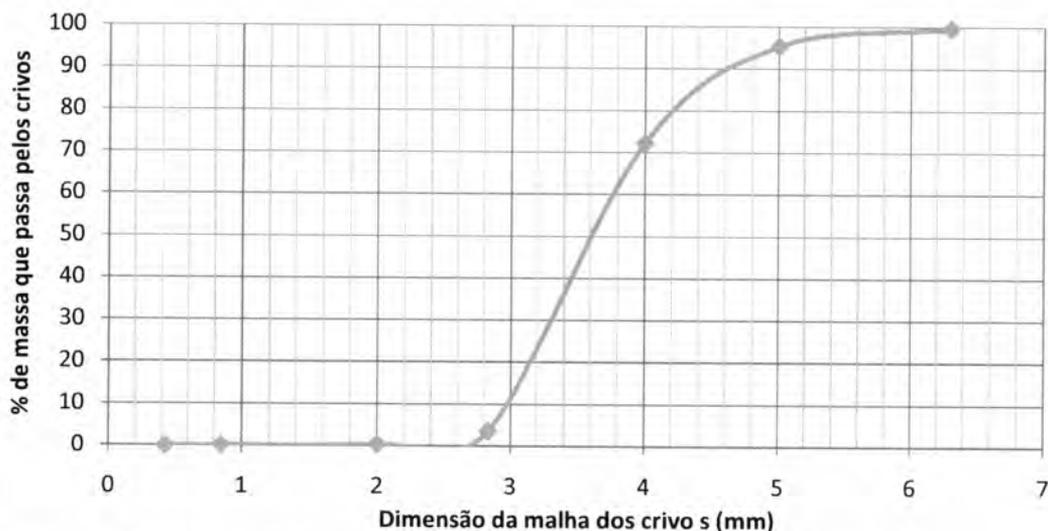


Figura 27- Percentagens médias da massa das amostras (n=3) que passou por cada crivo.

Assim, podemos concluir que a cortiça usada nos ensaios foi bastante uniforme em termos do tamanho das partículas com um valor de coeficiente de uniformidade de ( $U=1.25$ ) muito próximo da unidade e desta forma com a maioria das suas partículas (92%) possuindo diâmetros compreendidos entre os 5.0-2.83 mm. O pH em água da cortiça foi de  $5.32 \pm 0.16$ .

Outras características determinadas nas amostras de cortiça utilizadas, encontram-se na tabela 13.

Tabela 13- Algumas características físico-químicas avaliadas para a cortiça.

Características	Cortiça
$d_{10}$ (mm)	3.00
$d_{60}$ (mm)	3.75
Porosidade (%)	$52 \pm 2$
Densidade aparente ( $\text{kg m}^{-3}$ )	$77 \pm 3$
Condutividade a $20^\circ\text{C}$ ( $\text{mS cm}^{-1}$ )	$0.072 \pm 0.002$

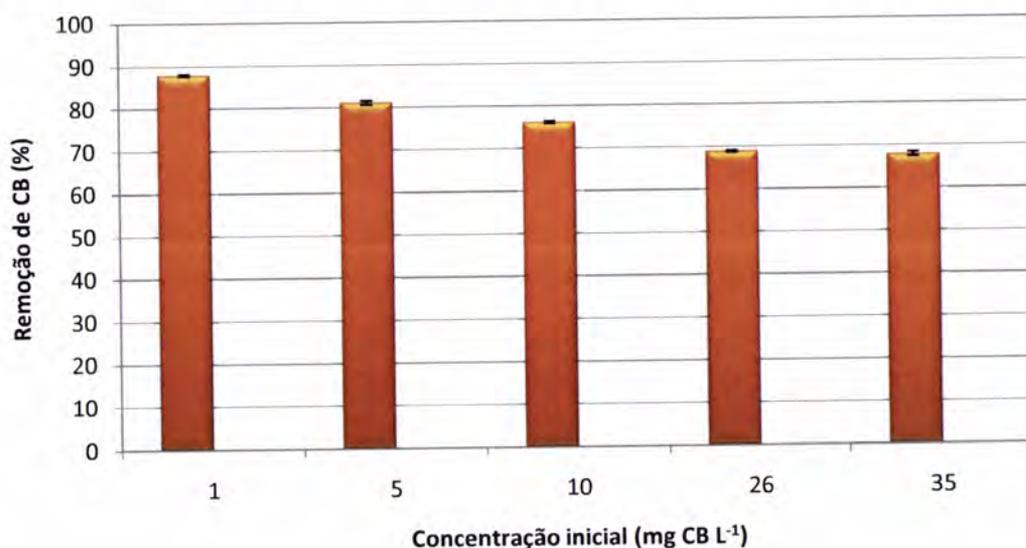
Os valores de  $d_{10}$ ,  $d_{60}$  e coeficiente de uniformidade ( $d_{60}/d_{10}$ ) são a média de 3 análises. Os valores de porosidade, condutividade eléctrica e densidade aparente correspondem à média  $\pm$  DP ( $n = 5$ ).

#### 4.3.2 Ensaios em solução aquosa contendo CB

Tal como descrito na secção 3.3.2 foram realizados ensaios em solução aquosa na proporção 1:10 (m/v; cortiça/solução aquosa), contendo CB nas concentrações de: 1.0; 5.0; 10; 26 e 35  $\text{mg CB L}^{-1}$ , preparadas a partir de uma

solução padrão de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ . O ensaio teve a duração total de 144 horas e foram tiradas várias amostras ao fim de diferentes períodos (6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas), com o objectivo de avaliar a evolução da remoção de CB com o tempo de contacto da solução com o material.

A duração total dos ensaios foi de 144 horas, pois verificou-se que passado esse tempo não se registava qualquer aumento na remoção do composto estudado. Deste modo, as leituras por HPLC/UV-Vis foram efectuadas após: 0, 6, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. As percentagens de remoção da CB, em solução aquosa, obtidas para a cortiça após 144 horas são apresentadas na figura 28 (Anexo E).



**Figura 28-** Remoção de CB pela cortiça para as diferentes concentrações do composto em água, após 144h de tempo de retenção. As barras de erro indicam  $\pm$  DP (n=9).

Da observação da figura 28 verifica-se que a percentagem de remoção de CB pela cortiça é elevada. Os valores mais altos de remoção da CB foram alcançados para a concentração de  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  com valores de 88% para a percentagem de remoção, enquanto os valores mais baixos foram obtidos para a concentração de  $35 \text{ mg L}^{-1}$  com apenas 68% de remoção do composto a partir da solução.

É também visível através da figura 28 que a percentagem de remoção decresce com o aumento da concentração inicial de composto em solução aquosa como seria de esperar. No entanto, apesar das menores remoções percentuais para concentrações em solução mais elevadas, as quantidades absolutas removidas continuam a aumentar com o aumento da concentração inicial. De facto, parece haver uma relação linear entre a quantidade removida e a concentração inicial, para

a gama de concentrações testada, o que demonstra que a capacidade de adsorção da cortiça ainda não está esgotada mesmo para concentrações de CB em solução bastante elevadas (ex. 35 mg L<sup>-1</sup>) (figura 29; Anexo E).

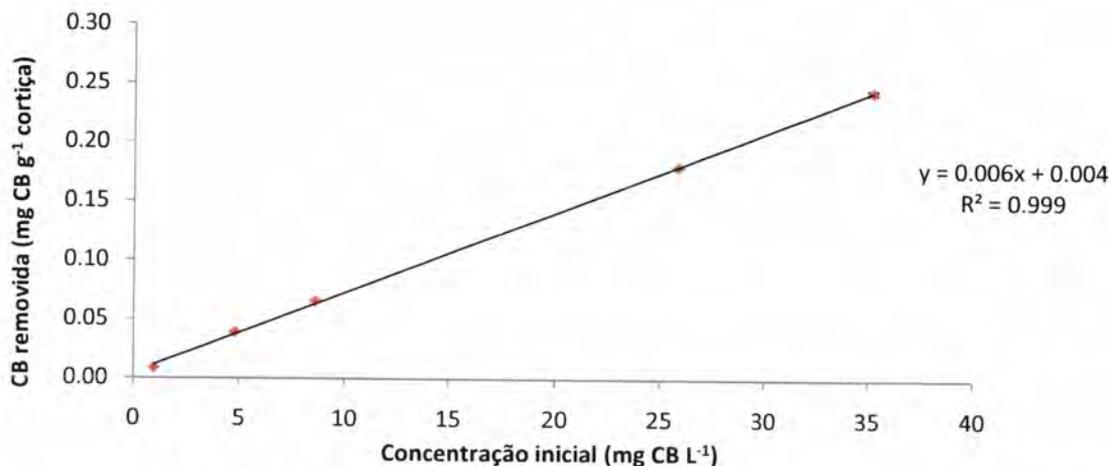


Figura 29- Relação entre a quantidade de CB removido e a concentração inicial deste composto em solução aquosa. Média  $\pm$  DP (n=9).

O tempo de contacto e a concentração do fármaco a remover são factores de extrema importância neste estudo. Assim, fez-se um estudo cinético da remoção de CB pela cortiça nos ensaios realizados.

Na figura 30 (Anexo E) apresenta-se a evolução da concentração de CB removida ao longo do tempo, para as várias concentrações em solução aquosa.

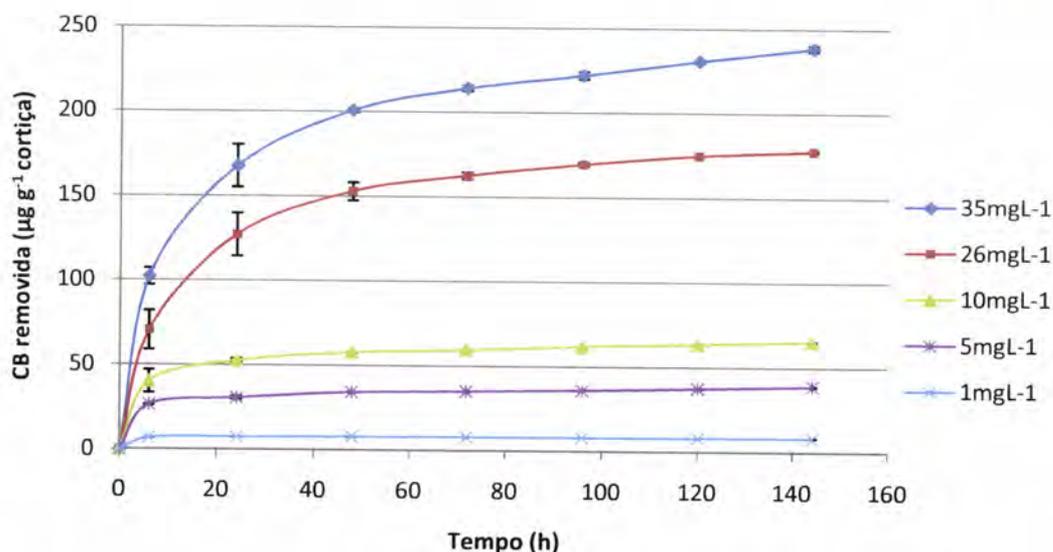


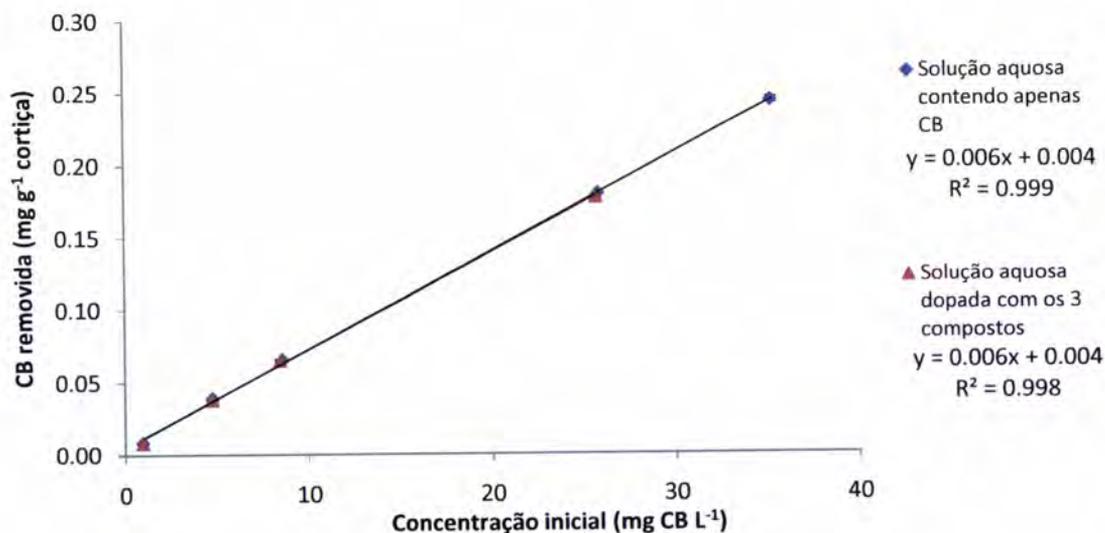
Figura 30- Cinética de remoção da CB em solução aquosa. As barras de erro indicam  $\pm$  DP (n=9).

Em todos os ensaios a cinética de remoção da CB caracterizou-se por um passo inicial rápido (as primeiras 6 horas) atribuído essencialmente à adsorção do composto sobre a superfície da cortiça. Subsequentemente, um processo mais lento é responsável pela remoção do restante composto, o qual estabiliza a concentrações de equilíbrio que rondam as 48-72 horas de tempo de contacto. A partir deste período de contacto as remoções não aumentaram significativamente.

### **Ensaio em solução aquosa contendo CB e outros fármacos**

De forma a verificar interferências provenientes da presença de outros compostos em solução (ex. outros fármacos), foram ainda realizados ensaios (ver ponto 3.3.2) contendo em solução aquosa, para além da CB, mais dois fármacos bastante frequentes em efluentes domésticos (ibuprofeno e ácido clofibríco), (Rabiet *et al.*, 2006; Moder *et al.*, 2007; Miège *et al.*, 2009).

A capacidade de remoção da CB pela cortiça em solução aquosa foi estudada na presença de ibuprofeno e ácido clofibríco, exactamente nas concentrações de: 1.0; 5.0; 10; 26 e 35 mg L<sup>-1</sup>. (figura 31; Anexo E).



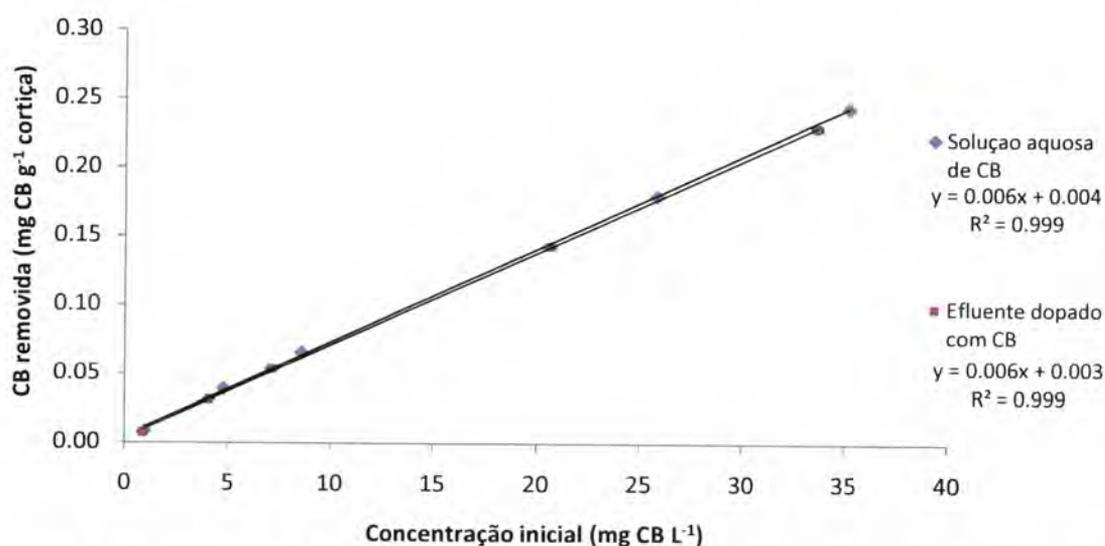
**Figura 31-** Remoção de CB a partir de soluções aquosas contendo apenas CB ou soluções contendo CB, ibuprofeno e ácido clofibríco, após 144 h de tempo de retenção. Média ± DP (n=9).

Na figura 30 notou-se existir uma relação aproximadamente linear entre a concentração inicial de CB e a concentração removida. Na figura 31 percebemos que essa linearidade se mantém, quando na presença de outros fármacos e que os

valores de remoção da CB são semelhantes. Destes resultados podemos concluir que a presença dos fármacos ibuprofeno e ácido clofíbrico não diminuem a capacidade de remoção da CB pela cortiça na gama de concentrações estudada.

### **Ensaio com efluente doméstico contendo CB**

De forma a verificar interferências provenientes da composição dos efluentes domésticos, foram ainda realizados ensaios em condições idênticas às descritas no ponto acima, mas usando efluente doméstico dopado com CB. As concentrações testadas foram exactamente as mesmas avaliadas nos ensaios descritos acima.



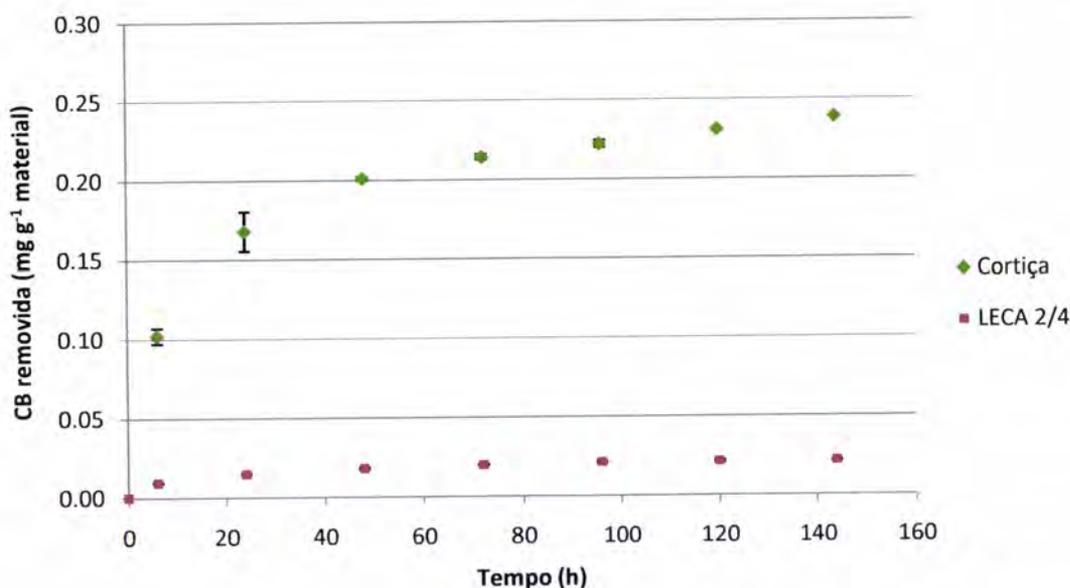
**Figura 32-** Remoção de CB a partir de soluções aquosas contendo apenas CB ou soluções contendo efluente doméstico dopado com CB, após 144 h. Média  $\pm$  DP (n=9).

Da figura 32 (Anexo E) pode observar-se novamente uma relação aproximadamente linear entre a concentração inicial de CB no efluente e a quantidade de CB removida por g de cortiça o que nos indica que a capacidade de remoção de CB, mesmo a concentrações mais elevadas, não é grandemente afectada pela composição mais complexa do efluente (em relação à solução aquosa). Apesar dos valores de remoção obtidos no efluente serem ligeiramente inferiores aos obtidos quando temos o composto apenas em água, não parece haver uma perda de eficiência significativa da cortiça neste meio.

### Comparação da cinética e capacidade de remoção de CB de soluções aquosas (LECA vs cortiça)

Com o objectivo de comparar a capacidade da cortiça como matriz sólida a usar em LCMs com a de outros suportes sólidos já estudados como a LECA, comparou-se o comportamento cinético da remoção de CB por estes dois materiais para a concentração inicial mais elevada ( $35 \text{ mg L}^{-1}$ ) de CB em água e avaliou-se a quantidade removida de CB por grama de adsorvente para diferentes concentrações iniciais.

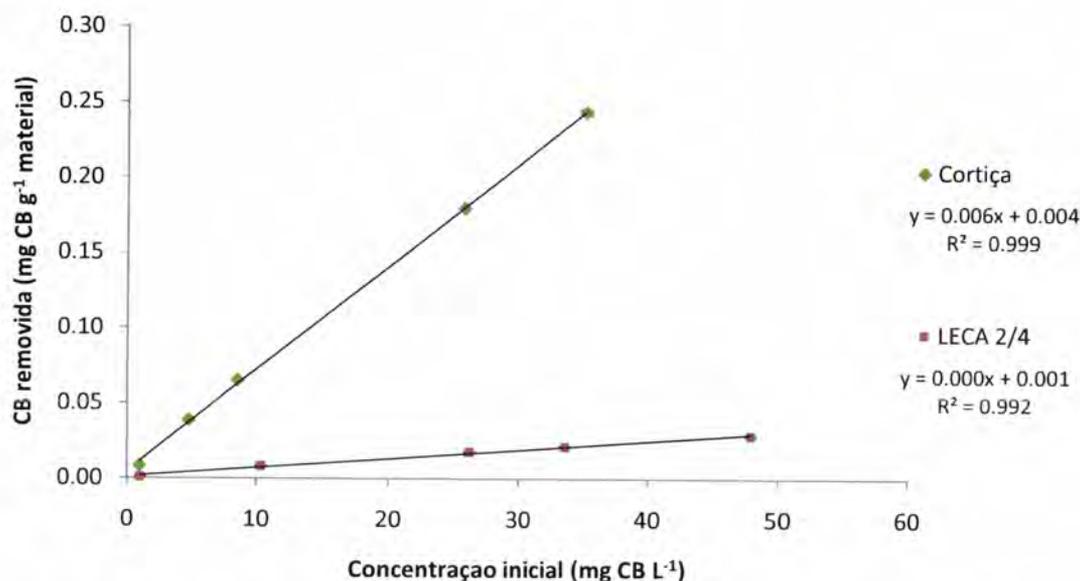
Na figura 33 (Anexo F) apresenta-se um estudo comparativo do adsorvente usado neste trabalho, cortiça, e de um material anteriormente estudado, LECA (Dordio *et al.* 2009a).



**Figura 33-** Cinética de remoção da CB pela cortiça e pela LECA 2/4 para uma concentração inicial em solução aquosa de  $35 \text{ mg L}^{-1}$ . Média  $\pm$  DP (n=9).

Para ambos os materiais verificou-se um aumento relativamente rápido da quantidade de CB removida, decorridas 6 horas do início do ensaio. No entanto é óbvia a grande diferença encontrada, relativamente aos valores da quantidade de CB removida por grama de material, entre a LECA e a cortiça. De qualquer modo, o perfil cinético é semelhante em ambos os casos. Verifica-se ainda que o equilíbrio para a remoção do composto se atinge em ambos os materiais entre as 72h e 96h,

sendo que a partir deste período de contacto o aumento na remoção é pouco significativo.



**Figura 34-** Relação entre a quantidade de CB removida pela LECA e pela cortiça para as diferentes concentrações de CB em água.

Da figura 34 (Anexo F) verifica-se que, por grama de material, a quantidade de CB removida é bastante superior para a cortiça em relação à LECA. Além disso, com o aumento da concentração inicial, verifica-se um mais acentuado aumento da quantidade removida pela cortiça do que pela LECA. Em ambos os casos, no entanto, a relação entre CB removida e a inicial segue uma tendência linear.

Embora os grânulos de cortiça comprovadamente apresentem elevadas eficiências de remoção, a sua potencial utilização como matriz de suporte em LCMs depende também de outras propriedades como, por exemplo, a condutividade hidráulica, que terão que ser avaliadas. No caso da cortiça, a sua baixa densidade é dos principais problemas a equacionar nos aspectos técnicos da montagem de um sistema de LCMs. Outro aspecto a analisar será a adaptação das plantas a este tipo de material de suporte.

## 5. Conclusões

No presente estudo avaliou-se a eficiência de um microcosmos de leitos construídos de macrófitas, utilizando como matriz de suporte a LECA e plantado com *Typha* spp. ou *Phragmites australis*, para a remoção de carbamazepina de efluentes domésticos, tendo-se obtido elevadas eficiências de remoção deste fármaco, o que demonstrou o potencial deste tipo de sistemas para tratar efluentes com este tipo de poluentes.

Verificou-se que a matriz de suporte, LECA 2/4, foi responsável pela remoção da maior parte da carbamazepina presente no efluente, mas a presença tanto da *Typha* spp. como de *Phragmites australis* contribuíram para uma remoção adicional do fármaco, obtendo-se valores máximos de remoção próximos de 90% (leitos plantados com *Typha* spp. e condições de verão).

As plantas também contribuíram para que o processo de remoção se tornasse ligeiramente mais rápido nos leitos plantados. A cinética do processo de remoção caracterizou-se por um passo inicial mais rápido (durante as primeiras 6h de contacto), evoluindo depois para uma etapa mais lenta em que a quantidade de carbamazepina removida tende a estabilizar ao fim de 120 h.

Verificou-se existir uma influência das condições sazonais na performance destes sistemas biológicos, com uma diminuição quer da eficiência quer da velocidade de remoção da carbamazepina durante a estação de Inverno. Este efeito da sazonalidade está muito provavelmente relacionado com os ciclos vegetativos das plantas, uma vez que estes efeitos são principalmente notórios nos leitos plantados indicando uma menor sensibilidade à temperatura dos processos de sorção. Por outro lado, dada a baixa biodegradabilidade da carbamazepina, não é de prever que as variações sazonais da actividade microbiana se possam considerar uma importante influência no comportamento observado. Dada a menor sensibilidade dos processos de sorção à temperatura e a importante contribuição destes processos na remoção da carbamazepina, verifica-se assim que a matriz de suporte desempenha um relevante papel na atenuação dos efeitos inerentes à sazonalidade e consequentemente na performance do sistema, em contraste com outro tipo de processos de tratamento biológico. Comprova-se, portanto, que a selecção do material usado como matriz de suporte em leitos construídos de

macrófitas é um passo decisivo para a obtenção de uma melhor performance deste tipo de sistemas.

Com o objectivo de procurar otimizar o papel da matriz de suporte, procurou-se ainda neste trabalho avaliar materiais alternativos com maior eficiência do que a LECA, nomeadamente entre uma classe de materiais que têm, ultimamente, atraído um crescente interesse – os bioadsorventes. Neste contexto, testaram-se as propriedades de sorção da carbamazepina exibidas por um seleccionado granulado de cortiça. Este material demonstrou elevada eficiência de remoção, muito superior aos valores exibidos pela LECA, o que o qualificam como um material alternativo com elevado potencial. No entanto, para a sua utilização como matriz de suporte em leitos construídos de macrófitas, é ainda necessária a realização de estudos mais aprofundados sobre algumas das suas características, nomeadamente a condutividade hidráulica, a adequação deste material para o crescimento de plantas, entre outras.

Este trabalho constitui uma abordagem inicial à potencial utilização destes leitos para a remoção de fármacos de efluentes. No entanto, a sua possível aplicação a uma escala real exige a realização de estudos adicionais destes sistemas em condições de campo. Será necessário, no dimensionamento dos leitos a uma escala real, estudar a optimização dos parâmetros de operação e avaliar o comportamento do sistema para períodos mais prolongados de funcionamento. Em condições reais é de esperar alguma perda de eficiência em relação às condições mais ideais usadas neste estudo, mas os resultados promissores aqui obtidos permitem encarar o desempenho deste tipo de sistemas com algum optimismo.

Foi ainda conseguido neste estudo uma optimização adequada das metodologias analíticas indispensáveis à quantificação da CB em solução aquosa (água e efluente). Para quantificar a CB em solução aquosa foi necessário otimizar um procedimento de pré concentração da amostra, testando a eficiência de remoção da CB por diferentes cartuchos de SPE (LiChrolut® RP-18 e Oasis® HLB), a diferentes valores de pH. Após a análise estatística dos resultados, concluiu-se que os valores mais elevados de recuperação foram conseguidos com os cartuchos LiChrolut® RP-18, para amostras com um pH de 7.0.

## Bibliografia

- Aga, D. S. (2008). Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Amaya-Chavez, A., Martinez-Tabche, L., Lopez-Lopez, E., Galar-Martinez, M. (2006). Methyl parathion toxicity to and removal efficiency by *Typha latifolia* in water and artificial sediments. *Chemosphere* 63, 1124-1129.
- Andreozzi, R., Raffaele, M., Nicklas, P. (2003). Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50, 1319-1330.
- Ashton, D., Hilton, M., Thomas, K V. (2004). Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333, 167-184.
- AWWA – American Water Works Association, American Society of Civil Engineers (1998). *Water Treatment Plant Design, Third Edition*. McGraw-Hill. EUA.
- Balcke, G. U., Turunen, L. P., Geyer, R., Wenderoth, D. F., Schlosser, D. (2004). Chlorobenzene biodegradation under consecutive aerobic–anaerobic conditions. *FEMS Microbiology Ecology* 49 (1) 109-120
- Barceló, D., Hennion, M. C., (1997). Trace Determination of Pesticides and Their Degradation Products in Water. Amsterdam: Elsevier, 542.
- Barceló, D., Petrovic, M. (2008). Emerging contaminants from industrial and municipal waste. Occurrence, Analysis and Effects. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Barker, S.A., (2000). Matrix solid-phase dispersion. *J. Chromatogr. A* 885, 115-127.
- Behrends, L. L., Bailey, E., Jansen, P., Houke, L., Smith, S. (2007). Integrated constructed wetland systems: design, operation, and performance of low-cost

decentralized wastewater treatment systems. *Water Science & Technology* 55 (7), 155–161.

Belmont, M. A., Cantellano, E., Thompson, S., Williamson, M., Sánchez, A., Metcalfe, C. D. (2004). Treatment of domestic wastewater in a pilot-scale natural treatment system in central Mexico. *Ecological Engineering* 23, 299–311.

Benz, D., Paxéus, N. A., Ginn, T. R., Loge, F. J. (2005). Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. *J. Hazard. Mater.* 122, 195-204.

Benotti, M. J., Brownawell, B. J. (2007). Distributions of Pharmaceuticals in an Urban Estuary during both Dry- and Wet-Weather Conditions. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5795-5802.

Benotti, M. J., Trenholm, R. A., Vanderford, B. J., Holady, J. C., Stanford, B. D., Snyder, S. A. (2009). Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in U.S. Drinking Water. *Environ. Sci. Technol.* 43, 597-603.

Bila, D. M., Dezotti, M. (2003). Fármacos no meio ambiente. *Quim. Nova*, 26(4), 523-530.

Boxall, A. B. A. (2004). The environmental side effects of medication. *EMBO reports* 5 1110- 1116.

Boxall, A. B., Fogg, L. A., Blackwell, P., Kay, P., Pemberton, E. (2004). Croxford A. Veterinary medicines in the environment. *Rev Environ Contam Toxicol.* 180, 1-91.

Braeckevelt, M., Mirschel, G., Wiessner, A., Rueckert, M., Reiche, N., Vogt, C., Schultz, A., Paschke, H., Kusch, P., Kaestner, M. (2008). Treatment of chlorobenzene-contaminated groundwater in a pilot-scale constructed wetland. *Ecological Engineering* 33 (1), 45-53.

- Braskerud, B. C., Haarstad, K. (2003). Screening the retention of thirteen pesticides in a small constructed wetland. *Water Sci. Technol.* 48, 267-274.
- Brisson, J., Chazarenc, F. (2008). Maximizing pollutant removal in constructed wetlands: Should we pay more attention to macrophyte species selection? *Science of the Total Environment*, em publicação.
- Brix, H., Arias, C. A., del Bubba, M. (2001). Media selection for sustainable phosphorus removal in subsurface flow constructed wetlands. *Water Sci. Technol.* 44, 47-54.
- Brix, H., Arias, C. A. (2005). Danish guidelines for small-scale constructed wetland systems for onsite treatment of domestic sewage. *Water Science & Technology* 51 (9), 1–9.
- Bueno, M. J. M., Agüera, A., Hernando, M. D., Gómez, M. J., Fernández-Alba, A. R. (2009). Evaluation of various liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap-mass spectrometry operation modes applied to the analysis of organic pollutants in wastewaters. *Journal of Chromatography* 1216 (32), 5995-6002.
- Cabral, U. (2004). *Caracterização e optimização de sistemas de tratamento de águas residuais por leitos de macrófitas, no Distrito de Castelo Branco*. Relatório do trabalho fim de curso, Escola Superior Agrária, Castelo Branco, Portugal.
- Calheiros, C. S. C., Rangel, A. O. S. S., Castro P. M. L. (2008). Evaluation of different substrates to support the growth of *Typha latifolia* in constructed wetlands treating tannery wastewater over long-term operation. *Bioresource Technology* 99, 6866–6877.
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J. M. (2008). Comparison of predicted and measured concentrations of selected pharmaceuticals, fragrances and hormones in Spanish sewage. *Chemosphere* 72, 1118-1123.

Carballa, M., Omil, F., Lema, J. M., Llombart, M., García-Jares, C., Rodríguez, I., Gómez, M., Ternes, T. (2004). Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Res.* 38, 2918-2926.

Carlsson, C., Johansson, A. K., Bergman, G. A. K., Kühler, T. (2006). Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Science of the Total Environment* 364, 67– 87.

maxit Portugal(2009). Leca<sup>®</sup>. <http://www.maxit.pt/1366> (ultimo acesso: 22-08-2009).

Chen, H.C., Wang, P.L., Ding, W.H. (2008). Using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry to determine pharmaceutical residues in Taiwanese rivers and wastewaters. *Chemosphere* 72, 863-869.

Cheng,S., Vidakovic-Cifrek, Z., Grosse, W., Karrenbrock, F. (2002). Xenobiotics removal from polluted water by a multifunctional constructed wetland. *Chemosphere* 48, 415–418.

Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N. (2004). Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater. *Water Research* 38, 947-954.

Clara, M., Kreuzinger, N., Strenn, B., Gans, O., Kroiss, H. (2005). The solids retention time - a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants. *Water Research* 39, 97-106.

Comeau, F., Surette, C., Brun, G.L., Losier, R. (2008). The occurrence of acidic drugs and caffeine in sewage effluents and receiving waters from three coastal watersheds in Atlantic Canada. *Sci. Total Environ.* 396, 132-146.

Cooper, P. F., Job, G. D., Green, M. B., Shutes, R. B. E. (1996). *Reed Beds and Constructed Wetlands for Wastewater Treatment*. WRc Publications, Medmenham, Marlow, UK.

Botelho da Costa, J. (1991). *Caracterização e Constituição do Solo*. 4ª Edição. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa.

Costa, L. L., Ceballos, B. S. O., Meira, C. M. B. S., Cavalcanti, M. L. F. (2003). Eficiência de wetlands construídos com dez dias de detenção hidráulica na remoção de colifagos e bacteriófagos. *Revista de Biologia e Ciências da Terra* 3, 1-23.

Cueva-Mestanza R., Sosa-Ferrera Z., Torres-Padrón M. E., Santana-Rodríguez J.J. (2008). Preconcentration of pharmaceuticals residues in sediment samples using microwave assisted micellar extraction coupled with solid phase extraction and their determination by HPLC–UV. *Journal of Chromatography B* 863, 150-157.

Day, P. R. (1965). Particle fractionation and particle-size analysis. In: Black, C.A., Evans, D.D., Ensminger, L.E., White, J.L., Clark, F.E. (Eds.), *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, pp. 545–567.

Daughton, C. G., Ternes, T. A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environ. Health Perspect.* 107, 907-938.

Davies, L. C., Pedro, I. S., Novais J. M., Martins-Dias, S. (2006). Aerobic degradation of acid orange 7 in a vertical-flow constructed wetland. *Water Research* 40 2055-2063

Davis, L. (1998). *Agricultural Wastewater; A Handbook of constructed wetlands* 1, 907-938.

Decreto-Lei n.º 236/98 de 1 de Agosto. Diário da República 176/98 SÉRIE I-A. Ministério do Ambiente. Lisboa.

del Bubba, M., Arias, C.A., Brix, H. (2003). Phosphorus adsorption maximum of sands for use as media in subsurface flow constructed reed beds as measured by the Langmuir isotherm. *Water Res.* 37, 3390-3400.

Denny, P. (1997). Implementation of constructed wetlands in developing countries. *Water Science and Technology*, 35 (5), 27-34.

Dias, S. M. (1998). Tratamento de efluentes em zonas húmidas construídas ou leitos de macrófitas. *Biotecnologia Ambiental* 60, 14-20.

Dias, V., Pacheco, P., Soutinho, E. (2002). "FITO-ETARs: mecanismos de depuração e papel das plantas"; IV Congresso da Água, Porto.

Domingues, V. F., Priolo, G., Alves, A. C., Cabral, M. F., Delerue-Matos, C. (2007). Adsorption behavior of -cypermethrin on cork and activated carbon, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 42,649-654.

Domingues, V., Alves, A., Cabral, M., Delerue-Matos, C. (2005). Sorption behaviour of bifenthrin on cork. *Journal of Chromatography A* 1069, 127-132.

Dordio, A. V., Teimão, J., Ramalho, I., Carvalho, A. J. P., Candeias, A. J. E. (2007). Selection of a support matrix for the removal of some phenoxyacetic compounds in constructed wetlands systems. *Science of The Total Environment* 380 (1-3), 237-246.

Dordio, A., Carvalho, A. J. P., Pinto, A. P. (2008b). Decontamination of Pesticide-polluted Water by Constructed Wetlands. In *Pesticide Research Trends*. Albert B. Tennefy; Eds. Nova Science Publishers. Hauppauge, NY.

Dordio, A., Carvalho, A. J. P., Pinto, A. P. (2008b). Wetlands: Water "Living Filters"?, in: Russo, R.E. (Ed.), *Wetlands: Ecology, Conservation and Restoration*. Nova Science Publishers, Hauppauge, NY, USA, 15-72.

Dordio, A., Candeias, A. J. E., Pinto, A. P., da Costa, C. T., Carvalho, A. (2009a). Preliminary media screening for application in the removal of clofibric acid, carbamazepine and ibuprofen by SSF-constructed wetlands. *Ecological Engineering* 35, 290-302.

Dordio, A. V., Duarte, C., Barreiros, M., Carvalho, A. J. P., Pinto, A. P., da Costa, C. T. (2009b). Toxicity and removal efficiency of pharmaceutical metabolite clofibric acid by *Typha* spp. - Potential use for phytoremediation? *Bioresour. Technol.* 100, 1156-1161.

Drizo, A., Frost, C. A., Grace, J., Smith, K. A. (1999). Physico-chemical screening of phosphate-removing substrates for use in constructed wetland systems. *Water Res.* 33, 3595–3602.

Duarte, S. (2002). Estudo das Potencialidades das Zonas Húmidas Artificiais no Tratamento de Efluentes Aquícolas. Instituto Superior Técnico.

Esmeraldo, D. (1996). “RECICLAM: Recuperação de efluentes contaminados industriais com Leitões Artificiais de Macrófitas”. Seminário/Debate – A Engenharia Química e as Tecnologias de Protecção Ambiental, Ordem dos Engenheiros, Lisboa, Junho.

Farmacopeia Portuguesa VIII.

Fatta, D., Nikolaou, A., Achilleos, A., Meric, S. (2007). Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. *Trac-Trends Anal. Chem.* 26, 515-533.

Fent, K., Weston, A. A., Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.* 76, 122-159.

Focazio, M. J., Kolpin, D. W., Barnes, K. K., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Zaugg, S. D., Barber, L. B., & Thurman, M. E. (2008). A national reconnaissance for

pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States — II Untreated drinking water sources. *Sci. Total Environ.*, 402, 201-216.

Freitas, A., Viegas, S., Esmeraldo, D., Dias, S., Novais, J. (1996). Biodegradação de compostos nitrofenólicos em leitos de macrófitas. III Congresso Ibérico de Biotecnologia, Valladolid, 15-19.

Gebhardt, W., Schröder, H. Fr. (2007). Liquid chromatography–(tandem) mass spectrometry for the follow-up of the elimination of persistent pharmaceuticals during wastewater treatment applying biological wastewater treatment and advanced oxidation. *Journal of Chromatography A* 1160 (1-2), 34-43.

Gentili, A., Marchese, S., Perret, D. (2008). MS techniques for analyzing phenols, their metabolites and transformation products of environmental interest *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 27 888-903.

Giraud, F., Guiraud, P., Kadri, M., Blake, G., Steiman, R. (2001). Biodegradation Of Anthracene And Fluoranthene By Fungi Isolated From An Experimental Constructed Wetland For Wastewater Treatment. *Water Research* 33 (17), 4126-4136.

Gómez, M. J., Martínez Bueno, M. J., Lacorte, S., Fernández-Alba, A. R., Agüera, A. (2007). Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. *Chemosphere* 66, 993-1002.

Gros, M., Petrovic, M., Barceló, D. (2006a). Multi-residue analytical methods using LC-tandem MS for the determination of pharmaceuticals in environmental and wastewater samples: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 941-952.

Gros, M., Petrovic, M., Barceló, D.(2006b). Development of a multi-residue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. *Talanta* 70, 678-690.

Guerra, J. R., Ibarrola, O. G., (1996). Revisión del uso de macrófitas para el tratamiento de aguas residuales"; III Seminário Luso-Espanhol "A água e a agricultura mediterrânica. Vilamoura, Portugal.

Haberl, R., Grego, S., Langergraber, G., Kadlec, R. H., Cicalini, A. R., Martins-Dias, S., Novais, J. M., Aubert, S., Gerth, A., Thomas, H., Hebner, A. (2003). "Constructed wetlands for the treatment of organic pollutants." *J. Soil Sediment.* 3(2), 109-124.

Hadad, H., Maine, M. A., Bonetto, C. (2006). Macrophyte growth in a pilotscale constructed wetland for industrial wastewater treatment. *Chemosphere* 63, 1744-1753.

Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H.C., Jørgensen, S.E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere* 36, 357-393.

Hao, C., Lissemore, L., Nguyen, B., Kleywegt, S., Yang, P., Solomon, K. (2006). Determination of pharmaceuticals in environmental waters by liquid chromatography/electrospray ionization/tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 384, 505-513.

Hao, C., Clement, R., Yang, P. (2007). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry of bioactive pharmaceutical compounds in the aquatic environment-a decade's activities. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1247-1257.

Hatano, K., Frederick, D. J., Moore, J .A. (1994). Microbial ecology of constructed wetlands used for treating pulp mill wastewater. In "Wetlands Systems in Water Pollution Control". *Water Science & Technology*, Pergamon-IAWQ, 29 (4), 233-240.

Heberer, T. (2002a). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol. Lett.* 131, 5-17.

- Heberer, T.(2002b). Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *J. Hydrol.* 266, 175-189.
- Hernando, M. D., Heath, E., Petrovic, M., Barceló, D. (2006a). Trace-level determination of pharmaceutical residues by LC-MS/MS in natural and treated waters. A pilot-survey study. *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 985-991.
- Hernando, M. D., Mezcuca, M., Fernández-Alba, A. R., Barceló, D.(2006b). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* 69, 334-342.
- Hidalgo, J. C., Montano, J. J., Estrada, M. S. (2005). Recent applications of wastewater by means of aquatic plants. *Theoria* 14 (1), 17-25.
- Imfeld, G., Braeckevelt, M., Kusch, P., Richnow, H. H. (2009). Monitoring and assessing processes of organic chemicals removal in constructed wetlands. *Chemosphere* 74, 349–362.
- INFARMED (2008). Estatística do Medicamento 2007
- Johansson, L. (1997). The use of LECA (Light Expanded Clay Aggregates) for the removal of phosphorus from wastewater. *Water Science and Technology* 35: 87-93.
- Jones, O. A. H., Voulvoulis, N., Lester, J. N. (2001). Human pharmaceuticals in the aquatic environment - A review. *Environ. Technol.* 22, 1383-1394.
- Jones, O. A., Lester, J. N., Voulvoulis, N. (2005). Pharmaceuticals: a threat to drinking water? *Biothechnology* 23: 163-167
- Joss, A., Keller, E., Alder, A. C., Göbel, A., McArdell, C. S., Ternes, T., Siegrist, H. (2005). Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Res.* 39, 3139-3152.

- Kadlec, R. H. Knight, R. L. (1996). *Treatment Wetlands*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R .M., Guwy, A. J. (2008). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res.* 42, 3498-3518.
- Khetan, S. K., Collins, T. J. (2007). Human pharmaceuticals in the aquatic environment: A challenge to green chemistry. *Chem. Rev.* 107, 2319-2364.
- Kim, S. D., Cho, J., Kim, I. S., Vanderford, B. J., Snyder, S. A. (2007). Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Res.* 41, 1013-1021.
- Korkusuz E. (2005). Manual of practice on constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in Mediterranean countries. Technical report AVKR 5, MEDREUNET, Creta, Grécia, 300 pp.
- Kostopoulou, M., Nikolaou, A. (2008). Analytical problems and the need for sample preparation in the determination of pharmaceuticals and their metabolites in aqueous environmental matrices. *Trac-Trends Anal. Chem.* 27, 1023-1035.
- Koutsouba, V., Heberer, T., Fuhrmann, B., Schmidt-Baumler, K., Tsiipi, D., Hiskia, A. (2003). Determination of polar pharmaceuticals in sewage water of Greece by gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere* 51, 69-75.
- Kümmerer, K. (2001). Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. *Chemosphere* 45, 957-969.
- Kümmerer, K. (2008). *Pharmaceuticals in the environment: sources, fate, effects and risks*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Kümmerer, K. (2009). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use - present knowledge and future challenges. *J. Environ. Manage*, em publicação.

Kuster, M., López de Alda, M.J., Hernando, M.D., Petrovic, M., Martín-Alonso, J., Barceló, D. (2008). Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *J. Hydrol.* 358, 112-123.

Lacey, G., McMahon, C., Bones, J., Barron, L., Morrissey, A., Tobin J.M. (2008). An LC-MS method for the determination of pharmaceutical compounds in wastewater treatment plant influent and effluent samples. *Talanta* 75, 1089-1097.

Lanças, F. M. (2004). *Extração em Fase sólida (SPE)*. São Carlos: Editora Rima.

Langan, M. M., Hoagland, K. D. (1996). Growth responses of *Typha latifolia* and *Scirpus acutus* to atrazine contamination. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57, 307-314.

Langergraber, G., Prandtstetten, C., Pressl, A., Rohrhofer, R., Haberl, R. (2007). Optimization of subsurface vertical flow constructed wetlands for wastewater treatment. *Water Science & Technology* 55 (7), 71-78.

Larsen, T. A., Lienert, J., Joss, A., Siegrist, H. (2004). How to avoid pharmaceuticals in the aquatic environment. *J. Biotechnol.* 113, 295-304.

Leclercq, M., Mathieu, O., Gomez, E., Casellas, C., Fenet, H., Hillaire-Buys, D. (2009). Presence and Fate of Carbamazepine, Oxcarbazepine, and Seven of Their Metabolites at Wastewater Treatment Plants. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 56, 408-415.

Lee, H.B., Sarafin, K., Peart, T.E. (2007). Determination of  $\beta$ -blockers and  $\beta$ 2-agonists in sewage by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1148, 158-167.

Leikin, J. B., Paloucek, F. P. (2007). Poisoning and toxicology handbook. Informa Health Care, New York, NY, USA.

Lin, W. C., Chen, H. C., Ding, W. H. (2005). Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1065, 279-285.

Lishman, L., Smyth, S.A., Sarafin, K., Kleywegt, S., Toito, J., Peart, T., Lee, B., Servos, M., Beland, M., Seto, P. (2006). Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada. *Sci. Total Environ.* 367, 544-558.

Loraine, G. A., Pettigrove, M. E. (2006). Seasonal variations in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in Southern California. *Environ. Sci. Technol.* 40, 687-695.

Maine, M. A., Suñe, N., Hadad, H., Sánchez, G., Bonetto, C. (2009). Influence of vegetation on the removal of heavy metals and nutrients in a constructed wetland. *Journal of Environmental Management* 90, 355-363.

Matamoros, V., Garcia, J., Bayona, J. M. (2005). Behavior of selected pharmaceuticals in subsurface flow constructed wetlands: A pilot-scale study. *Environ. Sci. Technol.* 39, 5449-5454.

Matamoros, V., Bayona, J. M. (2006). Elimination of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Subsurface Flow Constructed Wetlands. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5811-5816.

Masbough, A., Frankowski, K., Hall, K. J., Duff, S. J. B. (2005). The effectiveness of constructed wetland for treatment of wood waste leachate. *Ecological Engineering* 25: 552-566.

Maurer, M., Escher, B. I., Richle, P., Schaffner, C., Alder, A. C. (2007). Elimination of beta-blockers in sewage treatment plants. *Water Res.* 41, 1614-1622.

Mazzola, M., Roston, D. M., Valentim, M. A. A. (2005). Uso de leitos cultivados de fluxo vertical por batelada no pós-tratamento de efluente de reactor anaeróbio compartimentado. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 9 (2), 276-283.

McLean, E. O. (1982). Soil pH and Lime Requirement. In: *Methods of Soil Analysis. Part 2: Chemical and Microbiological Properties*. Page, A.L.; Miller, R.H.; Keeney, D.R. (eds.). American Society of Agronomy. Madison, WI, EUA.

Mestre, A. S., Pires, J., Nogueira, J. M. F., Carvalho, A. P. (2007). Activated carbons for the adsorption of ibuprofen. *Carbon* 45, 1979-1988.

Miao, X. S., Metcalfe, C. D. (2003). Determination of carbamazepine and its metabolites in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 75, 3731-3738.

Miao, X. S., Yang, J. J., Metcalfe, C. D. (2005). Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* 39, 7469-7475.

Mackinney, M., Schoch, R. (2000). *Environmental Science*; Jones and Bartlett Publishers; Massachusetts.

Miège, C., Choubert, J. M., Ribeiro, L., Eusèbe, M., Coquery, M. (2009). Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants - Conception of a database and first results. *Environ. Pollut.* 157, 1721-1726.

Miller, J. N., Miller, J. C. (2000). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Prentice Hall, Harlow, UK.

Moder, M., Braun, P., Lange, F., Schrader, S., Lorenz, W. (2007). Determination of endocrine disrupting compounds and acidic drugs in water by coupling of derivatization, gas chromatography and Negative Chemical ionization mass Spectrometry. *Clean-Soil Air Water* 35, 444-451.

Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., Kiri, K., Takada, H. (2006). Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment. *Water Res.* 40, 3297-3303.

Nikolaou, A., Meric, S., Fatta, D. (2007). Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1225-1234.

Novais, J., Viegas, S., Freitas, A., Dias, S. (1996). *Tratamento de águas residuais industriais em sistemas de macrófitas*. BIOTEC 96, 15-19.

Novais, J. M., Dias, S. M. (2005). Soluções não convencionais de tratamento da águas residuais e lamas – os leitos de macrófitas. *APDA Seminários* 1-6

Nyquist, J., Greger, M. (2008). A field study of constructed wetlands for preventing and treating acid mine drainage. *Ecol. Eng.*, em publicação.

Osenbrück, K., Gläser, H. R., Knöller, K., Weise, S. M., Möder, M., Wennrich, R., Schirmer, M., Reinstorf, F., Busch, W., Strauch, G. (2007). Sources and transport of selected organic micropollutants in urban groundwater underlying the city of Halle (Saale), Germany. *Water Res.* 41, 3259-3270.

Packer, J. L., Werner, J. J., Latch, D. E., McNeill, K., Arnold, W. A. (2003). Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibrac acid, and ibuprofen. *Aquat. Sci.* 65, 342-351.

Palmer, P. M., Wilson, L. R., O'Keefe, P., Sheridan, R., King, T., Chen, C. Y. (2008). Sources of pharmaceutical pollution in the New York City Watershed. *Sci. Total Environ.* 394, 90-102.

Pavlovic, D. M., Babic, S., Horvat, A. J. M., Kastelan-Macan, M. (2007). Sample preparation in analysis of pharmaceuticals. *Trac-Trends Anal. Chem.* 26, 1062-1075.

Petrović, M.; Gonzalez, S.; Barceló, D. (2003). Analysis and Removal of Emerging Contaminants in Wastewater and Drinking Water. *Trends in Analytical Chemistry* 22 (10), 685-696.

Petrovic, M., Barceló, D. (2007). Analysis, fate and removal of pharmaceuticals in the water cycle. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.

Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56, 15-39.

Putschew, A., Jekel, M. (2007). Analysis of iodinated X-ray contrast media, in: Petrovic, M., Barceló, D. (Eds.), Analysis, fate and removal of pharmaceuticals in the water cycle. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 265-278.

Quinn, B., F. Gagné, and C. Blaise. (2004). Oxidative metabolism activity in *Hydra attenuata* exposed to carbamazepine. *Fresenius Environmental Bulletin* 13(8), 783–788.

Rabiet, M., Togola, A., Brissaud, F., Seidel, J. L., Budzinski, H., Elbaz-Poulichet, F. (2006). Consequences of Treated Water Recycling as Regards Pharmaceuticals and Drugs in Surface and Ground Waters of a Medium-sized Mediterranean Catchment. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5282-5288.

- Ramos, J. L., González-Pérez, M. M., Caballero, A., van Dillewijn, P. (2005). Bioremediation of polynitrated aromatic compounds: plants and microbes put up a fight *Current Opinion in Biotechnology* 16 (3), 275-281.
- Reemtsma, T., Quintana, J. B. (2006). Analytical methods for polar pollutants, in: Reemtsma, T., Jekel, M. (Eds.), *Organic pollutants in the water cycle*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany.
- Rial- Otero, R., Gaspar, E.M.; Moura; Capelo, J. L. (2007). Gas chromatography mass spectrometry determination of acaricides from honey after a new fast ultrasonic-based solid phase micro-extraction sample treatment. *Talanta* 71 (5), 1906-1914.
- Richardson, M. L., Bowron, J. M. (1985). The Fate of Pharmaceutical Chemicals in the Aquatic Environment. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 1-12.
- Roberts, P. H., Thomas, K. V. (2006). The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci. Total Environ.* 356, 143-153.
- Rodríguez-Mozaz, S.; Lopez de Alda M. J.; Barceló D. (2007). Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography–mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. *Journal of Chromatography* 1152, 97–115.
- Rollán, M. G. (1996). *Atlas Classificadorio de la Flora de España Peninsular Y Balear. Volume III*. Ministério de Agricultura, Pesca y Alimentacion. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Sacher, F., Lange, F. T., Brauch, H. J., Blankenhorn, I. (2001). Pharmaceuticals in groundwaters: Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *J. Chromatogr. A* 938, 199-210.

- SAMPAIO, G. (1988). Flora Portuguesa. Instituto Nacional de Investigação Científica. 3ª Edição. Fac. simile. Porto
- Santos, J. L. (2005). Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. *Analytica Chimica Acta* 550, 116-122.
- Santos, J. L., Aparicio, I., Alonso, E. (2007). Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain). *Environ. Int.* 33, 596-601.
- Scheytt, T., Mersmann, P., Lindstädt, R., Heberer, T. (2005). Determination of sorption coefficients of pharmaceutically active substances carbamazepine, diclofenac, and ibuprofen, in sandy sediments. *Chemosphere* 60, 245-253.
- Sherrard, R. M., Berr, J. S., Murray-Gulde, C. L., Rodgers Jr., J. H., Shah, Y. T. (2004). Feasibility of constructed wetlands for removing chlorothalonil and chlorpyrifos from aqueous mixtures. *Environmental Pollution* 127, 385-394.
- Silva, S. P., Sabino, M. A., Fernandes, E. M., Correlo, V. M., Boesel, L. F., Reis, R. L. (2005). Cork: properties, capabilities and applications. *International Materials Reviews* 50 (6), 345-365.
- Silvestre, A. J. D., Neto, C. P., Gandini, A. (2008). Cork and Suberins: Major Sources, Properties and Applications. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, 305-320.
- Silvestre, A., Pedro-de-Jesus, M. (2002). *Tratamento de águas residuais domésticas em zonas húmidas artificiais*; Instituto Superior Técnico.
- Skoog, D. A., Holler, F.J., Nieman, T.A. (1998). *Principles of Instrumental Analysis*; Saunders College & Company; United States of American.

Smith, R.M. (2003). Before the injection--modern methods of sample preparation for separation techniques. *J. Chromatogr. A* 1000, 3-27.

SRC (2009). SRC PhysProp Database. <http://www.srcinc.com/what-we-do/databaseforms.aspx?id=386> (last access: 21-08-2009).

Stackelberg, P. E.; Furlong, E. T.; Meyer, M. T.; Zaugg, S. D.; Henderson, A. K.; Reissman, D. B. (2004). Persistence of Pharmaceutical Compounds and Other Organic Wastewater Contaminants in a Conventional Drinking-Water-Treatment Plant. *Science of the Total Environment* 329, 99-113.

Stamatelatou, K., Frouda, C., Fountoulakis, M.S., Drillia, P., Kornaros, M., Lyberatos, G. (2003). Pharmaceuticals and health care products in wastewater effluents: the example of carbamazepine. *Water Recycl. Mediterr. Reg.* 3, 131-137.

Stottmeister, U., Wiessner, A., Kuschik, P., Kappelmeyer, U., Kastner, M., Bederski, O., Muller, R.A., Moormann, H. (2003). Effects of plants and microorganisms in constructed wetlands for wastewater treatment. *Biotechnol. Adv.* 22, 93-117.

Stumpf, M., Ternes, T.A., Wilken, R.D., Silvana, V.R., Baumann, W. (1999). Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci. Total Environ.* 225, 135-141.

Sundaravadivel, M., Vigneswaran, S. (2001). Constructed wetlands for wastewater treatment. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 31, 351-409.

Tanaka, N., Jinadasa, K. B. S. N., Werellagama, D. R. I. B., Mowjood, M. I. M., Ng, W. J. (2006). Constructed tropical wetlands with integrated submergent-emergent plants for sustainable water quality management. *J. Environ. Sci. Health* 41, 2221-2236.

- Taxe-Wuersch, A., De Alencastro, L. F., Grandjean, D., Tarradellas, J. (2005). Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Res.* 39, 1761-1772.
- Ternes, T. A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.* 32, 3245-3260.
- Ternes, T. A., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H. J., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U., Zulei-Seibert, N. (2002). Removal of Pharmaceuticals During Drinking Water Treatment. *Environmental Science & Technology* 36, 3855-3863.
- Thorstensen, C. W., Lode, O., Eklo, O. M., Christiansen, A. (2001). Sorption of Bentazone, Dichlorprop, MCPA and Propiconazole in Reference Soils from Norway. *Journal of Environmental Quality* 30, 2046-2052.
- Toet, S., Van Logtestijn, R. S. P., Schreijer, M., Kampf, R., Verhoeven, J. T. A. (2005). The functioning of a wetland system used for polishing effluent from a sewage treatment plant. *Ecological Engineering* 25 (1), 101-124.
- Torrens, A., Molle, P., Boutin, C., Salgot, M. (2009). Removal of bacterial and viral indicator in vertical flow constructed wetlands and intermittent sand filters. *Desalination* 246, (1-3) 169-178.
- Ulrich, S., & Martens, J. (1997). Chromatography assay Solid-phase microextraction with capillary gas-liquid and nitrogen-phosphorus selective detection for the of antidepressant drugs in human plasma. *Journal of chromatography B*, 696, 217-234.
- Valdés, B., Talavera, S., Galiano, E. F. (1987). Flora Vasculare de Andalucía Occidental, vol. III. Ketres Editora S.A. Barcelona.
- Vieno, N., Tuhkanen, T., Kronberg, L. (2007). Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. *Water Res.* 41, 1001-1012.

- Vieno, N .M., Tuhkanen, T., Kronberg, L. (2006). Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection. *J. Chromatogr. A* 1134, 101-111.
- Vymazal, J., Brix, H., Cooper, P. F., Green, M. B., Haberl, R. (1998). Constructed wetlands for wastewater treatment in Europe. Backhuys Publishers, Leiden, Holanda.
- Waggott, A. (1981). Trace organic substances in the River Lee, in: Cooper, W.J. (Ed.), Chemistry in water reuse. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI, USA, pp. 55-99.
- Watts, C. D., Crathorne, M., Fielding, M., Steel, C. P. (1983). Identification of non-volatile organics in water using field desorption mass spectrometry and high performance liquid chromatography, in: Angeletti, G., Bjørseth, A. (Eds.), Analysis of organic micropollutants in water. D. Reidel Pub. Co., Dordrecht, Netherlands, pp. 120-131.
- Weigel, S., Kallenborn, R., Hühnerfuss, H. (2004). Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1023, 183-195.
- Williams, J. B. (2002). Phytoremediation in Wetland Ecosystems: Progress, Problems, and Potential. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21(6), 607.
- Wilson, P. C., Whitwell, T., Klaine, S. J. (2000). Metalaxyl and simazine toxicity to and uptake by *Typha latifolia*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39, 282-288.
- Yang, M., Hubble, J., Lockett, A. D., Rathbone, R. R. (1997). Thermal Monitoring of Phenoxyacid Herbicide Adsorption on Granular Activated Carbon. *Water Research* 31 (9), 2356-2362.

- Zhang, Y., Geißen, S. U., Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere* 73, 1151-1161.
- Zhang, Z.L., Zhou, J.L. (2007). Simultaneous determination of various pharmaceutical compounds in water by solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1154, 205-213.
- Zhu, T., Jenssen, P. D., Mæhlum, T., Krogstad, T. (1997). Phosphorus Sorption and Chemical Characteristics of Lightweight Aggregates (LWA)-Potential Filter Media in Treatment Wetlands. *Water Science and Technology* 35, 103-108.
- Zorita, S., Boyd, B., Jönsson, S., Yilmaz, E., Svensson, C., Mathiasson, L., Bergström S. (2008). *Selective Determination of acidic pharmaceuticals in Wastewater using molecularly imprinted solid-phase extraction. Analytica Chimica Acta.* 626, 147-154.
- Zorita, S., Mårtensson, L., Mathiasson, L. (2009). Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Sci. Total Environ.* 407, 2760-2770.
- Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R. (2005). Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *J. Hazard. Mater.* 122, 205-209.

# Anexos

---

# Anexos

---

## A. Avaliação da capacidade de remoção de CB em LCMs

### *Doseamento da CB*

De modo a determinar a concentração de CB presente nas amostras foi necessário construir duas rectas de calibração com várias concentrações do padrão de CB. Fizeram-se 5 injeções no HPLC-UV, para cada réplica da solução padrão de CB.

Os valores médios estão apresentados na tabela seguinte:

### A1 – Recta de calibração 0.25-5.0 mg CB L<sup>-1</sup>

Tabela A1: Valores de concentração, área e desvio padrão utilizados para construção da recta de calibração de 0.25-5.0 mg CB L<sup>-1</sup>.

Concentrações (mg L <sup>-1</sup> )	Área média (mAu)	Desvio Padrão
0.25	137481.3	156.0
0.50	281908.7	109.0
0.75	435986.3	619.6
1.0	577283.3	1207.4
1.5	879530.3	2415.2
2.0	1169732.7	785.4
2.5	14492140.0	1715.7
3.0	1740664.0	3467.7
4.0	2311593.5	11316.0
5.0	2876926.0	4276.4

Para encontrar a melhor recta aplicável aos dados experimentais, fez-se uma análise de regressão linear com os valores médios das áreas do pico para cada uma das concentrações de padrão. A análise de regressão linear é apresentada de seguida:

### SUMÁRIO DOS RESULTADOS

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0.999955789
Quadrado de R	0.99991158
Quadrado de R ajustado	0.999900527
Erro-padrão	9072.481356
Observações	15

ANOVA					
	gl	SQ	MQ	F	F de significância
Regressão	1	7.44648E+12	7.44648E+12	90468.859	1.67141E-17
Residual	13	658479343.7	82309917.96		
Total	14	7.44714E+12			

	Coeficientes	Erro-padrão	valor P
Interceptar	2743.23434	4869.069142	0.588601317
Variável X 1	577214.028	1919.054553	1.67141E-17

Desta forma obteve-se a recta que se encontra na figura seguinte:

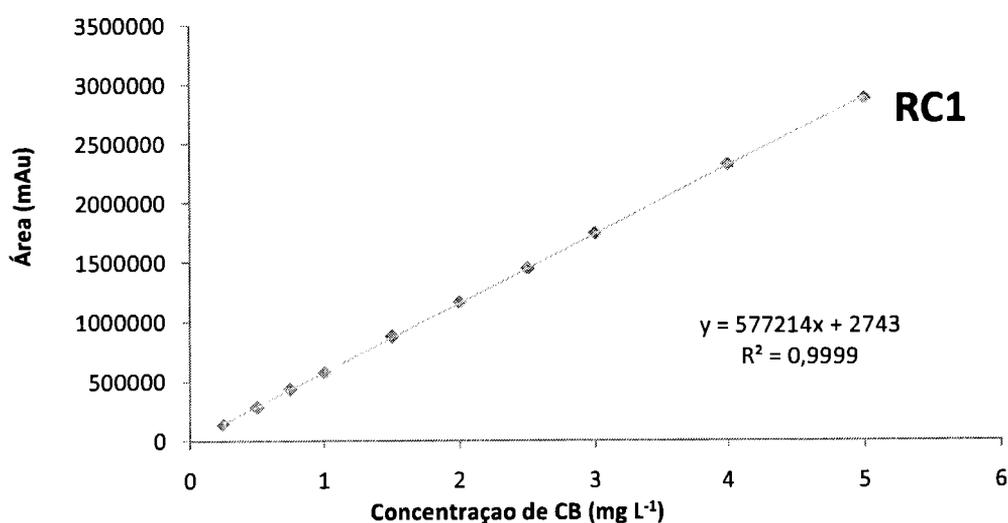


Figura A1: Recta de calibração da CB.

Assim, a partir da ordenada na origem, do declive e do desvio padrão é possível calcular o limite de detecção instrumental (LDI) e o limite de quantificação instrumental (LQI):

$$\text{LQI} = y_0 + 10 \times \text{DP} \leftrightarrow \text{LQI} = 2743 + 10 \times 4869 \leftrightarrow \text{LQI} = 51434$$

Sabendo que  $y = mx + b$ , temos que a concentração de carbamazepina correspondente ao valor de LQI é obtida da seguinte maneira:

$$y = mx + b \leftrightarrow 51434 = 577214x + 2743 \leftrightarrow x = 0.0844 \text{ mg L}^{-1} \text{ CB} \approx 84.4 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$$

$$\text{LDI} = y_0 + 3 \times \text{DP} \leftrightarrow \text{LDI} = 2743 + 3 \times 4869 \leftrightarrow \text{LDI} = 17350$$

Procedendo de forma análoga, temos que a concentração de CB para o LDI é de  $25.3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$

Por último, sabendo que o LQI é de 0.0844 mg L<sup>-1</sup>, determinou-se o LOQ. O limite de quantificação (LOQ) de todo o método analítico (incluindo o passo de concentração das amostras por SPE) foi calculado recorrendo à seguinte equação (Vieno *et al.*, 2006):

$$\text{LOQ} = (\text{LQI} \times 100) / (\text{Rec} (\%) \times C)$$

LOQ – Limite de Quantificação

LQI – Limite de Quantificação Instrumental (mg L<sup>-1</sup>);

% Rec – média da percentagem de recuperação da CB no passo de pré-concentração por SPE;

C - factor de concentração (foi o usado o valor máximo de 25).

Assim, sabendo o valor de LQI e sabendo que a % recuperação da CB por SPE é de 97.8%, obtemos o valor de LQO: 3.45 µg L<sup>-1</sup>

## A2 – recta de calibração 5.0-60 mg CB L<sup>-1</sup>

Tabela A2: Valores de concentração, área e desvio padrão utilizados para construção da recta de calibração de 5.0-60 mg CB L<sup>-1</sup>

Concentrações (mg L <sup>-1</sup> )	Área média (mAu)	Desvio Padrão
1	1032207.5	13649.3
5	4502487.5	146473.6
10	8211449.5	245323.8
20	16319310.5	1007599.6
35	26925014.5	385338.2
50	38230773.8	759468.8
60	45140752.3	1048865.8

## SUMÁRIO DOS RESULTADOS

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0.999770672
Quadrado de R	0.999541396
Quadrado de R ajustado	0.999449675
Erro-padrão	402331.8319
Observações	15

## ANOVA

	<i>gl</i>	<i>SQ</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>F de significância</i>
Regressão	1	1.764E+15	1.76401E+15	10897.65796	1.529E-09
Residual	13	8.094E+11	1.61871E+11		
Total	14	1.765E+15			

	<i>Coeficientes</i>	<i>Erro-padrão</i>	<i>valor P</i>
Ordenada na origem	765668.5592	239281.72	0.023998869
Declive	745869.1473	7144.8984	1.52948E-09

Desta forma obteve-se a recta que se encontra na figura seguinte:

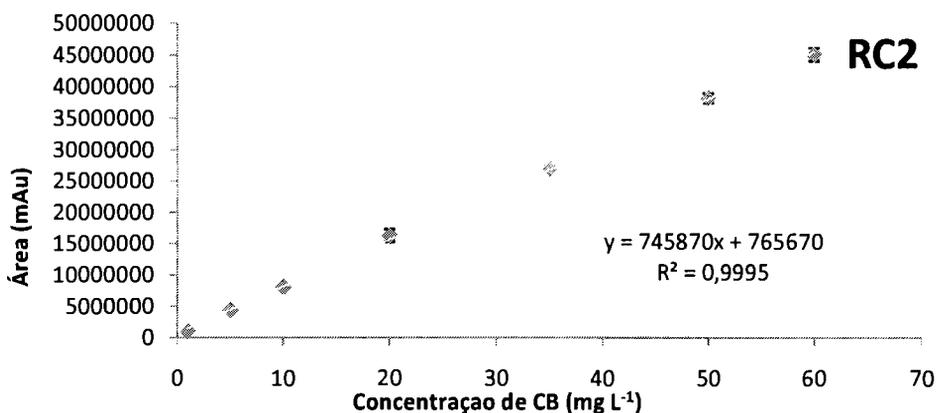


Figura A2: Recta de calibração da CB

Para esta recta, também a partir da ordenada na origem, do declive e do desvio padrão se calculou o limite de detecção instrumental (LDI) e o limite de quantificação instrumental (LQI):

$$LQI = y_0 + 10 \times DP \leftrightarrow LQI = 765670 + 10 \times 239281 \leftrightarrow LQI = 3158487$$

Sabendo que  $y = mx + b$ , temos que a concentração de carbamazepina correspondente ao valor de LQI é obtida da seguinte maneira:

$$y = mx + b \leftrightarrow 3158487 = 745870x + 765670 \leftrightarrow x = 3.2081 \text{ mg L}^{-1} \text{ CB} \approx 3208.1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$$

$$LDI = y_0 + 3 \times DP \leftrightarrow LDI = 765670 + 3 \times 239281 \leftrightarrow LDI = 1483515$$

Procedendo de forma análoga, temos que a concentração de CB para o LDI é de  $96.2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ .

## B. Otimização das condições de SPE

Tabela B1: Percentagens médias de recuperação de CB obtidas com os diferentes cartuchos de SPE testados aos diferentes valores de pH.

Condições	pH 2		pH 7	
	% recuperação média	Desvio padrão	% recuperação média	Desvio padrão
<b>LiChrolut C18</b>	97.15	1.31	97.81	0.79
<b>Oasis HLB</b>	89.30	1.79	95.94	3.61

Anova: factor único: comparação de eficiência para os cartuchos SPE Lichrolut RP-18 a pH 2 e pH 7.

Anova: factor único

### SUMÁRIO

Grupos	Contagem	Soma	Média	Variância
pH 2	9	1165.856	97.15467	1.713907
pH 7	9	1173.756	97.81301	0.625755

### ANOVA

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P	F crítico
Entre grupos	2.600417	1	2.600417	2.222899	0.150177	4.300944
Dentro de grupos	25.73629	16	1.169831			
Total	28.3367	17				

Anova: factor único: comparação de eficiência para os cartuchos SPE Oasis HLB a pH 2 e pH 7

### SUMÁRIO

Grupos	Contagem	Soma	Média	Variância
pH 2	9	1071.592	89.29936	3.192161
pH 7	9	1130.546	95.94107	23.2537

### ANOVA

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P	F crítico
Entre grupos	144.8125	1	144.8125	10.95162	0.003191	4.300944
Dentro de grupos	290.9045	16	13.22293			
Total	435.717	17				

Anova: factor único: comparação da eficiência dos cartuchos de SPE LiChrolut RP-18 e Oasis HLB para pH = 2

Anova: factor único

SUMÁRIO

<i>Grupos</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Lichrolut	9	1165.856	97.15467	1.713907
HLB	9	1071.592	89.29936	3,192161

ANOVA

<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	370.2362	1	370.2362	150.9299	2.53E-11	4.300944
Dentro de grupos	53.96676	16	2.453034			
Total	424.203	17				

Anova: factor único: comparação da eficiência dos cartuchos SPE LiChrolut RP-18 e Oasis HLB para pH = 7

Anova: factor único

SUMÁRIO

<i>Grupos</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
Lichrolut	9	1173.756	97.81301	0.625755
HLB	9	959.4107	95.94107	13.00843

ANOVA

<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	19.11347	1	19.11347	3.083834	0.094377	4.35125
Dentro de grupos	123.9591	16	6.197957			
Total	143.0726	17				

Alguns autores sugerem que um passo de lavagem com água, após a percolação da amostra através do cartucho, pode permitir a eliminação de alguns interferentes presentes na matriz e aumentar a percentagem de recuperação dos fármacos no pré-tratamento por SPE. Assim este parâmetro

foi avaliado para o cartucho LiChrolut RP18 comparando a recuperação de CB num pré-tratamento por SPE (i) sem passo de lavagem, (ii) com um passo de lavagem com água a pH de 2 e (iii) com um passo de lavagem com água a pH de 7 (tabela B2).

**Tabela B2: Percentagens médias de recuperação de CB com o cartucho SPE LiChrolut RP-18 testado sem água se lavagem, com água de lavagem a pH 2 e com água de lavagem a pH 7.**

Condições	% Recuperação média	Desvio Padrão
Sem água de lavagem	97.81	0.79
Água de lavagem, pH 2	93.76	1.50
Água de lavagem, pH 7	97.14	2.85

Anova: factor único: Comparação de eficiência para a Lichrolut com pH 7 (sem água de lavagem) e com água de lavagem a pH 7

Anova: factor único

#### SUMÁRIO

Grupos	Contagem	Soma	Média	Variância
S/água de lavagem	9	1173.756	97.81301	0.625755
C/ água de lavagem, pH 7	9	1165.691	97.14092	8.124676

#### ANOVA

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P	F crítico
Entre grupos	2.710237	1	2.710237	0.619452	0.439648	4.300944
Dentro de grupos	96.25475	16	4.375216			
Total	98.96498	17				

Anova: factor único: Comparação de eficiência para a Lichrolut com pH 7 (sem água de lavagem) e com água de lavagem a pH 2

Anova: factor único

#### SUMÁRIO

Grupos	Contagem	Soma	Média	Variância
S/água de lavagem	9	1173.756	97.81301	0.625755
C/ água de lavagem, pH 2	9	1125.092	93.75764	2.256062

ANOVA						
<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	98.67618	1	98.67618	68.48193	3.35E-08	4.300944
Dentro de grupos	31.69998	16	1.440908			
<b>Total</b>	<b>130.3762</b>	<b>17</b>				

Anova: factor único: Comparação de eficiência para a Lichrolut com pH 7 e com água de lavagem a pH 2 e pH 7

Anova: factor único

SUMÁRIO					
<i>Grupos</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>	
C/ água de lavagem, pH 2	9	1125.092	93.75764	2.256062	
C/ água de lavagem, pH 7	9	1165.691	97.14092	8.124676	

ANOVA						
<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	68.67948	1	68.67948	13.2321	0.001454	4.300944
Dentro de grupos	114.1881	16	5.190369			
<b>Total</b>	<b>182.8676</b>	<b>17</b>				

Para testar a possibilidade de decréscimo na recuperação de CB quando se utiliza grandes volumes de amostra realizaram-se várias experiências fazendo variar o volume das amostras. As percentagens médias da recuperação de CB estão apresentadas na tabela:

**Tabela B3 : Percentagem média da recuperação de CB obtida para cada volume testado**

<b>Volume (mL)</b>	<b>% Recuperação de CB</b>
<b>2</b>	<b>98.1 a ± 1.0</b>
<b>10</b>	<b>97.8 a ± 0.80</b>
<b>25</b>	<b>96.9 a ± 1.7</b>

Anova: factor único: comparação da eficiência de remoção entre os volumes de amostra: 10 e 25 mL

Anova: factor único

**SUMÁRIO**

<i>Grupos</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
<b>10 ml</b>	9	1173.756	97.81301	0.625755
<b>25 ml</b>	9	775.3587	96.91984	2.736823

**ANOVA**

<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	3.829178	1	3.829178	2.646789	0.121138	4.413863
Dentro de grupos	26.04107	16	1.446726			
<b>Total</b>	<b>29.87025</b>	<b>17</b>				

Anova: factor único: comparação da eficiência de remoção entre os volumes de amostra: 10 e 2 mL

Anova: factor único

**SUMÁRIO**

<i>Grupos</i>	<i>Contagem</i>	<i>Soma</i>	<i>Média</i>	<i>Variância</i>
<b>10 ml</b>	9	1173.756	97.81301	0.625755
<b>2 ml</b>	9	588.4674	98.0779	0.956541

**ANOVA**

<i>Fonte de variação</i>	<i>SQ</i>	<i>gl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>valor P</i>	<i>F crítico</i>
Entre grupos	0.280667	1	0.280667	0.384937	0.54371	4.493998
Dentro de grupos	11.66601	16	0.729126			
<b>Total</b>	<b>11.94668</b>	<b>17</b>				

### C. Caracterização da LECA

A LECA é obtida da expansão de grânulos de argila natural em fornos rotativos à temperatura de 1200°C. Através deste processo a argila transforma-se em grânulos esféricos com uma estrutura alveolar e uma superfície externa dura, porosa e de cor castanha (Johansson,1997; Zhu *et al.*,1997; Brix *et al.*, 2001). É usada como material de enchimento de blocos de construção e como material de isolamento térmico e acústico. Recentemente tem tido uma utilização crescente em processos de tratamento, nomeadamente como meio filtrante e como matriz de suporte em Leitos Construídos de Macrófitas (Johansson, 1997; Zhu *et al.*,1997; Brix *et al.*, 2001).

Tabela C1 – Valores estimados para o  $d_{10}$ , o  $d_{60}$ , o coeficiente de uniformidade e características da LECA (Dordio *et al.*, 2009a)

Meio filtrante	LECA 2/4
$d_{10}$ (mm)	3.00
$d_{60}$ (mm)	3.95
Coeficiente de Uniformidade (U)	1.32
Porosidade (%)	46 ± 1
Densidade aparente ( $\text{kg m}^{-3}$ )	486 ± 7
pH (em água)	9.93 ± 0.02
Condutividade a 20°C ( $\text{mS cm}^{-1}$ )	537 ± 15

Os valores de  $d_{10}$ ,  $d_{60}$  e coeficiente de uniformidade ( $d_{60}/d_{10}$ ) são a média de 3 análises. Os valores de porosidade e densidade aparente correspondem à média±DP ( $n = 5$ ). O pH e a condutividade eléctrica correspondem à média±DP ( $n = 4$ ).

## D. Eficiência de remoção da CB em LCMs

Tabela D1: Valores de concentração e de percentagem de CB removida ao longo do tempo para uma concentração de CB inicial de  $1\text{mg L}^{-1}$ , para os leitos com plantas e sem plantas para a época de inverno, verão e inverno (valores indicam a média; n=9)

LCMs	Resultados	<i>Typha</i>		<i>Phragmites</i>		LECA	
		Inverno	Verão	Inverno	Verão	Inverno	Verão
6	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{material}$ )	0.39	0.48	0.41	0.46	0.39	0.44
	Desvio Padrão	0.07	0.01	0.03	0.00	0.13	0.01
	CB removida (%)	46.7	56.3	49.0	54.3	45.9	52.3
	Desvio Padrão	8.3	1.7	4.1	1.3	5.7	2.3
24	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{material}$ )	0.51	0.60	0.52	0.56	0.48	0.54
	Desvio Padrão	0.02	0.05	0.01	0.01	0.04	0.03
	CB removida (%)	60.1	70.6	61.5	66.9	57.0	64.1
	Desvio Padrão	1.9	5.5	0.7	0.9	4.2	3.1
48	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{material}$ )	0.59	0.69	0.58	0.67	0.54	0.61
	Desvio Padrão	0.06	0.04	0.01	0.05	0.02	0.06
	CB removida (%)	70.1	81.4	69.0	79.4	64.2	72.4
	Desvio Padrão	7.4	4.4	0.5	6.0	2.3	7.1
72	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{material}$ )	0.64	0.72	0.63	0.70	0.57	0.64
	Desvio Padrão	0.01	0.01	0.03	0.03	0.02	0.05
	CB removida (%)	76.0	84.7	75.0	82.8	69.5	75.6
	Desvio Padrão	0.8	0.4	3.5	3.1	2.8	5.5
96	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{material}$ )	0.67	0.73	0.65	0.71	0.63	0.66
	Desvio Padrão	0.01	0.01	0.05	0.02	0.02	0.07
	CB removida (%)	79.0	86.9	77.0	84.0	75.0	78.4
	Desvio Padrão	1.2	1.6	6.0	1.8	1.8	8.8
120	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{material}$ )	0.69	0.74	0.68	0.72	0.66	0.68
	Desvio Padrão	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01
	CB removida (%)	81.6	87.9	80.2	85.1	78.4	80.8
	Desvio Padrão	2.3	1.1	1.0	1.5	2.4	0.5
144	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}\text{material}$ )	0.71	0.75	0.69	0.72	0.68	0.68
	Desvio Padrão	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01
	CB removida (%)	83.7	88.5	81.2	85.8	80.5	80.6
	Desvio Padrão	2.1	0.8	1.0	0.5	3.4	1.2

## Continuação da tabela D1

<b>168</b>	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ material)	0.71	0.75	0.69	0.73	0.69	0.70
	Desvio Padrão	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
	CB removida (%)	84.3	88.9	81.5	86.2	82.0	82.8
	Desvio Padrão	2.6	0.2	0.1	0.6	0.2	2.1

## E. Ensaio de avaliação da capacidade de remoção de CB pela cortiça

### Ensaio em solução aquosa contendo CB

Tabela E1: Valores de concentração e de percentagem de CB removida, em solução aquosa, obtidos para a cortiça para os vários tempos de retenção estudados (média; n=9).

Tempo de exposição (Horas)	Resultados	Concentração inicial de CB (mg L <sup>-1</sup> )				
		1	5	10	26	35
6	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ cortiça)	6.91	26.43	40.29	70.68	102.30
	Desvio Padrão	0.09	0.24	6.82	11.51	4.97
	CB removida (%)	71.3	55.1	46.9	27.3	29.1
	Desvio Padrão	0.9	0.5	7.9	4.5	1.4
24	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ cortiça)	7.60	30.71	52.69	127.18	167.91
	Desvio Padrão	0.06	0.80	1.18	12.78	12.57
	CB removida (%)	78.3	64.0	61.3	49.2	47.7
	Desvio Padrão	0.6	1.7	1.4	4.9	3.6
48	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ cortiça)	8.08	32.20	57.98	153.08	201.01
	Desvio Padrão	0.09	0.19	0.35	5.31	1.27
	CB removida (%)	83.4	71.2	67.4	59.2	57.1
	Desvio Padrão	0.9	0.4	0.4	2.1	0.4
72	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ cortiça)	8.22	35.15	59.77	162.72	214.32
	Desvio Padrão	0.03	0.16	0.20	2.14	1.67
	CB removida (%)	84.8	73.2	69.5	63.0	61.0
	Desvio Padrão	0.3	0.3	0.2	0.8	0.5
96	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ cortiça)	8.34	36.29	62.21	169.76	222.28
	Desvio Padrão	0.04	0.07	0.24	1.03	2.26
	CB removida (%)	85.9	75.6	72.3	65.7	63.1
	Desvio Padrão	0.4	0.1	0.3	0.4	0.6
120	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ cortiça)	8.43	37.49	63.95	175.03	230.86
	Desvio Padrão	0.23	0.11	0.16	0.29	0.84
	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ cortiça)	86.9	78.1	74.4	67.7	65.6
	Desvio Padrão	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2
144	CB removida ( $\mu\text{g g}^{-1}$ cortiça)	8.53	38.96	65.57	177.91	238.91
	Desvio Padrão	0.02	0.21	0.17	0.44	1.74
	CB removida (%)	87.9	81.2	76.1	68.8	67.9
	Desvio Padrão	0.2	0.4	0.2	0.2	0.5

### **Ensaio em solução aquosa contendo CB e outros fármacos**

Tabela E2: Valores de concentração de CB removida, em solução aquosa contendo apenas CB e em solução aquosa dopada com os 3 compostos (carbamazepina, ácido clofibríco e ibuprofeno após 144 horas (os valores representam a média; n=9).

Resultados		Concentração inicial de CB (mg L <sup>-1</sup> )				
		1	5	10	26	35
Solução aquosa apenas com CB	CB removida (mg g <sup>-1</sup> cortiça)	0.009	0.039	0.065	0.180	0.244
	Desvio Padrão	0.0001	0.0002	0.0002	0.0004	0.0016
Solução aquosa dopada com 3 compostos	CB removida (mg g <sup>-1</sup> cortiça)	0.008	0.038	0.065	0.178	-
	Desvio Padrão	0.0001	0.0004	0.0003	0.0003	-

### **Ensaio com efluente doméstico contendo CB**

Tabela E2: Valores de concentração de CB removida, em solução aquosa contendo apenas CB e em efluente dopado com CB, após 144 horas (os valores representam a média; n=9).

Resultados		Concentração inicial de CB (mg L <sup>-1</sup> )				
		1	5	10	26	35
Solução aquosa apenas com CB	CB removida (mg g <sup>-1</sup> cortiça)	0.009	0.039	0.065	0.180	0.244
	Desvio Padrão	0.0001	0.0002	0.0002	0.0004	0.0016
Efluente dopado com CB	CB removida (mg g <sup>-1</sup> cortiça)	0.007	0.031	0.053	0.143	0.229
	Desvio Padrão	0.0001	0.0001	0.0006	0.0009	0.0010

## F. Comparação da cinética e capacidade de remoção de CB em solução aquosa (LECA vs cortiça)

Tabela F1- Remoção da CB pela cortiça e pela LECA 2/4 para uma concentração inicial em solução aquosa de 35 mg L<sup>-1</sup> (os valores representam a média; n=9).

Tempo de exposição (Horas)	Resultados	Material	
		Cortiça	LECA
6	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.102	0.009
	Desvio Padrão	0.0050	0.0001
24	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.168	0.015
	Desvio Padrão	0.0126	0.0003
48	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.201	0.018
	Desvio Padrão	0.0013	0.0005
72	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.214	0.020
	Desvio Padrão	0.0017	0.0002
96	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.222	0.021
	Desvio Padrão	0.0023	0.0005
120	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.231	0.021
	Desvio Padrão	0.0008	0.0007
144	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.239	0.022
	Desvio Padrão	0.0003	0.0002

Tabela F2- Quantidade de CB removida pela LECA e pela cortiça para as diferentes concentrações de CB em água após 144h (os valores representam a média; n=9).

Resultados	Concentração inicial de CB mg L <sup>-1</sup>					
	1	5	10	26	35	
Cortiça	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.009	0.039	0.065	0.180	0.244
	Desvio Padrão	0.0000	0.0002	0.0002	0.0004	0.0016
LECA	CB removida (mg g <sup>-1</sup> material)	0.001	0.008	0.018	0.022	0.029
	Desvio Padrão	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002	0.0002