

**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado em Bioquímica**

Dissertação

**Desenvolvimento de materiais inovadores para remoção de  
antibióticos**

**Ana Catarina Nunes Vicente Dias Saraiva**

Orientador(es) | M. Ramiro Pastorinho

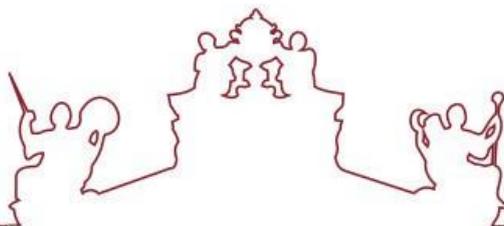
Mara Guadalupe Freire Martins

Márcia Carvalho Neves

Évora 2022







**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado em Bioquímica**

Dissertação

**Desenvolvimento de materiais inovadores para remoção de  
antibióticos**

**Ana Catarina Nunes Vicente Dias Saraiva**

Orientador(es) | M. Ramiro Pastorinho

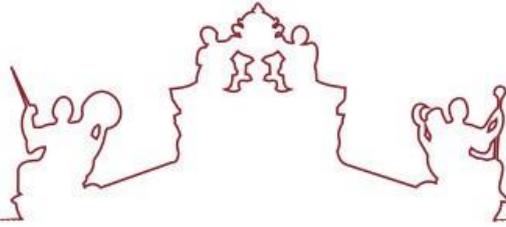
Mara Guadalupe Freire Martins

Márcia Carvalho Neves

Évora 2022







---

A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Ana Rodrigues Costa (Universidade de Évora)

Vogais | Ana Francisca Osório de Almeida Coelho e Silva (Universidade de Aveiro)  
(Arguente)  
M. Ramiro Pastorinho (Universidade de Évora) (Orientador)

Évora 2022

---

---

---

---

---



Aos meus Ninis...



## **Agradecimentos**

Gostaria, em primeiro lugar, de agradecer aos meus orientadores, nomeadamente, ao Prof. Doutor Ramiro Pastorinho, à Dra. Mara Freire e à Dra. Márcia Neves pela oportunidade de poder trabalhar neste projeto e por todo o apoio, acompanhamento, disponibilidade, orientação e compreensão no decorrer desta dissertação.

À professora Ana Catarina Sousa pelo apoio, disponibilidade, incentivo e ajuda dispensada ao longo deste trabalho.

Ao Rafael, um especial obrigada por toda a ajuda, apoio e acompanhamento, principalmente durante o trabalho prático no laboratório.

Aos meus pais, um enorme obrigada, por todo o apoio financeiro e emocional, o qual me permitiu realizar este estágio de mestrado num lugar diferente do da minha zona de conforto, permitindo assim enfrentar novos desafios e ganhar outros conhecimentos e experiência na área da bioquímica.

À minha avó Luz quero agradecer-lhe do fundo do coração, por ter sido a minha confidente e melhor amiga, por me ter dado forças para continuar sempre a lutar pelos meus objetivos, ensinando-me a nunca desistir por mais adversidades e dificuldades que encontremos. Foi sem dúvida o meu pilar.

Ao Bruno, por ser uma pessoa muito especial na minha vida, quero agradecer por todo o apoio incondicional, ajuda, paciência e carinho. Um enorme obrigada pela motivação, força e horas de conversas nos momentos mais difíceis.

Às minhas amigas mais próximas, um obrigada pelo apoio e momentos de felicidade.

Por último e não menos importante, quero agradecer aos meus avós maternos, por todos os ensinamentos que me deram desde pequena e por terem tido um papel marcante na minha vida. O mais especial obrigada para vocês, porque sei que de uma forma ou de outra estão a olhar por mim e ajudaram-me da melhor maneira que souberam e puderam. Um até já...



Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projeto IonCytDevice (POCI-01-0145-FEDER-031106, PTCD/BTA-BTA/31106/2017) financiado pelo FEDER, através do COMPETE2020 - Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI), e por fundos nacionais (OE), através da FCT/MCTE.



## **Resumo**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a resistência antimicrobiana representa a maior ameaça na saúde pública do século XXI. Para ajudar a ultrapassar este problema, neste trabalho foram sintetizados e caracterizados materiais funcionalizados com líquidos iônicos e aplicados na remoção de antibióticos de matrizes aquosas. Os antibióticos estudados foram os seguintes: ciprofloxacina, cloranfenicol e tetraciclina. A adsorção dos vários antibióticos aos materiais foi estudada utilizando ensaios cinéticos e a temperatura controlada. Foram aplicados modelos cinéticos e isotérmicos aos resultados experimentais. Conclui-se que os melhores modelos que descrevem os dados experimentais dependem do antibiótico e do material em estudo. O material mais promissor identificado permite uma capacidade máxima de adsorção em coluna de  $34,47 \pm 0,01$  mg de antibiótico por grama de material.

**Palavras-chave:** Antibióticos; Contaminação ambiental; Resistência Antimicrobiana; Líquidos Iônicos Suportados; Extração em Fase Sólida.



## **Development of innovative materials for antibiotic removal**

### **Abstract**

According to the World Health Organization, antimicrobial resistance represents the greatest threat in public health in the 21st century. To help overcoming this drawback, in this study, materials functionalized with ionic liquids were synthesized and characterized and their effectiveness in adsorbing antibiotics from aqueous matrices was evaluated. The following antibiotics were studied: ciprofloxacin, chloramphenicol and tetracycline. The antibiotics adsorption onto the materials was studied under kinetic assays and at controlled temperature. Kinetic and isothermal models were applied to fit the experimental results. The best models to describe the experimental results depend on the antibiotic and material being used. The most promising material allows a maximum column adsorption capacity of  $34.47 \pm 0.01$  mg antibiotic per g of material.

**Keywords:** Antibiotics; environmental contamination; Antimicrobial resistance; Supported Ionic Liquids; Solid Phase Extraction



## Índice

1. Introdução.....	1
1.1 Enquadramento geral.....	3
1.2 Os Antibióticos.....	4
1.2.1 Ciprofloxacina .....	5
1.2.2 Cloranfenicol .....	6
1.2.3 Tetraciclina .....	7
1.3 Antibióticos no ecossistema .....	9
1.4 Antibióticos na aquacultura.....	14
1.5 Antibióticos na agropecuária.....	17
1.6. Processo de Tratamento das Águas Residuais .....	19
1.6.1 Variáveis envolvidas na remoção de antibióticos em ETARs .....	21
1.7 Resistência Antimicrobiana .....	22
1.8 Tecnologias alternativas para a remoção de antibióticos do meio ambiente .....	27
1.8.1 Adsorção.....	27
1.8.2 Líquidos Iônicos Suportados (SILs).....	29
1.9 Objetivos .....	31
2. Parte Experimental .....	33
2.1 Materiais.....	35
2.2 Síntese dos Líquidos Iônicos Suportados.....	36
2.3 Caracterização dos Líquidos Iônicos Suportados.....	37
2.3.1 Análise elementar .....	37
2.3.2 Ponto de carga zero (PZC).....	37
2.3.3 Área de superfície específica (BET).....	38
2.4 Espectroscopia de Absorção Molecular .....	38
2.5 Estudos de adsorção .....	38
2.5.1 Cinéticas de adsorção .....	39
2.5.2 Isotérmicas de adsorção.....	41
2.5.3 Estudos de adsorção em contínuo.....	44
3. Resultados e discussão.....	45
3.1. Caracterização dos materiais .....	47
3.1.1. Análise elementar .....	47
3.1.2. Ponto de carga zero (PZC).....	47
3.1.3. Quantidade de líquido iónico ligado à sílica (BA) .....	48
3.2. Estudos de adsorção para a ciprofloxacina .....	50

3.2.1 Cinéticas de adsorção .....	53
3.2.2 Isotérmicas de adsorção.....	55
3.2.3 Experiências de saturação em contínuo.....	55
3.3 Estudos de adsorção para o cloranfenicol .....	56
3.3.1 Cinéticas de adsorção .....	57
3.3.2 Isotérmicas de adsorção.....	59
3.3.3 Experiências de saturação em contínuo.....	60
3.4 Estudos de adsorção para a tetraciclina.....	61
3.4.1 Cinéticas de adsorção .....	62
3.4.2 Isotérmicas de adsorção.....	64
3.4.3 Experiências de saturação em contínuo.....	65
4. Considerações finais e perspectivas futuras .....	67
5. Referências bibliográficas .....	71
6. Anexos .....	91

## Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Percurso dos antibióticos nos ecossistemas (Bhagat et al., 2020). .....	4
<b>Figura 2:</b> Mecanismos de ação dos antibióticos na célula bacteriana (Khan, 2018). .....	5
<b>Figura 3:</b> Estrutura química da Ciprofloxacina (Santos & Ramos, 2016). .....	6
<b>Figura 4:</b> Estrutura química do Cloranfenicol (Santos & Ramos, 2016). .....	7
<b>Figura 5:</b> Estrutura química da Tetraciclina (Santos & Ramos, 2016). .....	8
<b>Figura 6:</b> Classes de fármacos detetadas no ecossistema, expressas em percentagem relativa (Rita & Rodrigues, 2013). .....	10
<b>Figura 7:</b> Classes farmacêuticas detetadas na água engarrafada (Wang et al., 2021). .....	11
<b>Figura 8:</b> Efeitos colaterais nos organismos resultantes da dispersão de antibióticos no ecossistema (Langbehn et al., 2021). .....	12
<b>Figura 9:</b> Captura de peixes silvestres em comparação com a prática da aquacultura a nível mundial (expresso em toneladas) (Our World in Data, 2016). .....	14
<b>Figura 10:</b> Consumo global de antimicrobianos, 2013-2030. As linhas a pontilhado representam um intervalo de 95% de incerteza para os peixes (Schar et al., 2020). .....	17
<b>Figura 11:</b> Vias de transferência de genes de resistência a antibióticos (ARGs) de resíduos de gado para agentes patogénicos em humanos (He et al., 2020). (ARB- Antibiotic Resistant Bacteria) .....	18
<b>Figura 12:</b> Esquema de um sistema convencional de tratamento de águas residuais (Isabel & Miranda, 2014). .....	20
<b>Figura 13:</b> Mecanismos gerais de resistência antimicrobiana (Reygaert, 2018) .....	23
<b>Figura 14:</b> Percentagem de fármacos mais falsificados e apreendidos pelas alfândegas, a nível mundial, entre 2014 e 2016 (Organização para Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE), 2020). .....	24
<b>Figura 15:</b> Estimativa das causas das mortes anuais em 2050 (Walsh, 2014). .....	25
<b>Figura 16:</b> Mecanismo de adsorção (1- Difusão externa; 2- Difusão interna; 3- Adsorção nos locais alvo) (Wang & Guo, 2020). .....	27
<b>Figura 17:</b> Estrutura química de alguns exemplos de catiões e aniões que constituem os líquidos iónicos. .....	29
<b>Figura 18:</b> Representação esquemática da síntese do $[\text{Si}][\text{C}_3]\text{Cl}$ . .....	36
<b>Figura 19:</b> Esquema da síntese dos SILs a partir do $[\text{Si}][\text{C}_3]\text{Cl}$ e das diversas fontes de catião. É também indicado a estrutura e abreviatura dos SILs. .....	37
<b>Figura 20:</b> Esquema do sistema de adsorção em contínuo .....	44

<b>Figura 21:</b> Exemplo dos principais mecanismos que podem estar envolvidos no processo de adsorção da ciprofloxacina (Igwegbe et al., 2021). .....	51
<b>Figura 22:</b> Formas iônicas da ciprofloxacina baseadas no pKa (Igwegbe et al., 2021). .....	52
<b>Figura 23:</b> Valores experimentais de $q_e$ (mg/g) de ciprofloxacina em função do tempo (min.) e representação dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem para o [Si][C <sub>3</sub> ]Cl, [Si][N <sub>3888</sub> ]Cl e carvão ativado. ....	54
<b>Figura 24:</b> Valores experimentais de $q_e$ (mg/g) de cloranfenicol em função do tempo (min.) e representação dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem para o [Si][N <sub>3222</sub> ]Cl, [Si][N <sub>3444</sub> ], [Si][N <sub>3888</sub> ]Cl e carvão ativado. ....	58
<b>Figura 25:</b> Valores experimentais de $q_e$ (mg/g) de cloranfenicol em função de $C_e$ (mg/L) e representação de modelos isotérmicos de SIPS, Freundlich e Langmuir para [Si][N <sub>3222</sub> ]Cl, [Si][N <sub>3444</sub> ], [Si][N <sub>3888</sub> ]Cl e carvão ativado.....	59
<b>Figura 26:</b> Valores experimentais de $q_e$ (mg/g) de tetraciclina em função do tempo (min.) e representação dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem para o [Si][C <sub>3</sub> ]Cl, [Si][N <sub>3888</sub> ]Cl e carvão ativado. ....	63
<b>Figura 27:</b> Valores experimentais de $q_e$ (mg/g) da tetraciclina em função de $C_e$ (mg/L) e representação de modelos isotérmicos de SIPS, Freundlich e Langmuir para [Si][C <sub>3</sub> ]Cl, [Si][N <sub>3888</sub> ]Cl e carvão ativado.....	64
<b>Figura 28:</b> Espectro de uv-vis da tetraciclina (linha a cheio) (Keßler et al., 2019). ....	66
<b>Figura 29A:</b> Representação do potencial zeta em função do pH para [Si][C <sub>3</sub> ]Cl. ....	93
<b>Figura 30B:</b> Representação do potencial zeta em função do pH para [Si][N <sub>3444</sub> ]Cl. ....	93
<b>Figura 31C:</b> Representação do potencial zeta em função do pH para [Si][N <sub>3888</sub> ]Cl. ....	93
<b>Figura 32D:</b> Espécie presente na solução de cloranfenicol ao pH de 4,72, no qual foram realizada as experiências em batch. ....	94
<b>Figura 33E:</b> Espécie presente na solução de tetraciclina ao pH de 5,35, no qual foram realizadas as experiências em batch.....	94

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Propriedades físico-químicas da Ciprofloxacina, Cloranfenicol e Tetraciclina. ....	8
<b>Tabela 2:</b> Exemplos de publicações que relataram a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes ambientais.....	12
<b>Tabela 3:</b> Antibióticos aprovados pelos principais países produtores e organizações de Aquacultura (Sun et al., 2020). ....	15
<b>Tabela 4:</b> Reagentes usados na síntese dos SILs e os seus respectivos graus de pureza e fornecedores. ....	35
<b>Tabela 5:</b> Valores experimentais de percentagem de massa (obtidos por análise elementar), ponto de carga zero, número de moles utilizados para a síntese dos diferentes SILs e quantidade de ligação dos líquidos iônicos em cada SIL. ....	49
<b>Tabela 6:</b> Valores do coeficiente de adsorção em equilíbrio ( $q_e$ (mg/g)), da eficiência de adsorção (EA%) e da concentração em equilíbrio ( $C_e$ (mg/L)) de cada um dos SILs sintetizados para a adsorção da ciprofloxacina ( $C_0$ de ciprofloxacina 20 mg/L e massa de SIL 25 mg). ...	50
<b>Tabela 7:</b> Valores de Log $k_{ow}$ das fontes de catião utilizadas para a síntese dos SILs.. ....	52
<b>Tabela 8:</b> Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos e os seus respectivos coeficientes de correlação. ....	54
<b>Tabela 9:</b> Valores do coeficiente de adsorção em equilíbrio ( $q_e$ (mg/g)), da eficiência de adsorção (EA%) e da concentração em equilíbrio ( $C_e$ (mg/L)) de cada um dos materiais sintetizados para a adsorção do cloranfenicol ( $C_0$ de cloranfenicol 100 mg/L e massa de SIL 25 mg). ....	56
<b>Tabela 10:</b> Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos e os seus respectivos coeficientes de correlação. ....	58
<b>Tabela 11:</b> Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos SIPS, Freundlich e Langmuir e os seus respectivos coeficientes de correlação. ....	60
<b>Tabela 12:</b> Valores do coeficiente de adsorção em equilíbrio ( $q_e$ (mg/g)), da eficiência de adsorção (EA%) e da concentração em equilíbrio ( $C_e$ (mg/L)) de cada um dos materiais sintetizados para a adsorção da tetraciclina ( $C_0$ de tetraciclina 98.67 mg/L e massa de SIL 25 mg). ....	61
<b>Tabela 13:</b> Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos e os seus respectivos coeficientes de correlação. ....	63
<b>Tabela 14:</b> Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos SIPS, Freundlich e Langmuir e os seus respectivos coeficientes de correlação. ....	65



## **Lista de abreviaturas**

*EA%*- Eficiência de adsorção

ABs- Antibióticos

AINES- Anti-Inflamatórios Não Esteroides (NSAIDs- Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs)

ARGs – Genes de Resistência a Antibióticos (Antibiotic Resistance Genes)

BA- Quantidade de ligação (Bonding Amount)

BET- Brunaver-Emmet-Teller

CAP- Cloranfenicol

$C_0$ - Concentração inicial

$C_e$ - Concentração de equilíbrio

CIP- Ciprofloxacina

ETARs - Estações de Tratamento de Águas Residuais

ETEs - Estações de Tratamento de Esgotos

FAO - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura

FDA – Administração de alimentos e fármacos (Food and Drug Administration)

ILs- Líquidos Iônicos (Ionic Liquids)

$K_1$ - Constante de velocidade de primeira ordem

$K_2$ - Constante de velocidade de segunda ordem

$K_F$ - Constante de equilíbrio de Freundlich

$K_S$ - Constante de equilíbrio de Sips

OMS - Organização Mundial de Saúde

PPCPs- Produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal (Pharmaceutical and Personal Care Products)

PZC- Ponto de carga zero (Point of Zero Charge)

$q_e$ - Coeficiente de adsorção de equilíbrio

$q_{max}$ - Capacidade máxima de adsorção

$q_{maxc}$ - Capacidade máxima de adsorção em coluna

$S_{BET}$ - Área de superfície

SPE- Extração em fase sólida (solid-phase extraction)

RAM - Resistência Antimicrobiana

SILs- Líquidos Iônicos suportados (Supported Ionic Liquids)

TC- Tetraciclina

# 1. Introdução

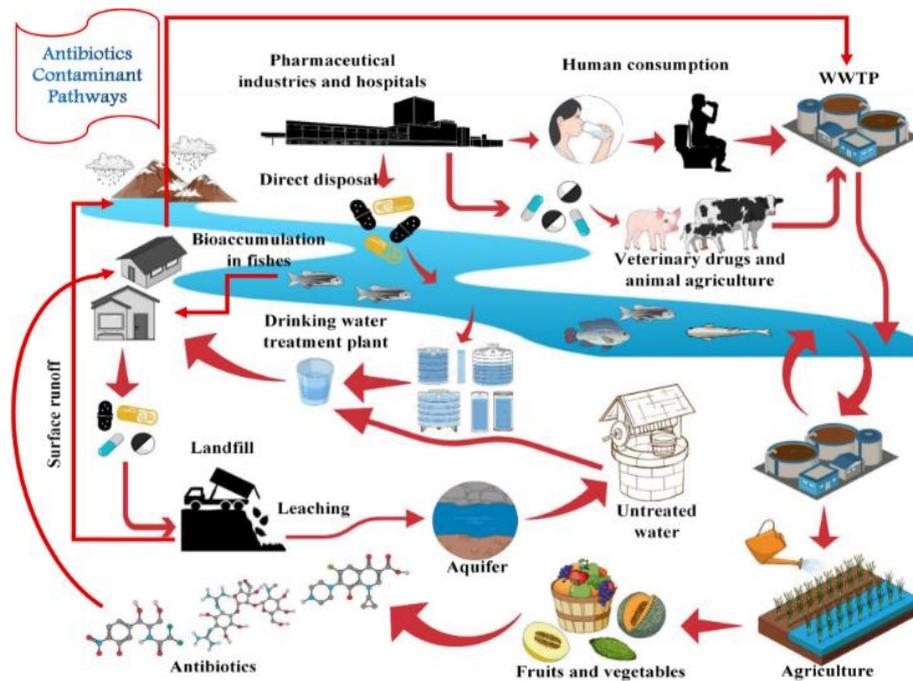
---



## 1.1 Enquadramento geral

Mundialmente, são consumidas mais de 100.000 toneladas de antibióticos por ano, despoletando uma crescente preocupação por parte da comunidade científica sobre o destino pós-ingestão de todas estas substâncias (Danner et al., 2019). O recurso indiscriminado ao uso de antibióticos, quer por questões terapêuticas ou pelos setores de produção, como por exemplo, na indústria, na agropecuária e na aquacultura, tem levado a uma acumulação de substâncias farmacologicamente ativas no nosso ecossistema, nomeadamente em cursos de água sob a influência de Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETARs) (Bhagat et al., 2020; Kraemer et al., 2019).

Atualmente, na esmagadora maioria das ETARs, os tratamentos aplicados não possuem um grau de desenvolvimento suficientemente elevado para assegurar uma remoção eficaz de todos os antibióticos e/ou dos metabolitos excretados, o que leva a que muitos deles persistam nos efluentes após os tratamentos (Michael et al., 2013; Rodriguez-Mozaz et al., 2020). Por conseguinte, esses agentes antimicrobianos dispersam-se no meio ambiente, ameaçando severamente a saúde humana. A presença sistemática ao longo de períodos alargados de tempo deste tipo de substâncias no ecossistema desencadeará um aumento do risco da disseminação de genes de resistência aos antibióticos, contribuindo desta maneira para a criação de bactérias multirresistentes, um problema já considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das maiores ameaças à saúde pública (World Health Organization, 2020). Acrescenta-se ainda o facto da produção e o consumo de antibióticos estarem a aumentar anualmente em cerca de 30% a nível mundial, fator impulsionado sobretudo pelo crescimento populacional (Rodriguez-Mozaz et al., 2020). A Figura 1 indica as possíveis vias de entrada de antibióticos no meio ambiente, desde a sua produção, utilização e excreção, até chegarem aos ambientes agrícolas e ao meio aquático.

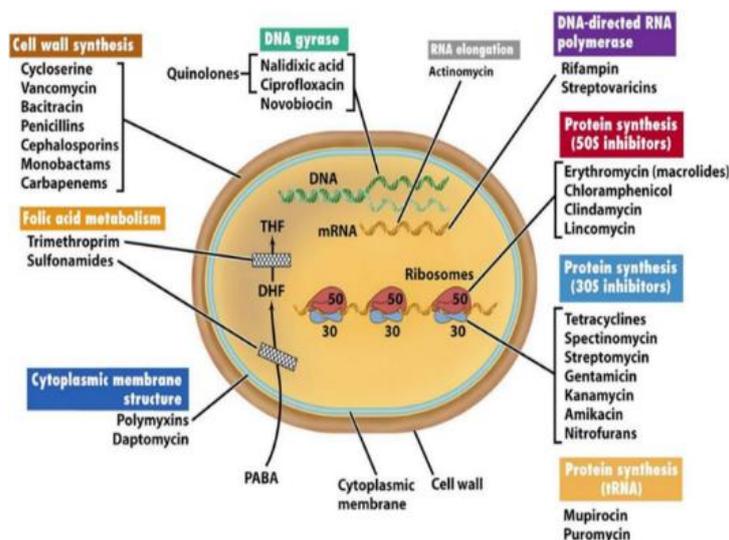


**Figura 1:** Percurso dos antibióticos nos ecossistemas (Bhagat et al., 2020).

## 1.2 Os Antibióticos

Os antibióticos pertencem a uma classe de compostos farmacologicamente ativos, amplamente usados e consumidos a nível mundial (Rodríguez-Mozaz et al., 2020). Entende-se por antibiótico todo o agente quimioterápico capaz de inibir especificamente, através da destruição celular (bactericidas) ou da inibição do crescimento (bacteriostáticos), a proliferação de bactérias (Rodríguez-Mozaz et al., 2020). Este tipo de fármaco é usado com o objetivo de tratar ou prevenir doenças infecciosas em seres vivos, além de também serem utilizados com o propósito de otimizar taxas de crescimento e de eficiência alimentar nos animais (Hanna et al., 2018). Os antibióticos podem ser classificados de acordo com a classe terapêutica a que pertencem, tais como, em aminoglicosídeos,  $\beta$ -lactâmicos, tetraciclina, quinolonas, entre outras; pelo seu espectro de atividade (amplo ou pequeno), pela sua estrutura molecular e pelo seu modo de ação. Com o intuito de cessarem a multiplicação e o crescimento das bactérias, os antibióticos podem atuar de diversas formas, como por exemplo: (I) provocar a inibição da síntese da parede celular bacteriana, (II) alterar a permeabilidade da membrana celular, (III) inibir a síntese de proteínas, (IV) inibir a síntese de ácidos nucleicos ou, (V) alterar os processos metabólicos da célula numa via envolvendo o ácido paraaminobenzóico (PABA) e dois precursores do ácido fólico, nomeadamente o ácido dihidrofólico (DHF) e o ácido

tetrahidrofólico (THF), como se pode observar na Figura 2 (Khan, 2018; Sanseverino et al., 2018).



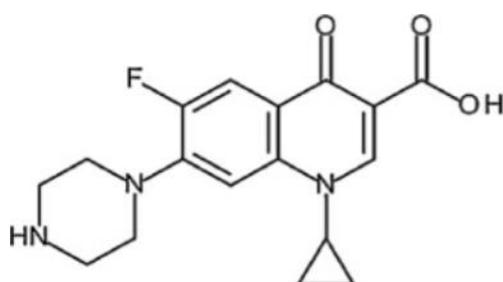
**Figura 2:** Mecanismos de ação dos antibióticos na célula bacteriana (Khan, 2018).

Nos próximos subcapítulos irão ser apresentados três antibióticos utilizados ao longo do trabalho experimental. Os fármacos selecionados foram a ciprofloxacina, o cloranfenicol e a tetraciclina. A escolha destes antibióticos foi realizada com base no seu consumo, na sua elevada deteção em águas superficiais, subterrâneas e de torneira, no seu elevado manuseamento em sistemas de aquacultura e agropecuária e nos potenciais efeitos genotóxicos, fetotóxicos e carcinogénicos inerentes.

### 1.2.1 Ciprofloxacina

A ciprofloxacina (CIP) é um antibiótico de amplo espectro pertencente à classe das quinolonas, mais especificamente, consiste numa fluoroquinolona e destaca-se por ser o antibiótico maioritariamente consumido em todo o mundo, sendo também bastante utilizado em práticas veterinárias (Girardi et al., 2011; Igwegbe et al., 2021; Verma et al., 2020). A CIP age inibindo uma topoisomerase do DNA bacteriano (a DNA girase), provocando a inibição da replicação celular das bactérias, inibindo assim a sua proliferação (Thai et al., 2021). É muito utilizada para infeções do trato urinário, respiratório e gastrointestinal (Thai et al., 2021). Este antibiótico tem sido amplamente detetado em águas superficiais e em efluentes hospitalares, o que representa uma séria ameaça à saúde, pois este antimicrobiano pode acumular-se no organismo causando graves problemas, tal como a Resistência Antimicrobiana

(RAM) (Igwegbe et al., 2021). Diversos estudos demonstraram os efeitos tóxicos da Ciprofloxacina em algumas espécies como, por exemplo, em microalgas (*Chlorella vulgaris*, *Raphidocelis subcapitata*), crustáceos (*Daphnia magna*), plantas (*Lemna minor*), no peixe-zebra (*Danio rerio*) e na mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) (Igwegbe et al., 2021; Liu et al., 2019; Martins et al., 2012). Por conseguinte, pode-se induzir que a CIP, quando presente no meio ambiente, tem um efeito altamente prejudicial para toda a fauna e flora dos ecossistemas. Assim sendo, a mitigação dos efeitos deste antibiótico é justificável e necessária. A estrutura química da ciprofloxacina encontra-se representada na figura 3. São também evidenciadas na tabela 1, algumas das principais características relativas às propriedades físico-químicas deste antibiótico.

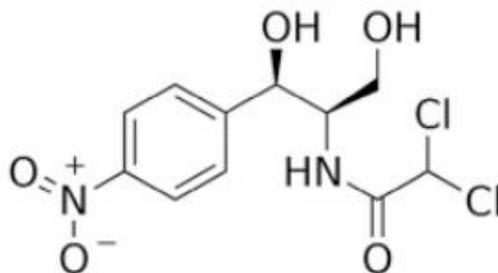


**Figura 3:** Estrutura química da Ciprofloxacina (Santos & Ramos, 2016).

### 1.2.2 Cloranfenicol

O cloranfenicol (CAP) pertence à classe dos inibidores de síntese proteica e é conhecido pelo seu amplo espectro de ação, pela sua eficácia e pelo seu baixo custo. (Hoek et al., 2011; Rezende et al., 2010). O consumo deste antibiótico, quer pelo Homem quer pelos animais, tem sido associado a graves efeitos secundários tais como genotoxicidade, fetotoxicidade e até potenciais efeitos carcinogénicos (Develos & Porticos, 2019). Consequentemente, a União Europeia (UE) e alguns países como os EUA, o Canadá, a China e o Japão baniram o seu uso na pecuária e aquacultura, pois o consumo humano secundário destes produtos de origem animal, contendo vestígios de cloranfenicol podem causar anemia aplástica, uma doença de natureza irreversível, que embora rara, pode ser fatal (Berendsen et al., 2010; McCubbin et al., 2021). No entanto, vários estudos têm relatado a ocorrência de resíduos de cloranfenicol em diversos compartimentos do meio aquático, nomeadamente em efluentes, águas superficiais e subterrâneas e em ambientes de aquacultura (Nie et al., 2018). Posto isto, é importante remover este antibiótico do ecossistema, visto ter uma elevada toxicidade quando em contacto direto e prolongado com os seres vivos.

Na figura 4 encontra-se representada a estrutura química do cloranfenicol. Algumas das principais propriedades físico-químicas inerentes a este antibiótico estão representadas na tabela 1.

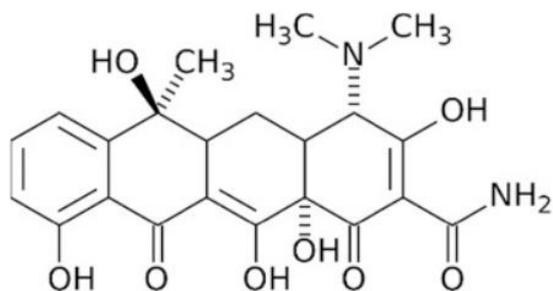


**Figura 4:** Estrutura química do Cloranfenicol (Santos & Ramos, 2016).

### 1.2.3 Tetraciclina

A tetraciclina (TC) consiste num antibiótico de amplo espectro, pertencente à classe dos inibidores de síntese proteica. Liga-se à subunidade 30S dos ribossomas das bactérias impedindo a síntese de proteínas, o que posteriormente, compromete o crescimento e a replicação bacteriana (Daghrir & Drogui, 2013; Graber, 2021). Entre os vários tipos de fármacos mais utilizados para fins terapêuticos, a tetraciclina destaca-se por ser um dos antibióticos de eleição pela medicina humana, e em sistemas de aquacultura e agropecuária (Daghrir & Drogui, 2013; Guidi, Santos, et al., 2018). Contudo, devido ao seu uso excessivo e ao carácter altamente hidrofílico deste antibiótico, os resíduos da tetraciclina passaram a ser compostos omnipresentes em matrizes aquosas, acarretando, assim, sérios problemas ecológicos e de saúde pública (Daghrir & Drogui, 2013). Pequenas concentrações deste antibiótico promovem fortemente a RAM e podem provocar efeitos adversos à saúde humana quando presentes na água potável ou aquando da sua presença nos sistemas de irrigação de águas usadas para frutas e vegetais. O posterior consumo desses alimentos contaminados com agentes antimicrobianos podem perturbar a microflora intestinal, aumentando o risco de possíveis infeções e doenças (Daghrir & Drogui, 2013). Por conseguinte, é fundamental remover os vestígios antimicrobianos da tetraciclina do meio ambiente de forma a eliminar os efeitos nefastos dos mesmos na saúde humana, evitando-se assim os cenários conjeturados pela OMS.

Na figura 5 encontra-se representada a estrutura química deste antibiótico. Estão também apresentadas, na tabela 1, algumas das propriedades físico-químicas mais relevantes, inerentes a este antibiótico.



**Figura 5:** Estrutura química da Tetraciclina (Santos & Ramos, 2016).

**Tabela 1:** Propriedades físico-químicas da Ciprofloxacina, Cloranfenicol e Tetraciclina.

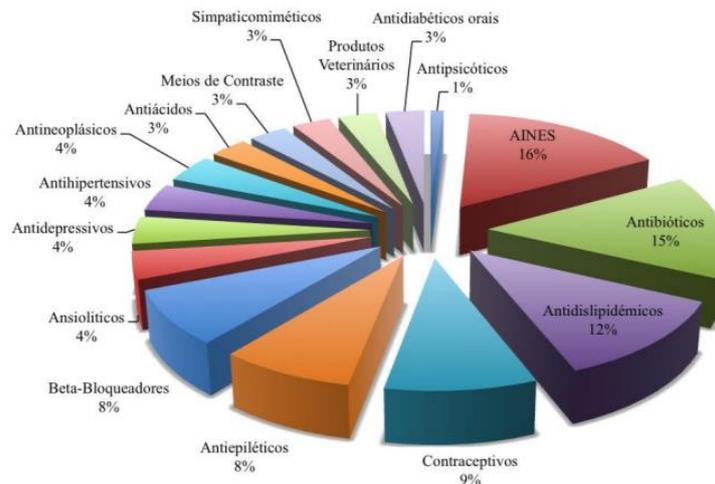
	<b>Ciprofloxacina</b>	<b>Cloranfenicol</b>	<b>Tetraciclina</b>
<b>Fórmula química</b>	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>
<b>Massa molecular (g/mol)</b>	331,34	323,13	444,43
<b>Solubilidade em água (mg/mL)</b>	0,086	2,5	0,231
<b>Polaridade (Å<sup>3</sup>)</b>	33,12	28,08	43,03
<b>pKa</b>	5,90 8,89	11,03	3,3 7,68 9,69
<b>Log K<sub>ow</sub></b>	-0,57	1,15	-0,56
<b>Excreção inalterada (%)</b>	50-70	8-12	80-90

\*Fonte: Dados retirados de (Chemical Book, 2017; Chen et al., 2011; DRUGBANK, 2021; Guidi et al., 2018; Kaya et al., 2021; Liao et al., 2013; Mompelat et al., 2009; Sun et al., 2017)

### **1.3 Antibióticos no ecossistema**

Desde o início da industrialização, os ecossistemas têm sido utilizados como um autêntico ‘depósito’ de produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal (PPCPs) (Bhagat et al., 2020). Contrariamente a outros poluentes ambientais, os vestígios farmacêuticos não são verdadeiramente regulamentados a nível global, uma vez que as avaliações de risco agudo demonstram que as ameaças à saúde pública ainda não são suficientemente justificativas para tal ato. No entanto esta visão não vai além dos efeitos imediatos, negligenciando grosseiramente as consequências futuras inerentes a esta problemática (Kamba et al., 2017). Com o uso contínuo e indiscriminado dos fármacos, ocorrerá uma tendência cada vez maior para a concentração de moléculas complexas no ecossistema, resultando na ocorrência de possíveis efeitos de adição, sinergismo e até potenciação, aquando da interação dos resíduos farmacêuticos nas diversas matrizes ambientais. Também haverá maior propensão para a ocorrência duma elevada bioacumulação de fármacos nos seres vivos. O risco será maior para indivíduos que possuam distúrbios hepáticos e/ou renais devido à baixa depuração biológica por estes manifestada (Kamba et al., 2017; Narvaez & Jimenez, 2012; Papageorgiou et al., 2019; Robinson et al., 2007; Tijani et al., 2016) . Embora o efeito terapêutico e/ou profilático dos fármacos seja, por si só, uma fortíssima razão para o seu uso, não se pode menosprezar todos os efeitos colaterais inerentes aos mesmos aquando da exposição indireta e desnecessária por parte dos seres vivos. Sabe-se, por exemplo, que os fármacos não são tolerados de forma igual por todos os organismos (Kamba et al., 2017). Variáveis biológicas, tais como a espécie, a anatomia, a fisiologia, a bioquímica, a faixa etária e o estado de saúde estão associadas a diferentes variações farmacocinéticas por parte dos seres vivos (Lees & Shojaee Aliabadi, 2002).

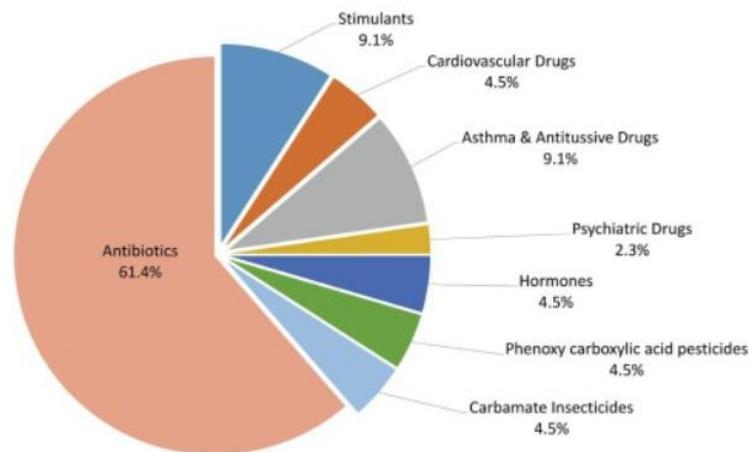
Dos diversos tipos de PPCPs existentes, os antibióticos são os fármacos com maior consumo a nível mundial, assim como a classe farmacoterapêutica mais detetada no meio ambiente logo a seguir aos anti-inflamatórios não esteroides (AINES), sendo esta uma diferença mínima (1%, como é possível observar na figura 6) (Igwegbe et al., 2021; Santos et al., 2010).



**Figura 6:** Classes de fármacos detetadas no ecossistema, expressas em percentagem relativa (Rita & Rodrigues, 2013).

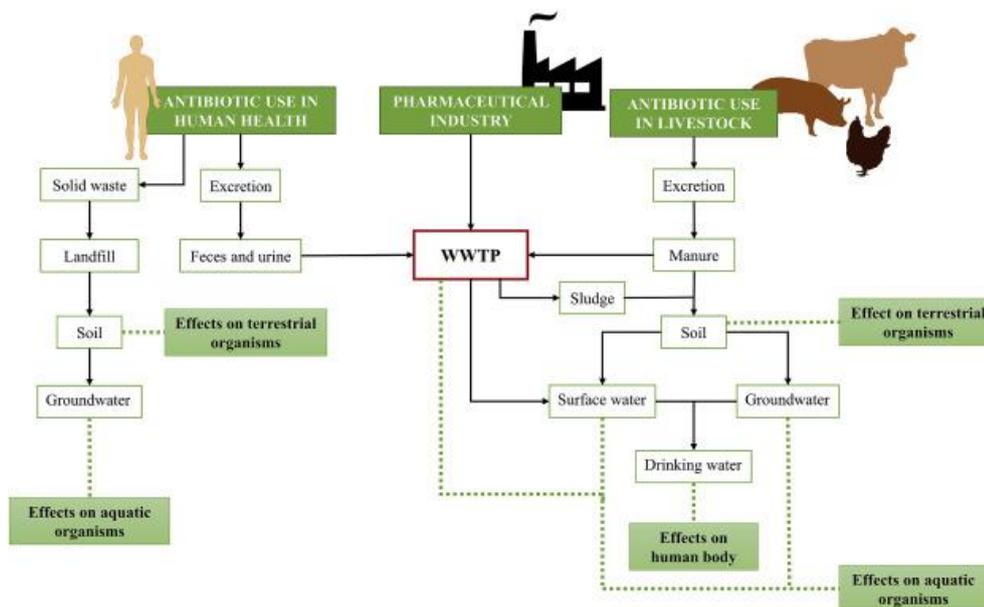
São várias as causas que contribuem para esta concentração de resíduos farmacêuticos no nosso ecossistema. As regiões urbanas industrializadas são as que registam índices mais elevados de contaminação devido à concentração geográfica dos hospitais, indústrias e ETARs. Todavia, as zonas rurais onde a agricultura, pecuária e aquacultura predominam, apresentam-se também como potenciais regiões poluídas (Owens, 2015). Outras vias não menos importantes de entrada dos antibióticos no meio ambiente são o descarte inadequado no lixo comum e a excreção via urina e/ou fezes (Tannus, 2015). Quando ingeridos, os antibióticos são metabolizados, passando por várias fases de metabolização (fase I e fase II) que os transformam em compostos mais polares e solúveis, sendo mais facilmente eliminados (Santos et al., 2010). Entre 30% a 90% dos antibióticos são excretados inalterados ou sob a forma de metabolitos ativos, os quais podem apresentar efeitos de toxicidade idêntica ao composto original ou, em alguns casos, até superior (Hanna et al., 2018; Langbehn et al., 2021). No caso da agropecuária, após serem excretados pelos animais, os antibióticos e/ou metabolitos dispersam-se no solo através dos dejetos fecais e atingem os lençóis freáticos (Zuccato et al., 2010). Os antibióticos também podem dispersar-se pelas matrizes ambientais através do estrume armazenado que é aplicado posteriormente como fertilizante orgânico (Conde-Cid et al., 2020; Evans et al., 2019). Por outro lado, os antibióticos excretados pelos Seres Humanos entram na rede de esgotos domésticos passando pelas Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs), onde, frequentemente, evadem os processos de remoção, contaminando assim as águas residuais (Zuccato et al., 2010). Por sua vez, estas águas ao chegarem às ETARs passam por vários processos de tratamento, os quais têm demonstrado ser ineficientes em remover os antibióticos

e os seus subprodutos das águas. Parte da razão para esta ineficácia de tratamento prende-se com o facto de os antibióticos possuírem uma elevada ação antibacteriana, o que lhes confere a capacidade de resistir, pelo menos parcialmente, aos procedimentos de tratamento nas ETARs, já que estes, na parte de tratamento biológico, se baseiam na utilização de microrganismos (Trovó et al., 2009). Por consequência, em diversos estudos os antibióticos têm sido detetados em concentrações não negligenciáveis em água superficiais e subterrâneas, águas doces e marinhas e inclusive na própria água potável, quer na água da torneira quer na engarrafada (Almeida et al., 2020; Ben et al., 2020; de Oliveira et al., 2020; Furlong et al., 2017; Grandclément et al., 2017; Kronacher & Hogleve, 1936; Meza et al., 2020; Quinn et al., 2008; Santiago-martín et al., 2020; Wang et al., 2021). Na figura 7 podemos observar que os antibióticos representam a classe de fármacos mais detetada na água engarrafada.



**Figura 7:** Classes farmacêuticas detetadas na água engarrafada (Wang et al., 2021).

Por conseguinte, a presença e persistência dos antibióticos no ambiente leva a que inúmeras moléculas de antibióticos sejam diariamente ingeridas e absorvidas pelos seres vivos. Estes resíduos, ao entrarem no organismo interagem com a microbiota gastrointestinal causando alterações no normal funcionamento do intestino, aumentando assim o surgimento de bactérias multirresistentes a antibióticos, bem como muitas doenças relacionadas com o metabolismo e a imunidade (Ben et al., 2020; Wang et al., 2021). Além do mais, alguns estudos demonstraram que dependendo da concentração e do tempo de exposição a estas substâncias é provável que efeitos carcinogénicos, teratogénicos e mutagénicos ocorram ao nível celular (de Oliveira et al., 2020; Wang et al., 2021). A Figura 8 mostra como os antibióticos se conseguem distribuir por todos os compartimentos ambientais, interagindo e causando consequências nefastas para todo o biota existente (Langbehn et al., 2021).



**Figura 8:** Efeitos colaterais nos organismos resultantes da dispersão de antibióticos no ecossistema (Langbehn et al., 2021).

Na tabela seguinte está representada uma compilação de estudos que reportaram concentrações de antibióticos em matrizes ambientais. Embora os valores estejam expressos em nanogramas por litro ( $\text{ng L}^{-1}$ ), o que à primeira vista poderia sugerir uma concentração não muito elevada, os valores reportados não devem ser interpretados individualmente pois, como referido anteriormente, as moléculas dos antibióticos interagem umas com as outras no meio ambiente, agindo sobre os organismos de forma complexa e concertada. No entanto, alguns autores sugerem que mesmo nas concentrações individuais os antibióticos são por si só potencialmente prejudiciais à saúde pública a longo prazo (Maldaner & Jardim, 2012; Wang et al., 2021).

**Tabela 2:** Exemplos de publicações que relataram a ocorrência de antibióticos em diversas matrizes ambientais

Antibióticos	Meio	Local	Concentração ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Referência
Ciprofloxacina	Água residual	Espanha, Girona	185-613	(Szymańska et al., 2019a)
		Itália, região norte	1100-3700	(Szymańska et al., 2019a)
		Portugal, Coimbra	107-330	(Santos et al., 2013)
		Canadá, Quebec	267-549	(Lamarca et al., 2020)

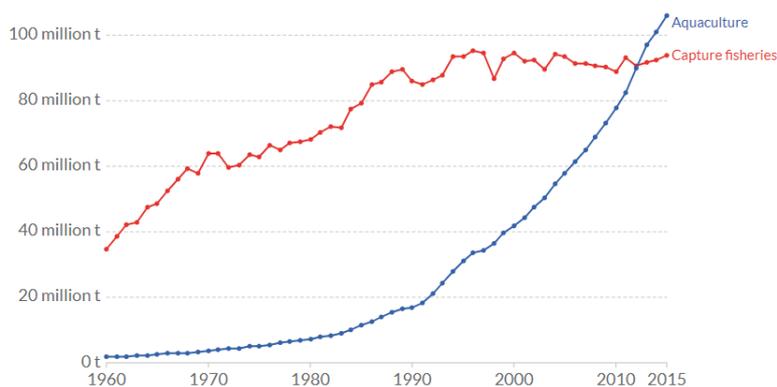
	Água superficial	Portugal, Rio Tejo Itália, Rio Po Itália, Rio Lambro Austrália Quênia	1,56-7,14 26,15 14,36 1300 509	(Reis-Santos et al., 2018) (Santos et al., 2010) (Santos et al., 2010) (Sarafraz et al., 2020) (Sarafraz et al., 2020)
	Água de torneira	China, Guangzhou China, Shandong Malásia	679,7 224,4 0,32	(Ben et al., 2020) (Ben et al., 2020) (Praveena et al., 2021)
<b>Cloranfenicol</b>	Água residual	Itália, região norte Quênia China	13-24 60 3-1050	(Szymańska et al., 2019b) (Li et al., 2019) (Palma et al., 2020)
	Água superficial	Coreia, Rio Han Xangai, Rio Huangpu Malásia, Rio Gombak	37 4,18-28,36 225,18-299,88	(Hoi et al., 2008) (Jiang et al., 2011) (Praveena et al., 2018)
	Água de torneira	Malásia China, Xangai	0,17 28,4	(Praveena et al., 2021) (Li et al., 2019)
<b>Tetraciclina</b>	Água residual	Irão, Mianeh Canadá China	155-385 150-970 12,34	(Hosseini et al., 2017) (Hosseini et al., 2017) (Ravikumar et al., 2019)
	Água superficial	Xangai, Rio Huangpu	15,07-113,89	(Jiang et al., 2011)
		China, Shahu	137,4	(Tong et al., 2014)
		Irão, Mianeh	8,2-25,4	(Hosseini et al., 2017)
Água de torneira	China, Rio Yangtze	27,2	(Wang et al., 2019)	
	China, Lago Taihu	20	(Ravikumar et al., 2019)	
	Água de torneira	China	23,2	(Ravikumar et al., 2019)

Além destes, outros antibióticos foram também detetados. No entanto, na tabela estão apenas mencionados os três antibióticos que serão usados ao longo do trabalho prático.

Perante estes dados e o anteriormente exposto é crucial avançar com propostas de tecnologias inovadoras, eficazes e económicas que consigam erradicar os antibióticos dos nossos ecossistemas, e com eles todos os efeitos colaterais subjacentes.

## 1.4 Antibióticos na aquacultura

A aquacultura compreende toda a produção controlada de organismos aquáticos, tais como peixes, crustáceos, moluscos e plantas aquáticas (FAO, 2021). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a aquacultura tem-se destacado por representar um dos setores de maior crescimento a nível mundial, tendo já ultrapassado, desde 2013, a produção de pesca de espécies silvestres, como se pode observar na figura 9 (Fao, 2016). De facto, desde 2001 que a aquacultura tem crescido anualmente em cerca de 5,8% devido, sobretudo, à procura destes alimentos por parte dos países em desenvolvimento, com o continente asiático a contribuir para a produção dos mesmos em cerca de 90% (Schar et al., 2020). Com o consumo per capita de peixe a aumentar rapidamente em relação ao consumo de carne e produtos lácteos, prevê-se ainda que, em 2030, a aquacultura seja a principal fonte de pescado em todo o mundo. (Fao, 2016; Fazio, 2019; Yue & Shen, 2021).



**Figura 9:** Captura de peixes silvestres em comparação com a prática da aquacultura a nível mundial (expresso em toneladas) (Our World in Data, 2016).

Assim sendo, a procura por dietas à base de peixe não pode ser saciada de uma forma sustentável apenas com base na pesca, já que a mesma tem sofrido uma superexploração, pondo em risco toda a biodiversidade oceânica e colocando múltiplas espécies na categoria de “em vias de extinção” (Schar et al., 2020; Twomey, 2017; Yan et al., 2021). O aumento da poluição marinha, bem como as mudanças climáticas globais, também afetaram profundamente a

captura das espécies silvestres (Santos & Ramos, 2016). Para contornar esta situação, as empresas recorrem cada vez mais a sistemas de aquacultura intensiva, os quais permitem obter maiores quantidades de alimentos, num curto espaço de tempo, em espaços mais reduzidos (Santos & Ramos, 2016). Para isso, são aplicados regimes de exploração intensiva, resultando num número elevado de peixes por tanque, o que contribui para uma maior suscetibilidade de doenças e infeções (Guidi, Santos, et al., 2018). Consequentemente, com o intuito de contornar esse problema, são adotados alguns modelos de biossegurança como, por exemplo, o recurso ao uso intensivo de antibióticos e alimentos suplementados com os mesmos (Cabello, 2006; Schar et al., 2020). Podemos destacar quatro principais classes de antibióticos usadas na aquacultura, sendo estas os anfenicóis, as quinolonas, as sulfonamidas, e as tetraciclina (Schar et al., 2020). Na tabela seguinte podemos observar o número de antibióticos aprovados pelos maiores produtores de aquacultura, sendo possível analisar uma discrepância quantitativa entre os países asiáticos e ocidentais:

**Tabela 3:** Antibióticos aprovados pelos principais países produtores e organizações de Aquacultura (Sun et al., 2020).

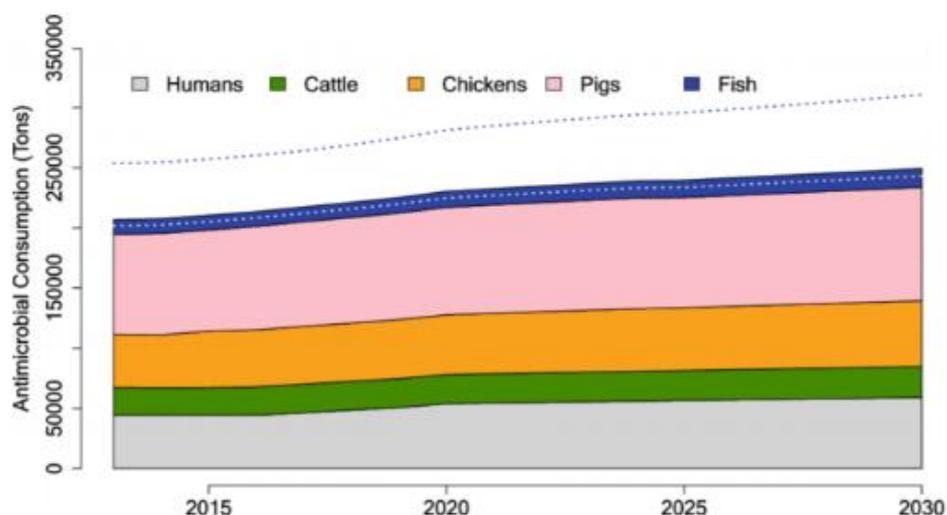
País	N.º de Antibióticos	Exemplos de antibióticos aprovados na produção de Aquacultura
Vietname	39	amoxicilina, benzilpenicilina, <b>ciprofloxacina</b> , cloxacilina; colistina, clorotetraciclina, cipermetrina, dicloxacilina, difloxacina, eritromicina, oxitetraciclina, oxacilina, paromomicina, sarafloxacina, sulfadimetoxicina, sulfadiazina, spectinomomicina, <b>tetraciclina</b> , tilmicosina, tilosina
Coreia do Sul	17	amoxicilina, <b>ciprofloxacina</b> , clorotetraciclina, enrofloxacina, eritromicina, florfenicol, oxitetraciclina, sulfadiazina, sulfacloropiridazina, sulfametoxazol, sulfadimethoxina, sulfametazina, trimetoprim, <b>tetraciclina</b>
Tailândia	14	amoxicilina, enrofloxacina, norfloxacina, , ormetoprim, oxitetraciclina, penicilina sulfadiazina, sulfadimethoxina, sulfaguanidina, trimetoprim, tribrissen, <b>tetraciclina</b>

China	13	doxiciclina, enrofloxacina, florfenicol, flumequina, neomicina, norfloxacina, sulfadiazina, sulfametazina, sulfametoxazol, tiamfenicol e trimetoprim
Bangladesh	12	amoxicilina, clorotetraciclina, doxiciclina, eritromicina, oxitetraciclina, penicilina G, sulfadiazina, sulfametazina, sulfametazol, sulfametoxazol, trimetoprim, tilosina
Itália	6	amoxicilina, flumequina, oxitetraciclina <b>tetraciclina</b> , trimetoprim
Reino Unido	5	ácido oxolínico, amoxicilina, cotrimazina oxitetraciclina, sarafloxacina
Estados Unidos	4	florfenicol, ormetoprim, oxitetraciclina, trimetoprim,
Brasil	2	florfenicol, oxitetraciclina

Da acumulação destes produtos farmacêuticos nos tecidos das espécies oriundas da aquacultura assim como o seu contacto posterior com o Ser Humano aquando do consumo do pescado, resultarão graves problemas para a saúde, como a resistência antimicrobiana (Done & Halden, 2015; Liu et al., 2017). Contrariamente à produção de animais terrestres, nos sistemas de aquacultura ocorre uma exposição bacteriana muito mais ampla, e a seleção e consequente disseminação de bactérias multirresistentes pode ocorrer quer no pescado, quer na própria água e sedimento dos tanques, ou no ambiente recetor das águas das aquaculturas (Schar et al., 2020). Quando os genes de resistência a antibióticos (ARGs) e as bactérias multirresistentes se dispersam pelo meio ambiente, estamos perante um perigo iminente, porque a resistência aos antibióticos pode transferir-se dos organismos aquáticos para os seres humanos. Como resultado, poderão advir imensas consequências como o aumento de infeções, insucesso de terapias á base de antibióticos, aumento de hospitalizações e mortalidade (Manage, 2018). Diversos estudos já demonstraram que existe uma forte bioacumulação de resíduos de antibióticos no fígado e no tecido muscular de peixes e crustáceos. (He et al., 2012; Lai et al., 2018). Também foi evidenciada a resistência antimicrobiana à tetraciclina e ao cloranfenicol em espécies de *Aeromonas* presentes em peixes provenientes de sistemas de aquacultura (Hirsch et al., 2006). Posto isto, é imperativo aliviar o uso de antibióticos na aquacultura, pois esta tem uma relação direta com os seus consumidores finais, os seres humanos.

## 1.5 Antibióticos na agropecuária

À semelhança do que acontece nos sistemas de aquacultura, são também administrados vários antibióticos aos animais com o intuito de os proteger contra potenciais doenças e infeções bacterianas (Shao et al., 2021). Ao mesmo tempo, como resultado da globalização, vários países aumentaram a produção de animais intensivamente, o que em alguns casos obrigou a uma maior aglomeração dos mesmos por armazém. Este facto, despoletou uma maior probabilidade de ocorrências de infeções e doenças, o que levou ao uso intensivo do consumo de antibióticos nos animais (Cheng et al., 2020, 2021). Entre as principais classes de antibióticos usadas na pecuária, podemos destacar os anfenicóis, as quinolonas, as sulfonamidas, e as tetraciclinas (Schar et al., 2020). A figura 10 ilustra as diferenças entre o volume de antibióticos utilizados nos diversos setores de produção de animais, sendo os suínos os maiores consumidores de antibióticos.

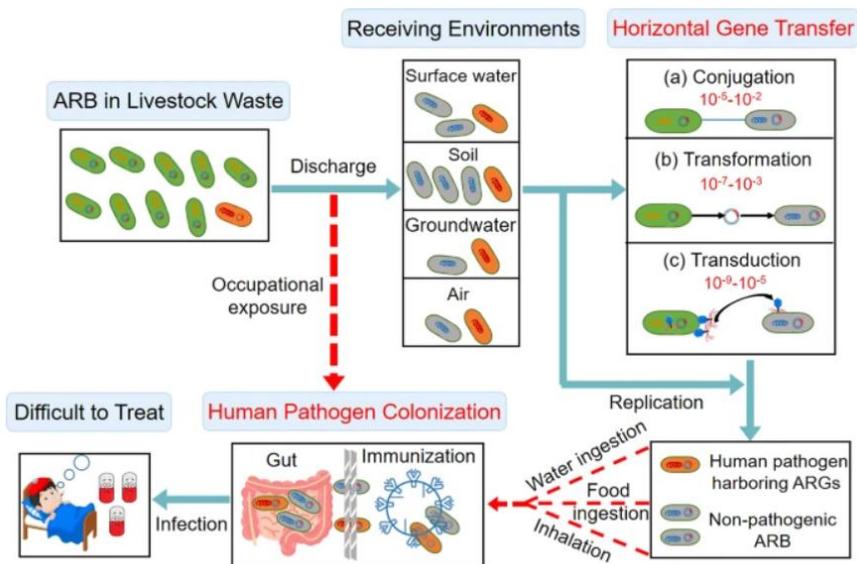


**Figura 10:** Consumo global de antimicrobianos, 2013-2030. As linhas a pontilhado representam um intervalo de 95% de incerteza para os peixes (Schar et al., 2020).

De facto, os suínos não conseguem absorver os antibióticos na sua totalidade, sendo que cerca de 70 a 90% dos fármacos ingeridos por estes animais são excretados através da urina e das fezes (Cheng et al., 2020). As fezes dos porcos são usadas como fertilizantes naturais em agricultura, pela sua elevada composição em matéria orgânica (Xu et al., 2020). Estas fezes, contendo resíduos de antibióticos, ao serem depositadas no solo para fins agrícolas, têm a capacidade de penetrarem nas raízes de plantas destinadas ao consumo humano (Boxall et al., 2006; Dolliver et al., 2007). Alguns estudos reportaram a absorção de antibióticos em várias espécies, tais como, em raízes de cenouras (*Daucus carota ssp. sativa*), folhas de alface

(*Lactuca sativa*), milho (*Zea mays*) e na batata (*Solanum tuberosum*) (Boxall et al., 2006; Dolliver et al., 2007).

Diversos estudos investigaram o comportamento e o destino das bactérias multirresistentes e dos genes de resistência a antibióticos (ARGs) provenientes da pecuária, quando descarregados no solo (através da aplicação de estrume) e em ambientes aquáticos (escoamento de águas superficiais ou entrada em lençóis freáticos) ou o seu transporte por aerossóis (He et al., 2020). Como se pode observar na figura 11, os genes de resistência a antibióticos encontrados em águas superficiais e subterrâneas, solo e ar podem multiplicar-se por meio da transferência horizontal de genes através da conjugação, transformação ou transdução para as bactérias indígenas. Posteriormente, a exposição a estas bactérias resistentes, pela ingestão de água ou alimentos, pode induzir a sua colonização em humanos, provocando infecções graves, muitas das vezes difíceis de tratar (He et al., 2020).



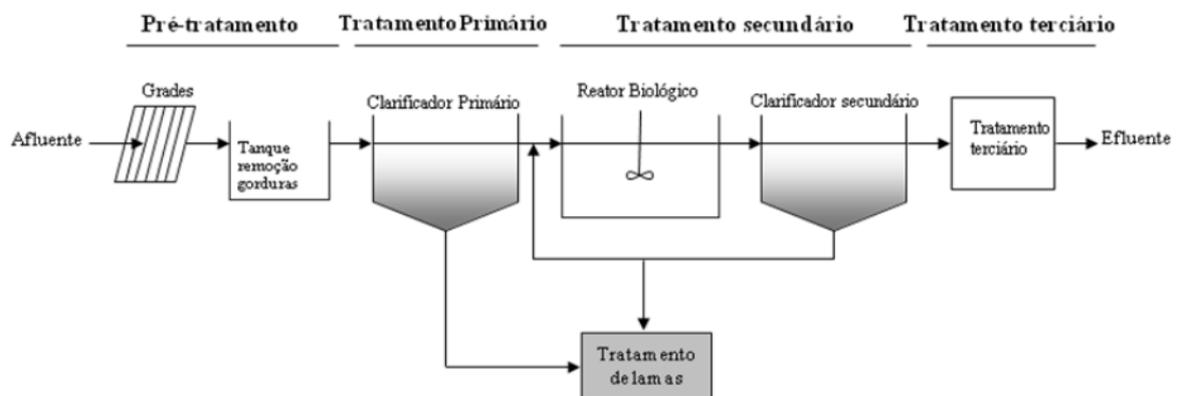
**Figura 11:** Vias de transferência de genes de resistência a antibióticos (ARGs) de resíduos de gado para agentes patogênicos em humanos (He et al., 2020). (ARB- Antibiotic Resistant Bacteria)

## 1.6. Processo de Tratamento das Águas Residuais

As estações de tratamento de águas residuais (ETARs) são infraestruturas que têm como objetivo o tratamento de águas provenientes dos esgotos urbanos. As mesmas foram concebidas para a remoção de poluentes convencionais presentes em elevadas concentrações, tais como a matéria orgânica, sólidos em suspensão, microrganismos e nutrientes (Isabel & Miranda, 2014). Todavia, estas infraestruturas não foram concebidas para a remoção de antibióticos persistentes em concentrações sub-terapêuticas, não eliminando os mesmos durante as diversas etapas de tratamento (Xu et al., 2007). Relativamente aos processos convencionais praticados pela maiorias das ETARs, pode-se afirmar que estes são ineficientes em remover os antibióticos uma vez que as taxas de remoção, utilizando esses processos, são inferiores a 10% (Liu et al., 2016).

O processo de tratamento das Águas Residuais pode ser dividido em quatro fases: Pré-Tratamento, Tratamento Primário, Tratamento Secundário e Tratamento Terciário, conforme está representado na figura 12. Ao longo destas fases são usados processos físicos, químicos e biológicos (Gogoi et al., 2018). Na fase do Pré-Tratamento, também denominada de Tratamento Preliminar, as águas residuais passam por processos de gradagem, desarenamento e desengorduramento, onde são removidos os materiais sólidos de grandes dimensões, areias e gorduras, respetivamente (Moreira, 2014). De seguida, no Tratamento Primário, o objetivo consiste em remover os componentes sólidos que resistiram ao processo anterior. Nesta fase são aplicadas técnicas como a filtração e a sedimentação. Contudo, em algumas situações, reagentes químicos como cal, sulfato de alumínio ou sulfato férrico podem ser aplicados com o intuito de provocar a floculação ou coagulação das partículas, obtendo-se assim flocos de matéria poluente de maiores dimensões para uma maior facilidade de remoção (Sousa, 2015). No Tratamento Secundário, o procedimento assume uma natureza mais biológica. As técnicas de tratamento utilizadas são, por exemplo biorreatores de membrana, biorreatores de leito fixo, reatores de biofilme de leito móvel, sendo a utilização de lamas ativadas a técnica mais usual. Este processo efetua-se através de uma relação de simbiose, onde os microrganismos presentes na própria água (vírus, bactérias, protozoários, fungos, etc.) degradam e metabolizam os poluentes que nela encontram (Gogoi et al., 2018; Hao et al., 2010). Contudo, a eficiência de remoção dos antibióticos nestas etapas está fortemente condicionada com as suas propriedades físico-químicas (uma problemática discutida em maior detalhe no capítulo seguinte). Finalmente, o Tratamento Terciário tem como objetivo a remoção de nutrientes (compostos

de azoto e fósforo), vírus e microrganismos patogénicos (Monte et al., 2016). Nesta fase são usados oxidantes e desinfetantes com o intuito de remover impurezas que resistam aos tratamentos anteriores. Normalmente é utilizado o cloro visto ser um produto de fácil acesso e de baixo custo (Sousa, 2015). No entanto existem outros tipos de tratamentos avançados tais como a oxidação química (que inclui a ozonização e oxidação catalítica), a radiação ultravioleta, a filtração por membranas e a adsorção em carvão ativado. Apesar destes processos demonstrarem ser mais promissores, não são aplicados em grande escala devido à elevada exigência energética, à dificuldade técnica de implementação nas ETARs e ao facto de poderem gerar resíduos secundários tóxicos, como é o caso da ozonização (Bernardo et al., 2020; Fent et al., 2006; Rivera-Utrilla et al., 2013).



**Figura 12:** Esquema de um sistema convencional de tratamento de águas residuais (Isabel & Miranda, 2014).

Na sequência dos tratamentos efetuados pelas ETARs ocorre também a formação de subprodutos prejudiciais para o meio ambiente como é o caso das lamas primárias e secundárias. Estas encontram-se carregadas com substâncias tóxicas, organismos patogénicos, metais pesados, etc., e necessitam de passar por vários tratamentos dispendiosos antes de serem encaminhadas para outros fins (Gherghel et al., 2019; Qian et al., 2016). Muitas das vezes, as lamas resultantes das ETARs são valorizadas para a agricultura, pois possuem um elevado efeito fertilizante, sendo ricas em matéria orgânica e compostos de azoto, fosforo e potássio, o que enriquece e fortalece os solos agrícolas (Dong et al., 2016). No entanto, quando as condições não permitirem a sua aplicabilidade nos solos, devido aos altos valores em contaminantes orgânicos, as lamas podem sofrer outros fins, tais como incineração, compostagem, deposição em aterros, incorporação em cimento e inclusive, podem ser despejadas no oceano (Gherghel et al., 2019). O incorreto reaproveitamento e manuseamento

destas lamas é potencialmente nefasto para a saúde pública visto que estas possuem na sua composição compostos tóxicos, os quais podem atingir cursos de água, disseminando-se e poluindo ecossistemas inteiros.

### **1.6.1 Variáveis envolvidas na remoção de antibióticos em ETARs**

A capacidade de remoção de antibióticos nas ETARs é uma temática propensa a vários debates. Apesar destas instalações conseguirem remover a maioria dos compostos tóxicos “clássicos” presentes na água, a eficiência de remoção e o destino dos antibióticos (bem como de muitos outros xenobióticos) nas águas residuais são em grande parte influenciados pelas suas propriedades físico-químicas e condições operacionais do tipo de processo utilizado (Langbehn et al., 2021). Cada classe de antibióticos apresentam propriedades físico-químicas distintas. Características tais como estrutura molecular, tamanho, ionização, solubilidade, polaridade, volatilidade, lipofilicidade e interações eletrostáticas são algumas das variáveis que podem dificultar a degradabilidade dos antibióticos nas águas sob tratamento. (de Oliveira et al., 2020).

Relativamente à estrutura molecular, os antibióticos apresentam tendencialmente moléculas muito heterogéneas, de grandes dimensões e com vários grupos funcionais, o que lhes confere uma grande complexidade (Cunningham, 2004). Uma característica da estrutura dos antibióticos, que simultaneamente condiciona o processo de remoção dos mesmos nas ETARs, é o seu carácter hidrofílico/hidrofóbico. Esta particularidade é importante uma vez que, durante o processo de tratamento nas ETARs, os antibióticos mais hidrofóbicos tendem a adsorver-se fortemente às lamas primárias, enquanto que os compostos mais hidrofílicos tendem a permanecer nas águas, não sendo portanto alvos dos processos de remoção (Gracia-Lor et al., 2012). Outro aspeto importante é a polaridade e capacidade de ionização dos antibióticos. Os fármacos mais polares possuem uma maior capacidade de se solubilizarem em água e conseqüentemente não têm propensão para ficar adsorvidos às lamas nas ETARs, escapando desta forma aos tratamentos. Em contrapartida, os antibióticos apolares têm uma maior suscetibilidade em se separarem da água e serem adsorvidos às matrizes sólidas, como por exemplo às lamas das ETARs (Cunningham, 2004). A constante de ionização ( $pK_a$ ) é também uma característica importante no que concerne à remoção dos antibióticos. Para que a adsorção seja bem sucedida, os compostos devem estar no seu estado não ionizado, visto que as espécies iónicas são bastante solúveis em água e conseqüentemente será menos provável de

serem adsorvidas às lamas no processo de tratamento das ETARs (Cunningham, 2004). Uma outra variável que influencia no processo de remoção é o coeficiente de partição octanol-água ( $K_{OW}$ ). Um composto com  $\log K_{OW} > 4,0$  tende a ter um alto potencial de adsorção às lamas nas ETARs ou a matrizes sólidas, enquanto compostos com  $\log K_{OW} < 2,5$  demonstram ter um baixo potencial de adsorção. Posto isto, os antibióticos de caráter hidrofóbico tendem a adsorver às lamas nas ETARs, ficando retidos nas mesmas (de Oliveira et al., 2020). Em suma, as taxas de eficiência de remoção dos antibióticos nas ETARs não apresentam resultados lineares, variando bastante consoante as propriedades físico-químicas dos fármacos (de Oliveira et al., 2020).

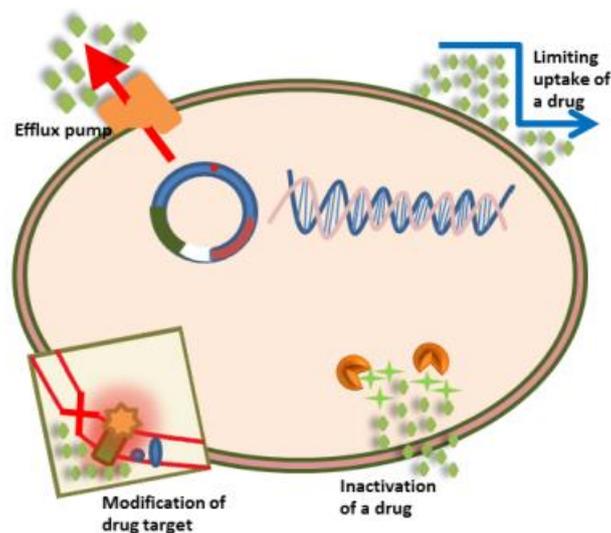
## 1.7 Resistência Antimicrobiana

A descoberta da penicilina em 1928 pelo biólogo escocês Alexander Fleming resultou no aumento exponencial da esperança média de vida: doenças que antes representavam uma taxa de mortalidade elevada, tais como a tuberculose, pneumonia, sífilis, varíola, entre outros, são agora tratáveis (W.A, 2016). Contudo, não é só na medicina humana que os antibióticos são indispensáveis, visto que os mesmos são utilizados em sistemas de aquacultura e pecuária como promotores de crescimento, assim como para prevenção de doenças (Chaturvedi et al., 2021). Na agricultura são também pulverizados antibióticos nos campos agrícolas com o objetivo de controlar possíveis infeções bacterianas nas plantas e nos vegetais (Khan et al., 2021).

Todavia, a utilização desregrada e desregulada dos antibióticos deu origem a uma nova ameaça: a Resistência Antimicrobiana (RAM). A RAM ocorre quando microrganismos como bactérias, fungos ou parasitas conseguem adaptar-se e crescer na presença de antibióticos, aos quais eram anteriormente suscetíveis (Dadgostar, 2019). Com base numa perspetiva ‘Darwinista’, na presença de antibióticos e através de mutações aleatórias as bactérias conseguem adaptar-se e aumentar a sua aptidão para a resistência, surgindo, por consequência uma descendência de bactérias (mais) resistentes (Salazar et al., 2021). Estas populações mais resistentes multiplicam-se de forma hereditária ou não hereditária (transferência horizontal), apresentando assim, uma maior adaptabilidade para sobreviver em ambientes de *stress*, enquanto os microrganismos mais vulneráveis acabam por desaparecer (Salazar et al., 2021). Desta forma, os antibióticos ao atuarem como um indutor de *stress* no ambiente, favorecem a expressão das bactérias multirresistentes, que por sua vez, se multiplicam. Desta forma,

contribuem assim para a resistência antimicrobiana, ineficácia dos tratamentos e diminuição das opções terapêuticas disponíveis para doenças infecciosas (Kamba et al., 2017; Salazar et al., 2021).

Além das eventuais mutações genéticas que possam ocorrer nas bactérias, estas apresentam quatro mecanismos principais de resistência aos antibióticos. São eles: (I) alteração da permeabilidade da membrana; (II) alteração do local de ação, onde é alterada a configuração do alvo onde o antibiótico se liga; (III) Inativação por ação enzimática, em que através de um mecanismo enzimático são produzidas enzimas capazes de destruir os antibióticos; (IV) Bomba de Efluxo, a qual consiste no bombeamento ativo do antibiótico do meio intracelular para o meio extracelular (Reygaert, 2018).

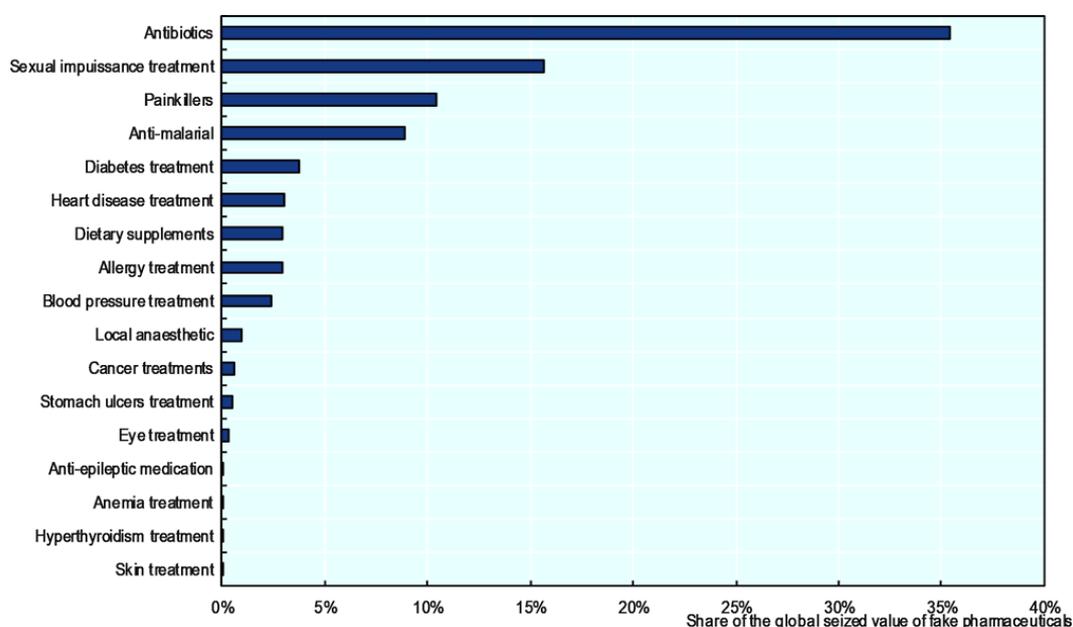


**Figura 13:** Mecanismos gerais de resistência antimicrobiana (Reygaert, 2018)

São diversos os motivos que têm levado a um crescimento acentuado da RAM. Primeiro, podemos destacar o autodiagnóstico por parte dos pacientes, que acreditam que os antibióticos são a solução comum para problemas como constipações ou gripes, assim como a dosagem incorreta por parte dos mesmos (Dadgostar, 2019). Este cenário foi previsto por Alexander Fleming, no seu discurso na entrega do Prémio Nobel da Medicina em 1945:

*“The time may come when penicillin can be bought by anyone in the shops. Then there is the danger that the ignorant man may easily underdose himself and by exposing his microbes to non-lethal quantities of the drug make them resistant.”* (Fleming, 1945)

Segundo, porque nos países em desenvolvimento existe uma maior dificuldade técnica em diagnosticar corretamente determinadas doenças ou outros problemas de natureza medicinal, recorrendo-se inadvertidamente ao uso de antibióticos como ‘solução segura’; terceiro, existe ainda a variável do fator económico, visto que muitos hospitais incentivam os profissionais a prescrever antibióticos de forma a obterem lucros; por último, destaca-se a criação, muita vezes ilegal ou não regulamentada, e disseminação de antibióticos de fraca qualidade especialmente em países em desenvolvimento, por serem mais baratos (ver figura 14). Estes antibióticos atuam negativamente ao fornecerem às bactérias uma versão enfraquecida do antibiótico, o que lhes irá permitir desenvolver resistência futura aos antibióticos (Dadgostar, 2019).

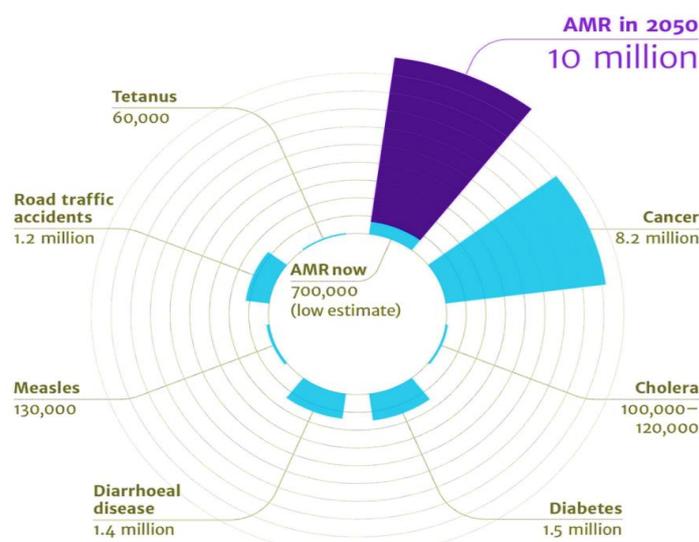


**Figura 14:** Percentagem de fármacos mais falsificados e apreendidos pelas alfândegas, a nível mundial, entre 2014 e 2016 (Organização para Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE), 2020).

Para agravar a situação, cada vez menos novos antibióticos são aprovados para distribuição mundial (Ventola, 2015). Um dos principais motivos dessa diminuição ocorre por motivos financeiros. Para que os investigadores possam continuar a descobrir novos antibióticos, é necessário que ocorra um grande investimento económico, não só para tornar a investigação tecnicamente exequível, como para haver um incentivo que promova uma maior eficiência por parte dos próprios investigadores (Ventola, 2015). Contudo, o desenvolvimento de antibióticos é considerado cada vez menos como um investimento seguro, devido a vários motivos: primeiro, porque estes fármacos são usados por períodos de tempo relativamente

curtos, não sendo tão lucrativos como os medicamentos para doenças crónicas, como por exemplo, a diabetes; segundo, porque os antibióticos são vendidos a preços baixos, resultando na perceção de que os mesmos não possuem um valor elevado pelo público geral; terceiro porque vários especialistas em doenças infecciosas recomendam fortemente a contenção do uso de antibióticos de modo a contrariar a RAM (Ventola, 2015). Assim, quando um novo antibiótico entra no mercado, os profissionais de saúde em vez de o prescreverem ao público, optam por guardar os novos antibióticos, apenas para os casos extremamente graves, de modo a conter a RAM, dando prioridade aos antibióticos que já circulam no mercado (Ventola, 2015). Em suma, a ameaça da resistência antimicrobiana é uma ameaça iminente. Várias avaliações microbiológicas detetaram diversas bactérias multirresistentes em amostras de solo e água (Kamba et al., 2017). O contacto físico das bactérias no meio aquático favorece a troca de elementos genéticos como os transposões e os plasmídeos, os quais irão contribuir para a proliferação da RAM (Lima et al., 2006). Portanto é crucial o desenvolvimento de estratégias para prevenir e controlar esta situação de modo a prevenir uma era pós-antibiótica iminente, uma situação que pode ser pior do que a era pré-antibiótica (Kümmerer, 2003; WA, 2016).

No entanto, a resolução do problema da RAM não é de natureza fácil. Como previamente referido, a OMS decretou que a RAM apresenta-se como um dos maiores desafios de natureza mundial do século XXI e estima-se que em 2050 estas superbactérias (denominadas em inglês como *superbugs*) matem mais pessoas que o cancro, como podemos observar na figura 15 (Walsh, 2014).



**Figura 15:** Estimativa das causas das mortes anuais em 2050 (Walsh, 2014).

Sendo um problema global, a solução passa por uma cooperação a nível internacional. Para isso a OMS propõe várias medidas: primeiro, deve-se promover a utilização racional e ao mesmo tempo uma maior regulamentação de antimicrobianos. Para este efeito, deve-se melhorar os serviços de diagnóstico, especialmente nos países em desenvolvimento, de forma que não haja recurso aos antibióticos como ‘solução comum’. Ao mesmo tempo, é necessário assegurar a qualidade dos medicamentos, através de regulamentações, de forma a reduzir a contribuição do crescimento da RAM por parte de ingestão de antibióticos enfraquecidos. Paralelamente, deve-se exigir uma maior transparência e colaboração dos governos nacionais de forma a identificar as principais rotas de tráfico de contrabando ilegal de antibióticos enfraquecidos. A OMS propõe ainda a fomentação da inovação, ou seja, a criação ou desenvolvimento de técnicas, tecnologias ou produtos que possam contribuir positivamente para este conflito, assim como a criação de ambientes onde essa inovação científica possa crescer.

“São necessárias estratégias e tecnologias inovadoras que variem desde a área científica até os aspetos financeiros e reguladores, para aliviar a escassez de novos antibióticos e outros produtos destinados a limitar a resistência antimicrobiana. Buscam-se várias abordagens inovadoras, porém é necessário muito mais. A inovação floresce num ambiente propício.”  
(World Health Organization, 2012)

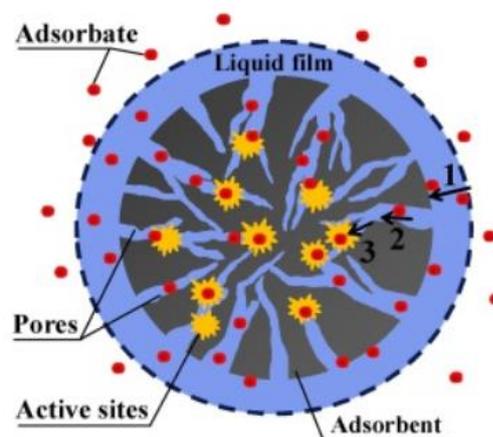
Neste contexto, as Universidades e Centros de Investigação surgem-nos assim como polos críticos no combate à RAM. O âmbito desta dissertação espera contribuir positivamente para a mitigação deste problema, já que ao apontar para o desenvolvimento de novos materiais capazes de eliminar a presença de antibióticos no meio aquático, visa reduzir a possibilidade de RAM.

## 1.8 Tecnologias alternativas para a remoção de antibióticos do meio ambiente

### 1.8.1 Adsorção

A adsorção é definida como um processo de transferência, em massa, de compostos alvo (adsorvatos) de uma fase líquida para a superfície de uma fase sólida (adsorventes). É importante salientar, que na adsorção os adsorvatos ficam apenas retidos na superfície do adsorvente, sem que haja incorporação dos mesmos (Wang & Guo, 2020).

O mecanismo geral de adsorção é composto por três etapas principais, como ilustrado na figura 16. A primeira etapa consiste na transferência do adsorvato de uma dada matriz para a superfície externa do adsorvente. Esta etapa designa-se por difusão externa, e resulta de uma força motriz gerada pelas diferenças de concentração entre a matriz aquosa e a superfície do adsorvente. A segunda etapa compreende a difusão do adsorvato pelos poros do adsorvente e é denominada de difusão interna. A terceira e última etapa do processo de adsorção consiste na ligação do adsorvato aos locais alvo do adsorvente. Todas as fases acima descritas irão influenciar a taxa e o desempenho do processo de adsorção (Wang & Guo, 2020).



**Figura 16:** Mecanismo de adsorção (1- Difusão externa; 2- Difusão interna; 3- Adsorção nos locais alvo) (Wang & Guo, 2020).

Existem dois tipos de adsorção que podem ocorrer, a adsorção física (fisissorção) e a adsorção química (quimissorção). Estas são diferenciadas de acordo com a natureza das forças de interação estabelecidas entre o adsorvente e o adsorvato, ou seja, por meio de ligações covalentes ou não covalentes (Pedro et al., 2019). Na adsorção física, as moléculas aderem à

superfície do adsorvente por meio de interações electroestáticas ou de van der Waals. Contudo estas interações são fracas e incapazes de formarem ligações químicas, tornando a adsorção física um processo reversível. Contrariamente, na adsorção química há transferência de eletrões, o que leva à formação de ligações químicas entre o adsorvato e a superfície do adsorvente. As forças envolvidas neste tipo de adsorção são mais fortes e específicas, o que faz com este processo seja irreversível, sendo a dessorção somente conseguida pela exposição do adsorvente a elevadas temperaturas. Uma outra diferença entre este dois tipos de adsorção consiste na formação de camadas, pois enquanto que na adsorção física podem-se formar várias camadas moleculares sobrepostas, na adsorção química há apenas a formação de uma monocamada molecular adsorvida (Karge, 2008).

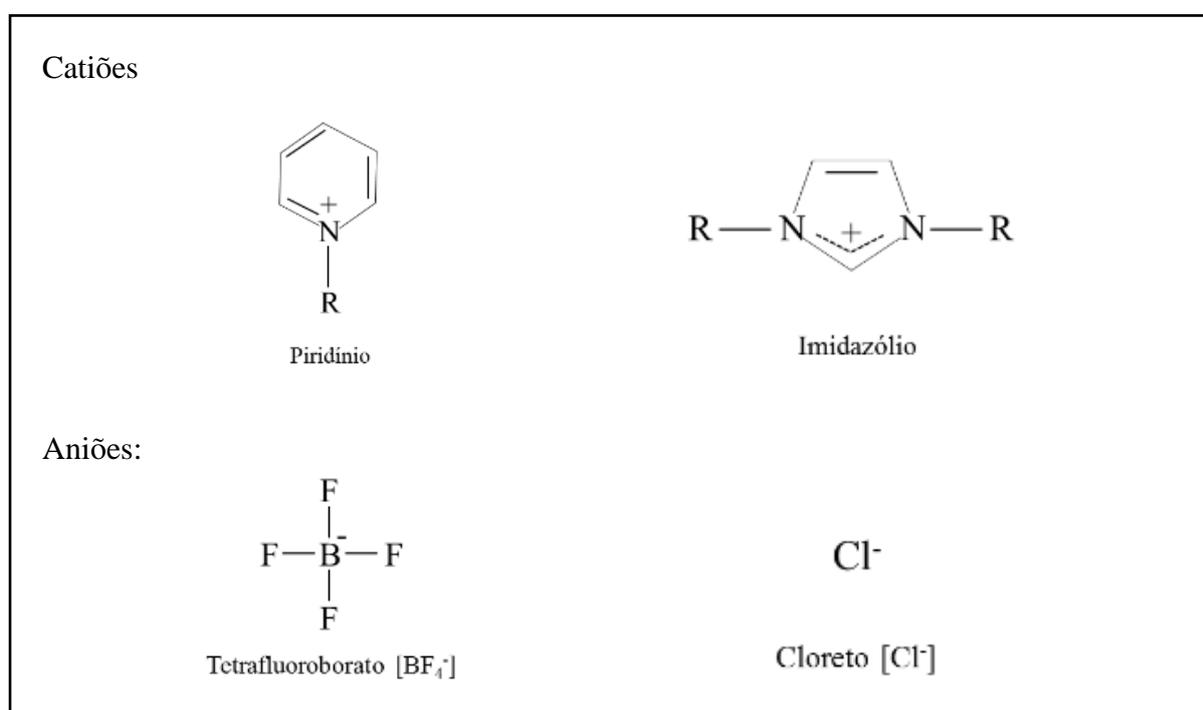
Existem alguns fatores inerentes aos adsorventes e aos adsorvatos que podem influenciar a eficácia dos processos de adsorção. Certos parâmetros intrínsecos aos adsorventes como a área superficial, a uniformidade e tamanho dos poros, a carga superficial e a presença de grupos funcionais podem afetar a eficiência da adsorção (Xiang et al., 2019). Relativamente aos adsorvatos, características como o tamanho molecular, a polaridade, a configuração geométrica e a concentração inicial do analito podem influenciar os processos de adsorção (Xiang et al., 2019). Por último e não menos importante, as condições operacionais como a temperatura, o pH, a força iónica e a presença de matéria orgânica nas soluções são fatores que interferem nos estudos de adsorção (Xiang et al., 2019).

Nos últimos anos, a extração em fase sólida (SPE) têm-se revelado uma técnica bastante promissora em tratamentos de águas residuais. Os analitos contidos numa dada matriz aquosa são extraídos devido ao contacto com um dado adsorvente (Barrionuevo & Lanças, 2001). Um dos exemplos mais comuns de adsorventes usados na SPE é o carvão ativado. Este material é visto como um bom adsorvente para diversos poluentes, entre eles, os antibióticos (Aljeboree & Alshirifi, 2018). Outros exemplos baseiam-se na aplicação de nanopartículas de dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) e materiais à base de óxido de grafeno e de quitosano, os quais mostraram ser eficientes em remover alguns antibióticos como a ciprofloxacina e a tetraciclina (Aljeboree & Alkaim, 2019; Phoon et al., 2020). Também têm sido feitos estudos de adsorção, usando microalgas como adsorventes para a remoção de antibióticos e outros poluentes (Leng et al., 2020). No entanto estes métodos ainda estão numa fase de experimentação inicial e têm demonstrado algumas limitações não só em termos de eficiência, como também a nível de implementação, manutenção e elevados custos económicos inerentes (Phoon et al., 2020).

Neste estudo propõe-se assim uma abordagem inovadora, que consiste na utilização de líquidos iônicos suportados (SILs) como materiais alternativos para a extração em fase sólida (SPE).

### 1.8.2 Líquidos Iônicos Suportados (SILs)

Os líquidos iônicos (ILs) são sais orgânicos constituídos por um catião orgânico (por exemplo imidazólio e piridínio) combinado com aniões orgânicos ou inorgânicos (por exemplo acetato, tetrafluoroborato e cloreto) (Bernardo et al., 2020). Além das suas características peculiares tais como a elevada estabilidade térmica, química e eletroquímica, a alta polaridade e a volatilidade desprezível, a característica mais relevante destes sais orgânicos é serem altamente customizáveis (Ho et al., 2011). Esta última particularidade confere aos mesmos o potencial para serem adaptados de forma a poder manipular-se a estrutura química dos catiões/aniões com o propósito de exibirem um conjunto de propriedades físico-químicas específicas para uma melhor adsorção dos analitos (Bernardo et al., 2020). A figura 17 apresenta alguns catiões e aniões que formam os líquidos iônicos.



**Figura 17:** Estrutura química de alguns exemplos de catiões e aniões que constituem os líquidos iônicos.

No entanto, a elevada solubilidade dos ILs impede o seu uso direto em matrizes aquosas, pois dissolvem-se causando poluição secundária (Zhu et al., 2019). Para contornar esta situação, os ILs podem ser imobilizados num suporte sólido por confinamento físico ou

por ligações covalentes, designando-se por Líquidos iônicos suportados (SILs) (Bernardo et al., 2020). Embora percam algumas das características que possuíam no seu estado líquido, a capacidade de customização é mantida (Zhu et al., 2019). A sílica é usualmente escolhida como material de suporte por ser inerte, mecanicamente resistente, de elevada biocompatibilidade, baixo custo e detentor dum rácio área/superfície baixo, o que lhe confere boa capacidade de adsorver diversos tipos de poluentes quando comparada com outros materiais como o carvão ativado e o grafeno (Almeida et al., 2020; Zhu et al., 2019). Para estabelecer-se a ligação dos ILs à superfície da sílica, é necessário, numa primeira fase, ativar as partículas de sílica por meio de soluções aquosas marcadamente ácidas como por exemplo o ácido nítrico ou o ácido clorídrico. Esta primeira etapa irá aumentar o conteúdo de grupos de silanol na superfície da sílica e eliminar as impurezas (Fontanals et al., 2012). Seguidamente, a sílica é funcionalizada com um agente compatibilizado e, posteriormente, este reage com a molécula que vai dar origem ao catião do líquido iónico (Almeida et al., 2020; Fontanals et al., 2012).

Como referido nos capítulos anteriores, a presença de antibióticos no meio ambiente é uma problemática que gera preocupação, sendo de extrema importância o desenvolvimento de soluções que visem contribuir positivamente para a mitigação dos impactos severos que irão advir da crescente resistência antimicrobiana. Desta forma, o desenvolvimento de SILs à base de sílica têm demonstrado ser uma tecnologia promissora e de baixo custo na remoção de fármacos em soluções aquosas. Estudos mostraram que os SILs conseguem adsorver AINES a partir de soluções aquosas com percentagens de eficiência de 75% (Almeida et al., 2020; Bernardo et al., 2020). Perante estes resultados, estes materiais podem ser considerados como uma solução promissora para a adsorção de antibióticos, visto que os SILs têm propriedades bastante peculiares e podem ser adaptados para melhorar a adsorção de fármacos alvo.

## 1.9 Objetivos

Perante os argumentos supramencionados, torna-se imperativa a criação e implementação de estratégias que contribuam para a mitigação e eficiente remoção dos compostos antimicrobianos antes da sua entrada no ecossistema. Neste sentido, esta dissertação tem como objetivos sintetizar e caracterizar diferentes materiais funcionalizados com líquidos iónicos à base de sílica e proceder a estudos de adsorção, a fim de testar a sua capacidade em adsorver os diferentes tipos de antibióticos de soluções aquosas (e.g., águas provenientes de sistemas de aquacultura). Numa perspetiva futura, pretende-se contribuir para o desenvolvimento de dispositivos eficientes e capazes de remover ABs de águas residuais e de matrizes ambientais, evitando a sua entrada ou promovendo a sua recuperação a partir dos ecossistemas naturais, contribuindo assim para o controlo da resistência antimicrobiana (RAM).



## **2. Parte Experimental**

---



## 2.1 Materiais

A parte experimental deste trabalho foi dividida em três etapas principais. Numa primeira fase foram sintetizados e caracterizados diferentes SILs. De seguida, foram realizadas experiências de adsorção com os SILs sintetizados utilizando soluções aquosas dos três antibióticos testados (ciprofloxacina, cloranfenicol e tetraciclina). Em última análise foram efetuados estudos de adsorção com os SILs mais promissores, inserindo os 3 antibióticos em amostras de águas provenientes de tanques de aquacultura em Portugal.

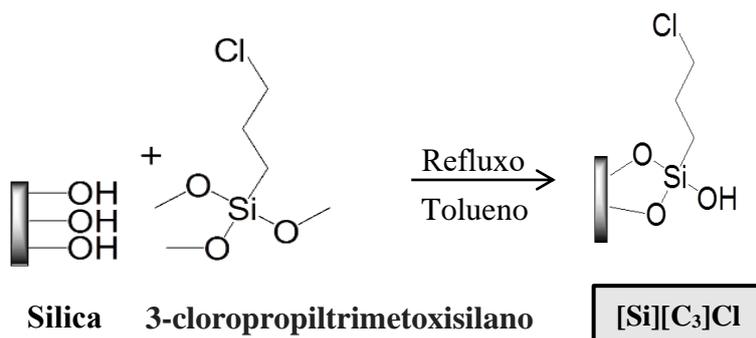
Todos os reagentes utilizados nestas etapas bem como os seus respetivos graus de pureza e fornecedores estão listados na tabela 4.

**Tabela 4:** Reagentes usados na síntese dos SILs e os seus respetivos graus de pureza e fornecedores.

<b>Reagentes</b>	<b>Pureza</b>	<b>Fornecedor</b>
<b>3-cloropropiltrimetoxisilano</b>	98%	Acros Organics
<b>Ácido clorídrico</b>	37%	Sigma Aldrich
<b>Ciprofloxacina</b>	98%	TCI
<b>Cloranfenicol</b>	98%	Sigma-Aldrich
<b>Etanol</b>	99,9%	Carlo Eba
<b>Tetraciclina</b>	99,9%	Alfa Aesar
<b>Gel de sílica 60 Å</b>	-	Merck
<b>Metanol</b>	>99,9%	Chem-Lab
<b>N,N-dimetilbutilamina</b>	99%	Aldrich
<b>N-metilimidazol</b>	99%	Acros Organics
<b>Tolueno</b>	99,8%	Sigma Aldrich
<b>Tributilamina</b>	99%	Acros Organics
<b>Trietilamina</b>	>99,9%	Carlo Erba
<b>Triocetilamina</b>	<98,0 %	Fluka

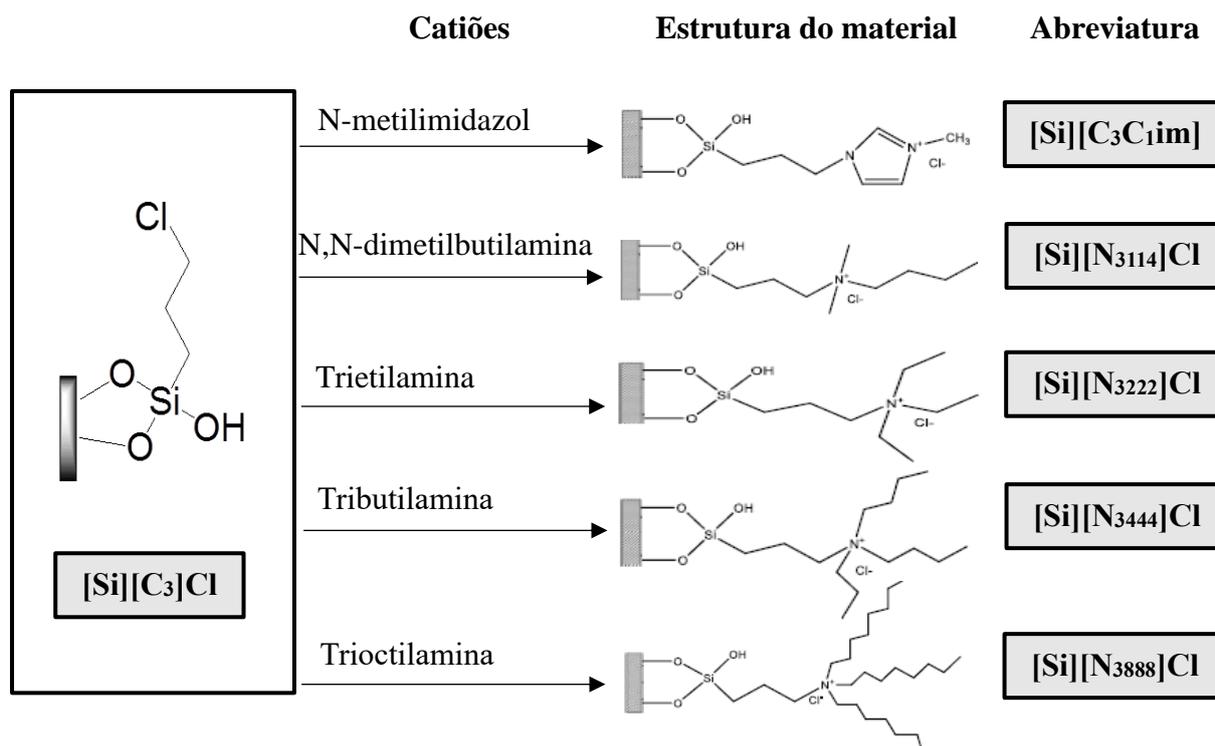
## 2.2 Síntese dos Líquidos Iônicos Suportados

A primeira etapa necessária para a síntese dos Líquidos Iônicos Suportados é a ativação da sílica antes da sua funcionalização com os líquidos iônicos. Nesta fase, a sílica é imersa em ácido clorídrico durante 24 horas, sendo depois lavada com água destilada e seca sob vácuo por outras 24 horas. Posteriormente, são colocados 5g de sílica ativada, 50 mL de tolueno e 5 mL de 3-cloropropiltrimetoxissilano num balão de fundo redondo acoplado a um condensador de refluxo. Esta suspensão é agitada magneticamente à temperatura de refluxo (aproximadamente 92,85 °C) por 24 horas. Após o refluxo, a suspensão é arrefecida até atingir a temperatura ambiente e o sólido filtrado é lavado com diversos solventes pela seguinte sequência: 100 mL de tolueno, 200 mL de uma mistura etanol:água 1:1 (v/v), 500 mL de água destilada e por último 100 mL de metanol. Em seguida, o material obtido é seco numa estufa a 50 °C, durante 24h e é denominado de sílica cloropropílica, [Si][C<sub>3</sub>]Cl. Na figura 18, é ilustrado um esquema da síntese deste material.



**Figura 18:** Representação esquemática da síntese do [Si][C<sub>3</sub>]Cl.

O passo seguinte, baseia-se na reação deste material ([Si][C<sub>3</sub>]Cl) com o reagente que originará o catião do IL que pretendemos. Para isso, são colocados 5g de [Si][C<sub>3</sub>]Cl, 50 mL de tolueno e 5 mL da fonte de catião desejado num balão de fundo redondo novamente acoplado a um condensador de refluxo e agitado magneticamente durante 24 horas. No final do processo, procede-se novamente à filtração e lavagem do material com 100 mL de tolueno, 350 mL de metanol, 300 mL de água destilada e outros 150 mL de metanol. Por fim, o material é seco numa estufa a 50 °C durante 24 horas. A síntese de todos os SILs obtidos neste trabalho prático, bem como as suas respetivas fontes de catião estão representadas no esquema da figura 19.



**Figura 19:** Esquema da síntese dos SILs a partir do [Si][C<sub>3</sub>]Cl e das diversas fontes de catião. É também indicado a estrutura e abreviatura dos SILs.

## 2.3 Caracterização dos Líquidos Iônicos Suportados

### 2.3.1 Análise elementar

Esta técnica permite determinar a composição em carbono, hidrogénio e azoto nas amostras de SILs sintetizados. O teor em carbono, hidrogénio e azoto foram determinados por análise elementar, usando o equipamento Truspec 630-200-200, com uma amostra de cerca de 2 mg, temperatura do forno de combustão de 1075 °C e temperatura de pós-combustão de 850 °C. O método de deteção do carbono e hidrogénio foi feito por absorção de infravermelhos e para o azoto foi usada a condutividade térmica.

### 2.3.2 Ponto de carga zero (PZC)

A imobilização dos Líquidos iônicos (ILs) na superfície da sílica causa variações no PZC, as quais dependem do tipo de estrutura que funcionaliza a sílica. Os valores do potencial

zeta foram determinados para todos os SILs pelo equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS, utilizando as soluções aquosas NaOH e HCl (0,1 M) para ajustes no pH.

### **2.3.3 Área de superfície específica (BET)**

A área de superfície específica é aferida pela adsorção de azoto utilizando um analisador de área de superfície Micromeritics Gemini V-2380. O método Brunaver-Emmet-Teller (BET) é aplicado para calcular a área de superfície ( $S_{BET}$ ) da sílica.

## **2.4 Espectroscopia de Absorção Molecular**

A espectroscopia de Absorção Molecular consiste numa técnica analítica espectroscópica que envolve a interação da radiação eletromagnética com os materiais, produzindo, assim, um espectro a partir do qual é possível identificar e quantificar substâncias (Lipson, 2009).

As soluções aquosas preparadas com os diferentes tipos de antibióticos foram quantificadas por Espectroscopia de Absorção Molecular, utilizando o equipamento Shimadzu UV-1800, Pharma-Spec UV-Vis e células de quartzo com dimensões de 1x1cm. Inicialmente foi realizada uma curva de calibração para cada um dos antibióticos com o objetivo de identificar o comprimento de onda máximo de adsorção para cada antibiótico e constatou-se ser de 273 nm para a Ciprofloxacina e Cloranfenicol e 356 nm para a Tetraciclina. Para cada um dos antibióticos, foram feitas duas réplicas, com o objetivo de minimizar eventuais erros experimentais.

## **2.5 Estudos de adsorção**

A adsorção da ciprofloxacina, do cloranfenicol e da tetraciclina foram avaliadas usando como adsorventes os diversos SILs sintetizados. Com o propósito de averiguar o desempenho e a eficiência dos SILs foram efetuados diversos estudos de adsorção com os diferentes tipos de antibióticos. Para isso adicionou-se 5 mL de uma dada solução de antibiótico previamente preparada a 25 mg de cada SIL, em diversos frascos. Este procedimento foi repetido para as diferentes soluções de antibióticos. De seguida, colocaram-se estas suspensões num agitador

orbital a 25 °C e 250 rpm durante uma hora. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas durante 2 minutos a 12 000 rpm e lidas no espectrofotômetro. Foram feitas mais experiências com os SILs que mostraram melhores eficiências de adsorção. Também foram realizadas, com os SILs mais promissores, experiências com águas provenientes de sistemas de aquacultura.

### 2.5.1 Cinéticas de adsorção

As cinéticas de adsorção são importantes procedimentos experimentais, pois permitem averiguar o tempo de contacto necessário entre o adsorvato (antibiótico) e o adsorvente (SIL) para que o equilíbrio seja atingido, indicando a velocidade da adsorção.

Neste estudo, para a ciprofloxacina, cloranfenicol e tetraciclina foram preparadas soluções aquosas de 20 mg/L, 70 mg/L e 230 mg/L, respetivamente. Cada um dos antibióticos foi testado individualmente, tendo sido adicionados 5 mL de cada antibiótico a frascos identificados contendo 25 mg de cada um dos SILs anteriormente sintetizados. Posteriormente estas suspensões foram mantidas em rotação num agitador orbital (250 rpm) a 25°C. De seguida, cada frasco foi retirado tendo em conta os seguintes intervalos de tempo: 30 segundos; 1 minuto; 2 minutos; 5 minutos; 10 minutos; 20 minutos; 40 minutos; 60 minutos, sendo transferidas para microtubos eppendorf de 2 mL para serem centrifugadas a 12000 rpm durante 2 minutos. No fim, a concentração dos antibióticos no sobrenadante foi quantificada por Espectroscopia de Absorção Molecular utilizando a reta de calibração previamente estabelecida.

Com o propósito de avaliar a capacidade de adsorção e a eficiência dos materiais sintetizados, a quantidade de antibiótico adsorvida por grama de adsorvente em equilíbrio (mg/g) foi calculada, utilizando a seguinte equação:

$$q_e = \left( \frac{(C_0 - C_e) \times V}{w} \right) \quad (1)$$

Onde  $C_0$  é a concentração inicial de antibiótico na solução (mg/L),  $C_e$  a concentração de equilíbrio do antibiótico (mg/L),  $V$  o volume da solução aquosa de antibiótico (L) e  $w$  a massa de SIL utilizada (g) (Almeida et al., 2020).

Outro parâmetro que pode ser calculado para averiguar o desempenho do processo de adsorção é a eficiência de adsorção ( $EA\%$ ), a qual expressa a percentagem de adsorvato que foi removida pelo SIL. No entanto, deve-se ter em atenção que este valor apenas fornece uma visão superficial da eficiência de adsorção, pois é bastante influenciado pela concentração inicial do analito e massa de adsorvente, devendo ser só utilizado como um *screening* para avaliar rapidamente a *performance* dos materiais (utilizando condições idênticas para todos).

$$EA\% = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100 \quad (2)$$

Vários modelos cinéticos foram desenvolvidos para descrever o mecanismo dos processos de adsorção, destacando-se o Modelo pseudo-primeira ordem e o Modelo pseudo-segunda. Neste estudo, estes dois modelos pseudo reacionais foram ajustados aos dados experimentais (Wang & Wang, 2018).

O modelo pseudo-primeira ordem, também designado por equação de Lagergren foi utilizado para descrever o processo de adsorção em sistemas sólido-líquido (Wang & Wang, 2018). Este traduz a velocidade de adsorção e é descrito pela seguinte equação:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_e - q_t) \quad (3)$$

Onde  $q_e$  representa a quantidade adsorvida pelo adsorvente (mg/g) em equilíbrio e  $q_t$  a quantidade adsorvida pelo adsorvente em função do tempo ( $t$ ). A constante  $k_1$  é a constante de velocidade de primeira ordem ( $\text{min}^{-1}$ ).

O modelo de pseudo-segunda ordem, desenvolvido por Ho e McKay, foi também aplicado para descrever a capacidade de adsorção da fase sólida. Este modelo prevê o comportamento ao longo do tempo e indica que o processo de adsorção é de natureza química, envolvendo, deste modo, transferência de elétrões e formação de ligações químicas entre o adsorvato e a superfície do adsorvente (Hui et al., 2005). Este modelo pode ser traduzido pela seguinte equação:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_e - q_t)^2 \quad (4)$$

Onde  $q_e$  e  $q_t$  representam as mesmas variáveis presentes no modelo pseudo-primeira ordem e  $k_2$  é a constante de velocidade de adsorção de segunda ordem (g/mg min<sup>-1</sup>).

O ajuste dos modelos para os valores experimentais foram feitos utilizando o software GraphPad Prism9. Por último, com o intuito de avaliar o desempenho e a validade dos modelos cinéticos e para averiguar qual deles descreve melhor os dados experimentais, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi calculado usando a seguinte equação (Wang & Guo, 2020b):

$$R^2 = \frac{\sum(q_{mean} - q_{cal})^2}{\sum(q_{cal} - q_{mean})^2 + \sum(q_{cal} - q_{exp})^2} \quad (5)$$

## 2.5.2 Isotérmicas de adsorção

As isotérmicas de adsorção são modelos que descrevem a distribuição do soluto em equilíbrio, representando a quantidade de adsorvato em equilíbrio na fase sólida ( $q_e$ ) e a concentração final de adsorvato em equilíbrio na fase líquida ( $C_e$ ), a uma temperatura e tempo constantes (Wang & Guo, 2020a). O estado de equilíbrio de adsorção é atingido quando ocorre o contacto entre o adsorvato (antibiótico) e o adsorvente (SIL) por um período de tempo suficiente, levando a que a concentração da solução de adsorvato esteja em equilíbrio dinâmico com a concentração da interface sólida (Al-Ghouti & Da'ana, 2020).

Para realizar as isotérmicas de adsorção, foram preparadas soluções aquosas dos antibióticos a diferentes concentrações, variando de 20 mg/L a 1 g/L para o cloranfenicol, e de 5 mg/L a 230 mg/L para a tetraciclina. Relativamente à ciprofloxacina, devido a dificuldades na sua solubilidade não foram realizadas isotérmicas e procedeu-se diretamente à sua saturação em contínuo. A massa dos SIL usada foi de 25 mg e o tempo de contacto necessário para o equilíbrio de adsorção foi estabelecido pelos estudos cinéticos, que neste caso foi de 20 minutos. O método aplicado foi muito idêntico ao descrito nos estudos das cinéticas, usando 5 mL de cada solução de antibiótico em diferentes frascos contendo os SILs. Após o tempo de

contacto estabelecido, as amostras foram centrifugadas durante 2 minutos a 12000 rpm e o sobrenadante foi quantificado por Espectroscopia de Absorção Molecular.

Neste estudo, três modelos foram ajustados aos dados experimentais com o propósito de analisar os mecanismos e a capacidade máxima de adsorção. Os modelos de isotérmicas de adsorção aplicados foram os seguintes: Modelo de Freundlich, Modelo de Langmuir e Modelo de Sips. O Modelo de Freundlich é o mais frequentemente usado para descrever a adsorção de compostos orgânicos e inorgânicos (Hui et al., 2005). Este modelo empírico presume que a adsorção ocorre numa superfície heterogénea e pode haver formação de multicamadas com uma distribuição exponencial (distribuição não uniforme) dos sítios ativos de adsorção (Al-Ghouti & Da'ana, 2020). A equação de Freundlich é representada por:

$$q_e = K_f \times C_e^{1/n} \quad (6)$$

Onde,  $q_e$  representa a quantidade adsorvida pelo adsorvente (mg/g) em equilíbrio,  $C_e$  a concentração de equilíbrio da solução aquosa (mg/L) e  $K_f$  a constante de equilíbrio de Freundlich (mg/g). O termo  $n$  é a constante de Freundlich e indica a intensidade de adsorção (Almeida et al., 2020). A intensidade da adsorção indica a distribuição relativa da energia e a heterogeneidade dos sítios de adsorção. Quando  $1/n$  é maior que zero significa que a adsorção é favorável. No entanto, se  $1/n$  for maior do que 1, indica que o processo de adsorção é desfavorável, sendo irreversível quando  $1/n = 1$ . A irreversibilidade do processo de adsorção pode ser devida a uma elevada concentração de adsorvato, a qual deverá diminuir antes da dessorção das moléculas de adsorvato da superfície (Al-Ghouti & Da'ana, 2020).

Ao contrário do modelo anterior, o modelo de Langmuir baseia-se numa superfície de adsorção totalmente homogénea com a formação de uma monocamada de adsorvato. Com base neste modelo, a adsorção ocorre num local específico do adsorvente, ou seja, uma vez ocupados os sítios específicos do adsorvente, não existem mais locais disponíveis para a adsorção de mais nenhuma molécula (Wang & Wang, 2018). Este modelo pressupõe também que cada molécula possui energia de adsorção e entalpias constantes (Al-Ghouti & Da'ana, 2020). A equação seguinte, descreve a isotérmica de Langmuir:

$$q_e = \frac{q_{max} \times B \times C_e}{1 + B \times C_e} \quad (7)$$

Onde,  $q_e$  representa a quantidade adsorvida pelo adsorvente (mg/g) em equilíbrio,  $q_{max}$  a capacidade máxima de adsorção,  $B$  a constante de Langmuir e  $C_e$  a concentração de equilíbrio da solução aquosa (mg/L).

O modelo de Sips, consiste num outro modelo empírico que se baseia na combinação dos dois modelos isotérmicos acima descritos, o modelo de Freundlich e o modelo de Langmuir. A isotérmica de Sips foi deduzida com o propósito de prever a heterogeneidade dos sistemas de adsorção e contornar as limitações associadas ao aumento das concentrações de adsorvato do modelo de Freundlich. Em elevadas concentrações de adsorvato, este modelo prevê uma capacidade de adsorção em monocamada, a qual é característica do modelo de Langmuir em baixas concentrações reduz-se para a isotérmica de Freundlich (Al-Ghouti & Da'ana, 2020). A equação deste modelo é dada por:

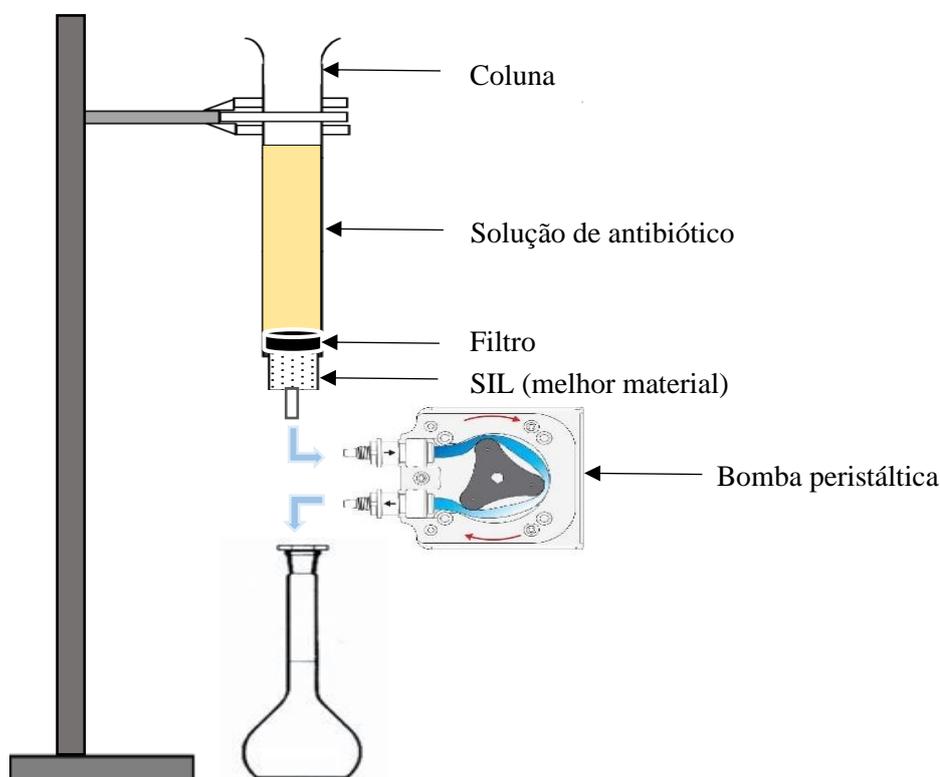
$$q_e = \frac{q_{max} \times K_S \times C_e^{1/n}}{1 + K_S \times C_e^{1/n}} \quad (8)$$

Onde,  $q_e$  representa a quantidade adsorvida pelo adsorvente (mg/g) em equilíbrio,  $q_{max}$  a capacidade máxima de adsorção,  $K_S$  é a constante de equilíbrio de Sips,  $C_e$  a concentração de equilíbrio da solução aquosa (mg/L) e  $n$  é a constante de equilíbrio que caracteriza a heterogeneidade dos sítios de adsorção. Se o valor de  $n$  for igual a 1, a equação simula uma equação de Langmuir. Porém, se o valor de  $n$  aproximar-se de 0, a isotérmica remete à equação de Freundlich (Dwivedi et al., 2011).

Para finalizar, o ajuste dos modelos aos dados experimentais foi de igual forma efetuado pelo software GraphPad Prism9 e a validade dos mesmos foi também testada pelo cálculo do coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

### 2.5.3 Estudos de adsorção em contínuo

Os estudos de adsorção em contínuo podem ser efetuados usando uma coluna. Estes estudos foram realizados para cada uma das soluções de antibióticos apenas para o material mais promissor e, também, para experiências com soluções de antibiótico em meios de aquacultura. Nestes estudos, uma solução aquosa contendo ciprofloxacina a 20 mg/L, cloranfenicol a 947,80 mg/L e tetraciclina a 230 mg/L é bombeada através de uma coluna e entra em contacto com uma determinada quantidade de adsorvente (aproximadamente 400 mg), num certo período de tempo. A solução aquosa contendo o analito percorre a coluna e é recolhida e analisada por espectroscopia de absorção molecular. Este processo é repetido até que a concentração da solução colhida seja a mesma que a concentração inicial da solução de antibiótico, indicando assim que se atingiu a saturação do material. Este procedimento foi repetido também para soluções de antibiótico preparadas em meios de aquacultura. Estas experiências permitem assim aferir a capacidade máxima de adsorção do material adsorvente. A figura seguinte mostra uma representação esquemática dos estudos de adsorção em contínuo.



**Figura 20:** Esquema do sistema de adsorção em contínuo

### **3. Resultados e discussão**

---



## 3.1. Caracterização dos materiais

### 3.1.1. Análise elementar

A análise elementar foi utilizada com o intuito de quantificar as percentagens de carbono, hidrogénio e azoto presentes nos diversos SILs. Pela observação dos resultados apresentados na tabela 5, é possível concluir que todos os materiais sintetizados são compostos por carbono, hidrogénio e azoto, com a exceção do material [Si][C<sub>3</sub>]Cl, o qual não expressou azoto na sua composição. Tal facto seria de esperar, visto que este material não contém nenhum azoto na sua constituição. No entanto, após a adição de uma determinada fonte catiónica (contendo azoto na sua composição) ao [Si][C<sub>3</sub>]Cl, é possível observar que os diversos SILs sintetizados já apresentam percentagens de azoto. Também se pode constatar que o material com uma maior percentagem de azoto é o [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1</sub>im]Cl, o que é consistente com a estrutura química do material, visto que este é o único que possui um anel de imidazólio com dois átomos de azoto enquanto as outras estruturas apresentam apenas um átomo de azoto na sua composição. Estes resultados permitem afirmar que a imobilização dos líquidos iónicos na sílica foi bem sucedida, visto que os resultados estão de acordo com o esperado.

### 3.1.2. Ponto de carga zero (PZC)

As medições do potencial zeta foram realizadas com o propósito de estudar a carga superficial das partículas dos materiais funcionalizados à base de sílica e foram fundamentais para compreender o mecanismo de adsorção numa perspetiva de adsorção eletrostática (Zhang et al., 2017). A partir destas medições, foi determinado o ponto de carga zero (PZC), o qual corresponde ao valor de pH para o qual a carga elétrica na superfície do material é igual a zero. Na tabela 5 estão representados os valores do ponto de carga zero para cada SIL. Pela observação dos resultados, é possível observar que os SILs sintetizados exibiram valores de PZC mais elevados do que o [Si][C<sub>3</sub>]Cl e a sílica, garantindo a presença de um catião nos SILs e, conseqüentemente, uma funcionalização bem sucedida da sílica.

### 3.1.3. Quantidade de líquido iônico ligado à sílica (BA)

A área de superfície específica ( $S_{BET}$ ) da sílica foi determinada com o propósito de inferir qual a área de superfície da sílica disponível para a funcionalização com os líquidos iônicos. Tendo por base o método de BET, o valor calculado foi de 434,545 m<sup>2</sup>/g. Posto isto, foi possível relacionar este valor, com os resultados obtidos da análise elementar, nomeadamente dos valores percentuais de carbono e azoto de cada SIL, com o intuito de calcular a quantidade de líquido iônico ligado à sílica (Bonding Amount-BA). Estes cálculos foram realizados utilizando as seguintes equações abaixo mencionadas:

$$BA = \frac{\%C}{3 \times M(C)} \times S_{BET} \quad (9)$$

A equação 9 é utilizada para o cálculo da quantidade de ligação (BA) do material [Si][C<sub>3</sub>]Cl. A %C foi previamente avaliada por análise elementar,  $M(C)$  corresponde à massa molar do carbono ( $M(C)=12$  g/mol), sendo esta multiplicada por três devido à presença de três carbonos no material [Si][C<sub>3</sub>]Cl e  $S_{BET}$  representa a área de superfície da sílica determinada por BET (435 m<sup>2</sup>/g).

$$BA = \frac{\%N}{2 \times M(N)} \times S_{BET} \quad (10)$$

A equação 10 foi usada para o cálculo da quantidade de ligação (BA) no composto [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1</sub>im]Cl. A %N foi previamente avaliada por análise elementar,  $M(N)$  corresponde à massa molar do azoto ( $M(N)=14$  g/mol), sendo esta multiplicada por dois devido à presença de dois átomos de azoto no [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1</sub>im]Cl e  $S_{BET}$  representa, também, a área de superfície da sílica (435 m<sup>2</sup>/g).

$$BA = \frac{\%N}{1 \times M(N)} \times S_{BET} \quad (11)$$

Por último, a equação 11 foi aplicada aos restantes SILs, entre eles o [Si][N<sub>3114</sub>]Cl, [Si][N<sub>3222</sub>]Cl, [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, já que estes apresentam apenas um átomo de azoto na sua estrutura.

Os resultados obtidos relativos à quantidade de ligação estão apresentados na tabela 5, assim como os resultados obtidos por análise elementar, do PCZ e do número de moles de cada fonte catiónica utilizada para a síntese dos SILs.

**Tabela 5:** Valores experimentais de percentagem de massa (obtidos por análise elementar), ponto de carga zero, número de moles utilizados para a síntese dos diferentes SILs e quantidade de ligação dos líquidos iónicos em cada SIL.

SILs	[%] C	[%] H	[%] N	PZC	N (mol)	Quantidade de ligação (μmol/m <sup>2</sup> )
Sílica	-	-	-	3,4	-	-
[Si][C <sub>3</sub> ]Cl	4,637	1,394	0	4,2	-	2,96
[Si][C <sub>3</sub> C <sub>1im</sub> ]Cl	8,968	2,155	3,022	8,9	0,061	2,48
[Si][N <sub>3114</sub> ]Cl	8,872	2,117	0,859	9,3	0,035	1,41
[Si][N <sub>3222</sub> ]Cl	6,724	1,563	0,276	9	0,036	0,45
[Si][N <sub>3444</sub> ]Cl	6,379	1,427	0,139	6	0,021	0,23
[Si][N <sub>3888</sub> ]Cl	6,426	1,432	0,060	5,5	0,011	0,10

Pela observação dos resultados de BA especificados na tabela acima, podemos concluir que após a adição da fonte catiónica nem todos os compostos reagiram de igual forma com a quantidade de [Si][C<sub>3</sub>]Cl existente na superfície da sílica. De entre os SILs sintetizados, o que apresentou um maior grau de funcionalização foi o [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1im</sub>]Cl. Por outro lado, os que mostraram uma funcionalização mais baixa foram [Si][N<sub>3222</sub>]Cl, [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl. Posto isto, podemos concluir que os SILs detentores de maiores cadeias alquílicas, apresentaram uma menor quantidade de ligação (BA). Isto pode-se justificar, na medida em que o número de moles de fontes de catião utilizados para a síntese dos diferentes SILs foram diferentes, tendo sido tanto menor quanto maior o peso molecular da fonte de catião em causa (ver tabela 5).

Contudo, os materiais com uma menor quantidade de ligação (BA), parecem ser os mais promissores, como se pode observar pela análise e discussão dos resultados nos próximos capítulos.

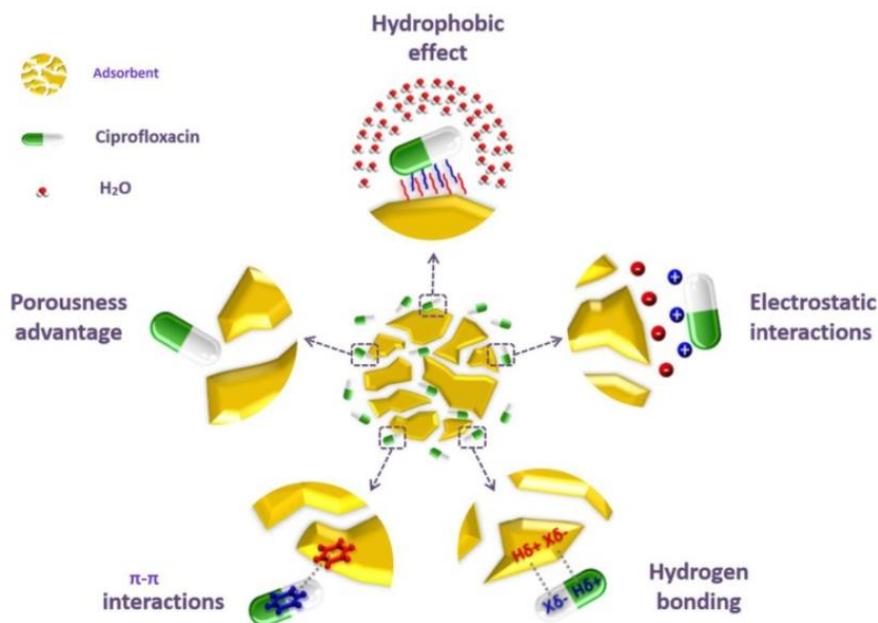
### 3.2. Estudos de adsorção para a ciprofloxacina

Para estudar o comportamento de adsorção da ciprofloxacina pelos materiais, foram primeiro realizadas experiências de adsorção com este antibiótico para todos os SILs previamente sintetizados assim como para os materiais precursores, sílica e [Si][C<sub>3</sub>]Cl. Para este efeito, em diferentes frascos devidamente identificados, pesaram-se 25 mg de cada SIL e posteriormente adicionou-se um volume de 5 mL de solução de ciprofloxacina a uma concentração de 20 mg/L, em cada um dos frascos. De seguida, colocaram-se estas suspensões num agitador orbital (250 rpm) a 25 °C, durante 60 minutos. Posteriormente, centrifugaram-se as suspensões durante 2 minutos a 12 000 rpm e procedeu-se à quantificação da ciprofloxacina por espectroscopia de absorção molecular. Na tabela seguinte estão expressos os resultados obtidos, demonstrando que os materiais [Si][C<sub>3</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl foram os materiais mais promissores com um  $q_e$  de 2,85 e 2,10 mg/g, respetivamente. Estes dois materiais foram os escolhidos para realizar posteriores estudos cinéticos e isotérmicos. O carvão ativado foi usado como material adsorvente de controlo, visto que este é amplamente descrito na literatura como sendo um bom adsorvente.

**Tabela 6:** Valores do coeficiente de adsorção em equilíbrio ( $q_e$  (mg/g)), da eficiência de adsorção (EA%) e da concentração em equilíbrio ( $C_e$  (mg/L)) de cada um dos SILs sintetizados para a adsorção da ciprofloxacina ( $C_0$  de ciprofloxacina 20 mg/L e massa de SIL 25 mg).

<b>Materiais</b>	<b><math>q_e</math> (mg/g)</b>	<b>EA%</b>	<b><math>C_e</math> (mg/L)</b>
<b>Sílica</b>	0,43	11,17	17,77
<b>[Si][C<sub>3</sub>]Cl</b>	2,85	71,17	5,77
<b>[Si][C<sub>3</sub>C<sub>1im</sub>]Cl</b>	0	0	23,43
<b>[Si][N<sub>3114</sub>]Cl</b>	0	0	23,70
<b>[Si][N<sub>3222</sub>]Cl</b>	0	0	22,35
<b>[Si][N<sub>3444</sub>]Cl</b>	2,08	52,38	9,52
<b>[Si][N<sub>3888</sub>]Cl</b>	2,10	54,37	9,13
<b>Carvão ativado</b>	2,93	74,07	5,19

De entre os principais mecanismos que possam estar envolvidos no processo de adsorção da ciprofloxacina destacam-se as interações eletrostáticas, as interações  $\pi$ - $\pi$ , as ligações hidrogénio, as interações hidrofóbicas e a difusão dos poros, como se pode observar na figura 21.

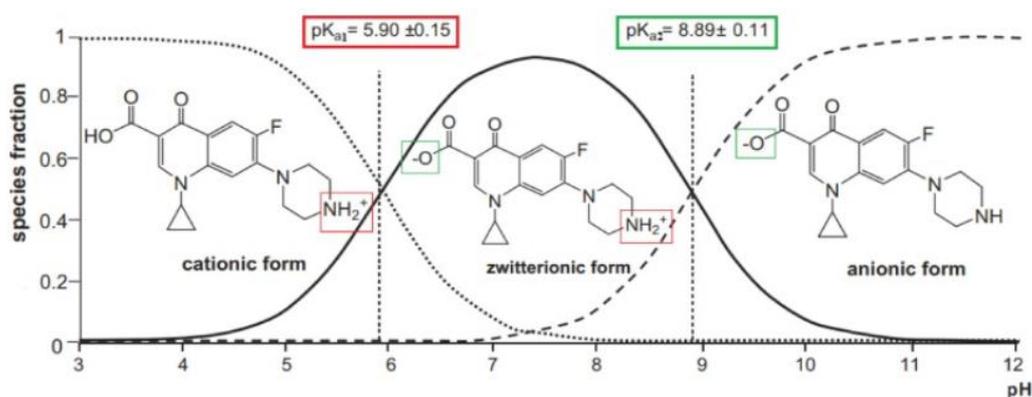


**Figura 21:** Exemplo dos principais mecanismos que podem estar envolvidos no processo de adsorção da ciprofloxacina (Igwegbe et al., 2021).

A molécula de ciprofloxacina tem um anel aromático benzeno na sua estrutura química, o qual é capaz de formar interações  $\pi$ - $\pi$  com os adsorventes devido à sua natureza rica em eletrões, causando, assim, um efeito de “empilhamento”. Estas ligações parecem ser mais fortes quando o pH da solução é neutro e a CIP se encontra na sua forma zwitteriónica (Igwegbe et al., 2021). Por sua vez o SIL [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1</sub>im]Cl também possui anéis aromáticos onde estas interações podem ocorrer. No entanto, neste estudo este material não apresentou qualquer eficiência de adsorção para este contaminante, o que indica que outros tipos de interações poderão estar envolvidas no processo de adsorção.

Outras das interações que podem ocorrer são as ligações de hidrogénio. Estas interações representam ligações intermoleculares parciais fracas e são um tipo especial de interações dipolo-dipolo que se formam entre o hidrogénio e alguns átomos como oxigénio, azoto e flúor (Igwegbe et al., 2021). A molécula de ciprofloxacina tem uma ligação hidrogénio ao azoto, o que pode desempenhar um papel importante na formação de ligações de hidrogénio.

Relativamente às interações eletrostáticas podemos concluir que estas não serão as principais forças envolvidas, pois pela observação dos valores de PZC (tabela 5), é possível concluir que ao pH a que a solução de ciprofloxacina se encontra (6,39), os materiais mais promissores ([Si][C<sub>3</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl) estão carregados negativamente (ver gráficos 29A e 31C em anexo). No entanto, como a ciprofloxacina, a este pH, está na sua forma zwitteriônica (ver figura 22) poderia formar interações eletrostáticas tanto com materiais carregados positivamente como negativamente. Porém, como apenas dois materiais apresentaram favoráveis eficiências de adsorção, podemos concluir que não deve ser este o tipo de interações presentes.



**Figura 22:** Formas iônicas da ciprofloxacina baseadas no pKa (Igwegbe et al., 2021).

Por outro lado, as interações hidrofóbicas poderão ser responsáveis pelo processo de adsorção, pois estes materiais possuem na sua constituição química cadeias alquílicas. Para que o efeito hidrofóbico seja o mecanismo dominante, a adsorção de contaminantes não polares em materiais porosos teria que ser proporcional ao coeficiente de partição octanol-água ( $\text{Log}K_{ow}$ ). Na tabela seguinte podemos observar os diferentes valores de  $\text{Log}K_{ow}$  de cada uma das fontes de catião inerentes aos diferentes SILs.

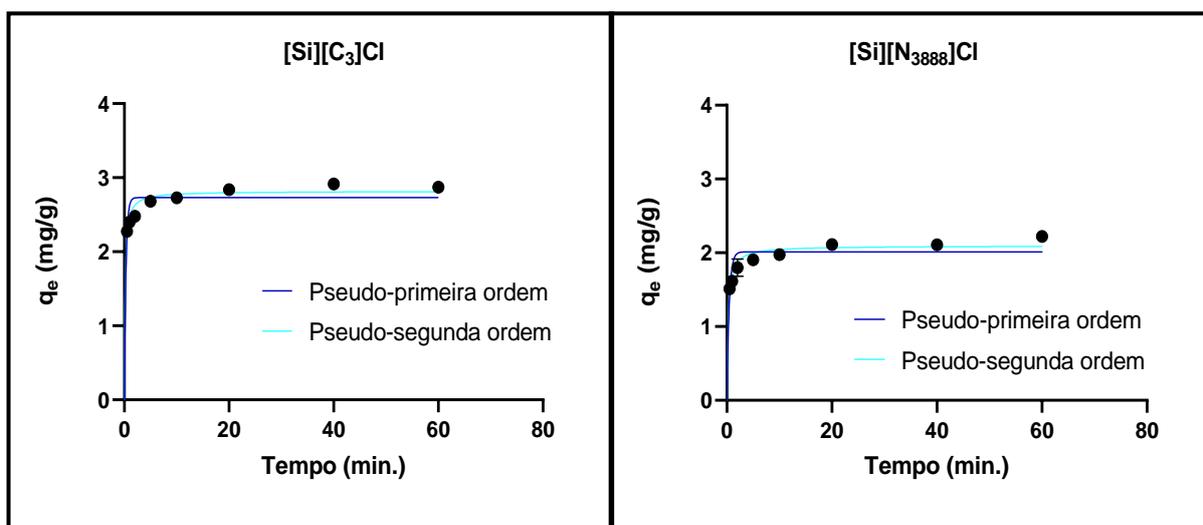
**Tabela 7:** Valores de  $\text{Log} k_{ow}$  das fontes de catião utilizadas para a síntese dos SILs.

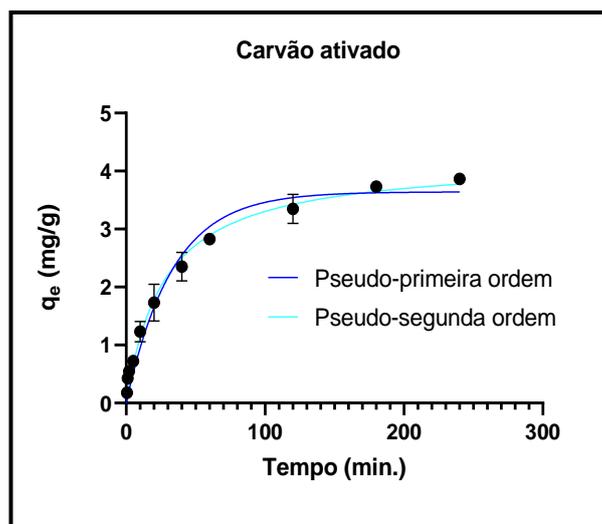
Catiões	$\text{Log} K_{ow}$
N-metilimidazol	-0,19
N,N-dimetilbutilamina	1,94
Trietilamina	1,45
Tributilamina	4,46
Trietilamina	10,94

Pela análise da tabela 7, podemos verificar que as fontes de catião mais hidrofóbicas são a trioctilamina e a tributilamina, o que está de acordo com o desempenho dos materiais [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e [Si][N<sub>3444</sub>]Cl, pois foram os SILs que demonstraram uma melhor eficiência de remoção, para além do [Si][C<sub>3</sub>]Cl. Por outro lado, o N-metilimidazol representa o catião com um valor Log K<sub>ow</sub> negativo, pelo qual é uma das razões do [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1</sub>im]Cl não ter demonstrado qualquer eficiência de adsorção, visto que a possibilidade de interação hidrofóbica é muito baixa.

### 3.2.1 Cinéticas de adsorção

Os resultados dos estudos das cinéticas de adsorção e os modelos de ajuste para os melhores materiais estão representados nos gráficos da figura 23. Podemos observar que no início do processo, a adsorção é bastante rápida. Tal facto deve-se ao adsorvente, nesta fase, possuir uma grande quantidade de sítios ativos disponíveis, onde o adsorvato se pode ligar. Seguidamente, pode-se observar uma diminuição progressiva da adsorção até que o equilíbrio seja atingido. Nesta fase, ocorre saturação dos poros e o analito move-se lentamente dos poros maiores para os microporos do adsorvente, causando assim uma taxa de adsorção mais lenta (Wu et al., 2009). Pela observação gráfica podemos aferir que para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl o equilíbrio é atingido muito mais rápido quando comparado com o carvão ativado, com tempos de equilíbrio de 20 minutos e 4 horas, respetivamente.





**Figura 23:** Valores experimentais de  $q_e$  (mg/g) de ciprofloxacina em função do tempo (min.) e representação dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl, [Si][N<sub>388</sub>]Cl e carvão ativado.

O software GraphPad Prims 9, foi utilizado para determinar os parâmetros cinéticos dos modelos usados e o coeficiente de correlação ( $R^2$ ), os quais estão representados na tabela 8.

**Tabela 8:** Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos e os seus respectivos coeficientes de correlação.

Materiais	<u>Pseudo-primeira ordem</u>			<u>Pseudo-segunda ordem</u>		
	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	$R^2$	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$k_2$ (g mg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	$R^2$
[Si][C <sub>3</sub> ]Cl	2,731	3,195	0,5291	2,817	2,424	0,8580
[Si][N <sub>388</sub> ]Cl	2,012	2,266	0,6121	2,093	1,974	0,8756
<b>Carvão ativado</b>	3,641	0,030	0,9714	4,201	0,008	0,9885

Pela análise da tabela anterior, é possível afirmar que para todos os materiais, o modelo que melhor descreve a adsorção da ciprofloxacina é o de pseudo-segunda ordem, pois apresenta um valor de  $R^2$  maior do que o modelo pseudo-primeira ordem, com valores de 0,8580 e 0,8756 para [Si][C<sub>3</sub>]Cl e [Si][N<sub>388</sub>]Cl, respetivamente. Tal facto permite deduzir que o mecanismo dominante no processo de adsorção da ciprofloxacina baseia-se na quimissorção envolvendo, desta forma, transferência de eletrões e formação de ligações químicas entre o adsorvato e a superfície do adsorvente (Kaya et al., 2021). Na literatura constam diversos estudos realizados para a remoção da ciprofloxacina de soluções aquosas por adsorção com diferentes tipos de adsorventes (quitosano, carvão ativado, pedra-pomes, sílica porosa funcionalizada, etc.) em

que o modelo cinético com um melhor ajuste foi também o de pseudo-segunda ordem (Igwegbe et al., 2021).

### 3.2.2 Isotérmicas de adsorção

Devido a dificuldades na solubilidade da ciprofloxacina, as curvas-isotérmicas para este antibiótico não puderam ser determinadas. Esta problemática poderá ter-se devido ao facto da de ciprofloxacina ser pouco solúvel em água (pH 6,39) (Parwe et al., 2014). Posto isto, para este antibiótico optou-se por fazer-se os estudos de saturação em contínuo recorrendo a uma coluna.

### 3.2.3 Experiências de saturação em contínuo

As experiências de adsorção em contínuo para a solução aquosa de ciprofloxacina a 20 mg/L (pH=6,39) foram realizadas para [Si][C<sub>3</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, pois foram os materiais que apresentaram melhores eficiências de remoção para este antibiótico. Para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl alcançou-se um  $q_{max}$  de  $6,522 \pm 0,107$  mg/g e para [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, a capacidade máxima de adsorção em coluna foi de  $5,676 \pm 0,568$  mg/g.

Já para a solução de ciprofloxacina a 20 mg/L (pH=7,77) preparada num meio de aquacultura, a capacidade máxima de adsorção em coluna ( $q_{max}$ ) foi de  $2,595 \pm 0,355$  mg/g e  $3,873 \pm 0,999$  mg/g para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, respetivamente. Posto isto, podemos observar uma ligeira diminuição do  $q_{max}$  dos materiais quando em contacto com a solução de antibiótico no meio de aquacultura. Tal facto pode dever-se à presença de matéria orgânica natural embutida na própria solução aquosa proveniente dos sistemas de aquacultura (Xiang et al., 2019). Além disso, alguns estudos evidenciaram uma diminuição da solubilidade e eficiência de adsorção, com o aumento de pH da ciprofloxacina, nomeadamente a pH próximos de 7, onde este antibiótico se encontra na sua forma zwitteriônica, como se pode observar na figura 22. Tal facto está de acordo com a redução observada nas experiências de adsorção em contínuo, onde é utilizada uma solução em meio de aquacultura a pH 7,77 (Kaya et al., 2021).

### 3.3 Estudos de adsorção para o cloranfenicol

Para estudar a adsorção do cloranfenicol, o procedimento foi idêntico ao do primeiro antibiótico. Primeiro foram realizadas experiências de adsorção deste antibiótico para todos os materiais. Para isso foram utilizadas 25 mg de cada material e uma solução aquosa de cloranfenicol a uma concentração de 100 mg/L, com um tempo de contacto de 60 minutos. Os resultados obtidos deste *screening* estão discriminados na tabela 9, onde podemos concluir que [Si][N<sub>3222</sub>]Cl [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, exibiram uma melhor eficiência de remoção, com  $q_e$  de 4,23; 6,44 e 3,49 mg/g, respetivamente. Estes foram os SILs escolhidos para a realização de estudos cinéticos e isotérmicos.

**Tabela 9:** Valores do coeficiente de adsorção em equilíbrio ( $q_e$  (mg/g)), da eficiência de adsorção ( $EA\%$ ) e da concentração em equilíbrio ( $C_e$  (mg/L)) de cada um dos materiais sintetizados para a adsorção do cloranfenicol ( $C_0$  de cloranfenicol 100 mg/L e massa de SIL 25 mg).

<b>Materiais</b>	$q_e$ (mg/g)	$EA\%$	$C_e$ (mg/L)
<b>Sílica</b>	0,17	0,85	99,15
[Si][C3]Cl	2,88	14,58	85,42
[Si][C <sub>3</sub> C <sub>1im</sub> ]Cl	0,78	4,01	95,99
[Si][N <sub>3114</sub> ]Cl	1,45	7,26	92,74
[Si][N <sub>3222</sub> ]Cl	4,23	21,23	78,77
[Si][N <sub>3444</sub> ]Cl	6,44	32,31	67,69
[Si][N <sub>3888</sub> ]Cl	3,60	18,21	81,79
<b>Carvão ativado</b>	19,38	98,49	1,51

Identicamente, ao que foi explicado no processo de adsorção do antibiótico ciprofloxacina, o material [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1im</sub>]Cl teve uma adsorção quase nula para o cloranfenicol, o que indica que não existem interações  $\pi$ - $\pi$  envolvidas no processo de adsorção.

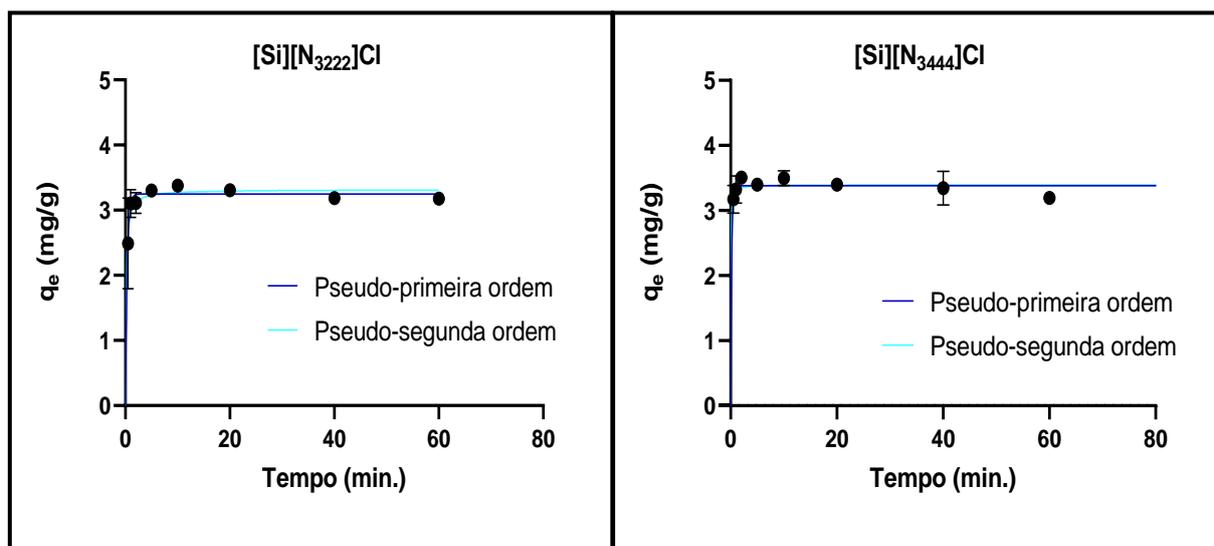
Relativamente às interações eletrostáticas podemos deduzir que estas não tenham estado envolvidas neste processo de adsorção. Pela observação dos valores de PZC (tabela 5 e figuras 30B e 31C em anexo), é possível concluir que os materiais mais promissores [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl se encontram carregados positivamente ao pH a que a solução de cloranfenicol se encontra (4,72). No entanto, o cloranfenicol a este pH encontrava-se na sua

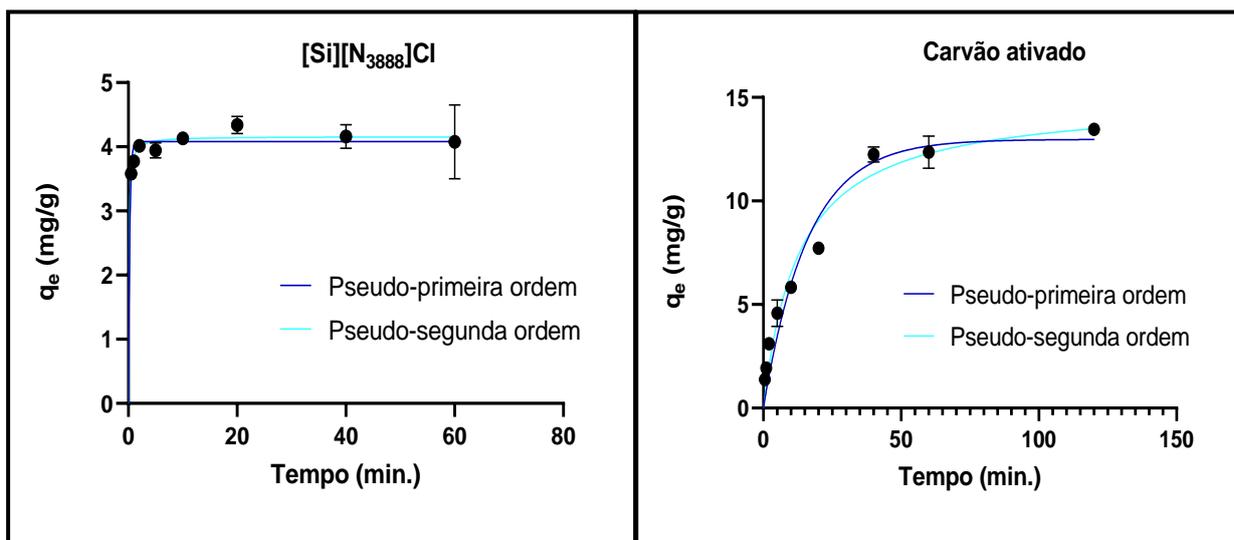
forma neutra (ver figura 32D em anexo), logo podemos descartar a presença de possíveis interações eletrostáticas.

A molécula de cloranfenicol tem, também, vários grupos funcionais que podem formar ligações de hidrogênio, o que pode desempenhar um papel relevante no processo de adsorção. Mais uma vez, os SILs que mostraram uma melhor eficiência de adsorção foram os que têm cadeias alquílicas mais longas, concluindo que as interações hidrofóbicas são cruciais neste processo de adsorção.

### 3.3.1 Cinéticas de adsorção

Na figura 24 encontram-se representados os valores experimentais de  $q_e$  em função do tempo para o antibiótico cloranfenicol com os materiais [Si][N<sub>3222</sub>]Cl, [Si][N<sub>3444</sub>]Cl, [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e carvão ativado, bem como os modelos cinéticos de adsorção de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.





**Figura 24:** Valores experimentais de  $q_e$  (mg/g) de cloranfenicol em função do tempo (min.) e representação dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem para o [Si][N<sub>3222</sub>]Cl, [Si][N<sub>3444</sub>], [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e carvão ativado.

O software GraphPad Prims 9 foi novamente utilizado para determinar os parâmetros cinéticos dos modelos de adsorção e o respetivo coeficiente de correlação ( $R^2$ ), que estão apresentados na tabela 10.

**Tabela 10:** Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos e os seus respetivos coeficientes de correlação.

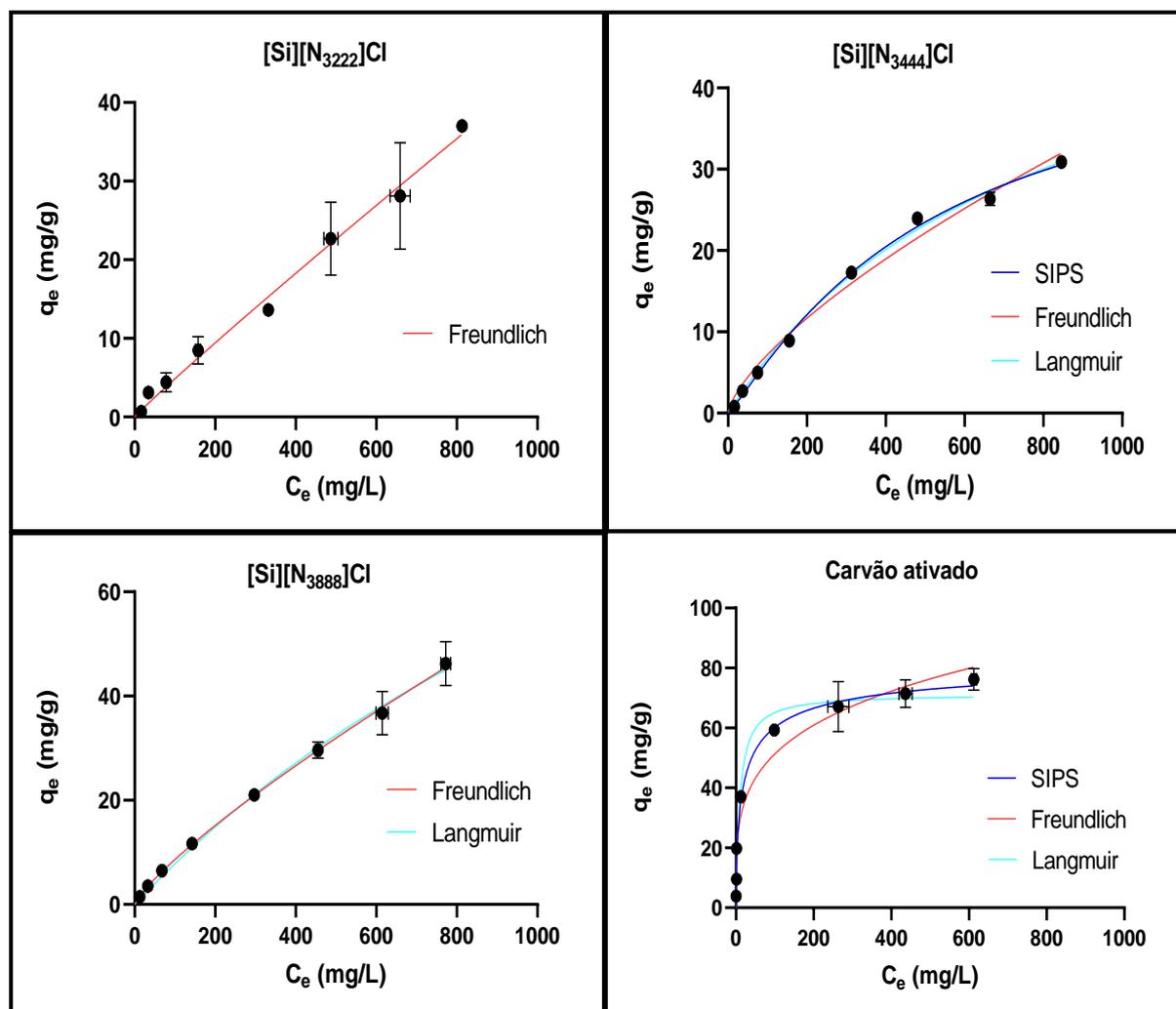
Materiais	<u>Pseudo-primeira ordem</u>			<u>Pseudo-segunda ordem</u>		
	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	$R^2$	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$k_2$ (g mg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	$R^2$
[Si][N <sub>3222</sub> ]Cl	3,249	2,928	0,908	3,315	2,265	0,823
[Si][N <sub>3444</sub> ]Cl	3,383	5,500	0,362	3,396	11,280	0,231
[Si][N <sub>3888</sub> ]Cl	4,083	3,953	0,604	4,160	2,775	0,818
<b>Carvão ativado</b>	12,97	0,062	0,951	14,950	0,005	0,966

Pela observação dos resultados, podemos afirmar que a adsorção do cloranfenicol pelos materiais [Si][N<sub>3222</sub>]Cl, [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl foi bastante rápida em comparação com o carvão ativado, atingindo o estado de equilíbrio após 20 minutos de contacto. Podemos também concluir que o modelo cinético que melhor se ajustou aos valores experimentais foi o modelo pseudo-primeira ordem para [Si][N<sub>3222</sub>]Cl e [Si][N<sub>3444</sub>]Cl, com um  $R^2$  de 0,908 e 0,362, respetivamente, enquanto para [Si][N<sub>3888</sub>]Cl foi o modelo cinético de pseudo-segunda ordem,

com um  $R^2$  de 0,818. Os valores de  $q_e$  foram de 3,249; 3,383 e 4,160 mg/g para [Si][N<sub>3222</sub>]Cl, [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, respectivamente.

### 3.3.2 Isotérmicas de adsorção

A representação gráfica dos valores experimentais de  $q_e$  em função de  $C_e$  para o antibiótico cloranfenicol com os materiais [Si][N<sub>3222</sub>]Cl, [Si][N<sub>3444</sub>]Cl, [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e carvão ativado estão apresentados na figura 25. Nos gráficos estão também apresentados os modelos de isotérmicas de adsorção de SIPS, Freundlich e Langmuir. O software GraphPad Prims 9 foi utilizado para determinar os parâmetros isotérmicos dos modelos de adsorção, bem como os respectivos coeficientes de correlação ( $R^2$ ), os quais estão apresentados na tabela 11.



**Figura 25:** Valores experimentais de  $q_e$  (mg/g) de cloranfenicol em função de  $C_e$  (mg/L) e representação de modelos isotérmicos de SIPS, Freundlich e Langmuir para [Si][N<sub>3222</sub>]Cl, [Si][N<sub>3444</sub>], [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e carvão ativado.

**Tabela 11:** Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos SIPS, Freundlich e Langmuir e os seus respectivos coeficientes de correlação.

Materiais	<u>SIPS</u>				<u>Freundlich</u>			<u>Langmuir</u>		
	$q_{max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$K_s$ (L mg <sup>-1</sup> )	$1/n$	$R^2$	$K_f$ (mg g <sup>-1</sup> )	$n$	$R^2$	$q_{max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$b$ (L mg <sup>-1</sup> )	$R^2$
[Si][N <sub>3222</sub> ]Cl	-	-	-	-	0,204	1,229	0,999	-	-	-
[Si][N <sub>3444</sub> ]Cl	48,280	0,002	1,137	0,997	0,060	1,048	0,992	154,500	0,001	0,998
[Si][N <sub>3888</sub> ]Cl	-	-	-	-	0,289	1,432	0,987	59,190	0,001	0,996
<b>Carvão ativado</b>	83,900	0,048	0,597	0,988	16,460	4,050	0,953	71,450	0,103	0,967

De acordo com a tabela anterior podemos observar que para o material [Si][N<sub>3222</sub>]Cl o modelo que melhor se ajusta aos resultados é o de Freundlich com um  $R^2$  de 0,999. Por outro lado, para os materiais [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, o modelo que apresenta um melhor ajuste é o de Langmuir, com um  $R^2$  de 0,998 e 0,996, respetivamente. O modelo de Freundlich sugere uma adsorção em superfícies heterogéneas com a formação de multicamadas. Por outro lado, o modelo de Langmuir baseia-se numa adsorção em superfícies homogéneas, com a formação de uma monocamada. (Tang et al., 2016).

### 3.3.3 Experiências de saturação em contínuo

As experiências de adsorção em modo contínuo, utilizando uma coluna, para a solução aquosa de cloranfenicol de concentração 947,80 mg/L (pH=4,72) foram realizadas para o [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, pois foi o SIL que apresentou melhor eficiência de remoção para este antibiótico. Para o [Si][N<sub>3888</sub>]Cl atingiu-se um  $q_{maxc}$  de  $34,466 \pm 0,009$  mg/g. Comparando este resultado com o valor de 48,280 mg/g previsto pelo modelo que melhor descreveu este material, podemos averiguar que houve uma ligeira discrepância. Pela observação dos gráficos da figura 25, podemos concluir que os materiais não atingiram um estado de equilíbrio, ou seja, os modelos isotérmicos ajustam-se aos dados, naquele intervalo, antes de haver limitação da capacidade máxima do adsorvente.

Ensaio semelhante em contínuo foram efetuados para a solução de cloranfenicol com uma concentração de 947,80 mg/L (pH=7,9) preparada num meio de aquacultura. Para este caso a capacidade máxima de adsorção em coluna ( $q_{maxc}$ ) foi de  $28,039 \pm 1,435$  mg/g. Perante

estes dados, podemos constatar que mesmo na presença de matéria orgânica e com o aumento de pH da solução de antibiótico preparada no meio de aquacultura o SIL continua a apresentar resultados promissores na remoção do antibiótico, embora com uma pequena diminuição da eficácia.

### 3.4 Estudos de adsorção para a tetraciclina

Para estudar a adsorção da tetraciclina, o procedimento foi idêntico ao realizado para os outros antibióticos, tendo sido primeiro executadas experiências de adsorção para todos os materiais sintetizados. Para esse efeito, foram igualmente utilizadas 25 mg de cada material e uma solução aquosa de tetraciclina com uma concentração de 98,67 mg/L. Estas misturas foram mantidas em agitação durante um período de 60 minutos, sendo posteriormente centrifugadas e quantificadas pela técnica de espectroscopia uv-vis. Os resultados obtidos estão expressos na tabela 12, onde podemos concluir que [Si][C<sub>3</sub>]Cl, [Si][N<sub>3222</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl exibiram uma melhor eficiência de remoção, com  $q_e$  de 4,78; 5,44 e 8,85 mg/g, respetivamente. Estes foram os SILs escolhidos para a realização de estudos cinéticos e isotérmicos.

**Tabela 12:** Valores do coeficiente de adsorção em equilíbrio ( $q_e$  (mg/g)), da eficiência de adsorção (EA%) e da concentração em equilíbrio ( $C_e$  (mg/L)) de cada um dos materiais sintetizados para a adsorção da tetraciclina ( $C_0$  de tetraciclina 98,67 mg/L e massa de SIL 25 mg).

Materiais	$q_e$ (mg/g)	EA %	$C_e$ (mg/L)
Sílica	0,16	0,81	97,87
[Si][C <sub>3</sub> ]Cl	4,78	24,31	74,68
[Si][C <sub>3</sub> C <sub>1im</sub> ]Cl	1,79	9,16	89,63
[Si][N <sub>3114</sub> ]Cl	2,26	11,77	87,06
[Si][N <sub>3222</sub> ]Cl	5,44	27,81	71,23
[Si][N <sub>3444</sub> ]Cl	4,16	21,47	77,48
[Si][N <sub>3888</sub> ]Cl	8,85	45,11	54,16
Carvão ativado	5,27	27,11	71,92

Pela análise da tabela 12, podemos verificar que os materiais [Si][C<sub>3</sub>]Cl, [Si][N<sub>3222</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl demonstraram uma melhor eficiência de remoção para a tetraciclina. Por outro

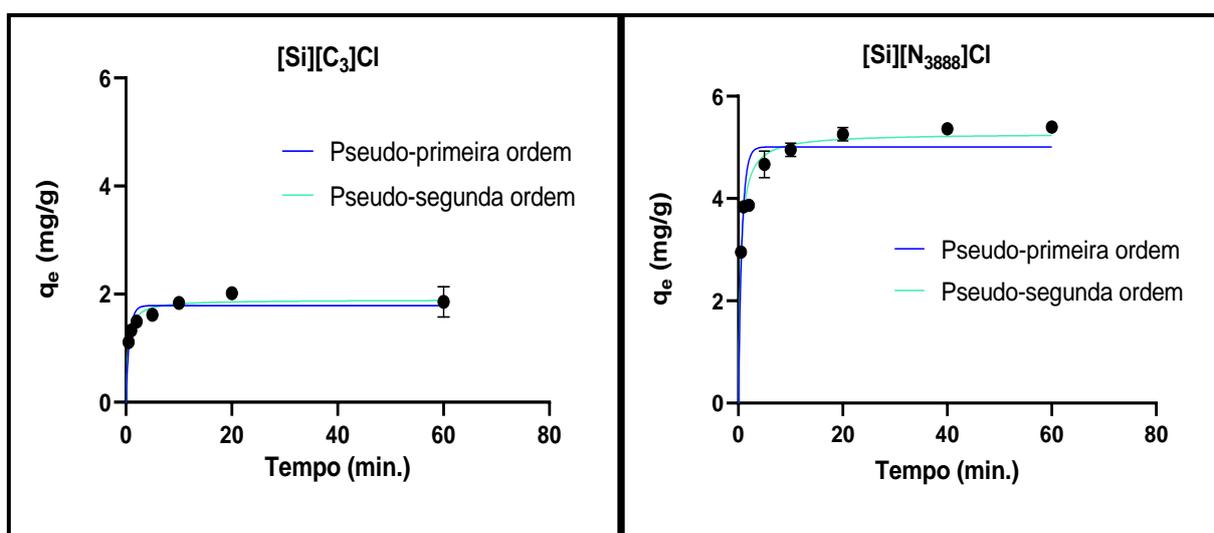
lado, a sílica e o [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1</sub>im]Cl foram os materiais que apresentaram eficiências de remoção mais baixas.

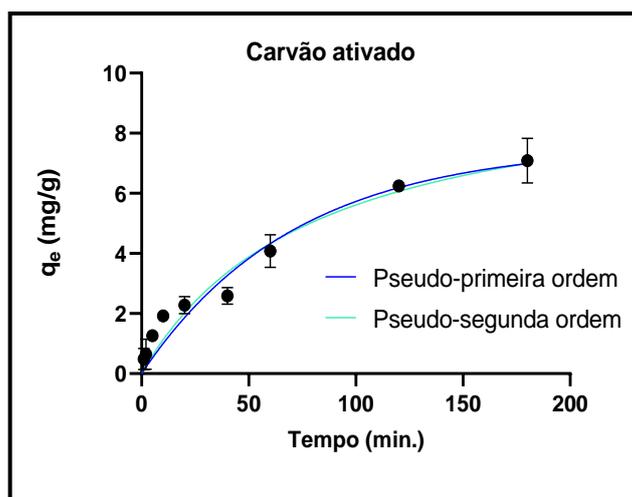
Neste processo de adsorção podemos, também, descartar a existência de interações eletrostáticas, pois pela observação dos resultados de PZC apresentados na tabela 5, é possível concluir que o material mais promissor ([Si][N<sub>3888</sub>]Cl) apresenta carga neutra em suspensões a pH 5,5. Como o pH da solução de tetraciclina estava muito próximo desse valor, sensivelmente a 5,35, é possível descartar possíveis interações eletrostáticas. Além disso, a tetraciclina, apresenta-se também na forma neutra a pH 5 (ver imagem 33E em anexo).

À semelhança do que acontece para os outros antibióticos, o processo de adsorção pode ser explicado pelo estabelecimento de interações hidrofóbicas, em que os SILs com uma maior eficiência de adsorção apresentam uma maior probabilidade de interações hidrofóbicas, enquanto o SIL [Si][C<sub>3</sub>C<sub>1</sub>im]Cl tem uma menor probabilidade de interações hidrofóbicas devido ao valor do  $\log k_{ow}$  da sua fonte de catião ser negativo (-0,19) e portanto manifesta uma diminuição acentuada da eficiência de adsorção.

### 3.4.1 Cinéticas de adsorção

Na figura 26 encontram-se representados os valores experimentais de  $q_e$  em função do tempo para o antibiótico tetraciclina com os materiais [Si][C<sub>3</sub>]Cl, [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e carvão ativado, bem como os modelos cinéticos de adsorção de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.





**Figura 26:** Valores experimentais de  $q_e$  (mg/g) de tetraciclina em função do tempo (min.) e representação dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl, [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e carvão ativado.

O software GraphPad Prims 9 foi novamente utilizado para determinar os parâmetros cinéticos dos modelos de adsorção e o respetivo coeficiente de correlação ( $R^2$ ), que estão apresentados na tabela 13.

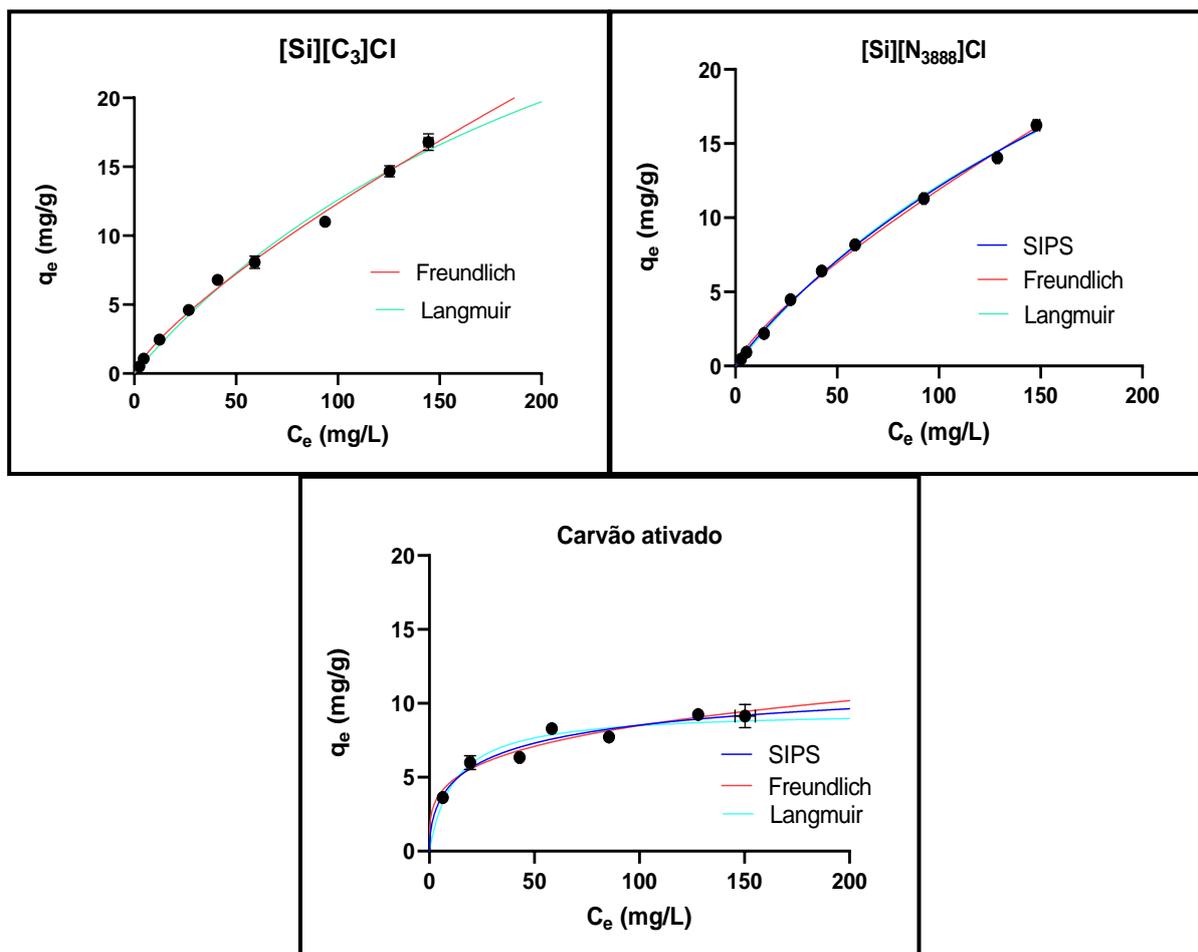
**Tabela 13:** Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos e os seus respetivos coeficientes de correlação.

Materiais	<u>Pseudo-primeira ordem</u>			<u>Pseudo-segunda ordem</u>		
	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$k_1$ (min <sup>-1</sup> )	$R^2$	$q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$k_2$ (g mg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	$R^2$
[Si][C <sub>3</sub> ]Cl	1,788	1,533	0,738	1,894	1,277	0,909
[Si][N <sub>3888</sub> ]Cl	5,008	1,438	0,760	5,272	0,428	0,936
<b>Carvão ativado</b>	7,597	0,014	0,953	10,120	0,001	0,959

Como é possível observar, pelos gráficos acima, a adsorção da tetraciclina foi bastante rápida quando comparada ao carvão ativado, sendo atingido o equilíbrio em 20 minutos. O modelo cinético que melhor se ajustou aos resultados experimentais foi o modelo de pseudo-segunda ordem, com um  $R^2$  de 0,909 e 0,936 para [Si][C<sub>3</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, respetivamente. Tal facto permite deduzir que o mecanismo dominante no processo de adsorção da tetraciclina baseia-se na adsorção química envolvendo, desta forma, transferência de eletrões e formação de ligações químicas entre o adsorvato e a superfície do adsorvente (Kaya et al., 2021). O valor de  $q_e$  experimental foi de 1,894 e 5,272 mg/g para [Si][C<sub>3</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, respetivamente.

### 3.4.2 Isotérmicas de adsorção

A representação gráfica dos valores experimentais de  $q_e$  em função de  $C_e$  para o antibiótico tetraciclina com os materiais [Si][C<sub>3</sub>]Cl, [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e carvão ativado estão apresentados na figura 27. Em cada gráfico estão também representados os modelos isotérmicos de adsorção, mais concretamente, o modelo SIPS, Freundlich e Langmuir. O software GraphPad Prims 9 foi utilizado para determinar os parâmetros isotérmicos dos modelos de adsorção, bem como os respetivos coeficientes de correlação ( $R^2$ ), os quais constam na tabela 14.



**Figura 27:** Valores experimentais de  $q_e$  (mg/g) da tetraciclina em função de  $C_e$  (mg/L) e representação de modelos isotérmicos de SIPS, Freundlich e Langmuir para [Si][C<sub>3</sub>]Cl, [Si][N<sub>3888</sub>]Cl e carvão ativado.

**Tabela 14:** Valores dos parâmetros dos modelos cinéticos SIPS, Freundlich e Langmuir e os seus respetivos coeficientes de correlação.

Materiais	<u>SIPS</u>				<u>Freundlich</u>			<u>Langmuir</u>		
	$q_{max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$K_s$ (L mg <sup>-1</sup> )	$1/n$	$R^2$	$K_f$ (mg g <sup>-1</sup> )	$n$	$R^2$	$q_{max}$ (mg g <sup>-1</sup> )	$b$ (L mg <sup>-1</sup> )	$R^2$
[Si][C <sub>3</sub> ]Cl	-	-	-	-	0,352	1,295	0,996	45,440	0,004	0,992
[Si][N <sub>3888</sub> ]Cl	58,110	0,002	0,910	0,998	0,341	1,296	0,997	41,120	0,004	0,997
<b>Carvão ativado</b>	13,490	0,027	0,540	0,938	2,560	3,830	0,903	9,520	0,082	0,864

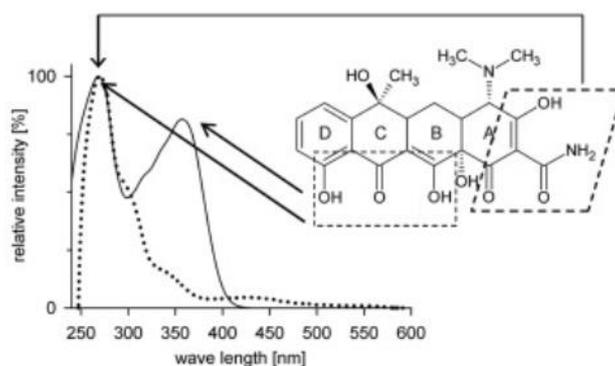
Pela análise dos gráficos da figura 27, é possível observar que a adsorção da tetraciclina pelos materiais sintetizados é muito superior à do carvão ativado.

O modelo de isotérmica que melhor se adapta aos dados experimentais para a tetraciclina, foi o modelo Freundlich para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl e o modelo SIPS para o [Si][N<sub>3888</sub>]Cl. O modelo de SIPS indica uma adsorção numa superfície heterogénea. Em baixas concentrações prevê uma isotérmica de Freundlich, por outro lado, em altas concentrações de adsorção supõe uma isotérmica de Langmuir, o que significa que é um mecanismo de adsorção misto, pois é composto por adsorção não ideal em superfícies heterogéneas com adsorção em multicamadas em baixas concentrações e adsorção em monocamada em elevadas concentrações (Tang et al., 2016).

### 3.4.3 Experiências de saturação em contínuo

Para a tetraciclina, as experiências de adsorção em contínuo recorrendo a uma coluna foram realizadas para o material que apresentou uma maior eficiência de remoção, o [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, com uma solução aquosa de tetraciclina de concentração 230 mg/L e pH=5,35. Para este material, o  $q_{maxc}$  alcançado foi de  $19,653 \pm 0,250$  mg/g. Comparando este resultado com o valor de 58,110 mg/g previsto pelo modelo que melhor descreveu este material, podemos averiguar que houve uma ligeira disparidade nos resultados de  $q_{max}$  previsto e do  $q_{maxc}$  realmente alcançado na experiências de saturação em coluna. Pela análise dos gráficos da figura 27, podemos observar que os materiais não atingiram um estado de equilíbrio, ou seja, os modelos isotérmicos ajustam-se aos valores experimentais, apenas naquele intervalo, antes de haver limitação da capacidade máxima do adsorvente.

Já para a solução de tetraciclina preparada no meio de aquacultura (concentração de 230 mg/L e pH=7,35), não foi possível realizar as experiências de adsorção em contínuo. Quando se registou o espectro de absorção molecular desta solução não se observou o pico máximo de absorção da tetraciclina a 356 nm. Esta solução apresentava uma coloração vermelho-acastanhada enquanto a coloração da solução da tetraciclina em solução aquosa apresentava uma coloração laranja-amarelada. Pela observação da figura 28, pode-se constatar que a tetraciclina apresenta dois picos máximos de absorção molecular, um a aproximadamente 270 nm derivado do anel A e do grupo cromóforo BCD e outro a aproximadamente 360 nm devido à presença deste grupo BCD. Como este último pico não estava presente no espectro de absorção molecular da solução de tetraciclina em meio de aquacultura uma modificação estrutural naquela região da tetraciclina terá acontecido (Keßler et al., 2019).



**Figura 28:** Espectro de uv-vis da tetraciclina (linha a cheio) (Keßler et al., 2019).

#### **4. Considerações finais e perspectivas futuras**

---



Ao longo deste trabalho, uma nova abordagem foi estudada para a remoção de antibióticos presentes em diversas matrizes aquosas do ecossistema. Esta metodologia consistiu na preparação e avaliação de materiais inovadores à base de sílica funcionalizada com líquidos iônicos na remoção de antibióticos de matrizes aquosas.

As cinéticas de adsorção realizadas mostraram que os três antibióticos (ciprofloxacina, cloranfenicol e tetraciclina) são rapidamente adsorvidos pelos SILs, atingindo o estado de equilíbrio em apenas 20 minutos. O modelo cinético de adsorção que melhor se adaptou à adsorção da ciprofloxacina foi o modelo cinético de pseudo-segunda ordem tanto para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl como para o [Si][N<sub>3888</sub>]Cl. Para o cloranfenicol, o modelo de pseudo-primeira ordem foi o mais adequado para [Si][N<sub>3222</sub>]Cl e [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e o modelo de pseudo-segunda ordem ajustou-se melhor para [Si][N<sub>3888</sub>]Cl. Por último, o modelo cinético que melhor descreveu a adsorção da tetraciclina foi o modelo de pseudo-segunda ordem tanto para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl como para o [Si][N<sub>3888</sub>]Cl. No geral, o modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais dos três antibióticos selecionados foi o modelo cinético de pseudo-segunda ordem, o que indica uma adsorção de natureza química, envolvendo troca de elétrons.

O modelo de isotérmica de adsorção que melhor se adaptou aos valores experimentais do cloranfenicol foi o modelo de Freundlich para o [Si][N<sub>3222</sub>]Cl e o modelo de Langmuir para [Si][N<sub>3444</sub>]Cl e [Si][N<sub>3888</sub>]Cl. Relativamente ao antibiótico tetraciclina, o modelo que melhor se ajustou aos dados experimentais foi o modelo de Freundlich para o [Si][C<sub>3</sub>]Cl e o modelo de SIPS para o [Si][N<sub>3888</sub>]Cl. Posto isto, pode-se afirmar que os melhores modelos que descrevem os dados experimentais dependem do antibiótico e do material em estudo.

É, ainda, possível observar que os líquidos iônicos suportados com cadeias alquílicas mais longas mostraram melhores desempenhos no processo de adsorção dos antibióticos testados neste estudo, o que indica que as interações hidrofóbicas podem desempenhar um papel relevante no processo de adsorção. De uma forma geral, pode-se constatar que o SIL com um melhor desempenho e eficiência de adsorção é o [Si][N<sub>3888</sub>]Cl, com valores de capacidade máxima de adsorção em coluna de  $34,47 \pm 0,01$  mg de antibiótico por grama de material.

As experiências de adsorção com a ciprofloxacina, cloranfenicol e tetraciclina preparadas nos meios de aquacultura para o SIL [Si][N<sub>3888</sub>]Cl também obtiveram eficiências de remoção bastante promissoras, o que demonstra que este material poderá ser, também, eficaz na remoção de antibióticos de matrizes ambientais.

Em suma, os SILs demonstraram ser materiais bastante promissores para evitar a contaminação ambiental de matrizes aquosas com antibióticos e provaram poder ser usados como uma boa alternativa aos adsorventes convencionais.

Numa perspectiva futura, devem ser realizados mais estudos de adsorção com concentrações de analito mais elevadas para o cloranfenicol e para a tetraciclina. Também deve ser avaliada a eficácia de outros tipos de líquidos iônicos, bem como de outras classes de antibióticos. Por último, pode-se também testar a eficiência de adsorção dos materiais utilizando soluções aquosas contendo diversos antibióticos, simulando desta forma as matrizes aquosas ambientais, com o intuito de se encontrar um tipo de material eficaz para aplicação ambiental, contribuindo desta forma ativamente para a mitigação da Resistência Antimicrobiana.

## 5. Referências bibliográficas

---



- Al-Ghouti, M. A., & Da'ana, D. A. (2020). Guidelines for the use and interpretation of adsorption isotherm models: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 393(February), 122383. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122383>
- Aljeboree, A. M., & Alkaim, A. F. (2019). Removal of Antibiotic Tetracycline (TCs) from aqueous solutions by using Titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles as an alternative material. *Journal of Physics: Conference Series*, 1294(5). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1294/5/052059>
- Aljeboree, A. M., & Alshirifi, A. N. (2018). Adsorption of pharmaceuticals as emerging contaminants from aqueous solutions on to friendly surfaces such as activated carbon: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(9), 2252–2257.
- Almeida, H. F. D., Neves, M. C., Trindade, T., Marrucho, I. M., & Freire, M. G. (2020). Supported ionic liquids as efficient materials to remove non-steroidal anti-inflammatory drugs from aqueous media. *Chemical Engineering Journal*, 381(March 2019), 122616. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122616>
- Barrionuevo, W. R., & Lanças, F. M. (2001). Solid-phase extraction (SPE) and solid-phase microextraction of pyrethroids in water. *Quimica Nova*, 24(2), 172–175. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422001000200003>
- Ben, Y., Hu, M., Zhang, X., Wu, S., Wong, M. H., Wang, M., Andrews, C. B., & Zheng, C. (2020). Efficient detection and assessment of human exposure to trace antibiotic residues in drinking water. *Water Research*, 175, 115699. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115699>
- Berendsen, B., Stolker, L., De Jong, J., Nielen, M., Tserendorj, E., Sodnomdarjaa, R., Cannavan, A., & Elliott, C. (2010). Evidence of natural occurrence of the banned antibiotic chloramphenicol in herbs and grass. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(5), 1955–1963. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3724-6>
- Bernardo, S. C., Araújo, B. R., Sousa, A. C. A., Barros, R. A., Cristovão, A. C., Neves, M. C., & Freire, M. G. (2020). Supported Ionic Liquids for the Efficient Removal of Acetylsalicylic Acid from Aqueous Solutions. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2020(24), 2380–2389. <https://doi.org/10.1002/ejic.202000101>
- Bhagat, C., Kumar, M., Tyagi, V. K., & Mohapatra, P. K. (2020). Proclivities for prevalence

- and treatment of antibiotics in the ambient water: a review. *Npj Clean Water*, 3(1).  
<https://doi.org/10.1038/s41545-020-00087-x>
- Boxall, A. B. A., Johnson, P., Smith, E. J., Sinclair, C. J., Stutt, E., & Levy, L. S. (2006). Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2288–2297. <https://doi.org/10.1021/jf053041t>
- Cabello, F. C. (2006). Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: A growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8(7), 1137–1144. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01054.x>
- Chaturvedi, P., Shukla, P., Giri, B. S., Chowdhary, P., Chandra, R., Gupta, P., & Pandey, A. (2021). Prevalence and hazardous impact of pharmaceutical and personal care products and antibiotics in environment: A review on emerging contaminants. *Environmental Research*, 194(January), 110664. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110664>
- Chemical Book. (2017). *Ciprofloxacin / 85721-33-1*.  
[https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB7217221.htm](https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB7217221.htm)
- Chen, Y., Li, H., Wang, Z., Tao, T., & Hu, C. (2011). Photoproducts of tetracycline and oxytetracycline involving self-sensitized oxidation in aqueous solutions: Effects of Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup>. *Journal of Environmental Sciences*, 23(10), 1634–1639.  
[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(10\)60625-0](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60625-0)
- Cheng, Liu, Y., Shehata, E., Feng, Y., Lin, H., Xue, J., & Li, Z. (2021). In-feed antibiotic use changed the behaviors of oxytetracycline, sulfamerazine, and ciprofloxacin and related antibiotic resistance genes during swine manure composting. *Journal of Hazardous Materials*, 402(August 2020), 123710. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123710>
- Cheng, Ngo, H. H., Guo, W., Chang, S. W., Nguyen, D. D., Liu, Y., Wei, Q., & Wei, D. (2020). A critical review on antibiotics and hormones in swine wastewater: Water pollution problems and control approaches. *Journal of Hazardous Materials*, 387(August 2019), 121682. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121682>
- Conde-Cid, M., Fernández-Sanjurjo, M. J., Ferreira-Coelho, G., Fernández-Calviño, D., Arias-Estevez, M., Núñez-Delgado, A., & Álvarez-Rodríguez, E. (2020). Competitive adsorption and desorption of three tetracycline antibiotics on bio-sorbent materials in binary systems. *Environmental Research*, 190(August).

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110003>

- Cunningham, V. L. (2004). Special Characteristics of Pharmaceuticals Related to Environmental Fate. *Pharmaceuticals in the Environment*, 13–24.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-662-09259-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-662-09259-0_2)
- Dadgostar, P. (2019). Antimicrobial resistance: implications and costs. *Infection and Drug Resistance*, 12, 3903–3910. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>
- Daghrir, R., & Drogui, P. (2013). Tetracycline antibiotics in the environment: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 11(3), 209–227. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0404-8>
- Danner, M. C., Robertson, A., Behrends, V., & Reiss, J. (2019). Antibiotic pollution in surface fresh waters: Occurrence and effects. *Science of the Total Environment*, 664, 793–804. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.406>
- de Oliveira, M., Frihling, B. E. F., Velasques, J., Filho, F. J. C. M., Cavalheri, P. S., & Migliolo, L. (2020). Pharmaceuticals residues and xenobiotics contaminants: Occurrence, analytical techniques and sustainable alternatives for wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 705, 135568.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135568>
- Develos, & Porticos, L. M. (2019). Chloramphenicol residues in retailed chicken in davao city public markets. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 7(2), 88–91.  
<https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.2.88.91>
- Dolliver, H., Kumar, K., & Gupta, S. (2007). Sulfamethazine Uptake by Plants from Manure-Amended Soil. *Journal of Environmental Quality*, 36(4), 1224–1230.  
<https://doi.org/10.2134/jeq2006.0266>
- Done, H. Y., & Halden, R. U. (2015). Reconnaissance of 47 antibiotics and associated microbial risks in seafood sold in the United States. *Journal of Hazardous Materials*, 282, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.08.075>
- Dong, R., Yu, G., Guan, Y., Wang, B., Huang, J., Deng, S., & Wang, Y. (2016). Occurrence and discharge of pharmaceuticals and personal care products in dewatered sludge from WWTPs in Beijing and Shenzhen. *Emerging Contaminants*, 2(1), 1–6.  
<https://doi.org/10.1016/j.emcon.2015.10.003>

- DRUGBANK. (2021). *Tetraciclina: usos, interações, mecanismo de ação* / DrugBank Online. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00759>, acessado a 20/05/2021
- Dwivedi, A. D., Dubey, S. P., Gopal, K., & Sillanpää, M. (2011). Strengthening adsorptive amelioration: Isotherm modeling in liquid phase surface complexation of Pb (II) and Cd (II) ions. *Desalination*, 267(1), 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.09.002>
- Evans, A. E., Mateo-Sagasta, J., Qadir, M., Boelee, E., & Ippolito, A. (2019). Agricultural water pollution: key knowledge gaps and research needs. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 36, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2018.10.003>
- Fao. (2016). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016*. [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications), acessado a 30/05/2021
- FAO, 2021. (2021). *FAO Fisheries & Aquaculture - Aquaculture*. FAO,2021. <http://www.fao.org/fishery/aquaculture/en>, acessado a 30/05/2021
- Fazio, F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture*, 500(July 2018), 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>
- Fent, K., Weston, A. A., & Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76(2), 122–159. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.009>
- Fleming, A. (1945). Sir Alexander Fleming - Nobel Lecture: Penicillin. *The Nobel Prize*, 11.
- Fontanals, N., Borrull, F., & Marcé, R. M. (2012). Ionic liquids in solid-phase extraction. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 41, 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.08.010>
- Furlong, E. T., Batt, A. L., Glassmeyer, S. T., Noriega, M. C., Kolpin, D. W., Mash, H., & Schenck, K. M. (2017). Nationwide reconnaissance of contaminants of emerging concern in source and treated drinking waters of the United States: Pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*, 579, 1629–1642. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.128>
- Gherghel, A., Teodosiu, C., & De Gisi, S. (2019). A review on wastewater sludge valorisation and its challenges in the context of circular economy. *Journal of Cleaner Production*, 228, 244–263. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.240>

- Girardi, C., Greve, J., Lamshöft, M., Fetzer, I., Miltner, A., Schäffer, A., & Kästner, M. (2011). Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *Journal of Hazardous Materials*, *198*, 22–30.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.10.004>
- Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V. K., Tushara Chaminda, G. G., An, A. K., & Kumar, M. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*, *6*(September 2017), 169–180.  
<https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>
- Graber, E. M. (2021). Treating acne with the tetracycline class of antibiotics: A review. *Dermatological Reviews*, *November 2020*, 1–10. <https://doi.org/10.1002/der2.49>
- Gracia-Lor, E., Sancho, J. V., Serrano, R., & Hernández, F. (2012). Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. *Chemosphere*, *87*(5), 453–462.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.025>
- Grandclément, C., Seyssiecq, I., Piram, A., Wong-Wah-Chung, P., Vanot, G., Tiliacos, N., Roche, N., & Doumenq, P. (2017). From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: A review. *Water Research*, *111*, 297–317. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.005>
- Guidi, L. R., Santos, F. A., Ribeiro, A. C. S. R., Fernandes, C., Silva, L. H. M., & Gloria, M. B. A. (2018). Quinolones and tetracyclines in aquaculture fish by a simple and rapid LC-MS/MS method. *Food Chemistry*, *245*(November 2017), 1232–1238.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.094>
- Guidi, L. R., Tette, P. A. S., Gloria, M. B. A., & Fernandes, C. (2018). A simple and rapid LC-MS/MS method for the determination of amphenicols in Nile tilapia. *Food Chemistry*, *262*(May 2017), 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.087>
- Hanna, N., Sun, P., Sun, Q., Li, X., Yang, X., Ji, X., Zou, H., Ottoson, J., Nilsson, L. E., Berglund, B., Dyar, O. J., Tamhankar, A. J., & Stålsby Lundborg, C. (2018). Presence of antibiotic residues in various environmental compartments of Shandong province in eastern China: Its potential for resistance development and ecological and human risk. *Environment International*, *114*(July 2017), 131–142.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.02.003>

- Hao, X., Wang, Q., Cao, Y., & van Loosdrecht, M. C. M. (2010). Measuring the activities of higher organisms in activated sludge by means of mechanical shearing pretreatment and oxygen uptake rate. *Water Research*, *44*(13), 3993–4001.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.05.013>
- He, X., Wang, Z., Nie, X., Yang, Y., Pan, D., Leung, A. O. W., Cheng, Z., Yang, Y., Li, K., & Chen, K. (2012). Residues of fluoroquinolones in marine aquaculture environment of the Pearl River Delta, South China. *Environmental Geochemistry and Health*, *34*(3), 323–335. <https://doi.org/10.1007/s10653-011-9420-4>
- He, Yuan, Q., Mathieu, J., Stadler, L., Senehi, N., Sun, R., & Alvarez, P. J. J. (2020). Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. *Npj Clean Water*, *3*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41545-020-0051-0>
- Hirsch, D., Pereira Júnior, D. J., Logato, P. V. R., Piccoli, R. H., & Figueiredo, H. C. P. (2006). Identificação e resistência a antimicrobianos de espécies de *Aeromonas* móveis isoladas de peixes e ambientes aquáticos. *Ciência e Agrotecnologia*, *30*(6), 1211–1217.  
<https://doi.org/10.1590/s1413-70542006000600026>
- Ho, Canestraro, A. J., & Anderson, J. L. (2011). Ionic liquids in solid-phase microextraction: A review. *Analytica Chimica Acta*, *695*(1–2), 18–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.03.034>
- Hoek, Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A. P., & Aarts, H. J. M. (2011). Acquired antibiotic resistance genes: An overview. *Frontiers in Microbiology*, *2*(SEP), 1–27. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00203>
- Hoi, K. Y. C., Im, Y. O. K., Ung, J. I. J., Im, M. Y. Y. U. N. K., Im, C. H. O. O. K., & Im, N. A. M. E. E. K. (2008). <Choi-2008-Occurrences and ecological risks of.pdf>. *27*(3), 711–719.
- Hossein, Nasser, S., Hossein Mahvi, A., Hoseini, M., Kamani, H., & Davoud Ashrafi, S. (2017). *Environmental Monitoring of Tetracycline Antibiotic in the Aquatic Environments in Mianeh, Iran*. *1*(2). <https://doi.org/10.22053/jsehr.2017.71903.10>
- Hui, K. S., Chao, C. Y. H., & Kot, S. C. (2005). Removal of mixed heavy metal ions in wastewater by zeolite 4A and residual products from recycled coal fly ash. *Journal of Hazardous Materials*, *127*(1–3), 89–101. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.06.027>

- Igwegbe, C. A., Oba, S. N., Aniagor, C. O., Adeniyi, A. G., & Ighalo, J. O. (2021). Adsorption of ciprofloxacin from water: A comprehensive review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 93, 57–77. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2020.09.023>
- Isabel, S., & Miranda, M. (2014). Remoção de Fármacos de Águas Contaminadas . Avaliação de vários Substratos Remoção de Fármacos de Águas Contaminadas . Avaliação de vários Substratos. *Remoção de Fármacos de Águas Contaminadas. Avaliação de Vários Substratos, Remoção de*, 6–7.
- Jiang, L., Hu, X., Yin, D., Zhang, H., & Yu, Z. (2011). Occurrence, distribution and seasonal variation of antibiotics in the Huangpu River, Shanghai, China. *Chemosphere*, 82(6), 822–828. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.028>
- Kamba, P. F., Kaggwa, B., Munanura, E. I., Okurut, T., & Kitutu, F. E. (2017). Why regulatory indifference towards pharmaceutical pollution of the environment could be a missed opportunity in public health protection. A holistic view. *Pan African Medical Journal*, 27, 2–5. <https://doi.org/10.11604/pamj.2017.27.77.10973>
- Karge, H. G. (2008). *Adsorption and Diffusion*. <https://books.google.com/books?id=hPOLuU3RPhsC&pgis=1>
- Kaya, G., Aznar, E., Deveci, H., & Martínez-Mañez, R. (2021). Low-cost silica xerogels as potential adsorbents for ciprofloxacin removal. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 22(July). <https://doi.org/10.1016/j.scp.2021.100483>
- Keßler, D. N., Fokuhl, V. K., Petri, M. S., & Spielmeier, A. (2019). Abiotic transformation products of tetracycline and chlortetracycline in salt solutions and manure. *Chemosphere*, 224, 487–493. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.169>
- Khan. (2018). Antibiotics Classification and Visual Target Sites for Bacterial Inhibition. *Advances in Pharmacology & Clinical Trials*, 3(3). <https://doi.org/10.23880/apct-16000137>
- Khan, S. J., Osborn, A. M., & Eswara, P. J. (2021). Effect of Sunlight on the Efficacy of Commercial Antibiotics Used in Agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 12(June), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.645175>
- Kraemer, S. A., Ramachandran, A., & Perron, G. G. (2019). Antibiotic pollution in the environment: From microbial ecology to public policy. *Microorganisms*, 7(6), 1–24.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms7060180>

Kronacher, C., & Hogreve, F. (1936). Röntgenologische Skelettstudien an Dahlemer Binder-Drillingen und -Zwillingen. *Zeitschrift Für Züchtung. Reihe B, Tierzüchtung Und Züchtungsbiologie Einschließlich Tierernährung*, 36(3), 281–294.

<https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.1936.tb00094.x>

Kümmerer, K. (2003). Significance of antibiotics in the environment. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(1), 5–7. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg293>

Lai, W. W. P., Lin, Y. C., Wang, Y. H., Guo, Y. L., & Lin, A. Y. C. (2018). Occurrence of Emerging Contaminants in Aquaculture Waters: Cross-Contamination between Aquaculture Systems and Surrounding Waters. *Water, Air, and Soil Pollution*, 229(8), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3901-3>

Lamarca, R. S., Franco, D. F., Nalin, M., De Lima Gomes, P. C. F., & Messaddeq, Y. (2020). Label-Free Ultrasensitive and Environment-Friendly Immunosensor Based on a Silica Optical Fiber for the Determination of Ciprofloxacin in Wastewater Samples. *Analytical Chemistry*, 92(21), 14415–14422. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02355>

Langbehn, R. K., Michels, C., & Soares, H. M. (2021). Antibiotics in wastewater: From its occurrence to the biological removal by environmentally conscious technologies. *Environmental Pollution*, 275, 116603. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116603>

Lees, P., & Shojaee Aliabadi, F. (2002). Rational dosing of antimicrobial drugs: Animals versus humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19(4), 269–284. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(02\)00025-0](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(02)00025-0)

Leng, Wei, L., Xiong, Q., Xu, S., Li, W., Lv, S., Lu, Q., Wan, L., Wen, Z., & Zhou, W. (2020). Use of microalgae based technology for the removal of antibiotics from wastewater: A review. *Chemosphere*, 238, 124680. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124680>

Li, C., Luo, F., Duan, H., Dong, F., Chen, X., Feng, M., Zhang, Z., Cizmas, L., & Sharma, V. K. (2019). Degradation of chloramphenicol by chlorine and chlorine dioxide in a pilot-scale water distribution system. *Separation and Purification Technology*, 211(September 2018), 564–570. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.10.019>

Liao, P., Zhan, Z., Dai, J., Wu, X., Zhang, W., Wang, K., & Yuan, S. (2013). Adsorption of

- tetracycline and chloramphenicol in aqueous solutions by bamboo charcoal: A batch and fixed-bed column study. *Chemical Engineering Journal*, 228, 496–505.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.04.118>
- Lima, R. M. S., Figueiredo, H. C. P., Faria, F. C. de, Picolli, R. H., Bueno Filho, J. S. de S., & Logato, P. V. R. (2006). Resistência a antimicrobianos de bactérias oriundas de ambiente de criação e filés de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Agrotecnologia*, 30(1), 126–132. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542006000100018>
- Lipson, R. H. (2009). Ultraviolet and Visible Absorption Spectrometers. *Digital Encyclopedia of Applied Physics*, 353–380. <https://doi.org/10.1002/3527600434.eap682>
- Liu, Li, X., & Wang, X. (2019). Toxicological effects of ciprofloxacin exposure to *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, 237, 124542.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124542>
- Liu, Sun, Q., Zhang, C., Li, H., Song, W., Zhang, N., & Jia, X. (2016). Removal of typical antibiotics in the advanced treatment process of productive drinking water. *Desalination and Water Treatment*, 57(24), 11386–11391.  
<https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1040848>
- Liu, X., Steele, J. C., & Meng, X. Z. (2017). Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review. *Environmental Pollution*, 223, 161–169.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.003>
- Maldaner, L., & Jardim, I. C. S. F. (2012). Determination of some organic contaminants in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, 100, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.08.006>
- Manage, P. M. (2018). Heavy use of antibiotics in aquaculture: Emerging human and animal health problems – A review. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences*, 23(1), 13.  
<https://doi.org/10.4038/sljas.v23i1.7543>
- Martins, N., Pereira, R., Abrantes, N., Pereira, J., Gonçalves, F., & Marques, C. R. (2012). Ecotoxicological effects of ciprofloxacin on freshwater species: Data integration and derivation of toxicity thresholds for risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4), 1167–1176.  
<https://doi.org/10.1007/s10646-012-0871-x>
- McCubbin, K. D., Ramatowski, J. W., Buregyeya, E., Hutchinson, E., Kaur, H., Mbonye, A.

- K., Mateus, A. L. P., & Clarke, S. E. (2021). Unsafe “crossover-use” of chloramphenicol in Uganda: importance of a One Health approach in antimicrobial resistance policy and regulatory action. *Journal of Antibiotics*, 74(6), 417–420.  
<https://doi.org/10.1038/s41429-021-00416-3>
- Meza, Piotrowski, P., Farnan, J., Tasker, T. L., Xiong, B., Weggler, B., Murrell, K., Dorman, F. L., Vanden Heuvel, J. P., & Burgos, W. D. (2020). Detection and removal of biologically active organic micropollutants from hospital wastewater. *Science of the Total Environment*, 700, 134469. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134469>
- Michael, I., Rizzo, L., McArdell, C. S., Manaia, C. M., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., & Fatta-Kassinos, D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. *Water Research*, 47(3), 957–995.  
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.11.027>
- Mompelat, S., Le Bot, B., & Thomas, O. (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment International*, 35(5), 803–814. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.10.008>
- Monte, H. M., Santos, M. T., Barreiros, A. M., & Albuquerque, A. (2016). *Tratamento de Águas Residuais - Operações e Processos de Tratamento Físico e Químico*.  
[www.ersar.pt](http://www.ersar.pt)
- Moreira, C. (2014). Etar. *Revista de Ciência Elementar*, 2(2), 1–3.  
<https://doi.org/10.24927/rce2014.146>
- Narvaez, J. F. V., & Jimenez, C. C. (2012). Pharmaceutical Products in the Environment: Sources, Effects and Risks/Productos Farmacéuticos En El Ambiente: Fuentes, Efectos Y Riesgos. *Vitae*, 19(1), 93–108.  
<https://search.proquest.com/docview/1271628057?accountid=14449>
- Nie, M., Yan, C., Xiong, X., Wen, X., Yang, X., Lv, Z., & Dong, W. (2018). Degradation of chloramphenicol using a combination system of simulated solar light, Fe<sup>2+</sup> and persulfate. *Chemical Engineering Journal*, 348(March), 455–463.  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.04.124>
- Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE). (2020). *Mapeando a escala do falso desafio farmacêutico | Comércio de produtos farmacêuticos falsificados*

/ *ILibrary da OCDE*. World Health Organization. <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/fe58fe07-en/index.html?itemId=%2Fcontent%2Fcomponent%2Ffe58fe07-en&fbclid=IwAR2e8IIIRbhvHyQxaNdO9Da92C6CkE0elgOdzYQ-vHuptLA-sn9QVPfQ5NIw>, acedido a 1/07/2021

Our World in Data. (2016). *Produção de frutos do mar: captura de peixes selvagens vs aquicultura, Mundo, 1960 a 2015*. Our World in Data.

[https://ourworldindata.org/grapher/capture-fisheries-vs-aquaculture-farmed-fish-production?country=~OWID\\_WRL](https://ourworldindata.org/grapher/capture-fisheries-vs-aquaculture-farmed-fish-production?country=~OWID_WRL), acedido a 10/07/2021

Owens, B. (2015). Pharmaceuticals in the environment. *Pharmaceutical Journal*, 294(7850), 205–207.

Palma, T. L., Vieira, B., Nunes, J., Lourenço, J. P., Monteiro, O. C., & Costa, M. C. (2020). Photodegradation of chloramphenicol and paracetamol using PbS/TiO<sub>2</sub> nanocomposites produced by green synthesis. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 17(8), 2013–2031. <https://doi.org/10.1007/s13738-020-01906-1>

Papageorgiou, M., Zioris, I., Danis, T., Bikiaris, D., & Lambropoulou, D. (2019). Comprehensive investigation of a wide range of pharmaceuticals and personal care products in urban and hospital wastewaters in Greece. *Science of the Total Environment*, 694, 133565. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.371>

Parwe, S. P., Chaudhari, P. N., Mohite, K. K., Selukar, B. S., Nande, S. S., & Garnaik, B. (2014). Synthesis of ciprofloxacin-conjugated poly (L-lactic acid) polymer for nanofiber fabrication and antibacterial evaluation. *International Journal of Nanomedicine*, 9(1), 1463–1477. <https://doi.org/10.2147/IJN.S54971>

Pedro, A. Q., Coutinho, J. A. P., & Freire, M. G. (2019). Immobilization of Ionic Liquids, Types of Materials, and Applications. *Encyclopedia of Ionic Liquids*, 1–12. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-6739-6\\_86-1](https://doi.org/10.1007/978-981-10-6739-6_86-1)

Phoon, Ong, C. C., Mohamed Saheed, M. S., Show, P. L., Chang, J. S., Ling, T. C., Lam, S. S., & Juan, J. C. (2020). Conventional and emerging technologies for removal of antibiotics from wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 400(February), 122961. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122961>

- Praveena, S. M., Mohd Rashid, M. Z., Mohd Nasir, F. A., Wee, S. Y., & Aris, A. Z. (2021). Occurrence, Human Health Risks, and Public Awareness Level of Pharmaceuticals in Tap Water from Putrajaya (Malaysia). *Exposure and Health*, 13(1), 93–104. <https://doi.org/10.1007/s12403-020-00364-7>
- Praveena, S. M., Shaifuddin, S. N. M., Sukiman, S., Nasir, F. A. M., Hanafi, Z., Kamarudin, N., Ismail, T. H. T., & Aris, A. Z. (2018). Pharmaceuticals residues in selected tropical surface water bodies from Selangor (Malaysia): Occurrence and potential risk assessments. *Science of the Total Environment*, 642, 230–240. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.058>
- Qian, L., Wang, S., Xu, D., Guo, Y., Tang, X., & Wang, L. (2016). Treatment of municipal sewage sludge in supercritical water: A review. *Water Research*, 89, 118–131. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.047>
- Quinn, B., Gagné, F., & Blaise, C. (2008). Evaluation of the acute , chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian , *Hydra attenuata*. *Science of the Total Environment*, The, 407(3), 1072–1079. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.10.022>
- Ravikumar, K. V. G., Singh, A. S., Sikarwar, D., Gopal, G., Das, B., Mrudula, P., Natarajan, C., & Mukherjee, A. (2019). Enhanced tetracycline removal by in-situ NiFe nanoparticles coated sand in column reactor. *Journal of Environmental Management*, 236(February), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.01.109>
- Reis-Santos, P., Pais, M., Duarte, B., Caçador, I., Freitas, A., Vila Pouca, A. S., Barbosa, J., Leston, S., Rosa, J., Ramos, F., Cabral, H. N., Gillanders, B. M., & Fonseca, V. F. (2018). Screening of human and veterinary pharmaceuticals in estuarine waters: A baseline assessment for the Tejo estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 135(August), 1079–1084. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.036>
- Reygaert. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4(3), 482–501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
- Rezende, L. G. P., Prado, V. M. do, Rocha, R. S., Beati, A. A. G. F., Sotomayor, M. D. P. T., & Lanza, M. R. V. (2010). Degradação eletroquímica do cloranfenicol em reator de fluxo. *Química Nova*, 33(5), 1088–1092. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422010000500015>

- Rita, A., & Rodrigues, A. (2013). Instituto superior de ciências da saúde egas moniz. *Resíduos Farmacêuticos No Ambiente, Resíduos f.*  
[https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/14123/1/Rodrigues%2C Ana Rita Afonso.pdf](https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/14123/1/Rodrigues%2C%20Ana%20Rita%20Afonso.pdf)
- Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M. Á., Prados-Joya, G., & Ocampo-Pérez, R. (2013). Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere*, *93*(7), 1268–1287.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.07.059>
- Robinson, I., Junqua, G., Van Coillie, R., & Thomas, O. (2007). Trends in the detection of pharmaceutical products, and their impact and mitigation in water and wastewater in North America. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *387*(4), 1143–1151.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-006-0951-y>
- Rodriguez-Mozaz, S., Vaz-Moreira, I., Varela Della Giustina, S., Llorca, M., Barceló, D., Schubert, S., Berendonk, T. U., Michael-Kordatou, I., Fatta-Kassinos, D., Martinez, J. L., Elpers, C., Henriques, I., Jaeger, T., Schwartz, T., Paulshus, E., O’Sullivan, K., Pärnänen, K. M. M., Virta, M., Do, T. T., ... Manaia, C. M. (2020). Antibiotic residues in final effluents of European wastewater treatment plants and their impact on the aquatic environment. *Environment International*, *140*(April), 105733.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105733>
- Salazar, Morán Díaz, J. R., Ramírez Segura, E., & Trujillo Ferrara, J. G. (2021). What are the origins of growing microbial resistance? Both Lamarck and Darwin were right. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, *19*(5), 563–569.  
<https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1839418>
- Sanseverino, I., Navarro, A., Loos, R., & Marinov, D. (2018). *Amr\_\_Jrc\_Technical\_\_Report\_Final\_Online\_15Jan.2019.*  
<https://doi.org/10.2760/82376>
- Santiago-martín, A. De, Meffe, R., Teijón, G., Martínez, V., López-heras, I., Alonso, C., Arenas, M., & Bustamante, I. De. (2020). *Science of the Total Environment* *Pharmaceuticals and trace metals in the surface water used for crop irrigation : Risk to health or natural attenuation ?* 705. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135825>
- Santos, Araújo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., & Montenegro, M. C. B. S.

- M. (2010). Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1–3), 45–95.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.100>
- Santos, Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Delerue-Matos, C., Pena, A., Barceló, D., & Montenegro, M. C. B. S. M. (2013). Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*, 461–462, 302–316.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.077>
- Santos, L., & Ramos, F. (2016). Analytical strategies for the detection and quantification of antibiotic residues in aquaculture fishes: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 52, 16–30. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.015>
- Sarafraz, M., Ali, S., Sadani, M., Heidarinejad, Z., Bay, A., Fakhri, Y., & Khaneghah, A. M. (2020). A global systematic, review-meta analysis and ecological risk assessment of ciprofloxacin in river water. <https://doi.org/10.1080/03067319.2020.1791330>
- Schar, D., Klein, E. Y., Laxminarayan, R., Gilbert, M., & Van Boeckel, T. P. (2020). Global trends in antimicrobial use in aquaculture. *Scientific Reports*, 10(1), 1–9.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78849-3>
- Shao, Y., Wang, Y., Yuan, Y., & Xie, Y. (2021). A systematic review on antibiotics misuse in livestock and aquaculture and regulation implications in China. *Science of the Total Environment*, 798(18), 149205. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149205>
- Sousa, I. E. S. (2015). *Métodos de eliminação de fármacos e seus metabolitos ao nível das Estações de Tratamento de Águas Residuais*. 60.
- Sun, R., Chen, J., Pan, C., Sun, Y., Mai, B., & Li, Q. X. (2020). Antibiotics and food safety in aquaculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(43), 11908–11919.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03996>
- Sun, Shi, Y., Wang, X., Rasmussen, J., Li, Z., & Zhu, J. (2017). Organokaolin for the uptake of pharmaceuticals diclofenac and chloramphenicol from water. *Chemical Engineering Journal*, 330(August), 1128–1136. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.08.057>
- Szymańska, U., Wiergowski, M., Sołtyszewski, I., Kuzemko, J., Wiergowska, G., & Woźniak, M. K. (2019a). Presence of antibiotics in the aquatic environment in Europe

- and their analytical monitoring: Recent trends and perspectives. *Microchemical Journal*, 147(April), 729–740. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.003>
- Szymańska, U., Wiergowski, M., Sołtyszewski, I., Kuzemko, J., Wiergowska, G., & Woźniak, M. K. (2019b). Presence of antibiotics in the aquatic environment in Europe and their analytical monitoring: Recent trends and perspectives. *Microchemical Journal*, 147(March), 729–740. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.003>
- Tang, J., Huang, Y., Gong, Y., Lyu, H., Wang, Q., & Ma, J. (2016). Preparation of a novel graphene oxide/Fe-Mn composite and its application for aqueous Hg(II) removal. *Journal of Hazardous Materials*, 316, 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.05.028>
- Tannus, M. M. (2015). Poluição Ambiental Causada Por Fármacos Para Usos Humanos E Veterinários. *Revista Acadêmica - Faculdades Oswaldo Cruz*, 1–14. [http://revista.oswaldocruz.br/Content/pdf/Edicao\\_15\\_TANNUS\\_Michel\\_Moreira.pdf](http://revista.oswaldocruz.br/Content/pdf/Edicao_15_TANNUS_Michel_Moreira.pdf)
- Thai, T., Salisbury, B. H., & Zito, P. M. (2021). Ciprofloxacin. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535454/>
- Tijani, J. O., Fatoba, O. O., Babajide, O. O., & Petrik, L. F. (2016). Pharmaceuticals, endocrine disruptors, personal care products, nanomaterials and perfluorinated pollutants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 14(1), 27–49. <https://doi.org/10.1007/s10311-015-0537-z>
- Tong, L., Huang, S., Wang, Y., Liu, H., & Li, M. (2014). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment of Jiangnan Plain, central China. *Science of the Total Environment*, 497–498, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.068>
- Trovó, A. G., Nogueira, R. F. P., Agüera, A., Fernandez-Alba, A. R., Sirtori, C., & Malato, S. (2009). Degradation of sulfamethoxazole in water by solar photo-Fenton. Chemical and toxicological evaluation. *Water Research*, 43(16), 3922–3931. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.04.006>
- Twomey, C. (2017). The economic impact of aquaculture expansion: An input-output approach. *Marine Policy*, 81(January), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.03.014>
- Ventola. (2015). *A crise da resistência aos antibióticos*.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>

Verma, M. K., Ahmad, A. H., Pant, D., Rawat, P., Sharma, S., & Arya, N. (2020). Screening of Enrofloxacin and Ciprofloxacin Residues in Chicken Meat by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(21), 64–69. <https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i2130753>

W.A, A. (2016). The Treasure Called Antibiotics. *Annals of Ibadan Postgraduate Medicine*, 14(2), 56–57. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5354621/pdf/AIPM-14-56.pdf>

WA, A. (2016). The Treasure Called Antibiotics. *Annals of Ibadan Postgraduate Medicine*, 14(2), 56–57. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5354621/pdf/AIPM-14-56.pdf>

Walsh. (2014). *Superbugs para matar “mais do que câncer” em 2050 - BBC News*. <https://www.bbc.com/news/health-30416844?fbclid=IwAR0oCq5f5F4uW6HRVzAVCPHAu5KNicg2122HtxCkiUIPa9CUIyi1HrzkENo>

Wang, Chen, Q., Zhang, J., Dong, J., Yan, H., Chen, C., & Feng, R. (2019). Characterization and source identification of tetracycline antibiotics in the drinking water sources of the lower Yangtze River. *Journal of Environmental Management*, 244(April), 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.070>

Wang, J., & Guo, X. (2020a). Adsorption isotherm models: Classification, physical meaning, application and solving method. *Chemosphere*, 258, 127279. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127279>

Wang, J., & Guo, X. (2020b). Adsorption kinetic models: Physical meanings, applications, and solving methods. *Journal of Hazardous Materials*, 390(January), 122156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122156>

Wang, J., & Guo, X. (2020c). Adsorption kinetic models: Physical meanings, applications, and solving methods. *Journal of Hazardous Materials*, 390(November 2019), 122156. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122156>

Wang, & Wang. (2018). Comparative evaluation of sorption kinetics and isotherms of pyrene onto microplastics. *Chemosphere*, 193, 567–573.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.078>

Wang, Ye, D., Li, X., Jia, Y., Zhao, L., Liu, S., Xu, J., Du, J., Tian, L., Li, J., Shen, J., & Xia, X. (2021). Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in bottled water and assessment of the associated risks. *Environment International*, 155(May), 106651. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106651>

World Health Organization. (2012). Opções de ação. *A Crescente Ameaça Da Resistência Antimicrobiana, Sumário Ex.* [http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503181\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503181_eng.pdf)

World Health Organization. (2020). *Antibiotic resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance?fbclid=IwAR1eMJBWirR3dmeiEup8heRbnwMCiTU52CxAktuW5yGEudEullgY18vSB8>

Wu, F. C., Tseng, R. L., & Juang, R. S. (2009). Initial behavior of intraparticle diffusion model used in the description of adsorption kinetics. *Chemical Engineering Journal*, 153(1–3), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.04.042>

Xiang, Y., Xu, Z., Wei, Y., Zhou, Y., Yang, X., Yang, Y., Yang, J., Zhang, J., Luo, L., & Zhou, Z. (2019). Carbon-based materials as adsorbent for antibiotics removal: Mechanisms and influencing factors. *Journal of Environmental Management*, 237(September 2018), 128–138. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.068>

Xu, Li, H., Shi, R., Lv, J., Li, B., Yang, F., Zheng, X., & Xu, J. (2020). Antibiotic resistance genes in different animal manures and their derived organic fertilizer. *Environmental Sciences Europe*, 32(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00381-y>

Xu, W. hai, Zhang, G., Zou, S. chun, Li, X. dong, & Liu, Y. chun. (2007). Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental Pollution*, 145(3), 672–679. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.05.038>

Yan, H. F., Kyne, P. M., Jabado, R. W., Leeney, R. H., Davidson, L. N. K., Derrick, D. H., Finucci, B., Freckleton, R. P., Fordham, S. V., & Dulvy, N. K. (2021). Overfishing and habitat loss drives range contraction of iconic marine fishes to near extinction. *Science Advances*, 7(7), 1–11. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb6026>

Yue, K., & Shen, Y. (2021). An overview of disruptive technologies for aquaculture.

*Aquaculture and Fisheries*, January. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.04.009>

Zhang, W., Feng, X., Alula, Y., & Yao, S. (2017). Bionic multi-tentacled ionic liquid-modified silica gel for adsorption and separation of polyphenols from green tea (*Camellia sinensis*) leaves. *Food Chemistry*, 230, 637–648. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.054>

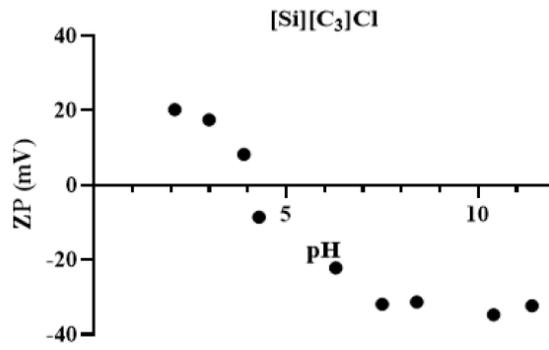
Zhu, G., Cheng, G., Lu, T., Cao, Z., Wang, L., Li, Q., & Fan, J. (2019). An ionic liquid functionalized polymer for simultaneous removal of four phenolic pollutants in real environmental samples. *Journal of Hazardous Materials*, 373(March), 347–358. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.03.101>

Zuccato, E., Castiglioni, S., Bagnati, R., Melis, M., & Fanelli, R. (2010). Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1–3), 1042–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.110>

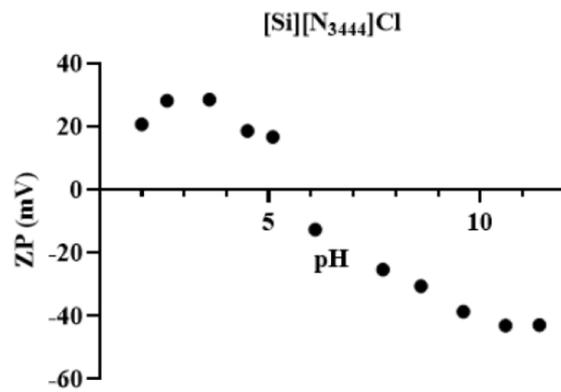
## 6. Anexos

---

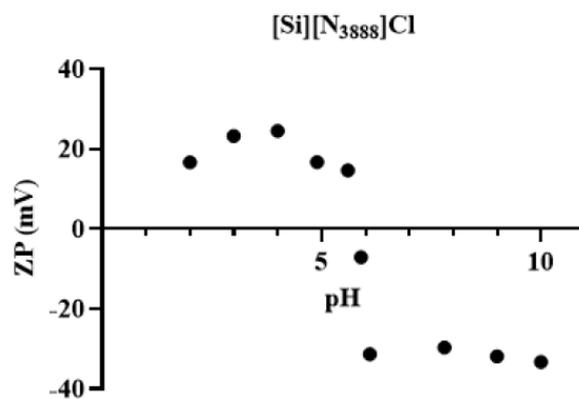




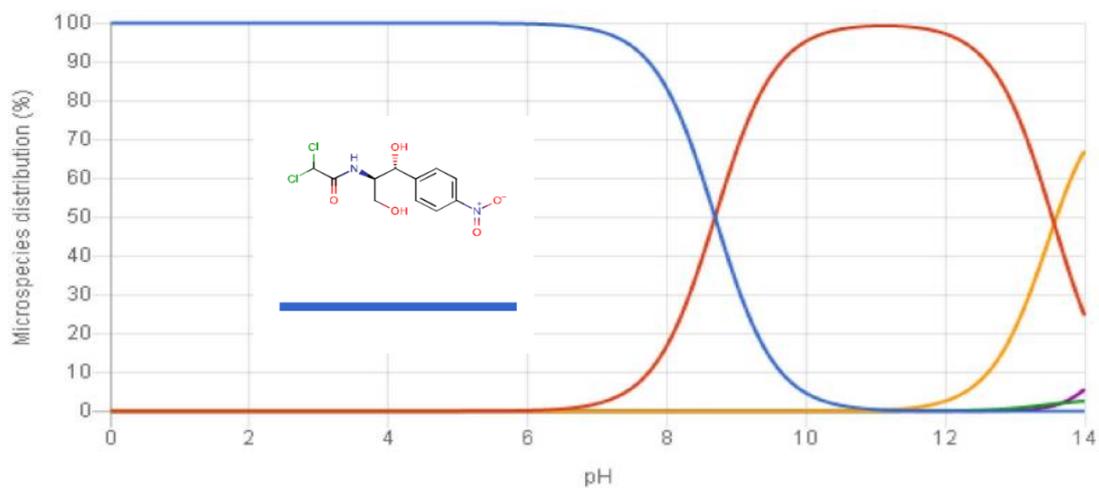
**Figura 29A:** Representação do potencial zeta em função do pH para [Si][C<sub>3</sub>]Cl.



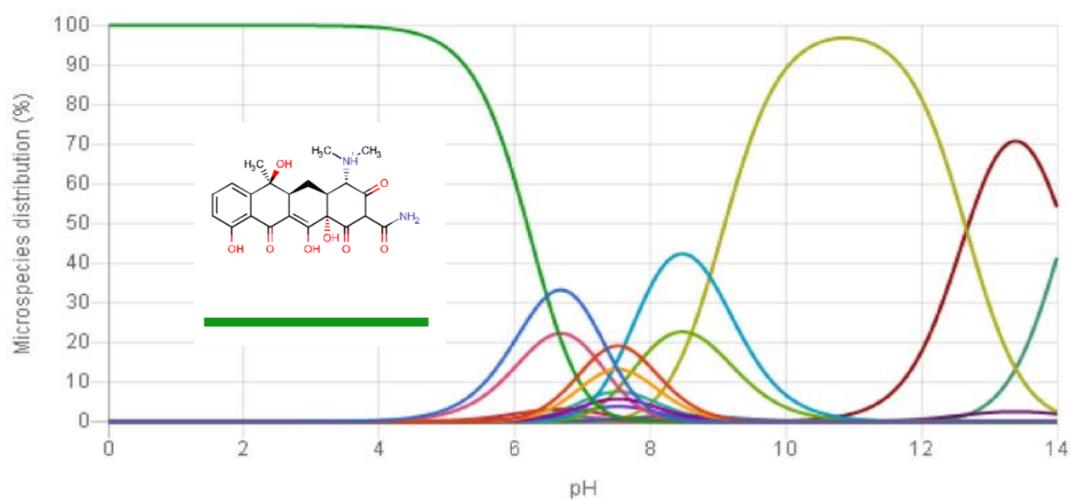
**Figura 30B:** Representação do potencial zeta em função do pH para [Si][N<sub>3444</sub>]Cl.



**Figura 31C:** Representação do potencial zeta em função do pH para [Si][N<sub>3888</sub>]Cl.



**Figura 32D:** Espécie presente na solução de cloranfenicol ao pH de 4,72, no qual foram realizadas as experiências em batch.



**Figura 33E:** Espécie presente na solução de tetraciclina ao pH de 5,35, no qual foram realizadas as experiências em batch.