

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA HIDRÁULICA E SANEAMENTO

VINÍCIUS DINIZ

Contaminantes de preocupação emergente: efeitos ecotoxicológicos de alguns fármacos sobre a microalga *Raphidocelis subcapitata* e potencial de remoção por carvão ativado

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos (SP)

2020

VINICÍUS DINIZ

Contaminantes de preocupação emergente: efeitos ecotoxicológicos de alguns fármacos sobre a microalga *Raphidocelis subcapitata* e potencial de remoção por carvão ativado

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos (SP)

2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

D585c Diniz, Vinicius
 Contaminantes de preocupação emergente: efeitos ecotoxicológicos de alguns fármacos sobre a microalga *Raphidocelis subcapitata* e potencial de remoção por carvão ativado / Vinicius Diniz; orientador Davi Gasparini Fernandes Cunha. São Carlos, 2020.

 Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2020.

 1. Bioensaio. 2. Cromatografia. 3. Insumos Farmacêuticos . 4. Modelos cinéticos. 5. Tratamento Avançado de efluentes. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Engenheiro **VINICÍUS DINIZ**.

Título da dissertação: "Contaminantes de preocupação emergente: efeitos ecotoxicológicos de alguns fármacos sobre a microalga *Raphidocelis subcapitata* e potencial de remoção por carvão ativado".

Data da defesa: 27/01/2020.

Comissão Julgadora:

Resultado:

Prof. Dr. **Davi Gasparini Fernandes Cunha**
(Orientador)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

APROVADO

Prof. Associado **Eduardo Bessa Azevedo**
(Instituto de Química de São Carlos/IQSC-USP)

APROVADO

Prof. Dr. **José Roberto Guimarães**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

APROVADO

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiando**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

8

*Dedico este trabalho aos meus pais (Ivo e Cida)
que me entenderam e me apoiaram nesses anos.*

AGRADECIMENTOS

Aqui peço licença ao meu orientador Prof^o Dr^o Davi Gasparini Fernandes Cunha, pois gostaria de iniciar agradecendo a duas pessoas que tiveram importância ímpar na minha formação como pessoa. Minha bisavó Iria Dametto Semenzato (*in memorian*) e meu avô Moisés da Silva Diniz (*in memorian*) que durante a confecção desta dissertação resolveram viver em um plano diferente e encerraram suas passagens pelo mundo físico em que vivemos. Aqui fica meu mais sincero obrigado por cada palavra e demonstração de carinho, assim como a saudade de poder compartilhar novos momentos.

Agora sim, ao meu orientador Prof^o Dr^o Davi Gasparini Fernandes Cunha por ser um excelente profissional e ser humano, me apoiando desde a iniciação científica. Gostaria de te agradecer pela coragem em me orientar durante esses anos, além de depositar toda a sua confiança na minha capacidade para desenvolver esta pesquisa. Hoje saio do BIOTACE mais maduro e preparado para o mundo.

Aos meus pais Ivo e Cidinha, a minha irmã Maria Eduarda e ao Chewbacca por todo o suporte necessário, vocês foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa, mas, acima disso, foram imprescindíveis para a minha formação como ser humano.

A minha família, aqui representada pelos meus avós maternos (Edna e Jurandir) e paternos (Maria e Moisés), por todos os conselhos, carinhos e refeições. O apoio e o entusiasmo de vocês com o meu desenvolvimento foram essenciais para a finalização deste mestrado, sem vocês eu não seria 1% do que sou hoje.

Aos meus companheiros de BIOTACE que tornaram essa experiência mais leve e acolhedora, além de proporcionar discussões enriquecedoras que certamente contribuíram para o meu desenvolvimento profissional. Aqui, quero especialmente agradecer ao Murilo que me acolheu no primeiro ano de mestrado, e ao Fellipe que se tornou um amigo para a vida.

Ao IC Matheus Gimenez Saraiva (Nobel) pela companhia no laboratório, assim como a ajuda nas leituras dos mais de 200 tubos no espectrofotômetro diariamente.

À técnica de laboratório Adriana Poli Miwa por compartilhar seus conhecimentos, além de auxiliar no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos professores e funcionários do Departamento de Hidráulica e Saneamento (SHS/EESC/USP) por estarem sempre dispostos a ajudar no que fosse necessário.

Ao doutorando Alan Pretti Ogura (SEA/USP) por gentilmente ceder a cepa de *Raphidocelis subcapitata*, cadastradas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético

e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen, A2E1F9E), utilizada no desenvolvimento desta pesquisa.

À Prof^o Dr^a Susanne Rath que gentilmente permitiu o uso do SPE-UHPLC-MS/MS, além das dependências do seu laboratório para o desenvolvimento desta pesquisa. Acima disso, gostaria de agradecer à professora por todo o auxílio no desenvolvimento do método de quantificação e pelo apoio nas análises que iam noite adentro. Por fim, gostaria de agradecer pelos conselhos, ensinamentos e momentos de descontração, certamente cada momento de convívio me tornou um profissional e um ser humano mais preparado.

Aos integrantes do Laboratório de Bioanálítica Paracelsus (IQ/UNICAMP) que durante as análises em UHPLC-MS/MS proporcionaram discussões enriquecedoras, auxiliando meu crescimento profissional na área de química analítica e ambiental, e pessoal. Aqui, faço uma ressalva ao Dr^o Caio Rodrigues Silva, que me auxiliou nos treinamentos para o uso do SPE-UHPLC-MS/MS e nos conhecimentos para desenvolvimento do método analítico.

Ao Prof^o Dr^o Jarbas José Rodrigues Rohwedder por me acompanhar nas análises no IQ/UNICAMP até altas horas da noite, auxiliando a agitar vials, compartilhando conhecimentos e fornecendo alimento.

A Gabriela Mayr Reyes que certamente é a pessoa mais importante para o desenvolvimento desta pesquisa. Meu desenvolvimento profissional e pessoal passa pela nossa história, assim como essa pesquisa como um todo. Você me auxiliou nas análises, palpitou sobre os diversos testes, passou horas corrigindo textos, e meu ouvido falou sobre essa pesquisa durante os 2 anos de mestrado. No entanto, acima de todo apoio profissional, você me apoiou emocionalmente e me tornou uma pessoa melhor. Meu mais sincero obrigado, sem você não seria possível.

Aos meus amigos da República Feudo que, assim como na graduação, continuaram a me apoiar durante o mestrado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela concessão da bolsa e pelo Auxílio Financeiro (Processo N^o 131091/2018-2).

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Tecnologias de Analíticas Avançadas (INCTAA) pelo auxílio financeiro à pesquisa.

Aqui, gostaria de deixar duas frases marcantes que refletem o meu ver do mundo atual:

“O importante é não parar de questionar. A curiosidade tem a sua própria razão para existir.”

Albert Einstein

“A obrigação de produzir aliena a paixão de criar.”

Autor desconhecido

RESUMO

DINIZ, V. **Contaminantes de preocupação emergente: efeitos ecotoxicológicos de alguns fármacos sobre a microalga *Raphidocelis subcapitata* e potencial de remoção por carvão ativado.** 2020. 153f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos – SP, 2020.

Um desafio significativo na atualidade é a crescente ocorrência, em ambientes aquáticos, de contaminantes de preocupação emergente (CPE), como os fármacos. A quantificação desses fármacos em matrizes ambientais é feita a partir de técnicas cromatográficas sensíveis e robustas, como a cromatografia líquida de ultra-alta eficiência. A ecotoxicidade crônica dos fármacos em concentrações ambientalmente relevantes (e.g. $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}) ainda é pouco conhecida. Dessa forma, a avaliação de técnicas para remoção desses CPE, como a adsorção, é de grande valia. Na presente pesquisa foram avaliados os efeitos dos fármacos albendazol (ABZ), cafeína (CAF) e carbamazepina (CBZ), e as associações ABZ + CAF e CBZ + CAF, sobre a *Raphidocelis subcapitata*, por meio da taxa de crescimento, produção de clorofila-a e dos parâmetros do modelo de Gompertz Modificado (e.g. densidade celular máxima, velocidade de crescimento e lag-time) dessa microalga. O processo de adsorção dos fármacos isoladamente e em associação foi investigado, comparando-se dois carvões ativados, um granular e outro pulverizado, por meio de isotermas e modelos cinéticos. Para os ensaios de adsorção, utilizou-se, além da CAF e da CBZ, o principal metabólito do ABZ, o ricobendazol (RBZ). Todos os fármacos avaliados apresentaram toxicidade para algum parâmetro de crescimento da microalga. O ABZ se mostrou mais tóxico para a *R. subcapitata* nos parâmetros taxa de crescimento ($\text{EC}_{50} 6,97 \pm 0,55 \mu\text{g L}^{-1}$) e densidade celular máxima ($\text{EC}_{50} 1,48 \pm 0,13 \mu\text{g L}^{-1}$), enquanto a CBZ afetou mais significativamente a produção de clorofila-a ($\text{EC}_{50} 1,54 \pm 0,22 \mu\text{g L}^{-1}$). A CAF diminuiu o efeito tóxico do ABZ e da CBZ sobre a *R. subcapitata*, agindo como antagonista. Os ensaios de adsorção mostraram que o carvão ativado pulverizado foi mais eficaz para a remoção dos fármacos ($\geq 76\%$). Nos ensaios multicomponentes, a remoção da CAF foi prejudicada, a qual foi reduzida em 30% na presença de ABZ e da CBZ. Todos os dados de adsorção se ajustaram melhor à isoterma de Freundlich ($R^2 \geq 0,805$) e aos modelos cinéticos de Elovich e pseudo segunda ordem ($R^2 \geq 0,990$). Concluiu-se que a avaliação da ecotoxicidade dos fármacos e sua potencial remoção em estações de tratamento é essencial para compreensão dos efeitos desses CPE sobre a biota aquática. Além disso, ensaios multicomponentes se mostram de grande valia para o entendimento dos efeitos dos fármacos sobre organismos aquáticos e para avaliação do potencial de remoção desses CPE nas estações de tratamento. Por fim, recomenda-se o uso dos ensaios rápidos em coluna de escala reduzida (ERCER) como um próximo passo para o melhor entendimento do processo de adsorção e avaliação da remoção de CPE em colunas de carvão ativado.

Palavras-chave: Bioensaio, Cromatografia, Insumos farmacêuticos, Modelos cinéticos, Tratamento avançado de efluentes.

ABSTRACT

DINIZ, V. **Emerging contaminants of concern: toxicological effects of pharmaceuticals on the microalgae *Raphidocelis subcapitata* and activated carbon removal capability.** 2020. 153 p. Dissertation (Master) – São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Carlos – SP, 2020.

A major challenge today is the increasing occurrence, in aquatic systems, of the emerging contaminants of concern (CPE), such as pharmaceuticals. The quantification of these pharmaceuticals in environmental matrices is made by sensitive and robust chromatographic techniques, such as ultra-high-performance liquid chromatography. The chronic ecotoxicity of pharmaceuticals at environmentally relevant concentrations (e.g. ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$) is still poorly understood. Thus, the evaluation of techniques aimed at removing these CPE, such as adsorption, is of great value. The present research evaluated the effects of albendazole (ABZ), caffeine (CAF), and (CBZ), and the associations ABZ + CAF and CBZ +CAF, on the microalgae *Raphidocelis subcapitata* with statistics basis. The parameters of evaluations were growth rate, chlorophyll-a production, and Modified Gompertz model parameters (e.g., maximum cell density, growth velocity, and lag-time). The adsorption process of isolated pharmaceuticals and their associations was investigated comparing two activated carbons (CA), a granular and a pulverized one, isotherms and kinetic models. In the adsorption process, in addition to CAF and CBZ, the main metabolite of ABZ, ricobendazole (RBZ), was used. All pharmaceuticals evaluated presented toxicity to *R. subcapitata*, affecting their growth parameters. ABZ was more toxic to *R. subcapitata* in the growth rate ($\text{EC}_{50} 6.97 \pm 0.55 \mu\text{g L}^{-1}$) and maximum cell density ($\text{EC}_{50} 1.48 \pm 0.13 \mu\text{g L}^{-1}$), while CBZ most significantly affected chlorophyll-a production ($\text{EC}_{50} 1.54 \pm 0.22 \mu\text{g L}^{-1}$). CAF decreased the toxic's effect of ABZ and CBZ on *R. subcapitata*, by acting as an antagonist, in associations evaluation. Adsorption assays showed that pulverized activated carbon was more effective for pharmaceutical removal ($\geq 76\%$). In the multicomponent assays, CAF removal was impaired, reducing its removal by 30% in the presence of ABZ or CBZ. The data for all adsorption process best fit in Freundlich's isotherm ($R^2 \geq 0.805$), and Elovich and pseudo-second-order kinetic models ($R^2 \geq 0.990$). It was concluded that assessing ecotoxicity and pharmaceutical removal in treatment plants is essential for the understanding of the effects of these CPE on aquatic biota. Further, multicomponent assays are of great value for understanding the effects of pharmaceuticals on aquatic organisms and for evaluating the potential for removing these CPE in treatment plants. Finally, the use of Rapid Small-Scale Column Tests (ERCER) as a next step is recommended for a better understanding of the adsorption process and evaluation of the CPE removal by carbon activated columns.

Keywords: Bioassay, Chromatography, Kinetic models, Pharmaceuticals supplies, Water advanced treatment.

Lista de Figuras

Figura 1: Fontes de contaminação dos sistemas aquáticos naturais por fármacos. Adaptado de Kümmerer, 2008.	30
Figura 2: Oxidação do albendazol para o ricobendazol.	35
Figura 3: Especificação do albendazol em função do pH do meio.	36
Figura 4: Esquema do posicionamento das válvulas do sistema SPE on-line para o carregamento e eluição dos analitos nas colunas de SPE e analítica. A – Carregamento do SPE; B – Eluição para coluna analítica. Adaptado de Tetzner et al. (2016).....	53
Figura 5: Curvas analíticas para os fármacos de interesse, com seus respectivos gráficos de resíduos. Albendazol-d3 foi usado como padrão interno do albendazol (A) e do ricobendazol (B). Cafeína-d3 e carbamazepina-d10 foram usadas como padrões internos para a cafeína (C) e a carbamazepina (D), respectivamente. Resposta: área do analito/área do padrão interno.	66
Figura 6: Cromatograma obtido no sistema SPE-UPLC-MS/MS. Coluna analítica Cortecs® UPLC® C18+ (3 mm x 100 mm, 1,6 µm). Condições cromatográficas: fase móvel composta por MeOH:água (70:30 em volume) com 0,1% de ácido fórmico. Vazão: 0,3 mL min ⁻¹ . Temperatura da coluna 40 °C. Volume de injeção 2,0 µL. Condições do SPE online: coluna XBridge C8, solvente de carregamento/lavagem: MeOH:água (95:5 em volume), vazão de 0,95 mL min ⁻¹ , volume de carregamento 0,95 mL. Condições do espectrômetro de massas: vide Tabela 4. Concentração dos analitos de interesse: 200 µg L ⁻¹	67
Figura 7: Curva de crescimento da <i>Raphidocelis subcapitata</i> em meio LC Oligo. A intensidade de absorvância foi mensurada a cada 24 h durante 16 dias. Médias ± desvio padrão (n=3).....	68
Figura 8: Curva analítica, equação da reta e R ² obtidos por meio da plotagem da intensidade de absorvância versus densidade celular.	68
Figura 9: Estabilidade dos fármacos ABZ, CAF e CBZ, isolados, nas condições de luminosidade (4500 luxes) e temperatura (25 °C) utilizadas nos testes ecotoxicológicos.....	77
Figura 10: Estabilidade dos fármacos ABZ, CAF e CBZ, em associações, nas condições de luminosidade (4500 luxes) e temperatura (25 °C) utilizadas nos testes ecotoxicológicos. “-ABZ” “-CBZ” indica cafeína na presença do albendazol e da carbamazepina, respectivamente.	78
Figura 11: Concentração remanescente do RBZ nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado (n = 2).	

Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.	79
Figura 12: Concentração remanescente da CAF nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado (n = 2). Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.	80
Figura 13: Concentração remanescente do CBZ nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado (n = 2). Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.	80
Figura 14: Concentração remanescente do RBZ e da CAF nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado (n = 2). Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.	82
Figura 15: Concentração remanescente da CBZ e da CAF nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado (n = 2). Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.	83
Figura 16: Ajuste do modelo de Freundlich aos dados de adsorção do ricobendazol (A – CAG; B – CAP), cafeína (C – CAG, D – CAP) e carbamazepina (E – CAG; F – CAP).	86
Figura 17: Ajuste do modelo de Langmuir aos dados de adsorção do ricobendazol (A – CAG; B – CAP), cafeína (C – CAG, D – CAP) e carbamazepina (E – CAG; F – CAP).	87
Figura 18: Ajuste do modelo de Freundlich aos dados de adsorção da associação RBZ+CAF. (A) RBZ para o CAG. (B) CAF para o CAG (C) RBZ para o CAP. (D) CAF para o CAP.	89
Figura 19: Ajuste do modelo de Langmuir aos dados de adsorção da associação RBZ+CAF. (A) RBZ para o CAG. (B) CAF para o CAG. (C) CBZ para o CAP. (D) CAF para o CAP.	89
Figura 20: Ajuste do modelo de Freundlich aos dados de adsorção da associação CBZ+CAF. (A) CBZ para o CAG. (B) CAF para o CAG. (C) RBZ para o CAP. (D) CAF para o CAP.	90

Figura 21: Ajuste do modelo de Langmuir aos dados de adsorção da associação CBZ+CAF. (A) CBZ para o CAG. (B) CAF para o CAG. (C) CBZ para o CAP. (D) CAF para o CAP..... 90

Figura 22 : Ajuste linear do modelo cinético de pseudo primeira ordem aos dados de adsorção dos fármacos isoladamente. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP; (E) CBZ no CAG; (F) CBZ no CAP..... 94

Figura 23: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo primeira ordem aos dados de adsorção da associação RBZ + CAF. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP..... 95

Figura 24: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo primeira ordem aos dados de adsorção da associação CBZ + CAF. (A) CBZ no CAG; (B) CBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP..... 95

Figura 25: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo segunda ordem aos dados de adsorção dos fármacos isoladamente. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP; (E) CBZ no CAG; (F) CBZ no CAP..... 96

Figura 26: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo segunda ordem aos dados de adsorção da associação RBZ + CAF. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP..... 97

Figura 27: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo segunda ordem aos dados de adsorção da associação CBZ + CAF. (A) CBZ no CAG; (B) CBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP..... 97

Figura 28 Ajuste do modelo cinético de Elovich aos dados de adsorção dos fármacos isoladamente. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP; (E) CBZ no CAG; (F) CBZ no CAP. 98

Figura 29: Ajuste do modelo cinético Elovich aos dados de adsorção da associação RBZ + CAF. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP. 99

Figura 30: Ajuste do modelo cinético Elovich aos dados de adsorção da associação CBZ + CAF. (A) CBZ no CAG; (B) CBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP. 99

Figura 31: Ajuste do modelo cinético de Weber e Morris aos dados de adsorção dos fármacos isoladamente. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP; (E) CBZ no CAG; (F) CBZ no CAP. 100

Figura 32: Ajuste do modelo cinético Weber e Morris aos dados de adsorção da associação RBZ + CAF. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.	101
Figura 33: Ajuste do modelo cinético Weber e Morris aos dados de adsorção da associação CBZ + CAF. (A) CBZ no CAG; (B) CBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.	101
Figura 34: Taxa de uso do CAG para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.....	106
Figura 35: Taxa volumétrica de aplicação em escala logarítmica para o CAG para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.	106
Figura 36: Massa de CAG em escala logarítmica necessária para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.	107
Figura 37: Altura da coluna de CAG necessária para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.....	107
Figura 38: Massa de CAG necessária para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando eficiências de 90% de remoção e variando-se a vazão.	108
Figura 39: Altura da coluna de CAG necessária para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 90% e variando-se a taxa de aplicação superficial.	109
Figura 40: Tempo de contato de leito vazio para ensaios ERCER, visando a remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações.....	111
Figura 41: Altura da coluna de CAG para ensaios ERCER, visando a remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações.	111
Figura 42: Dosagem de CAP (mg L^{-1}) necessária, em escala logarítmica, para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.....	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ocorrência de fármacos em diferentes matrizes hídricas reportadas na literatura.	31
Tabela 2: Identificação dos substituintes na estrutura geral das metilxantinas.	38
Tabela 3: Fórmula estrutural dos fármacos em estudo e algumas de suas características físico-químicas.	41
Tabela 4: Limites de quantificação e métodos de extração e análise para fármacos em estudo no ambiente.	44
Tabela 5: Comportamento da isoterma de adsorção conforme o fator de separação. .	50
Tabela 6: Síntese dos modelos cinéticos de adsorção.	52
Tabela 7: Concentração dos fármacos utilizada nos testes ecotoxicológicos isolados e em associações.	56
Tabela 8: Características físicas dos carvões ativados utilizados nesta pesquisa.	58
Tabela 9: Parâmetros de trabalho do espectrômetro de massas. (i) transição de identificação, (q) transição de quantificação.	63
Tabela 10: Eventos na bomba binária do sistema SPE-UHPLC-MS/MS durante a corrida cromatográfica. Temperatura da coluna analítica de 40 °C.	64
Tabela 11: Eventos na bomba quaternária do sistema SPE-UHPLC-MS/MS durante a corrida cromatográfica. Temperatura da coluna analítica de 40 °C.	64
Tabela 12: Parâmetros de validação para os fármacos de interesse.	65
Tabela 13: Parâmetros de crescimento da <i>Raphidocelis subcapitata</i> exposta aos fármacos albendazol, cafeína e carbamazepina isolados.	70
Tabela 14: Valores de EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$) para os efeitos sobre a <i>Raphidocelis subcapitata</i> exposta aos fármacos albendazol, cafeína e carbamazepina isolados.	71
Tabela 15: Valores de EC_{50} (nmol L^{-1}) para os efeitos sobre a <i>Raphidocelis subcapitata</i> exposta aos fármacos albendazol, cafeína e carbamazepina isolados.	71
Tabela 16: Parâmetros de crescimento da microalga <i>R. subcapitata</i> exposta às associações de fármacos: albendazol + cafeína e carbamazepina + cafeína.	74
Tabela 17: Valores de EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$) para os efeitos sobre a <i>Raphidocelis subcapitata</i> exposta as associações de fármacos: albendazol + cafeína e carbamazepina + cafeína.	75
Tabela 18: Valores de EC_{50} (nmol L^{-1}) para os efeitos sobre a <i>Raphidocelis subcapitata</i> exposta as associações de fármacos: albendazol + cafeína e carbamazepina + cafeína.	75

Tabela 19: Porcentagem dos fármacos removida por 2,5 mg de massa do CAG e do CAP após 30 min de tempo de contato, em temperatura de $24,4 \pm 0,6$ °C.....	81
Tabela 20: Porcentagem dos fármacos, nas associações RBZ + CAF e CBZ + CAF, removida por 2,5 mg de massa do CAG e do CAP após 30 min de tempo de contato, em temperatura de $24,4 \pm 0,6$ °C.	83
Tabela 21: Parâmetros das isotermas de adsorção para os fármacos isolados.....	88
Tabela 22: Parâmetros da isoterma de Freundlich para diversos contaminantes de preocupação emergente.	88
Tabela 23 Parâmetros das isotermas de adsorção para as associações RBZ + CAF e CBZ + CAF.	91
Tabela 24: Parâmetros dos modelos cinéticos de adsorção para o CAG e para CAP. Massa de Carvão: 2,5 mg. Temperatura: $24,4 \pm 0,6$ °C. pH: 6,8.....	102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1/n	Constante relacionada à heterogeneidade da superfície
A	Densidade celular máxima
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABZ	Albendazol
ABZ-d3	Albendazol deuterado
ACP	Área da coluna em plana
AIA	Avaliação de Impacto Ambiental
ANOVA	Análise de variância
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ATP	Adenosina trifosfato
b	Constante de adsorção de Langmuir
BB	Bomba Binária
BQ	Bomba quaternária
C	Constante relacionada com a resistência à difusão
C ₀	Concentração inicial de adsorvato
CA	Carvão Ativado
CAF	Cafeína
CAF-d3	Cafeína deuterada
CAG	Carvão ativado granular
cAMP	Ligação fosfodiéster da adenosina monofostato cíclica
CAP	Carvão ativado em pó
CAS	<i>Chemical Abstract Service</i>
CBZ	Carbamazepina
CBZ-d10	Carbamazepina deuterada
C _e	Concentração do adsorvato no equilíbrio
CL ₅₀	Concentração que ocasiona morte de 50% dos indivíduos
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CPE	Contaminantes de Preocupação Emergente

CV	Coeficiente de variação
D	Coeficiente de distribuição
DBF	Dibenzilfluoresceína-desalquilase
D_{CAPmin}	Dosagem mínima de carvão ativado em pó
DMF	N,N-Dimetilformamida
$d_{p,piloto}$	Diâmetro médio do CAG real
$d_{p,reduzido}$	Diâmetro médio do CAG triturado
EC ₅₀	Concentração que induz metade da resposta máxima
Ef	Eficiência de remoção
ERCER	Ensaio rápido em coluna de escala reduzida
EROD	Etoxicorufina O-desetilase
ESI	Ionização por electrospray
EUA	Estados Unidos da América
GC	Cromatografia gasosa
GPX	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione reductase
GST	Glutathione S-transferase
h	Altura da coluna
h_{red}	Altura da coluna no ERCER
HSD	<i>Honestly significant difference</i>
JIS	<i>Japanese Industrial Standard</i>
k_1	Constante de taxa de adsorção de pseudo primeira ordem
k_2	Constante de taxa de adsorção de pseudo segunda ordem
K_{ad}	Constante de adsorção de Langmuir
Kd	Coeficiente de sorção
k_i	Constante de difusão intrapartícula
Koc	Coeficiente de carbono normalizado pelo teor de carbono orgânico no solo
Kow	Coeficiente de partição octanol/água
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação

M _{CAG}	Massa de carvão ativado granular
MeOH	Metanol
MS/MS	Espectrometria de massas em tandem
OH [•]	Radical hidroxila
PEC	Concentração Ambiental Prevista
pH	Potencial hidrogeniônico
pKa	Cologaritmo da constante de ionização
POA	Processos oxidativos avançados
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
Q	Vazão
q_e	Quantidade adsorvida por unidade de adsorvente
$q_{e\max}$	Quantidade máxima de adsorção
QqQ	Triplo quadrupolo
q_t	Quantidades adsorvidas por unidade de adsorvente no tempo determinado
R ²	Coefficiente de determinação
RBZ	Ricobendazol
R _L	Fator de separação
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SDH	Succinato desidrogenase
SPE	Extração em fase sólida
SRM	Monitoramento de reação selecionada
TAS	Taxa de aplicação superficial
TAS _{red}	Taxa de aplicação superficial no ERCER
TCLV	Tempo de contato no leito vazio
TCLV _{red}	Tempo de contato no leito vazio no ERCER
TDH	Tempo de detenção hidráulica
TU	Taxa de uso
TV	Taxa volumétrica
UASB	<i>Upflow anaerobic sludge blanket</i>
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>

$V_{\text{água}}$	Volume de água que passa pela coluna
WHO	Organização Mundial da Saúde
X	Difusividade intrapartícula
α	Taxa de adsorção inicial
ρ_{CAG}	Densidade do carvão ativado granular
β	Constante de dessorção
λ	<i>Lag-time</i>
μ_{max}	Velocidade máxima de crescimento

Sumário

1. INTRODUÇÃO	27
2. OBJETIVOS	29
3. REVISÃO DE LITERATURA	29
3.1 Fontes de contaminação ambiental por fármacos	29
3.1.1 Influência das propriedades físico-químicas e outros parâmetros no comportamento de fármacos no ambiente	32
3.1.2 Legislação nacional e internacional	34
3.1.3 Fármacos escolhidos para o presente estudo	35
3.1.3.1 Albendazol e Ricobendazol.....	35
3.1.3.2 Cafeína	37
3.1.3.3 Carbamazepina.....	39
3.2 Métodos usualmente empregados para extração e determinação de fármacos em amostras ambientais	42
3.3 Estudos ecotoxicológicos com fármacos.....	44
3.4 Processos avançados para remoção de fármacos	47
3.4.1 Adsorção.....	48
3.4.1.1 Isotermas de adsorção	49
3.4.1.2 Cinética de adsorção.....	51
4. MATERIAL E METÓDOS	52
4.1 Método analítico SPE-UHPLC-MS/MS para quantificação dos fármacos	52
4.1.1 Materiais e equipamentos.....	52
4.1.2 Otimização das condições do espectrômetro de massas	53
4.1.3 O sistema SPE-UHPLC-MS/MS	53
4.1.4 Condições cromatográficas	54
4.1.5 Validação do método analítico	54
4.2. Testes ecotoxicológicos com <i>Raphidocelis subcapitata</i>	55
4.2.1 Determinação do crescimento da microalga	55

4.2.2	Condições de exposição da microalga	56
4.2.3	Teste de estabilidade dos fármacos.....	57
4.2.4	Análise dos dados	57
4.3	Estudo da adsorção em carvão ativado.....	58
4.3.1	Materiais e soluções	58
4.3.2.	Isotermas de adsorção	58
4.3.3	Cinética de adsorção	59
4.3.4	Pré-dimensionamento das unidades de carvão de ativado.....	59
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
5.1	Método analítico	62
5.1.1	Otimização das condições do espectrômetro de massas.....	62
5.1.2	Condições cromatográficas.....	64
5.1.3	Validação do método	65
5.2	Testes ecotoxicológicos	67
5.2.1	Cultivo da R. subcapitata.....	67
5.2.2	Exposição da R. subcapitata aos fármacos	68
5.2.2	Estabilidade dos fármacos	76
5.3	Estudos de adsorção em carvão ativado	78
5.3.1	Isotermas de adsorção.....	78
5.3.2	Cinética de adsorção	93
5.3.3	Pré-dimensionamento das unidades de carvão ativado.....	104
6.	CONCLUSÕES	114
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
	ANEXOS	136

1. INTRODUÇÃO

A ocorrência de contaminantes de preocupação emergente (CPE) em ambientes aquáticos vem se tornando cada vez mais frequente, o que tem despertado a atenção da comunidade científica em relação à origem, aos possíveis tratamentos para sua remoção/oxidação, ao destino e aos efeitos causados por tais contaminantes (NÖDLER et al. 2011). Encontram-se, atualmente, diversas definições para CPE, mas, de forma geral, estes contaminantes representam uma abrangente faixa de compostos sintéticos ou naturais e sem regulamentação, cujos efeitos ao ambiente e à saúde humana ainda são pouco conhecidos (DEBLONDE, COSSU-LEGUILLE e HARTEMANN, 2011; NASCIMENTO, ARAÚJO e ALVAREZ, 2015).

A categoria dos CPE inclui fármacos, produtos de higiene pessoal, plastificantes e aditivos industriais (VALSECCHI et al. 2015). Ainda que exista significativa diversidade desses compostos, as agências ambientais internacionais têm focado seus esforços no monitoramento e na regulamentação dos fármacos e nos produtos de higiene pessoal (GWRC, 2005; GWRC, 2008; CAMPANHA et al. 2015). Alguns deles (e.g. anticoncepcionais, analgésicos, antibióticos e antidepressivos) (NASCIMENTO, ARAÚJO e ALVAREZ, 2015) podem ser prejudiciais a diferentes organismos (LIU et al. 2018; POMATI et al. 2008).

A entrada dos fármacos no ambiente aquático ocorre, principalmente, por meio da disposição irregular de esgotos domésticos e industriais, e até mesmo por intermédio dos efluentes tratados nas estações de tratamento de esgoto, as quais não necessariamente são capazes de remover esses compostos (KÜMMERER, 2008; NÖDLER et al. 2011; AQUINO, BRANDT e CHERNICHARO, 2013; ARPIN-POINT et al. 2016). Além disso, o crescente consumo e desenvolvimento de novos fármacos contribui com o aporte contínuo desses compostos aos cursos de água. Trata-se de uma situação preocupante, visto que os CPE ocorrem em associações com outros compostos no ambiente e seus efeitos sinérgicos a médio e longo prazo ainda não foram totalmente elucidados (GINEBREDA et al. 2010; DEBLONDE, COSSU-LEGUILLE e HARTEMANN, 2011). Estudos têm sugerido que a presença dos fármacos no ambiente esteja relacionada à origem de bactérias resistentes e à desregulação do sistema endócrino de organismos (BAQUERO, MARTÍNEZ e CANTÓN, 2008; SUTHERLAND e LEATHWICK, 2011; HORVAT et al. 2012). Por esta razão, a ocorrência de fármacos no ambiente, mesmo que em baixas concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}), está associada a potenciais prejuízos para o ecossistema e para a saúde humana (SUI et al. 2015; MIAZEK e BROZEK-PLUSKA, 2019).

Uma vez no ambiente aquático, os fármacos tendem a bioacumular nos organismos, incluindo os seres humanos, por meio do processo de biomagnificação na cadeia alimentar, devido às suas propriedades recalcitrantes e características lipofílicas (KELLY et al. 2007). Diversos estudos têm avaliado a toxicidade dos fármacos sobre a biota aquática, principalmente por meio de ensaios com algas e microalgas (MIAZEK e BROZEK-PLUSKA, 2019). Os resultados desses estudos vêm sugerindo que, embora os fármacos não apresentem toxicidade aguda em concentrações ambientalmente relevantes (e.g. ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$), as informações sobre a sua toxicidade crônica ainda são limitadas (ZHANG et al. 2012; MIAZEK e BROZEK-PLUSKA, 2019). Ademais, a maioria dos estudos aborda os fármacos isoladamente, enquanto a biota aquática está frequentemente exposta a uma associação de fármacos em diferentes proporções (KÜMMERER, 2008). De acordo com Yang et al. (2009) e Liu et al. (2018), uma simples associação binária de fármacos pode causar efeitos variados sobre a biota e apresentar relações distintas (e.g. sinergismo, antagonismo, potenciação e adição).

Estudos desenvolvidos em diversos países têm relatado a presença de fármacos em efluentes de estações de tratamento de esgoto (YING, KOOKANA e KOPLIN, 2009; SIM et al. 2013; MARTINS, 2018), águas doces (DANESHVAR et al 2012; GROSS, RODRIGUEZ-MOZAZ e BARCELÓ, 2013; CAMPANHA et al. 2015), água salgadas/salobras (SIM et al. 2013; PAIGA e DELERUE-MATOS, 2017), águas subterrâneas (PETROVIC et al. 2006; SPOSITO et al. 2018) e, inclusive, águas utilizadas para abastecimento público (PETROVIC et al. 2006; SODRÉ et al. 2010). Nesses estudos, usualmente são empregados métodos analíticos baseados em extração em fase sólida (SPE) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tipo *tandem*¹ (PORTO, 2019).

Diversos autores vêm desenvolvendo estudos na tentativa de remover esses fármacos nas estações de tratamento de água e esgoto (DE WITTE, 2009, SUI et al. 2010; FERREIRA, 2011; FRANÇOIS et al. 2016; PORTO, 2019). Ferreira (2011) destaca que as principais técnicas empregadas são a ozonização, os processos oxidativos avançados, as filtrações por membrana e a adsorção por carvão ativado (CA). No entanto, já foi observado que a sorção é o processo de remoção predominante dos fármacos nas estações de tratamento de esgoto, o que credencia o uso do CA como uma técnica para a remoção de CPE (AQUINO, BRANDT e CHERNICHARO 2013).

¹ Sistema em que dois espectrômetros de massas são utilizados em sequência, separados por uma câmara de colisão. Também conhecido como MS/MS ou MS2.

Pelo exposto, torna-se evidente a importância de se obterem informações a respeito da toxicidade crônica dos fármacos sobre organismos aquáticos, além da avaliação sobre o uso do CA como potencial técnica de remoção. Assim, neste estudo, foi avaliado o uso de CA para a remoção dos fármacos cafeína (CAF), carbamazepina (CBZ) e ricobendazol (RBZ). Ademais, foi realizada uma avaliação toxicológica dos fármacos albendazol (ABZ) e CBZ, e suas associações com a CAF, um fármaco marcador de contaminação por esgoto (PETEFFI et al. 2018) e com propriedades antioxidantes (AGUIRRE-MARTÍNEZ, DELVALSS e MARTÍN-DÍAZ, 2015), sobre a microalga *Raphidocelis subcapitata*.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal desta pesquisa foi avaliar, em laboratório, a ecotoxicidade de alguns fármacos de preocupação emergente sobre uma microalga, além de analisar o desempenho de uma alternativa de remoção desses compostos de matrizes aquosas.

Os objetivos específicos compreenderam:

- Analisar a toxicidade dos fármacos albendazol e carbamazepina, isolados e combinados com a cafeína, por meio de testes de ecotoxicidade crônica com a microalga unicelular, *Raphidocelis subcapitata*;
- Investigar, em testes de bancada, a eficiência da adsorção com carvão ativado para remoção dos fármacos (ricobendazol, carbamazepina e cafeína) isolados e em associação com a cafeína, como possível alternativa tecnológica de tratamento avançado de água e esgoto;
- Pré-dimensionar colunas de carvão ativado granular e estimar dosagens requeridas de carvão ativado em pó para remoção dos fármacos ricobendazol, cafeína e carbamazepina isolados e em associação com a cafeína.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Fontes de contaminação ambiental por fármacos

De maneira geral, as fontes de contaminação por fármacos podem ter origem pontual ou difusa. As fontes pontuais compreendem os efluentes de estações de tratamento de esgoto² (DÍAZ CRUZ, LÓPEZ DE ALDA e BARCELÓ, 2003), de indústrias farmacêuticas (LARSSON, 2014) e de instalações de aquicultura de água doce (PORTO, 2019) e marinha

² Ressalva-se que, apesar das estações de tratamento serem consideradas fontes importantes para entradas dos CPE nos corpos hídricos, a inexistência delas acarretaria uma deterioração muito mais acentuada desses ambientes aquáticos.

(GAW et al. 2014). As fontes difusas são representadas pelo escoamento superficial e pela lixiviação dos fármacos e seus metabólitos presentes nas excreções de animais no pasto (MOMPELAT, LE BOLT e THOMAS, 2009). No entanto, a principal fonte de entrada dos fármacos nos ambientes aquáticos é o lançamento de esgoto doméstico e industrial (MANAHAM, 1993; KÜMMERER, 2008; PETROVIC et al. 2014; CAMPANHA et al. 2015; SPOSITO et al. 2018) (Figura 1).

Diversos pesquisadores vêm estudando a contaminação dos sistemas aquáticos por fármacos (Tabela 1). No entanto, existe uma carência no monitoramento e nas legislações ambientais que regulamentem a presença dessas substâncias, fazendo com que os fármacos sejam classificados como CPE de grande relevância (GWRC, 2005; GWRC, 2008).

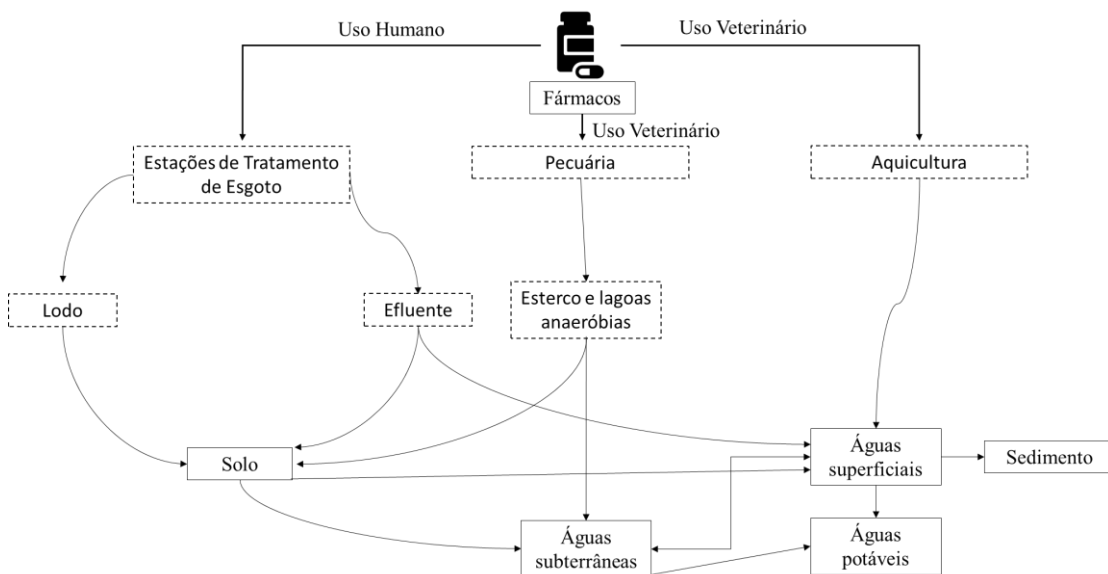


Figura 1: Fontes de contaminação dos sistemas aquáticos naturais por fármacos. Adaptado de Kümmeler, 2008.

Entre as possíveis entradas de fármacos nos corpos hídricos, os efluentes de indústrias farmacêuticas são especialmente relevantes (PORTO, 2019), visto que, mesmo após o tratamento usualmente empregado nessas instalações (e.g. biotransformação, mineralização e processos oxidativos), ainda é possível encontrar concentrações residuais de fármacos na faixa de mg L^{-1} (LARSSON, 2014). A aquicultura, por sua vez, utiliza processos de disposição de medicamentos diretamente na água ou incorporados na ração para o cuidado com os animais. As excreções dos animais (e.g. peixes, gado, entre outros) são consideradas uma das principais fontes de contaminação por fármacos veterinários, visto que uma parte da dose aplicada nos tratamentos é excretada via fezes e urina (PORTO, 2019). Atualmente, sabe-se que a parte excretada é dependente da dose, modo de aplicação, duração do tratamento e das propriedades físico-químicas dos fármacos. No entanto, existem casos em que a excreção pode ocorrer em

até 90% da dose administrada (KEMPER, 2008; OLLIARO, 2011). Dessa forma, a aquicultura e a pecuária estão intimamente ligadas com a contaminação do solo e da água por fármacos (BOXALL et al. 2004; LE e MUNEKAGE, 2004; ZOU et al. 2011; LAPWORTH, 2012). Tetzner e Rath (2018) observaram concentração de 310 ng L⁻¹ de ABZ em tanques de pesqueiros do estado de São Paulo, Brasil (Tabela 1).

As estações de tratamento de esgoto que utilizam técnicas convencionas (e.g. UASB e lodos ativados) apresentam, geralmente, limitada remoção de fármacos de seus efluentes (ZOU et al. 2011; LAPWORTH, 2012; MILIC et al. 2013; ZENKLER et al. 2014). Sim et al. (2013) e He et al. (2018) observaram concentrações de 3.150 e 5.500 ng L⁻¹ de ABZ e CAF, respectivamente, em amostras de esgoto bruto (Tabela 1). Cruz-Morató et al. (2014) e Porto (2019) relataram concentrações de 21 ng L⁻¹ de ABZ em efluentes hospitalares na Espanha e no Brasil, respectivamente (Tabela 1). Pivetta (2019) observou a persistência de diversos fármacos (e.g. CBZ, clonazepan, escitalopram e fluoxetina) em estações de tratamento de esgoto convencionais utilizadas no interior do estado de São Paulo. Assim, técnicas alternativas de tratamento vêm sendo investigadas, como por exemplo, a cloração, a ozonização e os processos oxidativos avançados, além da adsorção por CA (RIVERA-UTRILLA et al. 2013).

Tabela 1: Ocorrência de fármacos em diferentes matrizes hídricas reportadas na literatura.

Local	Matriz	Fármaco	Concentração (ng L ⁻¹)	Referência
Campinas, SP	Efluente hospitalar	Albendazol	200	PORTO, 2019
Vários Locais no norte da Sérvia	Água subterrânea		2	PETROVIC et al. 2014
	Água potável		3	
Girona, Espanha	Efluente hospitalar		21	CRUZ-MORATÓ et al. 2014
São Paulo, Brasil	Pesqueiro		310	TETZNER e RATH, 2018
Ulsan, Coréia do Sul	Esgoto bruto	3150	SIM et al. 2013	
	Mar	8		
Campinas, SP	Água potável	Cafeína	220	SODRÉ et al. 2007
São Carlos, SP	Água superficial		129	CAMPANHA et al. 2015
Kyoto, Japão	Esgoto bruto		5500	HE et al. 2018
Putrajaya, Malásia	Água potável		1	PRAVEENA et al. 2019

Continuação da Tabela 1: Ocorrência de fármacos em diferentes matrizes hídricas reportadas na literatura.

Local	Matriz	Fármaco	Concentração (ng L ⁻¹)	Referência
TevaKS, Israel	Efluente de indústria farmacêutica		890	LESTER et al. 2013
Verona, Itália	Esgoto bruto	Carbamazepina	288	REPICE et al. 2013
Coimbra, Portugal			673	SANTOS et al. 2013
Kyoto, Japão			55	HE et al. 2019
Campinas, SP	Efluente hospitalar	Ricobendazol	70	PORTO, 2019

3.1.1 Influência das propriedades físico-químicas e outros parâmetros no comportamento de fármacos no ambiente

De maneira geral, os fármacos, tanto de uso humano, quanto animal, podem ser solúveis em água, pouco voláteis e apresentam baixa biodegradabilidade. O aporte constante desses compostos por meio das fontes anteriormente abordadas pode levar a um comportamento de pseudo-persistência³ apesar dos variados mecanismos de atenuação naturais existentes (e.g. diluição, bio ou fotodegradação, imobilização nos sedimentos, entre outros) (MOMPELAT, LE BOLT e THOMAS, 2009; MILIC et al. 2013; LI, 2014).

Os principais parâmetros que afetam o destino dos fármacos no ambiente são: cologaritmo da constante de ionização (pKa), logaritmo dos coeficientes de partição octanol/água, para compostos não ionizáveis, (log Kow), e de distribuição (log D) coeficientes de sorção (Kd) e de carbono normalizado pelo teor de carbono orgânico no solo (Koc). Variáveis ambientais como pH, textura e teor de matéria orgânica do solo também afetam a mobilidade dos fármacos (SARMAH, MEYER e BOXALL, 2006; REGITANO e LEAL, 2010). Dessa forma, fármacos com grande capacidade de sorção tendem a acumular no solo, mas fármacos com menor capacidade acabam sendo lixiviados para os corpos hídricos (DIÁZ CRUZ, LÓPEZ DE ALDA e BARCELÓ, 2003).

Segundo Mompelat, Le Bolt e Thomas (2009), moléculas com log Kow < 2,5 apresentam baixa sorção, moléculas com log Kow entre 2,5 e 4,0 apresentam capacidade moderada e, por fim, moléculas com log Kow > 4,0 tendem a sorver fortemente na matriz

³ Devido à entrada contínua e muito superior às taxas de degradação desses compostos no ambiente (Bu et al. 2016).

orgânica. A adsorção em constituintes minerais e coloides, os mecanismos de troca-iônica e a formação de complexos com metais são outros fatores que podem reduzir a biodisponibilidade dos fármacos (DIÁZ CRUZ, LÓPEZ DE ALDA e BARCELÓ, 2003; ZENKER et al. 2014, BOTTONI e CAROL, 2015). Moléculas ionizadas (e.g. catiônicas e/ou aniônicas) podem interagir de maneiras distintas com o solo, o que torna o pH do meio um importante parâmetro a ser avaliado no processo de lixiviação de fármacos (DE OLIVEIRA-NETO, ARENAS e FOSTIER, 2017; LIOU E CHEN, 2017).

Além das propriedades físico-químicas, existem mecanismos naturais de atenuação dos fármacos, entre eles a diluição, que podem reduzir de maneira considerável a concentração desses CPE no meio aquático. Os fármacos podem também sofrer degradação pela via biótica, por meio da ação de microrganismos, ou pela via abiótica (e.g. hidrólise e fotodegradação). No entanto, em corpos hídricos, a biodegradação geralmente não é um mecanismo eficiente de atenuação (KÜMMERER, 2009), podendo levar meses em alguns casos para que ocorra totalmente (LI, 2014). O processo de fotodegradação ocorre principalmente na superfície dos rios, lagos e reservatórios, de maneira direta (a molécula é diretamente degradada pela absorção da luz solar) ou indireta (a degradação da molécula é induzida por radicais [e.g. OH⁻] formados pela incidência de radiação solar em nitratos e ácidos húmicos). A fotodegradação é influenciada também pela profundidade do corpo hídrico, nível de eutrofização, intensidade de radiação solar e a época do ano, fatores que afetam a penetração de luz (MOMPELAT, LE BOLT e THOMAS, 2009).

A significativa utilização de fármacos na pecuária, associada a persistência dessas moléculas nos corpos hídricos, exercem uma forte pressão seletiva na população microbiana, o que pode promover um aumento no número de indivíduos resistentes à determinados fármacos (BAQUERO, MARTÍNEZ e CANTÓN, 2008. SUTHERLAND e LEATHWICK, 2011; HORVAT et al. 2012; FURTADO, de PAIVA BELLO e RABELO, 2016). No entanto, os fármacos por si só não são os responsáveis pelas mutações genéticas que ocasionam a resistência das bactérias. Esses compostos selecionam uma população de organismos naturalmente resistentes, que se proliferam com o passar do tempo. Dessa forma, o manejo inadequado, o uso da profilaxia e a utilização de medicamentos em épocas do ano em que o clima favorece a proliferação desses organismos, ou seja, facilita o desenvolvimento da população resistente, podem agravar a situação (FURTADO, de PAIVA BELLO e RABELO, 2016). Os principais responsáveis pelo controle natural de organismos resistentes são aqueles organismos que se encontram nos solos. Conhecida como refugia, essa parcela de organismos

não sofre a ação dos fármacos que contaminam seu habitat, contribuindo para a proliferação dos organismos não resistentes (BUCHBERGER, 2011; VERCRUVSSE, LEVECKE e PRICHARD, 2012; FURTADO, de PAIVA BELLO e RABELO, 2016).

3.1.2 Legislação nacional e internacional

No Brasil, a presença de fármacos de uso humano e veterinário nos variados compartimentos ambientais ainda não é regulamentada. A portaria de consolidação nº 05/2017 do Ministério da Saúde estabelece condições para a qualidade da água para consumo humano. Tal portaria fixa limites máximos admissíveis na água potável para alguns metais, certas substâncias orgânicas e agrotóxicos, entre outras variáveis, mas não inclui os fármacos. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), por intermédio das resoluções 357/2005 e 430/2011, dispõe sobre a classificação de corpos hídricos, padrões de qualidade e de lançamento de efluentes, porém não faz referência a valores máximos permitidos para fármacos. Similarmente, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency*, USEPA) regulamenta a presença de contaminantes em água para consumo humano, mas também sem nenhuma menção aos fármacos (EPA, 2009; MONTAGNER, VIDAL e ACAYABA, 2017).

Nos Estados Unidos (EUA) e na União Europeia, foi implementada nos anos de 2012 e 2010, respectivamente, a avaliação de impacto ambiental (AIA) para fármacos, assunto que vinha sendo discutido desde a década 1990. A AIA, que passou a ser obrigatória para o lançamento de um novo fármaco, baseia-se nos valores da concentração ambiental prevista desses CPE (*Predict Environmental Concentration*, PEC) para tomada de decisão (EMA, 2000). A PEC pode ser estimada com base em uma série de dados, como o volume anual de vendas e a taxa de excreção do fármaco, o número de habitantes e o volume tratado pela estação de tratamento da região (EMA, 2000; PIVETTA, 2019).

A partir do valor da PEC, a AIA pode ser dividida em duas fases distintas. Na fase I, avalia-se a PEC daquele medicamento, por meio da estimativa de uso. Caso a PEC ultrapasse o valor de $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ de solo, o fármaco deve ser submetido à fase II (EMA, 2000). Durante a fase II, ensaios baseados em normas da OECD (e.g. sorção/dessorção em solos, bioacumulação, fotólise, hidrólise, dentre outros) avaliam o possível destino desses compostos no ambiente. Os ensaios também determinam se os possíveis efeitos nocivos são aceitáveis ou não, o que resulta na aprovação ou reprovação do fármaco (EMA, 2005).

3.1.3 Fármacos escolhidos para o presente estudo

3.1.3.1 Albendazol e Ricobendazol

Os medicamentos antiparasitários, como o ABZ, objetivam tratar doenças infecciosas provocadas por uma ampla gama de parasitas (e.g. helmintos, protozoários e artrópodes), de natureza interna (endoparasitas) ou externa (ectoparasitas) (PORTO, 2019). Na medicina veterinária, os principais usos dessas moléculas são: tratamentos terapêuticos, profiláticos, metafiláticos e como melhoradores de desempenho (KEMPER, 2008; MILIC et al. 2013). Somente no ano de 2017, no Brasil, o mercado de fármacos veterinários faturou R\$ 1,44 bilhão com os antiparasitários (SINDAN, 2017). Na saúde humana, os antiparasitários têm elevada importância no controle de doenças tropicais negligenciadas (e.g. parasitoses). Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, *World Health Organization*), as parasitoses afetam, atualmente, 1,5 bilhão de pessoas em todo mundo. Somente no ano de 2017, foi doado pela WHO 1,2 bilhão de comprimidos contendo ABZ ou mebendazol para o combate dessas doenças em escala global. Segundo Porto (2019), as vendas de ABZ nas farmácias brasileiras chegaram a R\$ 30,5 milhões em 2017.

Dentro da classe dos antiparasitários, encontram-se os benzimidazois, fármacos que são empregados tanto na pecuária quanto na aquicultura (DANAHER et al. 2007; DOS SANTOS et al. 2014). Os representantes mais efetivos dessa classe são o fenbendazol e o ABZ, devido às suas meias vidas *in vivo* mais extensas (DANAHER et al. 2007, CHASSING et al. 2008; DOMINGUES-ALVAREZ et al. 2013). O ABZ, mais especificamente, apresenta um grupo sulfeto susceptível à oxidação, o que propicia, devido a sua intensa metabolização no organismo dos mamíferos, a geração de metabólitos sulfóxidos ($R_2S=O$, em que R não é hidrogênio) e sulfona [$R-S(=O)(=O)-R'$, em que R e R' são radicais orgânicos], como o RBZ (albendazol sulfóxido ou ricobendazol) (DANAHER et al. 2007; PORTO, 2019) (Figura 2).

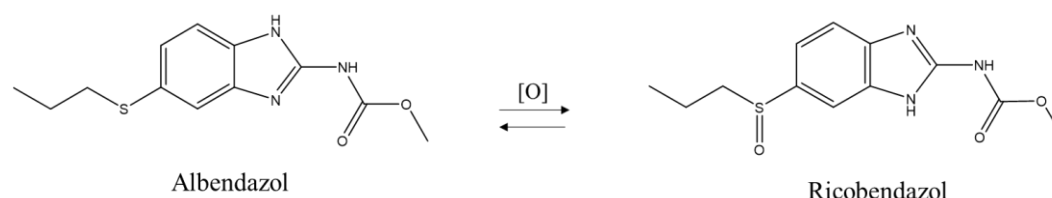


Figura 2: Oxidação do albendazol para o ricobendazol.

O ABZ apresenta efeitos relativamente conhecidos no funcionamento das células, como a inibição da succinato desidrogenase (SDH) e do transporte da glicose, que está associada à

síntese de adenosina trifosfato (ATP) (GAO et al. 2017). Este fármaco também inibe a glutationa S-transferase (GST), uma enzima de biotransformação da fase II⁴ do metabolismo excretor dos fármacos, que atua como catalisador da conjugação deste fármaco, auxiliando na sua excreção e mitigando os efeitos das espécies reativas de oxigênio (ROS) (GAO et al. 2017; AGUIRRE-MARTÍNEZ, DELVASS e MARTÍN-DIAZ).

O ABZ e o RBZ são moléculas levemente básicas e de baixa polaridade, com coeficientes de distribuição (log D) de 3,20 e 1,56, respectivamente (Tabela 3). O menor valor de log D do RBZ é justificado pelo processo de metabolização dos organismos, que tende a aumentar a polaridade do fármaco para facilitar a sua excreção (OGA, CAMARGO e BATISTUZZO, 2008). O ABZ, apesar de apresentar valores elevados de log D, pode ser lixiviado para os corpos hídricos devido a variações de pH do meio. Em pH menores que 6, o ABZ ocorre na forma catiônica, enquanto em pH maiores que 8, na forma aniônica. Isso ocorre devido à protonação do nitrogênio localizado no anel imidazol (JUNG et al. 1998) (Figura 3). O aumento de sua polaridade gera um incremento da solubilidade em água, o que facilita a entrada e a dispersão deste fármaco nos corpos hídricos (LIOU E CHEN, 2017).

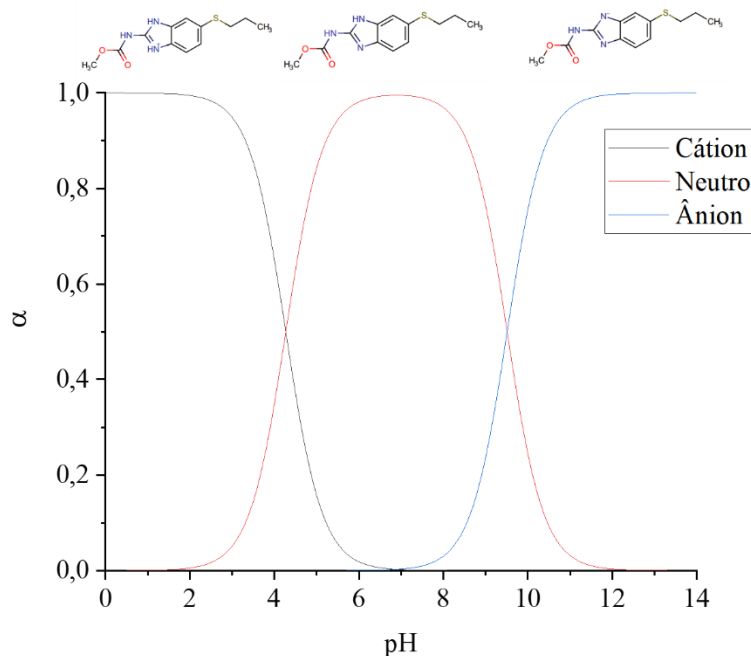


Figura 3: Especificação do albendazol em função do pH do meio.

A rápida conversão do ABZ em RBZ foi observada por Porto (2019) em ensaios laboratoriais, nos quais, em experimentos de ozonização, o autor observou que em apenas 1

⁴ Série de reações de adição de moléculas e/ou grupos químicos aos compostos formados na fase, visando, principalmente a sua inativação biológica, ou seja, reduzir a sua toxicidade (OGA, CAMARGO e BATISTUZZO, 2008).

min aproximadamente 80% do ABZ presente na amostra de esgoto foi oxidado a RBZ. Celiz, Tso e Aga (2009) discutiram que apesar da presença dos metabólitos no ambiente ser reconhecida, sua identificação é difícil. Os autores informam que, de um total de 160 fármacos, apenas 30 metabólitos foram ambientalmente monitorados e investigados na Europa e nos EUA. Em estudo realizado na Alemanha, os metabólitos da fenazona foram detectados em águas subterrâneas, apesar de serem removidos nas estações de tratamento de esgoto (REDDERSEN, HEBERER e DÜNNBIER, 2002). Na Suécia, Bendz et al. (2005) detectaram a presença de dois metabólitos do ibuprofeno (e.g. hidroxilado e carboxilado) na estação de tratamento de esgoto e no corpo receptor. Nalcz-Jawecki, Wojcik e Sawicki (2008) observaram que a toxicidade dos metabólitos do propranolol, em testes com células hepáticas de ratos, não diferiu significativamente da toxicidade do princípio ativo. Dessa forma, estudos que almejem a remoção e o monitoramento de metabólitos nas estações de tratamento e no ambiente, apesar de escassos, são de elevada importância (CELIZ, TSO e AGA, 2009).

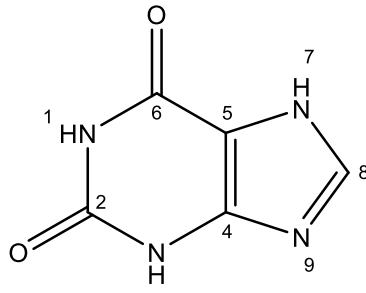
3.1.3.2 Cafeína

As metilxantinas, como a CAF, são compostos derivados da base nitrogenada purina, sendo encontradas naturalmente em mais de 60 espécies de plantas, sendo a mais conhecida a *Coffea sp* (cafeeiro) (ASHIHARA, SANO e CROZIERM, 2008). Esses compostos são classificados como pseudo-alcaloides (ou alcaloides purínicos), pelo fato de não serem sintetizadas a partir de aminoácidos (ASHIHARA, SANO e CROZIERM, 2008). De modo geral, as propriedades físico-químicas das metilxantinas variam de acordo com a posição dos grupos metílicos encontrados nos nitrogênios 1, 3 e 7 da xantina (Tabela 2). A CAF, por estar totalmente metilada nos nitrogênios 1, 3 e 7, possui solubilidade elevada (Tabela 3).

A CAF, o psicoativo mais consumido no mundo (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2013), pode ser encontrada em folhas de chá-verde (*Camilla sinensis*), cacau (*Theobroma cocoa*), guaraná (*Paullinia cupana*), no cafeeiro (*Coffea sp*), entre outras plantas (DE MARIA e MOREIRA, 2007), e pode ser produzida sinteticamente (PEELER, 2004). Ademais, a CAF pode ser encontrada em diversos alimentos, como café instantâneo (0,75 mg mL⁻¹), chá-preto (0,25 mg mL⁻¹), refrigerantes (80 µg mL⁻¹) e barra de chocolate meio amargo (0,87 mg g⁻¹) (CAMARGO, TOLEDO e FARAH, 1999), além de ser amplamente utilizada na composição de medicamentos, desde analgésicos até estimulantes (TAVARES e SAKATA, 2012), e em bebidas energéticas. No Brasil, o maior exportador de café dos últimos 150 anos (CAMPOS, 2016), estima-se que o consumo de café *per capita* seja de 5 kg ano⁻¹ (BERNARD, 2015). Pettefi et al. (2018) ressaltam que, como CAF apresenta elevada estabilidade química e

tempo de meia vida entre 3 dias e 3 meses nos corpos hídricos, este fármaco pode ser utilizado como um marcador para contaminação por esgoto doméstico.

Tabela 2: Identificação dos substituintes na estrutura geral das metilxantinas.

	Substituinte	Nome
		1 = 3 = 7 = CH ₃
	3 = 7 = CH ₃ ; 1 = H	Teobromina
	1 = 7 = CH ₃ ; 3 = H	Paraxantina
	1 = 3 = CH ₃ ; 7 = H	Teofilina
	1 = 3 = 7 = H	Xantina

Adaptado de SPILLER, 1997.

A CAF inibe a fosfodiesterase, enzima responsável pela clivagem da ligação fosfodiéster da adenosina monofosfato cíclica (cAMP), um bio-sinalizador responsável pela regulação das quinases proteicas dependentes do cAMP, responsáveis pela regulação dos níveis de glicogênio e açúcares no organismo, assim como no metabolismo lipídico. A inibição dessa enzima induz a liberação de epinefrina no sangue, devido ao fato da própria cAMP ser um mensageiro secundário para ação de determinadas moléculas regulatórias (DEREE et al. 2008).

Devido a sua característica anfótera, a CAF consegue atravessar a barreira hematoencefálica, penetrar a membrana celular e alcançar a região intra-neuronal. Nesta região, a CAF pode atuar de maneira antagônica aos receptores P1⁵ do organismo, além de estimular o bulbo cerebral, daí o seu efeito estimulante (FISONE, BORGKVIST e USIELLO, 2004). A CAF também pode inibir a peroxidação lipídica, causada pelo ROS, que gera danos oxidativos ao DNA. Ademais, este fármaco possui um efeito *scavenger*⁶ muito elevado sobre o radical hidroxila (OH^o), o que lhe confere seus efeitos antioxidantes (SHI, DALAL e JAIN, 1991; LEÓN-CARMONA E GALANO, 2011).

Em organismos aquáticos, já foi relatado que a CAF induz a produção da etoxirresorufina O-desetilase (EROD) e da dibenzilfluoresceína-desalquilase (DBF), enzimas

⁵ Reguladores do oxigênio mitocondrial, da pressão arterial e da liberação de neurotransmissores como dopamina e glutamato (LEÓN-CARMONA E GALANO, 2011).

⁶ Ocorre quando um antioxidante age de tal forma que transforma um radical livre em outro menos reativo. O efeito *quencher* ocorre quando o antioxidante consegue neutralizar totalmente o radical livre, absorvendo toda a sua energia de excitação (OGA, CAMARGO e BATISTUZZO, 2008).

do citocromo P450⁷ que fazem parte da fase I⁸ do metabolismo de desintoxicação de fármacos do organismo (AGUIRRE-MARTÍNEZ, DELVALLS e MARTÍN-DÍAZ, 2015). Os autores também reportaram que a CAF induz a produção de GST, da glutathione peroxidase (GPX) e redutase (GR), enzimas do sistema antioxidante. Todos os estudos foram realizados com o molusco *Corbicula fluminea*.

De acordo com Komori et al. (2013), a CAF apresenta uma Concentração Previsível Sem Efeito de 5,2 µg L⁻¹ para a proteção da vida aquática. Canela et al. (2014) revelaram um aumento na concentração de CAF em águas para consumo humano em 18 das 22 capitais brasileiras nos últimos anos. Como já foram relatadas concentrações de CAF na faixa de µg L⁻¹ em estações de tratamento de esgoto (Tabela 1), técnicas de remoção devem ser mais amplamente investigadas. Além disso, para expandir o entendimento dos efeitos deste fármaco nos ecossistemas, estudos com outros organismos aquáticos (e.g. microalgas) precisam ser realizados.

3.1.3.3 Carbamazepina

Os psicoativos, como a CBZ, são fármacos amplamente utilizados e que atuam no sistema nervoso central. Esta classe de fármacos está associada ao tratamento de transtornos e síndromes associadas à saúde mental (e.g. depressão, ansiedade e transtorno bipolar) que atingem, atualmente, mais de 360 milhões de pessoas no mundo (WHO, 2018). Como exemplos destes compostos, têm-se os inibidores de recaptção de serotonina (fluoxetina, escitalopram, sertralina, dentre outros), os antidepressivos tricíclicos (nortriptilina, amitriptilina e a desipramina), os benzodiazepínicos (alprazolam e clonazepam), os inibidores de monoamina oxidase (fenelzina e selegilina) e os inibidores da condutância do sódio/potássio (CBZ) (CLEARE e DUNCKO, 2016), e estes são classificados em: antidepressivos, ansiolíticos e anticonvulsivantes (GILMAN, 2015).

Os anticonvulsivantes são fármacos empregados também como estabilizadores de humor. No Brasil, no ano de 2018, foram vendidos aproximadamente 6,2 milhões de caixas de CBZ, o que representa um consumo aproximado de 37 t desse fármaco, resultando em um consumo *per capita* de 178 mg ano⁻¹. Zhang et al. (2012) estimaram um consumo *per capita* mundial de 125 mg ano⁻¹.

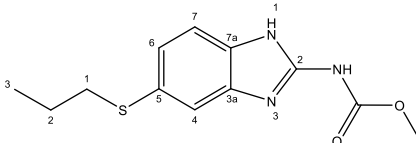
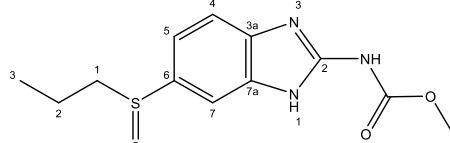
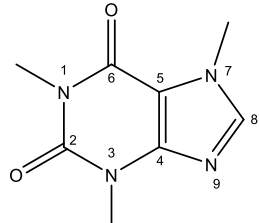
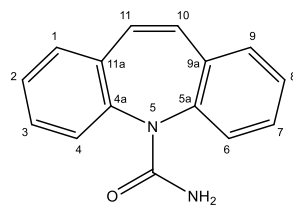
⁷ Uma superfamília ampla e diversificada de proteínas responsáveis por oxidar um grande número de compostos para torná-los mais polares e hidrossolúveis (OGA, CAMARGO e BATISTUZZO, 2008).

⁸ Série de reações (e.g. oxidação, redução ou hidrólise) conduzidas pelas enzimas do citocromo P450 e correspondem a primeira defesa intracelular contra compostos tóxicos (OGA, CAMARGO e BATISTUZZO, 2008).

A CBZ vem sendo encontrada em diversos compartimentos ambientais (Tabela 1) na faixa de ng L^{-1} , mesma faixa predita e observada por Pivetta (2019). Essa ocorrência provavelmente se deve às características recalcitrantes desses fármacos. Pivetta (2019) observou que a CBZ não foi removida nas estações de tratamento de esgoto utilizadas em uma cidade do interior de São Paulo (e.g. UASB + flotador, UASB + filtro biológico, UASB + câmara anóxica + filtro biológico, UASB + lodos ativados e UASB + membranas filtrantes). Clara, Strenn e Kreuzinger (2004) reforçaram as características recalcitrantes da CBZ e destacaram a necessidade do uso de processos avançados (e.g. ozonização e adsorção) para a remoção deste fármaco nas estações de tratamento.

O principal mecanismo de ação celular da CBZ é sobre os canais de sódio e potássio, bloqueando a excitabilidade da célula (RANG, DALE e RITTER, 1997). Em microalgas (e.g. *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella pyrenoidosa*), já foi relatado que a CBZ induz a ação das enzimas catalase e superóxido dismutase, primeira linha de defesa contra a ação da toxicidade relacionada à ROS (ZHANG et al. 2012). Aguirre-Martínez, Delvalls e Martín-Díaz (2015) relataram a indução da peroxidação lipídica, uma grave consequência da ROS nas células, em moluscos da espécie *Corbicula fluminea* pela CBZ. Dessa forma, estudos que visem avaliar os efeitos desse fármaco sobre outros organismos aquáticos, assim como tecnologias que visem a sua remoção nas estações de tratamento se mostram de elevada valia.

Tabela 3: Fórmula estrutural dos fármacos em estudo e algumas de suas características físico-químicas.

Propriedades	Albendazol	Ricobendazol	Cafeína	Carbamazepina
Estrutura química				
Chemical Abstract Service (CAS)	54965-21-8	54029-12-8	58-08-2	298-46-4
Massa Molar (g mol ⁻¹)	265,3	281,3	194,2	236,1
Volume Molar (cm ³ mol ⁻¹)	203,1	199,5	133,3	186,5
Solubilidade (g L ⁻¹)	0,010	0,062	21,700	0,152
Log Kow	2,92	0,94	-0,16	2,45
Log Koc	2,94	1,74	1,00	3,10
pKa	4,27 / 9,51	4,00 / 8,73	/ -1,16	/ 15,96
Fator de Bioconcentração ⁹	109,00	1,89	1,00	16,20
Carga	0,00	0,00	0,00	0,00
Log D	3,20	1,56	-0,55	2,77
Dimensões aproximadas (Å)	16,4 x 5,2 x 3,5	16,4 x 5,2 x 3,5	7,8 x 8,0 x 1,9	8,0 x 10,6 x 3,2

Fonte: Chemicalize (2020)

⁹ Indica o grau de afinidade de um poluente a organismos vivos (RAND, MCCARTY e WELLS, 1995). Para a estimativa do fator de bioconcentração para organismos aquáticos, pode ser usada a relação proposta por Isnard e Lambert (1988).

3.2 Métodos usualmente empregados para extração e determinação de fármacos em amostras ambientais

A intensificação de estudos a respeito da ocorrência de fármacos nas mais variadas matrizes ambientais impõe a necessidade do desenvolvimento de tecnologias cada vez mais sensíveis e eficazes para sua detecção e quantificação. Dessa forma, os estudos dependem de técnicas que permitam não apenas a extração dos analitos da matriz de interesse com eficiência e precisão, mas também a identificação inequívoca desses compostos, como por exemplo, os metabólitos e os produtos de degradação (PORTO, 2019).

A SPE, seja ela manual (*off-line*) ou em colunas acopladas a cromatógrafos líquidos modernos (*on-line*), permite não só a concentração de amostras, mas também o *clean-up*¹⁰ dos extratos amostrais. Além das SPE comumente utilizadas, podem-se empregar polímeros molecularmente impressos nas extrações. Ademais, técnicas como a microextração em fase sólida e a extração sortiva em barra de agitação também são passíveis de uso (BUCHBERGER, 2011; ZENKLER et al. 2014).

Em relação às técnicas de separação, a maioria dos estudos faz uso de sistemas cromatográficos líquidos, de alta ou ultra-alta eficiência, acoplados a detectores por espectrometria de massas (MS) e espectrometria em *tandem* (MS/MS) (Tabela 4). Entre os analisadores, o mais utilizado é o triplo quadrupolo (QqQ), que permite baixos limites de detecção em variadas matrizes (< 5 ng L⁻¹ com auxílio de SPE), além de possibilitar a quantificação dos analitos de maneira concomitante por meio do monitoramento de reação selecionada (*Selected Reaction Monitoring*, SRM). O SRM auxilia na elucidação de estruturas de metabólitos e produtos de degradação. A cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (GC-MS ou GC-MS/MS) é uma técnica com menor viabilidade do que a cromatografia líquida para a detecção de fármacos devido ao caráter polar e baixa volatilidade desses compostos. A GC-MS e a GC-MS/MS também apresentam limitações relacionadas à termoestabilidade dos fármacos, o que resulta na necessidade de derivatização de muitos analitos (BUCHBERGER, 2011; ZENKLER et al. 2014).

As técnicas de extração e quantificação dos fármacos ABZ, RBZ, CAF e CBZ mais frequentemente empregadas, assim como seus respectivos limites de quantificação (LOQ), estão apresentados na Tabela 4. A SPE é a técnica mais utilizada para extração e *clean up* de amostras. Independentemente da matriz, a quantificação dos fármacos é realizada majoritariamente por técnicas de cromatografia líquida, com preferência para a cromatografia

¹⁰ Refere-se ao isolamento dos analitos de interesse dos interferentes da matriz.

líquida de ultra eficiência (*Ultra-High Performance Liquid Chromatography*, UHPLC). Tais observações refletem uma modernização nas técnicas de separação em buscas de corridas mais rápidas e separações mais eficientes. A espectrometria de massas em *tandem* é o método de detecção mais usualmente empregado devido à possibilidade de alcançar LOQ mais baixos e a capacidade de identificar os analitos de interesse, mesmo em matrizes mais complexas (e.g. amostras ambientais).

Em relação ao LOQ, a maioria dos métodos de determinação desenvolvidos para a quantificação de amostras ambientais possui níveis de sensibilidade na faixa de ng L^{-1} , alguns chegando a pg L^{-1} . De maneira geral, para se atingirem LOQ tão baixos, são necessárias quantidades elevadas de amostras (e.g. 25 mL e 1000 mL). Isso decorre da necessidade de se concentrarem as amostras ambientais em cartuchos SPE, uma vez que os analitos de interesse estão presentes em baixas concentrações nessas matrizes (e.g. ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$). O uso do SPE *on-line* acoplado ao UHPLC-MS/MS pode atenuar esse fato. Tetzner e Rath (2018) e Porto (2019) atingiram LOQ compatíveis aos descritos na literatura para o SPE *off-line* (1 ng L^{-1}), contudo utilizaram volumes amostrais de apenas 250 μL e 200 μL , respectivamente, que foram injetados diretamente no sistema SPE-UHPLC-MS/MS (Tabela 4). Dessa forma, a automação do processo de concentração de amostras diminuiu o consumo de solvente e o tempo de análise, o que tornou a quantificação de fármacos mais prática e barata (PORTO, 2019).

Tabela 4: Limites de quantificação e métodos de extração e análise para fármacos em estudo no ambiente.

Fármaco	Matriz	LOQ (ng L ⁻¹)	Volume de amostra	Extração	Análise
Albendazol	Efluente hospitalar	10,5 – 13,1	25 - 50 mL	SPE	UHPLC-MS/MS ¹
	Água subterrânea e potável	3,6 -10,5	200 a 500 mL	SPE	UHPLC-MS/MS ²
	Águas superficiais	0,2	100 mL	SPE	UHPLC-MS/MS ³
	Águas superficiais	1,0	250 µL	SPE <i>on-line</i>	UHPLC-MS/MS ⁴
Ricobendazol	Água deionizada e efluente hospitalar	10,0	200 µL	SPE <i>on-line</i>	UHPLC-MS/MS ⁵
Cafeína	Águas potável	0,2	10 mL	SPE	ELISA- Espectrofotometria ⁶
	Águas superficiais	0,1	10 µL	SPE <i>on-line</i>	UHPLC-MS/MS ⁷
		50,0	1000 mL	SPE	HPLC-UV/DAD ⁸ HPLC-FL ⁸
Carbamazepina	Água superficial	144,0	100 mL	SPE	UHPLC-MS/MS ⁹
	Água superficial	3,8	500 mL	SPE	UHPLC-MS/MS ¹⁰
	Esgoto bruto e água superficial	50,0	50 – 100 mL	SPE	UHPLC-MS/MS ¹¹

CRUZ-MORATÓ et al. 2014¹; PETROVIC et al. 2014²; ZRNCIC et al. 2014³; TETZNER e RATH, 2018⁴; PORTO, 2019⁵; PRAVEENA et al. 2019⁶; CAMPANHA et al. 2015⁷; SODRÉ et al, 2007⁸; ARCHER et al. 2017⁹; DE SOUSA et al. 2018¹⁰; PETRIE et al. 2016¹¹.

3.3 Estudos ecotoxicológicos com fármacos

A toxicologia dedica-se a investigar a intoxicação sob todos os enfoques. A manifestação de efeitos danosos, seja o efeito clínico e/ou laboratorial, indica um estado patológico ocasionado pela interação entre um agente químico e um organismo (LARINI, 1993). Zagatto (2006) afirma que as análises químicas dos compostos, apesar de essenciais no processo de avaliação dos impactos ambientais (COSTA et al. 2008), não são suficientes, sendo necessário avaliar as diferentes formas de interação dos agentes tóxicos com os componentes do solo, da água e da biota.

O termo ecotoxicologia, uma subárea da toxicologia, surgiu em 1969, criado por René Truhalt. O próprio Truhalt definiu a ecotoxicologia como “um ramo da toxicologia relacionado ao estudo dos efeitos tóxicos, causados por poluentes naturais e sintéticos, aos constituintes dos ecossistemas, animais (incluindo humanos), vegetais e microbianos, em contexto integrado” (TRUHALT, 1997). Mais recentemente, Walker et al. (2012) definiram ecotoxicologia como:

“o estudo dos efeitos nocivos dos produtos químicos sobre os ecossistemas incluindo os efeitos sobre os indivíduos e os consequentes efeitos sobre os níveis das populações acima”.

Os testes ecotoxicológicos são bioensaios laboratoriais realizados em condições específicas e controladas. Por meio deles, é feita uma comparação entre os efeitos nos organismos-teste presentes nas amostras contendo os contaminantes (e.g. fármacos) com aqueles apresentados nas amostras de controle negativo, ou seja, sem a presença do contaminante (USEPA, 1992). Com o objetivo de garantir a reprodutibilidade, existem protocolos nacionais e internacionais que padronizaram os testes ecotoxicológicos por organismo-teste (OECD, 2004, 2011, 2012; ABNT, 2016, 2018). Podem ser empregados organismos de variadas espécies (e.g. de moluscos, artrópodes, macro ou microalgas), que são selecionadas de acordo com sua capacidade de apresentar respostas biológicas quando expostas a diferentes contaminantes, além da praticidade de cultivo e manutenção em laboratório (COSTA, 2007).

Os testes ecotoxicológicos podem ser divididos em dois grupos: agudos e crônicos, dependendo da relação entre o tempo de exposição e o ciclo de vida do organismo-teste. Os testes agudos consideram uma frequência de respostas dos organismos de uma mesma população, quando expostos a uma faixa de concentração definida de um composto que cause efeito letal ou inibição de crescimento por um curto período. Neste teste, comumente espera-se uma distribuição normal e uma curva dose-resposta de distribuição sigmoide. O teste de toxicidade crônica avalia parcial ou totalmente o ciclo de vida do organismo, ou seja, prevê exposições por longos períodos, observando-se diversificados *end-points* (e.g. sobrevivência, reprodução, crescimento, dentre outros). Neste caso, os resultados são avaliados por testes de hipótese, com o objetivo de observar as respostas significativamente diferentes daquelas observadas no controle. A exposição crônica dos organismos-teste aos contaminantes em concentrações subletais pode ocasionar, ainda, distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais (COSTA et al. 2008; ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008; SZYNKOWSKA e PAWLACZYK, 2014).

Os resultados dos testes ecotoxicológicos, na ecotoxicologia tradicional, são tratados usualmente a partir da relação dose-resposta, que pode ser expressa por uma curva que apresenta os efeitos (respostas) de um contaminante em relação ao aumento da dose do contaminante (HODGSON, 2004). A partir de cálculos estatísticos, é possível determinar a concentração que ocasiona a morte de 50% dos indivíduos (CL_{50}) ou a concentração de composto que induz metade da resposta máxima (EC_{50}).

Para avaliar a ecotoxicidade de fármacos, Fatta-Kassinos et al. (2011) enumeraram uma ampla variedade de organismos já utilizados, como algas e cianobactérias. As algas são organismos de grande relevância, uma vez que são produtores primários, possuem ciclo de vida curto e rápida reprodução, o que permite avaliar os efeitos de contaminantes sobre várias gerações (VIDOTTI E ROLLEMBERG, 2004; COSTA et al., 2008; MARQUES e AMÉRICO-PINHEIRO, 2017). As elevadas taxas de crescimento, a facilidade de manutenção em laboratório e a capacidade de crescimento em meios sintéticos também favorecem o seu uso em testes de ecotoxicidade (VIDOTTI e ROLLEMBER, 2004).

A microalga *R. subcapitata*, previamente conhecida como *Pseudokirchneriella subcapitata*, foi o organismo escolhido para a presente pesquisa. Trata-se de alga unicelular de água doce frequentemente empregada em testes ecotoxicológicos realizados pela USEPA (USEPA, 1994; MARQUES e AMÉRICO-PINHEIRO, 2017). Algumas pesquisas têm se dedicado a verificar os efeitos de fármacos sobre plantas e microalgas, entre elas a *R. subcapitata* (JOS et al. 2003; ZHANG et al. 2012; DING et al. 2019; MIAZEK e BROZEK-PLUSKA, 2019). Estudos têm sugerido que os fármacos, nas concentrações atualmente observadas no ambiente aquático, não apresentam toxicidade aguda sobre a biota aquática. No entanto, os efeitos crônicos desses compostos necessitam de maiores elucidações (ZHANG et al. 2012; MIAZEK e BROZEK-PLUSKA, 2019). Zhang et al. (2012) observaram, em testes ecotoxicológicos com a microalga *Chlorella pyrenoidosa* e a CBZ, que após 24h o EC₅₀ foi de 1339,4 mg L⁻¹. Porém, ao se aumentar o tempo de duração do teste para 30 dias, o EC₅₀ foi reduzido para 7 µg L⁻¹. Os mesmos autores observaram que para a microalga *Scenedesmus obliquus*, o EC₅₀ reduziu-se de 200,8 mg L⁻¹ para 0,8 µg L⁻¹ após 24h e 30 dias, respectivamente.

No meio ambiente, os organismos estão expostos a associações complexas de fármacos. Tais associações podem apresentar efeitos aditivos, potenciais, sinérgicos ou antagonísticos, ao serem comparadas às ações isoladas dos fármacos (YANG et al. 2008; KÜMMERER, 2008). Liu et al. (2018) destacaram que uma simples associação binária de sulfonamidas, tilosan, trimetofrem e/ou tetraciclina pode causar uma toxicidade conjunta, com efeitos distintos daqueles observados isoladamente. Yang et al. (2009) observaram que a associação entre trimetofrem e sulfonamidas causaram efeitos sinérgicos sobre a taxa de crescimento da microalga *R. subcapitata*. Os mesmos autores observaram que associações entre tilosina e triclocarban, triclocarban e norfloxacin e triclosan e norfloxacin apresentaram efeitos antagonísticos sobre o mesmo parâmetro da *R. subcapitata*.

3.4 Processos avançados para remoção de fármacos

As estações de tratamento de esgoto, seja ele doméstico ou industrial, apresentam limitada remoção de fármacos quando são empregadas as técnicas convencionais (LAPWORTH, 2012; MILIC et al. 2013; ZENKLER et al. 2014; PIVETTA, 2019). Dessa forma, técnicas avançadas de tratamento, como por exemplo, a ozonização, processos oxidativos avançados (POA), membranas e adsorção, vêm sendo estudadas (FERREIRA, 2011).

Os POA têm apresentado um elevado potencial para remoção de contaminantes de baixa concentração. Atualmente, quase a totalidade dos POA se baseia no uso do OH° como agente oxidante, uma vez que este radical possui um maior poder oxidativo do que agentes comumente empregados (e.g. cloro, permanganato de potássio e ozônio). A utilização desse radical diferencia os POA dos demais processos de oxidação (PARSONS, 2005).

Segundo Piaia (2017), os POA se classificam como um processo alternativo para remoção de poluentes nas mais diversificadas matrizes, e são passíveis de adaptação para os mais variados processos industriais, de maneira rápida e eficaz. Estes processos oxidativos são não seletivos e podem acarretar a formação de uma ampla gama de subprodutos, como por exemplo, aldeídos, cetonas e álcoois (FERREIRA, 2011), o que promove uma necessidade de estudos dos subprodutos formados, além de uma avaliação quanto à toxicidade do efluente (TERNES e JOSS, 2006).

Kim, Yamashita e Tanaka (2009) avaliaram a degradação da tetraciclina e da clortetraciclina em uma estação de tratamento de esgoto, com vazão de 7 L min^{-1} e tempo de detenção hidráulica (TDH) de 5 min, no Japão por POA. Os autores observaram que, após 5 min de exposição à radiação ultravioleta (2768 mJ cm^2), a concentração de clortetraciclina foi para abaixo do limite de detecção (LOD) do método cromatográfico ($0,41 \mu\text{g L}^{-1}$), enquanto apenas 15% de remoção foi alcançada para tetraciclina. Caianelo et al. (2016) reportaram 97% de eficiência na degradação de gatifloxacina, com concentração inicial de $500 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando fotoperoxidação (aplicação de $2,4 \text{ mmol L}^{-1}$ de H_2O_2 e irradiação de $\text{UV}_{254\text{nm}}$ por 20 min) como POA, em água deionizada, observando um aumento da toxicidade aguda (*Vibrio fischeri*) da solução em função da diminuição da concentração de gatifloxacina. Esses resultados evidenciam a possível formação de subprodutos, aumentando a toxicidade das soluções tratadas por POA.

A ozonização visa reduzir a cor e o odor em estações de tratamento de água, por meio da oxidação por ozônio (DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). Porto et al. (2019)

relatarem remoções maiores que 99% de ABZ, em testes de bancada, com taxa de alimentação de ozônio de $10,7 \text{ mg L}^{-1} \text{ min}^{-1}$, com efluente hospitalar fortificado com 50 ng L^{-1} do fármaco, em meio ácido. Os autores também observaram que após 1 min, cerca de 80% do ABZ foi convertido em seu produto de oxidação, o RBZ. De Witte et al. (2009) observaram eficiência de remoção de até 95% de ciprofloxacino, em testes com água deionizada, vazão de ozônio de 120 mL min^{-1} e concentrações iniciais entre $7,5$ e 45 mg L^{-1} . Vieno et al. (2007) alcançaram eficiência de 16% na remoção de ciprofloxacino, em planta piloto com vazão de 100 L h^{-1} , tempo de contato de 10 min e concentração de ozônio aplicada entre $1 - 1,3 \text{ mg L}^{-1}$ com concentrações iniciais de 21 ng L^{-1} .

As membranas são definidas como uma barreira que separa duas fases e que restringe, total ou parcialmente, o transporte de um ou vários compostos presentes nestas fases (HABERT, BORGES, e NOBREGA, 1997). Os processos envolvidos na remoção por membranas são conhecidos como: microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa (DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). Dolar et al. (2012) obtiveram remoções de 99,99% para ABZ, em testes com osmose reversa e nanofiltração em água deionizada, com concentrações iniciais de 1 mg L^{-1} , pressão de 8 bar e área da membrana de $10,75 \text{ cm}^2$. Kim et al. (2007) alcançaram, em planta piloto com vazão de $1 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$, concentrações iniciais de $9,7 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, remoções maiores que 99% de CAF, em testes com esgoto sanitário.

A adsorção por carvão ativado permite a remoção de contaminantes orgânicos e inorgânicos em baixas concentrações (DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). Aquino, Brandt e Chernicharo (2013) observaram que a sorção é o processo prevalente de remoção dos fármacos em estações de tratamento de esgoto, o que favorece o uso da adsorção por CA como técnica de tratamento avançado. Dessa forma, o processo de adsorção será mais detalhadamente abordado no item 3.4.1.

3.4.1 Adsorção

O processo de adsorção constitui-se em uma transferência de massa, na qual substâncias presentes em um fluxo ou em sistemas estáticos, seja ele líquido ou gasoso, acumulam-se na superfície de um sólido. A substância acumulada, ou seja, que sofre adsorção, é denominada adsorvato ou adsorbato, enquanto o sólido que a adsorve é o adsorvente (LETTERMAN, 1999). Durante o processo, as espécies dissolvidas concentram-se na superfície do sólido de duas formas: por reação química (quimissorção/adsorção química) ou atração física (fisissorção/adsorção física) (REYNOLDS e RICHARDS, 1996; DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). Durante o processo de adsorção estabelece-se um equilíbrio entre o

adsorvato e o adsorvente, o que torna possível a realização de cálculos envolvendo constantes de equilíbrio.

Durante o processo de adsorção os compostos vão se acumulando na superfície do adsorvente até que a adsorção seja igual a dessorção, alcançando-se o equilíbrio. O fenômeno de dessorção pode ocorrer devido a alterações nas concentrações de outros compostos presente na solução ou devido à diminuição na concentração do adsorvato no afluente.

A quimissorção é um processo exotérmico e raramente reversível, uma vez que se dá pela reação química entre o adsorvente e o adsorvato (REYNOLDS e RICHARDS, 1996; DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). A reação ocorre com a transferência de elétrons entre o adsorvente e o adsorvato, devido a uma ligação química com a superfície do sólido. Caso a dessorção aconteça, uma alteração química do adsorvato será observada (CRITTENDEN et al. 2012).

A fisissorção é um processo que forma uma única camada molecular adsorvida, e ocorre majoritariamente devido às forças de van der Waals (REYNOLDS e RICHARDS, 1996; DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). Neste caso, o processo de dessorção é mais comumente observado (NASCIMENTO et al. 2014) e ocorre, principalmente, pela diminuição da concentração da solução (CRITTENDEN et al. 2012). No entanto, nem todos os adsorvatos e adsorventes interagem da mesma maneira (DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). Dessa forma, diversos estudos envolvendo modelos matemáticos foram desenvolvidos ao longo dos anos para averiguar a capacidade adsorptivas dos adsorventes. Tais modelos estão relacionados às isotermas e à cinética de adsorção.

3.4.1.1 Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção auxiliam na estimativa da afinidade do adsorvato pelo adsorvente, a partir da descrição da quantidade de adsorvato que pode ser adsorvido em um adsorvente, no equilíbrio e a uma temperatura constante (CRITTENDEN et al. 2012). Entre os diversos modelos de isotermas já propostos, os de Langmuir e Freundlich são os mais comumente utilizados para ajustar os dados obtidos nos experimentos (NASCIMENTO et al. 2014; DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017) e os mais empregados em estudos de adsorção por vários autores (YU, PELDZSUS e HUCK, 2008; CRITTENDEN et al. 2012; RIGOBELLO, 2012; NAM et al. 2014; GALHETAS et al. 2014; SOTELO et al. 2014).

O modelo de Langmuir (Equação 1 – LANGMUIR, 1918) admite que a superfície do adsorvente é homogênea, com a formação de única camada (GHOSAL e GUPTA, 2017; DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). A isoterma baseia-se na existência de um número

definido de sítios, que comportam uma única molécula, e que essas moléculas não interagem umas com as outras (NASCIMENTO et al. 2014).

$$q_e = \frac{q_{e_{max}} * b * C_e}{1 + b * C_e} \quad \text{Equação 1}$$

Em que q_e é a quantidade adsorvida por unidade de adsorvente (mg g^{-1}), $q_{e_{max}}$ é a quantidade máxima de adsorção (mg g^{-1}), b é a constante de adsorção de Langmuir (L mg^{-1}) e C_e é a concentração do adsorvato no equilíbrio (mg L^{-1}).

A constante de adsorção de Langmuir (b) refere-se à energia de adsorção. A viabilidade do processo de adsorção pode ser avaliada por meio do fator de separação (R_L) (Tabela 5) (DAWOOD, SEN e PHAN, 2014). Esse fator é adimensional e pode ser obtido pela Equação 2 (HALL et al. 1966).

$$R_L = \frac{1}{1 + b * C_0} \quad \text{Equação 2}$$

Em que C_0 é a concentração inicial de adsorvato (mg L^{-1}).

Tabela 5: Comportamento da isoterma de adsorção conforme o fator de separação.

Fator de separação	Comportamento da isoterma de adsorção
$R_L > 1$	Desfavorável
$R_L = 1$	Linear
$0 < R_L < 1$	Favorável
$R_L = 0$	Irreversível

GEÇGEL, KOCABIYIK e ÜNER, 2015; STROOMER, WOODBURY e WILLIAMS, 2018.

O modelo de Freundlich (Equação 3), obtido a partir de uma correlação empírica, considera que a superfície do adsorvente é heterogênea, ocorrendo a formação de multicamadas (CRITTENDEN et al. 2012; GHOSAL e GUPTA, 2017). As constantes K_{ad} e $1/n$ indicam a capacidade e a intensidade de adsorção, respectivamente (PÉREZ-MARÍN et al. 2007).

$$q_e = K_{ad} * C_e^{\frac{1}{n}} \quad \text{Equação 3}$$

Em que q_e é quantidade adsorvida por unidade de adsorvente (mg g^{-1}), K_{ad} é a constante de adsorção de Freundlich (L mg^{-1}) e C_e é a concentração do adsorvato no equilíbrio (mg L^{-1}) e $1/n$ é a constante relacionada à heterogeneidade da superfície.

Segundo Nascimento et al. (2014), uma adsorção favorável comumente apresenta valores de $1/n$ entre 0,1 e 1. Dessa forma, quanto maior o valor de n , mais forte será a interação entre o adsorvato e o adsorvente, ou seja, menor será o valor de $1/n$. Caso o valor de n seja igual a 1, o adsorvente apresentará estrutura homogênea. Para o adsorvente apresentar estrutura

heterogênea e com ampla distribuição dos sítios de adsorção, o valor de n deve ser maior que 1, ou seja, $1/n$ deve ser menor que 1 (NASCIMENTO et al. 2014).

3.4.1.2 Cinética de adsorção

Os parâmetros dos modelos cinéticos de adsorção permitem, além da otimização das estações de tratamento, a expressão da dependência entre as propriedades da superfície do adsorvente e os resultados de sorção e a determinação das capacidades adsorptivas, o que possibilita um dimensionamento mais eficiente dos sistemas de adsorção (HO, WASE e FORSTER, 1996). Entre os modelos cinéticos desenvolvidos, os modelos de pseudo primeira ordem e pseudo segunda ordem são os mais utilizados (MOUSSOUT et al. 2018). No entanto, diversos outros modelos foram desenvolvidos, como pseudo n ordem, Elovich, Crank, Boyd, Bangham, e Weber e Moris (QIU et al. 2009; NASCIMENTO et al. 2014; LIMA, ABEBAYO e MACHADO, 2015; LARGITTE e PASQUIER, 2016).

O modelo de pseudo primeira ordem foi apresentado por Lagergren (1898) para descrever o processo cinético de adsorção em sistema líquido-sólido, baseando-se na capacidade adsorptiva dos sólidos. Qiu et al. (2009) destacaram que esse modelo foi o primeiro a relacionar a taxa de adsorção com a capacidade de adsorção. O modelo de pseudo segunda ordem (HO e McKAY, 1999), além de ser baseado na capacidade adsorptiva do adsorvente (LARGITTE e PASQUIER, 2016), assume que a distribuição e/ou a troca de elétrons entre o adsorvato e o adsorvente é o parâmetro limitante do processo de adsorção (QIU et al. 2009).

O modelo de Elovich, estabelecido para descrever a cinética para adsorções químicas, tem sido aplicado de forma satisfatória para parametrizar alguns processos de quimissorção que englobam uma ampla gama de taxas de adsorção lentas, além de ser frequentemente válido para sistemas em que a superfície do adsorvente é heterogênea (PÉREZ-MARÍN et al. 2007; VAGHETTI et al. 2009). O modelo de Weber e Morris considera que, caso a difusão intrapartícula seja o fator determinante da velocidade de adsorção, a remoção do adsorvato variará de acordo com a raiz quadrada do tempo (NASCIMENTO et al. 2014). Dessa forma, a taxa de adsorção pode ser limitada pelos seguintes fatores: concentração e tamanho do adsorvato, dos poros do adsorvente, afinidade adsorvato-adsorvente e grau de mistura (LORENC-GRABOWSKA e RUTKOWSKI, 2014). A Tabela 6 sintetiza as equações utilizadas para se realizarem os ajustes e se obterem os parâmetros referentes a cada modelo.

Tabela 6: Síntese dos modelos cinéticos de adsorção.

Modelo cinético	Equação
Pseudo primeira ordem	$\log(q_e - q_t) = \log(q_e) - \frac{k_1}{2,303} t$ (4)
Pseudo segunda ordem	$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}$ (5)
Elovich	$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha \beta) - \frac{1}{\beta} \ln(t)$ (6)
Weber Morris	$q_t = k_i t^{0,5} + C$ (7)

q_e e q_t são as quantidades adsorvidas por unidade de adsorvente no equilíbrio e no tempo t , respectivamente (mg g^{-1}); t é o tempo de contato (min); k_1 é a constante de taxa de adsorção de pseudo primeira ordem (min^{-1}); k_2 é a constante de taxa de adsorção de pseudo segunda ordem (min^{-1}); α é a taxa de adsorção inicial ($\text{mg g}^{-1}\text{min}^{-1}$), β é a constante de desorção (mg g^{-1}); k_i é a constante de difusão intrapartícula ($\text{mg g}^{-1}\text{min}^{-0,5}$), C é a constante relacionada com a resistência à difusão (mg g^{-1}).

4. MATERIAL E METÓDOS

4.1 Método analítico SPE-UHPLC-MS/MS para quantificação dos fármacos

As etapas de desenvolvimento do método analítico, assim como a quantificação dos fármacos, foram realizadas graças à parceria com o Laboratório Paracelsus, do Instituto de Química, da Universidade Estadual de Campinas. O laboratório está sob a coordenação da Prof^a Dr^a Susanne Rath.

4.1.1 Materiais e equipamentos

Os padrões analíticos de ABZ ($\geq 98\%$), CAF (Reagent plus, $\geq 98\%$), RBZ ($\geq 98\%$), albandazol deuterado (ABZ-d3) (99,3 %), cafeína deuterada (CAF-d3) (99%) e carbamazepina deuterada (CBZ-d10) (99%) foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich (EUA). A CBZ ($\geq 98\%$) foi adquirida da empresa Toronto Research Chemicals (Canadá).

As soluções-estoques dos analitos (CAF, CBZ e RBZ) e dos padrões internos (CAF-d3 e CBZ-d10) foram preparadas em MeOH na concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$. As soluções-estoques do ABZ e do ABZ-d3 foram preparadas em N,N-Dimetilformamida (DMF) na concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A DMF grau P.A., o metanol (MeOH) grau HPLC, a acetonitrila grau HPLC e o ácido fórmico (p.a) foram adquiridos da Synth (Brasil), da J.T. Baker (EUA), da Sigma-Aldrich (EUA) e da Merck KgaA, (Alemanha), respectivamente.

Os equipamentos utilizados ao longo da pesquisa foram:

I – Cromatógrafo líquido de ultra eficiência ACQUITY (Waters, EUA), equipado com sistema de bombeamento binário, sistema de injeção automático, acoplado a um detector de

espectrometria de massas triplo quadrupolo Xevo TQD (Waters, EUA), com interface de ionização por eletronebulização (ESI, *electrospray ionization*). A aquisição dos dados foi realizada pelo programa computacional MassLynx (Waters, EUA).

II – Coluna cromatográfica Cortecs® UPLC® C18+ (3 mm x 100 mm, 1,6 µm) (Waters, EUA).

III – Coluna SPE on-line Xbridge® C8 Direct Connect HP (2,1 mm × 30 mm, 10 µm) (Waters, EUA).

4.1.2 Otimização das condições do espectrômetro de massas

Para cada um dos analitos, foram selecionados e otimizados os seguintes parâmetros: íon precursor e íons produto (m/z), *dwel time* (s), voltagem do cone (V), energia de colisão (V), modo de ionização (positivo ou negativo), voltagem do capilar (kV), temperatura (°C) e vazão ($L h^{-1}$) do gás de dessolvatação e vazão de gás no cone ($L h^{-1}$). Para tanto, foi empregado o sistema de infusão direta da amostra no espectrômetro de massas (MS/MS). Foram preparadas soluções de trabalho individuais de cada analito na concentração de $1,0 \mu g mL^{-1}$ em MeOH. As amostras foram introduzidas no detector a uma vazão de $1,0 mL min^{-1}$ em modo combinado. Neste modo, os analitos são misturados à fase móvel (MeOH:água [50:50 em volume]) previamente à sua ionização. O modo de varredura empregado, tanto para a otimização dos parâmetros, quanto para as análises, foi o SRM.

4.1.3 O sistema SPE-UHPLC-MS/MS

O SPE *on-line* acoplado ao UHPLC-MS/MS consiste em um injetor automático, um gerenciador de colunas, uma bomba quaternária (BQ) para realizar o processo de extração, uma bomba binária (BB) para a separação cromatográfica e um detector de massas do tipo triplo quadrupolo (Figura 4). A eluição dos analitos da coluna de SPE foi realizada com a fase móvel cromatográfica e a separação dos fármacos aconteceu na coluna analítica.

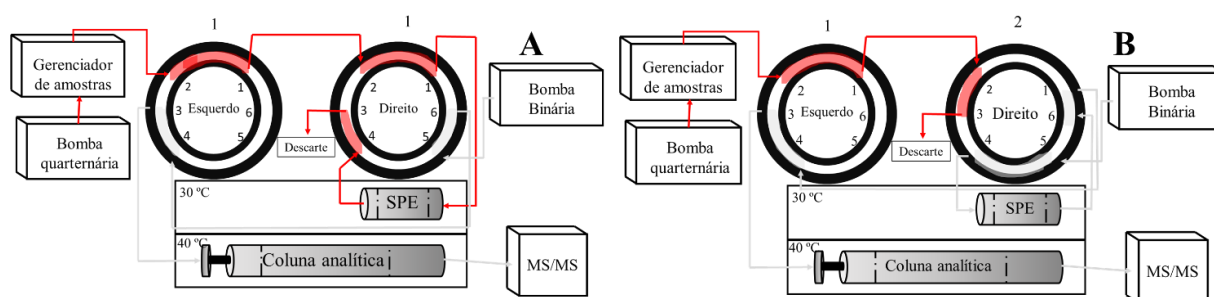


Figura 4: Esquema do posicionamento das válvulas do sistema SPE on-line para o carregamento e eluição dos analitos nas colunas de SPE e analítica. A – Carregamento do SPE; B – Eluição para coluna analítica. Adaptado de Tetzner et al. (2016).

Para o funcionamento do sistema SPE *on-line*, a BQ é utilizada para carregar a amostra na coluna SPE e efetuar sua lavagem, enquanto a BB é aplicada para a eluição dos analitos da coluna analítica para a subsequente detecção no espectrômetro de massas. O sistema é controlado por duas válvulas (esquerda e direita), e a mudança nas posições das válvulas faz com que o solvente seja encaminhado para a coluna SPE ou para a coluna analítica.

O carregamento da coluna ocorre quando ambas as válvulas estão na posição 1. Ao se modificar a válvula da direita para a posição 2, o direcionamento dos analitos para a coluna analítica ocorre por *back-flush*¹¹. O funcionamento do sistema ocorre com a introdução de um volume de amostra no solvente de carregamento (solvente A e B da BQ) pelo injetor do sistema de UHPLC, com as válvulas na posição 1-1. Após determinado tempo, as válvulas são alteradas para a posição 1 (esquerda) e 2 (direita), na qual os analitos retidos no solvente são encaminhados para a coluna analítica pelo solvente proveniente da BB. Por fim, enquanto ocorre a separação cromatográfica, as válvulas retornam à posição 1-1 para a limpeza e condicionamento da coluna SPE com a fase de carregamento (solvente A e B da BQ), de modo a realizar a próxima extração.

4.1.4 Condições cromatográficas

A quantificação dos analitos de interesse foi realizada por SPE-UHPLC-MS/MS com coluna analítica Cortecs® UPLC® C18+ (3 mm x 100 mm, 1,6 µm) e coluna de SPE *on-line* XBridge C8 Direct Connect HP (2,1 x 30 mm, 10 µm). Para as análises, 2 µL de amostra foram carregados no sistema de SPE *on-line* com 0,95 mL de solvente de carregamento constituído de uma mistura água:MeOH (95:5 em volume) com vazão de 0,950 mL min⁻¹. Os analitos foram eluídos da coluna de SPE com uma fase móvel constituída de uma mistura de água:MeOH (30:70 em volume) com 0,1% (em volume) de ácido fórmico. Todos os padrões internos foram empregados na concentração de 100 µg L⁻¹.

4.1.5 Validação do método analítico

O método analítico foi avaliado de acordo com os seguintes parâmetros: faixa linear, linearidade, precisão (intra-dia e inter-dia), exatidão, LOQ e LOD. A faixa linear foi determinada por meio de curvas analíticas cobrindo uma faixa de concentrações de 5 a 300 µg L⁻¹ para todos os analitos. Todos os pontos da curva (5, 25, 50, 75, 100, 200 e 300 µg L⁻¹) foram preparados e analisados em triplicata. ABZ-d3, CAF-d3 e CBZ-d10 foram utilizados como

¹¹ Eluição do analito sorvido na coluna SPE por fluxo contrário aquele utilizado para o carregamento da amostra (PAN et al. 2014)

padrões internos nas concentrações de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. A equação e a linearidade de cada curva foram obtidas por meio do método dos mínimos quadrados ordinários, uma vez confirmada a homocedasticidade das variâncias pelo teste de Levene. A precisão foi avaliada por meio do cálculo do coeficiente de variação da concentração de amostras de água ultrapura fortificadas em dois níveis de concentração (25 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$). Para a precisão intra-dia, três amostras fortificadas em cada nível foram preparadas e analisadas no mesmo dia. Para a precisão inter-dia, um conjunto de outras nove amostras foram preparadas e analisadas em três dias diferentes (três amostras para cada dia).

A exatidão, também determinada em dois níveis (25 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$), foi obtida por meio de um ensaio de recuperação com cinco amostras fortificadas e expressa como a razão percentual entre a concentração experimental média obtida pela equação da curva analítica e a concentração teórica das amostras analisadas. O LOQ foi determinado pela análise de amostras de água ultrapura fortificadas com concentrações decrescentes dos analitos de interesse até que a relação sinal-ruído obtida no cromatograma fosse igual a 10. O LOD foi determinado da mesma forma como o LOQ, no entanto, considerando-se uma relação sinal-ruído igual a 3 (COLLINS, BRAGA e BONATO, 2017).

4.2. Testes ecotoxicológicos com *Raphidocelis subcapitata*

4.2.1 Determinação do crescimento da microalga

A microalga *R. Subcapitata* foi cultivada em meio LC Oligo (Anexo 1), de acordo com as especificações descritas por ABNT (2018), em tubos Pyrex® nº 9825. O teste de crescimento foi realizado em triplicata, a temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, intensidade luminosa de 4500 lux, fotoperíodo de 24h-0h (claro-escuro), e agitação manual três vezes ao dia, durante 16 dias. Os tubos foram analisados todos os dias, em espectrofotômetro Hach DR/4000V, em comprimento de onda 680 nm (KASAI; TAKAMURA & HATAKEYAMA, 1993; MA et al. 2006), para se identificarem as fases de crescimento por meio das intensidades de absorvância. A montagem do teste ocorreu em capela de fluxo laminar, previamente limpa com álcool 70%. Anteriormente ao teste, as microalgas foram aclimatadas às condições descritas por período de 20 dias, para que o período de adaptação não influenciasse nos resultados obtidos.

Inicialmente, foram preparados 27 tubos Pyrex® nº 9825 contendo 18 mL de meio LC Oligo (anexo 1) e 2 mL de cultivo de *R. subcapitata* aclimatada às condições experimentais. Os tubos foram analisados por espectrofotômetro Hach DR/4000V, em comprimento de onda 680 nm, nos dias 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 e 16, sendo três tubos (triplicata) analisados por dia. Após a leitura, 2 mL de cada tubo analisado foram fixados com solução de lugol acético 1% (em

volume) para posterior determinação das densidades celulares (cel. mL⁻¹) em microscópio Olympus BX51 (aumento de 400x), com auxílio de câmara Fuchs-Rosenthal (MANSANO, 2016). Assim, foi possível estimar uma equação linear para se determinar a densidade celular da *R. subcapitata* a partir das leituras de intensidade de absorvância.

4.2.2 Condições de exposição da microalga

A solução estoque do ABZ (1000 µg mL⁻¹) foi preparada em DMF. As soluções da CAF e CBZ foram preparadas em MeOH, ambas na concentração de 1000 µg mL⁻¹. As soluções intermediárias foram preparadas em MeOH na concentração de 100 mg L⁻¹. As concentrações finais de DMF e MeOH na solução teste não ultrapassaram 0,05% (em volume) e 0,5% (em volume), respectivamente.

Os testes de ecotoxicidade com a *R. subcapitata* foram realizados de acordo com os parâmetros de cultivo descritos na NBR 15088 (ABNT, 2018), com duração de 16 dias. A Tabela 7 apresenta uma síntese das concentrações dos fármacos utilizadas nos testes.

Tabela 7: Concentração dos fármacos utilizada nos testes ecotoxicológicos isolados e em associações.

Teste Ecotoxicológico	Fármaco	Concentração (µg L ⁻¹)
1	Albendazol	1, 5, 10, 50, 100, 500
2	Carbamazepina	15, 25, 50, 100, 500, 100
3	Cafeína	1, 5, 10, 50, 100, 500
4	Albendazol	50
	Cafeína	1, 5, 10, 50, 100, 500
5	Carbamazepina	50
	Cafeína	1, 5, 10, 50, 100, 500
6	Controle	-

Os testes foram realizados em tubos Pyrex® n° 9825 contendo uma solução de 18 mL de meio LC Oligo (anexo 1), o fármaco de interesse e 2 mL de cultivo de *R. subcapitata* aclimatada às condições experimentais por 20 dias. Visto que os solventes DMF e MeOH não apresentam toxicidade para microalga nas concentrações 0,05% (em volume) e 0,5% (em volume), respectivamente, não foi necessário realizar controle com eles (CHO et al. 2008). Dessa forma, o grupo controle continha apenas o meio LC Oligo e a microalga. Três réplicas foram usadas para cada concentração avaliada e o teste como um todo foi replicado três vezes. Testes de ecotoxicidade com a substância de referência cloreto de sódio (0,5, 1,5, 3,0, 5,0 e 7,0 g L⁻¹) (NaCl, ≥ 99%, Synth-Brasil) foram realizados para avaliar as condições fisiológicas dos organismos e para validar os ensaios (MANSANO, 2016).

Durante o ensaio, as intensidades de absorvância foram lidas diariamente em espectrofotômetro (680 nm), e as densidades celulares foram obtidas a partir da curva analítica

pré-determinada. Posteriormente, para a determinação das características de crescimento (e.g. concentração máxima, lag-time e velocidade máxima de crescimento), os dados de densidade celular foram normalizados por logaritmos naturais, plotados em função do tempo e ajustados ao modelo de Gompertz modificado (Equação 8) (ZWIETERING et al., 1990). Ao final do 16º dia, 5 mL de cada tubo foram filtrados em membrana GF-3 (0,45 µm) para determinação de clorofila-a, segundo metodologia de Nusch (1980).

$$Y = A e^{-\exp \frac{\mu_{\max} \exp}{A} (\lambda - t) + 1} \quad \text{Equação 8}$$

Em que A é densidade celular máxima [ln (cel. mL⁻¹)], μ_{\max} é a velocidade máxima de crescimento (dia⁻¹), λ é o lag-time e t é o tempo (dia).

4.2.3 Teste de estabilidade dos fármacos

Para avaliar a estabilidade dos fármacos (ABZ, CAF e CBZ) sob as condições do teste de ecotoxicidade (e.g. fotoperíodo de 24h-0h, intensidade luminosa de 4500 lux, temperatura de 25 ±2 °C e agitação manual três vezes ao dia, durante 16 dias), foram preparados 20 mL de soluções de 500 µg L⁻¹ de ABZ, CBZ e CAF, e soluções contendo 500 µg L⁻¹ de ABZ + 50 µg L⁻¹ de CAF e 500 µg L⁻¹ de CBZ + 50 µg L⁻¹ de CAF, em água deionizada. Os tubos foram colocados em câmara climática Marconi MA 835/UR e analisados por SPE-UHPLC-MS/MS a cada quatro dias. O experimento foi realizado em duplicata.

4.2.4 Análise dos dados

A análise de variância (ANOVA) *one way* foi aplicada para avaliar as diferenças entre os tratamentos realizados e o controle, considerando-se um nível de confiança de 95% (p < 0,05). Quando a análise indicou diferença significativa (p < 0,05) entre os resultados obtidos para cada parâmetro analisado (e.g. crescimento relativo, clorofila-a, concentração máxima, lag-time e velocidade de crescimento) e o controle, acrescentou-se o teste post-hoc de Tukey HSD (*Honestly significant difference*). Desse modo, foi possível avaliar a concentração dos fármacos e, ainda, comparar os efeitos dos diferentes fármacos e associações entre si. Os testes foram realizados por meio do software *Statistica*®.

Os valores de EC₅₀ dos testes de ecotoxicidade foram calculados para os parâmetros de crescimento relativo, clorofila-a e concentração máxima, por meio de uma equação linearizada de dose-resposta (ZHANG et al. 2012). Os cálculos foram realizados por meio da relação dose-resposta e ajustado por logaritmo naturais com auxílio do software *Origin*®.

4.3 Estudo da adsorção em carvão ativado

4.3.1 Materiais e soluções

As soluções estoque da CAF, CBZ e RBZ foram preparadas em MeOH, na concentração de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As soluções intermediárias foram preparadas em MeOH na concentração de 100 mg L^{-1} . A concentração final de MeOH na solução teste não ultrapassou 0,5% (em volume), de modo que a sua interferência no processo de adsorção do CA pode ser desconsiderada (FUKUHARA et al. 2006).

Para esta pesquisa, foram selecionados dois CA provenientes de matérias-primas e características distintas (Tabela 8). Ambos os carvões foram produzidos a partir da ativação por vapor de água a elevadas temperaturas (ARAÚJO, 2017). Os valores de área superficial específica, porcentagem de microporos e formatos dos poros foram obtidos por Araújo (2017).

Tabela 8: Características físicas dos carvões ativados utilizados nesta pesquisa.

Carvão	Estrutura/ Matéria- Prima	Granulometria		Área superficial específica ($\text{m}^2 \text{g}^{-1}$)	Relação entre volume de microporos e volume total de poros (%)	Formato dos poros
		mesh	mm			
CAG	Granular /Casca de coco	12x25	1,68 x 0,707	938,0	88,3	Fenda
CAP	Pó/ <i>Pinnus</i> <i>sp</i>	< 325	< 0,044	985,9	56,7	Cilíndrico

Microporoso (< 2 nm); Mesoporoso (2 – 50 nm); Macroporoso (> 50 nm).

Os procedimentos experimentais para avaliação da capacidade adsortiva dos carvões seguiram as recomendações das normas ASTM (*American Society for testing and Materials*) D 3860/2014 e JIS (*Japanese Industrial Standard*) K 1474/2014.

Para a confecção das isotermas, o CAG foi previamente lavado com água deionizada, triturado em Moinho de Facas Solab tipo Willey (SL-31) e peneirado no agitador de Peneiras Eletromecânico Solotest. Para o experimento, utilizou-se apenas a parcela passante pela peneira ABNT 48 (abertura de 300 μm). O CAP foi previamente lavado com água deionizada. Ambos os CA foram secos em estufa a $150 \pm 5^\circ\text{C}$ por 3 h antes de serem pesados para execução do experimento.

4.3.2. Isotermas de adsorção

A água de estudo para os experimentos foi preparada a partir da solução intermediária (100 mg L^{-1}), que foi diluída até atingir concentrações próximas a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Foram avaliadas

as adsorções dos fármacos isolados (e.g. RBZ, CAF e CBZ) e as associações entre RBZ + CAF e CBZ + CAF.

Os experimentos foram realizados em erlenmeyers de 250 mL, contendo um volume de 100 mL, sob agitação constante de 200 rpm em mesa agitadora Ethik®, e temperatura do meio líquido de $24,4 \pm 0,6$ °C.

Inicialmente, para a definição do tempo de equilíbrio, foram avaliados os tempos de 15, 30, 60, 90 e 120 min, com dosagem inicial de CA de 25 mg L^{-1} . Definido o tempo de equilíbrio, variou-se a dosagem de CA em: 10, 20, 25, 40, 60, 80 e 100 mg L^{-1} . Para ambos os experimentos, as amostras foram filtradas em filtro de seringa de PVDF ($0,22 \mu\text{m}$), e 0,8 mL foi transferido para um vial âmbar. Posteriormente, foi acrescentado 0,2 mL de solução de padrão deuterado (ABZ-d3, CAF-d3 e CBZ-d10), de modo que a concentração final do padrão deuterado fosse de $100 \mu\text{g L}^{-1}$. As amostras foram analisadas pelo sistema SPE-UHPLC-MS/MS.

A capacidade adsortiva dos carvões foi determinada a partir da confecção de isotermas de adsorção de acordo com os modelos de Langmuir e Freundlich. Foram avaliados os parâmetros de cada modelo, assim como o coeficiente de determinação (R^2).

4.3.3 Cinética de adsorção

Ao longo dos ensaios, foram avaliados os tempos de 15, 30, 60, 90 e 120 min. A concentração inicial dos fármacos foi de aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$ e optou-se por utilizar 25 mg L^{-1} de CA, mesma concentração utilizada para os ensaios de tempo de equilíbrio. O experimento foi realizado em triplicata, em erlenmeyers de 250 mL mantidos vedados e sob agitação constante de 200 rpm a uma temperatura do meio líquido de $24,4 \pm 0,6$ °C. As amostras foram filtradas em filtro de seringa PVDF ($0,22 \mu\text{m}$) e analisadas por SPE-UHPLC-MS/MS.

A cinética do processo de adsorção dos CA foi avaliada pelo ajuste dos modelos de pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem, Elovich e Weber e Morris aos dados experimentais. Dessa forma, a partir dos valores de R^2 , foi possível inferir quais modelos melhor se ajustaram aos dados experimentais, com auxílio do software Origin®.

4.3.4 Pré-dimensionamento das unidades de carvão de ativado

De acordo com Di Bernardo, Dantas e Voltan (2017), é possível obter os parâmetros de dimensionamento de colunas de CAG a partir dos coeficientes da isoterma de Freundlich do composto a ser removido. Desta forma, foram calculados a área da coluna e a massa de CAG, a taxa de uso do CAG e a taxa volumétrica para diferentes porcentagens de remoção dos

fármacos (20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%). Todos esses parâmetros estão relacionados com a eficiência de remoção que se deseja obter para o contaminante e com a taxa de aplicação superficial (TAS) empregada. Portanto, ao fixar essas variáveis, foi possível obter as demais. Os cálculos consideraram as Equações 9, 10, 11 e 12:

$$C_e = C_0 - \frac{Ef}{100} * C_0 \quad \text{Equação 9}$$

$$q_e = K_{ad} * C_e^{1/n} \quad \text{Equação 10}$$

$$TU = \frac{C_0 - C_e}{q_e} \quad \text{Equação 11}$$

$$TV = \frac{q_e * \rho_{CAG}}{C_0 - C_e} \quad \text{Equação 12}$$

Em que C_e é a concentração de equilíbrio (mg L^{-1}), C_0 é a concentração inicial (mg L^{-1}), Ef é a remoção desejada (%), q_e é a capacidade adsortiva do carvão (mg g^{-1}), TU é a taxa de uso do CAG ($\text{mgCAG L\acute{a}gua}^{-1}$), TV é a taxa volumétrica ($\text{L\acute{a}gua LCAG}^{-1}$) e ρ_{CAG} é a densidade do CAG (g L^{-1}).

A partir das Equações 13, 14 e 15, e assumindo-se o tempo de regeneração do CAG (e.g. 2 anos, DI BERNARDO, DANTAS E VOLTAN, 2017), calculou-se o volume de água que passará pela coluna nesse tempo e a massa de CAG necessária.

$$V_{\acute{a}gua} = Q * 365 \frac{\text{dias}}{\text{ano}} * t \quad \text{Equação 13}$$

$$V_{CAG} = \frac{V_{\acute{a}gua}}{TV} \quad \text{Equação 14}$$

$$M_{CAG} = \rho_{CAG} * V_{CAG} * 10^{-3} \quad \text{Equação 15}$$

Em que $V_{\acute{a}gua}$ é o volume de água que passa pela coluna (L), Q é a vazão (L dia^{-1}), t é o tempo de regeneração (anos), V_{CAG} é o volume de CAG (L_{CAG}) e M_{CAG} é a massa de CAG (kg).

Assumindo a TAS ($180 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$, DI BERNARDO, DANTAS E VOLTAN, 2017), e a partir dos resultados obtidos, foi possível calcular a área e a altura da coluna em planta (Equações 16 e 17).

$$ACP = \frac{Q}{TAS} * 1000 \quad \text{Equação 16}$$

$$h = \frac{M_{CAG}}{\rho_{CAG} * ACP} \quad \text{Equação 17}$$

Em que ACP é a área da coluna em planta (m^2), Q é a vazão (L dia^{-1}), TAS ($\text{m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$) e h é a altura da coluna (m).

Posteriormente, para se avaliar a resposta dos parâmetros massa de CAG e ACP aos parâmetros de dimensionamento (e.g. vazão e TAS), definiu-se a remoção de fármaco desejada como 90% e variou-se a vazão (0,01, 0,1, 0,5, 1, 10, 100 e $1000 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$) e a TAS (100, 150,

200, 250, 300, 400 e 500 m³ m⁻² dia⁻¹). Dessa forma, a partir da variação da vazão, obtiveram-se diferentes massas de CAG (Equações 13, 14 e 15) e, a partir da variação da TAS, diferentes ACP (Equação 16).

Di Bernardo, Dantas e Voltan (2017) avaliaram a possibilidade de se obter uma relação entre ensaio em planta piloto e em planta reduzida por meio dos ensaios rápidos em coluna de escala reduzida (ERCER). Dessa forma, a partir dos dados de vazão, ACP e altura da coluna, calcularam-se os parâmetros do ERCER (Equação 18).

$$TCLV = \frac{ACP * h}{Q} * 1000 \frac{L}{m^3} * \frac{1}{1440} \frac{dia}{min} \quad \text{Equação 18}$$

Em que TCLV é o tempo de contato no leito vazio (min) e Q é a vazão (L dia⁻¹).

A partir dos resultados obtidos na Equação 18, estimou-se o diâmetro médio dos grãos de CAG triturados e reais por meio das Equações 19 e 20. Admitiu-se difusividade constante (X = 0, Di Bernardo, Dantas e Voltan, 2017).

$$TCLV_{red} = TCLV * \left(\frac{d_{p,piloto}}{d_{p,reduzido}} \right)^{2-X} \quad \text{Equação 19}$$

$$TAS_{red} = TAS * \left(\frac{d_{p,piloto}}{d_{p,reduzido}} \right) \quad \text{Equação 20}$$

Em que TCLV_{red} é o tempo de contato no ERCER (min), d_{p,piloto} (mm) é o diâmetro médio do CAG real, d_{p,reduzido} (mm) é o diâmetro médio do CAG triturado, X é o parâmetro de difusividade e TAS_{red} é a taxa de aplicação superficial no ERCER (m³ m⁻² dia⁻¹).

A partir das Equações 19 e 20, foi possível calcular a vazão e a altura da coluna no ERCER, por intermédio das Equações 21 e 22, respectivamente.

$$Q_{ERCER} = \frac{TAS_{red} * ACP}{24} \quad \text{Equação 21}$$

$$h_{red} = TCLV_{red} * \frac{TAS_{red}}{1440} \quad \text{Equação 22}$$

Em que Q_{ERCER} é vazão (m³ h⁻¹) e h_{red} é a altura da coluna no ERCER (m).

Calculou-se o h_{red} e a TCLV_{red} para o ERCER em cada eficiência de remoção desejada (20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%). Por fim, calculou-se a relação entre o tempo de transpasse do ERCER e o da planta piloto (Equação 23).

$$\frac{Transpasse_{piloto}}{Transpasse_{ERCER}} = \frac{1}{\left(\frac{d_{p,piloto}}{d_{p,reduzido}} \right)^{2-X}} \quad \text{Equação 23}$$

Di Bernardo, Dantas e Voltan (2017) também definiram ser possível determinar a dosagem mínima de CAP (D_{CAPmin}) a partir dos coeficientes das isotermas de Freundlich do composto a ser removido (Equações 9, 10 e 24), definindo-se a eficiência de remoção desejada.

Neste estudo, calculou-se a D_{CAPmin} para todos os fármacos e para a associação entre eles (RBZ + CAF e CBZ + CAF), simulando-se remoções de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.

$$D_{CAPmin} = \frac{C_0 - C_e}{q_e} \quad \text{Equação 24}$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Método analítico

O sistema SPE *on-line*, utilizado neste estudo, apresenta vantagens como: maior vida útil da coluna e necessidade de menores volumes de amostras (DE OLIVEIRA FERREIRA, RODRIGUES-SILVA e RATH, 2016; PORTO et al. 2019). Acoplado ao sistema SPE, o UHPLC-MS/MS é capaz de alcançar os LOQ necessários, além de permitir a confirmação da identidade do analito devido ao uso da SRM (PORTO, 2019).

5.1.1 Otimização das condições do espectrômetro de massas

Ao se utilizar espectrometria de massas, diversos parâmetros instrumentais devem ser otimizados e, para isso as condições de ionização e fragmentação dos analitos devem ser separadamente configuradas, de forma a tornar o processo mais eficiente e sensível (CHIARADIA, COLLIN e JARDIM, 2008). A Tabela 9 apresenta a compilação dos parâmetros otimizados para cada fármaco. A ionização por eletronebulização (ESI, *electrospray*) faz com que o fármaco, ainda dissolvido na fase móvel e recém-saído da coluna analítica, passe por um capilar submetido a alta voltagem (potencial do capilar). Nesse capilar, ocorre a formação de gotas positiva (ESI+) ou negativamente (ESI-) carregadas. Para remoção do solvente, ocorre o processo de dessolvatação promovido por um gás (e.g. N₂) com temperatura e vazão definidos. As gotas formadas diminuem de tamanho até a ocorrência da “explosão coulômbica¹²”, que termina de liberar os fármacos ionizados na forma gasosa. As moléculas ionizadas são conduzidas ao analisador de massas através de um cone, em que há aplicação de um potencial que atrai apenas as partículas carregadas (ARDREY, 2003; CHIARADIA, COLLIN e JARDIM, 2008).

O modo ESI+ foi a fonte de ionização empregada neste estudo, o potencial do capilar foi de 1,5 V, a temperatura de dessolvatação foi de 600 °C, a vazão do gás de dessolvatação foi de 900 L h⁻¹ e a vazão do gás no cone foi de 150 L h⁻¹.

¹² Mecanismos de transformação de energia em campos eletromagnéticos intensos em movimento atômico, sendo úteis para a destruição controlada de moléculas relativamente robustas (SHEEHY e DIMAURO, 1996).

Tabela 9: Parâmetros de trabalho do espectrômetro de massas. (i) transição de identificação, (q) transição de quantificação.

Fármacos	Massa molar (g mol ⁻¹)	SRM		Energia de colisão (V)	Energia do cone (V)	<i>Dwell time</i> (s)
		Íon precursor (m/z)	Íon produto (m/z)			
Albendazol	265,33	266,1	191,0 (i)	30	45	
			234,0 (q)	19		
Ricobendazol	281,33	282,1	159,0 (i)	40	30	0,05
			208,0 (i)	25		
			240,0 (q)	15		
Cafeína	194,19	195,0	110,0 (i)	22	42	
			138,0 (q)	18		
Carbamazepina	237,10	237,1	165,0 (i)	40	38	
			179,0 (i)	32		
			194,0 (q)	20		

A energia empregada na fonte de ionização não é eficiente para fragmentar significativamente os analitos. Dessa forma, a ionização por *electrospray* deve ocorrer em um ambiente que favoreça a formação de moléculas protonadas (modo positivo) ou desprotonadas (modo negativo). A presença de impurezas (e.g. modificadores orgânicos da fase móvel) no local do processo de ionização favorece a formação de adutos¹³ (e.g. [M+Na]⁺ e [M+NH₄]⁺), processo comum, mas indesejável (CHIARADIA, COLLIN e JARDIM, 2008). Neste estudo, foi utilizada a fonte de ionização no modo positivo e não ocorreu a formação de adutos. Os íons precursores para o SRM e os íons-produto foram selecionados com base na literatura: o ABZ e RBZ foram baseados no trabalho de Porto (2019), a CBZ no trabalho de Pivetta (2019) e a CAF no trabalho de Souza (2016) (Tabela 9). As transições escolhidas para a quantificação foram aquelas de maior intensidade de sinal, assim como recomendado por Collins, Braga e Bonato (2017).

A energia de colisão define a formação de fragmentos específicos de cada fármaco, tornando-se necessária sua otimização (TETZNER e RATH, 2018). Essa energia se refere à energia com que um átomo ou molécula de gás inerte (argônio, neste estudo) e um íon precursor colidem na câmara de colisão, o que dá origem ao íon-produto (CHIARADIA, COLLIN e JARDIM, 2008). O tempo de residência, aqui retratado como *dwell time*, representa o período que o detector monitora determinada reação. O *dwell time* é a relação inversamente proporcional entre o número de pontos reunidos pelo detector a cada unidade de tempo. Neste

¹³ Molécula resultante, terminal ou final, formada pela união direta de moléculas A e B, sem que se produzam mudanças estruturais nas porções A e B.

estudo, para manter cada pico cromatográfico com pelo menos 15 pontos, assim como Tetzner e Rath (2018) e Porto (2019), adotou-se o *dwell time* de 0,05 s.

5.1.2 Condições cromatográficas

A presença de ácido fórmico na BB permite influenciar o pH do solvente, alterando a protonação dos fármacos. O ácido fórmico também permite ganho de sensibilidade na curva analítica (PORTO, 2019). Assim, este estudo empregou 0,1% (em volume) de ácido na BB (Tabela 10) para auxiliar na protonação dos fármacos em estudo.

Neste estudo optou-se pelo uso da coluna SPE XBridge C8, uma vez que esta coluna resulta em picos simétricos (Figura 13), segundo Porto et al. (2019). Durante a corrida cromatográfica, o detector operou em modo SRM para evitar interferência da co-eluição dos analitos. Os parâmetros de funcionamento da BB e BQ estão resumidos nas Tabelas 10 e 11. As válvulas iniciam na posição 1,1, em 1 min a válvula da direita alterna para a posição 2, retornando aos 2 min. O volume de injeção foi de 2 μ L.

Tabela 10: Eventos na bomba binária do sistema SPE-UHPLC-MS/MS durante a corrida cromatográfica. Temperatura da coluna analítica de 40 °C.

Tempo (min)	Vazão (mL min ⁻¹)	Água + 0,1% de ácido fórmico (%)	Metanol (%)	Ocorrência
0,0	0,30	30	70	Condicionamento
1,0		30	70	Eluição
2,0		5	95	Limpeza
5,0		5	95	Limpeza
5,5		30	70	Condicionamento

Tabela 11: Eventos na bomba quaternária do sistema SPE-UHPLC-MS/MS durante a corrida cromatográfica. Temperatura da coluna analítica de 40 °C.

Tempo (min)	Vazão (mL min ⁻¹)	Água (%)	Metanol (%)	Acetonitrila (%)	Ocorrência
0,00	0,95	95	5	0	Carregamento
2,00		95	5	0	Carregamento
2,01		10	45	45	Limpeza
4,00		10	45	45	Limpeza
4,01		95	5	0	Condicionamento
6,00		95	5	0	Final

5.1.3 Validação do método

O método de quantificação dos fármacos em água deionizada por SPE-UHPLC-MS/MS foi validado e os parâmetros de validação para cada analito encontram-se resumidos na Tabela 12.

Tabela 12: Parâmetros de validação para os fármacos de interesse.

Fármacos	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão (CV/%). Níveis: 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ / 100 $\mu\text{g L}^{-1}$		Exatidão (%)	
		Intra-dia (n=5)	Inter-dia (n=11)	25 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=5)	100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=5)
Albendazol	5-300	7,4 / 4,1	7,3 / 2,0	97,0	95,4
Ricobendazol	5-300	11,2 / 10,2	8,2 / 1,1	97,2	98,6
Cafeína	5-300	9,2 / 9,5	9,6 / 4,8	96,8	96,0
Carbamazepina	5-300	6,3 / 5,5	5,1 / 2,5	99,0	97,7

Com relação à linearidade, todas as curvas apresentaram coeficiente de correlação superior a 0,99. O ABZ-d3 foi usado como padrão interno para o ABZ e para o RBZ, enquanto a CAF-d3 e a CBZ-d10 foram usadas como padrão interno para a CAF e para a CBZ, respectivamente. A variância dos resíduos das curvas foi homocedástica, o que permitiu a obtenção da equação da reta pelo método dos mínimos quadrados ordinários. Os valores de precisão intra-dia e inter-dia variaram entre 2,5% e 11,2%. Os valores de exatidão ficaram entre 95,4% e 99%. Os valores de LOD e LOQ foram de 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, para o ABZ, RBZ e para a CAF. Para a CBZ os valores de LOD e LOQ foram de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. As curvas analíticas para cada fármaco de interesse (e.g. ABZ, RBZ, CAF e CBZ), assim como seus respectivos gráficos de resíduos, estão apresentadas na Figura 5. Um cromatograma típico dos analitos está apresentado na Figura 6. Um cromatograma típico dos padrões deuterados encontra-se no Anexo 2.

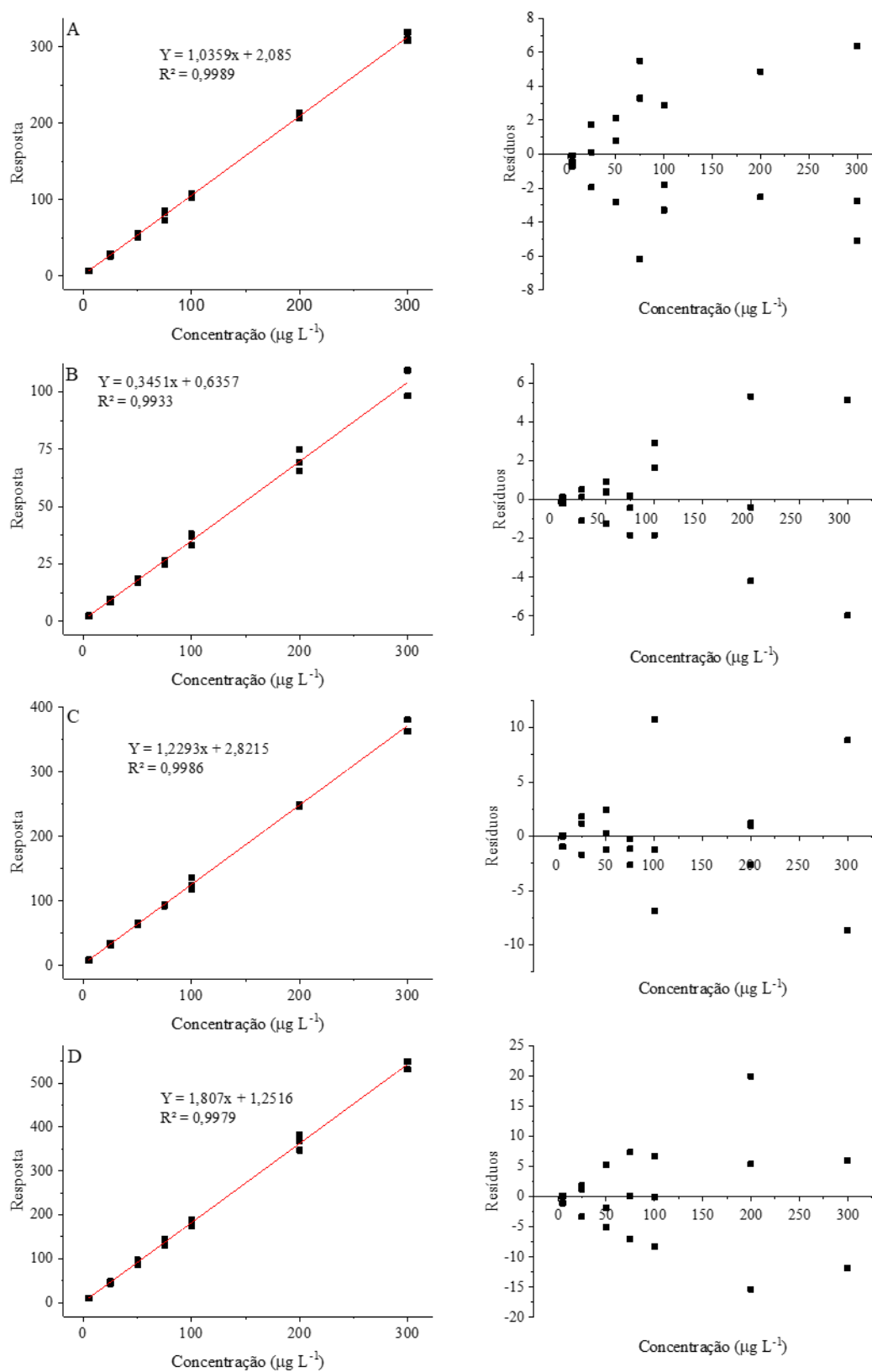


Figura 5: Curvas analíticas para os fármacos de interesse, com seus respectivos gráficos de resíduos. Albendazol-d3 foi usado como padrão interno do albendazol (A) e do ricobendazol (B). Cafeína-d3 e carbamazepina-d10 foram usadas como padrões internos para a cafeína (C) e a carbamazepina (D), respectivamente. Resposta: área do analito/área do padrão interno.

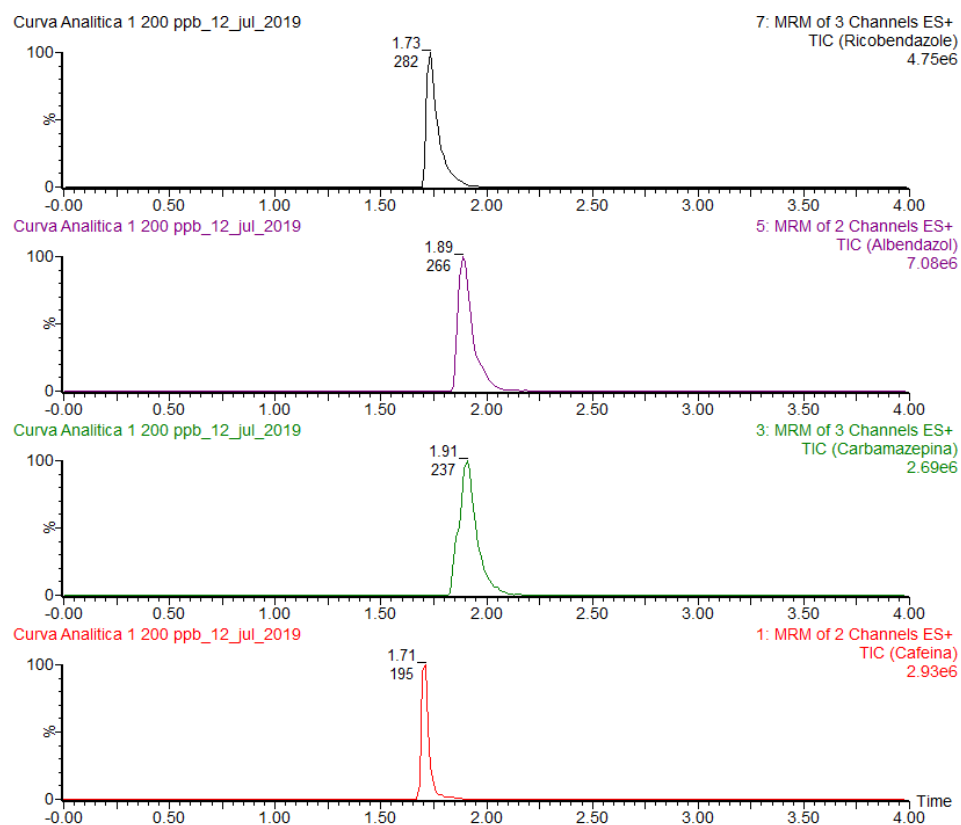


Figura 6: Cromatograma obtido no sistema SPE-UPLC-MS/MS. Coluna analítica Cortecs® UPLC® C18+ (3 mm x 100 mm, 1,6 μm). Condições cromatográficas: fase móvel composta por MeOH:água (70:30 em volume) com 0,1% de ácido fórmico. Vazão: 0,3 mL min^{-1} . Temperatura da coluna 40 °C. Volume de injeção 2,0 μL . Condições do SPE online: coluna XBridge C8, solvente de carregamento/lavagem: MeOH:água (95:5 em volume), vazão de 0,95 mL min^{-1} , volume de carregamento 0,95 mL. Condições do espectrômetro de massas: vide Tabela 4. Concentração dos analitos de interesse: 200 $\mu\text{g L}^{-1}$.

5.2 Testes ecotoxicológicos

5.2.1 Cultivo da *R. subcapitata*

A *R. subcapitata* atingiu o platô de crescimento por volta do 16º dia de experimento (Figura 7). Dessa forma, estabeleceu-se o tempo de 16 dias para duração dos testes ecotoxicológicos. Para facilitar a determinação da densidade celular, foi confeccionada uma curva analítica (Figura 8), que a correlacionou com a intensidade de absorvância medida (a 680 nm).

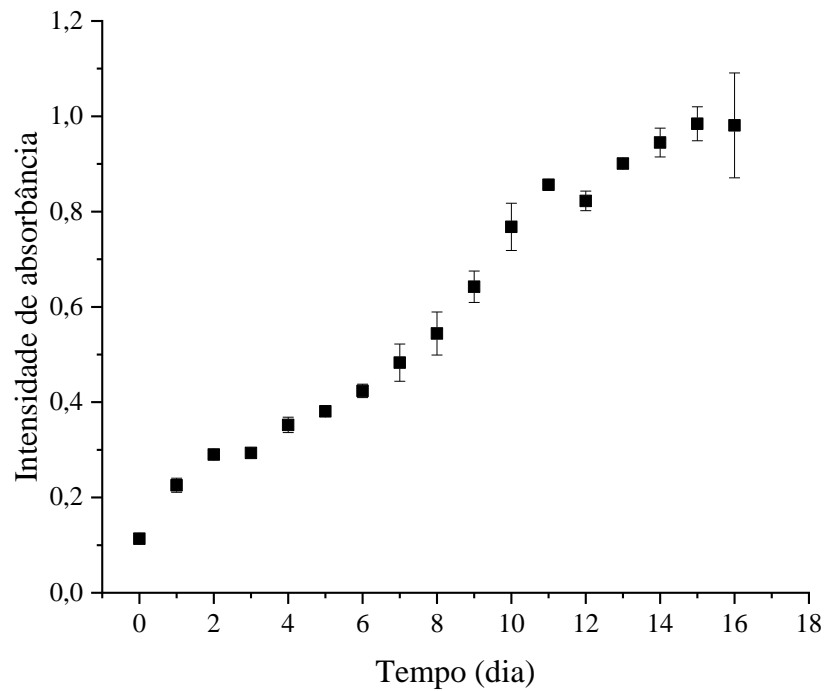


Figura 7: Curva de crescimento da *Raphidocelis subcapitata* em meio LC Oligo. A intensidade de absorbância foi mensurada a cada 24 h durante 16 dias. Médias \pm desvio padrão (n=3).

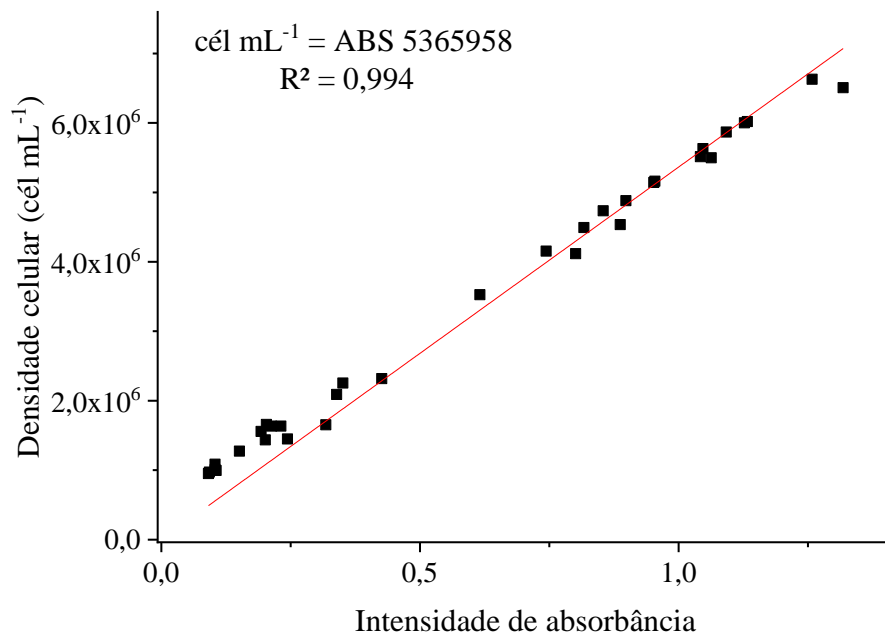


Figura 8: Curva analítica, equação da reta e R^2 obtidos por meio da plotagem da intensidade de absorbância *versus* densidade celular.

5.2.2 Exposição da *R. subcapitata* aos fármacos

Nos testes de sensibilidade da *R. subcapitata* à substância de referência (NaCl), obteve-se $\text{EC}_{50-96\text{h}} = 3,2 \text{ g L}^{-1}$ para a taxa de crescimento. Casali-Pereira (2013) e Melo (2016)

obtiveram EC_{50-96h} semelhantes, de $3,5 \text{ g L}^{-1}$ e $3,7 \text{ g L}^{-1}$, respectivamente também para a *R. subcapitata*.

Os ajustes ao modelo de Gompertz modificado encontram-se nos Anexos 3 (controle), 4 (albendazol), 5 (caféina) e 6 (carbamazepina). Os resultados dos parâmetros estão resumidos na Tabela 13, assim como a taxa de crescimento e a produção de clorofila-a após 16 dias.

A velocidade máxima de crescimento da *R. subcapitata* foi significativamente inibida ($p < 0,05$) por todas as concentrações de ABZ e de CAF avaliadas (1 a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ e 15 a $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente) em comparação com o grupo controle, enquanto a CBZ inibiu significativamente ($p < 0,05$) apenas em concentração iguais ou superiores a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabela 13). Os efeitos dos fármacos sobre o lag-time não apresentaram um padrão quando comparados ao controle. O ABZ acelerou a adaptação da microalga ao meio em baixas concentrações (1, 5 e $10 \mu\text{g L}^{-1}$) quando comparado ao grupo controle ($p < 0,05$), ou seja, ele diminuiu o lag-time. Na concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$, o ABZ aumentou o lag-time significativamente ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle. A CAF e CBZ, de modo geral, quando comparadas ao grupo controle, não afetaram o lag-time. As concentrações de clorofila-a e as densidades celulares máximas foram significativamente inibidas ($p < 0,05$) em todos os ensaios em comparação ao grupo controle (Tabela 13).

A taxa de crescimento foi significativamente inibida ($p < 0,05$) por todas as concentrações de ABZ, entretanto a CAF e a CBZ inibiram significativamente ($p < 0,05$) apenas em concentrações iguais ou superiores a 25 e $5 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os valores de EC_{50} mostraram que o ABZ foi mais tóxico que a CAF e a CBZ para *R. subcapitata*, afetando a taxa de crescimento e a densidade celular máxima (Tabela 14). Os EC_{50} do ABZ foram 15,9 e 26,7 vezes menores que os EC_{50} da CAF, e 5,8 e 3,1 menores que os EC_{50} da CBZ, respectivamente. Em relação a produção de clorofila-a, o EC_{50} da CBZ foi 29,3 e 3,6 vezes menor que o da CAF e do ABZ, respectivamente, ou seja, este fármaco afetou mais este parâmetro da *R. subcapitata* que os demais fármacos estudados (Tabelas 14). O cálculo do EC_{50} levando em consideração o número de moléculas, ou seja, a molaridade dos fármacos, não alterou a ordem de toxicidade dos mesmos para a microalga *Raphidocelis subcapitata* (Tabela 15).

Tabela 13: Parâmetros de crescimento da *Raphidocelis subcapitata* exposta aos fármacos albendazol, cafeína e carbamazepina isolados.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Albendazol				Cafeína				Carbamazepina			
	Densidade celular máxima (ln cel. mL^{-1})	Velocidade máxima de crescimento (dia^{-1})	Lag-time (dia)	Taxa de crescimento (ln cel. $\text{mL}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)	Densidade celular máxima (ln cel. mL^{-1})	Velocidade máxima de crescimento (dia^{-1})	Lag-time (dia)	Taxa de crescimento (ln cel. $\text{mL}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)	Densidade celular máxima (ln cel. mL^{-1})	Velocidade máxima de crescimento (dia^{-1})	Lag-time (dia)	Taxa de crescimento (ln cel. $\text{mL}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)
Controle	1,936	0,107	0,943	0,766	1,936	0,107	0,943	0,766	1,936	0,107	0,943	0,766
1	0,756*	0,074*	0*	0,497*	-	-	-	-	1,120*	0,095	0,297	0,624
5	0,685*	0,076*	0,047*	0,452*	-	-	-	-	0,923*	0,089	0,226	0,562*
10	0,723*	0,061*	0*	0,425*	-	-	-	-	0,876*	0,082*	1,368	0,469*
15	-	-	-	-	1,374*	0,083*	0,518	0,602	-	-	-	-
25	-	-	-	-	1,080*	0,073*	0,278	0,528*	-	-	-	-
50	0,436*	0,083*	0,822	0,324*	1,081*	0,071*	0,793	0,497*	0,587*	0,069*	0,188	0,392*
100	0,258*	0,025*	0,394	0,156*	0,825*	0,053*	0*	0,402*	0,495*	0,048*	0,092*	0,306*
500	0,103*	0,017*	1,898*	0,067*	0,525*	0,035*	0,741	0,240*	0,345*	0,037*	0,307	0,220*
1000	-	-	-	-	0,298*	0,022*	0,569	0,148*	-	-	-	-

(-) Não foi realizado experimento nessa concentração. (*) há diferença significativa em relação ao controle.

Continuação da Tabela 13: Parâmetros de crescimento da *Raphidocelis subcapitata* exposta aos fármacos albendazol, cafeína e carbamazepina isolados.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Albendazol	Cafeína	Carbamazepina
	Clorofila -a ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
Controle	7179,0		
1	4538,7	-	3999,0*
5	3989,7*	-	3098,1*
10	3696,7*	-	2124,6*
15	-	5268,8*	-
25	-	4318,3*	-
50	1697,1*	2831,7*	1853,5*
100	631,5*	2037,1*	1305,7*
500	200,6*	1565,5*	253,2*
1000	-	1397,8*	-

(-) Não foi realizado experimento nessa concentração. (*) há diferença significativa em relação ao controle.

Tabela 14: Valores de EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$) para os efeitos sobre a *Raphidocelis subcapitata* exposta aos fármacos albendazol, cafeína e carbamazepina isolados.

Fármacos	Clorofila-a		Taxa de crescimento		Densidade celular máxima	
	EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2
Albendazol	$5,9 \pm 0,8$	0,937	$7,0 \pm 0,5$	0,949	$1,5 \pm 0,1$	0,941
Cafeína	$45,2 \pm 7,2$	0,837	$110,5 \pm 8,2$	0,994	$39,5 \pm 9,7$	0,892
Carbamazepina	$1,5 \pm 0,2$	0,963	$40,4 \pm 2,6$	0,849	$4,6 \pm 0,2$	0,985

Tabela 15: Valores de EC_{50} (nmol L^{-1}) para os efeitos sobre a *Raphidocelis subcapitata* exposta aos fármacos albendazol, cafeína e carbamazepina isolados.

Fármacos	Clorofila-a		Taxa de crescimento		Densidade celular máxima	
	EC_{50} (nmol L^{-1})	R^2	EC_{50} (nmol L^{-1})	R^2	EC_{50} (nmol L^{-1})	R^2
Albendazol	$22,2 \pm 2,9$	0,937	$26,3 \pm 2,1$	0,949	$5,7 \pm 0,5$	0,941
Cafeína	$232,7 \pm 37,1$	0,837	$569,1 \pm 42,4$	0,994	$203,3 \pm 50,1$	0,892
Carbamazepina	$6,5 \pm 0,9$	0,963	$171,2 \pm 11,2$	0,849	$19,5 \pm 0,9$	0,953

Os Sphaeropleales, como a *R. subcapitata*, são um grupo dominante de algas verdes, contendo espécies essenciais para a manutenção do equilíbrio ecossistêmico. Segundo Suzuki et al. (2018), a *R. subcapitata* tem potencial para se adaptar a várias condições ambientais, sendo considerada um importante biomarcador para contaminantes presentes no ambiente aquático.

O ABZ possui efeitos já conhecidos nas células, e atua como inibidor da SDH e do transporte da glicose, que está associada à síntese de ATP (GAO et al. 2007). Além disso, o ABZ pode inibir a GST, enzima que age como catalisadora das reações de conjugação (e.g. ácido glicurônico, sulfatação e acetilação) dos fármacos. A inibição da GST permite que os fármacos atuem por mais tempo dentro das células, potencializando os seus efeitos tóxicos, como o ROS (GAO et al. 2017; AGUIRRE-MARTÍNEZ, DELVALLS e MARTÍN-DÍAZ, 2015).

A CAF e a CBZ estimulam a produção de GST a níveis de 0,1 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, ou seja, favorecem a conjugação e o consequente aumento da polaridade dos fármacos, o que facilita a sua excreção (ZHANG et al. 2012). Dessa forma, a inibição da SDH e da GST, pelo ABZ, pode explicar a maior toxicidade deste fármaco para *R. subcapitata*, quando analisadas as taxas de crescimento e as densidades celulares máximas, em comparação à CAF e à CBZ. Carlsson et al. (2013) observaram que o ABZ, na concentração de 46 $\mu\text{g L}^{-1}$, causou mortalidade de 50% dos embriões de peixes zebras (*Danio rerio*). Oh et al. (2006) relataram que o ABZ apresentou $\text{EC}_{50-48\text{h}}$ de 67,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a imobilização da *Daphnia magna*. Fagundes (2018) observou uma inibição de 30% do crescimento da *R. subcapitata*, em concentrações de 900 $\mu\text{g L}^{-1}$, após 96 h de exposição. Escher et al. (2008) avaliaram o efeito do ABZ sobre a microalga *Desmodesmus subspicatus*, em exposições de 24 h. Os autores observaram que mesmo em concentrações de 30 mg L^{-1} , o ABZ não foi capaz de inibir significativamente o fotossistema II da microalga.

Com respeito à toxicidade da CBZ, este fármaco pode inibir a síntese de protoclorofila e sua subsequente conversão em clorofila-a, como já foi descrito para as microalgas *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella pyrenoidosa* (ZHANG et al. 2012). Dessa forma, como não existem relatos sobre mecanismos de ação específicos na produção de clorofila-a pelo ABZ (ESCHER et al. 2008) e pela CAF, a inibição da protoclorofila pode explicar o efeito mais deletério da CBZ sobre este parâmetro da *R. subcapitata*. A CBZ impulsiona uma rápida resposta das enzimas catalase e superóxido dismutase (ZHANG et al. 2012), o que indica que este fármaco age por meio da produção de ROS. Segundo Aguirre-Martínez, Delvalls e Martín-Díaz (2015), a CBZ também induz a peroxidação lipídica. Estes mecanismos de ação nas células podem explicar a toxicidade da CBZ para a *R. subcapitata*, no que diz respeito à inibição dos parâmetros de crescimento, observada neste estudo.

Jos et al. (2003) observaram que a CBZ não produziu efeitos de toxicidade aguda na biota aquática (e.g. *Chorella vulgaris*, *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri*), devido aos valores de

EC_{50-48h} que variaram entre 4,5 a 383,5 mg L⁻¹, considerados elevados quando comparados a concentrações ambientalmente relevantes (Tabela 1). Zhang et al. (2012) relataram que a CBZ inibiu a taxa de crescimento da *Scenedesmus obliquus* e da *Chlorella pyrenoidosa*, após 48 h de exposição, apenas em concentrações na faixa de mg L⁻¹ (EC₅₀ de 7,0 e 239,9 mg L⁻¹, respectivamente). Entretanto, com tempos de exposição mais longos (2 a 30 dias), o EC₅₀ diminuiu até a faixa de µg L⁻¹ (ZHANG et al. 2012), o que está de acordo com o que foi observado neste estudo após 16 dias exposição. Ding et al. (2019) relataram que, em concentrações de 10 µg L⁻¹, a CBZ inibiu 53,5% da produção de clorofila-a da espécie de microalga *Navicula sp.* após 72 h de exposição. Neste estudo, embora tenha sido utilizada outra espécie de microalga e maior tempo de exposição, os resultados se apresentaram na mesma ordem de grandeza (EC₅₀ 1,54 µg L⁻¹).

Em relação à toxicidade da CAF, diversos estudos vêm demonstrando que este fármaco não apresenta riscos para a biota presente no ambiente aquático, quando se levam em consideração exposições de curto prazo (e.g. até 96 h) (CALLEJA, PERSONNE e GELADI, 1994; MOORE, GREENWAY e FORRIS, 2008; ZARELLI et al. 2014). Zarelli et al. (2014) afirmaram que, em exposição de curto prazo, a CAF só foi capaz de causar efeitos significativos na biota aquática (e.g. inibição do crescimento e mortalidade) na faixa de mg L⁻¹. A contínua introdução de CAF nos corpos hídricos (PETEFFI et al. 2018), no entanto, pode causar efeitos variados (e.g. inibição de crescimento, indução de enzimas, entre outros) à biota aquática, após longos períodos de exposição (OCDE, 2002; Lawrence et al. 2005; Lawrence et al. 2011). Segundo OCDE (2002), este fármaco age como um fármaco pseudo-persistente e seus efeitos crônicos são pouco conhecidos.

Lawrence et al. (2005) observaram que, em concentrações de 10 µg L⁻¹, a CAF inibiu significativamente a biomassa de cianobactérias presente no biofilme, em estudos laboratoriais com oito semanas de duração. Lawrence et al. (2011) relataram que, em concentrações de 5 µg L⁻¹, a CAF causou uma diminuição da biomassa algal em ensaios em mesocosmos com duração de sete semanas. Estes resultados corroboram com as observações encontradas neste estudo, nas quais a CAF, após 16 dias de exposição, inibiu significativamente os parâmetros de crescimento da *R. subcapitata* na faixa de µg L⁻¹ (Tabela 13).

Para os testes com os fármacos em associação, as culturas de *R. subcapitata* foram expostas às associações ABZ + CAF e CBZ + CAF nas mesmas condições descritas anteriormente. Os ajustes ao modelo de Gompertz modificado encontram-se nos Anexos 3

(controle), 7 (ABZ + CAF) e 8 (CBZ + CAF). Os resultados dos parâmetros estão resumidos na Tabela 16, assim como a taxa de crescimento e a produção de clorofila-a após 16 dias.

Tabela 16: Parâmetros de crescimento da microalga *R. subcapitata* exposta às associações de fármacos: albendazol + cafeína e carbamazepina + cafeína.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Albendazol + Cafeína ($50 \mu\text{g L}^{-1}$)					Carbamazepina + Cafeína ($50 \mu\text{g L}^{-1}$)				
	Densidade celular máxima (ln cel. mL^{-1})	Velocidade máxima de crescimento (dia^{-1})	Lag-time (dia)	Taxa de crescimento (ln cel. $\text{mL}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)	Clorofila-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Densidade celular máxima (ln cel. mL^{-1})	Velocidade máxima de crescimento (dia^{-1})	Lag-time (dia)	Taxa de crescimento (ln cel. $\text{mL}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)	Clorofila-a ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Controle	1,936	0,107	0,943	0,766	7179,0	1,936	0,107	0,943	0,766	7179,01
1	1,200* \uparrow	0,081*	0,035*	0,597	5426,7* \uparrow	1,089*	0,076*	0,582 \uparrow	0,526*	5206,3* \uparrow
5	0,896* \uparrow	0,068*	0,056*	0,485*	4953,1* \uparrow	0,971*	0,083*	1,790*	0,475*	4696,5* \uparrow
10	0,896*	0,069*	0,057	0,447*	4163,7* \uparrow	0,972*	0,081*	0,781	0,517*	4281,8* \uparrow
50	0,615* \uparrow	0,080*	1,262	0,391*	2976,4* \uparrow	0,840* \uparrow	0,077*	0,276	0,508*	3561,9* \uparrow
100	0,340*	0,030*	1,255 \uparrow	0,177*	1519,5* \uparrow	0,699* \uparrow	0,072* \uparrow	0,014*	0,445*	2680,4* \uparrow
500	0,209*	0,019*	1,529	0,110*	960,4* \uparrow	0,506* \uparrow	0,046*	0,726	0,284*	1743,1* \uparrow

(*) há diferença significativa em relação ao controle. (\uparrow) o resultado com a presença de cafeína é significativamente ($p < 0,05$) maior que sem a cafeína.

A velocidade de crescimento e o lag-time da *R. subcapitata* não foram significativamente ($p > 0,05$) afetados, em comparação aos ensaios isolados, pela presença de CAF. A CAF diminuiu significativamente ($p < 0,05$) os efeitos do ABZ e da CBZ na produção de clorofila-a em todas as concentrações avaliadas, aumentando a concentração de clorofila-a (Tabela 15). Tal resultado foi confirmado pelo aumento do EC_{50} em 3,0 e 18,7 vezes para o ABZ e CBZ, respectivamente (Tabelas 14 e 16), quando a CAF estava presente no meio. A CAF também provocou uma diminuição ($p < 0,05$) nos efeitos causados na densidade celular máxima. Novamente, um aumento de 2,4 e 2,1 vezes no EC_{50} para o ABZ e para a CBZ, respectivamente, na presença de CAF foi observado (Tabelas 15 e 17). Apesar de as taxas de crescimento da *R. subcapitata* não terem sido significativamente influenciadas ($p > 0,05$) pela presença de CAF (Tabela 15), o EC_{50} aumentou 1,8 e 3,7 vezes para o ABZ e CBZ, respectivamente, em relação a esse parâmetro (Tabelas 15 e 17). Ressalta-se que, apesar de as proporções serem alteradas, quando levamos em consideração o número de moléculas para o cálculo do EC_{50} , a CAF continua atenuando o efeito tóxico do ABZ e da CBZ (Tabela 18). Em síntese, a CAF atuou como antagonista do ABZ e da CBZ para os seguintes parâmetros de crescimento da *R. subcapitata*: clorofila-a e densidade celular máxima.

Tabela 17: Valores de EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$) para os efeitos sobre a *Raphidocelis subcapitata* exposta as associações de fármacos: albendazol + cafeína e carbamazepina + cafeína.

Fármacos	Clorofila-a		Taxa de crescimento		Densidade celular máxima	
	EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2	EC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	R^2
Albendazol + Cafeína	16,5 ± 4,3	0,948	12,7 ± 1,0	0,922	3,6 ± 0,2	0,990
Carbamazepina + Cafeína	28,9 ± 1,6	0,963	150,4 ± 39,6	0,849	9,9 ± 1,8	0,953

Tabela 18: Valores de EC_{50} (nmol L^{-1}) para os efeitos sobre a *Raphidocelis subcapitata* exposta as associações de fármacos: albendazol + cafeína e carbamazepina + cafeína.

Fármacos	Clorofila-a		Taxa de crescimento		Densidade celular máxima	
	EC_{50} (nmol L^{-1})	R^2	EC_{50} (nmol L^{-1})	R^2	EC_{50} (nmol L^{-1})	R^2
Albendazol + Cafeína	62,2 ± 16,2	0,948	48,1 ± 3,6	0,922	13,7 ± 0,2	0,990
Carbamazepina + Cafeína	122,3 ± 16,7	0,963	636,9 ± 167,8	0,849	42,0 ± 7,8	0,953

São raros os relatos quanto à avaliação ecotoxicológica de fármacos em associação na literatura. Yang et al. (2008) observaram, em testes ecotoxicológicos de 72 h com a *R. subcapitata*, efeitos tóxicos aditivos em associações binárias entre sulfonamidas e tiosina, triclosan ou triclocarban. Os mesmos autores observaram efeitos sinérgicos sobre o crescimento da microalga causados por misturas binárias de fármacos de uma mesma classe, como macrolídios, tetraciclina e fluoroquinolonas. Yang et al. (2008) também relataram que as associações entre tilosina e triclocarban, triclocarban e norfloxacina e triclosan e norfloxacina apresentaram efeitos antagônicos sobre a *R. subcapitata*.

Os efeitos biológicos da CAF são descritos para diferentes comunidades biológicas. A CAF induz a produção de enzimas do sistema de desintoxicação contra fármacos, além de estimular a produção de enzimas do sistema antioxidante (e.g. glutathione peroxidase e redutase) (AGUIRRE-MARTÍNEZ, DELVALSS e MARTÍN-DÍAZ, 2015). Lawrence et al. (2012), em estudos com mesocosmos, observaram que a associação entre acetaminofem e CAF reduziu significativamente a biomassa de cianobactérias presentes no biofilme. Cao et al. (2013), em estudos com *Escherichia coli*, observaram que a CAF inibiu a ação tóxica da ampicilina sobre o crescimento deste microrganismo. Os autores também observaram que a CAF, em concentrações entre 1,3 e 2,3 g L⁻¹, inibiu o efeito tóxico do captopril sobre o crescimento da *E. coli*. Estes resultados fazem um paralelo com o observado neste estudo, pois a CAF atuou como antagonista na toxicidade causada pelo ABZ e pela CBZ em alguns parâmetros de crescimento da *R. subcapitata*. CAO et al. (2013) destacaram que doses subletais de CAF podem estimular a atividade metabólica, levando a um aumento no crescimento celular da *E. coli*. Analogamente, essas observações podem explicar o efeito antagônico que este fármaco apresentou neste estudo, reduzindo os efeitos do ABZ e da CBZ sobre a microalga *R. subcapitata*.

5.2.2 Estabilidade dos fármacos

A estabilidade das concentrações de ABZ, CAF e CBZ, assim como a formação de RBZ, foi monitorada ao longo de 16 dias, nas condições experimentais dos testes ecotoxicológicos. A Figura 9 apresenta a estabilidade dos fármacos para as maiores concentrações trabalhadas (500 µg L⁻¹). Observa-se que as concentrações permaneceram estáveis durante os 16 dias, corroborando com as propriedades recalcitrantes destes fármacos. Além disso, observa-se que praticamente não houve oxidação do ABZ para RBZ.

A estabilidade dos fármacos, quando estes encontravam-se em associações, também foi avaliada (Figura 10). Assim, como o ABZ, a CBZ e a CAF se mantiveram estáveis durante os

16 dias de teste, pode-se afirmar que a toxicidade descrita neste estudo representa a toxicidade ocasionada pelos fármacos, e não pelos seus metabólitos.

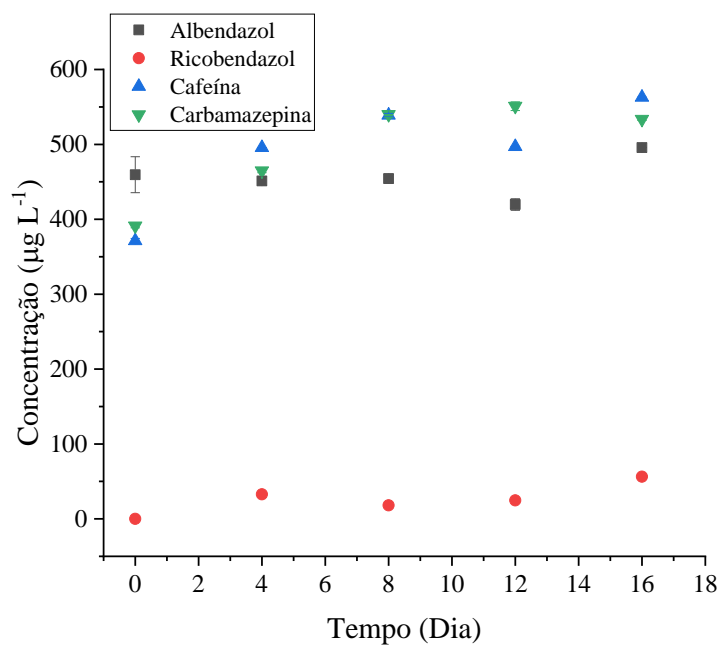


Figura 9: Estabilidade dos fármacos ABZ, CAF e CBZ, isolados, nas condições de luminosidade (4500 luxes) e temperatura (25 °C) utilizadas nos testes ecotoxicológicos.

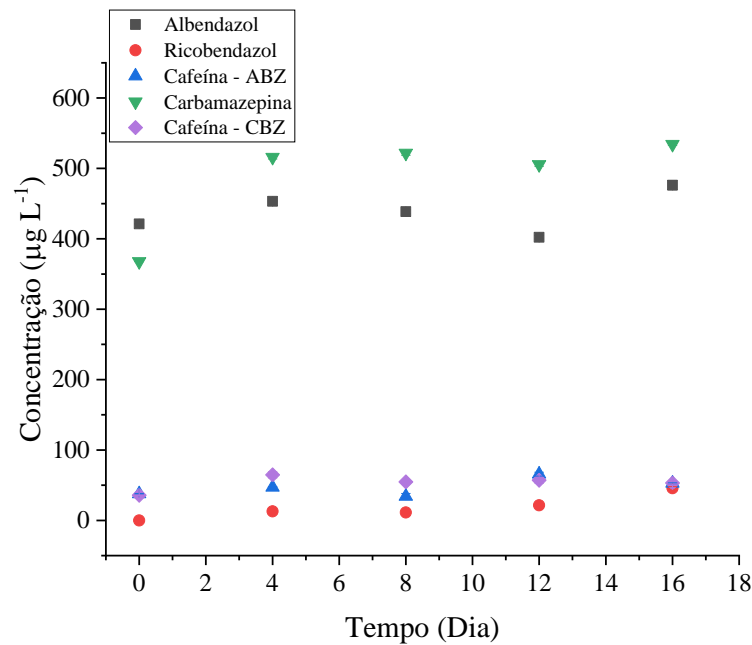


Figura 10: Estabilidade dos fármacos ABZ, CAF e CBZ, em associações, nas condições de luminosidade (4500 luxes) e temperatura (25 °C) utilizadas nos testes ecotoxicológicos. “-ABZ” “-CBZ” indica cafeína na presença do albendazol e da carbamazepina, respectivamente.

5.3 Estudos de adsorção em carvão ativado

5.3.1 Isotermas de adsorção

Inicialmente, destaca-se que os teste com CA foram realizados com o metabólito do ABZ, o RBZ, devido a maior estabilidade deste sob agitação. Na primeira etapa, determinou-se o tempo de equilíbrio do CAG e CAP pela relação entre a concentração remanescente de fármaco ($\mu\text{g L}^{-1}$) em solução e os tempos de contato avaliados (min), como apresentado nas Figuras 11, 12 e 13. O tempo de equilíbrio foi escolhido a partir do ponto em que foi observada estabilidade ou aumento na concentração de fármaco restante em solução. Ambos os CA apresentaram maior adsorção nos primeiros 30 min. Ferreira (2011) também observou que após o tempo de contato de 30 min, o processo adsortivo não apresentou ganhos significativos. Metzger e Kapp (2008) relataram que, após 30 min, os ganhos de remoção não justificariam o aumento de custo necessário para ampliar o tempo de contato no reator ou coluna de adsorção. Nas Figuras 11 e 12, observou-se que após 30 min, o ensaio com CAG apresentou um aumento da concentração do RBZ e da CAF. Nos demais ensaios, observaram-se ganhos que não justificariam o aumento do tempo de contanto, segundo Metzger e Kapp (2008).

No tempo de equilíbrio, os CA removeram os fármacos (e.g. RBZ, CAF e CBZ) em aproximadamente 70% (CAG) e 80% (CAP) (Tabela 19). Sophia e Lima (2018) discutiram que

CA mesoporosos, como o CAP (Tabela 8), apresentam maiores remoções para fármacos em geral, assim como observado neste estudo. Araújo (2017) observou que o CA de *Pinnus sp* apresentou remoções 10% maiores de microcistina-LR (concentração inicial de $100 \mu\text{g L}^{-1}$) quando comparado com o CA de casca de coco. Tais resultados reforçam que, além da matéria-prima, o tamanho dos poros também é um fator determinante no processo de adsorção por CA, assim como destacado por Araújo (2017) e Sophia e Lima (2018).

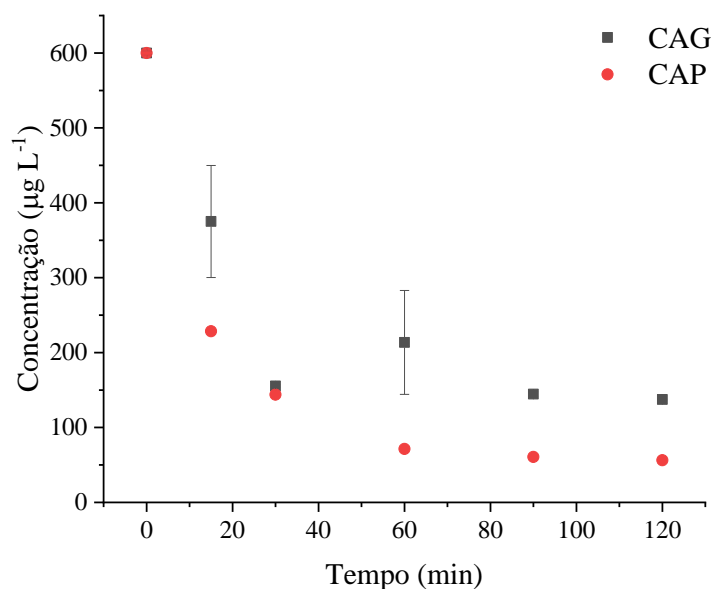


Figura 11: Concentração remanescente do RBZ nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado ($n = 2$). Temperatura $24,4 \pm 0,6 \text{ }^\circ\text{C}$. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.

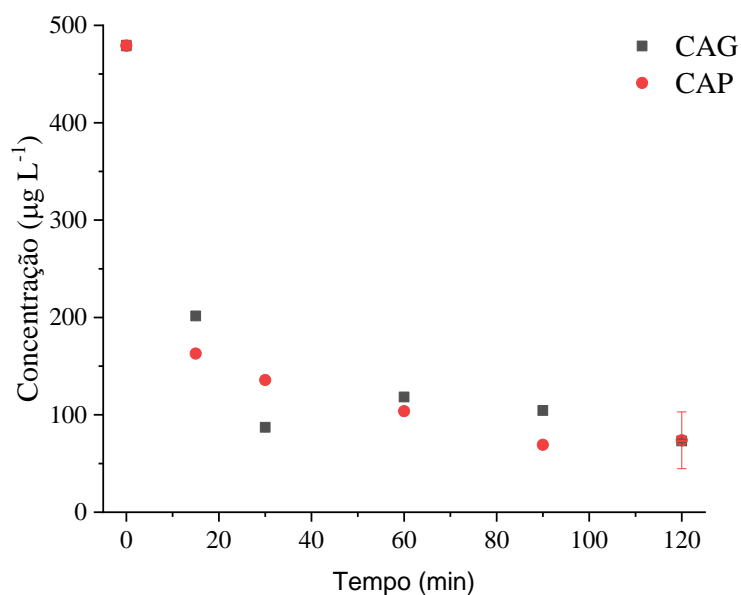


Figura 12: Concentração remanescente da CAF nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado ($n = 2$). Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.

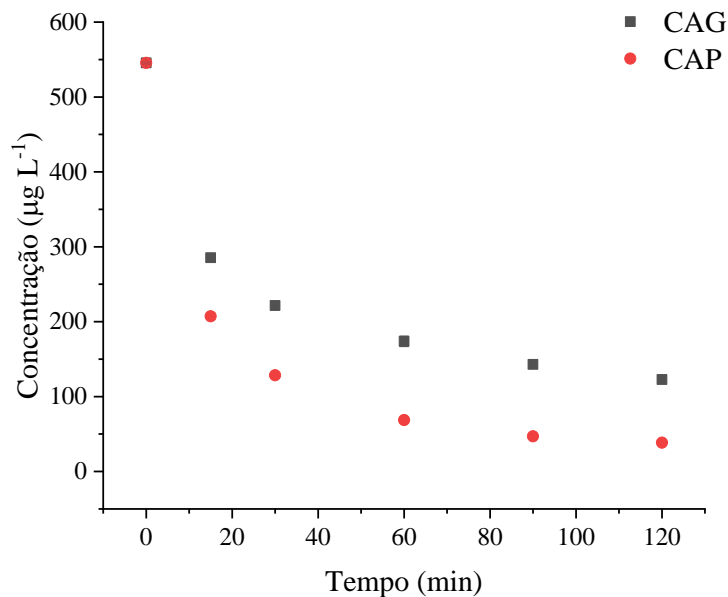


Figura 13: Concentração remanescente do CBZ nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado ($n = 2$). Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.

Tabela 19: Porcentagem dos fármacos removida por 2,5 mg de massa do CAG e do CAP após 30 min de tempo de contato, em temperatura de $24,4 \pm 0,6$ °C.

Fármaco	Carvão Ativado	Concentração inicial requerida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração inicial (n=2) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção média (%)
Ricobendazol	CAG	500,0	600,0	64
Cafeína			479,2	75
Carbamazepina			545,5	68
Ricobendazol	CAP		600,0	76
Cafeína			479,2	78
Carbamazepina			545,5	87

A CAF apresentou as maiores remoções (75%) pelo CAG, o que pode ser explicado pelas menores concentrações iniciais deste fármaco nos testes (Tabela 19). Hena et al. (2013), em estudo com CA de madeira e microcistina-LR, observaram que a porcentagem de remoção apresentou relação direta com a concentração inicial do adsorvato. Os autores concluíram que maiores remoções foram observadas em ensaios com menores concentrações iniciais. A CBZ possui D 60 e 270 vezes maiores que o RBZ e a CAF, respectivamente (Tabela 3), o que pode influenciar diretamente no processo de adsorção. Dessa forma este fármaco apresentou as maiores remoções (87%) pelo CAP. Sotelo et al. (2014) observaram, em seus estudos com CAF e diclofenaco, que fármacos com maiores valores de K_{ow} tendem a apresentar maiores remoções por CA. Westerhoff et al. (2005) observaram, em seus estudos em uma estação de tratamento de água simulada, que os fármacos com maiores valores de K_{ow} possuíam maiores remoções na etapa de tratamento com CA.

Após a primeira etapa, foram realizados ensaios multicomponentes para-se avaliar se a competição adsorptiva alteraria o tempo de equilíbrio. Novamente, ambos os CA apresentaram maiores remoções nos primeiros 30 min (Figuras 14 e 15). Dessa forma, mesmo com a competição pelos sítios ativos, o tempo necessário para se atingir o equilíbrio de adsorção não foi alterado. Sotelo et al. (2014) observaram o mesmo comportamento em seus estudos com CAF e diclofenaco. Ferreira (2011) observou em seus experimentos com mais de 10 fármacos em associação que as maiores remoções ocorreram nos primeiros 30 min.

O CAP apresentou maiores remoções para todos os fármacos estudados, com valores de até 83% para o RBZ (Tabela 20). A competição pelos sítios ativos fez com que as remoções de CAF, nos testes multicomponentes, fossem 33% e 21% menores para o CAG, e 13% e 15% menores para o CAP, na presença de RBZ e CBZ, respectivamente. Sotelo et al. (2014) explicaram que por possuir valor de K_{ow} menor que os demais fármacos (e.g. RBZ e CBZ, Tabela 3), a CAF tem menor afinidade pelo CA e maior afinidade pela água, o que dificulta a

sua remoção na presença de fármacos mais lipofílicos. O CAG é um CA essencialmente microporoso (Tabela 8), dessa forma, a sua porosidade pode ter feito com que os fármacos competissem pelos mesmos sítios ativos. O CAP possui 56,7% de microporos, apresentando 43,3% de meso e/ou macroporos, o que permite que fármacos com características distintas (e.g. massa e volume molar) interajam com o tamanho de poro mais adequado, evitando a competição pelos sítios ativos (JAIN e SNOEYNK, 1973; MATSUI, KNAPPE e TAKAGI, 2002).

As diferenças entre as remoções de CAF e CBZ, na associação CBZ + CAF foram menores para ambos os CA (e.g. 11% e 12% para o CAG e CAP, respectivamente), do que as diferenças de remoção entre a CAF e RBZ, na associação RBZ + CAF, (27% e 18% para o CAG e CAP, respectivamente). Segundo Sotelo et al. (2014), outros fatores além do K_{ow} explicam o processo de adsorção, como a massa e volume molar. Dessa forma, como a CAF e a CBZ apresentam valores mais próximos de massa e volume molar entre si (Tabela 3), presume-se que o fenômeno de adsorção de ambas se processa de maneira similar. Na presença de RBZ, a remoção de CAF foi maior para o CAG, em comparação ao CAP (Tabela 20).

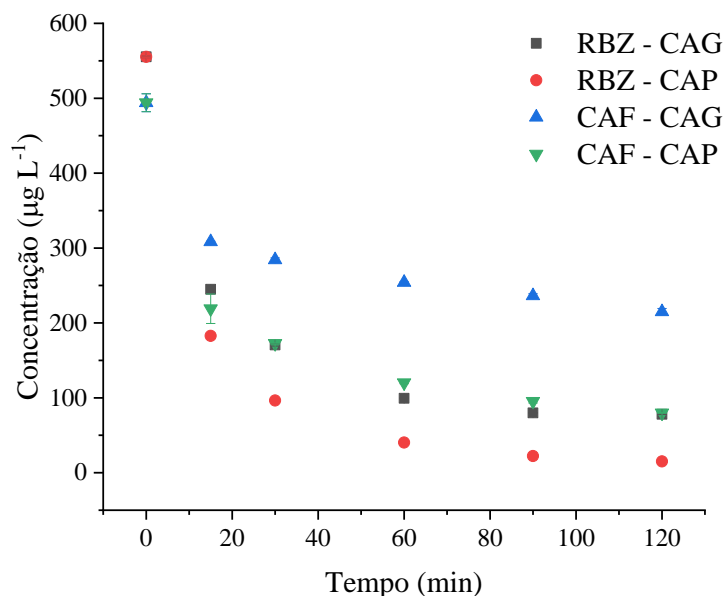


Figura 14: Concentração remanescente do RBZ e da CAF nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado ($n = 2$). Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.

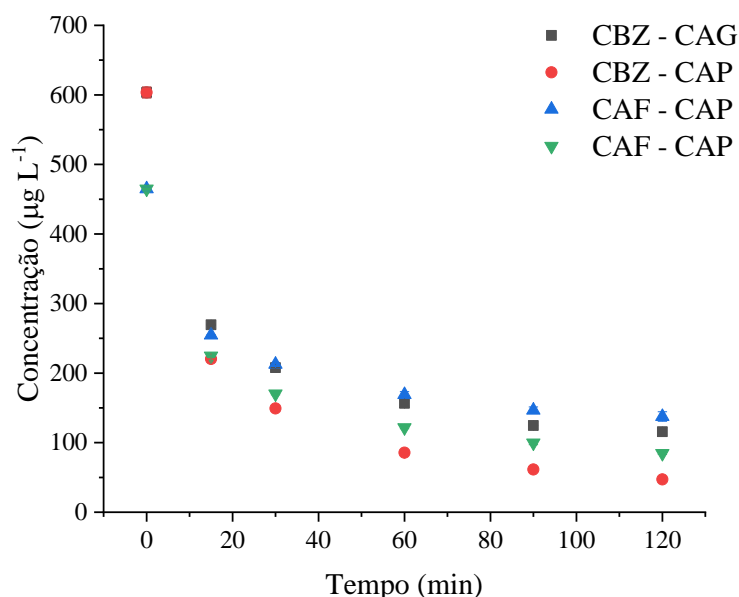


Figura 15: Concentração remanescente da CBZ e da CAF nos ensaios de adsorção pelo CAG e pelo CAP, ao longo de 120 min. As barras de erro indicam o desvio padrão estimado ($n = 2$). Temperatura $24,4 \pm 0,6$ °C. Massa de adsorvente: 2,5 mg. Concentração inicial de adsorvato: aproximadamente $500 \mu\text{g L}^{-1}$. pH = 6,8.

Tabela 20: Porcentagem dos fármacos, nas associações RBZ + CAF e CBZ + CAF, removida por 2,5 mg de massa do CAG e do CAP após 30 min de tempo de contato, em temperatura de $24,4 \pm 0,6$ °C.

Carvão ativado	Fármaco	Tempo de equilíbrio (min)	Concentração inicial requerida ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração inicial ($n=2$) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Remoção média (%)
CAG	Ricobendazol	30	500	552,2	69
	Cafeína			494,0	42
CAP	Ricobendazol			552,2	83
	Cafeína			494,0	65
CAG	Carbamazepina	30	500	603,5	66
	Cafeína			464,8	54
CAP	Carbamazepina			603,5	75
	Cafeína			464,8	63

Os tempos de equilíbrio foram fixados em 30 min para os ensaios de adsorção dos fármacos com a variação das doses de carvão. Os ajustes aos modelos de Freundlich (Figura 16) e Langmuir (Figura 17) estão resumidos na Tabela 21.

Os valores dos coeficientes de determinação (R^2) mostraram que a maioria dos dados se ajustou melhor ao modelo de Freundlich, assim como observado por Nam et al. (2014) e Sotelo et al. (2014), e como foi previsto por Crittenden et al. (2012). Segundo Foo e Hameed (2010), melhores ajustes ao modelo de Freundlich podem indicar a formação de multicamadas e elevada

afinidade dos adsorvatos pelo CA. Zeldowitsch (1934) explicou que o modelo de Freundlich assume que os sítios de ligação mais fortes são ocupados primeiro, e a energia de adsorção decai exponencialmente até a conclusão do processo.

Segundo o modelo de Freundlich, o CAP apresentou maior capacidade adsortiva para o RBZ em comparação aos demais fármacos, devido ao maior valor de K_{ad} observado ($145,8 \text{ L g}^{-1}$) (Tabela 19). Este fármaco apresenta menor solubilidade em água, quando comparado aos demais fármacos em estudo, ou seja, possui maior afinidade pelo CA (SOTELO et al. 2014). O CAP também apresentou maior capacidade adsortiva para a CBZ ($32,3 \text{ L g}^{-1}$) em comparação com o CAG, o que corrobora com os maiores valores de remoção observados (Tabela 16). O CAG apresentou maior K_{ad} ($111,47 \text{ L g}^{-1}$) para a CAF em comparação com o CAP ($56,8 \text{ L g}^{-1}$). A CAF possui menor massa e volume molar quando comparada ao RBZ e à CBZ (Tabela 3), portanto, tende a ser mais bem adsorvida por CA microporosos (SOTELO et al. 2014). Os maiores valores de K_{ad} observados para a CAF em comparação à CBZ podem ter ocorrido devido à concentração inicial de CAF ser 20,5% menor que a de CBZ, o que influencia no processo de adsorção, segundo Hena et al. (2013).

Nam et al. (2014) encontraram valores de K_{ad} de $4,1 \text{ L g}^{-1}$ para CAF, em ensaios com CA à base de coco, em água destilada e concentração inicial de 500 ng L^{-1} . Galhetas et al. (2014) observaram, em ensaios com água destilada e concentração inicial de 120 mg L^{-1} , que os CA microporosos apresentaram maiores valores de K_{ad} para a CAF em comparação com CA mesoporosos ($275,7$ e $115,9 \text{ L g}^{-1}$, respectivamente), o mesmo comportamento observado neste estudo. Yu, Peldszus e Huck (2008) realizaram testes com água ultrapura e concentrações iniciais de 1000 ng L^{-1} de CBZ, e encontraram valores de K_{ad} entre $49,30$ e $69,0 \text{ L mg}^{-1}$, e $71,8$ e $76,0 \text{ L mg}^{-1}$ para CA betuminoso e de casca de coco, respectivamente. Nielsen et al. (2014) observaram, em estudos com CA microporoso e mesoporoso, água ultrapura e concentrações iniciais de 100 mg L^{-1} , que CBZ foi mais bem adsorvida pelo CA microporoso, com valor de K_{ad} de $118,1 \text{ L g}^{-1}$. Estes resultados corroboram com os valores observados neste estudo, em que a CBZ foi mais bem adsorvida pelo CA microporoso, com valores de K_{ad} na faixa de L g^{-1} .

Todos os valores de $1/n$ encontrados neste estudo indicaram que a adsorção por CA para o RBZ, CAF e CBZ foi favorável (CLAUDINO, 2003; RIGOBELLO, 2012). A CBZ apresentou os menores valores de $1/n$ (Tabela 19), o que pode ser explicado pelo seu valor de K_{ow} ser maior que o dos demais fármacos (Tabela 3). Nielsen et al. (2014) observaram valores de $1/n$ superiores a 1 ($1,72$), em seus estudos com água ultrapura e CA microporoso, para

adsorção de 100 mg L^{-1} de CBZ, o que indicou um processo desfavorável. Os maiores valores observados pelos autores, em comparação a este estudo, podem ser associados à concentração inicial considerada em cada caso. Yu, Peldszus e Huck (2008) observaram valores de $1/n$ menores que 1 (0,43) em estudo com CA de casca de coco e concentração inicial de CBZ de 1000 ng L^{-1} , valores estes que são da mesma magnitude dos encontrados neste estudo (Tabela 19).

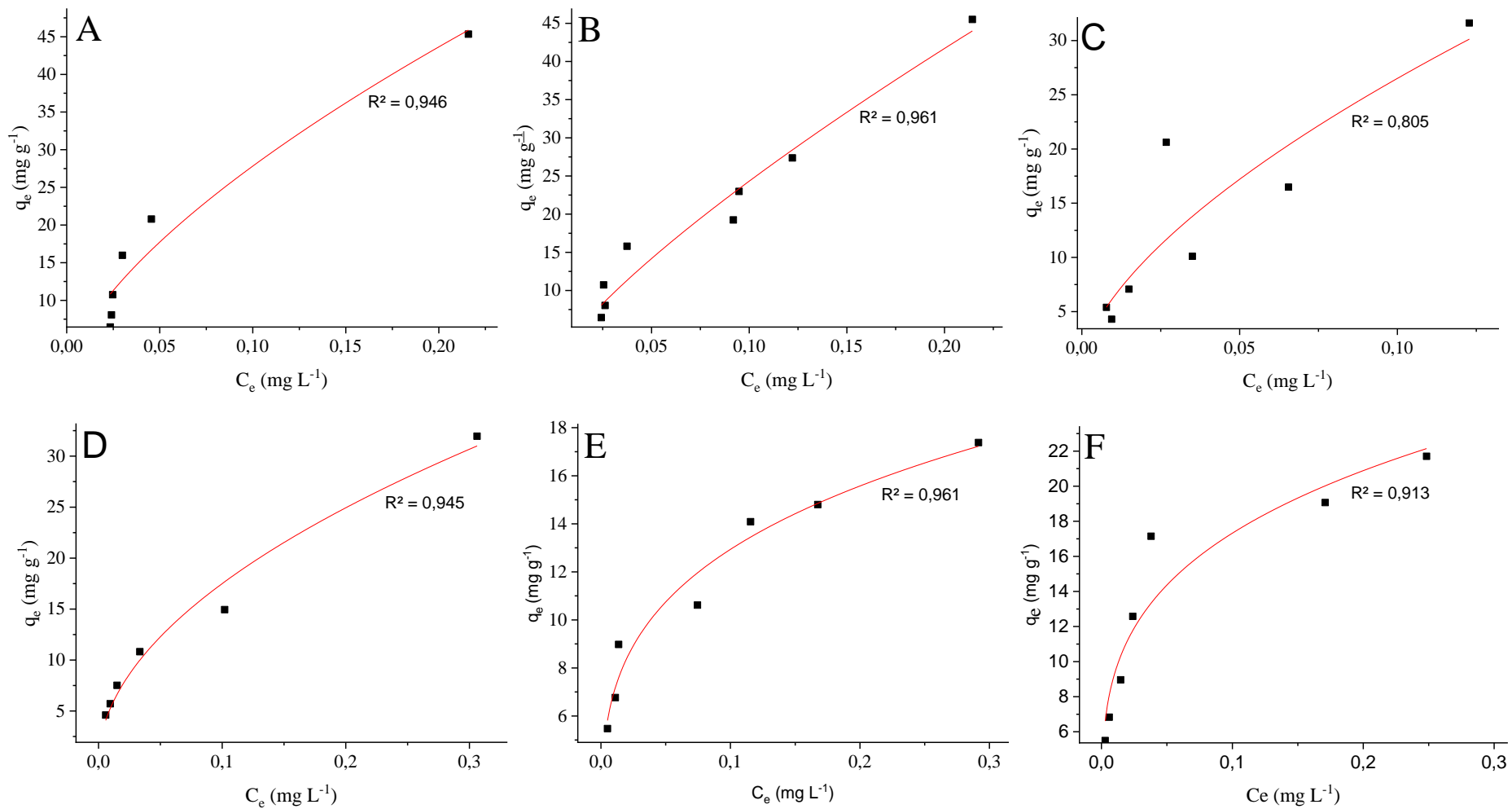


Figura 16: Ajuste do modelo de Freundlich aos dados de adsorção do ricobendazol (A – CAG; B – CAP), cafeína (C – CAG, D – CAP) e carbamazepina (E – CAG; F – CAP).

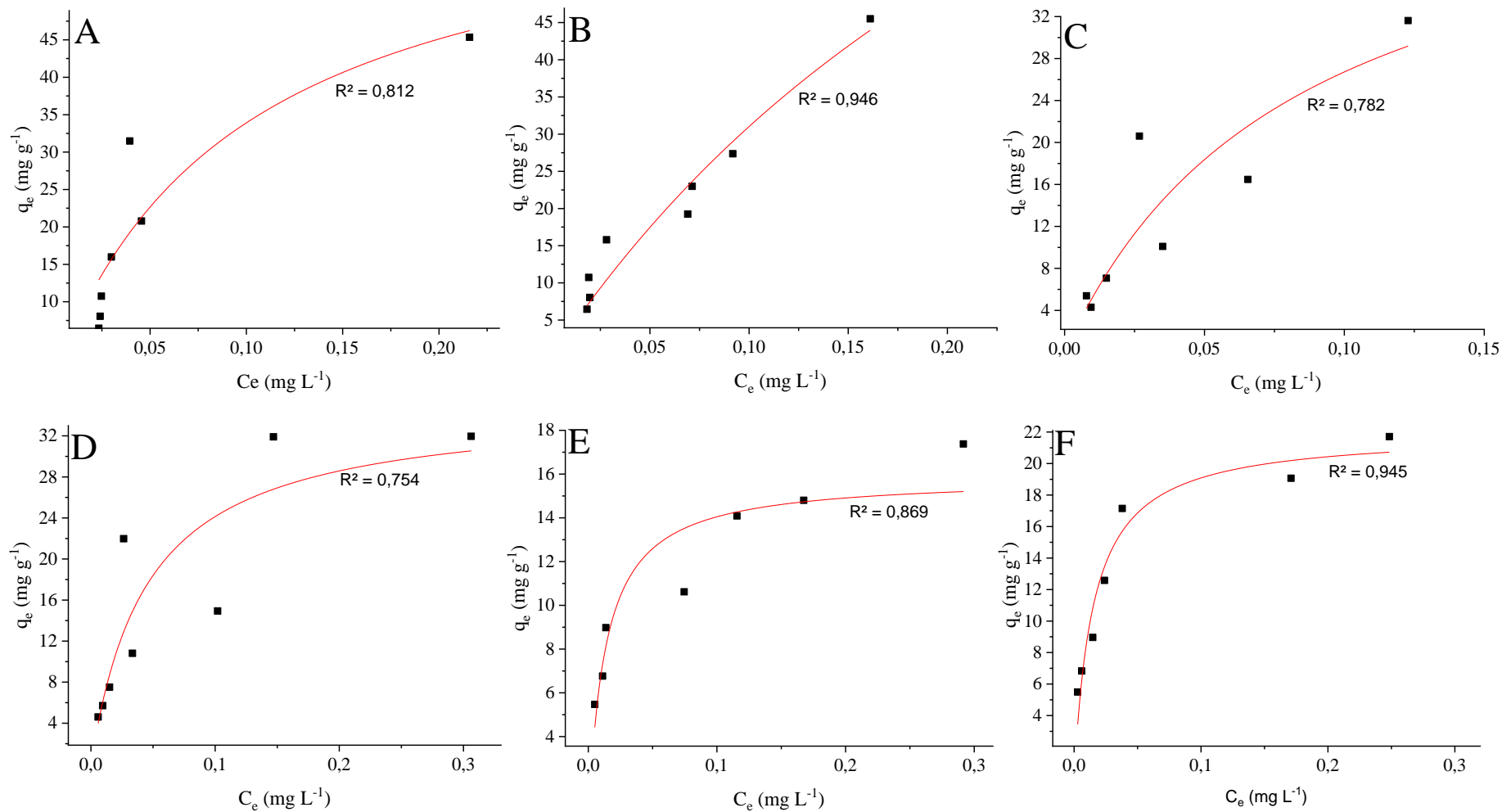


Figura 17: Ajuste do modelo de Langmuir aos dados de adsorção do ricobendazol (A – CAG; B – CAP), cafeína (C – CAG, D – CAP) e carbamazepina (E – CAG; F – CAP).

Tabela 21: Parâmetros das isotermas de adsorção para os fármacos isolados.

Fármaco/ Concentração inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Carvão ativado	Freundlich			Langmuir			Fator de separação
		Constante de adsorção (L g^{-1})	Constante relacionada a superfície	R^2	Quantidade máxima de adsorção (mg g^{-1})	Constante de adsorção (L mg^{-1})	R^2	
Ricobendazol/ 669	CAG	124,2	0,650	0,946	67,4	10,1	0,812	0,128
Cafeína/ 466		111,5	0,624	0,805	49,0	12,0	0,782	0,160
Carbamazepina/ 552		24,0	0,268	0,961	15,9	76,6	0,869	0,023
Ricobendazol/ 669	CAP	145,8	0,778	0,961	138,7	2,9	0,946	0,342
Cafeína/ 466		56,8	0,511	0,945	35,0	22,1	0,754	0,088
Carbamazepina/ 552		32,3	0,270	0,913	22,0	65,8	0,945	0,027

Em estudos com outros fármacos, Ternes et al. (2002) obtiveram valores de K_{ad} de 141,0 L g^{-1} e $1/n$ de 0,19 para o diclofenaco em água destilada. Rigobello (2012) obteve valores de 79,3 L g^{-1} e 0,16 para K_{ad} e $1/n$, respectivamente, também para o diclofenaco. Nam et al. (2014) realizaram estudos com CA de casca de coco e fármacos com $\log K_{ow}$ próximos ao do RBZ (Tabela 22) e encontrou resultados próximos ao deste estudo (e.g. 124,2 L g^{-1} e $1/n$ de 0,650, para K_{ad} e $1/n$, respectivamente).

Tabela 22: Parâmetros da isoterma de Freundlich para diversos contaminantes de preocupação emergente.

Contaminante de preocupação emergente	$\log K_{ow}$	Constante de adsorção (L g^{-1})	Constante relacionada a superfície
Atrazina	2,67	302,0	0,6
2,4 – D	2,81	316,2	0,5
Naproxeno	2,84	537,0	0,7
Diclofenaco	3,91	724,4	0,9
Triclorocarbano	4,20	1737,8	0,8

NAM et al., 2014.

Estudos multicomponentes que avaliam a remoção de fármacos são escassos. Dessa forma, nesta etapa do estudo avaliaram-se os ajustes das associações RBZ + CAF e CBZ + CAF aos modelos de Freundlich (Figuras 18 e 19) e Langmuir (Figuras 20 e 21).

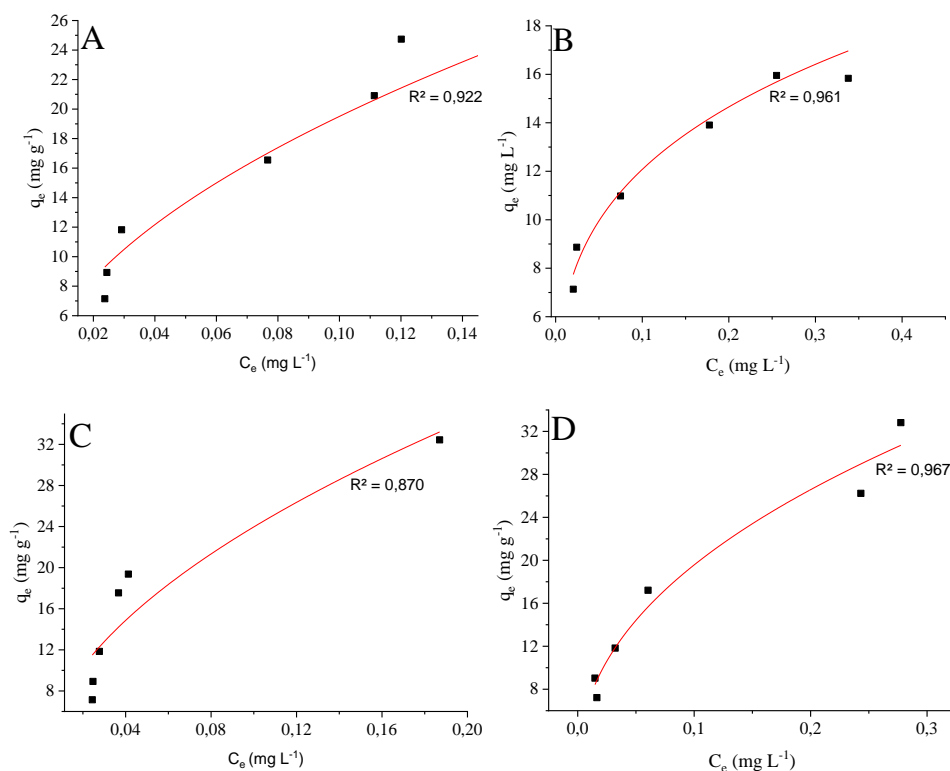


Figura 18: Ajuste do modelo de Freundlich aos dados de adsorção da associação RBZ+CAF. (A) RBZ para o CAG. (B) CAF para o CAG (C) RBZ para o CAP. (D) CAF para o CAP.

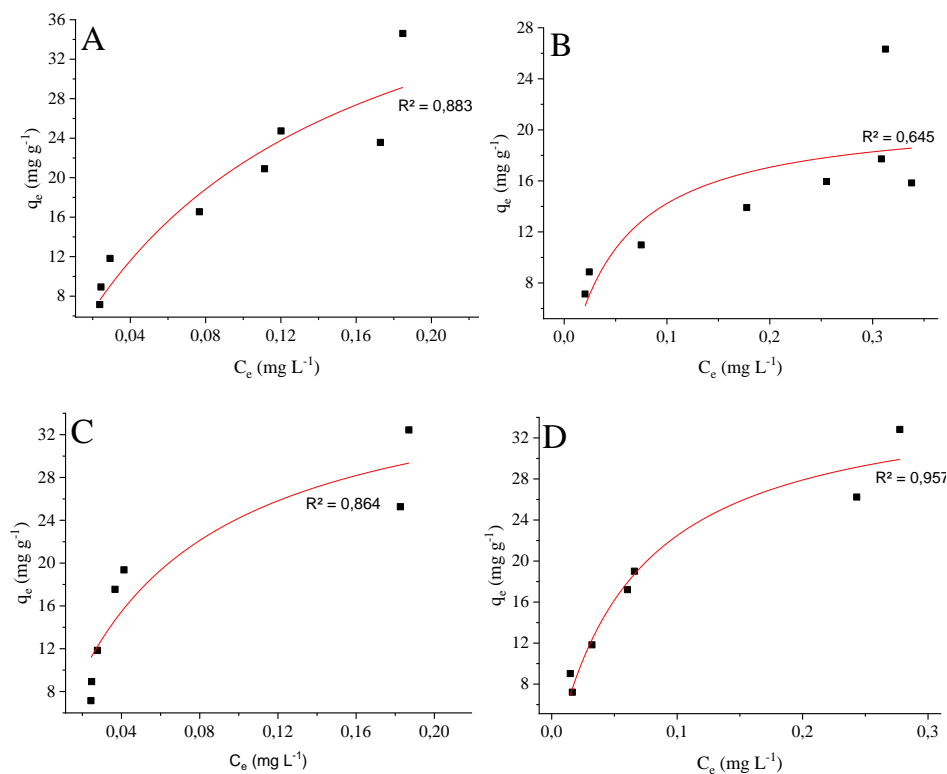


Figura 19: Ajuste do modelo de Langmuir aos dados de adsorção da associação RBZ+CAF. (A) RBZ para o CAG. (B) CAF para o CAG. (C) RBZ para o CAP. (D) CAF para o CAP.

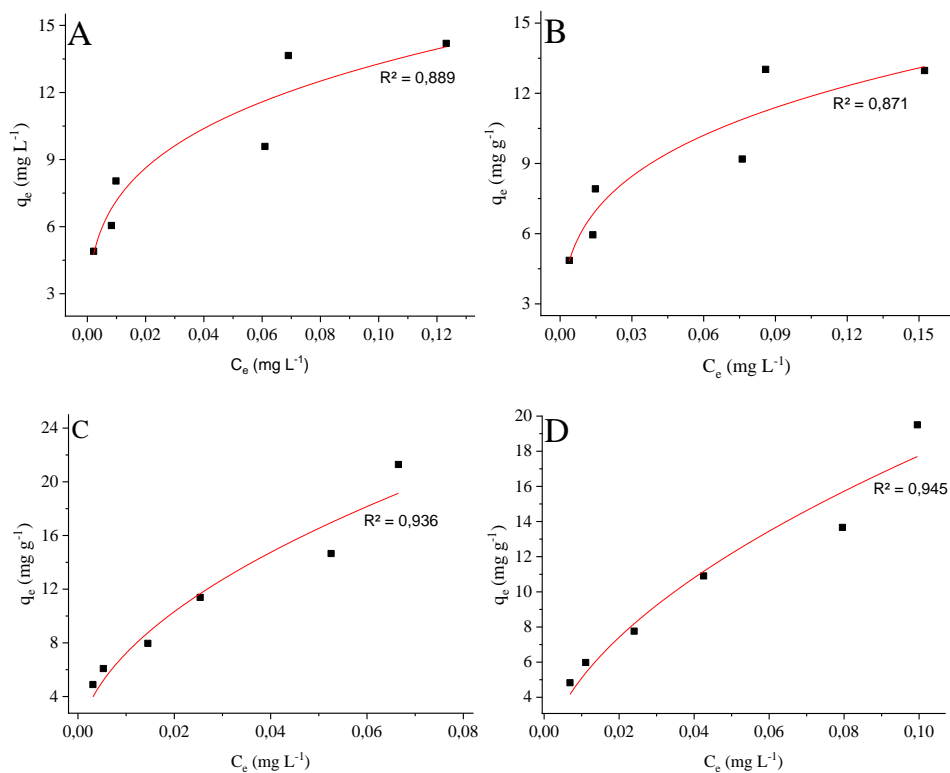


Figura 20: Ajuste do modelo de Freundlich aos dados de adsorção da associação CBZ+CAF. (A) CBZ para o CAG. (B) CAF para o CAG. (C) RBZ para o CAP. (D) CAF para o CAP.

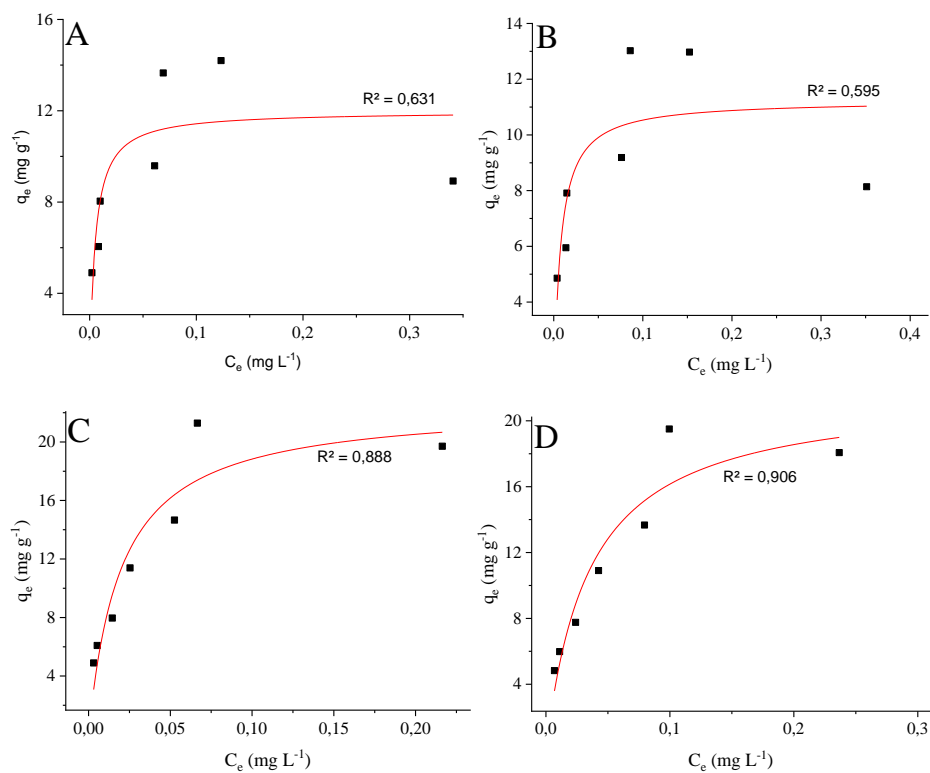


Figura 21: Ajuste do modelo de Langmuir aos dados de adsorção da associação CBZ+CAF. (A) CBZ para o CAG. (B) CAF para o CAG. (C) CBZ para o CAP. (D) CAF para o CAP.

Assim como nos ensaios com os fármacos isoladamente, e como já relatado nos estudos de Yu, Peldszus e Huck (2008), Sotelo et al. (2014) e Mansouri et al. (2015), que analisaram a adsorção competitiva de fármacos, os testes com fármacos em associação deste estudo apresentaram melhores ajustes ao modelo de Freundlich (Tabela 23).

Tabela 23: Parâmetros das isotermas de adsorção para as associações RBZ + CAF e CBZ + CAF.

Fármaco	Carvão ativado	Concentração inicial ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Freundlich			Langmuir			
			Constante de adsorção (L g^{-1})	Constante relacionada a superfície	R^2	Quantidade máxima de adsorção (mg g^{-1})	Constante de adsorção (L mg^{-1})	R^2	Fator de separação
Ricobendazol	CAG	738,0	63,9	0,515	0,922	50,1	7,5	0,883	0,152
	CAP		79,6	0,521	0,870	38,8	16,5	0,864	0,076
Cafeína - R	CAG	734,0	23,0	0,279	0,961	21,3	20,1	0,645	0,063
	CAP		54,1	0,441	0,870	36,8	15,7	0,957	0,080
Carbamazepina	CAG	492,0	24,6	0,268	0,889	12,0	208,2	0,631	0,010
	CAP		77,1	0,514	0,936	22,5	50,6	0,888	0,038
Cafeína - C	CAG	490,0	21,9	0,272	0,871	11,2	148,2	0,595	0,014
	CAP		61,9	0,542	0,945	21,8	28,6	0,906	0,066

Os Sufixos “-R” e “-C” indicam associação com o RBZ e a CBZ, respectivamente.

O CAP apresentou os maiores valores de K_{ad} , assim como observado nos ensaios com os fármacos isoladamente. O RBZ apresentou maiores afinidades com ambos os carvões, ou seja, maiores valores de K_{ad} (Tabela 23). Tais resultados estão de acordo com suas características físico-químicas, uma vez que, dentre os fármacos avaliados neste estudo, o RBZ apresenta menor solubilidade em água (Tabela 3), possuindo, conseqüentemente, maior afinidade pelo CA (SOTELO et al. 2014).

De modo geral, a competição pelos sítios ativos fez com que os valores de K_{ad} diminuíssem. Na presença da CAF, os valores de K_{ad} do RBZ diminuíram 48,6% e 45,4% para o CAG e para o CAP, respectivamente. Os valores de K_{ad} para a CAF diminuíram 79,4% e 3,5% na presença do RBZ para o CAG e para o CAP, respectivamente. Segundo Mansouri et al. (2015), fármacos com maior afinidade pelo CA, ou seja, maiores valores de D/K_{ow} e menores solubilidades em água, tendem a ser mais bem adsorvidos. Dessa forma, o RBZ tem maior tendência de ser adsorvido em comparação a CAF, o que pode explicar os maiores valores de K_{ad} observados para este fármaco.

Na associação entre CBZ e CAF, os valores de K_{ad} para a CBZ aumentaram 2,8% e 139,0% para o CAG e para CAP, respectivamente. Para CAF, os valores de K_{ad} diminuíram 80,3% para o CAG e aumentaram 8,9% para o CAP. Durante o ensaio multicomponentes a concentração de CBZ foi 10,8% menor comparada ao ensaio isolado, enquanto a concentração de CAF foi 4,9% menor, essa diminuição na concentração inicial pode ter influenciado no processo de adsorção, como discutido por Hena et al. (2013). Segundo Sotelo et al. (2014), parâmetros como massa e volume molar também influenciam no processo de adsorção por CA. Desta forma, como a CAF e a CBZ apresentam valores de massa e volume molar distintos (Tabela 3), a competição pelos sítios ativos em CA com maior variedade no tamanho de poros, como o CAP, é menor.

Sotelo et al. (2014) avaliaram a competição adsortiva entre CAF e diclofenaco ($\log K_{ow}$ de 0,7 e solubilidade em água de $2,43 \text{ mg L}^{-1}$) em água deionizada, utilizando CA microporoso. Os autores observaram que por possuir maior valor de K_{ow} e menor solubilidade em água, o diclofenaco foi mais bem adsorvido. Nielsen e Bandosz (2016) observaram, em estudos em água deionizada e concentrações iniciais entre 1 e 100 mg L^{-1} , que a CBZ, por possuir maiores valores de K_{ow} que a sulfametoxazol ($\log K_{ow}$ de 0,9), foi mais bem adsorvida. Os autores também explicaram que a CBZ, por ser menos polar, possui atração pelo carbono dos CA, devido às interações π - π elétron-doador e receptor, em que a CBZ atua como doador de elétron. Mansouri et al. (2016) observaram em estudos com ibuprofeno ($\log K_{ow}$ de 3,5 e solubilidade

em água de $0,1 \text{ g L}^{-1}$) e amoxicilina (\log de k_{ow} de 0,9 e solubilidade em água entre $1,0$ e $3,0 \text{ g L}^{-1}$) que a remoção de ambos os fármacos foi prejudicada em ensaios multicomponentes. No entanto, a remoção do ibuprofeno foi menos prejudicada do que a da amoxicilina, pois este apresentava maior afinidade pelo CA. Os resultados observados por esses estudos corroboram com os encontrados neste estudo: a CAF, fármaco de menor valor de D/K_{ow} e maior solubilidade em água (Tabela 3), apresentou os menores valores de K_{ad} .

Os parâmetros do modelo de Langmuir, apesar de apresentarem menores coeficientes de determinação (R^2), seguem a mesma linha de resultados obtidos pelo modelo de Freundlich. O CAP apresentou maiores capacidades adsorptivas ($q_{e_{max}}$) comparado ao CAG para todos os fármacos. O RBZ apresentou maiores afinidades para ambos os CA. No ensaio multicomponentes, a CAF apresentou menores valores de $q_{e_{max}}$ quando comparada ao RBZ e à CBZ.

5.3.2 Cinética de adsorção

Os modelos lineares de pseudo primeira ordem (Figuras 22, 23 e 24), pseudo segunda ordem (Figuras 25, 26 e 27), e aos modelos não lineares de Elovich (Figuras 28, 29 e 30) e Weber e Morris (Figuras 31, 32 e 33) foram ajustados aos dados experimentais para avaliação da cinética de adsorção. Os parâmetros obtidos em cada modelo, assim como os respectivos coeficientes de determinação, estão sintetizados na Tabela 24.

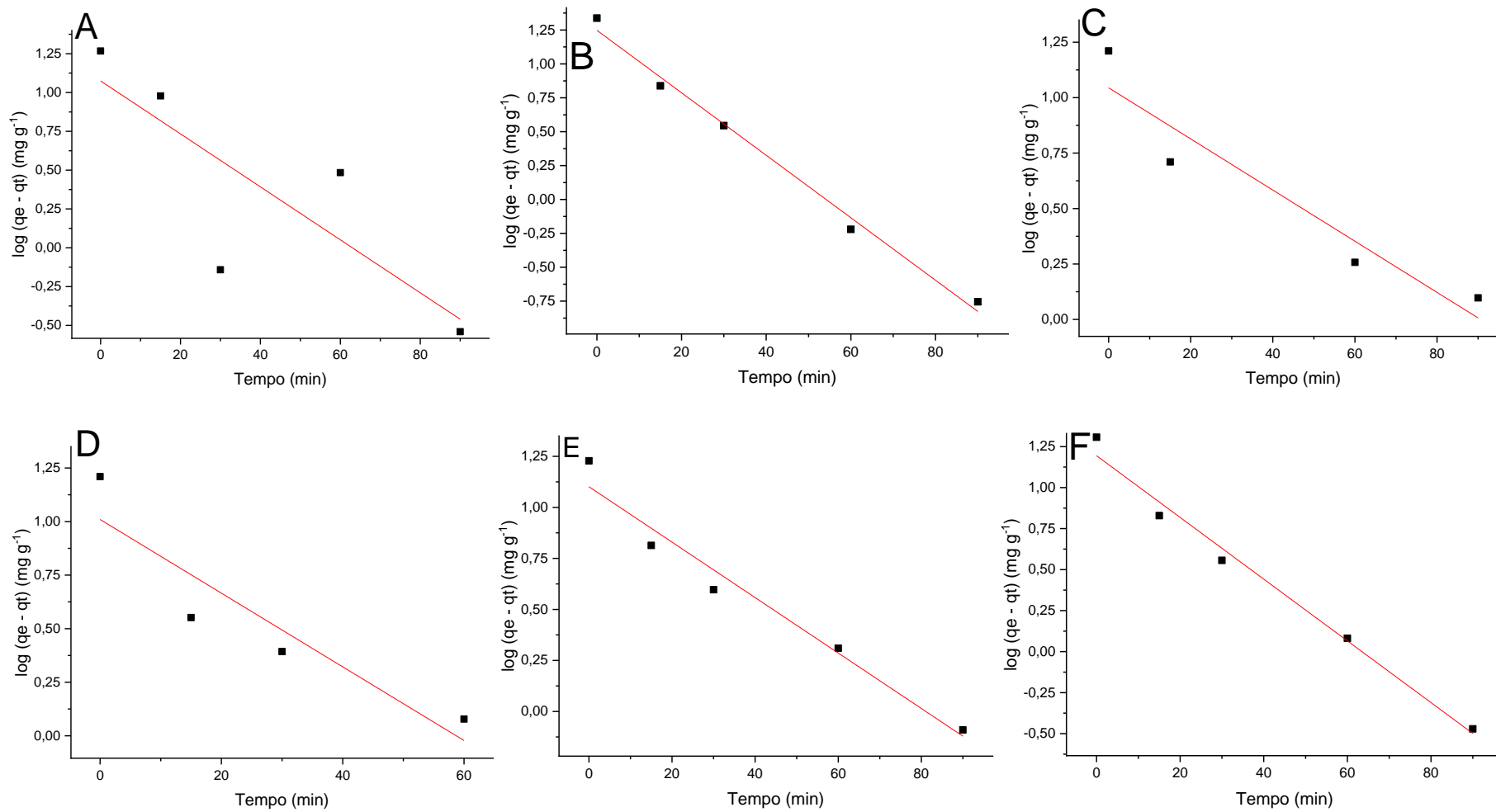


Figura 22 : Ajuste linear do modelo cinético de pseudo primeira ordem aos dados de adsorção dos fármacos isoladamente. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP; (E) CBZ no CAG; (F) CBZ no CAP.

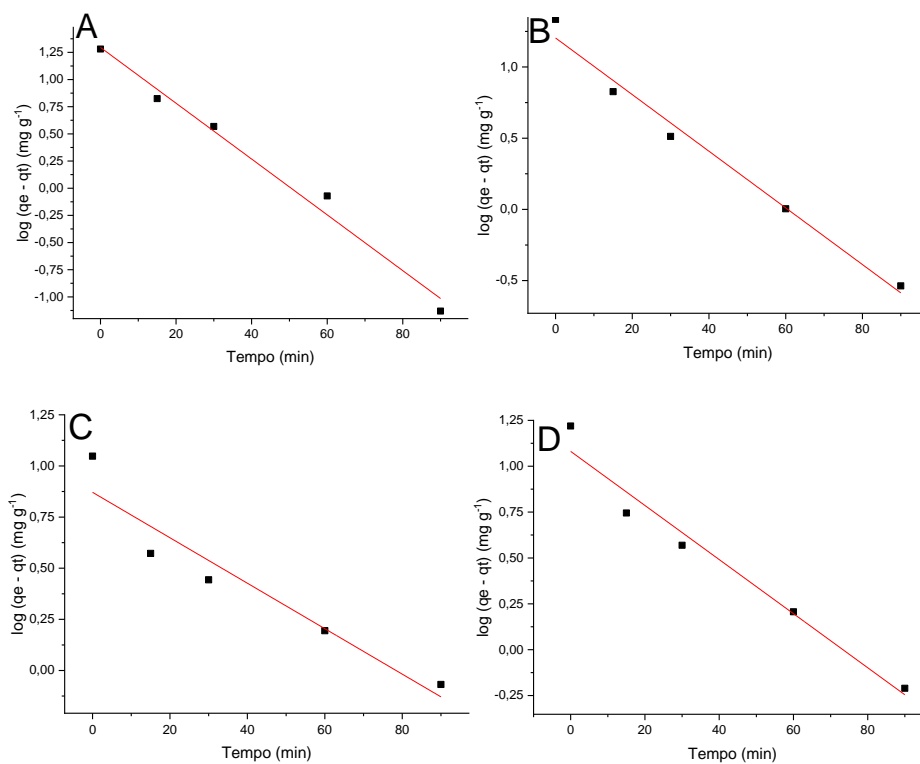


Figura 23: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo primeira ordem aos dados de adsorção da associação RBZ + CAF. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.

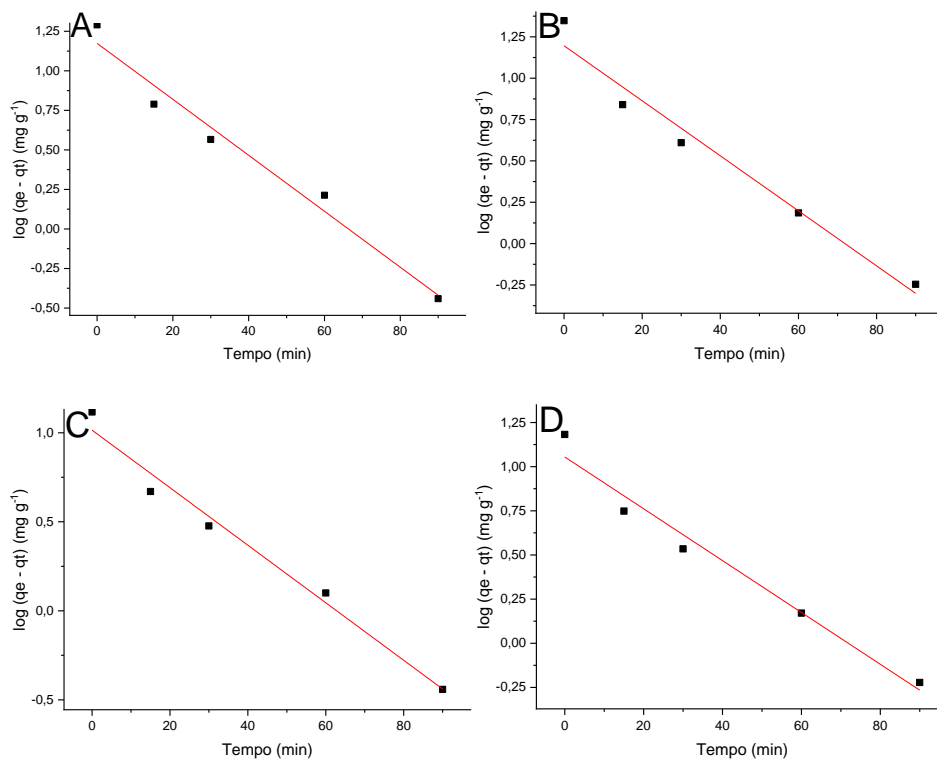


Figura 24: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo primeira ordem aos dados de adsorção da associação CBZ + CAF. (A) CBZ no CAG; (B) CBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.

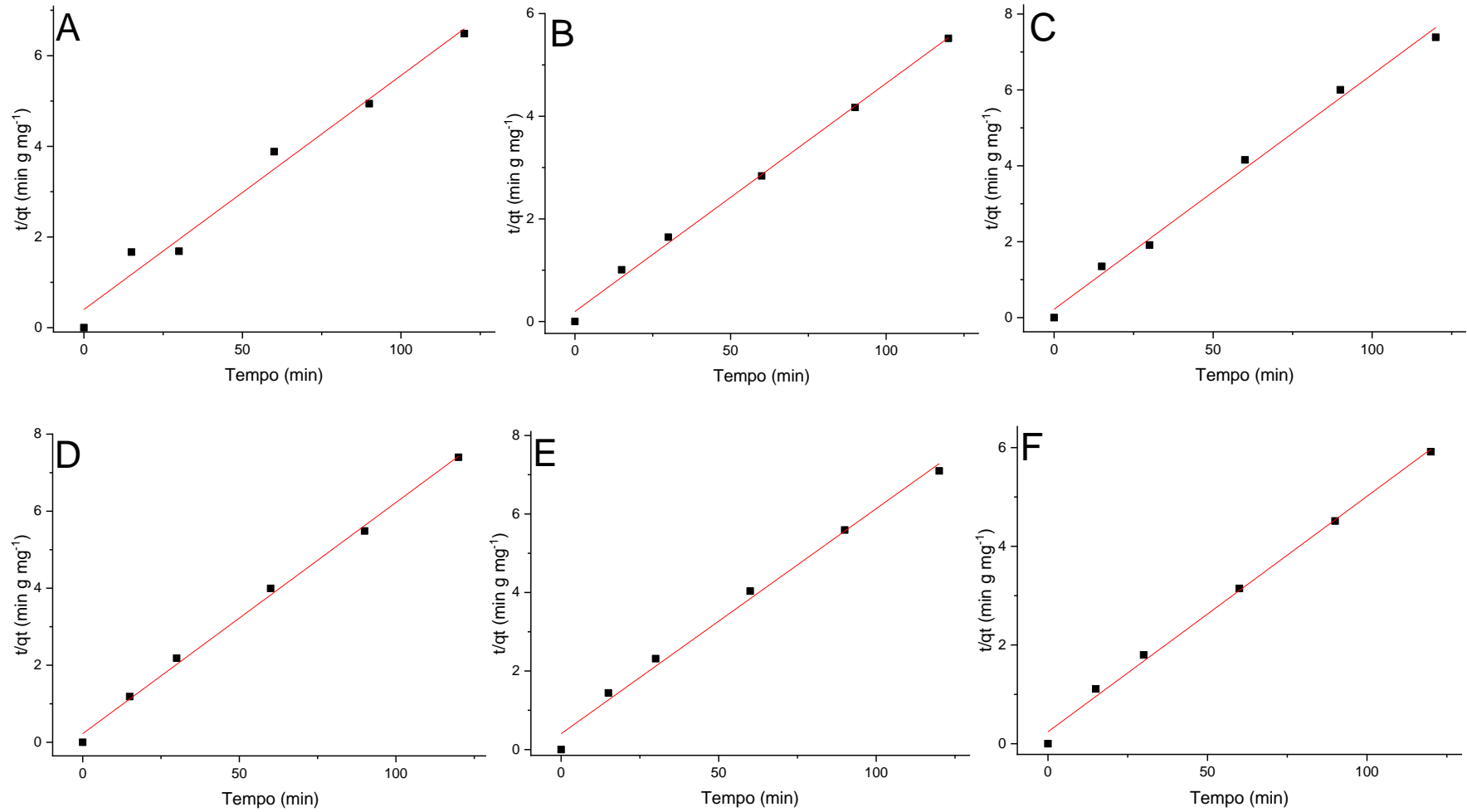


Figura 25: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo segunda ordem aos dados de adsorção dos fármacos isoladamente. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP; (E) CBZ no CAG; (F) CBZ no CAP.

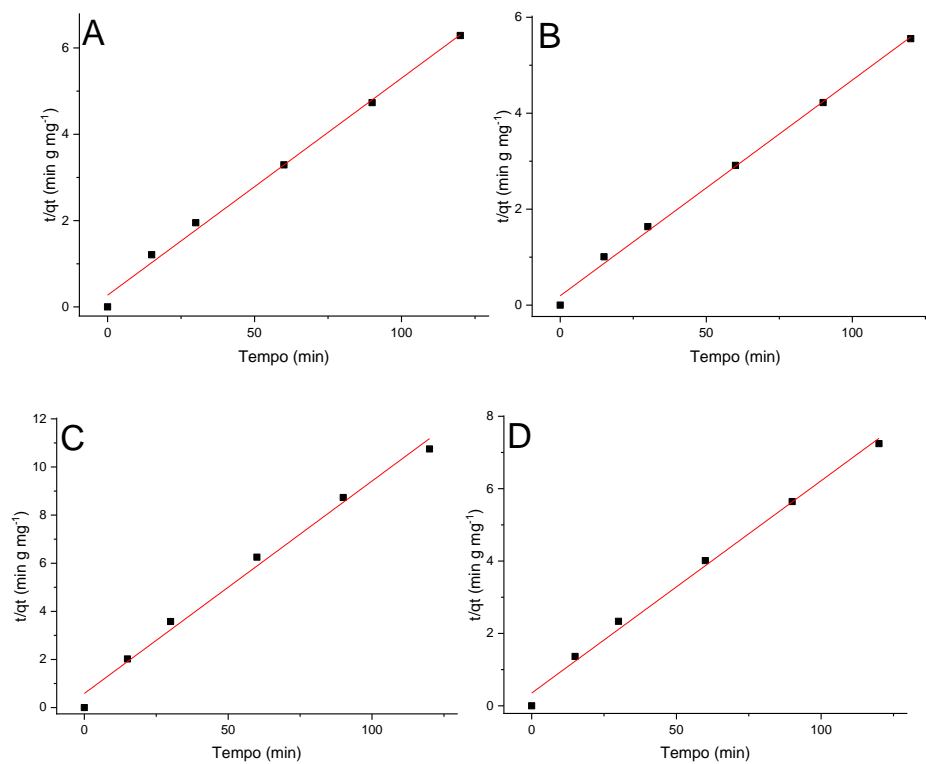


Figura 26: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo segunda ordem aos dados de adsorção da associação RBZ + CAF. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.

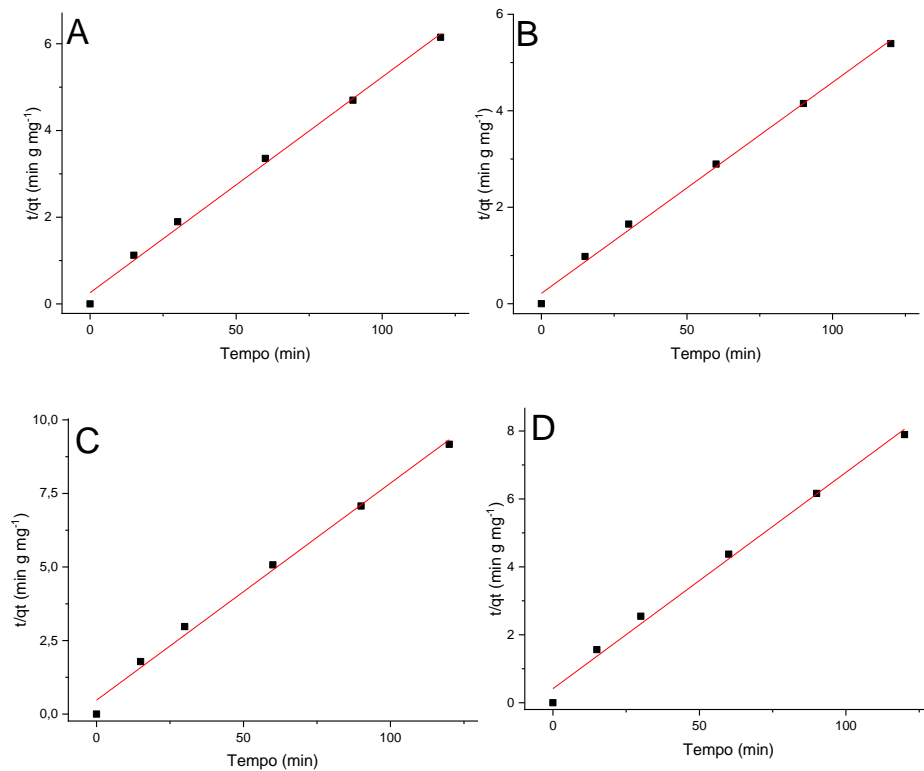


Figura 27: Ajuste linear do modelo cinético de pseudo segunda ordem aos dados de adsorção da associação CBZ + CAF. (A) CBZ no CAG; (B) CBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.

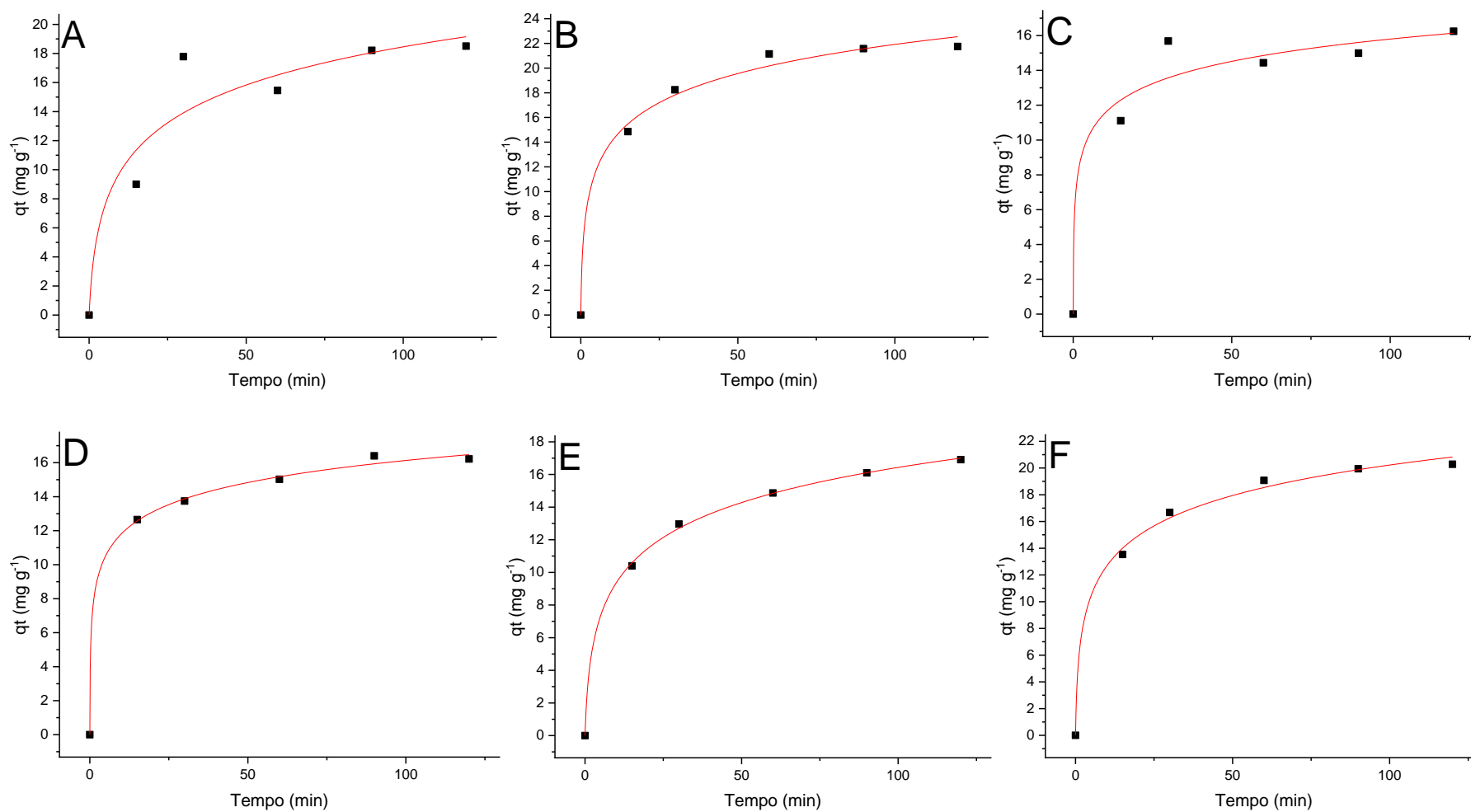


Figura 28 Ajuste do modelo cinético de Elovich aos dados de adsorção dos fármacos isoladamente. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP; (E) CBZ no CAG; (F) CBZ no CAP.

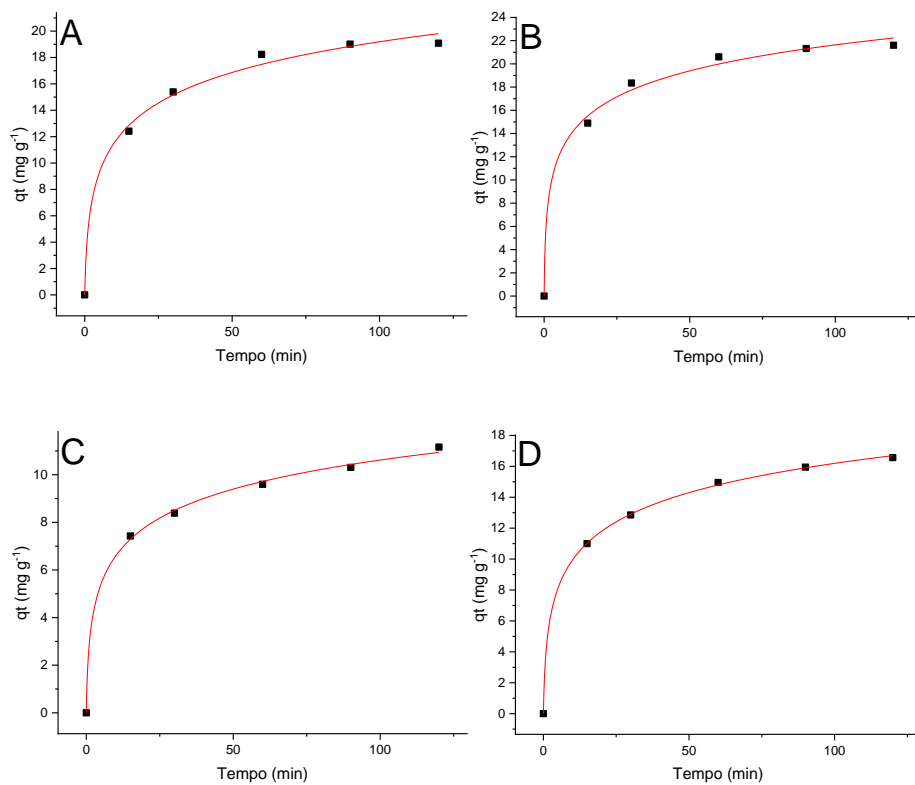


Figura 29: Ajuste do modelo cinético Elovich aos dados de adsorção da associação RBZ + CAF. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.

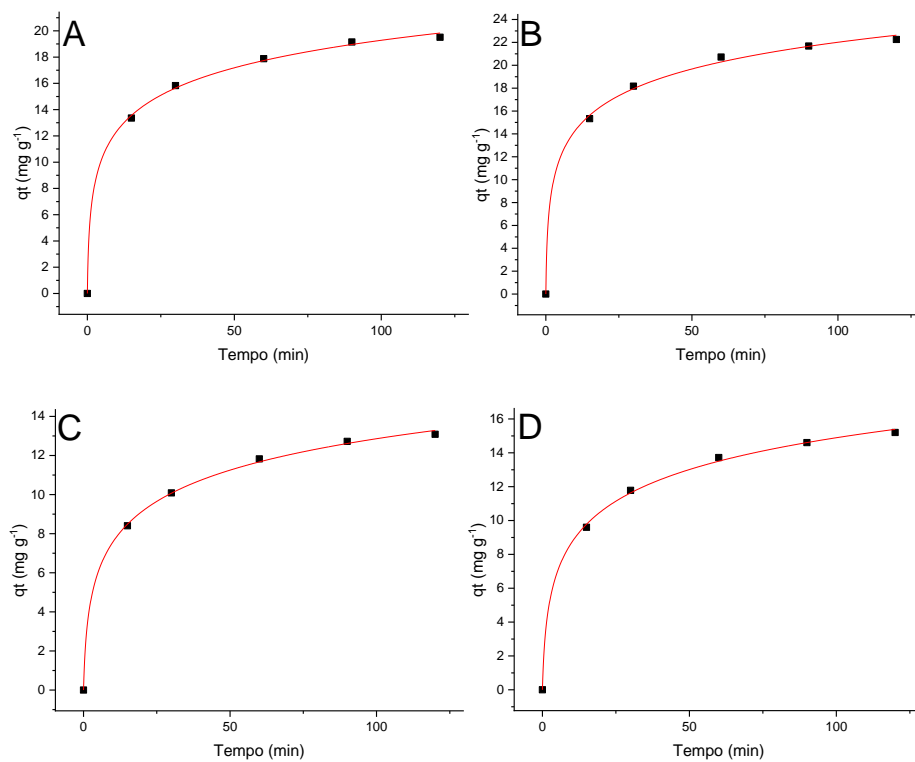


Figura 30: Ajuste do modelo cinético Elovich aos dados de adsorção da associação CBZ + CAF. (A) CBZ no CAG; (B) CBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.

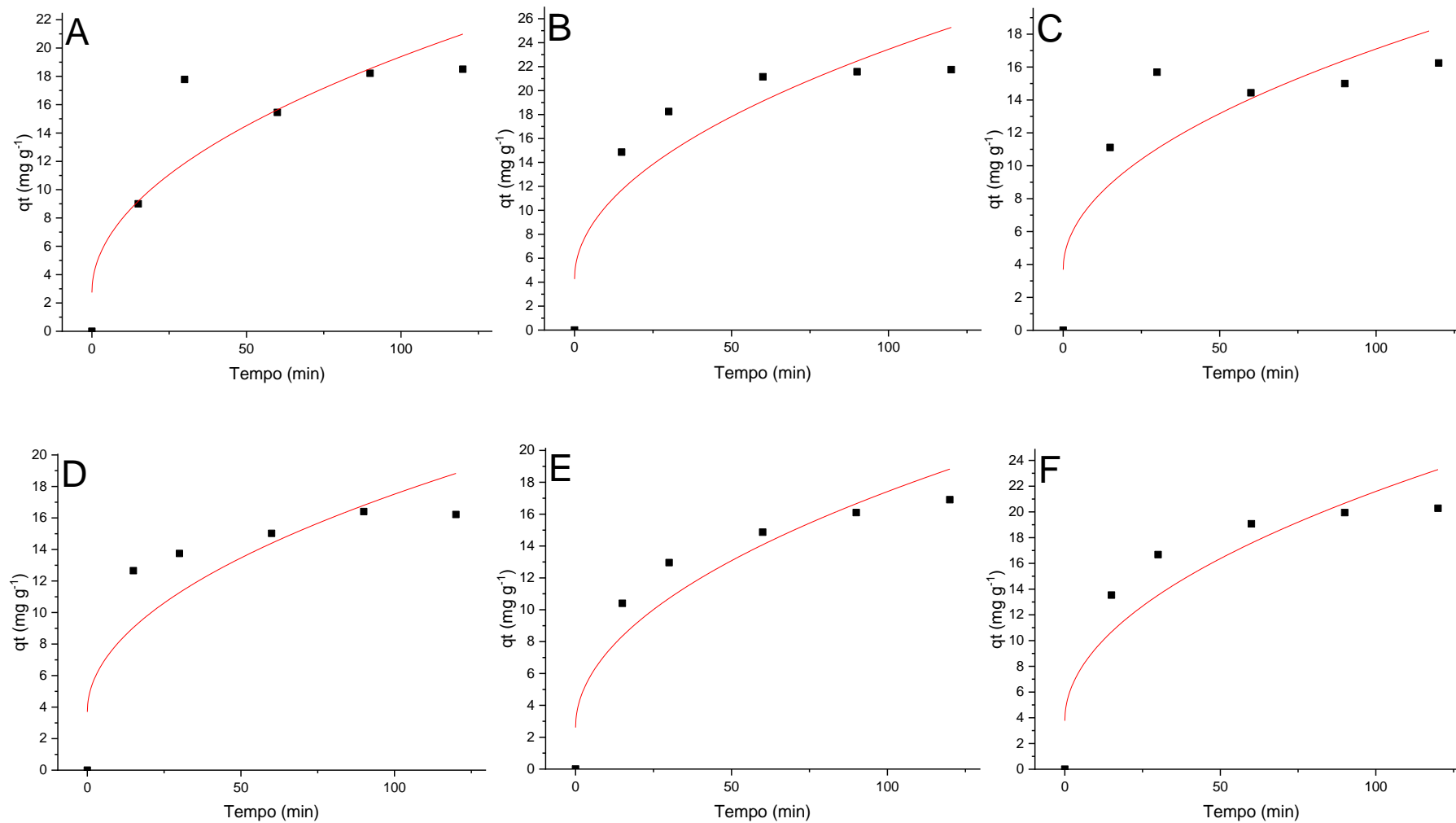


Figura 31: Ajuste do modelo cinético de Weber e Morris aos dados de adsorção dos fármacos isoladamente. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP; (E) CBZ no CAG; (F) CBZ no CAP.

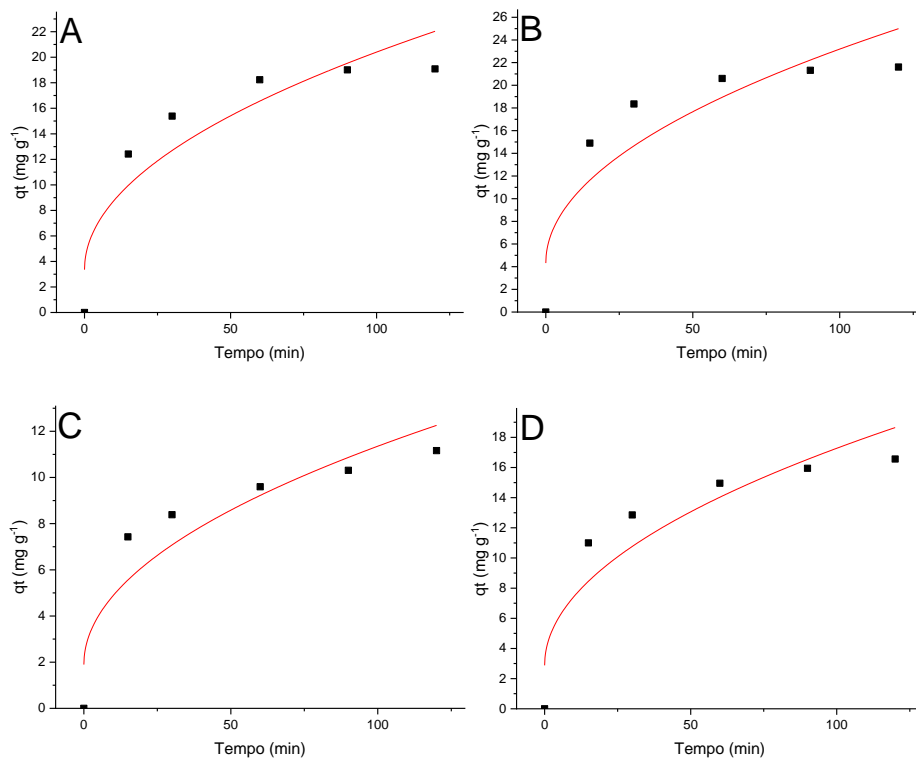


Figura 32: Ajuste do modelo cinético Weber e Morris aos dados de adsorção da associação RBZ + CAF. (A) RBZ no CAG; (B) RBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.

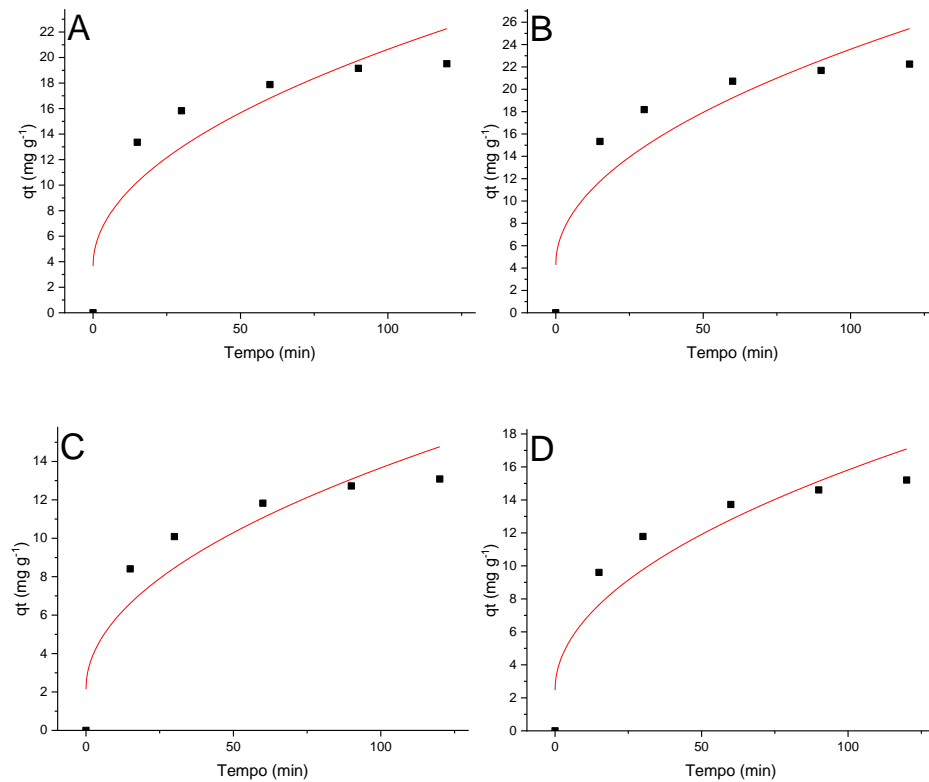


Figura 33: Ajuste do modelo cinético Weber e Morris aos dados de adsorção da associação CBZ + CAF. (A) CBZ no CAG; (B) CBZ no CAP; (C) CAF no CAG; (D) CAF no CAP.

Tabela 24: Parâmetros dos modelos cinéticos de adsorção para o CAG e para CAP. Massa de Carvão: 2,5 mg. Temperatura: 24,4 ± 0,6 °C. pH: 6,8

Fármaco	Associação	Pseudo Primeira Ordem			Pseudo Segunda Ordem			Elovich					
		Quantidade adsorvida por unidade de adsorvente (mg g ⁻¹)	Constante da taxa de adsorção (min ⁻¹)	R ²	Quantidade adsorvida por unidade de adsorvente (mg g ⁻¹)	Constante da taxa de adsorção (g mg ⁻¹ min ⁻¹)	R ²	Taxa de adsorção inicial (mg g ⁻¹ min ⁻¹)	Constante de dessorção (mg g ⁻¹)	R ²	Constante relacionada a resistência à difusão (mg g ⁻¹)	Constante de difusão intrapartícula (mg g ⁻¹ min ^{-0,5})	R ²
CAG													
Ricobendazol	Não	11,87	0,040	0,669	19,37	0,007	0,978	4,67	0,26	0,898	2,74	1,66	0,820
Ricobendazol	CAF	19,75	0,059	0,985	19,89	0,009	0,995	9,93	0,30	0,995	3,35	1,70	0,865
Cafeína	Não	11,08	0,027	0,906	16,16	0,017	0,993	94,92	0,54	0,966	3,68	1,34	0,755
Cafeína	RBZ	7,43	0,026	0,913	11,32	0,013	0,990	7,18	0,57	0,999	1,90	0,95	0,873
Cafeína	CBZ	10,34	0,037	0,981	13,55	0,011	0,993	5,75	0,43	0,999	2,15	1,15	0,883
Carbamazepina	Não	12,62	0,030	0,966	17,33	0,008	0,991	5,93	0,32	0,999	2,61	1,48	0,895
Carbamazepina	CAF	14,92	0,040	0,974	20,10	0,010	0,995	17,53	0,33	0,999	3,67	1,70	0,851
CAP													
Ricobendazol	Não	17,70	0,053	0,991	22,49	0,010	0,996	20,94	0,29	0,994	4,26	1,92	0,837
Ricobendazol	CAF	15,99	0,046	0,983	22,24	0,010	0,997	25,76	0,31	0,996	4,32	1,89	0,831
Cafeína	Não	10,23	0,040	0,853	16,66	0,016	0,997	102,37	0,53	0,998	3,70	1,38	0,792
Cafeína	RBZ	12,05	0,034	0,967	17,04	0,010	0,994	10,00	0,36	0,999	2,88	1,44	0,871
Cafeína	CBZ	11,35	0,034	0,972	15,70	0,010	0,993	6,36	0,37	0,999	2,47	1,33	0,884
Carbamazepina	Não	15,64	0,043	0,986	20,95	0,009	0,996	15,10	0,30	0,997	3,77	1,78	0,852
Carbamazepina	CAF	15,71	0,038	0,970	22,86	0,009	0,996	22,73	0,30	0,999	4,28	1,93	0,844

Os coeficientes de determinação foram, em geral, elevados ($R^2 > 0,800$) (Tabela 24). Todos os fármacos isoladamente e em associações apresentaram melhores ajustes aos modelos de Elovich e pseudo segunda ordem ($R^2 > 0,990$). Estes modelos assumem que o principal limitante do processo é a adsorção química (PÉREZ-MÁRIN et al. 2007; QIU et al. 2009), ou seja, os fármacos em estudo são majoritariamente adsorvidos por quimissorção, mesmo quando estão em soluções multicomponentes. Mestre et al. (2007), Bui e Choi (2009) e Baccar et al. (2012) verificaram, em seus estudos de adsorção com água deionizada, que o modelo de pseudo segunda ordem apresentou melhores ajustes ($R^2 > 0,997$) na adsorção de fármacos (e.g. CBZ, diclofenaco, ibuprofeno, entre outros).

Na presença da CAF, tanto o RBZ quanto a CBZ, apresentaram maiores valores de k_1 e k_2 para o CAG quando comparados aos ensaios sem CAF. Baccar et al. (2012) explicaram que fármacos mais lipofílicos, ou seja, com maiores K_{ow} , tendem a ser adsorvidos mais rapidamente, já que estes apresentam maiores afinidades pelo CA. A CAF apresentou menores valores k_2 para ambos os CA, o que pode ser explicado pela necessidade deste fármaco de competir pelos sítios adsorptivos com o RBZ e a CBZ, fármacos mais lipofílicos (Tabela 3).

Nos ensaios multicomponentes, os valores de taxa de adsorção inicial aumentaram para o RBZ e para CBZ na presença de CAF, o que evidencia o processo acelerado de adsorção desses fármacos quando competem pelos sítios ativos do CA. Os valores de dessorção da CAF, no CAP, nos ensaios multicomponentes, foram superiores aos encontrados nos ensaios com este fármaco isoladamente, o que provavelmente revela um comprometimento na força de adsorção deste fármaco na presença de compostos mais lipofílicos (OLESZCZUK, PAN e XING, 2009).

Os piores ajustes ao modelo de Weber e Morris indicam que o processo de difusão intrapartícula não aparenta ser um fator determinante na taxa de adsorção (NASCIMENTO et al. 2014), ou seja, o processo adsorptivo predomina na superfície do CA (RATNAMALA, SHETTY e SRINIKETHAN, 2012). Baccar et al. (2012) avaliaram os modelos de pseudo primeira ordem, pseudo segunda ordem e Elovich, na adsorção de naproxeno, cetoprofeno, ibuprofeno e diclofenaco por CA. Os autores observaram valores de q_e entre 9,08 e 19,12 mg g^{-1} , mesma faixa de valores observados neste estudo. Os autores também observaram taxas de dessorção superiores às encontradas neste estudo, o que pode ser explicado pelas características do CA utilizado no estudo: menor área superficial ($793 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$), menor quantidade de microporos (7 %) e maior quantidade de mesoporos (83 %). Mestre et al. (2007) avaliaram a cinética de adsorção do ibuprofeno em um CA ultramicroporoso (tamanho do poro $< 0,7 \text{ nm}$) e

outro supermicroproso ($0,7 \text{ nm} < \text{tamanho do poro} < 2,0 \text{ nm}$), e concluíram que o CA de menor largura de poro apresentou maiores taxas de adsorção. Os valores encontrados pelos autores estão na mesma faixa do observado com os CA deste estudo ($0,004 \text{ g mg}^{-1} \text{ min}^{-1} < k_2 < 0,012 \text{ g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$). Apesar de essenciais para o dimensionamento e entendimento do processo de adsorção de fármacos, poucos estudos na literatura almejam estudar a cinética de adsorção de fármacos por CA.

5.3.3 Pré-dimensionamento das unidades de carvão ativado

Di Bernardo, Dantas e Voltan (2017) citaram ser possível o dimensionamento de uma coluna de CAG a partir dos coeficientes da isoterma de Freundlich. A partir disso, foi efetuado o pré-dimensionamento de colunas de CAG, em escala laboratorial, considerando-se uma vazão de 51 L dia^{-1} e uma concentração afluente dos fármacos igual a $500 \mu\text{g L}^{-1}$. As etapas de cálculos para o dimensionamento de uma coluna para remoção de 20% RBZ são descritas a seguir. Os demais fármacos e demais eficiências de remoção seguiram o mesmo raciocínio.

Dados do CAG (Tabela 21):

$$K_{ad} = 124,2 \text{ L g}^{-1}$$

$$n = 1,539$$

$$\text{Densidade do CAG} = 555,6 \text{ g L}^{-1}$$

Equação 9 para $E_f = 20\%$, tem-se:

$$C_e = 0,5 \text{ (mg L}^{-1}\text{)} - \frac{20\%}{100} * 0,5 \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$$

$$C_e = 0,40 \text{ mg L}^{-1}$$

Equação 10 para $q_e = q_{e0}$, tem-se:

$$q_e = 124,2 \text{ (L g}^{-1}\text{)} * 0,20 \text{ (mg L}^{-1}\text{)}^{1/1,539}$$

$$q_e = 68,49 \text{ mg g}^{-1}$$

Equação 11:

$$TU = \frac{0,50 \text{ (mg L}^{-1}\text{)} - 0,40 \text{ (mg L}^{-1}\text{)}}{68,49 \text{ (mg g}^{-1}\text{)}}$$

$$TU = 0,00146 \text{ gCAG L}^{-1} = 1,46 \text{ mgCAG L}^{-1}$$

Equação 12:

$$TV = \frac{68,49 \text{ (mg g}^{-1}\text{)} * 555,6 \text{ (g L}^{-1}\text{)}}{0,50 \text{ (mg L}^{-1}\text{)} - 0,40 \text{ (mg L}^{-1}\text{)}}$$

$$TV = 380525,1 \text{ L} \text{águ} \text{a LCAG}^{-1}$$

Assumindo tempo de regeneração de 2 anos (DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017), calculou-se $V_{\text{águ} \text{a}}$ pela Equação 13:

$$V_{\text{água}} = 51 (L \text{ dia}^{-1}) * 365 (\text{dia}) * 2 (\text{ano})$$

$$V_{\text{água}} = 37230 L$$

Calculou-se a M_{CAG} pelas Equações 14 e 15:

$$V_{CAG} = \frac{37230 (L)}{380525,1 (L\text{água } LCAG^{-1})}$$

$$V_{CAG} = 0,10 L_{CAG}$$

$$M_{CAG} = 555,6 (g L^{-1}) * 0,10 (L_{CAG}) * 10^{-3}$$

$$M_{CAG} = 0,05 kg = 50 g$$

Assumindo $TAS = 180 m^3 m^{-2} \text{ dia}^{-1}$, calculou-se ACP pela Equação 16:

$$ACP = \frac{0,051(m^3 \text{ dia}^{-1})}{180 (m^3 m^{-2} \text{ dia}^{-1})}$$

$$ACP = 2,8 * 10^{-4} m^2$$

Pela Equação 17, calculou-se h :

$$h = \frac{0,05 kg}{555,6 (g L^{-1}) * 2,8 * 10^{-4} (m^2)}$$

$$h = 0,35 m$$

Ou seja, para uma concentração afluyente de RBZ de $500 \mu g L^{-1}$, seria necessária uma coluna com altura de leito de aproximadamente 35 cm e diâmetro de 19 mm (área em planta de $2,8 \text{ cm}^2$) para remover 20% do RBZ. As Figuras 34, 35, 36 e 37 apresentam TU , TV , M_{CAG} e altura da coluna, respectivamente, para os demais fármacos, considerando-se as eficiências de remoção de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.

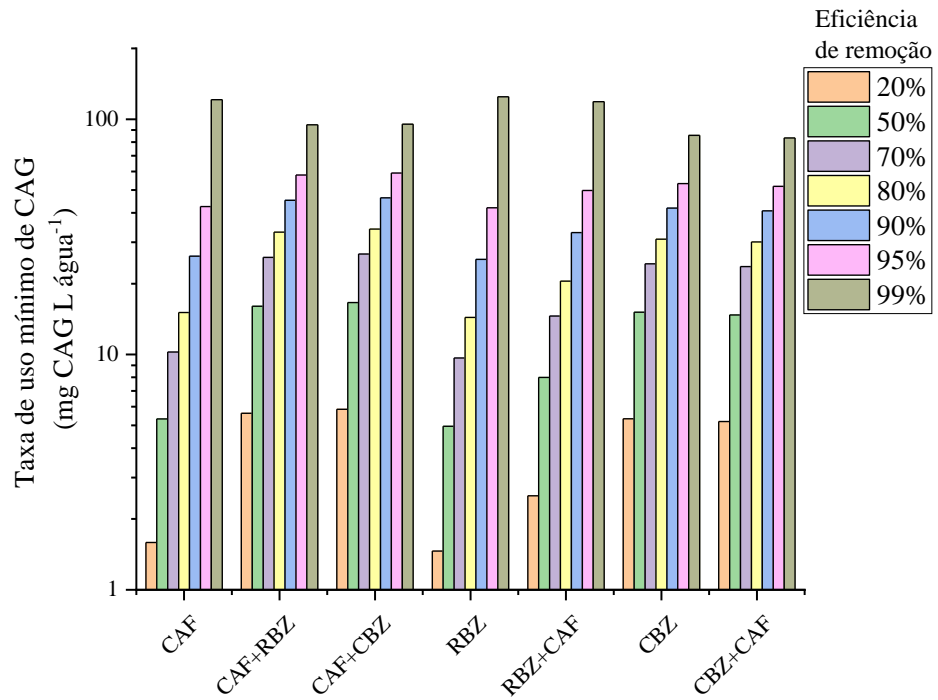


Figura 34: Taxa de uso do CAG para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.

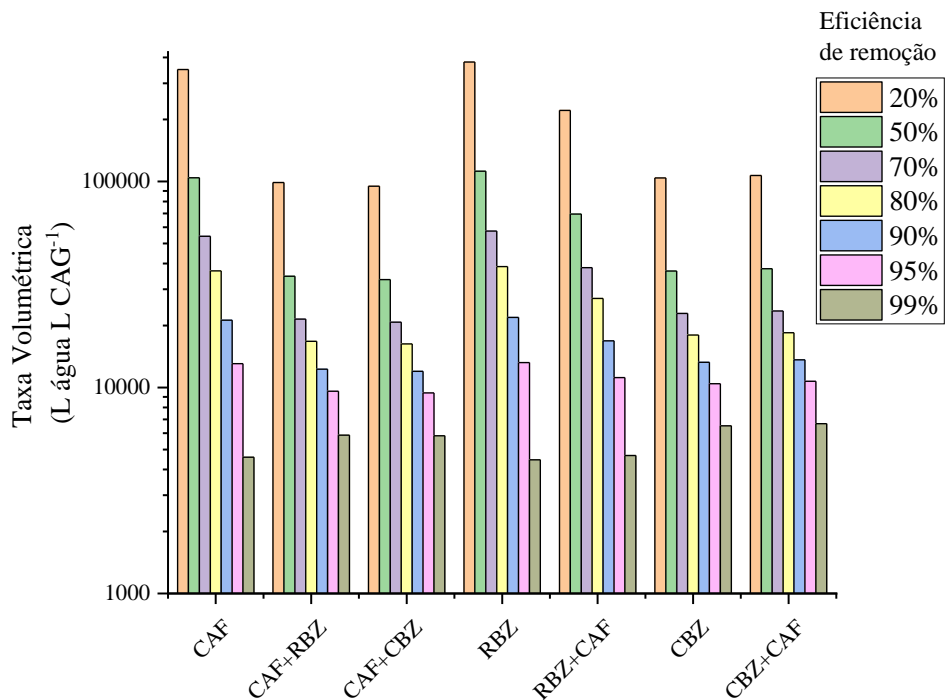


Figura 35: Taxa volumétrica de aplicação em escala logarítmica para o CAG para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.

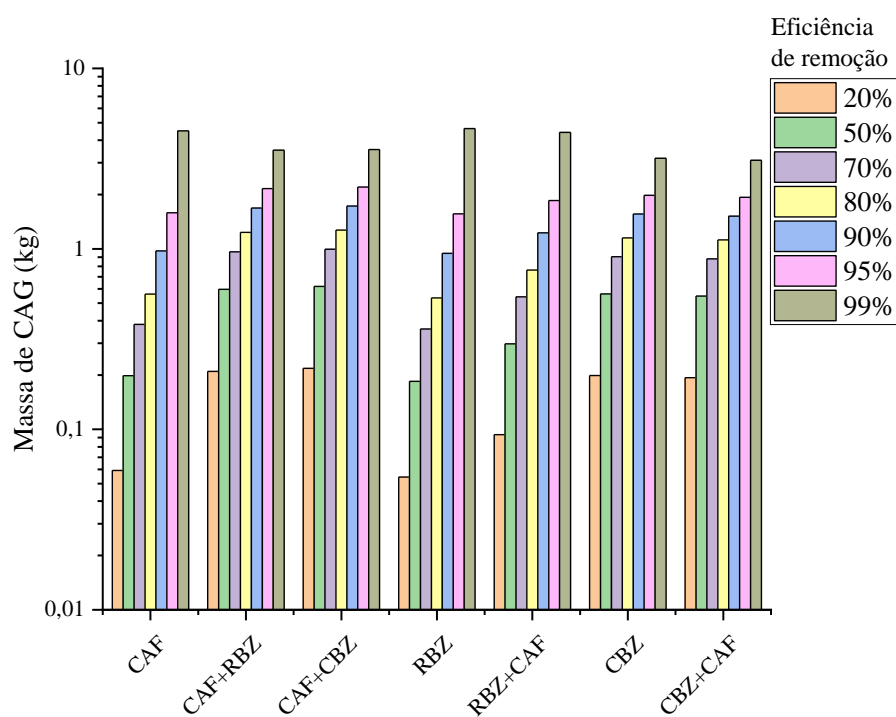


Figura 36: Massa de CAG em escala logarítmica necessária para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.

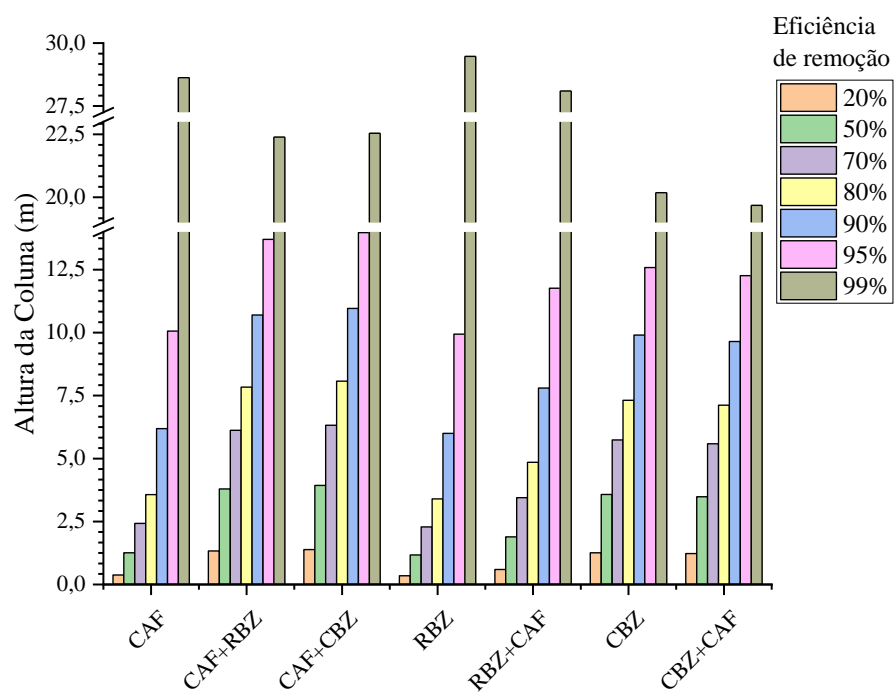


Figura 37: Altura da coluna de CAG necessária para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.

Avaliou-se o impacto da variação da vazão afluyente às colunas na massa de CAG necessária para remoção de 90% dos fármacos (Figura 38). Nesta etapa, destaca-se que para ensaios com vazões acima de $1 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$ seriam necessários mais de 10 kg de CAG, o que torna os ensaios em escala laboratorial inviáveis.

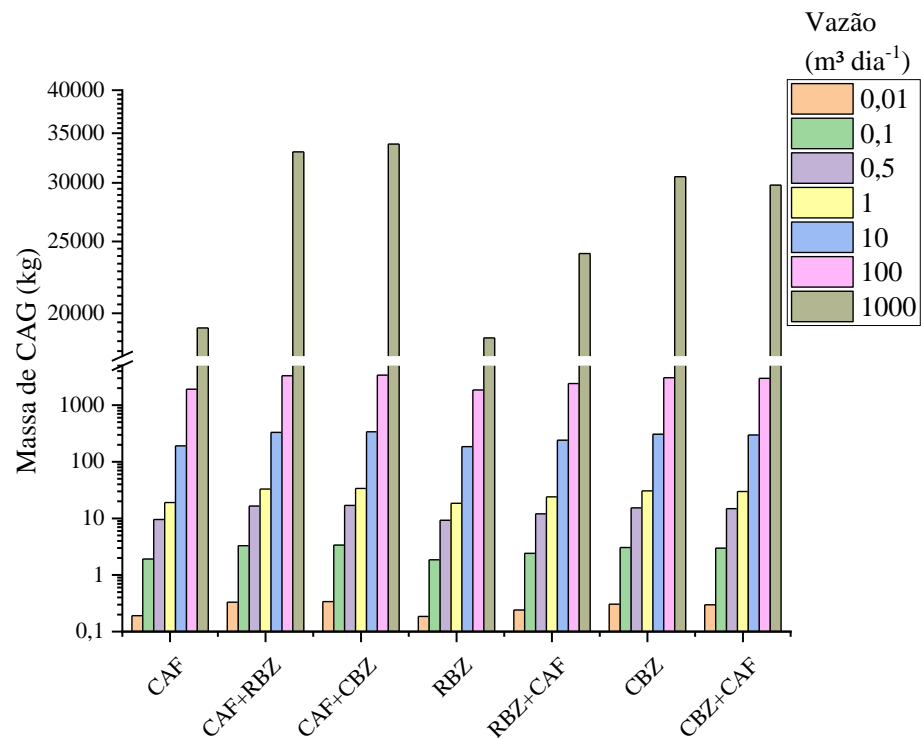


Figura 38: Massa de CAG necessária para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando eficiências de 90% de remoção e variando-se a vazão.

Para se avaliar a influência da TAS sobre a altura das colunas, fixou-se a eficiência de remoção desejada em 90% e calcularam-se as alturas de coluna necessárias para remoção dos fármacos (Figura 39). Destaca-se que para a remoção de 90% de CAF na presença do RBZ ou CBZ, seriam necessárias colunas com alturas superiores a 5 m, mesmo para TAS de $100 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$.

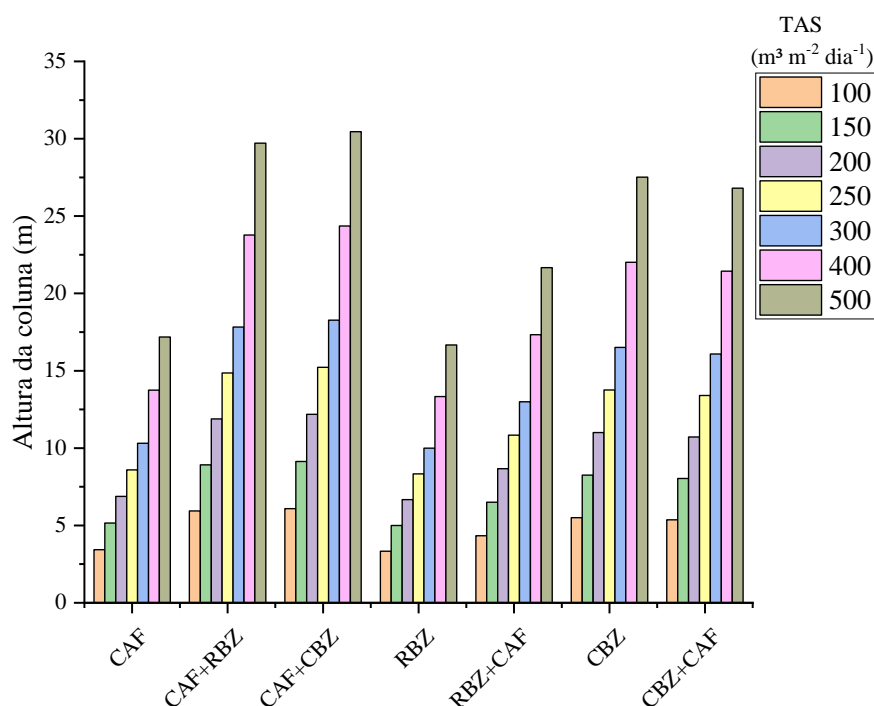


Figura 39: Altura da coluna de CAG necessária para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 90% e variando-se a taxa de aplicação superficial.

As colunas de CAG para os ensaios laboratoriais demandariam alturas superiores a 5 m para a remoção de 90% dos fármacos (Figura 39). Dessa forma, optou-se por utilizar a metodologia ERCER, descrita por Di Bernardo, Dantas e Voltan (2017) para realizar um novo pré-dimensionamento, almejando-se colunas com parâmetros viáveis para ensaios laboratoriais. A metodologia ERCER é baseada nas dimensões do grão de CA e visa diminuir a escala dos ensaios em leito fixo, o que propicia uma rápida aquisição de resultados, sem a perda de eficiência (DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017). Assim, com o auxílio das Equações 18, 19, 20, 21 e 22, calculou-se o $TCLV_{red}$ e a h_{red} . As etapas de cálculo para a determinação dos parâmetros da coluna para o ERCER, almejando-se 20% de remoção do RBZ, são descritas a seguir. Os demais fármacos e as demais eficiências desejadas seguiram o mesmo raciocínio.

Calculou-se o $TCLV$ pela Equação 18:

$$TCLV = \frac{0,0028 (m^2) * 6,00 (m)}{3,54 * 10^{-5} (m^3 \text{ minuto}^{-1})}$$

$$TCLV = 2,76 \text{ minutos}$$

Assumindo $d_{p,piloto} = 1,193 \text{ mm}$, $d_{p,reduzido} = 0,15 \text{ mm}$ e $X = 0$ (DI BERNARDO, DANTAS e VOLTAN, 2017), calculou-se o $TCLV_{red}$ e o TAS_{red} pelas Equações 19 e 20:

$$TCLV_{red} = 48,01 \text{ (min)} * \left(\frac{1,193 \text{ (mm)}}{0,15 \text{ (mm)}} \right)^{2-0}$$

$$TCLV_{red} = 0,04 \text{ min} = 2,4 \text{ segundos}$$

$$TAS_{red} = 180 \text{ (m}^3\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1}) * \left(\frac{1,193 \text{ (mm)}}{0,15 \text{ (mm)}} \right)$$

$$TAS_{red} = 1432,2 \text{ m}^3\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1}$$

Pelas Equações 21 e 22, calculou-se o Q_{ERCER} e o h_{red} , respectivamente:

$$Q_{ERCER} = \frac{1432,2 \text{ (m}^3\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1}) * 2,8 * 10^{-4} \text{ (m}^2)}{24}$$

$$Q_{ERCER} = 0,017 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$$

$$h_{red} = 0,76 \text{ (min)} * \frac{1432,2 \text{ (m}^3\text{m}^{-2}\text{dia}^{-1})}{1440}$$

$$h_{red} = 0,04$$

Assim, para a remoção de 20% de RBZ (concentração afluente de RBZ de $500 \mu\text{g L}^{-1}$) com o uso do CAG, por meio do ERCER, seria necessário um filtro com altura de leito de aproximadamente 4 cm e diâmetro de 19 mm (área em planta de 2,8 cm). As Figuras 40 e 41 apresentam a $TCLV_{red}$ e h_{red} , respectivamente, para os demais fármacos e eficiências.

Segundo Di Bernardo, Dantas e Voltan (2017) é possível ainda relacionar o tempo de transpasse obtido com o ERCER com o do ensaio laboratorial. Dessa forma, por meio da Equação 23, obteve-se que a relação entre o tempo de transpasse do ensaio laboratorial e o tempo de transpasse observado no ERCER é de 63,3 vezes, ou seja, se o tempo de transpasse no ERCER for de 1 min, o tempo no ensaio laboratorial seria de 63,3 min. Destaca-se que as alturas das colunas de CAG, para o ERCER, possuiriam menos do que 10% do tamanho das colunas necessárias para o ensaio em escala laboratorial, o que tornaria o experimento mais viável.

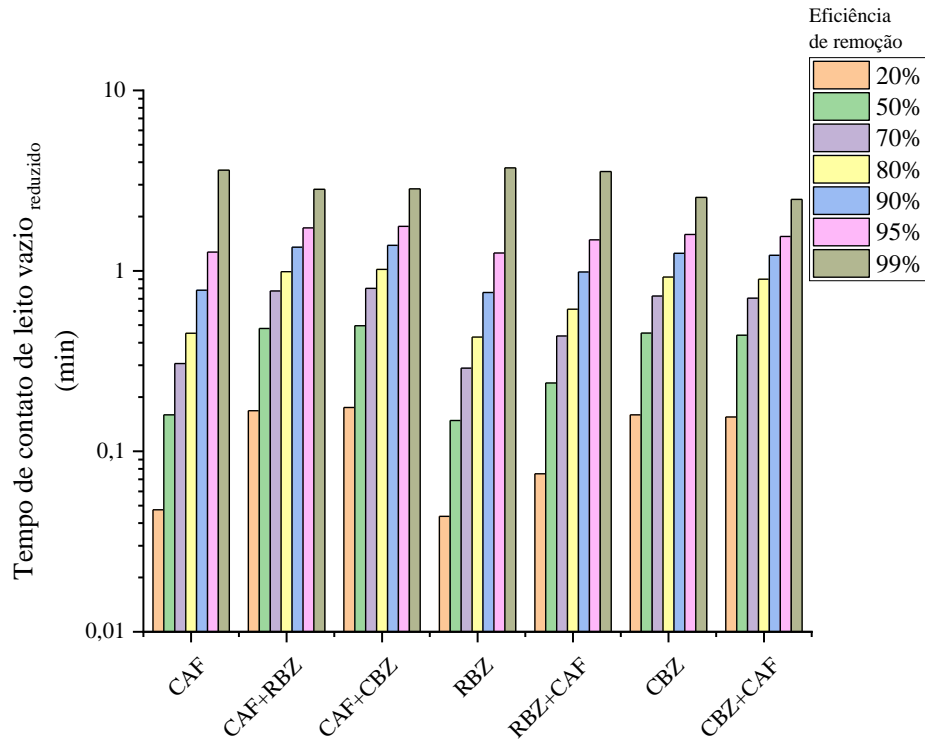


Figura 40: Tempo de contato de leito vazio para ensaios ERCER, visando a remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações.

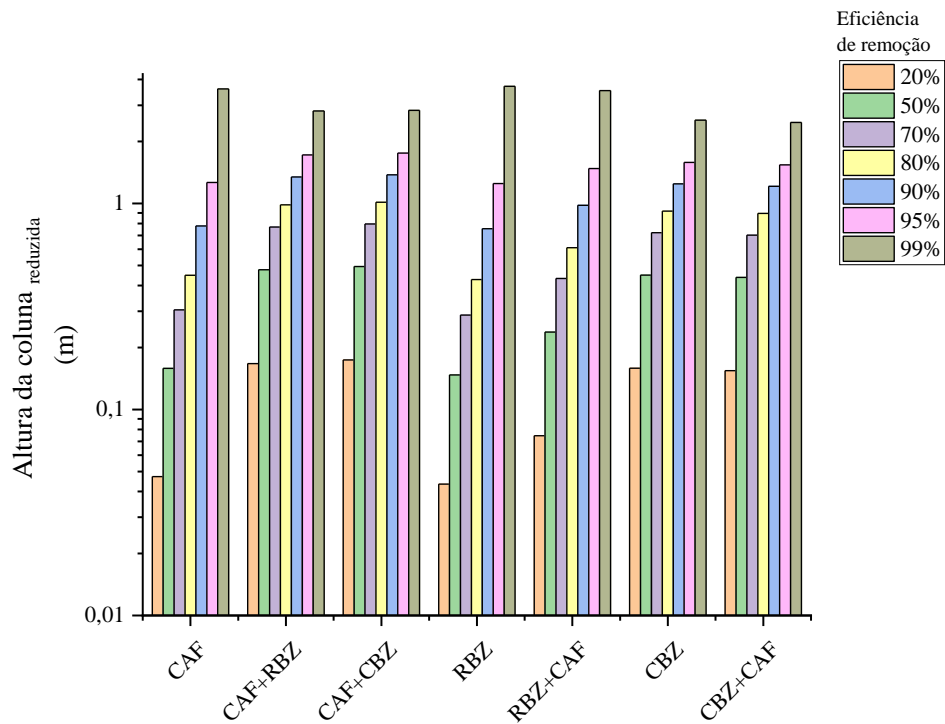


Figura 41: Altura da coluna de CAG para ensaios ERCER, visando a remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações.

Di Bernardo, Dantas e Voltan (2017) também citaram ser possível determinar-se a dosagem de CAP necessária para remoção de contaminantes a partir dos coeficientes da isoterma de Freundlich. A partir disso, calculou-se a dosagem mínima de CAP para remoção do RBZ, CAF e da CBZ, além das associações RBZ + CAF e CBZ + CAF, considerando-se uma concentração afluyente de $500 \mu\text{g L}^{-1}$. As etapas de cálculos para a determinação da dosagem de CAP para remoção de 20% RBZ são descritas a seguir. Os demais fármacos e as demais eficiências desejadas seguiram o mesmo raciocínio.

Dados do CAP (Tabela 21):

$$K_{ad} = 145,8 \text{ L g}^{-1}$$

$$n = 1,286$$

Equação 9 para $E_f = 20\%$, tem-se:

$$C_e = 0,5 \text{ (mg L}^{-1}\text{)} - \frac{20\%}{100} * 0,5 \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$$

$$C_e = 0,4 \text{ mg L}^{-1}$$

Equação 10 para $q_e = q_{e0}$, tem-se:

$$q_e = 145,8 \text{ (L g}^{-1}\text{)} * 0,05 \text{ (mg L}^{-1}\text{)}^{1/1,286}$$

$$q_e = 71,52 \text{ mg g}^{-1}$$

Equação 24:

$$D_{CAPmin} = \frac{0,5 \text{ (mg L}^{-1}\text{)} - 0,05 \text{ (mg L}^{-1}\text{)}}{71,52 \text{ (mg g}^{-1}\text{)}}$$

$$D_{CAPmin} = 1,40 \text{ mg L}^{-1}$$

Ou seja, para remoção de 20% de RBZ, seria necessária uma dosagem de $1,40 \text{ mg L}^{-1}$ de CAP. A Figura 42 sintetiza as dosagens para remoção dos demais fármacos, considerando-se as eficiências de remoção de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.

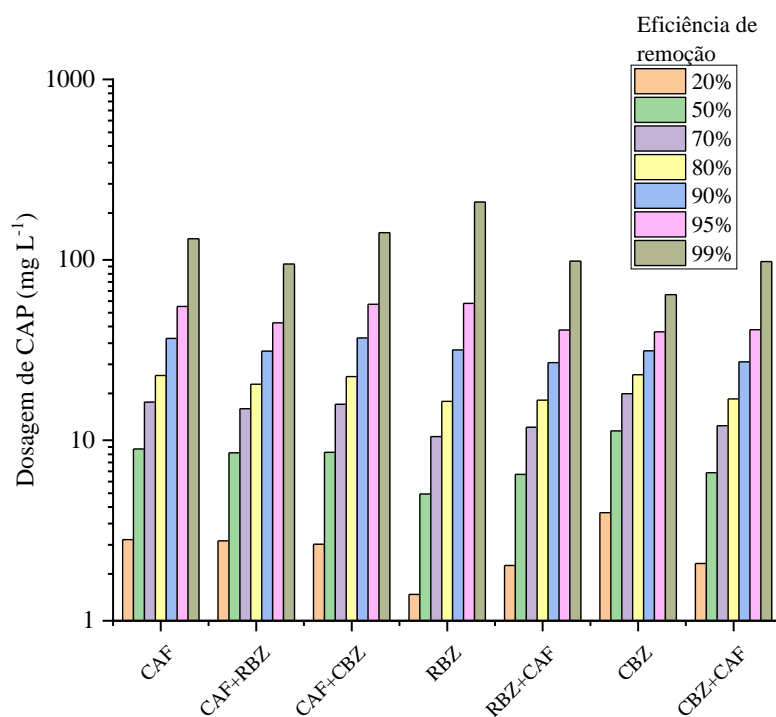


Figura 42: Dosagem de CAP (mg L^{-1}) necessária, em escala logarítmica, para remoção dos fármacos RBZ, CAF e CBZ, e suas associações, considerando-se eficiências de 20%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% e 99%.

O pré-dimensionamento em escala laboratorial para remoção de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ dos fármacos mostrou valores elevados para alguns dos parâmetros (e.g. altura da coluna, massa de CAG, o que inviabilizaria a realização dos ensaios. O uso do ERCER se mostrou uma solução interessante, uma vez que reduziu em até 90% a altura das colunas e acelerou o tempo de transpasse em 63,3 vezes, o que propiciaria uma aquisição de dados mais rápidas, condizente com as análises laboratoriais. O uso do CAP, como alternativa para remoção dos fármacos, se mostrou uma solução interessante, visto que com 40 mg L^{-1} de CAP todos os fármacos e as associações apresentariam remoções superiores a 90%.

6. CONCLUSÕES

Os testes de ecotoxicidade com a microalga *R. subcapitata* e os ensaios de adsorção para a investigação do potencial de uso desta técnica como tratamento avançado de águas, com auxílio do desenvolvimento de um método SPE-UHPLC-MS/MS para a quantificação dos fármacos de interesse (ABZ, RBZ, CBZ e CAF), permitiram que fossem estabelecidas algumas conclusões.

Em relação aos ensaios ecotoxicológicos:

- ✓ Considerando-se as condições estudadas, todos os fármacos isoladamente causaram toxicidade a microalga *R. subcapitata*, afetando ao menos um de seus parâmetros;
- ✓ O ABZ se mostrou mais tóxico para a taxa de crescimento e para a densidade celular máxima da *R. subcapitata*. Tais resultados provavelmente ocorreram devido ao mecanismo de ação deste fármaco nas células. Futuramente, será necessário se avaliar mais profundamente o mecanismo de toxicidade deste fármaco sobre microalgas;
- ✓ A CBZ se mostrou mais tóxica para a produção de clorofila-a. Tal resultado provavelmente ocorreu devido à CBZ apresentar um mecanismo de inibição específico para a protoclorofila, diferentemente dos demais fármacos estudados;
- ✓ Os ensaios com as associações entre ABZ + CAF e CBZ + CAF indicaram os efeitos antioxidantes da CAF. A presença da CAF atenuou os efeitos do ABZ e da CBZ sobre clorofila-a, taxa de crescimento e velocidade de crescimento da *R. subcapitata*;
- ✓ Os bioensaios realizados revelaram mais um parâmetro complexo na avaliação ecotoxicológica de fármacos. Os fármacos afetaram de maneiras distintas os parâmetros de crescimento e de desenvolvimento da *R. subcapitata*. Ademais, reforça-se que estudos em associação se mostram essenciais na tentativa de reproduzir as condições reais de exposição ambiental da biota aquática aos fármacos.

Em relação aos ensaios de adsorção por CA:

- ✓ O CAP se mostrou mais eficiente para a remoção dos fármacos de interesse. Dentre as características avaliadas, sua maior capacidade de remoção foi relacionada a maior variedade no tamanho dos poros em comparação ao CAG. Tal característica, principalmente nos ensaios multicomponentes, se mostra interessante, pois reduz a competição pelos sítios ativos por fármacos com características físico-químicas distintas (volume e massa molar);
- ✓ O modelo de Freundlich, que considera a superfície do adsorvente como heterogênea foi melhor ajustados aos dados de adsorção obtidos isoterma. Na presença de multicomponentes, o modelo de melhor ajuste não se alterou;

✓ A presença da CAF nos ensaios multicomponentes reduziu a quantidade removida da CBZ (7%). A presença do RBZ e da CBZ por sua vez, nos ensaios multicomponentes com a CAF, reduziram a remoção da CAF em cerca de 30%. Dessa forma, os ensaios revelaram que os fármacos mais lipofílicos apresentaram maiores potenciais de remoção quando combinados com outros componentes. A presença de fármacos em estações de tratamento representa um novo desafio. Assim ensaios multicomponentes se mostram uma alternativa interessante para se avaliar a real remoção desses CPE nessas estações. Futuramente, tecnologias para remoção de fármacos hidrofílicos, quando estes encontram-se em presença de CPE mais lipofílicos, precisam ser avaliadas;

✓ De modo geral, os melhores ajustes cinéticos foram propiciados pelos modelos de Elovich e de pseudo segunda ordem, nos quais o principal limitante do processo é a adsorção química. Ademais, na presença de multicomponentes ocorreu um aumento na taxa de dessorção da cafeína. Nas estações de tratamento, a cinética de adsorção pode influenciar o projeto de suas estruturas, alterando o tempo de detenção hidráulica dos sistemas e, conseqüentemente, o volume e as áreas das unidades da estação;

✓ Para melhor entendimento do processo de adsorção, o uso de colunas de CAG é um próximo passo recomendável. Para isso, foram pré-dimensionadas colunas para ERCER para a remoção dos fármacos de interesse. O uso dessas colunas propicia uma rápida aquisição de dados, com parâmetros de dimensionamento (e.g. altura da coluna) viáveis para realização de ensaios dentro de laboratórios.

Os resultados deste estudo poderão servir como base de dados para a implementação de novas legislações acerca desses contaminantes no ambiente aquático e, ainda, amparar a elaboração de políticas públicas voltadas ao gerenciamento dos recursos hídricos, assegurando a conservação e a manutenção da qualidade dos corpos hídricos. Assim, este estudo encerra-se com a seguinte reflexão do médico e filósofo suíço, Paracelsus:

“Todas as substâncias são venenos: não existe nenhuma que não seja. A dose correta diferencia um remédio de um veneno”.

7. **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABNT- Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT NBR 15088: **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com peixes (*Cyprinidae*)**. Rio de Janeiro: ABNT, 2016.

Aguirre-Martínez, G.V., Delvalls, A.T., Martín-Díaz, M. Yes, caffeine, ibuprofen, carbamazepine, novobiocin and tamoxifen have an effect on *Corbicula fluminea* (Müller, 1774). **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 120, p. 142-154, 2015.

Alygizakis, N.A., Gago-Ferrero, P., Borova, V.L.; Pavlidou, A., Hatzianestis, I.; THOMAIDIS, N.S. Occurrence and spatial distribution of 158 pharmaceuticals, drugs of abuse and related metabolites in offshore seawater. **Science of the Total Environment**, v. 541, p. 1097–1105, 2016

American Psychiatric Association. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**. American Psychiatric Association, 2013.

Aquino, S. F.; Brandt, E. M. F.; Chernicharo, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187-204, 2013.

Araújo, L. S. **Comparação do desempenho de carvão ativado produzido a partir de diferentes matrizes para remoção de microcistina-LR de águas de abastecimento**. 2017. 117 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

Archer, E., Petrie, B., Kasprzyk-Horden, B., Wolfaardt, G. M. The fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), endocrine disrupting contaminants (EDCs), metabolites and illicit drugs in a WWTW and environmental waters. **Chemosphere**, v. 174, p. 437–446, 2017.

Ardrey, R. E. **Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: An introduction**. 1^a ed. 2003. **Wiltshire: Jonh Wiley & Sons, Ltd**. 276 p.

Arpin-Point, L., Bueno, M. J., Gomez, E., Fenet, H., Occurrence of PPCPs in the marine environment: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, p. 4978-4991, 2016.

Ashihara, H., Sano, H., Crozier, A. A Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. **Phytochemistry**, v. 69, p. 841-856, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12648**: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (*Chlophyceae*). 2 ed. Rio de Janeiro: Abnt, 2018. 27 p.

ASTM. D 3860: Standard Practice for Determination of Adsorptive Capacity of Activated Carbon by Aqueous Phase Isotherm Technique. Wes Conshohocken, 2014.

Baccar, R., Sarrà, M., Bouzid, J., Feki, M., Blánquez, P. Removal of pharmaceutical compounds by activated carbon prepared from agricultural by-product. **Chemical Engineering Journal**, v. 211-212, p. 310-317, 2012.

Baquero, F., Martínez, J. L., Cantón, R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 19, p. 260-265, 2008.

Bendz D, Paxéus N. A., Ginn, T. R., Loge, F. J. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Høje River in Sweden. **J Hazard Materials** v.122, p. 195–204, 2005.

Bernard, K. **Top 10 Coffee Consuming Nations.** Disponível em: <http://www.wordatlas.com/articles/100014-top-10-coffe-consuming-nations> acesso em: setembro de 2019.

Bottoni, P. e Caroli, S., Detection and quantification of residues and metabolites of medicinal products in environmental compartments, food commodities and workplaces. A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 106, p. 3-24, 2015.

Boxall, A. B. A.; Fogg, L. A.; Blackwell, P. A.; Blackwell, P.; Kay, P.; Pemberton, E. J., Croxford, A., Veterinary Medicines in the Environment, em *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. **Springer New York**. p. 1-91, 2004.

Bu, Q.; Shi, X.; Yu, G.; Huang, J.; Wang, B. Assessing the persistence of pharmaceuticals in the aquatic environment: **Challenges and need. Emerging Contaminants**, v. 2, p. 145-147, 2016.

Buchberger, W. W., Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 603-618, 2011.

Bui, T. X., Choi, H. Adsorptive removal of selected pharmaceuticals by mesoporous silica SBA-15. **Journal of Hazardous Materials**, v. 168, p. 602-608, 2009.

Caianelo, M., Rodrigues-Silva, C., Maniero, M. G., Guimarães, J. R. Antimicrobial Activity against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria during Gatifloxacin Degradation

by Hydroxyl Radicals. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 14, p. 6288-6298, 2016.

Calleja, M. C., Persoone, G., Geladi, P. Comparative acute toxicity of the first 50 multicentre evaluation of in vitro cytotoxicity chemicals to aquatic non-vertebrates. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 26, p. 69-78, 1994.

Camargo, M. C. R.; Toledo, M C. F.; Farah, H. G. Caffeine daily intake from dietary sources in Brazil. **Food Additives and Contaminants**. V. 16, n.2. p. 19.87, 1999

Campanha, M. B., Awan, A. T. De Sousa, D. N. Grosseli G. M., Mozeto, A. A., Fadini, P. S. A 3-year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of Sao Paulo State of Southeast Brazil. **Environ. Sci. and Pollution Research**, v. 22, p. 7937-7937, 2015.

Campos, O. S. **Estudo da oxidação eletroquímica da cafeína utilizando eletrodo de carbono vítreo**. 2016. 151 f. Tese (Doutorado) – Curso de Química, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Canela, M. C., Jardim, W. F., Sodré, F. F., Grassi, M. T. 2014. Cafeína Em águas de Abastecimento público no Brasil. Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas–INCTAA, Editora Cubo, São Carlos, 96p.

Cao, J., Goldhan, J., Martin, K., Köhler, J. M. Investigation of mixture toxicity of widely used drugs caffeine and ampicillin in the presence of an ACE inhibitor on bacterial growth using droplet-based microfluidic technique. **Green Process Synth**, v. 2, p. 591-601, 2013.

Carabineiro, S. A. C., Thavorn-amornsri, T., Pereira, M. F. R., Serp, P., Figueiredo, J. L. Comparison between activated carbon, carbon xerogel and carbon nanotubes for the adsorption of the antibiotic ciprofloxacin. **Catalysis Today**. v. 186, n. 1, p.29-34, jun. 2012.

Carlsson, G., Patring, J., Kreuger, J., Norrgren, L. & Oskarsson, A. Toxicity of 15 veterinary pharmaceuticals in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Aquatic Toxicology**. v. 126, p. 30-41, 2013

Casali-Pereira, M. P. 2013. **Efeitos do agrotóxico Vertimec 18 EC para o zooplâncton e fitoplâncton: análises laboratoriais com o produto comercial e amostras de mesocosmos artificialmente contaminados**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo. 2013.

Celiz, M. D., Tso, J., Aga, D. S. PHARMACEUTICAL METABOLITES IN THE ENVIRONMENT: ANALYTICAL CHALLENGES AND ECOLOGICAL RISKS. **Environ Toxicol and Chem**, v. 28, p. 2473-2484, 2009.

Chassaing, C.; Berger, M.; Heckerroth, A.; Ilg, T.; Jaeger, M.; Kern, C.; Schmid, K. e Uphoff, M., Highly Water-Soluble Prodrugs of Anthelmintic Benzimidazole Carbamates: Synthesis, Pharmacodynamics, and Pharmacokinetics. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 51, p. 1111-1114, 2008.

Chemicalize.org [Base de dados]. ChemAxon. [Acessado em 15 de janeiro de 2020]. Disponível em: www.chemicalize.org.

Chiaradia, M. C., Collin, C. H., Jardim, I, C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Química nova*, v. 38, p. 623-636, 2008.

Cho, C., Jeon, Y., Pham, T. P. T., Vijayaraghavan, K., Yun, Y. The ecotoxicity of ionic liquids and traditional organic solvents on microalga *Selenastrum capricornutum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 71, p. 166-171, 2008.

Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behavior of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Research*, v. 38, p. 947-954, 2004.

Claudino, A. **Preparação de carvão ativado a partir de turfa e sua utilização na remoção de poluentes**. 2003. 90 p. Dissertação (mestrado). Curso de Engenharia química, Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

Cleare, A. J., Duncko, R. Pharmacological management of depressive disorders. *Medicine*, v. 44, n. 12, p. 756–760, 2016.

Colluns, C. H., Braga, G. L., Bonato, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. 6 ed. Campinas: Unicamp, 2017. 456 p.

CONAMA, Resolução nº 357. 2005p.

CONAMA, Resolução nº 430. 2011p

Costa, J. B. da. 2007. **Avaliação ecotoxicológica de efluentes de tratamento secundário de esgoto sanitário após desinfecção com ácido paracético, cloro, ozônio e radiação ultravioleta**. 180f Tese (Doutorado). Ciências da Engenharia Ambiental, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2007.

Costa, R., Costa, P. O., Botta, C. M. R., Espindola, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*. v.31, n.7, p.1820-1830. 2008.

Crittenden, J. C., Trussel, R. R., Hand, D. W., Howe, K. J. Tchobanoglous, G. **MWH's Water Treatment: Principles and Design**. 3. Ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2012.

Cruz-Morató, C.; Lucas, D.; Llorca, M.; Rodriguez-Mozaz, S.; Gorga, M.; Petrovic, M.; Barceló, D.; Vicent, T.; Sarrà, M., Marco-Urrea, E., Hospital wastewater treatment by fungal bioreactor: Removal efficiency for pharmaceuticals and endocrine disruptor compounds. **Science of the Total Environment**, v. 493, p. 365-376, 2014.

Danaher, M.; De Ruyck, H.; Crooks, S. R.; Dowling, G. e O'Keeffe, M., Review of methodology for the determination of benzimidazole residues in biological matrices. **Journal of Chromatography B**, v. 845, p. 1-37, 2007.

Daneshvar, A., Aboufadel, K., Viglino, L, Broséus., R., Sauvé., S., Madoux-Humery, A. S., Weyhenmeyer, G. A., Prévost M. Evaluating pharmaceuticals and caffeine as indicators of fecal contamination in drinking water sources of the Greater Montreal region. **Chemosphere**, v. 88, p. 131-139, 2012.

Dawood, S., Sen, T. K., Phan, C. Synthesis and characterization of novel-activated carbon from waste biomass pine cone and its application in the removal of congo red dye from aqueous solution by adsorption. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, 2014.

De Maria, C. A. B. Moreira, R. F. A. Cafeína: Revisão sobre Métodos de Análise. **Química Nova**, v.30, n. 1. p. 99-105, 2007.

De Oliveira Ferreira, F., Rodrigues-Silva, C., Rath, S. On-line solid-phase extraction-ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determinations of avermectins and mibemycin in soils. **Journal of Chromatography A**, v. 1471, p. 118-125, 2016.

De Oliveira Neto, O. F.; Arenas, A. Y. e Fostier, A. H., Sorption of thiabendazole in sub-tropical Brazilian soils. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 24, p. 16503-16512, 2017.

De Sousa, D. N. R., Mozeto, A. A., Carneiro, R. L., Fadini, P. S. Spatio-temporal evaluation of emerging contaminants and their partitioning along a Brazilian watershed. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 5, p. 4607–4620, 2018.

De Witte, B., Dewulf, J., Demeestere, K., Langenhove, H. V. Ozonation and advanced oxidation by the peroxone process of ciprofloxacin in water. **J. Hazard. Mater**, v. 161, p. 701-708, 2009.

Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., Hartemann, P. Emerging pollutants in wastewater: a review of the literature. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 8, p. 27-37, 2011.

Deree, J., Martins, J. O., Melbostad, J. Loomis, W. H. Coimbra, R. Insights into the regulation of TNF-alpha production in human mononuclear cells: the effects of non-specific phosphodiesterase inhibition. **Clinics (São Paulo, Brasil)**, v. 62, p. 321-328, 2008.

Di Bernardo, L., Dantas, A., Voltan, P. E. N. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. 3. ed. São Carlos: LDiBe, 2017. 1246 p.

Díaz-Cruz, M. S.; López de Alda, M. a. J., Barceló, D., Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 340-351, 2003.

Ding, T., Lin, K., Yang, M. & L, J. Toxic effects and metabolic fate of carbamazepine in diatom *Navicula sp* as influenced by humic acid and nitrogen species. **Journal of Hazardous Materials**, v. 378, 2019.

Ding, T., Lin, K., Yang, M., L, J. 2019: Toxic effects and metabolic fate of carbamazepine in diatom *Navicula sp* as influenced by humic acid and nitrogen species. **Journal of Hazardous Materials**, v. 378, 2019.

Dolar, D., Radman, S., Kosutic, K., Horvat, A. J. M. Removal of anthelmintic drugs and their photodegradation products from water with RO/NF membranes. **Process Safety And Environmental Protection**. v. 90, n. 2, p.147-152, mar. 2012

Dominguez-Alvarez, J.; Mateos-Vivas, M.; Garcia-Gomez, D.; Rodriguez-Gonzalo, E. e Carabias-Martinez, R., Capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry for the determination of anthelmintic benzimidazoles in eggs using a QuEChERS with preconcentration as sample treatment. **Journal of Chromatography A**, v; 1278, p. 166-174, 2013.

dos Santos, J. M.; Monteiro, J. P.; Ribeiro, W. L.; Macedo, I. T.; Camurca-Vasconcelos, A. L.; Vieira Lda, S. e Bevilaqua, C. M., Identification and quantification of benzimidazole resistance polymorphisms in *Haemonchus contortus* isolated in Northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 199, p. 160-164, 2014.

EMA, Environmental impact assessment (eias) for veterinary medicinal products (VMPS) - Phase I, CVMP, Editor. 2000: Londonp.

EMA, Guideline on environmental impact assessment for veterinary medicinal products phase II guidance, CVMP, Editor. 2005: Londonp

EPA. National Primary Drinking Water Regulations. 2009 [acessado em 27/08/2015]; Disponível em: <http://water.epa.gov/drink/contaminants/upload/mcl-2.pdf>.

Escher, B. I., Berger, C., Bramaz, N., Kwon, J. H., Richter, M., Tsinman, O., Avdeef, A. Membrane-water partitioning, membrane permeability, and baseline toxicity of the parasiticides ivermectin, albendazole, and morantel. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 27, p. 909-918, 2008.

Fatta-Kassino, D., Meric, S., Nikolaou, A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v. 399. p. 251 – 275. 2011.

Ferreira, J. C. R. **Remoção de micropoluentes emergentes em efluentes sanitários através de carvão ativado**. 2011. 162 f. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente Urbano e Industrial) - Programa de Mestrado Profissional em Meio Ambiente Urbano e Industrial, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2011.

Fisone, G., Borgkvist, A., Usiello, A. Caffeina as a psychomotor stimulant: Mechanismo of action. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 61, p. 857-872, 2004.

Foo, K. Y., Hameed, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, p. 2-10, 2010.

François, L. L., Haro, N. K., Souza, F. S., Féris, L. A. Remoção de Cafeína por Adsorção em Carvão Ativado. **Scientia Cum Industria**, v. 4, n. 2, p. 64-68, 2016.

Fukuhara, T., Iwasaki, S., Kawashima, M., Shinohara, O., Abe, I. Adsorbability of estrone and 17beta-estradiol in water onto activated carbon. **Water Research**, v. 40, p. 241-248, 2008.

Furtado, L. F. V.; de Paiva Bello, A. C. P. e Rabelo, É. M. L., Benzimidazole resistance in helminths: From problem to diagnosis. **Acta Tropica**, v. 162, p. 95-102, 2016.

Galhetas, M., Mestre, A. S., Pinto, M. L., Gulyurtlu, I., Lopes, H., Carvalho, A. P. Chars from gasification of coal and pine activated with K₂CO₃: Acetaminophen and caffeine adsorption from aqueous solutions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 44, p. 94-103, 2014.

Gao, L.; Shi, Y.; Li, W.; Liu, J. e Cai, Y., Occurrence, distribution and bioaccumulation of antibiotics in the Haihe River in China. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 14, p. 1248-1255, 2012.

Gaw, S.; Thomas, K. V., Hutchinson, T. H., Sources, impacts and trends of pharmaceuticals in the marine and coastal environment. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, 2014.

Geçgel, Ü., Kocabiyik, B., Üner, O. Adsorptive Removal of Methylene Blue from Aqueous Solution by Activated Carbon Obtained from the Fruit of *Catalpa bignonioides*. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 226, p. 238, 2015.

Gholsa, P. S., Gupta, A. K. Development of a generalized adsorption isotherm model at solid-liquid interface: A novel approach. **Journal of Molecular Liquids**, v. 240, p. 21-24, 2017.

GILMAN, G. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-hill Interamericana do Brasil Ltda, 2005.

Ginebreda, A., Munoz, I., de Alda, M. L., Brix, R., Loperz-Doval, J., Barcelo, D. Environmental risk assessment of pharmaceuticals in rivers: relationships between hazard indexes and aquatic macroinvertebrate diversity indexes in the Llobregat River (NE Spain). **Environment International**, v. 36, p. 153-162, 2010.

Global Water Research Coalition (GWRC). **Development of an international priority list of pharmaceuticals relevant for the water cycle**. United Kingdom, 2008. 23p.

Global Water Research Coalition (GWRC). **Pharmaceuticals and personal care products in the water cycle**. United Kingdom, 2004. 36p.

Gross, M.; Rodríguez-Mozaz, S.; Barceló, D. Rapid analyses of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1292. p. 173-188, 2013.

Habert A. C., Borges C. P., Nobrega, R. **Processos de Separação com Membranas**. COPPE – UFRJ, 200p, 1997.

Hall, K. R., Eagleton, L. C., Acrivos, A., Vermeulen, T. Pore-and Solid-Diffusion Kinetics in Fixed-BED adsorption Under Constant-Pattern Conditions. **I&EC Fundamentals**, v. 5, p. 212-223, 1966.

He, K., Echigo, S., Asada, Y., Itoh, S. Determination of Caffeine and Its metabolites in Wastewater Treatment Plants Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. **Analytical Sciences**, v. 43, p. 349-354, 2018.

He, K., Yonetani, T. Echigo, S., Asada, Y., Itoh, S. Simultaneous determination of carbamazepine-N-glucuronide and carbamazepine phase I metabolites in the wastewater by

liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 145, o. 1191-1198, 2019.

Hena, S., Ismail, N., Isaam, A. M., Ahmad, A., Bhawani, S. A. Removal of microcystin-LR from aqueous solutions using % burn-off activated carbon of waste wood material. **Aqua**, v. 63, p. 332-341, 2013.

Ho, Y. S. e Mackay, G. Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochemistry**, v. 34, p. 451-465, 1999.

Ho, Y. S., Wase, D. A. J., Forster, C. F. Removal of lead ions from aqueous solution using sphagnum moss peat as adsorbent. **Water SA**, v. 22, o. 219-224, 1996.

Hodgson, E. Introduction to toxicology. In. Hodgson, E. (Ed.). **A textbook of modern toxicology**. 3 ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2004.p. 2-11.

Horvat, A. J. M., Babic, S., Pavlovic, D. M., Asperger, D., Pelko, S., Kastelan-Macan, M., Petrovic, M., Mance, A. D. Analysys, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment. **Trac. Trends Anal. Chem**, v.21, p. 61-84, 2012.

Isnard, P., Lambert, S. Estimating bioconcentration factors from octanol-water partition-coefficient and aqueous solubility. **Chemosphere**, v.17, p.21-34, 1988.

Jain, J. S., Snoeyink, V.L. Adsorption from bisolute systems on active carbon. **J. Water Pollut. Control Fed.**, v. 45, p. 2463-2479, 1973.

JIS. **JIS K 1474: Test methods for activated carbon**. Tokyo. Japanese Standards Association, 2014.

Jos, A., Repetto, G., Rios, J. C., Hazen, M. J., Molero, M. L., Del Peso, A., Salguero, M., Fernández-Freire, P., Pérez-Martín, J. M. & Carneán, A. Ecotoxicological evaluation of carbamazepine using six different model systems with eighteen endpoints. **Toxicol. In Vitro**, v. 17, p. 525-532, 2003.

Kasai, F., Takamura, N., Hatakeyama S. Effect of smetryne on growth of various freshwater algal taxa. **Environ. Polly**, v.79, p. 77-83, 1993.

Kelly, B. C., Ikonomou, M. G., Blair, J.D., Morin, A. E., Gobas, F. A. P. C. Food web-specific biomagnification of persistent organic pollutants. **Science**, v. 317, p. 236-239, 2007.

Kemper, N., Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. **Ecological Indicators**, v. 8, p. 1-13, 2008.

Kim, I.; Yamashita, N.; Tanaka, H. Performance of UV and UV/H₂O₂ processes for the removal of pharmaceuticals detected in secondary effluent of a sewage treatment plant in Japan. **Journal of hazardous materials**, v. 166, n. 2-3, p. 1134-40, 2009.

Kim, S. D., Cho, J., Kim, I. S. Vanderford, B. J., Snyder, S. A. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. **Water research**, v. 41, p. 1013-1021, 2007.

Komori, K., Suzuki, Y., Minamiyama, M., Harada, A. Occurrence of selected pharmaceuticals in river water in Japan and assessment of their environmental risk. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, 0. 4529-4536, 2013.

Kümmerer, K. (Ed.). **Pharmaceuticals in the Environment**. 3. ed. Freiburg: Springer, 2008. 521 p.

Kummerer, K., Antibiotics in the aquatic environment--a review--part I. **Chemosphere**, v. 75, p. 417-434, 2009.

Lagergren, S. About the theory of So-Called adsorption of soluble substances. **Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar**, v. 24, p. 1-39, 1898.

Langmuir, I. The adsorption of gases on glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, p. 1361-1403, 1918.

Lapworth, D. J.; Baran, N.; Stuart, M. E. e Ward, R. S., Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. **Environmental Pollution**, v. 163, p. 287-303, 2012.

Largitte, L. e Pasquier, R. A review of the kinetics adsorption models and their application to the adsorption of lead by an activated carbon. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 109, p. 495-504, 2016.

Larini, L. **Toxicologia**. 2 ed. Editora Manole, São Paulo, 1993. 281p.

Larsson, D. G., Pollution from drug manufacturing: review and perspectives. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, 2014.

Lawrence, J. R. Swerhone, G. D. W., Wassenaar, L. I. Neu, T. R. Effects of selected pharmaceuticals on riverine biofilm communities. **Can J Microbiol**, v. 51, p. 655-669, 2005.

Lawrence, J. R., Zhu, B., Swerhone, G. D. W., Roy, J,m Tumber, V., Waiser, M. J., Topp, E., Korber, D. R. Molecular and microscopic assessment of the effects of caffeine, acetaminophen, diclofenac, and their mixtures on river biofilm communities. **Environ. Tox. and Chem**, v. 31, p. 508-517, 2012.

Le, T. X., Munekage, Y., Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Viet Nam. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, p. 922-929, 2004.

Léon-Carmona, J. R. Galano, A. Is caffeine a good scavenger of oxygenated free radicals? **Journal of Physical Chemistry B**, v. 115, p. 4538-4536, 2011.

Lester, Y., Mamane, H., Zucker, I., Avisar D. Treating wastewater from a pharmaceutical formulation facility by biological process and ozone. **Water Research**, v. 47, p. 4349-4356, 2013.

Letterman, R. D. **Water Quality and Treatment: A Handbook of community Water Supplies**. 5. Ed. New York: McGraw-Hill, 1999.

Li, W. C., Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. **Environmental Pollution**, v. 187, p. 193-201, 2014.

Lima, E. C., Adebayo, M. A., Machado, F. M. Chapter 3 – Kinetic and Equilibrium models of adsorption. In: Bergamnn, F. M., Machado, F. M. (Ed.). **Carbon Nanomaterials as adsorbents for Environmental and Biological applications**, Springer, 2015. p. 33-69.

Liou, S., Chen, W. Oxidative transformation kinetics and pathways of albendazole from reactions with manganese dioxide. **Journal Of Hazardous Materials**, v.347, p. 299-306, 2018.

Liu, L., Wu, W., Zhang, J., Lv, P., Xu, L., Yan, Y. Progress of research on the toxicology of antibiotic pollution in aquatic organisms. **Acta Ecologica Sinica**, v. 28, p. 36-41, 2018.

Lorenc-Grabowska, E., Rutkowski, P. High adsorption capacity carbons from biomass and synthetic polymers for the removal of organic compounds from water. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 225, n. 8, 2014.

Ma, J., Wang, S., Wang, P., Ma, L., Chen, X., Xu, R. Toxicity assessment of 40 herbicides to the green alga *Raphidocelis subcapitata*. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v.63, n. 3, p.456-462, 2006.

Manahan, S. E., **Fundamentals of Environmental Chemistry**. 1993, Chelsea: Lewis Publishers. 844 p.

Mansano, A. da S. **Efeitos dos agrotóxicos diuron e carbofuran, isolados e em mistura sobre organismos aquáticos e avaliação de risco ecológico**. 2016. 262 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ecologia e Recursos Naturais, Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

Mansouri, H., Carmona, R. J., Gomis-Berenguer, A., Souissi-Najar, S., Ourderni, A. & Ania, C. O. Competitive adsorption of ibuprofen and amoxicillin mixtures from aqueous solution on activated carbon. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 449, p. 252-260, 2015.

Marek, C. L., Parks, E. T. 15 - **Patients with a psychological disorder**. 3rd Edition, ed. Elsevier Inc., 2016.

Marques, S. M. e Américo-Pinheiro, J. H. P. Algas como bioindicadores da qualidade da água. **ANAP Brasil**. v.10. p. 76-88. 2017

Martins, A. F. Concentration of Ciprofloxacin in Brazilian Hospital Effluent and Preliminary Risk Assessment: A case Study. **Clean journal**. v. 36. p. 264-269. 2008.

Matsui, Y., Knappe, D.R.U., Takagi, R. Pesticide adsorption by granular activated carbon adsorbents. 1. Effect of natural organic matter preloading on removal rates and model simplification. **Environ. Sci. Technol.**, v. 36, p. 3426-3431, 2002.

Melo, D. C. **Efeitos de nanopartículas magnéticas sobre a microalga *Raphidocelis subcapitata***. 2016. 153 f. Dissertação (Mestrado) – Ecologia e Recursos Naturais – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

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

Metzger, S., Kapp, H. **Einsatz von Pulveraktivkohle zur Elimination von Mikroverunreinigungen**. VSA – Fachtagung vom 28. Oktober, 2008.

Miazeck, K., Brozek-Pluska, B. Effect of PHRs and PCPs on Microalgal Growth, Metabolites and Microalgae-Based Bioremediation Processes: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, 2019.

Milic, N.; Milanovic, M.; Letic, N. G.; Sekulic, M. T.; Radonic, J.; Mihajlovic, I. e Miloradov, M. V., Occurrence of antibiotics as emerging contaminant substances in aquatic environment. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 23, p. 296-310, 2013.

Morre, M. T. Greenwat, S. L., Farris, J. L. Assessing caffeine as an emerging environmental concern using conventional approaches. **Arch Environ Contam Toxicol**, v. 54, p. 31-35, 2008.

Moussout, H., Ahlafi, H., Aazza, M. Maghat, H. Critical of linear and nonlinear equations of pseudo-first order and pseudo-second order kinetic models. **Karbala International Journal of Modern Science**, v. 4, p. 244-254, 2018.

MS. Portaria nº 5. 2017 [acessado em 27/08/2019]; Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html.

Nalecz-Jawecki, G, Wojcik T, Sawicki, J. Evaluation of invitro biotransformation of propranolol with HPLC, MS/MS, and two bioassays. **Environ Toxicol**, v.23, p.52–58, 2008.

Nam, S. W., Choi, D. J., Kim, S. K., Her, N., Zoh, K. D. Adsorption characteristics of selected hydrophilic and hydrophobic micropollutants in water using activated carbon. **Journal of Hazardous Materials**, v. 270, p. 144-152, 2014.

Nascimento, L. X., Araújo, R. T., Alvarez, L. D. G. Contaminantes orgânicos emergentes: Impactos y soluciones para la salud humana y el medio ambiente. **RECyT**, v. 17, p. 28-34, 2015.

Nascimento, R. F., Lima, A. C. A., Vidal, C. B., Melo, D. Q. Raulino, G. S. C. **Adsorção: Aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014.

Nielsen, L., Badosz, T. J. Analysis of the competitive adsorption of pharmaceuticals on waste derived materials. **Chemical Engineering Journal**, v. 287, p. 139-147, 2016.

Nielsen, L., Biggs, M. J., Skinner, W., Badosz, T. J. The effects of activated carbon surface features on the reactive adsorption of carbamazepine and sulfamethoxazole. **Carbon**, v. 80, p. 419-432, 2014.

Nödler, K., Licha, T., Fischer, S., Wagner, B., Sauter M. A case study on the correlation of micro-contaminants and potassium in the Leine River (Germany). **Applied Geochemistry**, v. 26, p. 2172-2180, 2011.

Nurmiko, T. J. **Anticonvulsivants and antiarrhythmics**. In: Jensen T. S., Wilson, P. R., Rice, A. S. C. Chronic pain. London: Oxford University Press; 2003, p. 251-260.

Nusch, E. A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. **Arch fur. Hydrobiol.**, 14. 14 – 36. 1980.

OECD – Organization for Economy Co-operation and Development. **Test No 202: Daphnia sp., Acute immobilization Test**. OEC publishing, 2004.

OECD – Organization for Economy Co-operation and Development. **Test No 235: Chironomus sp., Acute immobilization Test**. OEC publishing, 2011.

OECD – Organization for Economy Co-operation and Development. **Test No 211: Daphnia magna Reproduction Test**. OEC publishing, 2012.

OECD, 2002 **SIDS [Screening Information Data Set] initial assessment profile: caffeine** Organization for Economic Co-operations and Development, Paris (2002).

Oga, S., Camargo, M. M.de A., Batistuzzo, J. A. de O. **Fundamentos de toxicologia**. 3. Ed. São Paulo. Atheneu Editora, 2008. 676 p.

Oh, S. J., Park, J., Lee, M. J., Park, S. Y., Lee, J. H. & Choi, K. Ecological hazard assessment of major veterinary benzimidazole: acute and chronic toxicities to aquatic microbes and invertebrates. **Environ. Toxicol. Chem**, v. 25, p. 2221-2226, 2006.

Oleszczuk, P., Pan, B., Xing, B. Adsorption and Desorption of Oxytetracycline and Carbamazepine by Multiwalled Carbon Nanotubes. **Environ. Sci. Technol**, v. 43, p. 9167-9173, 2009.

Olliaro, P.; Seiler, J.; Kuesel, A.; Horton, J.; Clark, J. N.; Don, R., Keiser, J., Potential Drug Development Candidates for Human Soil-Transmitted Helminthiases. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, p. e1138, 2011.

Paiga, P.; Delerue-Matos, C. Anthropogenic contamination of Portuguese coastal waters during the bathing season: Assessment using caffeine as a chemical marker. **Marine Pollution Bulletin**, v. 120, n. 1-2, p.355-363, 2017.

Pal, A.; Gin, K. Y.; Lin, A. Y. e Reinhard, M., Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 6062-6069, 2010.

Pan, J.; Zhang, C.; Zhang, Z.; Li, G. Review of online coupling of sample preparation techniques with liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 815, p. 1-15, 2014.

Parsons, S. **Advanced Oxidation Processes for water and wastewater treatment**. Londres: IWA, 2005am.

Peeler, K. A. **Caffeine as an anthropogenic source indicator in freshwater and marine systems**, 2004. 132 f. Dissertação (Mestrado) – Oceanografia. The Florida State University, Florida, 2004.

Pérez-Marín, A. B., Zapata, V. M., Ortuño, J. F., Aguilar, M., Sáez, J. Lloréns, M. Removal of cádmium from aqueous solutions by adsorption onto orange waste. **Journal of Hazardous Materials**, v. 139, p. 122-131, 2007.

Petteffi, G. P., Fleck, J. D., Kael, I. M., Girard, V., Bundcgen, R., Keajeski, D. M., Demoliner, M., Silva, F. P., da Rosa, D.C., Antunes, M. V., Linden, R. Caffeine levels as a predictor of Human mastadenovirus presence in surface waters— a case study in the Sinos River basin—Brazil. **Environmental Science And Pollution Research**, v. 25, p. 15774-15784, 2018.

Petrie, B., Youndan, J., Barden, R., Kasprzyk-Horden, B.. Multiresidue analysis of 90 emerging contaminants in liquid and solid environmental matrices by ultra-high-performance

liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1431, p. 64–78, 2016.

Petrovic, M., Skrbic, B., Zivancev, J., Ferrando-Climent, L. Barcelo, D. Determination of 81 pharmaceutical drugs by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry with hybrid triple quadrupole–linear ion trap in different types of water in Serbia. **Science of The Total Environment**, v. 468-469, p. 415-428, 2014.

Piaia, A. **Síntese e caracterização de membrana condutiva para tratamento de água e efluentes**. 2017. 122 f. Dissertação (mestrado) – Engenharia Hidráulica e Saneamento – Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Pivetta, R. C. **Contaminantes de preocupação emergente: determinação de fármacos psicoativos em efluentes e águas superficiais**. 2019. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2019.

Pomati, F. Orlandi, C., Clerici, M., Luciani, F., Zuccato, E. Effects and interactions in an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals. **Toxicology Sciences**, v. 102, p. 129-1237, 2008.

Porto, R. S. **Benzimidazóis no ambiente: monitoramento de efluentes, degradação e mobilidade em solos brasileiros**. 2019. 164 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2019.

Porto, R. S., Rodrigues-Silva, C., Schneider, J., Rath, S. Benzimidazoles in wastewater> Analytical method development, monitoring and degradation by photolysis and ozonation. **Journal of Environmental Management**, v. 232, p. 729-737, 2019.

Praveena, S. M., Rashid, M. Z. M., Nazir, F. A. M., Yee, W. S., Aris, A. Z. Occurrence and potential human health risk of pharmaceutical residues in drinking water from Putrajaya (Malaysia). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 180, p. 549-556, 2019.

Qiu, H., Lv, L., Pan, B., Zhang., Q., Zhang, W., Zhang, Q. Critical review in adsorption kinetics models. **Journal of Zhejiang University-Science A**, v. 10, p. 716-724, 2009.

Rand, G.M., Wells, P.G., Mccarty, L.S. Introduction to aquatic toxicology. In: RANDY, M.G. (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment**. Florida: Taylor & Francis, 1995. p.3-67

Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M. **Farmacologia**. Editora Koogan S. A. Rio de Janeiro, 1997.

Ratnamala, G. M., Shetty, K. V., Srinikethan, G. Removal of Remazol brilliant blue dye from dye-contaminated water by adsorption using red mud: Equilibrium, kinetic, and thermodynamic studies. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 223, p. 6187-6199, 2012.

Reddersen K, Heberer T, Dünnebier U. Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground and drinking water. **Chemosphere**, v.49, p. 539–544, 2002.

Regitano, J. B. e Leal, R. M. P., Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 601-616, 2010.

Repice, C., Grande, M.D., Maggi, R., Pedrazzani, R. Licit and illicit drugs in a wastewater treatment plant in Verona, Italy. **Science of the Total Environment**, v. 463–464, p. 27–34, 2013.

Reynolds, T. D., Richards, P. A. **Unit operations and processes in environmental engineering**. 2. Ed. Boston: PWS publishing Company, 1996.

Rigobello, E. S. **Avaliação da remoção de diclofenaco e formação de subprodutos em tratamento de água**. 2012. 259 p. Tese (doutorado). Curso de química analítica e inorgânica, Instituto de química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

Rivera-Utrilla, J.; Sánchez-Polo, M.; Ferro-García, M. Á.; Prados-Joya, G. e OcampoPérez, R., Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. **Chemosphere**, v.93, p. 1268-1287, 2013.

Santos, L.H.M.L.M., Gros, M., Rodrigues-Mozaz, S., Delerue-Matos, C., Pena, A., Barceló, D., Montenegro, M.C. B.S.M. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. **Science of the Total Environment**, v. 461–462, p. 302–316, 2013.

Sarmah, A. K.; Meyer, M. T. e Boxall, A. B., A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. **Chemosphere**, v. 65, p. 725-759, 2006.

SciFinder, version 2018; Chemical Abstracts Service: Columbus, OH, 2018.

Sheehy, B., DiMauro, L. F. Atomic and molecular dynamics in intense optical fields. **Annu. Rev. Phys. Chem**, v. 47, p. 463-494, 1996.

Shi, X., Dala, N. S., Jain, A. C. Antioxidant behavior of caffeine: Efficient scavenging of hydroxyl radicals. **Food and Chemical Toxicology**, v. 29, p. 1-6, 1991.

Sim, Wo., Kim, H.Y., Choi, S. D., Kwon, J. H., Oh, J. E. Evaluation of pharmaceuticals and personal care products with emphasis on anthelmintics in human sanitary waste, sewage, hospital wastewater, livestock wastewater and receiving water. **Journal Of Hazardous Materials**. p. 219-227. 2013

SINDAN (Brasil). ANUÁRIO DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA SAÚDE ANIMAL. São Paulo, 2018. 136 p.

SINDAN. O mercado de produtos para saúde animal. 2017. Disponível em: < <http://www.sindan.org.br/sd/base.aspx?controle=8> >. Acesso em: 01/09/2019.

Sodré, F. F., Montagner, C. C. Locatelli, M. A. F., Jardim, W. F. Ocorrência de Interferentes Endócrinos e Produtos Farmacêuticos em Águas Superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil). **J. Brazi. Soc. Ecotoxicol**, v. 2. p. 187-196. 2015.

Sophia, A. C., Lima, E. C. Removal of emerging contaminants from the environment by adsorption. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 150, p. 1-17, 2018.

Sotelo, J. L., Ovejero, G., Rodríguez, A., Álvarez, S., Galán, J., García, J. Competitive adsorption studies of caffeine and diclofenac aqueous solutions by activated carbon. **Chemical Engineering Journal**, v. 240, p. 443-453, 2014.

Souza, M. P. de. **Determinação de contaminantes emergentes em água utilizando microextração adsortiva em barra (BA μ E) e UHPLC-MS/MS**. 2016. 94 f. Dissertação (mestrado) – Curso de Química analítica, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

Spiller, G. Caffeine. In: Spiller, G. A. (Ed.). **Caffeine**. 1ª Ed. Ed. Flórida: CRC, 1997. 384p.

Sposito, J C. V., Montagner, C. C., Casado, M., Navarro-Martín, L., Solórzano, J. C. J., Piña, B., Grisolia, A. B. Emerging contaminants in Brazilian rivers: Occurrence and effects on gene expression in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Chemosphere**, v. 209, p. 696-704, 2018.

Stroemer, B., Woodbury, B. Williams, C. F. Tylosin sorption to diatomaceous earth described by Langmuir isotherm and Freundlich isotherm models. **Chemosphere**, v. 193, p. 912-920, 2018.

Sui, Q, Cao, X., Lu, S., Zhao, W., Qiu, Z., Yu. G. Occurrence sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. **Emerging contaminants**, v. 1, p. 14-24, 2015.

Sui, Q., Huang, J., Deng, S., Yu, G., Fan, Q. Occurrence and removal of pharmaceuticals, caffeine and DEET in wastewater treatment plants of Beijing, China. **Water research**. v. 44, 2010.

Sutherland, I. A., Leathwick, D. M. Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? **Trend Parasitol.**, v. 21, p. 176-181, 2011.

Suzuki, S., Yamaguchi, H., Nobuyoshu, N. & Kawachi, M. *Raphidocelis subcapitata* (= *Pseudokirchneriella subcapitata*) provides an insight into genome evolution and environmental adaptations in the Spaeropleales. **Scientific Reports**, v. 8, 2018.

Szynkowska, M. I. Pawlaczyk, A. **Environmetal Toxicology**. 3 ed. Elsevier, 2004.

Tavares, C.; Sakata, R. K. Cafeína para o tratamento de dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 62, n. 3, p. 394-401, 2012.

Ternes, T. A., Meisenheimer, M., Mcdowell, D., Sacher, F., Brauch, H.-J., Haist-Gulde, B. Preuss, G, Wilme, U., Zullei-Seibert, N. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. **Environ. Science and Tech.**, v. 36, p. 3855-3863, 2002.

Ternes, T., Joss, A. **Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances: The challenge of micropollutants in urban water management**. London: IWA Publishing, 2006.

Tetzner, N. F., Rath, S. Veterinary antimicrobials and antiparasitics in fee-fishing ponds: analytical method and occurrence. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, p. 1-16, 2018.

Tetzner, N. F.; Maniero, M. G.; Rodrigues-Silva, C. e Rath, S. On-line solid phase extraction-ultra high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a powerful technique for the determination of sulfonamide residues in soils. **Journal of Chromatography A**, v. 1452, p. 89-97, 2016.

Truhalt, R. Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 1. p. 151-173. 1977.

USEPA – UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1994. **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving water to freshwater organisms**. Washington. EPA 600/7-91-002.

USEPA – United States Environmetal Protection Agency. **Technical support document for water quality-based toxics control**. United States Environmetal Protection Agency, 1992. V. 57.

Vaghetti, J. C. P., Lima, E. C., Royer, B., Cunha, B. M., Cardoso, N. F., Brasil, J. L., Dias, S. L. P. Pecan nutshell as biosorbent to remove Cu(II), Mn(II), Pb(II) from aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, p. 270-280, 2009.

Valsechi, S., Polesello, S., Mazzoni, M., Rusconi, M., Petrovic, M. On-line sample extraction and purification for the LC-MS determination of emerging contaminants in environmental samples. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 8, p. 27-37, 2015.

Veiga, L. F., Vital, N. Testes de toxicidade aguda com o microcústáceo *Artemia sp.* In: Nascimento, I. A., Sousa, E. C. P. M., Nipper, M. (eds) **Métodos em Ecotoxicologia Marina**. Aplicações no Brasil. Ed. Artes Gráficas e Indústria Ltda, São Paulo, 2002. P. 111-112.

Vercruyse, J.; Levecke, B. e Prichard, R., Human soil-transmitted helminths: implications of mass drug administration. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 25, p. 703-708, 2012.

Vidotti, E.C., Rollemberg, M.C. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. **Química Nova**. v. 27. p. 139-145. 2004.

Vieno, N. M., Härkki, H., Tuhkanen, T., Kronberg, L. Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. **Environ. Sci. Technol.** v. 41. p. 5077-5084. 2007.

Walker, C. H., Sibly, R. M., Hopkin, S. P., Peakall, D. B. **Principles of ecotoxicology**. 4. ed. New York: Crc Press (taylor And Francis), 2012. 386 p.

Westerhoff, P., Yoon, Y., Snyder, S., Wert, E. Fate and endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. **Environ. Sci. Technol.**, v. 39, p. 6649-6663, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: WHO (2011). **Guidelines for quality**. Disponível em: <<https://apublica.org/wpcontent/uploads/2014/03/Guidelines-OMS-2011.pdf>>. Acessado em setembro de 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: WHO. **Mental disorders**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>>. Acessado em setembro de 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: WHO. Soil-transmitted helminth infections. 2018 [acessado em 01/09/2019]; Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmittedhelminth-infections>.

Yang, L., Ying, G., Su, H., Stauber, J. L., Adams, M. S., Binet, M. T. Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 27, p. 1201-1208, 2008.

Ying, G. C., Kookana, R. S., Koplín, D. W. Occurrence and removal of pharmaceutically active compounds in sewage treatment plants with different technologies. **J. Environ. Monit.**, v. 11, p. 1498-1505, 2009.

Yu, Z., Peldszus, S., Huck, P. M. Adsorption characteristics of selected pharmaceuticals and an endocrine disrupting compound-Naproxen, carbamazepine and nonylphenol-on activated carbon. **Water Research**, v. 42, p. 2873-2882, 2008.

Zagatto, P. A., Bertolotti, E. **Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações**. Editora Rima, São Carlos, 2006. 478p.

Zagatto, P. A. Avaliação de risco e do potencial de periculosidade ambiental de agentes químicos para o ambiente aquático. In Zagatto, P. A., Bertolotti, E. **Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 2006. Cap. 16. P. 383-411.

Zarrelli, A. DellaGreca, M. Iesce, M. R., Lavorgna, M. Temussi, F., Schiavone, L., Criscuolo, E. Parella, A., Previtiera, L., Isidor, M. Ecotoxicological evaluation of caffeine and its derivatives from a simulated chlorination step. **Science of The Total Environment**, v. 470-471, p. 453-458, 2014.

Zeldowitsch, J. Adsorption site energy distribution. **Acta Phys. Chim. URSS**, v. 1, p. 961-973, 1934.

Zenker, A.; Cicero, M. R.; Prestinaci, F.; Bottoni, P. e Carere, M., Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. **Journal of Environmental Management**, v. 133, p. 378-387, 2014.

Zhang, W., Zhang, M., Lin, K., Sun, W., Xiong, B., Guo, M., Cui, X., Fu, R. Ecotoxicological effect of Carbamazepine on *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, v. 33, p. 344-352, 2012.

Zou, S.; Xu, W.; Zhang, R.; Tang, J.; Chen, Y., Zhang, G., Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: impacts of river discharge and aquaculture activities. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 2913-2920, 2011.

Zrncic, M.; Gros, M.; Babic, S.; Kastelan-Macan, M.; Barcelo, D. e Petrovic, M., Analysis of anthelmintics in surface water by ultra high performance liquid chromatography coupled to quadrupole linear ion trap tandem mass spectrometry. **Chemosphere**, v. 99, p. 224-232, 2014.

Zwietering, M. H., Jongenburger, I., Rombouts, F. M., Van't Riet, K. Modeling of the bacterial growth curve. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56. n. 6. p. 1875-1881, 1990.

ANEXOS

ANEXO 1:

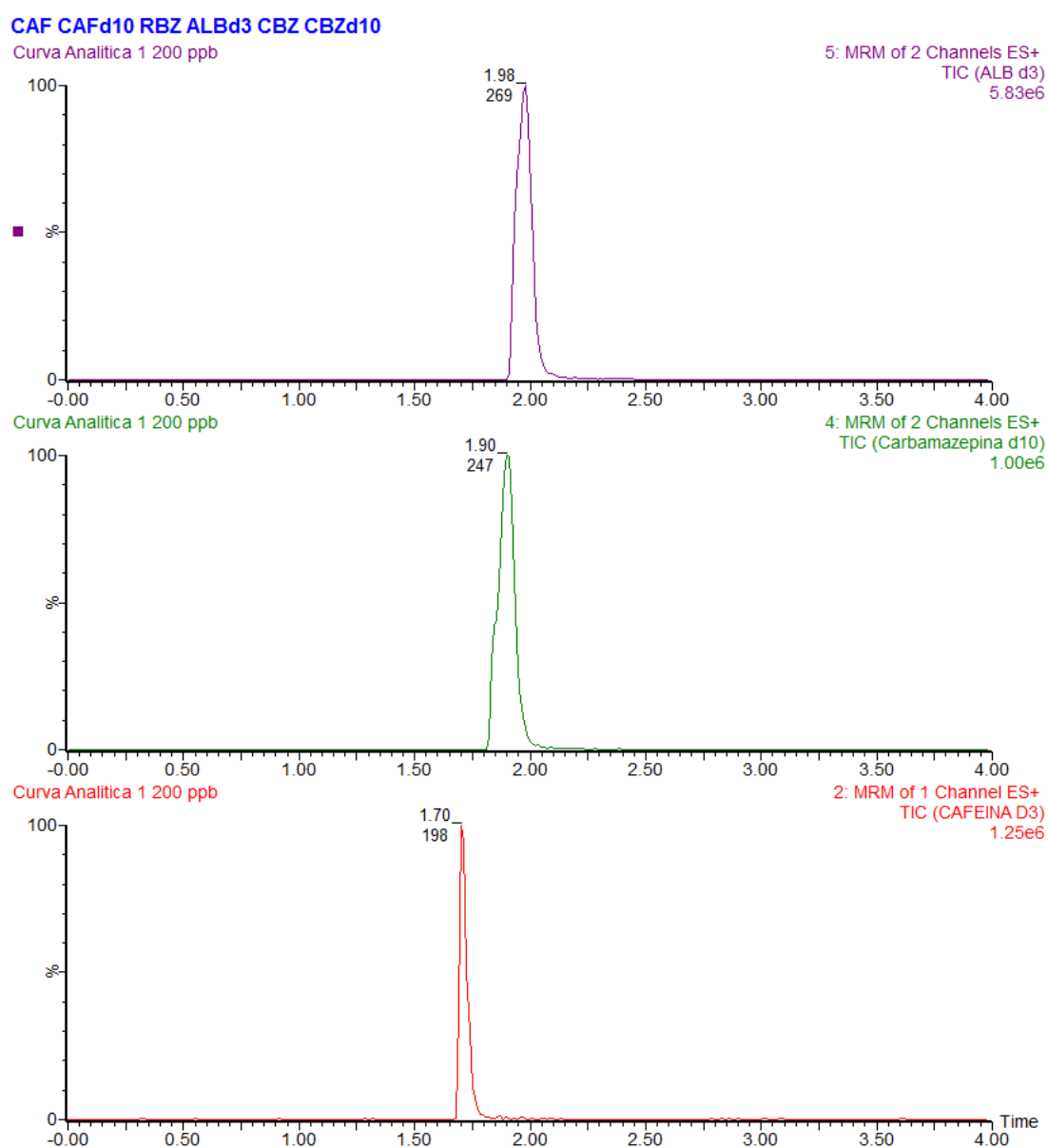
Solução para preparo de 1000 mL de meio de cultivo L.C. Oligo, para posterior autoclavagem à 121°C por 15 min.

Solução	Reagente	Concentração (g L ⁻¹)	Volume (mL)
1	Ca (NO ₃) ₂ .4 H ₂ O	40,0	1,0
2	KNO ₃	100,0	1,0
3	MgSO ₄ .7 H ₂ O	30,0	1,0
4	K ₂ HPO ₄	40,0	1,0
5	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,03	0,5
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,06	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,06	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,06	
	Mn(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0,06	
	C ₆ H ₈ O ₇	0,06	
6	H ₃ BO ₃	0,06	0,5
	C ₆ H ₅ FeO ₇ .5H ₂ O	1,625	
	FeCl ₃ .6H ₂ O	0,625	
7	FeSO ₄ .7 H ₂ O	0,625	1,0
	NaHCO ₃	15,0	
8	Água destilada	-	994,0

ABNT (2018)

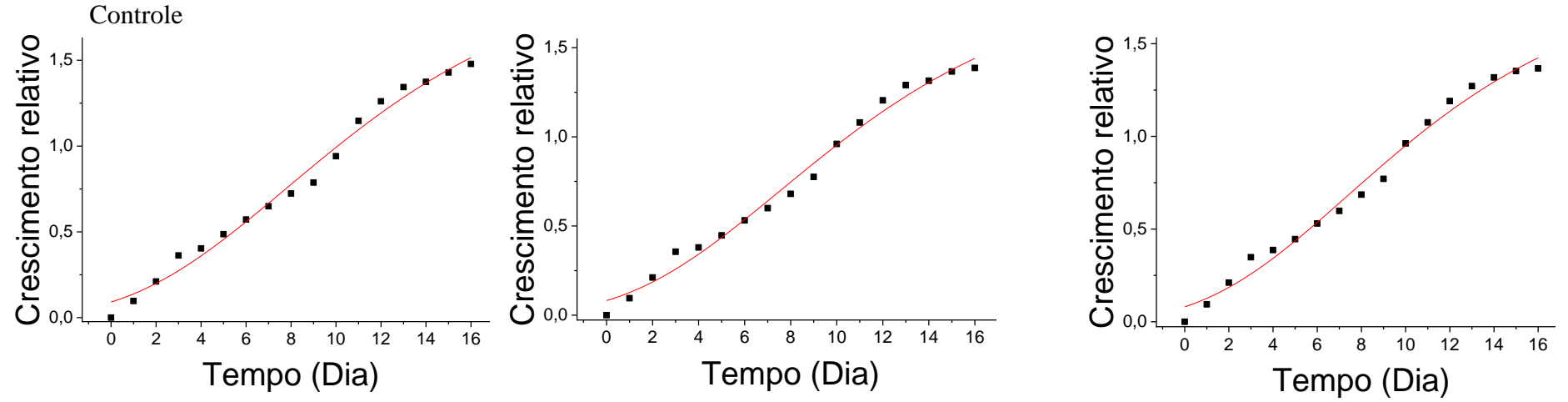
ANEXO 2:

Cromatograma dos padrões deuterados obtido no sistema SPE-UPLC-MS/MS. Coluna analítica Cortecs® UPLC® C18+ (3 mm x 100 mm, 1,6 µm). Condições cromatográficas: fase móvel composta por MeOH:água (70:30 em volume) com 0,1% de ácido fórmico. Vazão: 0,3 mL min⁻¹. Temperatura da coluna 40 °C. Volume de injeção 2,0 µL. Condições do SPE online: coluna XBridge C8, solvente de carregamento/lavagem: MeOH:água (95:5 em volume), vazão de 0,95 mL min⁻¹, volume de carregamento 0,95 mL. Condições do espectrômetro de massas: vide Tabela 4. Concentração dos padrões deuterados: 100 µg L⁻¹.



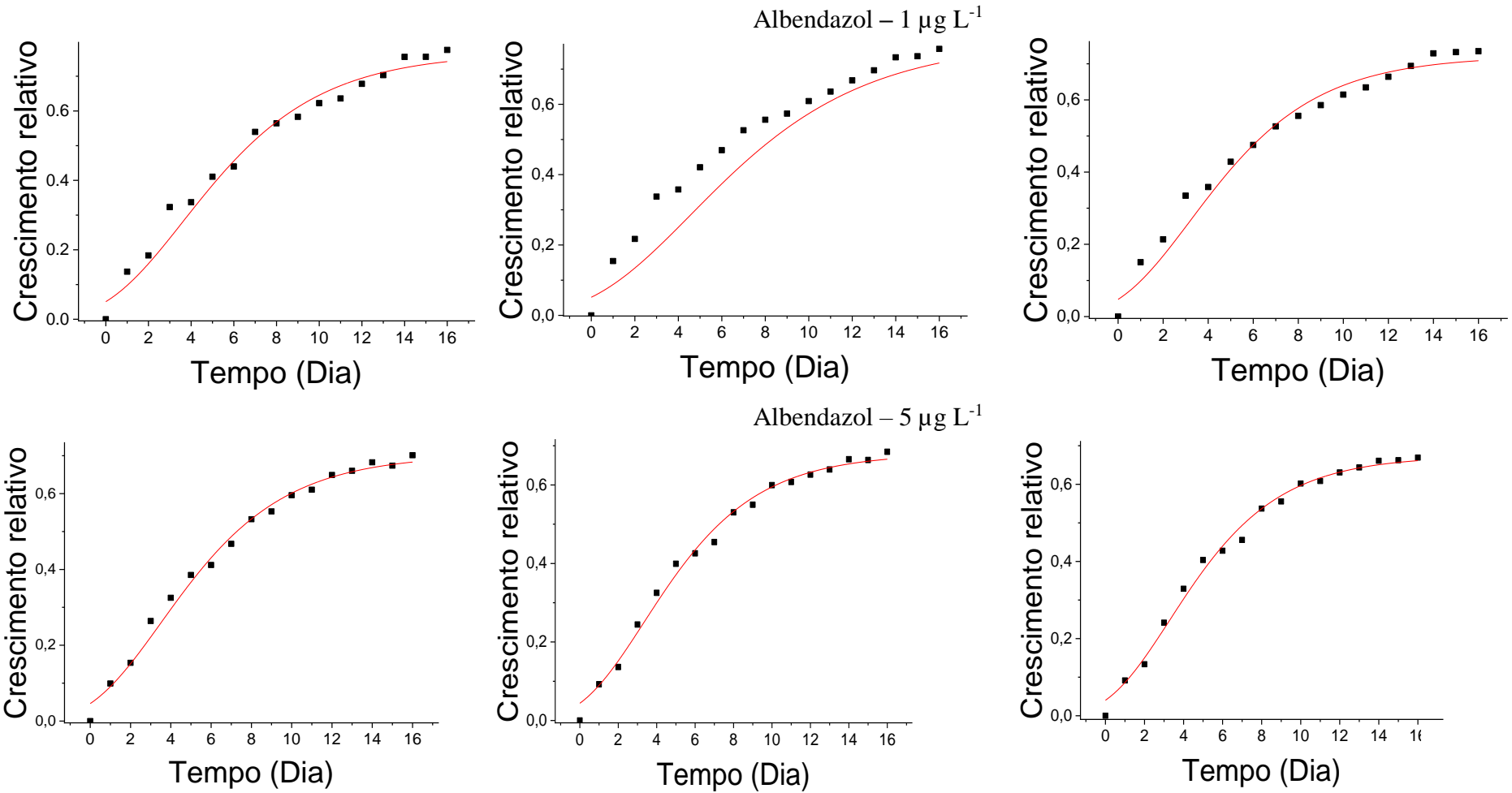
ANEXO 3:

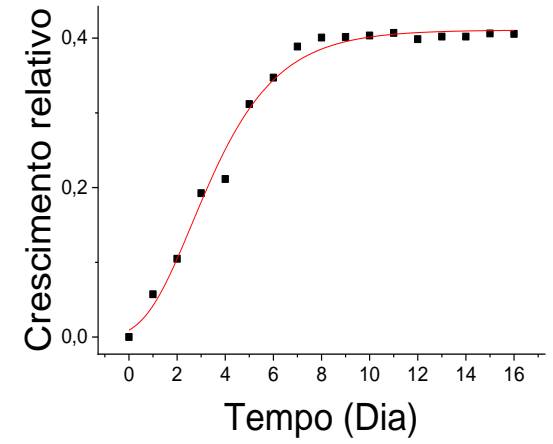
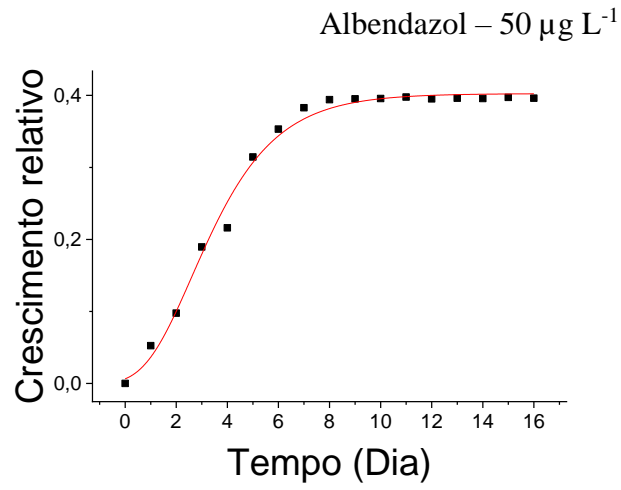
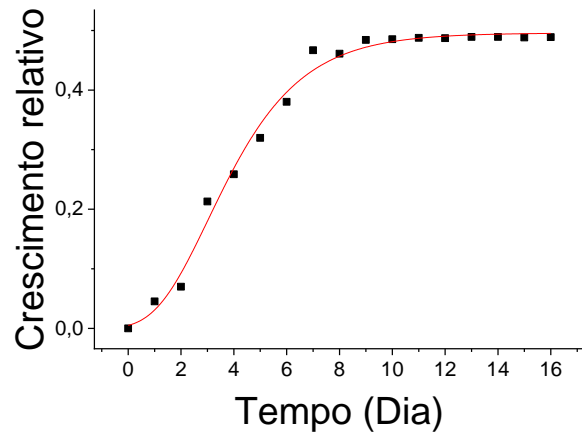
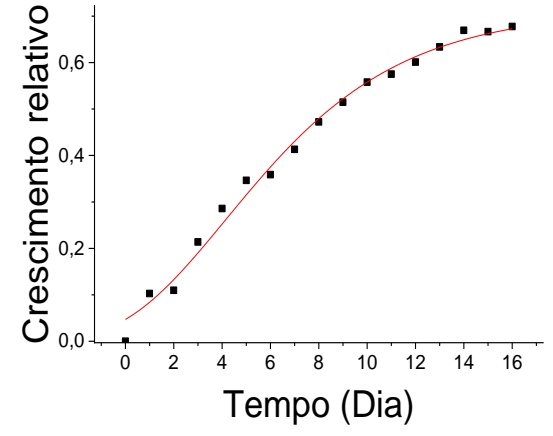
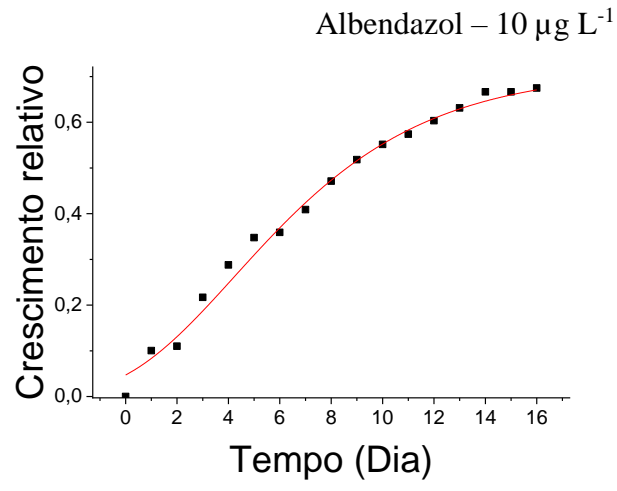
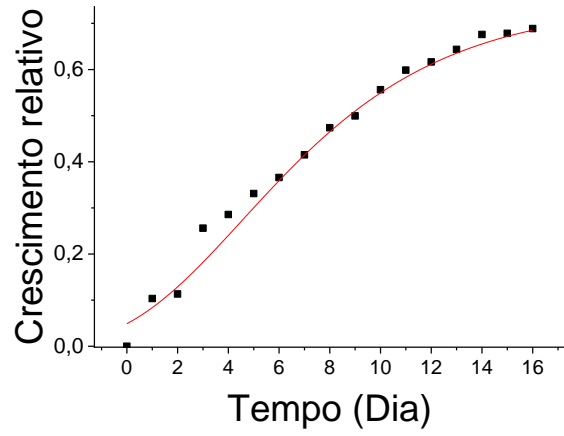
Ajustes do modelo de Gompertz modificado ao crescimento da *R. subcapitata*.

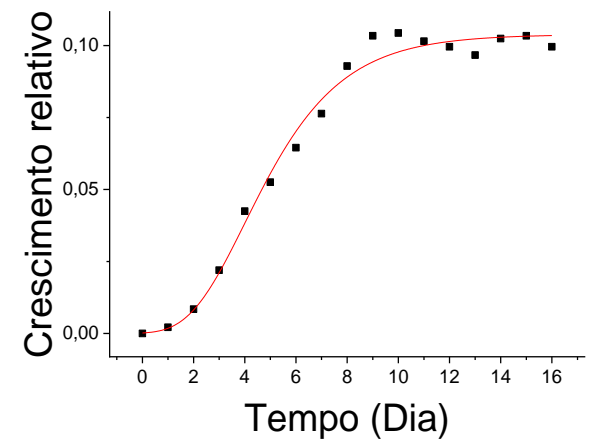
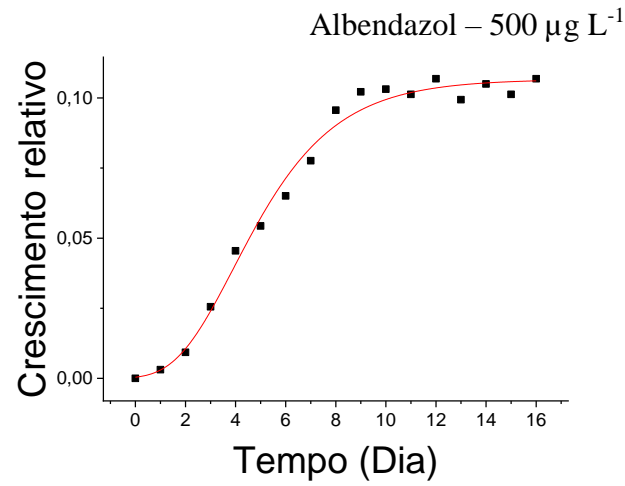
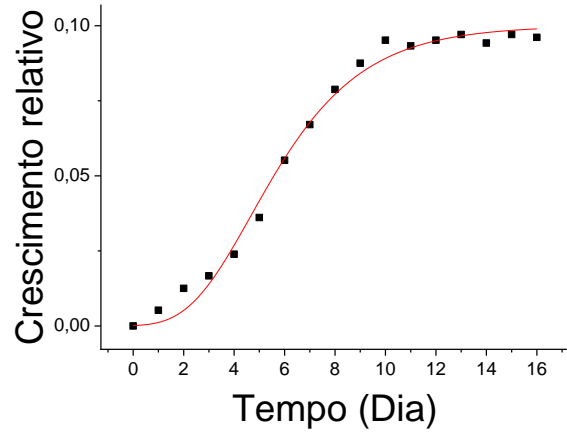
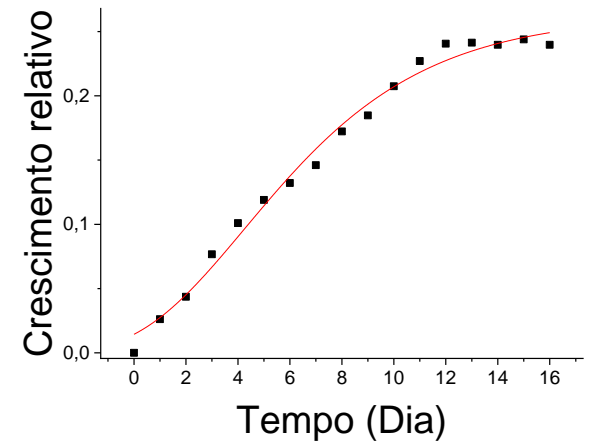
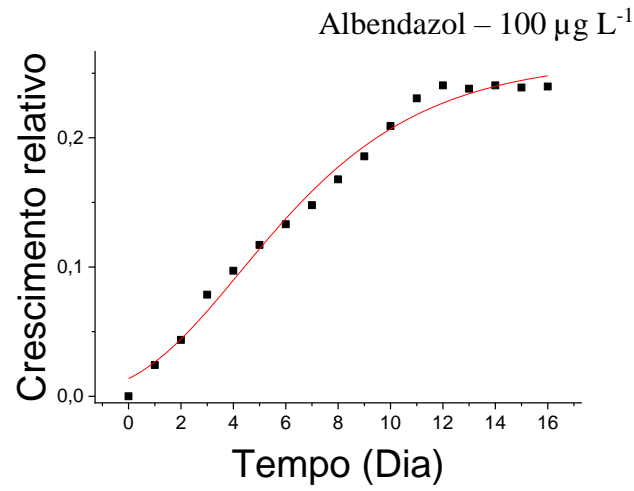
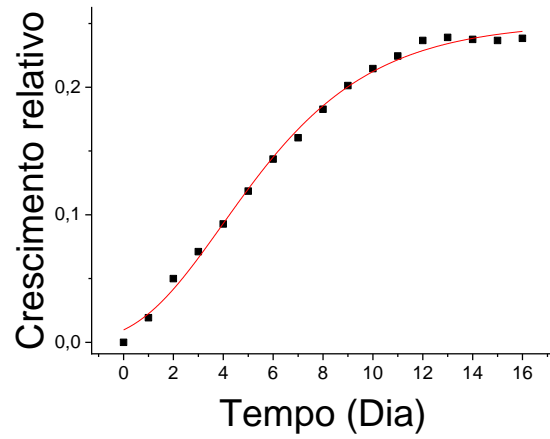


ANEXO 4:

Ajustes do modelo de Gompertz modificado ao crescimento da *R. subcapitata* exposta ao albendazol.

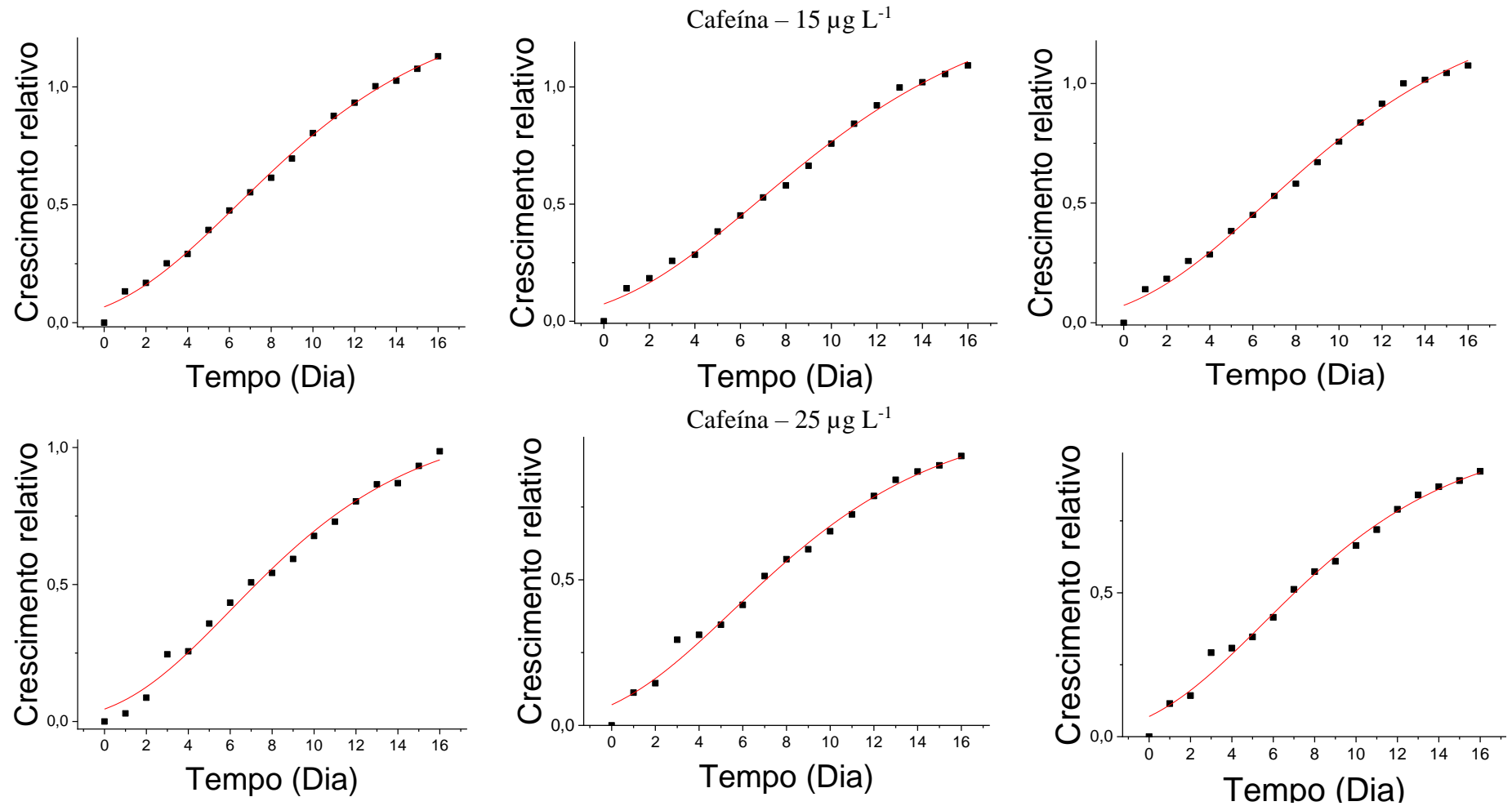


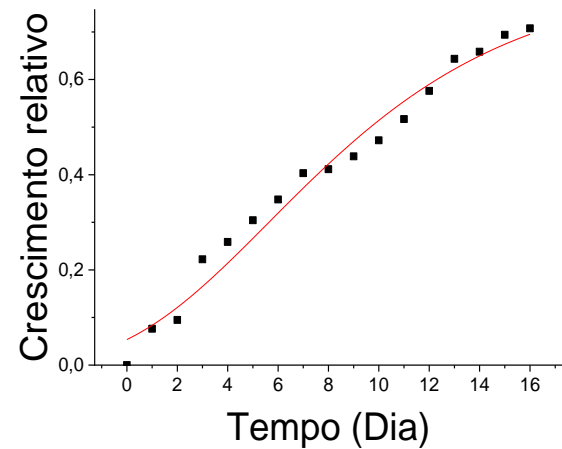
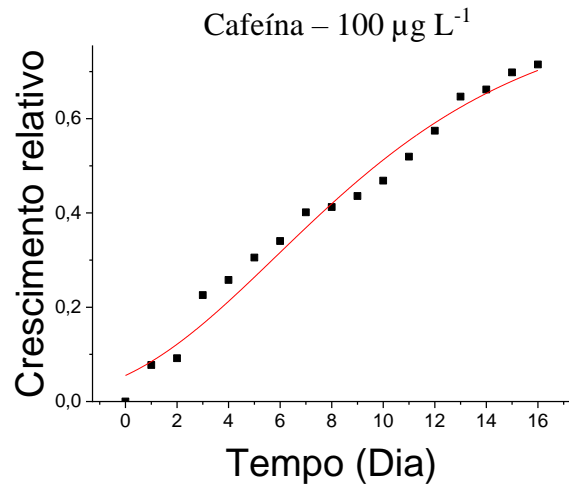
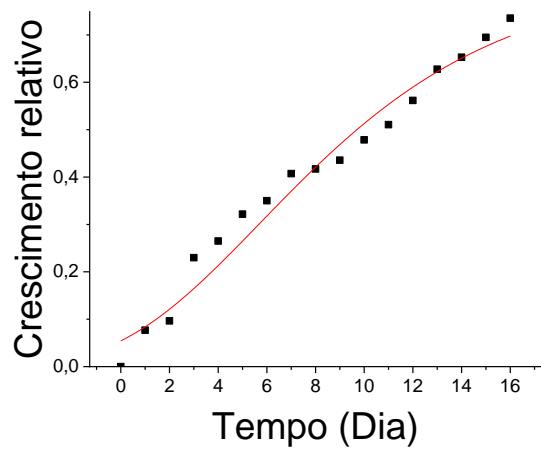
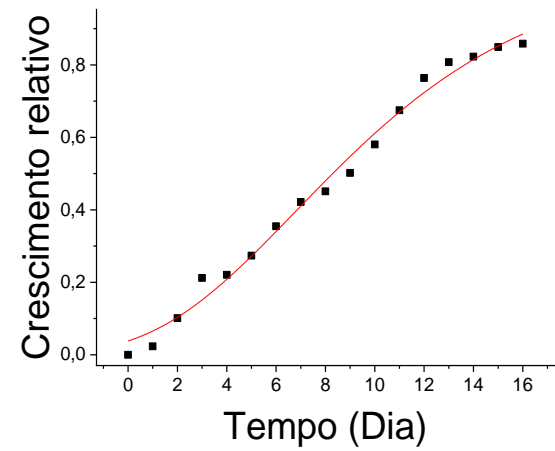
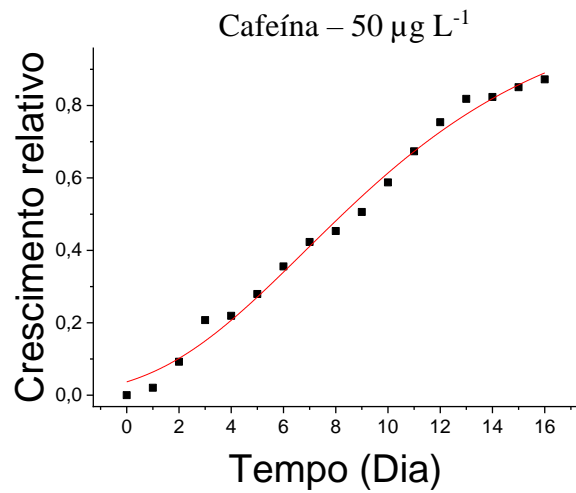
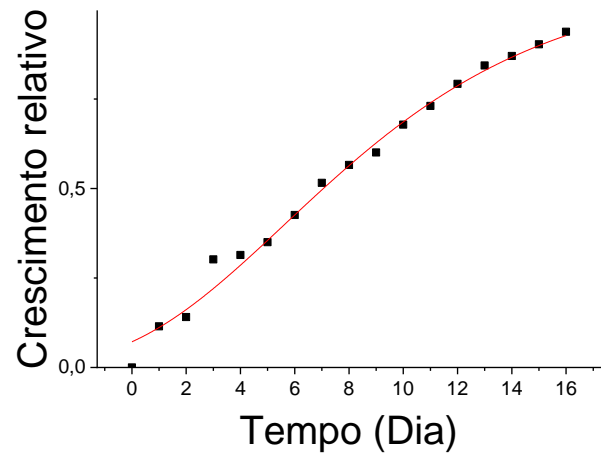


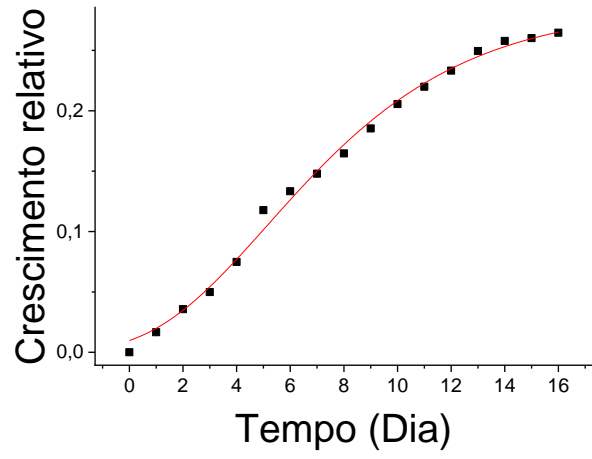
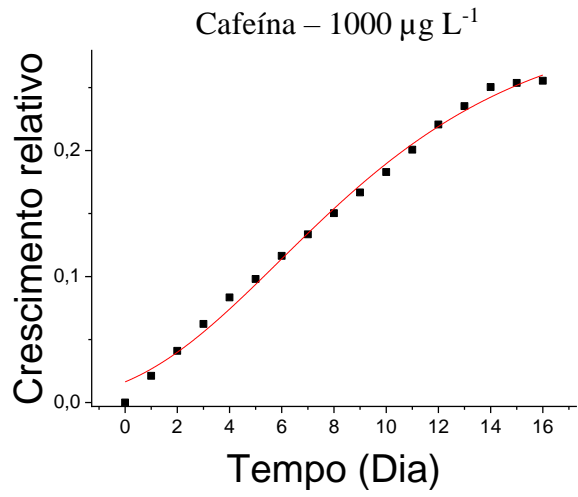
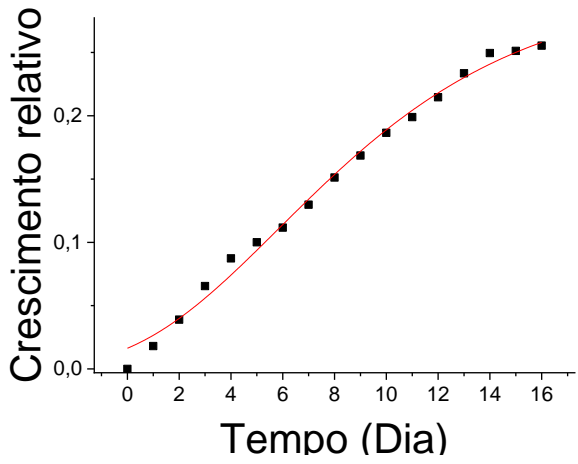
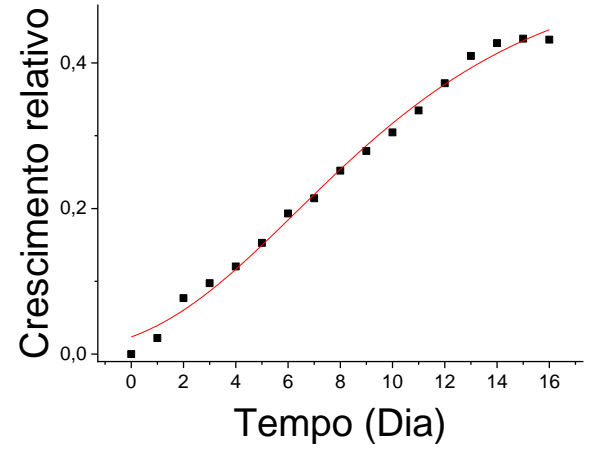
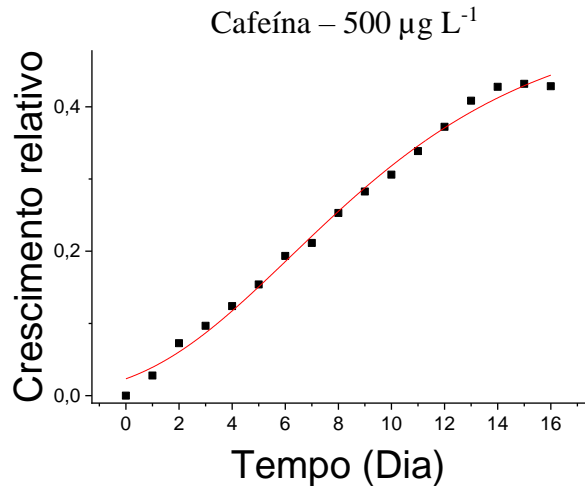
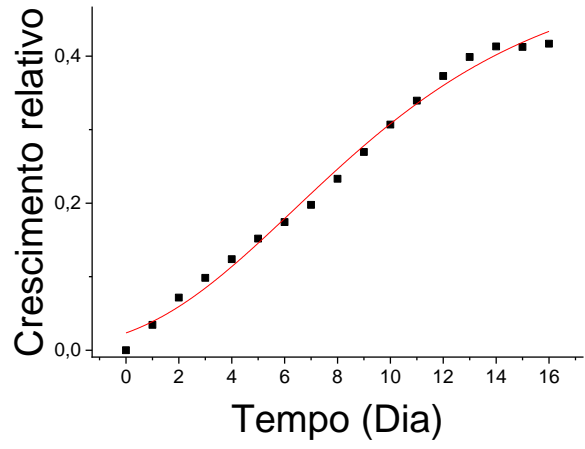


ANEXO 5:

A Ajustes do modelo de Gompertz modificado ao crescimento da *R. subcapitata* exposta à cafeína.

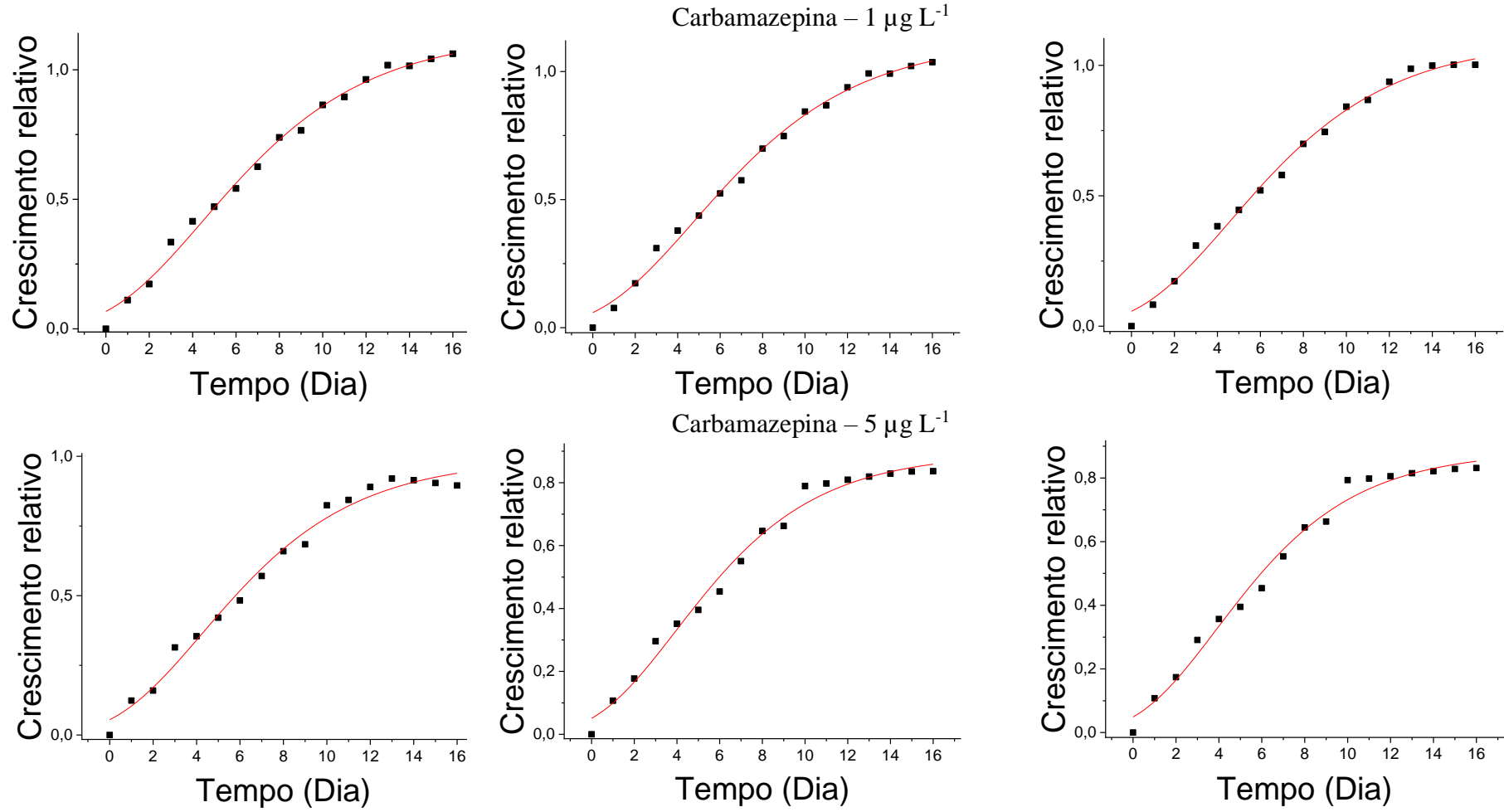


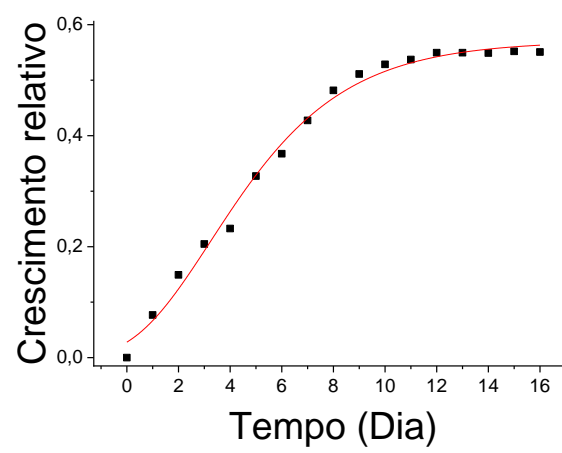
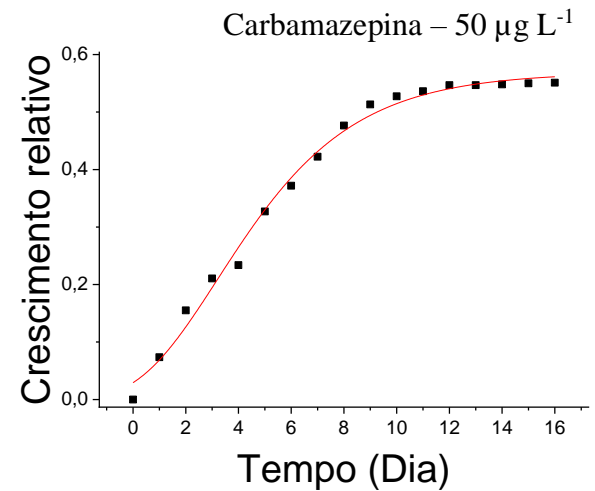
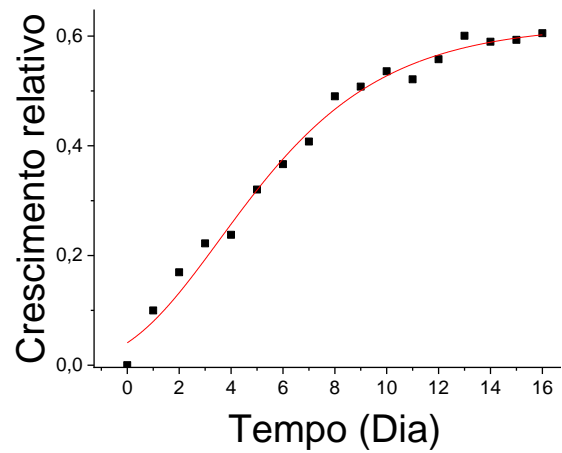
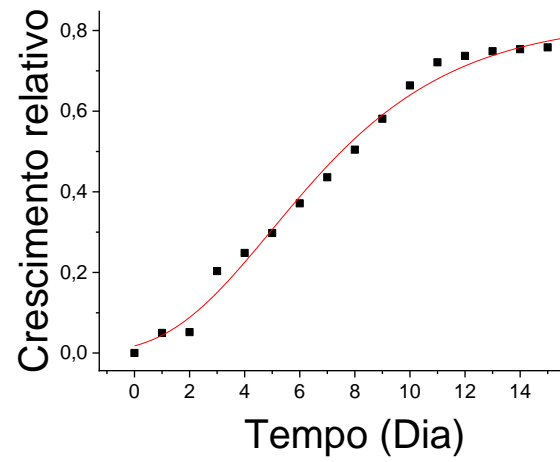
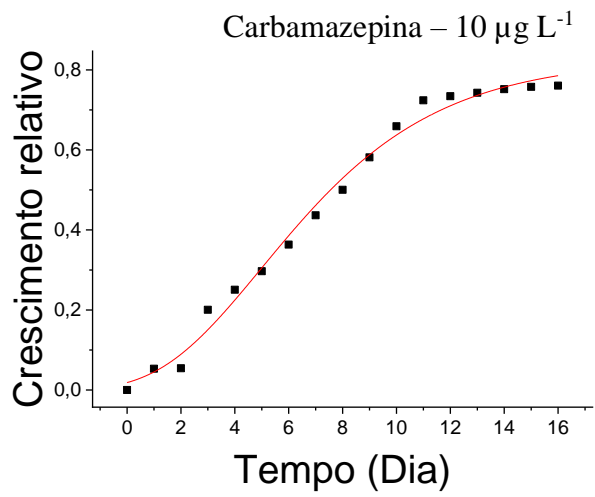
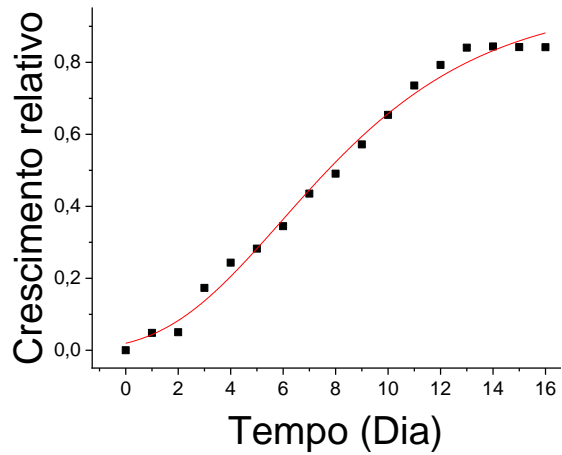


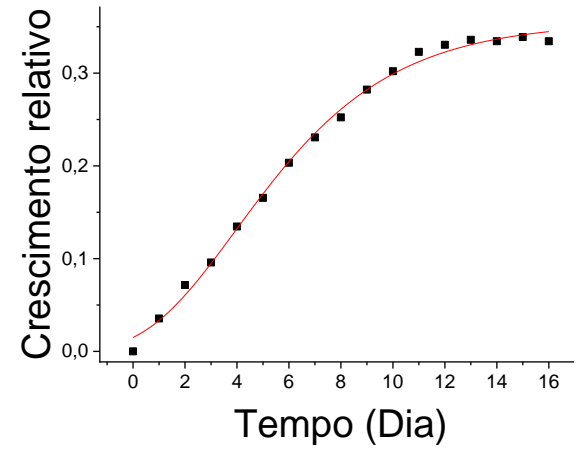
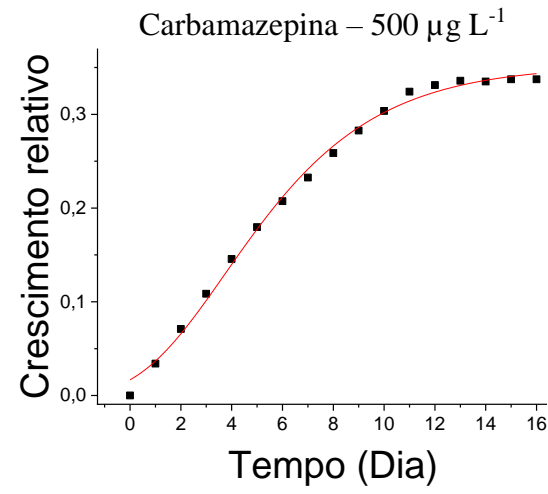
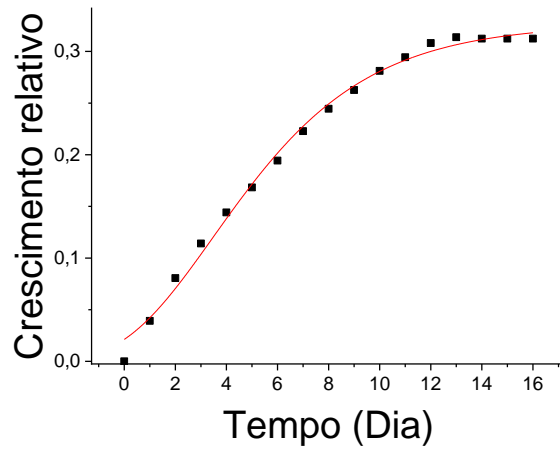
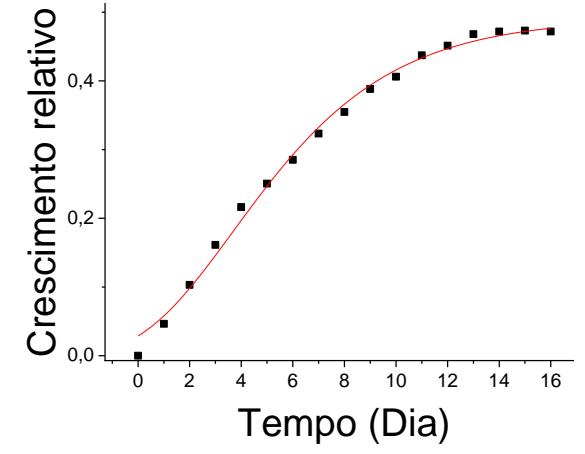
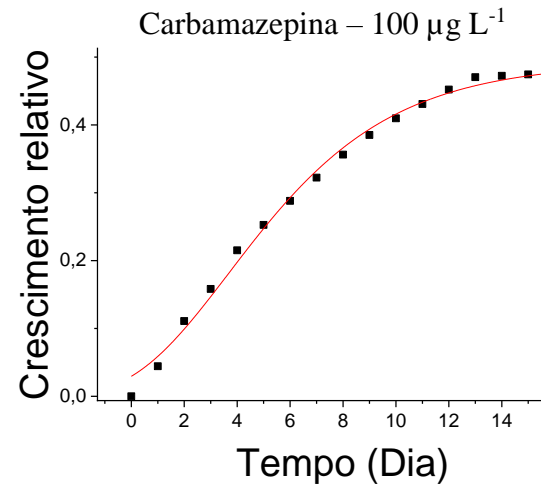
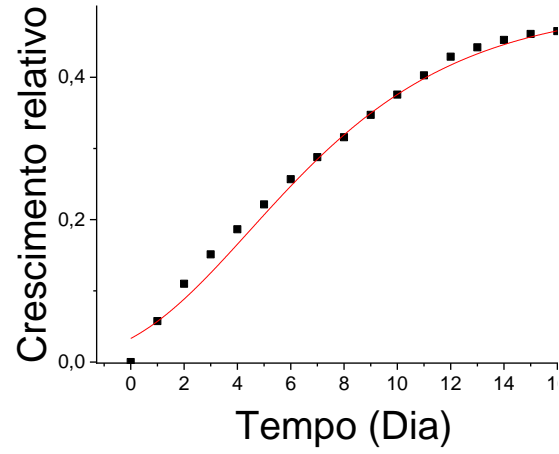


ANEXO 6:

Ajustes do modelo de Gompertz modificado ao crescimento da *R. subcapitata* exposta ao carbamazepina.

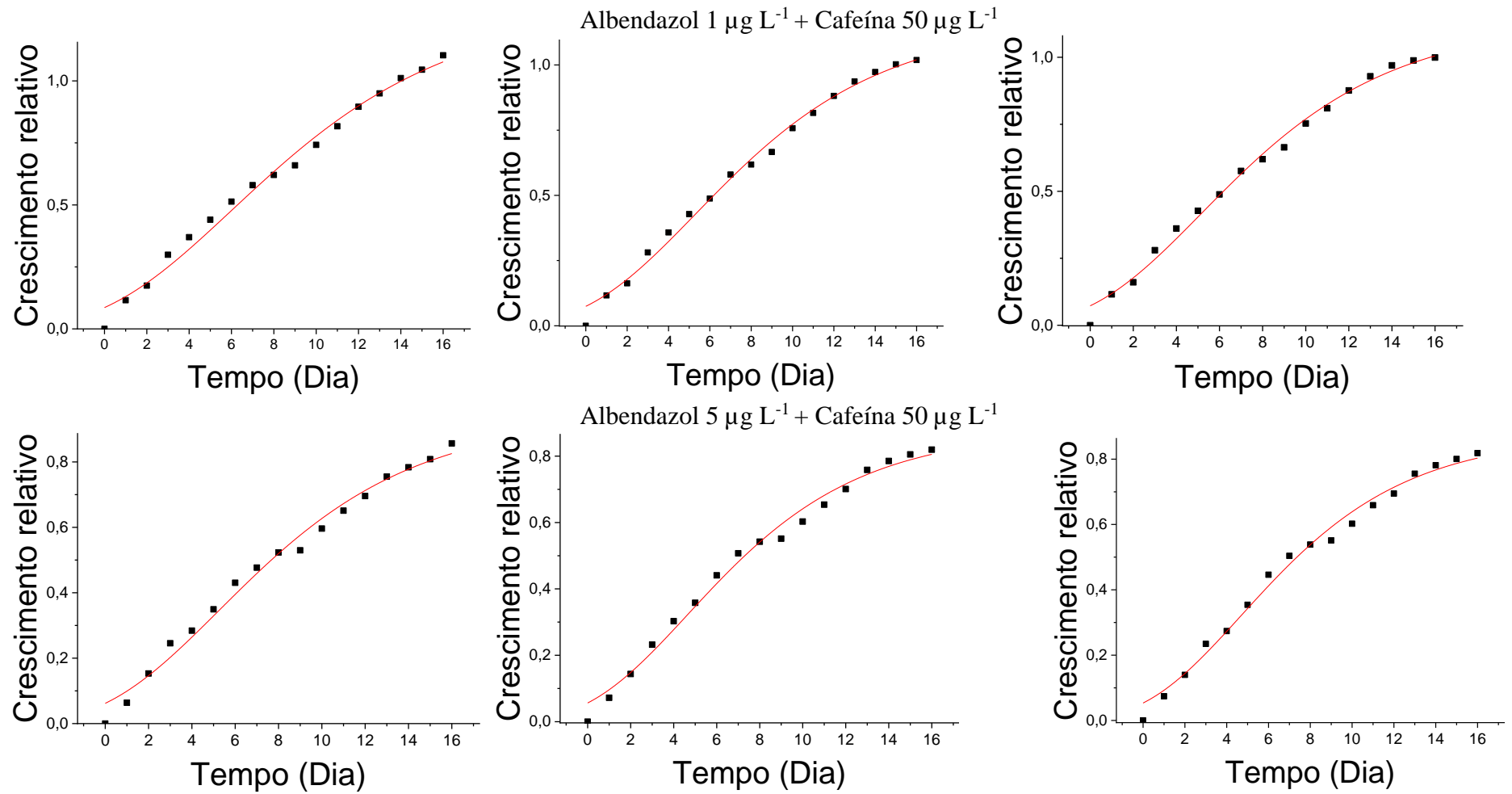


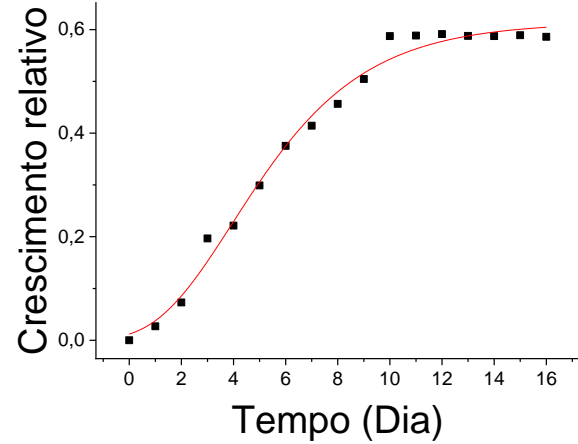
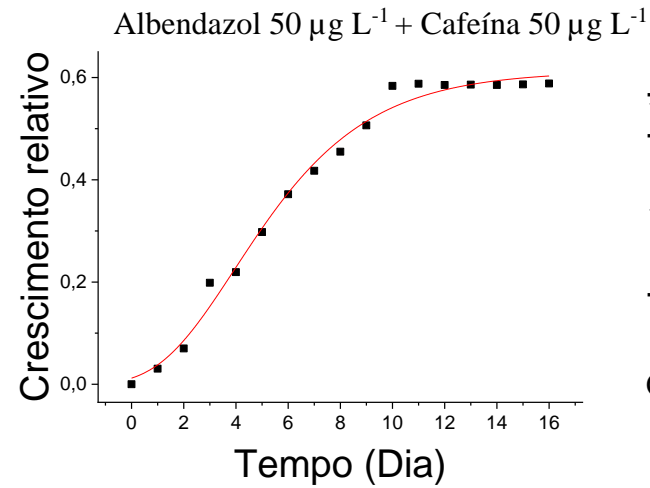
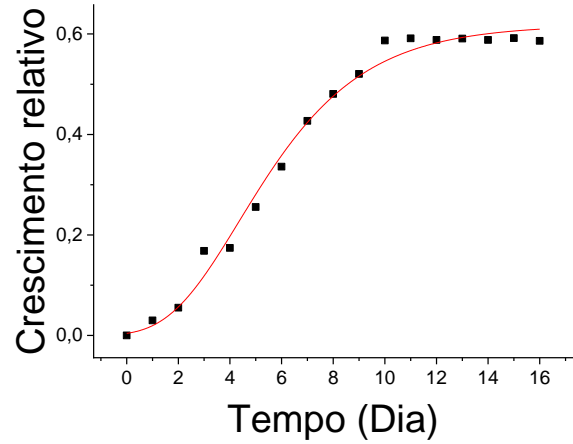
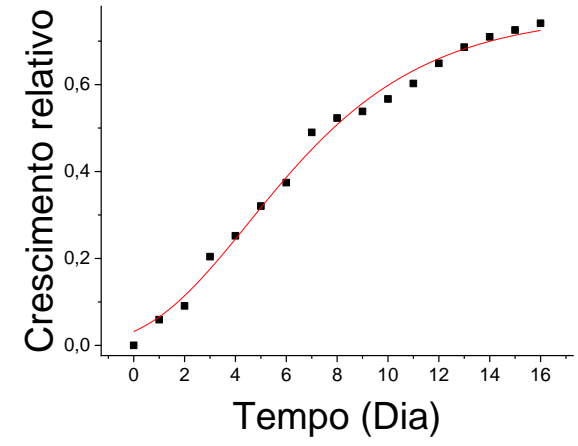
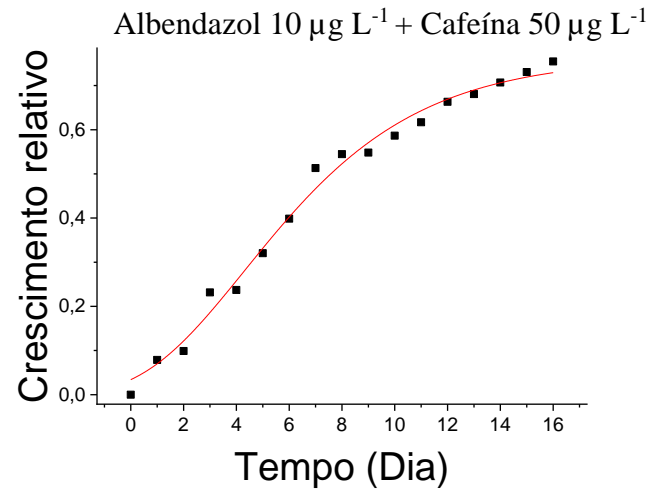
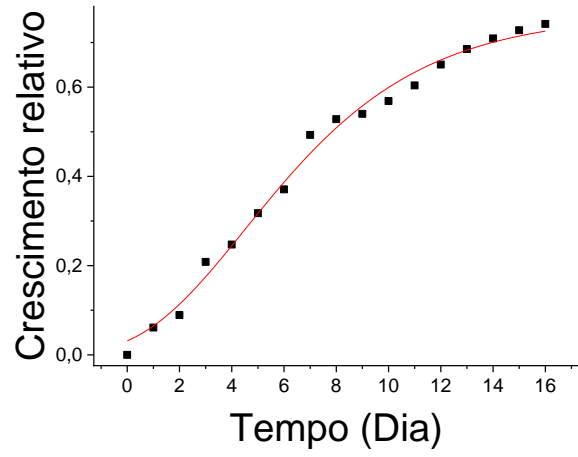


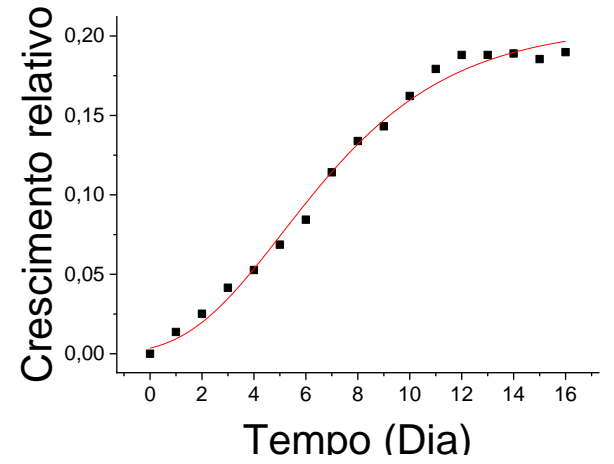
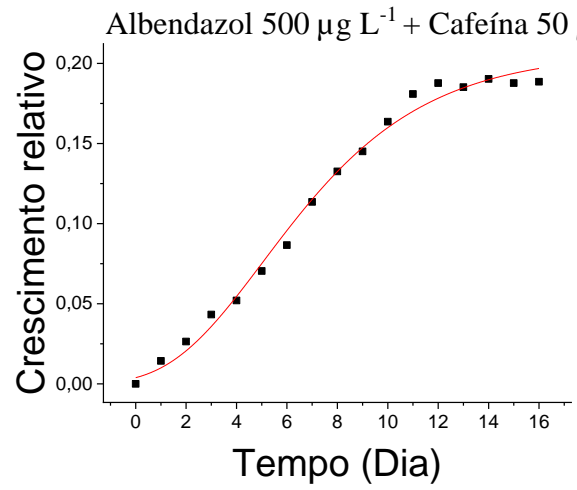
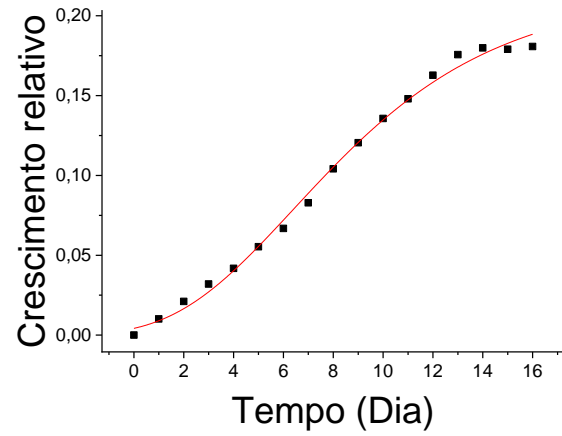
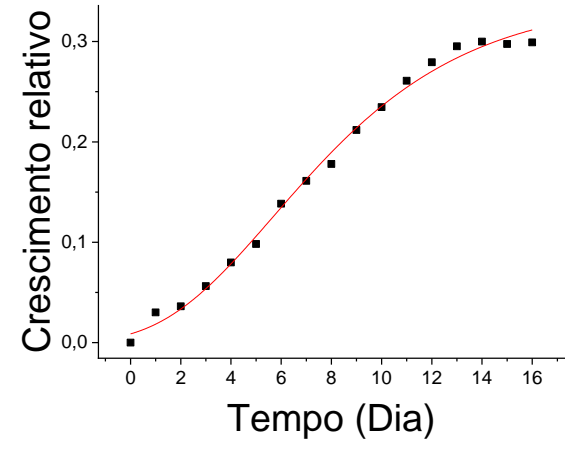
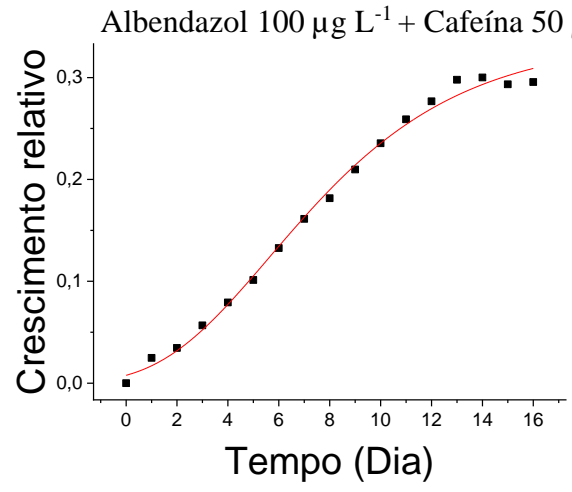
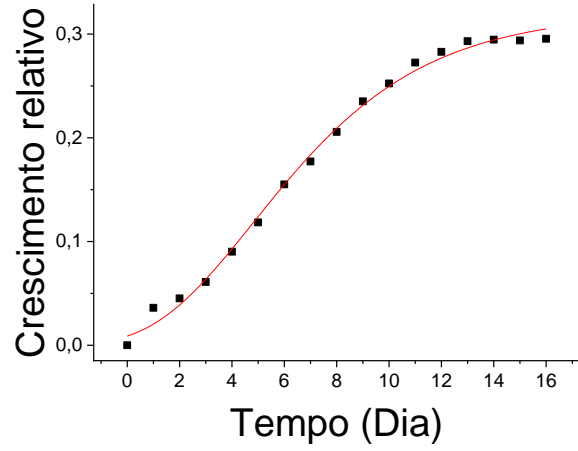


ANEXO 7:

Ajustes do modelo de Gompertz modificado ao crescimento da *R. subcapitata* exposta ao albendazol + cafeína.

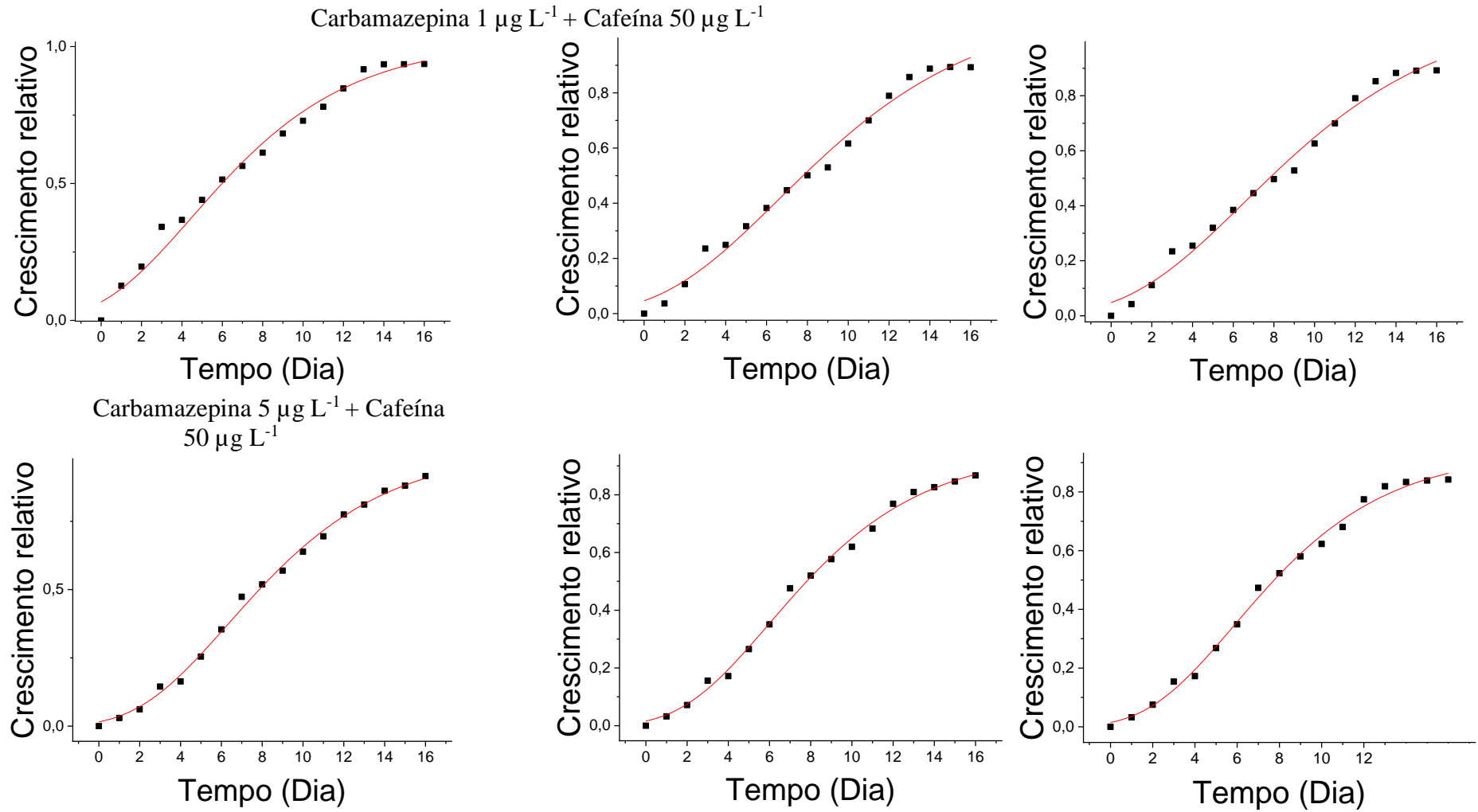


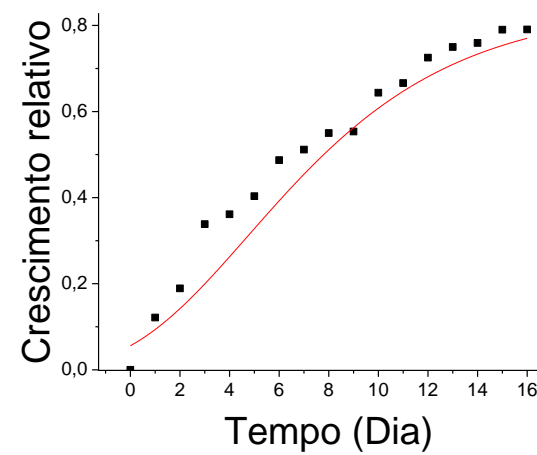
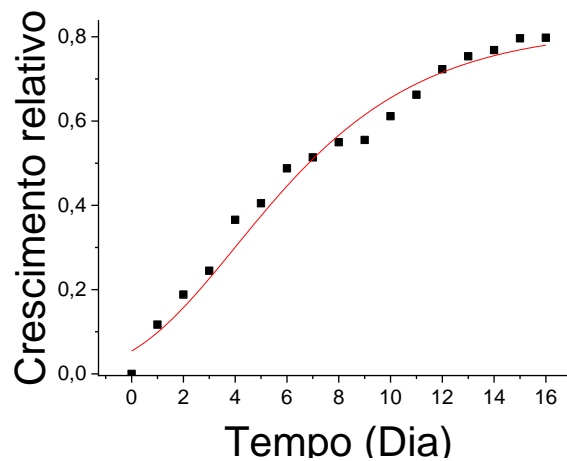
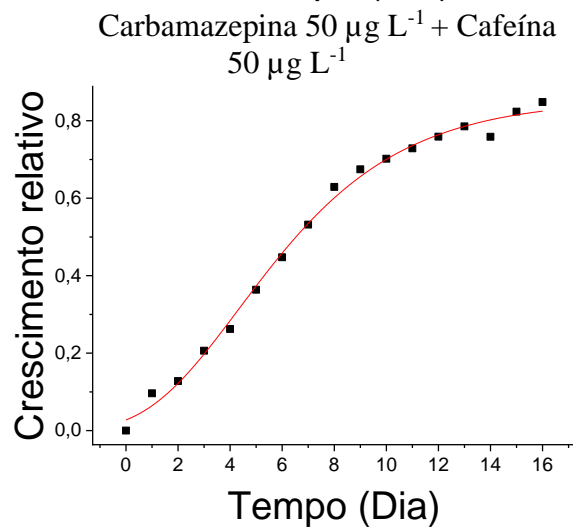
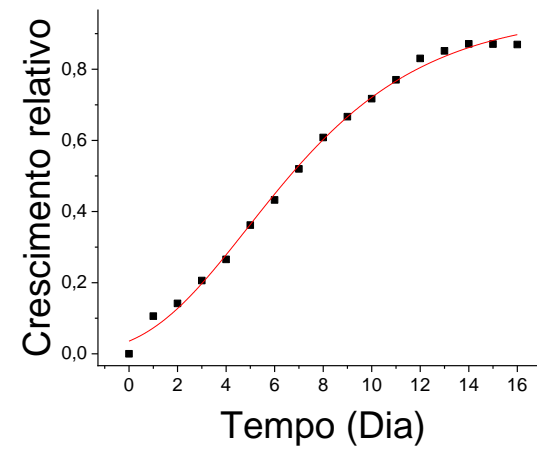
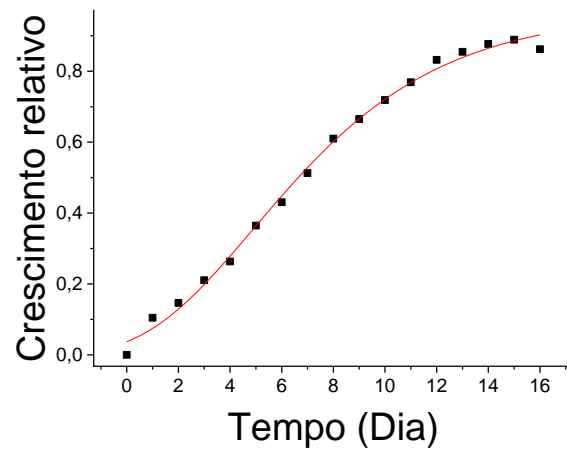
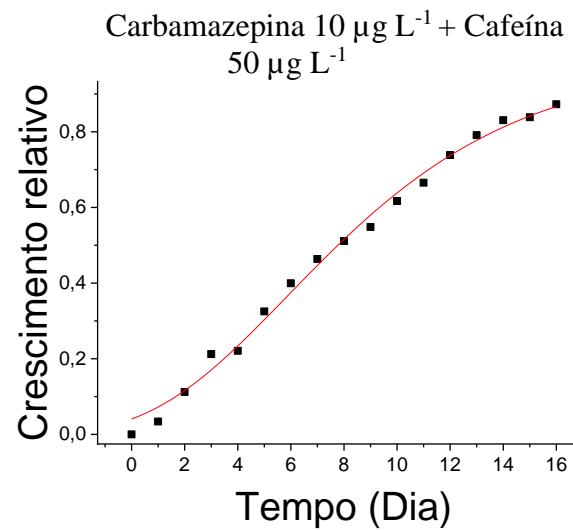




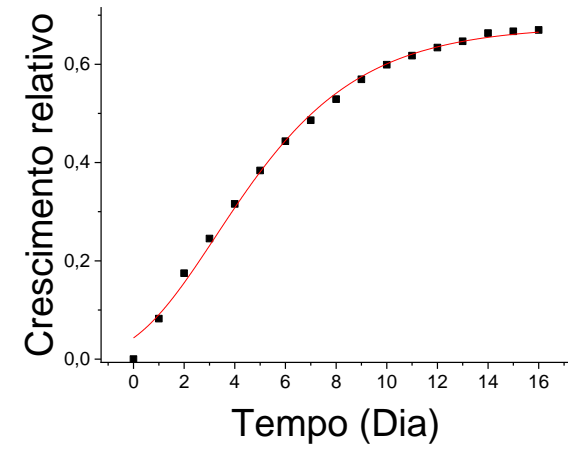
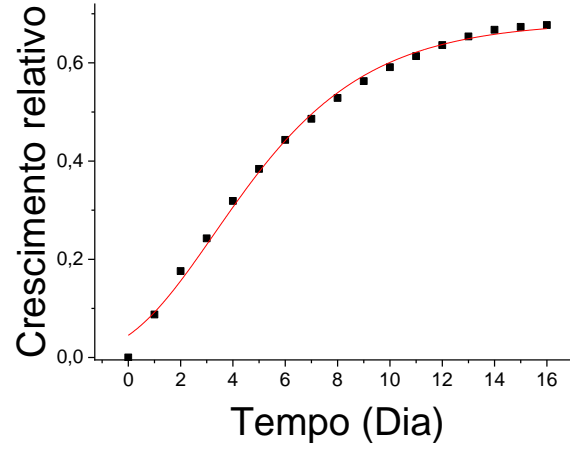
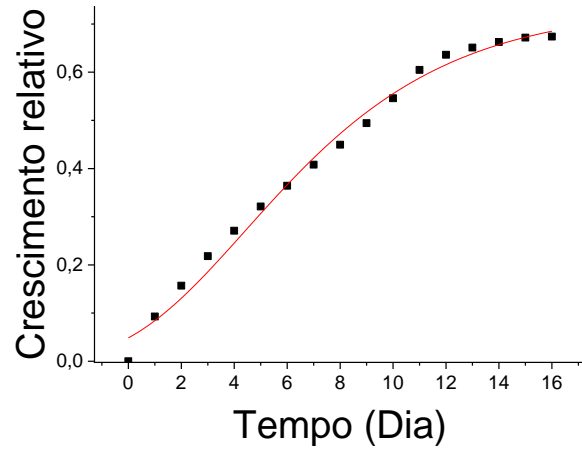
ANEXO 8:

Ajustes do modelo de Gompertz modificado ao crescimento da *R. subcapitata* exposta à carbamazepina + cafeína.





Carbamazepina 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ +
Cafeína 50 $\mu\text{g L}^{-1}$



Carbamazepina 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ +
Cafeína 50 $\mu\text{g L}^{-1}$

