

## **Remoção da Sertralina em Efluentes Aquosos Utilizando Carvão Ativado Obtido de Carço da Azeitona**

**Verónica Sofia dos Santos Machado**

*Dissertação apresentada à Escola Superior de Tecnologia e Gestão  
do Instituto Politécnico de Bragança  
para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química*

Orientadores

**Prof. Doutora Ana Queiroz**

**Prof. Doutor António Ribeiro**

**Prof. Doutor Paulo Brito**

**BRAGANÇA**

**2021**



*“Todos os nossos sonhos podem-se tornar realidade se tivermos a coragem de  
perseguir-los”*

*Walt Disney*

## Agradecimentos

Agradeço aos meus orientadores, Professor Doutor António Ribeiro, Professora Doutora Ana Queiroz e Professor Doutor Paulo Brito pela excelente orientação, pelas palavras de incentivo, pela sua disponibilidade e paciência. Estou-lhe muito grata por todas as experiências partilhadas ao longo do meu percurso académico.

Um agradecimento especial à Doutora Paula Placência por toda a ajuda no laboratório e por todo o apoio e à minha colega Nathalia Foureaux pela motivação e ajuda que me deu.

Quero agradecer às pessoas mais importantes da minha vida, os meus pais, por todo o apoio que me proporcionaram, por me incentivarem a nunca desistir e por me motivarem a fazer sempre mais e melhor. Sem eles, nada disto era possível.

À minha grande amiga Sílvia por apoiar incondicionalmente em todos os momentos e por me motivar a continuar a lutar.

Por último e não menos importante, a todos os meus amigos pela amizade e por me apoiarem em todos os momentos. Sou uma sortuda em tê-los na minha vida!

A todos eles, o meu mais sincero, MUITO OBRIGADA!



## Resumo

A presença de fármacos, dos seus metabolitos e produtos de degradação no meio ambiente, requer pesquisas e estudos de monitorização para avaliar os potenciais riscos para a saúde humana e para o ecossistema. Este tipo de compostos está presente no meio ambiente em concentrações muito baixas, da ordem do micrograma por litro e nanograma por litro, ou mesmo inferior. Além da dificuldade na deteção e quantificação de valores de concentração tão baixos, existe a necessidade de desenvolver processos de degradação ou remoção eficientes e que simultaneamente sejam menos complexos, mais rápidos, mais baratos e ecologicamente mais corretos do que as técnicas tradicionais. Existem vários caminhos possíveis para que os fármacos cheguem ao meio ambiente, tendo sido as estações de tratamento de águas residuais (ETAR) identificadas como uma das principais fontes. Após o tratamento realizado na ETAR, os efluentes são lançados nos rios, e o lodo produzido é descartado ou reutilizado na agricultura como fertilizante. Em consequência da eliminação incompleta de fármacos e dos seus metabolitos na ETAR, estes compostos acabam por atingir quase todas as matrizes ambientais. Para este estudo, a sertralina foi escolhida por ser um dos antidepressivos mais prescritos nos últimos anos em Portugal. Portanto, não é surpreendente que seja regularmente detetada em águas residuais, águas superficiais, sedimentos e nos influentes que chegam à ETAR.

Este trabalho encontra-se organizado em duas etapas experimentais distintas. Na primeira etapa, realiza-se a implementação experimental de um método analítico usando cromatografia líquida de alta performance com detetor de arranjo de díodos (HPLC-DAD) para avaliar os níveis de concentração de sertralina em matrizes aquosas. A análise é feita com uma coluna SiliaChrom® XT C18 compatível com uma gama de pH entre 1 e 12, visto que se utilizam soluções aquosas com um valor de pH compreendido entre 4 e 10. Na segunda etapa, apresenta-se um estudo sobre a remoção de sertralina por adsorção usando carvão ativado obtido de caroço de azeitona. Apresenta-se um estudo de equilíbrio de adsorção de sertralina utilizando o método descontínuo, também designado por método “batch”. Nestes estudos, utiliza-se carvão ativado obtido diretamente de uma primeira moagem do caroço de azeitona, designado por

“adsorvente 1” e um carvão ativado obtido da moagem do caroço de azeitona para um diâmetro inferior a 0,25 mm, designado por “adsorvente 2”. Apresenta-se para ambos os tipos de adsorvente, a eficiência de remoção de sertralina com o tempo de contacto de 50 mL de uma solução de sertralina a 20 mg/L com 250 mg de adsorvente. Estudou-se ainda a eficiência de remoção do “adsorvente 2”, utilizando 50 mg de adsorvente. Em todos os estudos de adsorção utilizou-se uma temperatura constante de 25°C. Verificou-se que o diâmetro do caroço da azeitona influencia na adsorção do fármaco tendo-se observado melhores resultados utilizando um diâmetro de adsorvente de 0,25 mm. Utilizando o adsorvente com um diâmetro médio de 0,25 mm, uma concentração de sertralina de 20 mg/L e 250 mg de adsorvente, após 10 minutos de contacto a remoção foi de 100%. Para a mesma concentração de sertralina utilizando 50 mg de adsorvente, a remoção é completa ao fim de 50 minutos.

**Palavras-chave:** Fármacos; Sertralina; Cromatografia Líquida de Alta Performance com Detetor de Arranjo de Díodos; Carvão Ativado; Caroço de Azeitona.

## Abstract

The presence of drugs, their metabolites and degradation products in the environment requires research and monitoring studies to assess potential risks to human health and the ecosystem. This type of compound is present in the environment in very low concentrations, on the order of microgram per liter, nanogram per liter, or even lower. In addition to the difficulty in detecting and quantifying such low concentration values, there is a need to develop efficient degradation or removal processes that are simultaneously less complex, faster, cheaper and more ecologically friendly than traditional techniques. There are several possible paths for drugs to reach the environment, with wastewater treatment plants (WWTP) identified as one of the main sources. After the treatment carried out at the WWTP, the effluents are released into the rivers, and the sludge produced is discarded or reused in agriculture as fertilizer. As a result of the incomplete elimination of drugs and their metabolites in the WWTP, these compounds end up reaching almost all environmental matrices. For this study, sertraline was chosen because it is one of the most prescribed antidepressants in recent years in Portugal. Therefore, it is not surprising that it is regularly detected in wastewater, surface water, sediment and in influents arriving at the WWTP.

This work is organized in two distinct experimental stages. In the first stage, the experimental implementation of an analytical method using high-performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD) is carried out to assess the levels of sertraline concentration in aqueous matrices. The analysis is carried out with a SiliaChrom® XT C18 column compatible with a pH range between 1 and 12, since aqueous solutions are used with a pH value between 4 and 10. In the second step, a study on the removal of sertraline by adsorption using activated charcoal obtained from olive pit is done. An equilibrium study of sertraline adsorption using the batch method, also known as the “batch” method, is presented. In these studies, activated charcoal obtained directly from a first milling of the olive pit, called “adsorbent 1” and an activated charcoal obtained from the milling of the olive pit to a diameter less than 0.25 mm, called “adsorbent 2” are used. For both types of adsorbents, the efficiency of sertraline removal is shown with a contact time of 50 mL of a 20 mg/L sertraline solution

with 250 mg of adsorbent. The efficiency of “adsorbent 2” adsorbent removal was also studied, using 50 mg of adsorbent. In all adsorption studies a constant temperature of 25°C was used. It was found that the diameter of the adsorbent influences the adsorption of the drug, with better results being obtained when the adsorbent was 0.25 mm. Using the adsorbent with an average diameter of 0.25 mm, a sertraline concentration of 20 mg/L and 250 mg of adsorbent, after 10 minutes of contact the removal was 100%. For the same concentration of sertraline using 50 mg of adsorbent, removal is complete after 50 minutes.

**Keywords:** Pharmaceutical Drugs; Sertraline; High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector; Activated Carbon; Olive stones.

# ÍNDICE

<b>Lista de Figuras</b>	ii
<b>Lista de Tabelas</b>	iii
<b>Lista de Abreviaturas</b>	iv
<b>Nomenclatura</b>	v
<b>Capítulo 1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1 Enquadramento	1
1.2 Objetivos	2
<b>Capítulo 2. A SERTRALINA COMO MICROPOLUENTE</b>	<b>4</b>
2.1 Os fármacos como micropoluentes	4
2.2 Monitorização de antidepressivos por cromatografia líquida	14
2.3 Remoção de sertralina utilizando adsorventes de base natural	16
<b>Capítulo 3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>19</b>
3.1 Reagentes e adsorvente	19
3.2 Material e Equipamento	19
3.3 Quantificação de sertralina por HPLC-DAD	21
3.4 Adsorção de sertralina utilizando diferentes adsorventes obtidos do caroço de azeitona	24
<b>Capítulo 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>26</b>
4.1 Otimização das condições de operatórias em HPLC	26
4.2 Curvas de calibração de sertralina e tratamento estatístico	27
4.3 Remoção de sertralina utilizando diferentes tipos de adsorvente	29
<b>Capítulo 5. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO</b>	<b>34</b>
5.1 Conclusões	34
5.2 Sugestões de trabalho futuro	35
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>36</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b>	Rotas de exposição de fármacos no ambiente.	8
<b>Figura 2.</b>	Estrutura da sertralina.	12
<b>Figura 3.</b>	Sistema de HPLC-DAD, Jasco Extreme, utilizado na quantificação da sertralina.	21
<b>Figura 4.</b>	Moinho de laboratório utilizado na trituração do caroço de azeitona.	21
<b>Figura 5.</b>	Análise da sertralina por HPLC-DAD utilizando uma fase móvel de acetonitrilo com diferentes valores de pH.	27
<b>Figura 6.</b>	Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD para a análise de uma solução padrão de sertralina de 20 ppm utilizando 4 comprimentos de onda diferentes.	28
<b>Figura 7.</b>	Curva de calibração da sertralina pura em metanol.	29
<b>Figura 8.</b>	Cromatogramas das várias concentrações da sertralina pura em metanol.	29
<b>Figura 9.</b>	Curva de calibração da sertralina comercial em metanol.	29
<b>Figura 10.</b>	Cromatograma das várias concentrações da sertralina comercial em metanol.	29
<b>Figura 11.</b>	Curva de calibração da sertralina pura em água destilada.	30
<b>Figura 12.</b>	Cromatograma das várias concentrações da sertralina comercial em água destilada.	30
<b>Figura 13.</b>	Estudo de remoção de sertralina utilizando 250 mg de carvão ativado obtido de caroço de azeitona granulado (“adsorvente 1”).	32
<b>Figura 14.</b>	Estudo de remoção de sertralina utilizando 250 mg de carvão ativado obtido de caroço de azeitona previamente moído para um tamanho médio de 25 mm (“adsorvente 2”).	33
<b>Figura 15.</b>	Estudo de remoção de sertralina utilizando 50 mg de carvão ativado obtido de caroço de azeitona previamente moído para um tamanho médio de 25 mm (“adsorvente 2”).	34

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b>	Principais classes de poluentes emergentes.	5
<b>Tabela 2.</b>	Principais classes de fármacos estudadas como poluentes emergentes.	7
<b>Tabela 3.</b>	Antidepressivos comercializados em Portugal.	11
<b>Tabela 4.</b>	Principais metodologias analíticas utilizadas na extração e quantificação de fármacos em meios aquosos.	15
<b>Tabela 5.</b>	Tratamento estatístico das 3 curvas de calibração da sertralina.	30
<b>Tabela 6.</b>	Eficiência de remoção da sertralina com 250 mg de carvão ativado obtido do caroço de azeitona em granulado.	31
<b>Tabela 7.</b>	Eficiência de remoção da sertralina com 250 mg de carvão ativado obtido do adsorvente moído para 0.25 mm.	32
<b>Tabela 8.</b>	Eficiência de remoção da sertralina com 50 mg de carvão ativado obtido do adsorvente moído para 0.25 mm.	33

## Lista de Abreviaturas

API	<i>Active Pharmaceutical Ingredient</i>
AR	Águas Residuais
GCxGC	<i>Comprehensive two-dimensional Gas Chromatography</i>
CLLE	Extração Líquido-Líquido Contínua
DAD	<i>Diode-Array Detector</i>
DEA	Dietilamina
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
FeOx	Ferroxalato
FLD	<i>Fluorescence Detector</i>
GC-MS	<i>Gas Chromatography with Mass spectrometry</i>
HOC	<i>Hydrophobic Organic Contaminants</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
GC-MS/TOF	<i>Gas Chromatography coupled with Time-of-Flight Mass Spectrometry</i>
LC-MS	<i>Liquid Chromatography with Mass Spectrometry</i>
LLE	<i>Liquid-Liquid Extraction</i>
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
PNUMA	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
POA	Processos Oxidativos Avançados
SER	Sertralina
SME	Microextração com Solventes
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>
TFA	Ácido trifluoroacético

## Nomenclatura

$C_0$	Concentração inicial de sertralina na solução	(mg/L)
$C_i$	Concentração final de sertralina na solução	(mg/L)
$a$	Ordenada na origem (curva de calibração)	
$b$	Declive (curva de calibração)	
$S_m$	Desvio padrão do método	(mg/L)
$S_a$	Desvio padrão da ordenada $a$ (curva de calibração)	
$S_b$	Desvio padrão do declive $b$ (curva de calibração)	
$A_i$	Área cromatográfica obtida para a réplica $i$	
$A_m$	Área cromatográfica média	

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Enquadramento

A presença de fármacos e dos seus metabolitos e produtos de degradação no meio ambiente requer estudos de pesquisa e controlo para avaliação dos potenciais riscos para a saúde humana e os ecossistemas (Paíga *et al.*, 2019). Estes estudos têm como objetivo a avaliação da presença de fármacos em diferentes matrizes ambientais, em particular no que se refere à sua localização e à identificação de fontes de contaminação, e contribuir para a implementação de valores-limite de concentração de forma a proteger o meio ambiente e a saúde humana. Em geral, os fármacos estão presentes no meio ambiente em concentrações muito baixas, na ordem de grandeza de partes por milhão, partes por bilião ou até mesmo inferior. Estes valores tão baixos de concentração implicam uma otimização cuidadosa dos processos de extração. Por outro lado, torna-se vantajoso o desenvolvimento de processos simples, rápidos, económicos e mais ecológicos do que os atuais processos baseados em técnicas tradicionais.

A prevalência de fármacos no meio ambiente é um problema bem estabelecido e bem quantificado, tornando-se numa questão de interesse científico e público devido ao seu elevado risco ambiental (Lolić *et al.*, 2015; Paíga *et al.*, 2019).

Existem várias fontes e rotas possíveis para que os fármacos cheguem ao meio ambiente, mas as estações de tratamento de águas residuais (ETAR) foram identificadas como sendo a principal fonte (Jelić *et al.*, 2012). As fontes de águas residuais incluem águas residuais domésticas, hospitalares, fábricas de medicamentos, lixiviados de aterros e a eliminação direta de medicamentos não utilizados no ambiente (Nikolaou *et al.*, 2007; Ortiz de García *et al.*, 2013). Após o tratamento realizado na ETAR, os efluentes tratados são lançados em rios, e os lodos produzidos são eliminados ou reaproveitados na agricultura como fertilizantes. Como consequência da eliminação incompleta de fármacos e metabólitos nas ETAR, estes compostos acabam por alcançar todas as matrizes ambientais (Nikolaou *et al.*, 2007). A presença de produtos farmacêuticos no ambiente aquático é confirmada em águas residuais, águas superficiais e subterrâneas e água potável (Ortiz de García *et al.*, 2013). Como estes compostos têm a capacidade

de se distribuírem em fases sólidas ambientais (Minten *et al.*, 2011), também é possível encontrar solos contaminados por produtos farmacêuticos em todo o mundo. Os sedimentos são depósitos naturais de muitas substâncias químicas presentes na água (Beretta *et al.*, 2014) e fornecem uma ampla variedade de locais de ligação atuando como grandes sumidouros para a deposição de poluentes (Ortega-Calvo *et al.*, 2013; Sakari *et al.*, 2014).

A sobrevivência humana depende de vínculos sustentáveis com o meio ambiente. Porém, o “presente” mostra uma realidade diferente. A degradação do meio ambiente é constante devido às atividades antropogênicas. Portanto, reduzir a poluição é um assunto muito problemático do planeta. Nas últimas décadas, um novo tema tem chamado a atenção: a questão dos produtos farmacêuticos e o seu potencial risco ambiental, tendo-se observado nos últimos anos um aumento significativo da avaliação de fármacos em águas superficiais (Lolić *et al.*, 2015; Madureira *et al.*, 2010).

## **1.2 Objetivos**

A presença de fármacos no meio ambiente tem sido um dos temas mais discutidos nas ciências ambientais nas últimas décadas. O estudo da ocorrência, comportamento e toxicidade desses compostos é essencial para determinar o risco decorrente da exposição e para implementar uma legislação adequada (Rowell *et al.*, 2010). Um dos principais fatores que influenciam a ocorrência de um contaminante no meio ambiente é o tratamento de águas residuais. Para micropoluentes, como os produtos farmacêuticos, o tratamento biológico secundário nas ETAR é, em média, 30% mais eficiente do que os tratamentos primários de águas residuais. Os principais mecanismos de remoção durante o tratamento secundário são a adsorção e a biodegradação. No entanto, as técnicas de tratamento existentes são apenas parcialmente bem-sucedidas na sua remoção (Choubert *et al.*, 2011). Consequentemente, o descarte pelas estações de tratamento de águas residuais costumam ser a principal fonte de contaminação das águas receptoras (Luo *et al.*, 2014).

Com base em previsões de toxicidade e avaliações de risco realizadas por Ortiz de Garcia *et al.* (2013), Kuzmanovic *et al.* (2016), Osorio *et al.* (2016), Mole *et al.* (2019) as

concentrações de sertralina (SER) provavelmente causarão efeitos tóxicos crônicos nos organismos de rios contaminados. Além disso, várias fontes relatam a bioacumulação de SER em organismos aquáticos, incluindo invertebrados (por exemplo, moluscos e crustáceos), peixes e besouros aquáticos (Solla *et al.*, 2016; Grabicova *et al.*, 2017).

Embora a toxicidade e a ocorrência tenham sido amplamente estudadas, faltam ainda dados sobre a biodegradação e biotransformação da sertralina. A pesquisa bibliográfica realizada encontrou poucos artigos que abordam as eficiências de remoção em ETAR (Golovko *et al.*, 2014; Lajeunesse *et al.*, 2008 e 2012; Schlüsener *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2014).

Desta forma, os principais objetivos deste estudo são:

- (i) Desenvolver um método de detecção e quantificação por cromatografia líquida (HPLC-DAD) para a sertralina em matrizes aquosas. Nomeadamente:
  - Seleção da fase estacionária (tipo de coluna cromatográfica) mais adequada para análise;
  - Otimização da composição da fase móvel;
  - Determinação das curvas de calibração, limites de detecção e de quantificação, repetibilidade e reprodutibilidade;
  - Validação do método de detecção através da quantificação de sertralina num comprimido comercial.
- (ii) Validar o método analítico de extração, de quantificação e de remoção através da sua implementação com amostras reais.
- (iii) Estudo do equilíbrio de adsorção de sertralina utilizando diferentes tipos de adsorventes obtidos do caroço da azeitona.

## 2. A SERTRALINA COMO MICROPOLUENTE

### 2.1 Os fármacos como micropoluentes

O problema da presença de micropoluentes em meios aquosos já vem de longa data. Na década de 1970, nos Estados Unidos, Garrison *et al.* (1976) e Hignite e Azarnof (1977) realizaram estudos sobre fármacos no meio ambiente, tendo encontrado em efluentes de estações de tratamento de efluentes (ETE), o ácido clofíbrico na forma de cloridrato e etofibrato, em quantidades da ordem de micrograma por litro. Este ácido é um metabólito dos antilipêmicos, uma classe de fármacos utilizada no tratamento de colesterol elevado.

Atualmente, um dos tópicos mais relevantes na química ambiental é a qualidade da água. A preocupação com os micropoluentes, tem aumentado expressivamente nos últimos anos. Os fármacos, os disruptores endócrinos e os poluentes orgânicos persistentes são classes de substâncias muito estudadas devido, principalmente, aos seus possíveis efeitos nocivos quer no meio ambiente quer no organismo humano, mesmo em concentrações menores do que partes por milhão (Bila e Dezotti, 2007).

Entre os micropoluentes mais estudados encontram-se os compostos orgânicos, micropoluentes orgânicos, poluentes emergentes, disruptores endócrinos e produtos farmacêuticos (Luo *et al.*, 2014). Estas substâncias apresentam propriedades toxicológicas, persistentes e bioacumulativas que podem causar efeitos negativos no meio ambiente e/ou nos organismos vivos. Elas estão presentes em produtos consumidos, como por exemplo, remédios, cosméticos, produtos de limpeza e pesticidas ou são excretadas como hormonas, metabólitos, resíduos farmacêuticos não metabolizados, entre outros (Pal *et al.*, 2014).

Poluentes emergentes são novos produtos ou produtos químicos sem um conhecimento regular e cujos efeitos sobre o meio ambiente e a saúde humana são desconhecidos (Halling-Sorensen *et al.*, 1998; Garric e Ferrari, 2005).

Com estas características, os micropoluentes emergentes podem ser agrupados em várias categorias, como se apresenta na Tabela 1, tais como fármacos, produtos de cuidado pessoal, hormonas esteroides, químicos industriais, entre outros. Em cada

categoria é possível encontrar subclasses de compostos. No caso dos fármacos pode-se referir as subclasses dos anti-inflamatórios, antibióticos, analgésicos entre outros, sendo cada um destes compostos provenientes de diferentes fontes, como por exemplo os resíduos domésticos ou os efluentes hospitalares. Estes produtos químicos são amplamente utilizados hoje em dia pela sociedade, aumentando cada vez mais a sua quantidade nos ecossistemas (Filho *et al.*, 2007; Soares e Leão, 2015).

**Tabela 1** - Principais classes de poluentes emergentes. *Fonte: Luo et al., 2014.*

<b>Categoria</b>	<b>Subclasse</b>	<b>Fonte</b>
<b>Fármacos</b>	Drogas (anti-inflamatórios, antibióticos, analgésicos e outros)	Resíduos domésticos, efluentes de hospitais, escoamento de criadores de animais confinados, aquicultura
<b>Produtos de cuidado pessoal</b>	Fragâncias, desinfetantes, protetores solares, repelentes de insetos e outros	Resíduos domésticos
<b>Hormonas esteroides</b>	Estrogénio	Resíduos domésticos, escoamento de animais confinados
<b>Surfactantes</b>	Surfactantes não iónicos	Resíduos doméstico, efluente industrial
<b>Químicos industriais</b>	Retardantes de chama	Resíduos doméstico, efluentes industriais
<b>Agrotóxicos</b>	Inseticidas, herbicidas, fungicidas e outros	Resíduos doméstico, escoamento superficial em áreas agrícolas

### 2.1.1 Legislação sobre Micropoluentes

Nos últimos anos tem vindo a ser cada vez mais reconhecida a necessidade de se gerir a proliferação, a incidência ambiental e o risco da presença de contaminantes emergentes nas águas superficiais, em particular na Europa. Os esforços legislativos levaram ao surgimento de listas dinâmicas de vigilância de contaminantes emergentes no contexto da Diretiva do Quadro da Água (Diretiva 2000/60/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de outubro de 2000), a qual estabeleceu a monitorização obrigatória em toda a União Europeia (Reis-Santos *et al.*, 2018).

Na última década, foram publicadas a Diretiva 2008/105/CE, a Diretiva 2013/39/EU e a Decisão de Execução da Comissão da UE 2018/840, e listas de

observação dinâmicas estabelecidas de contaminantes emergentes (por exemplo, amoxicilina, ciprofloxacina ou antibióticos macrolídeos) dentro da Diretiva-Quadro da Água que estipula a monitorização obrigatória em toda a União Europeia.

### **2.1.2 Classes de Fármacos**

Os fármacos, são substâncias químicas com propriedades terapêuticas. Estas substâncias incluem compostos orgânicos e inorgânicos e são moderadamente solúveis em água, hidrofílicos. Podem também ser lipofílicos, isto é, têm a capacidade de ser dissolvidos em gorduras, óleos vegetais e lípidos, e são biologicamente ativos.

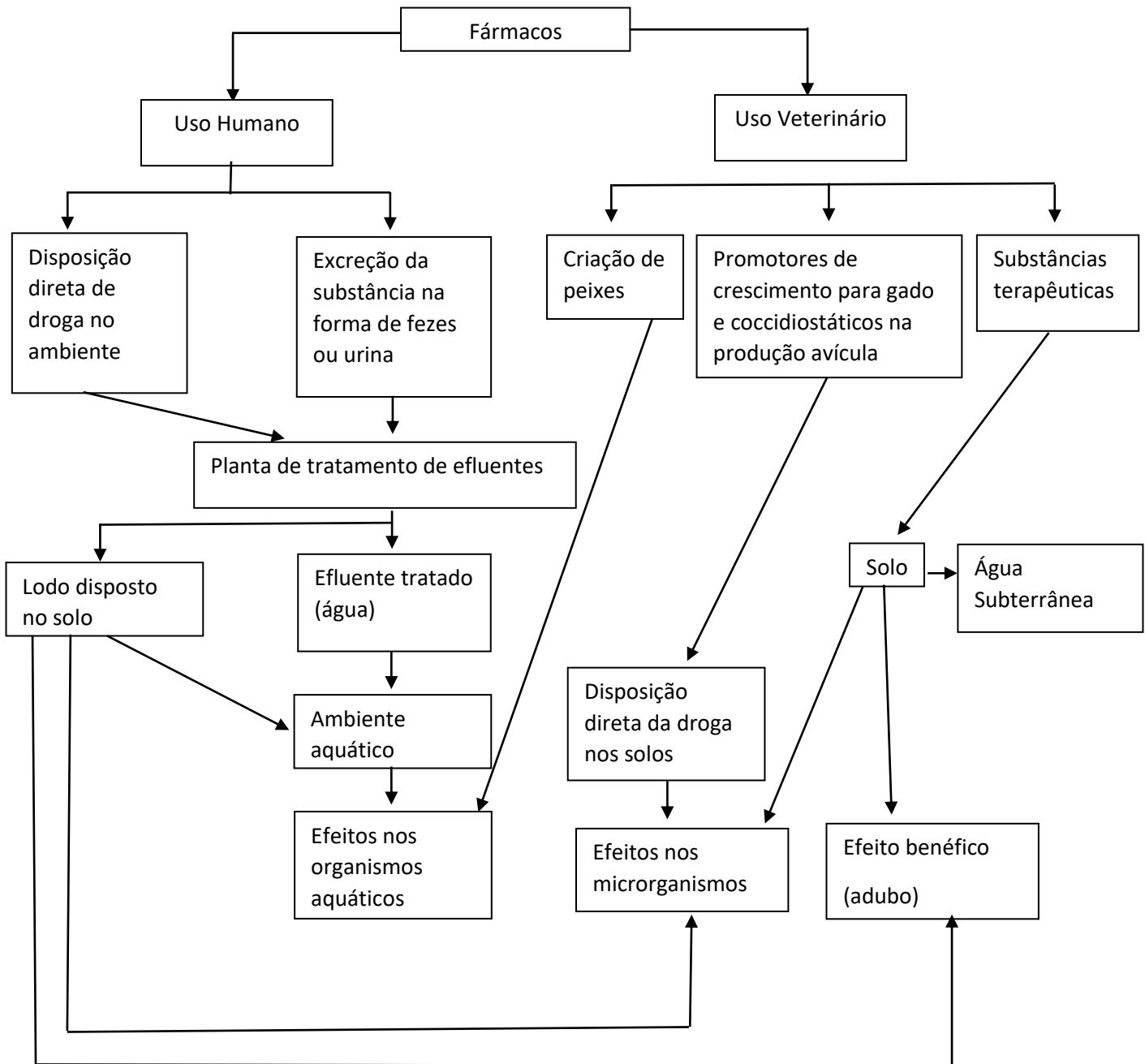
A administração de fármacos pode ser feita internamente (via oral), topicamente (aplicação na pele ou inalação) ou de modo parental (infusões e injeções). Depois de administradas, as moléculas dos fármacos são adsorvidas, distribuídas, metabolizadas e por fim excretadas pelo corpo. Por segurança, a maioria dos fármacos são produzidos de forma a serem metabolizados em órgãos como os rins ou o fígado para que assim se atinja os efeitos farmacológicos desejados. O metabolismo elimina moléculas de fármacos em excesso, compostos tóxicos, via uma série de biotransformações enzimáticas e converte-os em compostos mais polares e hidrofílicos (Tambosi, 2018).

A Tabela 2 apresenta algumas das várias classes de fármacos, nomeadamente antibióticos, analgésicos, anti-inflamatórios, antidepressivos, anticancerígenos, entre outros.

**Tabela 2** - Principais classes de fármacos estudadas como poluentes emergentes.

<b>Classe de Fármacos</b>	<b>Exemplo de Compostos</b>	<b>Referência</b>
<b>Antibióticos</b>	Amoxicilina; ampicilina; ciprofloxacina; cefalexina; cefazolina; cefotaxima; claritromicina; cloranfenicol; clorotetraciclina; eritromicina; lincomicina; metronidazol; norfloxacino; ofloxacina; penicilina; roxitromicina; sulfametazina; sulfametoxazol; sulfapiridina; trimetoprima; tetraciclina.	Jiang <i>et al.</i> , 2013
<b>Analgésicos</b>	Paracetamol; codeína; fenoprofeno; metamizol	Silva e Collins, 2011
<b>Anti-inflamatórios</b>	Ácido acetilsalicílico; ácido mefenâmico; ácido tiaprofênico; carprofeno; cetoprofeno; diclofenaco; ibuprofeno; indometacina; loxoprofeno; naproxeno.	Jiang <i>et al.</i> , 2013
<b>Antidepressivos</b>	Antipirina; aminoantipirina; carbamazepina; citalopram; clonazepam; diazepam; duloxetina; fluoxetina; mirtazapina; paroxetina; sertralina; venlafaxina.	Gavrilescu <i>et al.</i> , 2015
<b>Reguladores lipídicos</b>	Acebutolol; ácido clofíbrico; ácido fenofíbrico; bezafibrato; genfibrozila.	Barceló <i>et al.</i> , 2003
<b>Beta bloqueadores/Anti-hipertensivos</b>	Atenolol; ácido amido; bendroflumetiazida; betaxolol; clorotiasida; diltiazem; furosemida; hidroclorotiazida; metoprolol; perindopril; propranolol; soltalol; timolol; valsartana.	Silva e Collins, 2011
<b>Contraceptivos Hormonais</b>	Tinilestradiol; desogestrel, mestranol;	Birkholz <i>et al.</i> , 2014
<b>Antidiabéticos</b>	Glibenclamida; gliclazida; metformina.	Gavrilescu <i>et al.</i> , 2015
<b>Anticancerígenos</b>	Ciclofosfamida; ifosfamida	Gavrilescu <i>et al.</i> , 2015

Existem várias fontes de contaminação do ambiente pelos fármacos. Na Figura 1, apresenta-se uma representação sugerida por Halling-Sørensen *et al.*, 1998.



**Figura 1** - Rotas de exposição de fármacos no ambiente. *Fonte: Halling-Sørensen et al., 1998.*

O consumo de fármacos está presente no cotidiano, sendo em hospitais, clínicas e até mesmo em casa. Esses fármacos são excretados através das fezes e da urina fazendo com que terminem no sistema de tratamento de águas residuais, assim como

fármacos não utilizados ou fora da validade. Os efluentes hospitalares podem ser tratados separadamente ou combinados com efluentes municipais e, em seguida, tratados em estações de tratamento de águas residuais, ETAR (Machado, 2013).

### 2.1.3. Antidepressivos

A depressão é uma desordem do funcionamento cerebral. Pode ser causada por fatores externos e internos, como consumo de drogas, insegurança, solidão, perda de apetite, até mesmo intenções de suicídio, delírios, alucinações, entre outros (Beck *et al.*, 1998; Istilli *et al.*, 2010). É um dos transtornos mentais mais recorrentes e é considerada a quarta doença mais prevalente na população mundial. Encontra-se entre as dez principais doenças de destaque na sociedade (Oliveira *et al.*, 2012; Segat e Diefenthaler 2013; Ribeiro *et al.*, 2018).

Os antidepressivos, como o próprio nome indica, utilizados para o tratamento da depressão, são medicamentos submetidos a um controlo especial e devem ser comercializados por meio de apresentação de receita (Oliveira *et al.*, 2012). Podem ser divididos nas seguintes subclasses: Inibidores da Monoaminoxidase (iMAO), Antidepressivos Tricíclicos (ADT), Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina (ISRS). Os iMAOs são fármacos que atuam, de forma seletiva e reversível ou de forma não-seletiva e irreversível, inibindo a atividade da enzima monoaminoxidase, responsável pela degradação metabólica de noradrenalina, serotonina e dopamina. Nessa classe podem-se encontrar os princípios ativos iproniazida, moclobemida e selegilina (Moreno *et al.*, 1999; Souza, 1999; Istilli *et al.*, 2010; Cohen e Derubeis, 2018). Já os ADT atuam em nível pré-sináptico bloqueando a recaptura de monoaminas, noradrenalina, serotonina e dopamina em menor proporção. Os principais representantes desta classe são os princípios ativos imipramina, desipramina, trimipramina, clomipramina, amitriptilina, nortriptilina, protipilina, doxepina, amoxapina, dotiepina e odoxulepina (Segat e Diefenthaler, 2013; Wannmacher, 2016). Os ISRS (inibidores seletivos da recaptura de serotonina) referem-se a fármacos que bloqueiam de forma seletiva e potente a recaptura serotoninérgica. Destacam-se nesta classe os princípios ativos fluoxetina, fluvoxamina, **sertralina**, paroxetina, citalopram, norcitalopram, tianeptina, mianserina (Moreno *et al.*, 1999; Wannmacher, 2016; Cohen

e Derubeis, 2018). Os antidepressivos atípicos têm um duplo mecanismo de ação. Alguns atuam tanto na transmissão de noradrenalina quanto de serotonina. Os princípios ativos que compartilham este mecanismo de ação são a duloxetina, mirtazapina, maprotilina, nefazodona, milanaciprana, trazodona, desvenlafaxina e venlafaxina. Outros apresentam propriedades inibidoras de captação de noradrenalina e dopamina. O principal representante deste segundo mecanismo de ação é o princípio ativo bupropiona (Moreno *et al.*, 1999; Isacson e Rich, 2014; Listunova *et al.*, 2018; Cohen e Derubeis, 2018). Na Tabela 3 apresenta-se uma lista de antidepressivos comercializados em Portugal.

**Tabela 3** - Antidepressivos Comercializados em Portugal. (Fonte: INFARMED, Prontuário Terapêutico *on-line*, 2021)

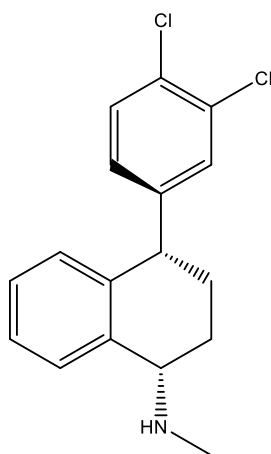
<b>Fármaco</b>	<b>Classe</b>
Citalopram	Inibidores seletivos de recaptação da serotonina
Escitalopram	
Fluoxetina	
Fluvoxamina	
Paroxetina	
Vortioxetina	
<b>Sertralina</b>	Tricíclicos e Afins
Amitriptilina	
Clomipramina	
Dosulepina	
Imipramina	
Maprotilina	
Mianserina	
Mirtazapina	
Nortriptilina	
Reboxetina	
Trazodona	
Trimipramina	
Duloxetina	
Milnaciprano	
Venlafaxina	Inibidores da monoaminoxidase do tipo A
Miclobemida	
Pirlindol	Agonistas dos recetores da melatonina
Agomelatina	

### 2.1.4 Sertralina

Pelo facto de parte da substância ativa da maioria dos antidepressivos ser metabolizada pelo organismo e da restante parte ser excretada sem qualquer tipo de degradação, o elevado consumo deste tipo de fármacos tem originado contaminações do meio ambiente em quantidades significativas em particular em águas superficiais e residuais.

Estes compostos exibem características físico-químicas e biológicas que os tornam resistentes à biodegradação para que seja mais eficaz no organismo e, uma vez nas águas, causam problemas de tratamento nas estações de tratamento de águas residuais durante a sua remoção.

A sertralina, cuja estrutura se apresenta na Figura 2, pertence ao grupo dos inibidores seletivos da recaptção da serotonina (5-HT) neuronal, que resulta na potencialização dos efeitos serotoninérgicos, isto é, possíveis paradoxais de 5-HT que provocam um aumento relativo dos recetores 5-HT1 (Esteves, 2015). Possui um efeito muito fraco sobre a recaptção neuronal da dopamina e norepinefrina. É desprovida de atividades estimulantes, sedativas ou anticolinérgicas ou de cardiotoxicidade. A sertralina está disponível no mercado farmacêutico nacional na forma de comprimidos revestidos ou não, nas dosagens de 25, 50 e 100 mg; sendo, a dose máxima diária permitida de 200 mg. A sertralina é um dos antidepressivos mais prescritos nos últimos anos. Portanto, não é surpreendente que seja regularmente detetada em águas residuais, águas superficiais e sedimentos e em estações de tratamento de efluentes.



**Figura 2** – Estrutura da sertralina.

A fórmula molecular do cloridrato de sertralina é  $C_{17}H_{18}Cl_3N$ , sua massa molar é de 342,7 g/mol e a sua nomenclatura IUPAC é cloridrato de cis-(1S,4S)-4-(3,4-diclorofenil)-1,2,3,4-tetra-hidro-N-metil-1-nanftalenamina (Zhou e Foley, 2004). A sertralina tem uma solubilidade em água de 3,8 g/L, o seu pKa é de 9,16 e o seu coeficiente de partição é de 5,51 (DrugBank). O polimorfo I do cloridrato de sertralina (SRTL-I) é a forma utilizada comercialmente nos comprimidos (Almarsson *et al.*, 2003). Os polimorfos, solvatos e hidratos, dependem das condições pelo qual o princípio ativo farmacêutico (API, *Active Pharmaceutical Ingredient*) é utilizado no processo de produção. O polimorfo comercializado pode-se converter facilmente em outras formas polimórficas quando expostos a diversos fatores, como a exposição a determinados solventes (água, metanol, etanol, isopropanol, entre outros), exposição a diferentes condições de umidade relativa do ar e exposição a altas temperaturas. Assim, é possível encontrar mais do que uma forma polimórfica na formulação comercializada devido às características de produção do fármaco, o que justifica a importância de realizar a análise do produto final para avaliar se ocorreu alguma transição durante o processo de produção. Conforme descrito por Farias e Carneiro (2014) a mudança de fase cristalina é facilitada no processo de granulação por via húmida, na qual é adicionada água ao processo para a formação de grânulos e essa granulação é alocada num leito fluidizado, passando pelo processo de secagem seguido do processo de *Kiln drying*, onde a umidade é evaporada por troca de calor por meio de correntes de ar quente. Logo, existe a possibilidade de mais de uma forma polimórfica coexistir na mesma formulação. Além disso, as transições polimórficas ainda podem ocorrer devido à transferência de umidade entre excipientes e API conforme evidenciado por alguns pesquisadores (Farias *et al.*, 2016), onde comprovam que a hidratação do fármaco Ezetimiba foi promovida pela umidade presente em excipientes.

## 2.2 Monitorização de antidepressivos por cromatografia líquida

Os primeiros relatos sobre contaminação ambiental com micropoluentes ocorreram na década de 1970 nos EUA e 1980 na Inglaterra. No entanto, foi com o avanço das técnicas analíticas e com o desenvolvimento de equipamentos mais sensíveis que, a partir de meados dos anos 90, os micropoluentes passaram a receber maior atenção, sendo os fármacos, um dos principais analitos investigados (Santos *et al.*, 2010; Silva e Collins, 2011). Na determinação de fármacos em matrizes aquosas, a etapa de extração, limpeza e concentração dos analitos é crucial, em virtude das baixas concentrações em que os compostos se apresentam no meio ambiente (Petrie *et al.*, 2015). Petrovic *et al.* (2005) referem que a extração em fase sólida (SPE) é a técnica mais utilizada para amostras líquidas, entre tantas outras existentes. As etapas do procedimento de extração envolvem o condicionamento do cartucho contendo o adsorvente, a adsorção dos analitos e a eluição dos compostos de interesse com um pequeno volume de solvente, de forma que sua concentração seja apropriada para análise.

A análise dos produtos farmacêuticos em matrizes ambientais é realizada por cromatografia e a seleção da técnica de separação do poluente de interesse é feita com base nas propriedades físico-químicas do composto, como a volatilidade e a polaridade (Giger, 2009; Silva e Collins, 2011). Poluentes voláteis, semivoláteis e lipofílicos são frequentemente separados por cromatografia gasosa (CG), enquanto compostos com polaridade mais alta e volatilidade mais baixa são mais facilmente separados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Como a maioria dos fármacos apresenta polaridade intermédia e se enquadra dentro de uma zona de interface, a separação pode ser feita pelos dois métodos (Giger, 2009, Silva e Collins, 2011). No entanto, os métodos de separação por HPLC passaram a ser as técnicas mais utilizadas para investigação de fármacos (Nebot *et al.* 2007, Thomas *et al.* 2014, Campanha *et al.* 2015, Jank *et al.* 2014, Machado *et al.* 2016), tendo assim a possibilidade de identificação de substâncias em matrizes como águas superficiais, efluentes, solos, sedimentos, lodos, amostras biológicas, bem como em alimentos, com limites de deteção da ordem de ng/L (Costa Junior *et al.*, 2014). Em virtude do desenvolvimento de vários métodos e técnicas de deteção de fármacos em matrizes ambientais, especialmente aquosas. A Tabela 4

apresenta uma síntese de estudos com a relação de fármacos, matriz de avaliação e procedimento analítico utilizado.

**Tabela 4** - Principais metodologias analíticas utilizadas na extração e quantificação de fármacos em meios aquosos.

<b>Fármacos</b>	<b>Metodologias</b>	<b>Referências</b>
Ácido acetilsalicílico, ácido clofíbrico, ácido fenofíbrico, bezafibrato, cetoprofeno, diclofenaco, genfibrozila e ibuprofeno	SPE; GC-MS	Stumpf <i>et al.</i> , 1999
Ácido clofíbrico, ácido mefenâmico, dextropropoxifeno, diclofenaco, eritromicina, ibuprofeno, lofepramina, paracetamol, propanolol, sulfametoxazol, tamoxifeno e trimetoprima	SPE; HPLC-MS/MS	Nebot <i>et al.</i> , 2007
Ácido acetilsalicílico, cafeína e paracetamol	SPE; HPLC-DAD e FL	Sodré <i>et al.</i> , 2007
Diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, paracetamol e piroxicam	SPE; HPLC-DAD	Américo <i>et al.</i> , 2012
Amitriptilina, diclofenaco, carbamazepina, citalopram, metaprolol, propanolol e <b>sertralina</b> .	SPE; HPLC-MS	Thomas <i>et al.</i> , 2014
Atenolol, cafeína, carbamazepina, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, paracetamol, propanolol e triclosan	SPE; HPLC-MS	Campanha <i>et al.</i> (2015)
Azitromicina, ciprofloxacina, eritromicina, norfloxacina, sulfametoxazol, trimetoprima entre outros.	SPE; HPLC-MS/MS	Jank <i>et al.</i> , 2014
Acetaminofeno, ácido salicílico, diclofenaco, bisfenol-A	SPE; HPLC-MS/TOF	Lopes <i>et al.</i> (2016)
Cafeína entre outros compostos não fármacos	SPE; HPLC-MS/EM	Machado <i>et al.</i> , 2016
Cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, indometacina e naproxeno	SPE; GCxGC-MS-TOF	Marsik <i>et al.</i> , 2017

A aplicação da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para quantificação de antidepressivos foi relatada inicialmente em 1975. As vantagens do método de HPLC para a análise de antidepressivos são a sua versatilidade e simplicidade de preparação de amostras, assim como um amplo intervalo de linearidade nos detetores, fazendo do método de HPLC o método mais utilizado para a monitorização terapêutica de fármacos. A cromatografia líquida de alta eficiência é o termo geralmente utilizado para descrever a separação diferencial de solutos num líquido (fase móvel) através de uma coluna empacotada com partículas sólidas (fase estacionária) (Silva, 2007). Além disso, a técnica de HPLC apresenta uma série de outras vantagens como: rapidez nos resultados, alta resolução, versatilidade, podendo analisar moléculas de alta massa molecular, espécies iónicas ou não iónicas (Ciola, 1998; Lough e Wainer, 1996; Johnson e Stevenson, 1978).

As fases móveis utilizadas para HPLC são misturas de metanol:água (MeOH:H<sub>2</sub>O) ou acetonitrilo:água (ACN:H<sub>2</sub>O) com ajuste da força cromatográfica e seletividade da fase móvel até se obter resolução, suficiente para que ocorra a separação de todos os picos cromatográficos no mínimo tempo de análise (Petrovic et al. 2005). A adição de modificadores ácidos ou básicos à fase móvel permite modificar o seu pH e consequentemente a suprimir ou assegurar a ionização dos analitos. É comum utilizar ácido acético, ácido trifluoroacético (TFA) no caso de compostos ácidos e dietilamina (DEA) ou trietilamina (TEA) no caso de compostos básicos (Andersson, 2007). É também comum a utilização de soluções tampão.

## **2.3 Remoção de sertralina utilizando adsorventes de base natural**

### **2.3.1 Métodos de Remoção**

Nas últimas décadas, a acumulação generalizada de produtos farmacêuticos em ambientes aquáticos tem recebido uma maior atenção (Boxall *et al.*, 2012). Devido à extensa produção e uso, os compostos farmacêuticos estão continuamente a ser lançados para o ambiente aquático (Kümmerer, 2009). Várias classes de fármacos, como os antibióticos, antidepressivos e beta-bloqueadores, têm sido detetados em águas superficiais (Khetan e Collins, 2007)

Atualmente, apesar dos poucos estudos, tem-se comprovado que muitos dos compostos emergentes causam efeitos a nível bioquímico, com consequências sobre o sistema endócrino e, em alguns casos, podem causar deficiências no sistema imunológico. Assim, apesar de ser impossível avaliar a sua real magnitude, o aumento da utilização destes compostos representa um risco ambiental, principalmente pela incapacidade de acompanhar o comportamento, a velocidade de distribuição, os níveis e efeitos ambientais (Fent *et al.*, 2006).

Apesar das modernas tecnologias de tratamento adotadas nas estações de tratamento de efluentes (ETE), os fármacos não são completamente eliminados (Ghiselli 2006). Nas águas naturais são lipofílicos, persistentes e, dependendo da capacidade de autodepuração do corpo recetor e da estabilidade das moléculas, podem chegar às águas das populações a jusante das descargas, e transferirem-se para estações de tratamento de água (ETA), onde não são removidos pelos sistemas convencionais (Jones *et al.*, 2005), estendendo-se, assim, à água de abastecimento humano, configurando um potencial risco de exposição à saúde humana (Webb *et al.*, 2003).

Os principais métodos de remoção de fármacos de matrizes aquosas são a degradação ou a separação por adsorção.

### **2.3.1.1 Degradação por adsorção**

Alguns estudos recentes revelaram que, quando os organismos aquáticos ingerem micro plásticos contaminados por fármacos hidrofóbicos, estes podem atuar como transportadores dos fármacos para os tecidos por meio de dessorção. No entanto, a quantidade de dessorção dos contaminantes adsorvidos pode variar consideravelmente de acordo com as condições fisiológicas, como o pH ou a temperatura dos organismos envolvidos (Bakir *et al.*, 2014). Outros estudos revelaram que um pH mais baixo e uma temperatura mais alta podem aumentar a dessorção de contaminantes orgânicos hidrofóbicos (HOC) contidos em microplásticos (Bakir *et al.*, 2014). Segundo pesquisas sobre a degradação da sertralina, avaliou-se o potencial de degradação do fármaco sertralina por meio de processos de fotocatalise, com a combinação de energia ultravioleta (UV) e diferentes semicondutores, TiO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub>-Mn e TiO<sub>2</sub>-B, onde se obteve

resultados das degradações de Sertralina de 51%, 74%, 75% e 83%. As amostras foram submetidas a radiação (UV) em cinco tempos de degradação (0, 5, 10, 30, 60 e 120 minutos). A maior eficiência no processo de degradação, foi determinado para o semicondutor de TiO<sub>2</sub> dopado com boro. Deste modo, a aplicação do processo de fotocatalise pode ser de grande importância nos processos de tratamento de efluentes e, a inserção de agentes dopantes pode tornar os semicondutores mais ativos em processos de fotocatalise.

### **2.3.1.2 Adsorção**

A adsorção tornou-se uma das tecnologias mais utilizadas, sendo um procedimento bastante eficiente para tratamento de águas e águas residuais quando a contaminação química das águas engloba poluentes orgânicos e inorgânicos, muitas vezes resistentes à degradação biológica ou quando outros métodos não são eficientes (Nascimento *et al.*, 2014). A técnica de adsorção tem ganhado bastante importância e aplicabilidade na remoção de substâncias tóxicas encontradas em efluentes líquidos e gasosos, a fim de minimizar os impactes no meio ambiente. O processo de adsorção acontece devido ao desencontro de forças descompensadas na superfície adsorvente atraindo as moléculas da mistura em contacto por um tempo limitado (Coelho *et al.*, 2014). A adsorção pode-se dividir em adsorção física ou adsorção química, contudo os dois tipos de adsorção podem ocorrer simultaneamente, além da possível intervenção de intermediários (Coelho *et al.*, 2014).

Um tipo de adsorvente muito utilizado na remoção de micropoluentes, segundo Metcalf e Harrison (2017) é o carvão ativado, sendo este material produzido a partir de diversos materiais orgânicos, como por exemplo a madeira, cascas de nozes, amêndoas ou de coco, caroço de azeitona e ossos de animais, com alto teor de carbono quando subordinados a reações de carbonização ou ao processo de pirólise, causando o efeito de uma estrutura porosa no material. As propriedades de adsorção do carvão como a área superficial, características de regeneração e distribuição dos tamanhos dos poros são fatores que dependem sobretudo do material de origem do carvão, da preparação e da natureza dos agentes ativantes, sendo possíveis muitas variações (Matos, 2015).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

A parte experimental deste trabalho divide-se em duas etapas principais. Na primeira etapa realiza-se a otimização do método de quantificação de sertralina por cromatografia líquida de alta eficiência com detetor de arranjo de díodos. Na segunda etapa estuda-se a remoção da sertralina por adsorção utilizando carvão ativado obtido do caroço da azeitona.

#### **3.1 Reagentes e adsorventes**

Como solventes para a preparação dos padrões analíticos da sertralina utiliza-se acetonitrilo (ACN) para HPLC da marca Honeywell-Riedel-de Haen (+99,9%) e dietilamina (DEA) da marca Sigma-Aldrich (+99,5%). Na preparação dos padrões de sertralina obtida de comprimidos comerciais utiliza-se metanol (MeOH) da marca Fisher Scientific (+99,8%) e água destilada obtida do Laboratório de Química Analítica. O fármaco comercial (comprimidos) utilizado foi Sertralina 100 mg da marca Sandoz e a sertralina (CAS nº 79559-97-0) obtida da Sigma-Aldrich com uma pureza de +96%. Como adsorvente utilizou-se caroço de azeitona obtido de um lagar da região de Bragança.

#### **3.2 Material e Equipamento**

Para a identificação e quantificação de todos os padrões analíticos da sertralina, foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) da marca Jasco (série Extreme), acoplado com um detetor DAD, modelo DAD-MD-4010, uma bomba modelo PU-4180 RHPLC e um injetor manual Rheodyne com um volume de injeção de 20 µL (Figura 3). Utilizou-se uma coluna cromatográfica analítica (250 mm x 4.6 mm, com um diâmetro de 5 µm) SiliaChrom XT C18 da SiliCycle, estando a gama de operação do pH compreendida entre 1 e 12. Todas as análises de HPLC foram realizadas em modo isocrático e com um caudal constante de 1 mL/min.



**Figura 3** - Sistema de HPLC-DAD (Jasco Extreme) utilizado na quantificação da sertralina.

Para a trituração do caroço utilizou-se um moinho ultracentrifugo ZM 200 da marca Retsch GmbH (Figura 4), com um rotor de 12 dentes e de diâmetro até 99 mm com uma velocidade máxima de 10000 rpm.



**Figura 4** - Moinho de laboratório utilizado na trituração do caroço de azeitona.

### 3.3 Quantificação de sertralina por HPLC-DAD

#### 3.3.1 Otimização das condições de operação

- *Escolha da fase móvel*

A revisão bibliográfica permitiu verificar que na maior parte dos estudos publicados, é mais utilizada como fase móvel na quantificação de fármacos por cromatografia líquida, uma mistura de acetonitrilo com água, sendo em alguns estudos utilizado metanol em vez de acetonitrilo. Uma possível justificação para a utilização de misturas de metanol com água pode estar relacionada com a solubilidade elevada da generalidade dos fármacos em metanol e à pequena quantidade de solventes orgânicos miscíveis em água. Como o fabricante da coluna escolhida para trabalhar com um pH elevado, refere a possibilidade de se poder operar com solventes polares puros como o metanol e o acetonitrilo, decidiu-se optar por proteger o máximo a fase estacionária (C18) utilizando apenas acetonitrilo puro.

- *Estudo do efeito do pH na separação cromatográfica e escolha do tipo de coluna*

De acordo com o referido John Dolan (ACE Technologies) e comprovado por Ana Oliveira (2019), as bases estão maioritariamente na sua forma não ionizada (>99%) se o valor de pH da solução for igual ao seu valor de pKa acrescido de 2 unidades. Como a forma não ionizada será menos polar (mais hidrofóbica) será por isso mais retida num sistema de fase reversa. Os ácidos serão mais retidos para valores de pH baixos e as bases serão mais retidas para valores de pH mais elevados. Desta forma, o estudo do efeito do valor de pH da fase móvel na retenção e na dispersão cromatográfica é um passo importante na qualidade da separação cromatográfica.

No caso da fase móvel para esta experiência, verificou-se que um pH mais básico permite que o sinal de deteção e o tempo de retenção tenham melhores resultados. Ao comparar a fase móvel de metanol com TFA e de acetonitrilo com DEA, verifica-se que o acetonitrilo com DEA tem um melhor sinal de deteção da sertralina e um tempo de retenção inferior, isto porque o TFA acidifica a fase móvel e prejudica nos resultados.

- ***Escolha do comprimento de onda para a quantificação da Sertralina***

Após a escolha da composição da fase móvel e da coluna adequada para a quantificação da sertralina, procedeu-se ao estudo de qual o comprimento de onda mais apropriado para maximizar o sinal do detetor e com isso obter os limites de quantificação e deteção mais baixos possíveis com o equipamento utilizado.

### **3.3.2 Estudo da linearidade da quantificação da sertralina em diferentes solventes**

- ***Soluções da sertralina preparada em metanol***

Para a preparação das soluções de sertralina (reagente da Sigma-Aldrich), utilizou-se 10 mg de sertralina com 100 mL de metanol para a obtenção de uma solução padrão com a concentração de 100 mg/L. A preparação dos padrões de sertralina de concentração menor foi realizada por diluições sucessivas de 1 mL para 10 mL de metanol, a partir da solução de 100 mg/L. Preparam-se 8 padrões (100, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 1) e cada um deles foi analisado por HPLC em triplicado.

- ***Soluções de sertralina obtida com um comprimido comercial preparadas em metanol e água destilada***

Na preparação das soluções da sertralina utilizando um comprimido comercial utilizou-se como solvente dois solventes distintos: água destilada ou metanol. Para a preparação de todos os padrões em ambos os solventes, foi utilizado um comprimido com massa de 341,9 mg para as soluções em metanol e de 312,7 mg para as soluções aquosas. O volume de solução mãe preparado em metanol foi de 250 mL e em água foi de 500 mL, tendo-se obtido uma concentração de sertralina próxima de 400 mg/L para a solução em metanol e de 200 mg/L em água.

### 3.3.3 Tratamento estatístico das curvas de calibração

A validação de um método analítico deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tal, deve-se sempre que possível determinar a precisão, a exatidão, a linearidade e os limites de detecção e de quantificação.

A curva de calibração (Equação 1) deve ser determinada para uma dada matriz aquosa, devendo serem utilizados no mínimo 6 pontos que contenham o padrão do fármaco. O coeficiente de correlação linear ( $R^2$ ) deve ser igual ou superior a 0,98% de forma a garantir a linearidade (Miller, 2018).

A precisão de um método analítico é definida como a concordância entre vários resultados obtidos, quanto mais próximos entre si estiverem, maior é a precisão. A precisão pode ser expressa como desvio padrão ou coeficiente de variação (CV). Para a equação do modelo linear, utiliza-se a equação 4 onde o  $a$  representa a ordenada na origem e no  $b$  o declive. O coeficiente de variação é determinado através da Equação 2 onde  $S_m$  corresponde ao cálculo do desvio padrão do método, estimado com as Equações 3 e 4. A equação 4 corresponde ao cálculo da estatística auxiliar, necessária para a determinação dos intervalos de confiança para os valores da ordenada na origem e do declive da regressão linear.

$$y = a + bx \quad \text{(Equação 1)}$$

$$CV_m = \frac{S_m}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{(Equação 2)}$$

$$S_m = \frac{S_{y/x}}{b} \quad \text{(Equação 3)}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-1}} \quad \text{(Equação 4)}$$

O limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis, sendo determinado recorrendo à Equação 5, onde  $b$  representa o declive e  $S_a$  o desvio padrão da ordenada na origem  $a$ .

$$LQ = 10 \cdot \frac{S_a}{b} \quad (\text{Equação 5})$$

O limite de deteção (LD) do método analítico pode ser definido como a menor quantidade de analito que pode ser detetada, porém, não necessariamente quantificada como um valor exato. Pode ser calculado através da Equação 6.

$$LD = LQ \cdot \frac{3}{10} \quad (\text{Equação 6})$$

### **3.4 Adsorção de sertralina utilizando diferentes adsorventes obtidos do caroço da azeitona**

Neste trabalho foram estudados 2 tipos de adsorventes obtidos pelo caroço da azeitona. O 1º adsorvente utilizado foi o caroço da azeitona grosseiramente triturado (“granulado”) e designado por “adsorvente 1” e o 2º tipo de adsorvente foi obtido por trituração do granulado até um diâmetro de partículas médio de 0,25 mm (“pó”) e designado por “adsorvente 2”.

#### **3.4.1 Ativação dos adsorventes**

Na ativação de ambos os adsorventes, utilizou-se o seguinte procedimento:

Adicionou-se a uma solução aquosa de  $H_2SO_4$  a 10% na proporção de 1:3 com o adsorvente. Para um copo de precipitação de 600 mL medir numa balança monoprato 50 g de adsorvente em granulado e adicionar 150 mL de solução ácida medidos com uma proveta. Repetir o mesmo procedimento com 50 g de adsorvente 0,25 mm, adicionando 150 mL de solução ácida. Deixar as misturas em agitação (placa de agitação e barra magnética) na hotte durante 24 h. Filtrou-se ambas as soluções em funil com placa porosa de vidro de porosidade 4 “grossa média” e de seguida lavou-se abundantemente o adsorvente com 1000 mL de água destilada. Secou-se o adsorvente à temperatura ambiente durante a noite. Colocou-se o adsorvente já seco numa estufa

por 24 horas a 110°C. De seguida, o sólido é carbonizado numa mufla a 550°C durante 1h30.

### **3.4.2 Estudo do equilíbrio de adsorção utilizando o método batch**

Para otimizar os parâmetros de adsorção realizou-se medições experimentais em modo descontínuo (*batch*) para estudar a quantidade de adsorvente. Na influência do tempo de equilíbrio de adsorção utilizou-se o seguinte procedimento:

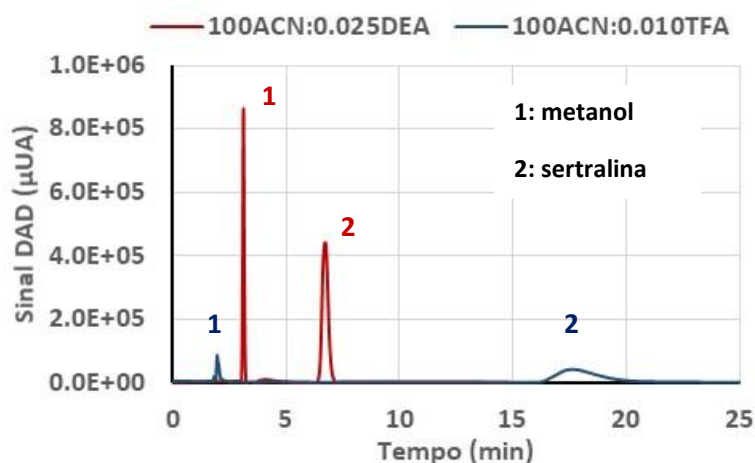
Preparou-se 1 L de solução de fármaco em água destilada com uma concentração de 20 mg/L. e mediu-se o pH. Ajustou-se o pH da solução para 4, utilizando ácido clorídrico (HCl) 0,1 mol/L. Ao todo foram utilizados 900 µL. Adicionou-se 250 mg de adsorvente com 50 mL de solução aquosa de fármacos a 20 mg/L em 14 Erlenmeyers de 100 mL. Um dos Erlenmeyers continha apenas água destilada (sem fármaco) e um apenas com a solução de fármaco (sem adsorvente). No total preparou-se 15 Erlenmeyers, sendo que as últimas 3 amostras (13, 14, 15) são retiradas ao fim de 36 horas. Todos os Erlenmeyers são colocados numa incubadora sob agitação moderada (150 rpm) a uma temperatura de 25°C durante períodos de tempo) (10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 2640 min). Retirou-se da incubadora os Erlenmeyers e deixou-se repousar 30 min. Retirou-se do sobrenadante cerca de 2 mL com uma seringa de vidro e filtrou-se com um filtro de seringa para um frasco de vidro.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Otimização das condições operatórias em HPLC

#### 4.1.1 Estudo do efeito do pH na análise cromatográfica

Para se estudar o efeito do valor de pH na análise da sertralina por HPLC-DADA, realizaram-se duas experiências de eluição cromatográfica de uma solução de sertralina com uma concentração de 100 mg/L preparada utilizando metanol como solvente. Na primeira análise utilizou-se como fase móvel fortemente ácida (pH=2,7) uma mistura de 100%acetonitrilo (ACN) com 0,01%ácido trifluoroacético (TFA). Na segunda análise utilizou-se uma fase móvel fortemente alcalina (pH=10,8) com a composição de 100% de acetonitrilo e 0,025% de dietilamina (DEA). Os cromatogramas obtidos encontram-se representados de uma forma sobreposta, na Figura 5.

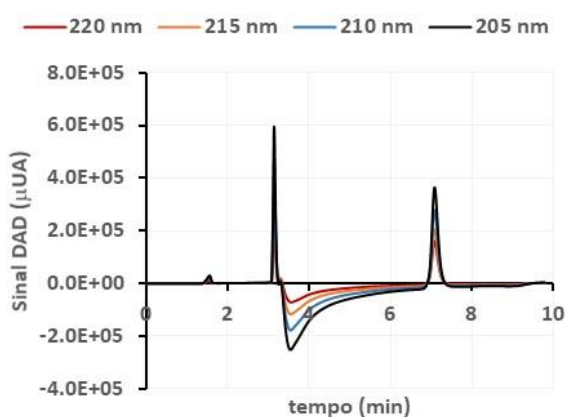


**Figura 5** – Análise da sertralina por HPLC-DAD utilizando uma fase móvel de acetonitrilo com diferentes valores de pH.

A observação destes resultados experimentais, permite verificar que a adição de dietilamina (DEA) é benéfica em termos de retenção, dispersão e intensidade do sinal do detetor. Contudo, a adição de DEA implica trabalhar com um valor de pH bastante elevado (10,8) sendo esse o principal fator para a escolha de uma coluna cromatográfica SiliaChrom XT C18, que permite a operação com uma gama de pH entre 1 e 12

### 4.1.2 Seleção do comprimento de onda para quantificação

Para este estudo, preparou-se uma solução padrão de sertralina a partir de um comprimido comercial de sertralina (100 mg) utilizando metanol como solvente. Dissolveu-se um comprimido num goblé com água destilada, sob agitação, filtrando-se de seguida com papel de filtro e diluindo em balão volumétrico de 500 mL. De seguida, realizou-se a análise dessa solução utilizando o detetor DAD em 4 comprimentos de onda diferentes: 220, 215, 210 e 205 nm.



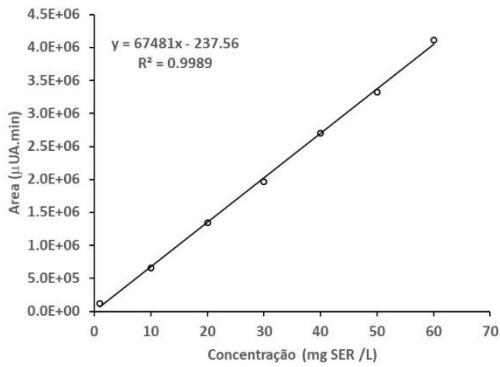
**Figura 6** – Cromatogramas obtidos por HPLC-DAD para a análise de uma solução padrão de sertralina de 20ppm utilizando 4 comprimentos de onda diferentes.

Os resultados obtidos permitem verificar que quanto menor é o comprimento de onda, mais forte é a diminuição e a interferência da linha de base, podendo afetar a integração do sinal cromatográfico e com isso a linearidade do método. Por outro lado, a análise de uma amostra real, preparada em metanol, poderá ser problemática caso exista algum composto com um tempo de retenção inferior ao da sertralina e superior ao do metanol. Assim, optou-se por escolher o comprimento de onda de 220 nm pelo facto de corresponder a uma situação de menor instabilidade da linha de base e ainda se obter um valor significativo para o sinal cromatográfico.

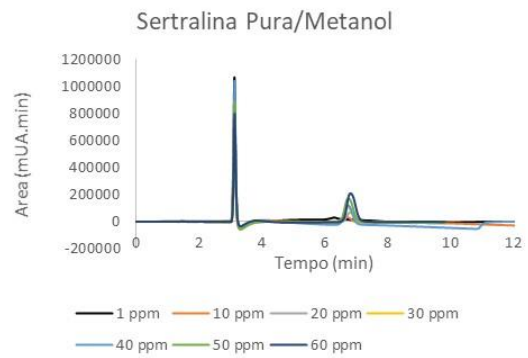
### 4.2 Curvas de calibração da sertralina e tratamento de estatístico

Nesta secção apresentam-se 3 curvas de calibração de sertralina. A primeira curva de calibração foi determinada com a sertralina adquirida à Sigma-Aldrich e os padrões foram preparados utilizando metanol. A segunda e terceira curvas de calibração foram determinadas utilizando padrões preparados com um comprimido de sertralina. Na

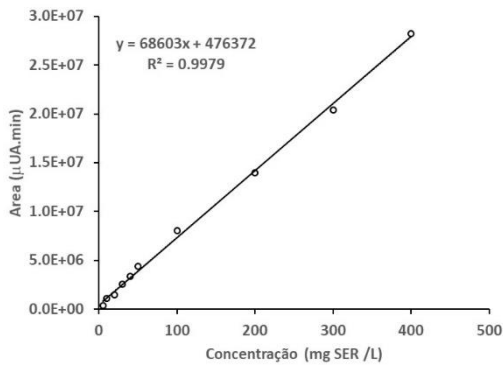
segunda, a preparação dos padrões foi realizada em metanol e na terceira com água destilada. As curvas de calibração e dos respectivos cromatogramas sobrepostos encontram-se representados nas Figuras 7 a 12. Pode-se verificar que os coeficientes de determinação obtidos são todos superiores ou iguais a 0,9971 o que permite concluir da boa linearidade obtida para todas as 3 situações.



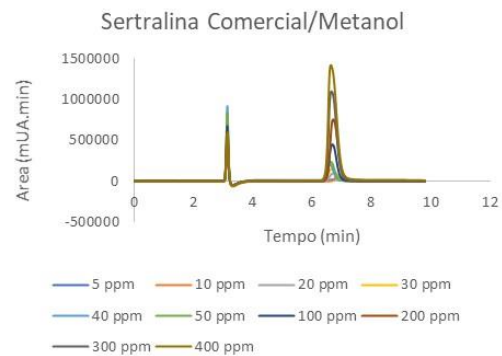
**Figura 7** - Curva de calibração da sertralina pura em metanol.



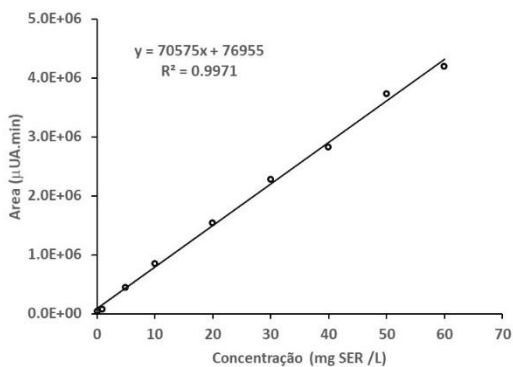
**Figura 8** - Cromatogramas das várias concentrações da sertralina pura em metanol.



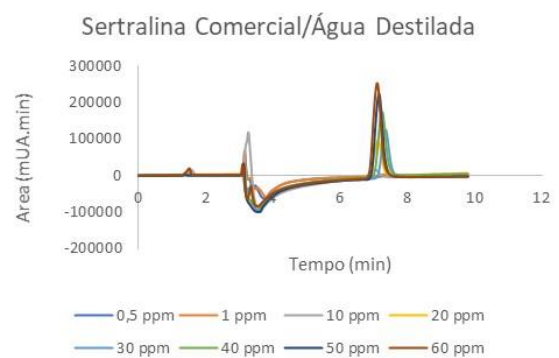
**Figura 9** - Curva de calibração da sertralina comercial em metanol.



**Figura 10** - Cromatograma das várias concentrações da sertralina comercial em metanol.



**Figura 11** - Curva de calibração da sertralina comercial em água destilada.



**Figura 12** - Cromatograma das várias concentrações da sertralina comercial em água destilada.

Na Tabela 5, apresentam-se os principais parâmetros estatísticos obtidos para as 3 curvas de calibração: limites de detecção e quantificação, coeficiente de variação do método e os intervalos de confiança, obtidos a 95%, para os valores da ordenada na origem e do declive.

**Tabela 5** - Tratamento estatístico das 3 curvas de calibração da sertralina.

Reagente/ Solvente	Gama linear (mg/L)	N	Declive (b)	Ordenada (a)	R <sup>2</sup>	LQ (mg/L)	LD (mg/L)	CV <sub>m</sub> (%)
SER pura/metanol	1-60	7	67481±2522	-238±90935	0,9989	1,00	0,333	2,53
SER comercial/metanol	5-400	10	68603±2585	476372±451902	0,9979	5,00	1,650	5,87
SER comercial/água destilada	0,1-60	9	70575±3383	76955±107724	0,9971	0,100	0,033	5,30

### 4.3 Remoção de sertralina utilizando diferentes tipos de adsorvente

Para os estudos de remoção, utilizou-se como solução-mãe uma solução preparada com comprimido comercial dissolvido em água destilada e com uma concentração de 20 mg/L. Realizaram-se 3 tipos diferentes de estudos de remoção. No primeiro estudo, utilizou-se como adsorvente 250 mg de carvão ativado a partir de caroço da azeitona em granulado. No segundo estudo, utilizou-se 250 mg de carvão ativado obtido a partir de caroço de azeitona moído para um tamanho médio de partícula de 0,25 mm. No terceiro estudo utilizou-se 50 mg de carvão ativado obtido a partir de caroço de azeitona moído para um tamanho médio de partícula de 0,25 mm. Todas as análises das amostras obtidas foram realizadas utilizando um comprimento de onda de 220 nm. Na Tabela 6, podemos observar os resultados de remoção em função do tempo de contacto adsorvente/adsorbato para o primeiro estudo realizado.

**Tabela 6** - Eficiência de remoção da sertralina com 250 mg de carvão ativado obtido do caroço de azeitona em granulado (“adsorvente 1”).

Tempo (min)	Concentração média (mg/L)	Eficiência de remoção (%)
10	11,96	40,2
20	12,54	37,3
30	6,32	68,4
40	8,29	58,6
50	7,30	63,5
60	3,45	82,8
90	4,99	75,1
120	4,67	76,7
180	2,79	86,1
240	1,89	90,6
1440	0	100,0
2640	0	100,0
2640	0	100,0

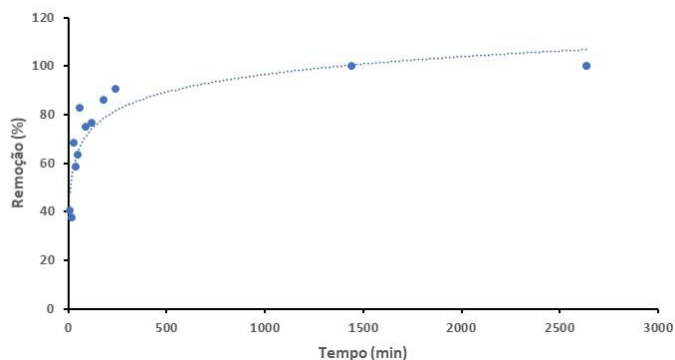
Como podemos observar na tabela anterior, verificou-se que ao fim de 4 horas (240 min) adsorveu-se quase toda a sertralina presente na amostra e ao fim de 24 horas (2640 min) a remoção de sertralina foi total. Para calcular a concentração para cada tempo utilizou-se a Equação 7.

$$C_i = \frac{A_i}{A_{SM}} \times 20 \quad (\text{Equação 7})$$

Sendo  $A_i$  a área obtida para a sertralina na amostra e  $A_{SM}$  a área média (1769633) obtida com a solução inicial de concentração 20 mg/L. A percentagem de remoção foi calculada pela Equação 8.

$$\text{Eficiência de remoção (\%)} = \frac{C_0 - C_i}{C_0} \times 100 \quad (\text{Equação 8})$$

Na Figura 13 apresenta-se o estudo da eficiência de remoção da sertralina utilizando 250 mg do “adsorvente 1”.



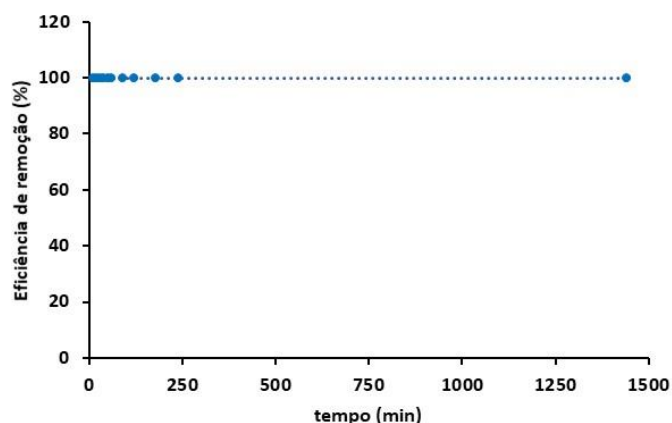
**Figura 13** – Estudo de remoção de sertralina utilizando 250 mg de carvão ativado obtido de caroço de azeitona granulado (“adsorvente 1”).

Na segunda fase, o processo foi o mesmo que na primeira manteve-se a massa do adsorvente, 250 mg, mas foi alterado o tipo de adsorvente passando a ser o caroço em pó. Na tabela 7 está representada a percentagem de remoção em relação ao tempo do caroço da azeitona em pó com 250 mg de adsorvente.

**Tabela 7** - Eficiência de remoção da sertralina com 250 mg de carvão ativado obtido do adsorvente moído para 0,25 mm (“adsorvente 2”).

<b>Tempo (min)</b>	<b>Concentração média (mg/L)</b>	<b>Eficiência de remoção (%)</b>
<b>10</b>	0	100
<b>20</b>	0	100
<b>30</b>	0	100
<b>40</b>	0	100
<b>50</b>	0	100
<b>60</b>	0	100
<b>90</b>	0	100
<b>120</b>	0	100
<b>180</b>	0	100
<b>240</b>	0	100
<b>1440</b>	0	100

Na Figura 14, encontra-se representada a curva do estudo da eficiência de remoção da sertralina utilizando 250 mg do “adsorvente 2”.



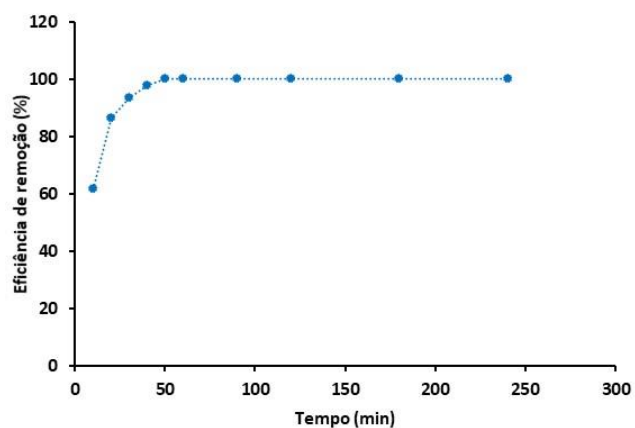
**Figura 14** - Estudo de remoção de sertralina utilizando 250 mg de carvão ativado obtido de caroço de azeitona previamente moído para um tamanho médio de 25 mm (“adsorvente 2”).

Como se pode observar ao fim de 10 minutos com a massa de 250 mg deste tipo de adsorvente a remoção já era de 100%. Para comparar os efeitos do carvão ativado do caroço da azeitona, decidiu-se diminuir a massa do adsorvente em pó para 50 mg. Na tabela 8 observa-se a percentagem de remoção.

**Tabela 8** - Eficiência de remoção da sertralina com 50 mg de carvão ativado obtido do adsorvente moído para 0,25 mm (“adsorvente 2”).

Tempo (min)	Concentração média (mg/L)	Eficiência de remoção (%)
10	7,67	61,66
20	2,74	86,29
30	1,33	93,33
40	0,46	97,69
50	0	100
60	0	100
90	0	100
120	0	100
180	0	100
240	0	100

Na Figura 15, encontra-se representada a curva do estudo da eficiência de remoção da sertralina utilizando 50 mg do “adsorvente 2”.



**Figura 15** – Estudo de remoção de sertralina utilizando 50 mg de carvão ativado obtido de caroço de azeitona previamente moído para um tamanho médio de 0,25 mm (“adsorvente 2”).

Através da Figura, pode-se observar que ao fim de 50 minutos a sertralina foi removida a 100%, e pela comparação feita conclui-se que a massa de adsorvente influencia no tempo de remoção.

## 5. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

### 5.1 Conclusões

O principal objetivo deste trabalho, consistiu em estudar o processo de remoção do antidepressivo sertralina de efluentes aquosos, utilizando carvão ativado obtido de caroço da azeitona da região de Bragança.

A quantificação da sertralina é realizada por cromatografia líquida (HPLC-DAD). Devido ao elevado valor de pKa da sertralina utilizou-se uma coluna SiliaChrom XT C18, capaz de operar com valores de pH até 12. O método de quantificação foi otimizado em termos de composição e valor de pH da fase móvel. Estudou-se também qual o comprimento de onda que maximizasse a intensidade do sinal do detetor, tendo-se decidido realizar a quantificação a 220 nm.

Foi estudada a linearidade da curva de calibração da sertralina, utilizando metanol e água destilada como solvente na preparação dos padrões. Estudou-se também a linearidade da curva de calibração da sertralina comercial (em comprimido) utilizando água destilada como solvente. Em todas as 3 situações foi obtida uma boa linearidade ( $R^2 > +0,997$ ) entre a concentração e a área cromatográfica. Por este facto, decidiu-se utilizar o comprimido comercial de sertralina, bastante mais económico, e a água destilada como solvente. Este é o solvente a partir do qual se pretende remover a sertralina, sendo por isso o mais apropriado, evitando-se a sua mudança das amostras para um solvente diferente na quantificação.

Após a otimização de todo o processo de identificação e quantificação em HPLC-DAD, passou-se ao estudo do processo de remoção da sertralina utilizando dois tipos diferentes de adsorvente e diferentes quantidades iniciais de adsorvente para uma dada quantidade pré-definida de sertralina. Verificou-se que o adsorvente que permite melhores resultados de remoção em menor tempo de contacto é o carvão ativado obtido do caroço de azeitona previamente moído para um tamanho médio de partícula de 0,25 mm. Realizaram-se também ensaios de remoção de sertralina variando a quantidade de adsorvente utilizado, tendo-se diminuído a razão massa de adsorvente por massa de adsorbato (sertralina) de 250:1 para 50:1. Foi possível concluir que utilizando 250 mg de adsorvente se verifica a remoção completa da sertralina (1 mg)

logo ao fim de 10 min (primeira amostra recolhida) enquanto que para 50 mg de adsorvente a remoção é completa apenas ao fim de cerca de 50 min.

## **5.2 Trabalhos futuros**

Como sugestões para trabalhos futuros, sugere-se a realização de estudos de equilíbrio de adsorção mais completos. Para tal, deve-se determinar qual a relação de massa de adsorvente/massa de adsorbato máxima para que não ocorra a remoção completa do fármaco. De seguida, poder-se-á realizar a determinação de isotérmicas de adsorção e determinar os principais parâmetros que afetam o equilíbrio de adsorção, como por exemplo a capacidade máxima de adsorção do adsorvente. A realização de experiências de saturação do adsorvente em leito fixo, serão também importantes de forma a estimar parâmetros que afetem a cinética de adsorção, como por exemplo a coeficiente de transferência de massa.

Sugere-se também o estudo de outro tipo de adsorventes como por exemplo a casca da amêndoa. Poderia ser testado o método de extração por SPE e ainda comparar diferentes pH, tempo e temperatura. Também seria interessante aplicar toda esta metodologia experimental a diferentes antidepressivos ou até mesmo a diferentes classes de fármacos.

## Referências

Almarsson Ö, Hickey M., Peterson M., Morissette S., Soukasene S., McNulty C., Tawa M., MacPhee J., Remenar J. High-throughput surveys of crystal form diversity of Highly Polymorphic Pharmaceutical Compounds. *Crystal Growth and Design* (3)6 927–933, 2003.

Américo J., Isique W., Minillo A., Carvalho L., Torres Nádia. Fármacos em uma Estação de tratamento de efluentes na Região Centro-Oeste do Brasil e os Riscos aos Recursos Hídricos. *Brazilian Journal of Water Resources* 17(3) 61-67, 2012.

Andersson, S., Preparative chiral chromatography - a powerful and efficient tool in drug discovery, in *Chiral Separation Techniques*, Subramanian, G., Editor. 2007, Wiley-VCH: Weinheim, Germany. p. 585.

Bakir A., Rowland S., Thompson R. Transport of persistent organic pollutants by microplastics in estuarine conditions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* (140) 14-21, 2014.

Barceló D., Gonzalez S., Petrovic M. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 22(10) 685-696, 2003.

Beck D., Koenig H., Beck J. Depression. *Clinics in Geriatric Medicine* (14)4 765-786, 1998.

Beretta M., Britto V., Tavares T., da Silva S., Pletsch A., 2014. Occurrence of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in marine sediments in the Todos os Santos Bay and the north coast of Salvador, Bahia. *Brazilian Journal of Soils and Sediments* (14) 1278-1286, 2014.

Bila D., Dezotti M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. *Química Nova* (30 ,3) 651-666, 2007.

Birkholz D., Stilson S., Elliott H. Analysis of emerging contaminants in drinking water. *Comprehensive Water Quality and Purification* (2) 212-229, 2014.

Boxall A., Rudd M., Brooks B., Caldwell D., Choi K., Hickmann S., Kraak G. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the environment: what are the big questions? *Environmental Health Perspective* 120(9) 1221-1229, 2012.

Campanha M., Awan A., Sousa D., Grosseli G., Mozeto A., Fadini P. A 3- year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of São Paulo State of Southeast Brazil. *Environmental Science and Pollution Research* 22(10) 7936-7947, 2015.

Chapman, P.M. Emergent substances: emerging problems? *Environmental Toxicology and Chemistry* 25(6): 1445-1447, 2006.

Choubert J., Martin S., Esperanza M., Budzinski H., Miegé C., Lagarrigue C., Coquery M., 2011. Limiting the emissions of micro-pollutants: what efficiency can we expect from wastewater treatment plants? *Water Science Technology* (63) 57-65, 2011.

Ciola, R. *Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho*. Editora Edgard Blücher, 1ªEds. São Paulo, Brasil, 1998.

Coelho G., Gonçalves A., Sousa R., Schwantes D., Miola A., Domingues C. Uso de técnicas de adsorção utilizando resíduos agroindustriais na remoção de contaminantes em águas. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, São Paulo, Brasil, 2014.

Costa Junior I., Pletsch A., Torres Y. Ocorrência de fármacos antidepressivos no meio ambiente-revisão. *Revista Virtual de Química* 6(5): 1408-1431, 2014.

Cohen Z. e Derubeis R. Treatment selection in depression. *Annual Review of Clinical Psychology* (14) 209-236, 2018.

Decisão de Execução (UE) 2018/840 da Comissão de 5 de junho de 2018.

Diretiva 2000/60/CE de 23 de outubro do Parlamento Europeu e do Conselho.

Diretiva 2008/105/CE de 16 de dezembro do Parlamento Europeu e do Conselho.

Diretiva 2013/39/UE de 12 de agosto do Parlamento Europeu e do Conselho.

Dolan J., A guide to HPLC and LC-MS Buffer Selection, ACE HPLC Columns, Scotland. Disponível em: <http://www.ace-hplc.com>.

DrugBank online (acesso em 2021). <https://go.drugbank.com/drugs/DB01104>

Esteves, O. A tradução e a sua relevância na indústria farmacêutica. Dissertação, Grau de Mestre em Tradução Especializada, Universidade de Aveiro, 2015.

Farias M., Soares F., Carneiro R. Crystalline phase transition of ezetimibe in final product, after packing, promoted by the humidity of excipients: Monitoring and quantification by Raman spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (121) 209-214, 2016.

Farias M. e Carneiro R. Simultaneous Quantification of three polymorphic forms of carbamazepine using Raman Spectroscopy and Multivariate Calibration. *Analytical Letters* (47) 1043-1051, 2014.

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

Filho R., Barreiro J., Vieira, E., Cass Q. Fármacos, ETEs e corpos hídricos. *Revista Ambiente e Água* (2)3 54-61, 2007.

Filho R., Barreiro J., Vieira, E., Cass Q. Fármacos, ETEs e corpos hídricos. *Revista Ambiente e Água* (2)3 54-61, 2007.

Garric J., Ferrari B. Les substances pharmaceutiques dans les milieux aquatiques. Niveaux d'exposition et effets biologique: que savons-nous? *Revue des Sciences de l'eau* (18) 307-330, 2005.

Garrison A., Pope J., Allen F. *Identification and Analysis of Organic Pollutants in Water*; Keith C.; Ed.; Ann Arbor Science Publishers: Ann Arbor, 1976.

Gavrilescu M., Demnerová K., Amand J., Agathos S., Fava F. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New Biotechnology* 32(1) 147-156, 2015.

Ghiselli G. Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP). Tese de Doutorado em Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 2006.

Giger W. Hydrophilic and amphiphilic water pollutants using advanced analytical methods for classic and emerging contaminants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (393) 37-44, 2009.

Golovko O., Kumar V., Fedorova G., Randak T., Grabic R. Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant. *Chemosphere* (111) 418-426, 2014.

Grabicova K., Grabic R., Fedorova G., Fick J., Cervený D., Kolarova J., Turek J., Zlabek V., Randak T. Bioaccumulation of psychoactive pharmaceuticals in fish in an effluent dominated stream. *Water Research* (124) 654-662, 2017.

Halling-Sørensen B., Nielsen S., Lanzky P., Ingerslev F., Lützholtz H., Jørgensen S. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review. *Chemosphere* (36) 357-394, 1998.

Hignite C. e Azarnoff D. Drugs and drug metabolites as an environmental sewage water effluent. *Life Sciences* 20(2) 337-341, 1977.

Isacson G. e Rich C. Antidepressant drugs and the risk of suicide in children and adolescents. *Pediatric Drugs* (16)2 115-122, 2014.

Istilli P., Miasso A., Padovan C., Crippa J., Tirapelli C. Antidepressivos: uso e conhecimento entre estudantes de enfermagem. *Revista Latino-Americana de Enfermagem* (18)3 131-139, 2010.

Jank L., Hoff R., Costa F., Pizzolato T. Simultaneous determination of eight antibiotics from distinct classes in surface and wastewater samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 94(10) 1013-1037, 2014.

Jelić A., Gros M., Petrović M., Ginebreda A., Barceló D. Occurrence and elimination of pharmaceuticals during conventional wastewater treatment. In: Guasch H., Ginebreda A., Geiszinger A. (eds) *Emerging and Priority Pollutants in Rivers. The Handbook of Environmental Chemistry*, vol 19. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012.

Jiang J., Zhou Z., Sharma V. K. Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water — A review from global views. *Microchemical Journal* (110) 292-300, 2013.

Johnson E. e Stevenson R. *Basic liquid chromatography*. Palo Alto: Varian Associates, 1978.

Jones O., Lester J., Voulvoulis N. Pharmaceuticals: a threat to drinking water? *Trends in Biotechnology* 23(4) 163-167, 2005.

Khetan S. e Collins T. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: A challenge to green chemistry. *Chemistry Reviews* (107)6 2319-2364, 2007.

Kümmerer K. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use – present knowledge and future challenges. *Journal of Environmental Management* 90(8): 2354–2366, 2009.

Kuzmanovic M., Lopez-Doval J, de Castro-Catala N., Guasch H., Petrovic M., Muñoz I., Ginebreda A., Barcelo D. Ecotoxicological risk assessment of chemical pollution in four iberian river basins and its relationship with the aquatic macroinvertebrate community status. *Science of the Total Environment* (540) 324-333, 2016.

Lajeunesse A., Gagnon C., Sauve S., 2008. Determination of basic antidepressants and their N-dimethyl metabolites in raw sewage and wastewater using solid-phase extraction and liquid Chromatography Tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. (80) 5325-5333, 2008.

Lajeunesse A., Smyth S., Barclay K., Sauve S., Gagnon C. Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada. *Water Research* (46) 5600-5612, 2012.

Listunova L., Roth C., Bartolovic M., Kienzle J., Bach C., Weisbrod M., Roesh-Ely D. Cognitive impairment along the course of depression: non pharmacological treatment options. *Psychopathology* (51)5 295-305, 2018.

Lolić A., Paíga P., Santos L., Ramos S., Correia M., Delerue-Matos C. Assessment of non-steroidal anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in seawaters of North of Portugal: Occurrence and environmental risk. *Science of The Total Environment* (508) 240–250, 2015.

Lopes V., Rienne R., da Silva A., Torquilha D., Carreira R., Marques M. Development of a solid-phase extraction system modified for preconcentration of emerging contaminants in large sample volumes from rivers of the lagoon system in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 110(1) 572-577, 2016.

Lough W. e Wainer I. (Eds.). *High performance liquid chromatography: fundamental principles and practice*. London: Blackie Academic & Professional, 1996.

Luo Y., Guo W., Ngo H., Nghiem L., Hai F., Zhang J., Liang S., Wang X. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment* (473) 619-641 2014.

Machado, M. Detecção de antidepressivos em águas superficiais e residuais. Tese de Dissertação e Mestrado em Química Medicinal, Universidade do Minho, Portugal, 2013.

Machado K., Grassi M., Vidal C., Pescara I., Jardim W., Fernandes A., Sodré F., Almeida F., Santana J., Canela M, Nunes C., Bichinho K., Severo F. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. *Science of the Total Environment* (572) 138-146, 2016.

Madureira T., Barreiro J., Rocha M., Rocha E., Cass Q., Tiritan M. Spatiotemporal distribution of pharmaceuticals in the Douro River estuary (Portugal). *Science of the Total Environment* (408) 5513-5520, 2010.

Matos S. *Operações unitárias: fundamentos, transformações e aplicações dos fenômenos físicos e químicos*. Editora Érica (1ª edição) São Paulo, Brasil, 2015.

Marsik P., Rezek J., Zidkova M., Kramulova B., Tauchen J., Vanek T. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the watercourses of Elbe basin in Czech Republic. *Chemosphere* (171) 97-105, 2017.

Metcalf L. e Harrison E. *Tratamento de efluentes e recuperação de recursos*. AMGH, 5<sup>th</sup> Edition. Porto Alegre, Brasil, 2017.

Miller J., Miller R. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Pearson Education Limited (Vol. 7th Edition), 2018.

Minten J., Adolfsson-Erici M., Alsberg T. 2011. Extraction and analysis of pharmaceuticals in polluted sediment using liquid chromatography mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* (91) 553-566, 2011.

Moreno R., Moreno D., Soares M. Psicofarmacologia de antidepressivos. *Revista Brasileira de Psiquiatria* (21)1 24–40, 1999.

Mole A., Brooks, B. Global scanning of selective serotonin reuptake inhibitors: occurrence, wastewater treatment and hazards in aquatic systems. *Environmental Pollution* (250) 1019–1031, 2019.

Nascimento R., Lima A., Vidal C., Melo D., Giselle S. Adsorção: aspectos teóricos e aplicações ambientais. Fortaleza: Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil, 2014.

Nebot C., Gibb S., Boyd K. Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* (598) 87-94, 2007.

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

Oliveira A., Extração e quantificação de fármacos em matrizes aquosas. Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior de Tecnologia e Gestão. Tese de Mestrado em Engenharia Química, 2019.

Oliveira A., Ávila T., Souza M, Faria W. Levantamento epidemiológico dos usuários de antidepressivos tricíclicos em quatro drogarias na cidade de Rubiataba - Go no período de 2009 a 2011. *Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres* (1)1, 2012.

Ortega-Calvo J., Tejeda-Agredano M., Jimenez-Sanchez C., Congiu E., Sungthong R., Niqui-Arroyo J., Cantos M. Is it possible to increase bioavailability but not environmental risk of PAHs in bioremediation? *Journal of Hazardous Materials* (261) 733-745, 2013.

Ortiz de García S., Pinto G., García P., Mata R. Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain. *Science of The Total Environment* (444) 451–465, 2013.

Osorio V., Larrañaga A., Aceña J., Perez S., Barcelo D. Concentration and risk of pharmaceuticals in freshwater systems are related to the population density and the livestock units in Iberian Rivers. *Science of The Total Environment* (540) 267-277, 2016.

Paíga P., Correia M., Fernandes M., Silva A., Carvalho M., Vieira J., Jorge S., Silva J., Freire C., Delerue-Matos, C. Assessment of 83 pharmaceuticals in WWTP influent and effluent samples by UHPLC-MS/MS: Hourly variation. *Science of The Total Environment* (648) 582-600, 2019.

Pal A., He Y., Jekel M., Reinhard M., Gin K. Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. Untreated water Sewer system. *Environment International* (71) 46-62, 2014.

Petrovic M., Hernando M., Díaz-Cruz M., Barceló D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *Journal of Chromatography A* 1067(1-2):1-14, 2005.

INFARMED, Prontuário Terapêutico on-line, 2021.  
<https://app10.infarmed.pt/prontuario/index.php>

Reis Filho R., Barreiro J., Vieira E., Cass Q. Fármacos, ETEs e corpos hídricos. *Revista Ambiente & Água* 2(3): 54-61, 2007.

Reis-Santos P., Pais M., Duarte B., Caçador I., Freitas A., Vila Pouca A., Barbosa J., Leston S., Rosa J., Ramos F., Cabral H., Gillanders B., Fonseca V. Screening of human and veterinary pharmaceuticals in estuarine waters: a baseline assessment for the Tejo estuary. *Marine Pollution Bulletin* (135) 1079–1084, 2018.

Ribeiro Â., Ribeiro J., von Doellinger, O. Depression and psychodynamic psychotherapy. *Brazilian Journal of Psychiatry* (40)1 105-109, 2018.

Rowell V., Tangney P., Hunt C., Voulvoulis N. Estimating levels of micropollutants in municipal wastewater. *Water, Air, Soil Pollution* (206) 357-368, 2010.

Sakari M., Hsia B., Tahir R., Rafiq S., Nahavandi R., Shah M., Annammala K., Soon Z., Yi A. Estuary and sea - associated wetlands as final sink for organic pollutants: a case study in Sabah, Malaysia. *International Journal of Environmental and Bioenergy* (9) 1-16, 2014.

Santos L., Araújo A., Fachini A., Pena A., Delerue-Matos C, Montenegro M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials* (175)1-3 45-95, 2010.

Schlüsener M., Hardenbicker P., Nilson E., Schulz M., Viergutz C., Ternes T. Occurrence of venlafaxine, other antidepressants and selected metabolites in the Rhine catchment in the face of climate change. *Environmental Pollution* (196) 247-256, 2015.

Segat E., Diefenthaler H. Uso de medicamentos antidepressivos por professores de escolas de diferentes redes de ensino em um município do norte do Rio Grande do Sul. *Rev. Perspectiva, Ericum*. (37)137 45-54, 2013.

Silva C. e Collins C. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. *Química Nova* 34(4), 665-676, 2011.

Silva L., Meisel L., Lino C., Pena A., 2014. Profiling serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs) in the environment: trends in analytical methodologies. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* (44) 41-67, 2014.

Silva S. Padronização e validação do método extração sortiva em barra de agitação e cromatografia líquida de alta eficiência (SBSE/HPLC) para a determinação de antidepressivos em amostras de plasma. Dissertação de Mestrado em Toxicologia, Universidade de São Paulo, Brasil, 2007.

Soares A., Leão M., Contaminação dos mananciais por micropoluentes e a precária remoção desses contaminantes nos tratamentos convencionais para água potável. *Revista Jurídica De Júri* (14)4 36-85, 2015.

Sodré F., Montagner M., Jardim W. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology* 2(2) 187-196, 2007.

Solla S., Gilroy E., Klinck J., King L., McInnis R., Struger J., Backus S., Gillis P. Bioaccumulation of pharmaceuticals and personal care products in the unionid mussel *Lasmigona costata* in a river receiving wastewater effluent. *Chemosphere* (146) 486-496, 2016.

Souza F. Tratamento da depressão. *Brazilian Journal of Psychiatry* (21) 18-23, 1999.

Stumpf M., Ternes T., Wilken R., Rodrigues S., Baumann W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *The Science of the Total Environment* (225) 135-141, 1999.

Tambosi, J. Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2008.

Thomas K., Silva F., Langford K., Souza A., Nizzeto L., Waichman A. Screening for selected human pharmaceuticals and cocaine in the urban streams of Manaus, Amazonas, Brazil. *Journal of the American Water Resources Association* 50(2): 302-308, 2014.

Wannmacher L. Abordagem da depressão maior em idosos: medidas não medicamentosas e medicamentos. *Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS) no Brasil* (1)1, 1-10 2016.

Webb S., Ternes T., Gilbert M., Olejniczak K. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. *Toxicology Letters* (142)3 157-167, 2003.

Zhou M., Foley J. Analytical method for the quantitation of sertraline hydrochloride stereoisomers by electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A* (1052)1-2 13–23, 2004.