



**Rita Carolina Lages Silva**

Licenciada em Ciências e Engenharia do Ambiente

**Remediação eletrocínética de  
contaminantes orgânicos de preocupação  
emergente: influência na capacidade de  
recuperação do solo**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia do Ambiente, perfil de Engenharia Sanitária

Orientadora: Doutora Maria da Nazaré Parada Figueiredo  
de Sousa Couto Alves, CENSE, DCEA, FCT NOVA

Co-orientadora: Professora Doutora Alexandra de Jesus  
Branco Ribeiro, CENSE, DCEA, FCT NOVA

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Teresa Calvão Rodrigues

Arguente: Doutora Cristina Marisa Ribeiro de Almeida

Vogais: Doutora Maria Nazaré Parada Figueiredo de Sousa Couto Alves

Doutora Paula Alexandra Rodrigues de Araújo Guedes



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Novembro, 2020**





**Remediação eletrocinética de contaminantes orgânicos de preocupação emergente: influência na capacidade de recuperação do solo**

Copyright © Rita Carolina Lages Silva FCT/UNL 2020

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar a presente dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



## Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Professora Doutora Alexandra Ribeiro pela oportunidade de poder realizar esta dissertação em colaboração com o RESOLUTION LAB e o CENSE – Centro de Investigação em Ambiente e Sustentabilidade. Quero agradecer por acreditar neste projeto independentemente das dificuldades externas que surgiram no seu desenvolvimento.

Ao longo deste percurso, adquiri conhecimentos que levarei comigo para o resto da vida. Foi uma experiência única que recordarei com apreço.

Gostaria de agradecer, em especial, à minha orientadora, a Doutora Nazaré Couto pela orientação prestada e por todas as palavras de encorajamento. Não existiu um único momento em que não me sentisse apoiada.

A toda a equipa do RESOLUTION LAB que tive o prazer de conhecer e que me acompanhou nos últimos meses, que me permitiu aprender sobre laboratório e técnicas analíticas. À Doutora Paula Guedes por toda a orientação durante a fase experimental do projeto, assim como por todo o conhecimento transmitido. À Joana Dionísio pela ajuda prestada em laboratório.

Ao Doutor Eduardo Mateus pelo apoio técnico, científico e logístico e ao Professor Marco Silva pelo apoio logístico.

Esta dissertação foi financiada pelo projeto CEMOWAS2 (SOE2/P5/F0505) “Gestão Circular Ecosistémica dos Serviços de Resíduos Orgânicos e de Águas Residuais”, e desenvolveu-se no RESOLUTION LAB, infraestrutura inserida na *NOVA School of Science and Technology*. Também gostaria de mencionar o contributo do projeto e.THROUGH (H2020-MSCA-RISE-2017-778045). Gostaria, também, de agradecer à Adélia Varela do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, pela recolha e preparação da amostra de solo.

Por fim, gostaria de agradecer a todos os amigos que me ajudaram a descontrair nos momentos de maior *stress*, em particular à Abi, Joana, Marta, Patrícia C., Patrícia R. e Filipe por estarem sempre do meu lado, mesmo que não percebessem nada do que eu estava a fazer. Às minhas colegas e amigas Rita, Beatriz, Daniela, Inês, Patrícia e Rafaela por terem acompanhado este percurso, que não seria o mesmo sem elas. A toda a minha família, mas em especial, aos meus pais por todo o apoio e à Bekas por me fazer sentir melhor quando chegava a casa.



## Resumo

Uma das principais utilizações de água residual tratada está associada a atividades agrícolas, nomeadamente, a irrigação do solo. Para além de ser apresentada como uma solução para a diminuição das pressões sobre as fontes de água potável, este tipo de água apresenta benefícios para o solo agrícola em termos nutricionais. No entanto pode ocorrer contaminação por compostos que não sejam eficientemente removidos nas estações de tratamento de águas residuais (ETAR).

Os produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal (PFCs) pertencem ao grupo de compostos orgânicos de preocupação emergente que podem ser encontrados no solo após irrigação com água residual tratada por não serem completamente removidos no tratamento em ETAR. É necessário perceber a forma como a presença de PFCs vai afetar a composição do solo, as suas características, assim como quais os métodos mais adequados para eliminar estes compostos do meio.

Na presente dissertação foi estudado o efeito do processo eletrocinético (EK) em solo dopado com uma amostra contendo PFCs. A solução de dopagem continha 10 contaminantes, cada um com uma concentração de 10 mg/kg m.s., nomeadamente: cafeína (CAF), sulfametoxazole (SMX), carbamazepina (CBZ), diclofenac (DCF), oxibenzona (OXY), triclosan (TCS), bisfenol A (BPA), 17 $\beta$ -estradiol (E2), 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) e ibuprofeno (IBU).

Foi aplicada corrente a uma intensidade constante de 20 mA da seguinte forma: (i) 8 dias; (ii) 8 dias seguido de um período de repouso de 4 dias e (iii) 8 dias seguido de um período de repouso de 8 dias. Os períodos sem EK permitiram avaliar a evolução dos parâmetros analisados após um período para restauro do solo. Para cada ensaio, foi montado um ensaio de controlo sem aplicação de corrente, permitindo observar o efeito da biorremediação quando não é antecedida por um período com EK. Para além da quantificação dos PFCs, foram controlados parâmetros do solo como o pH, a condutividade, o teor de humidade e as unidades formadoras de colónias (UFC) nos ensaios com EK e no controlo.

As taxas de degradação mais elevadas foram registadas para o ensaio com EK de 8 dias seguido de um período de repouso de 8 dias, sendo alcançadas taxas de remoção de 100% para os contaminantes considerados (bio)degradáveis, isto é para E2, SMX, BPA, EE2 e IBU. A aplicação de corrente permitiu aumentar a taxa de degradação dos contaminantes considerados recalcitrantes, mais especificamente CAF (19%), CBZ (63%), DCF (76%), OXY (68%) e TCS (49%). O controlo de 16 dias obteve, em média, maiores taxas de remoção que os restantes ensaios de controlo (8 e 12 dias), o que demonstra a eficiência da biorremediação com o aumento do tempo de ensaio.



Os resultados obtidos refletem a eficácia do processo eletrocinético para a remoção de contaminantes de difícil degradação. Foi possível assegurar a capacidade do solo para recuperar após contaminação por PFCPs, assim como o seu potencial natural para degradar contaminantes.

**Palavras-chave:** processo eletrocinético; produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal; biorremediação; solo agrícola



## Abstract

One of the main uses of treated wastewater is associated with agricultural activities, namely, soil irrigation. In addition to being presented as a solution for reducing pressure on drinking water sources, this type of water has nutritional benefits for agricultural soil. However, contamination can occur with compounds that are not efficiently removed in wastewater treatment plants (WWTP).

Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) belong to a group of organic compounds of emerging concern that can be found in the soil after irrigation with treated wastewater, as they are not completely removed in the treatment at a WWTP. It is necessary to understand how the presence of PPCPs will affect soil composition and its characteristics, as well as which methods are most suitable for the removal of these compounds from the environment.

In this dissertation, the effect of the electrokinetic process (EK) on a soil doped with PPCPs was studied. The doping solution contained 10 contaminants, each with a concentration of 10 mg/kg d.w., namely: caffeine (CAF), sulfamethoxazole (SMX), carbamazepine (CBZ), diclofenac (DCF), oxybenzone (OXY), triclosan (TCS), bisphenol A (BPA), 17 $\beta$ -estradiol (E2), 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) and ibuprofen (IBU).

A direct current was applied to the soil at a constant intensity of 20 mA as follows: (i) 8 days; (ii) 8 days followed by a 4 day rest period, and (iii) 8 days followed by an 8 day rest period. The periods without EK allowed the evaluation of the evolution of the parameters under study after allowing a period for soil restoration. For each test, a control test without current application was set up, allowing the observation of the effect of bioremediation when it is not preceded by a period with EK. In addition to the quantification of PPCPs, soil parameters such as pH, conductivity, moisture content and colony forming units (CFU) were controlled in the EK tests and in the control.

The highest degradation rates were obtained for the 16-day EK test, with 100% removal achieved for contaminants considered more (bio)degradable as E2, SMX, BPA, EE2 and IBU. The current application allowed the increase of the degradation rate of the contaminants considered recalcitrant, more specifically CAF (19%), CBZ (63%), DCF (76%), OXY (68%) and TCS (49%). The 16-day control obtained, on average, higher removal rates than the other control tests (8 and 12 days), which demonstrates the efficiency of bioremediation with the increase of the test time.

The results obtained reflect the effectiveness of the electrokinetic process for removing contaminants that are difficult to degrade. It was possible to ensure the capacity

of the soil to recover after contamination by PFCPs, as well as its natural potential to degrade contaminants.



## Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Objetivos .....	5
1.2. Estrutura da dissertação .....	5
2. Estado da arte .....	7
2.1. Reutilização de água residual.....	7
2.2. PFCPs .....	12
2.2.1. Contaminantes.....	12
2.2.1.1. Oxibenzona (OXY) .....	13
2.2.1.2. Diclofenac (DCF).....	13
2.2.1.3. Triclosan (TCS).....	14
2.2.1.4. Cafeína (CAF).....	14
2.2.1.5. Sulfametoxazole (SMX).....	14
2.2.1.6. Carbamazepina (CBZ).....	15
2.2.1.7. Bisfenol A (BPA).....	15
2.2.1.8. 17β-estradiol (E2) .....	15
2.2.1.9. 17α-etinilestradiol (EE2) .....	15
2.2.1.10. Ibuprofeno (IBU) .....	16
2.2.2. Comportamento de PFCPs no solo .....	16
2.3. Processo eletrocinético.....	19
2.5. Técnicas analíticas .....	21
2.5.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) .....	21
2.5.2. <i>QuEChERS</i> .....	23
3. Materiais e métodos .....	25
3.1. Amostra de solo .....	25
3.2. Solventes e reagentes .....	25
3.3. Delineamento experimental .....	26
3.4. Métodos analíticos.....	28
3.4.1. Parâmetros físico-químicos .....	28
3.4.1.1. Temperatura .....	28
3.4.1.2. Teor de humidade.....	28
3.4.1.3. pH e condutividade.....	29
3.4.2. Extração de contaminantes .....	29
3.4.2.1. Testes de <i>QuEChERS</i> para otimização .....	29

3.4.2.2. Extração de contaminantes pelo método de QuEChERS .....	31
3.4.3. Análise por HPLC .....	32
3.4.3.1. Determinação da curva de calibração e limites .....	33
3.4.4. Análise microbiológica .....	33
3.4.5. Análise estatística.....	34
4. Resultados e discussão de resultados.....	37
4.1. Testes de otimização de <i>QueChERS</i> .....	37
4.2. Curva de calibração HPLC-DAD-FLD.....	39
4.3. Caracterização do solo .....	40
4.4. Experiências eletrocinéticas .....	41
4.4.1. Voltagem .....	41
4.4.3. Condutividade .....	41
4.4.2. pH .....	42
4.4.4. Teor de humidade.....	43
4.4.5. Temperatura .....	44
4.5. Degradação de contaminantes.....	45
4.6. Distribuição de contaminantes no solo .....	49
4.7. Unidades formadoras de colónias (UFC) .....	52
5. Conclusão .....	55
6. Desenvolvimentos futuros .....	57
7. Referências Bibliográficas .....	59

## Índice de figuras

Figura 1.1. - Vias de entrada de compostos farmacêuticos na água para consumo.....	3
Figura 2.1. – Esquema de reutilização de água em 6 regiões por tipo de aplicação .....	8
Figura 2.2 – Tipos e processos de tratamento em ETAR .....	9
Figura 2.3 - Mecanismos de transporte por remediação electrocinética.....	20
Figura 2.5 - Esquema de um sistema de HPLC.....	22
Figura 3.1 - Localização da zona de recolha da amostra .....	25
Figura 3.2 - Esquema da célula electrocinética utilizada, contendo solo e elétrodos .....	26
Figura 3.3 - Configuração da experiência (controlo (1) e aplicação de corrente (2)) .....	27
Figura 3.4 - Esquema da aplicação do tratamento EK, periodo de repouso e controlo para os três ensaios. ...	27
Figura 3.5 - Representação das diferentes camadas delimitadas .....	28
Figura 3.6 - Medição de pH (a); Amostras em Falcons de 50mL após agitação (b). .....	29
Figura 3.7 - Diagrama de processo dos testes de otimização realizados .....	29
Figura 3.8 - Falcons de 15 mL contendo as amostras (a) e frascos de vidro (b) utilizados no processo, devidamente identificados.....	32
Figura 3.9 - Cromatógrafo série 100 Agilent.....	32
Figura 3.10 - Material utilizado para a análise microbiológica.....	34
Figura 4.1 - Taxa de recuperação de cada contaminante para os diferentes tipos de solo. ....	37
Figura 4.2 - Taxa de recuperação de cada contaminante nos testes para solo não-dopado. ....	38
Figura 4.3 - Taxa de recuperação de cada contaminante para as diferentes massas de solo.....	38
Figura 4.4 - Taxa de recuperação de cada contaminante para os três tipos de filtro.....	39
Figura 4.5 - Valores de condutividade nos diferentes ensaios, em cada camada. ....	42
Figura 4.6 - Valores de pH nos diferentes ensaios, em cada camada. ....	43
Figura 4.7 - Teor de humidade nos diferentes ensaios, em cada camada. ....	44
Figura 4.8 - Percentagem de degradação de contaminantes para cada ensaio. ....	46



## Índice de tabelas

Tabela 2.1 - Caracterização das classes de culturas passíveis de irrigação.....	8
Tabela 2.2 – Vantagens e desvantagens de processos utilizados no tratamento terciário.....	11
Tabela 2.3- Propriedades físico-químicas de cada contaminante de preocupação emergente utilizado neste estudo.....	12
Tabela 3.1 - Quantidade de solo extraído (g) para cada teste. ....	30
Tabela 3.2 - Fluxo de eluente a 1,5 mL/min em modo gradiente. ....	33
Tabela 3.3 - Parâmetros testados na análise estatística e as respectivas variáveis avaliadas.....	35
Tabela 4.1 – Coeficiente de correlação da curva de calibração, gama de trabalho, LD e LQ dos contaminantes em estudo para o método HPLC-DAD-FLD. ....	39
Tabela 4.2 - Características do solo .....	40
Tabela 4.3 - Voltagem para cada ensaio .....	41
Tabela 4.4 - Temperatura registada a cada 2 dias em cada ensaio.....	45
Tabela 4.5 - Percentagem de recuperação para cada contaminante. ....	45
Tabela 4.6 - percentagem mássica dos diferentes contaminantes em cada camada de solo (C – cátodo; A – ânodo). Valores acima de 50% encontram-se indicados a amarelo. Valores detetados abaixo de 50% encontram-se indicados a azul, com exceção dos não-detetados (0%).....	50
Tabela 4.7 - UFCs no final das experiências.....	52



## Lista de abreviaturas

ACN	acetonitrilo
BPA	bisfenol A
CAF	cafeína
CBZ	carbamazepina
DAD	<i>diode array detector</i> – detetor de arranjo de díodos
DCF	diclofenac
E2	17 $\beta$ -estradiol
EE2	17 $\alpha$ -etinilestradiol
EK	eletrocínético
ETAR	estação de tratamento de águas residuais
UE	União Europeia
FLD	<i>fluorescence detector</i> – detetor de fluorescência
HPLC	<i>high-performance liquid chromatography</i> – cromatografia líquida de alta eficiência
IBU	ibuprofeno
LD	limite de deteção
LQ	limite de quantificação
OMS	Organização Mundial de Saúde
OXY	oxibenzona
PFCP	produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal
QuEChERS	quick easy cheap effective rugged and safe
SMX	sulfametoxazole
TCS	triclosan
UV	ultravioleta

# 1. Introdução

A escassez de água é um dos problemas eminentes da sociedade atual. Os países em desenvolvimento são os mais prejudicados, mas os Estados Membros da União Europeia (UE) também são afetados por este problema. A Comissão Europeia refere, na sua proposta de regulamentação para a reutilização de água de 2018, que um terço do território da UE é afetado por *stress* hídrico (Comissão Europeia, 2018). Esta escassez está relacionada com a sobre-exploração deste recurso que, por sua vez, advém de um aumento da população e desenvolvimento da sociedade. A necessidade de garantir que a população não carece deste recurso resulta num aumento do consumo energético e, conseqüentemente, das emissões de gases com efeito de estufa (Matos et al., 2012).

A emissão destes gases contribui para as alterações climáticas e os fenómenos que delas resultam. Uma das conseqüências destas alterações são os períodos de seca que, associados à sobre-exploração dos recursos hídricos, agravam a escassez de água. Estes períodos são especialmente críticos durante as estações secas (Libutti et al., 2018).

É necessário encontrar uma resposta que permita combater a escassez de água de forma economicamente viável. A reutilização de água, nomeadamente dos efluentes tratados de estações de tratamento de águas residuais (ETAR), é por este motivo, uma solução para estes desafios. Atualmente, a reutilização de água residual tratada já ocorre em países onde as exigências hídricas excedem os recursos disponíveis (Alygizakis et al., 2020).

A posição da UE relativamente a este assunto está plasmada no regulamento do Parlamento Europeu relativo aos requisitos mínimos para a reutilização de água, publicado a 18 de dezembro de 2019. Com a regulamentação apropriada, a UE pretende que os Estados-Membros diminuam a exploração de recursos hídricos através da reutilização de água residual, o que terá como conseqüência a conservação deste recurso e vários benefícios para o ecossistema, como a diminuição das descargas de água residual para o meio (Comissão Europeia, 2018).

Atualmente esta alternativa não é amplamente utilizada na UE uma vez que carece de legislação específica e apresenta custos de sistema elevados. De modo a contrariar este problema, devem existir incentivos para a procura de processos de tratamento de água residual que permitam um tratamento mais rigoroso de um modo economicamente sustentável. A legislação não deverá variar significativamente entre os Estados-Membros de modo a preservar o mercado internacional (European Commission, 2018a).

Para garantir que a reutilização de água residual é efetuada com a máxima segurança é crítico que sejam controlados determinados parâmetros consoante o fim a que se destina. Entre os parâmetros atualmente controlados, não se encontram os produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal (PFCP) que muitas vezes são detetados em ambientes aquáticos. Presentemente, as ETARs não são eficientes na remoção destes compostos orgânicos emergentes (Ferreira et al., 2018), sendo que não é possível garantir a segurança total na reutilização de água residual para atividades como a irrigação na agricultura.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) na sua publicação *Guidelines for drinking water-quality* afirma que os fármacos podem ser encontrados na água que é utilizada pelo ser humano, quer para a agricultura, quer para consumo (OMS, 2012). As características dos fármacos encontrados podem variar de país para país, de região para região, de local para local tendo em conta as atividades que aí se desenvolvem. No entanto, em 2012, a OMS declarava que a quantidade de fármacos encontrada na água, em termos de dose, não justifica a existência de valores limite para esses compostos e descarta a necessidade de tratamento específico para a eliminação dos mesmos (OMS, 2012). Atualmente a perspetiva é diferente e recomenda-se, por exemplo, o controlo de concentração de antibióticos nas massas de água.

Assim, existe um elevado consumo de fármacos na UE que entram no ciclo da água através do metabolismo humano. Estes compostos não são completamente degradados no organismo e acabam por ser libertados nos ecossistemas com efeitos prejudiciais para o mesmo e para os seres vivos que neles habitam (Al Aukidy et al., 2012). Com a tendência global da população para crescer e aumentar o consumo de fármacos, assim como a necessidade de reutilizar a água residual, não será sensato descartar a hipótese de que estes compostos podem vir a apresentar maior risco para a população. Por este motivo, a procura de sistema(s) de tratamento que possa(m) ser adaptado(s) às ETAR mostra-se imprescindível para a saúde humana e para o ambiente. A Figura 1.1 ilustra as várias vias de entrada de compostos farmacêuticos, utilizados na agricultura ou para uso humano, na água de consumo.

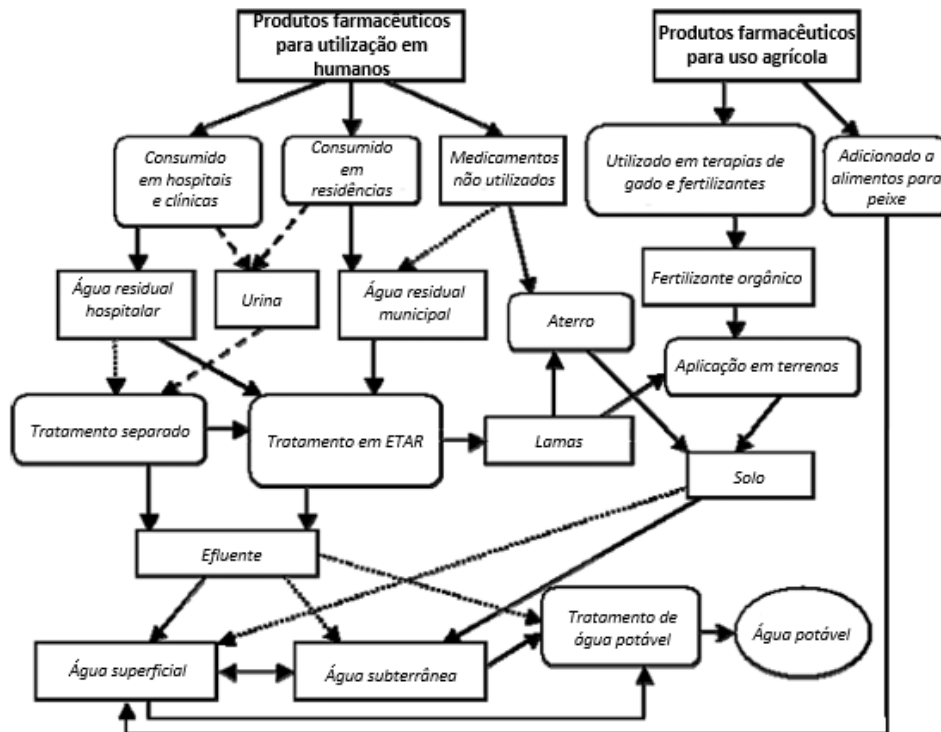


Figura 1.1. - Vias de entrada de compostos farmacêuticos na água para consumo (Adaptado de: Ikehata *et al*, 2006).

Uma das principais atividades a beneficiar da reutilização de água residual seria a agricultura, pois está diretamente dependente da água disponível para a sua realização e encontraria na água residual uma fonte prontamente disponível para responder às exigências de irrigação desta atividade. Inclusivamente, a água residual é uma fonte de nutrientes com capacidade para aumentar a produtividade do solo (Libutti *et al.*, 2018), reduzindo a necessidade de fertilizantes industriais e contribuindo para a economia circular (Comissão Europeia, 2018).

A preservação do solo é fundamental para garantir o equilíbrio dos ecossistemas, uma vez que este é um recurso essencial para a provisão de serviços de ecossistemas e não é renovável à escala humana. Este recurso é indispensável para a produção e provisão de alimentos e água e, devido à sua capacidade para armazenar carbono, é relevante no combate às alterações climáticas. Por este motivo, a contaminação do solo é um problema que tem gerado preocupação e uma procura por soluções efetivas (Guedes *et al.*, 2020).

Embora o solo tenha capacidade para filtrar, fixar e neutralizar poluentes, pode ocorrer acumulação e contaminação quando a taxa de remoção por parte do solo é inferior à taxa de adição de contaminantes. As propriedades químicas, físicas e biológicas de cada solo interferem na sua resiliência e na sua vulnerabilidade às pressões externas, pelo que cada

unidade de solo poderá ser afetada de forma diferente. A entrada de contaminantes no solo pode ocorrer de diversas formas. A aplicação de produtos contendo contaminantes por parte da atividade agrícola, derramamentos acidentais, deposição atmosférica, gestão inadequada de resíduos urbanos e irrigação com água residual tratada são algumas das fontes para a presença de contaminantes no solo (FAO, 2017).

Quando o tratamento de água residual tem como objetivo a sua reutilização, é necessário ter em conta a finalidade a que se destina. Sendo a agricultura uma das atividades mais beneficiadas por esta reciclagem de água residual, é de extrema importância avaliar os efeitos da sua aplicação na irrigação do solo. Como já foi referido, a composição química da água residual tratada pode aumentar a produtividade do solo por constituir uma fonte de nutrientes, contudo pode também ser prejudicial se a monitorização dos efeitos no solo não for eficiente. Alterações no solo e nos produtos agrícolas resultantes de um desequilíbrio no fornecimento de nutrientes, assim como a possível contaminação do solo e das águas superficiais e subterrâneas são fatores a ter em atenção (Libutti et al., 2018). Uma das formas mais diretas em que este problema afeta a saúde pública é através da entrada de contaminantes, que não são removidos na ETAR, na cadeia alimentar.

Em Portugal, o Decreto-Lei nº 119/2019, de 21 de agosto, define as normas de qualidade de água para reutilização em rega, na proteção das culturas agrícolas, florestais, nos solos, para usos urbanos, paisagísticos e a nível industrial. Através de uma avaliação de risco, este documento tem em consideração a utilização da água e o seu meio recetor. De acordo com estes parâmetros é definida uma barreira adequada a cada situação, de modo a garantir a segurança da reutilização de água residual (DRE, 2019). Apesar de serem definidos limites para determinados parâmetros críticos na avaliação da qualidade da água, os PFCs não são considerados neste decreto-lei.

As consequências de um tratamento ineficiente também se estendem ao setor económico, uma vez que, ao modificar as propriedades do solo, a sua produtividade e a sua aptidão também sofrem alterações. Para agravar a situação, a contaminação do solo não é apenas local. A precipitação seca e húmida e a infiltração no solo até águas superficiais e subterrâneas, permitem uma disseminação dos contaminantes, dificultando a sua remediação e comprometendo outros compartimentos ambientais (Cameselle et al., 2013).

A legislação existente relativa ao solo, à semelhança da legislação para a produção de água para reutilização, não tem em consideração o controlo de PFCs. A existência de regulamentação e avaliação de risco é essencial para garantir um tratamento eficiente na remoção de PFCs e segurança na reutilização da água (FAO, 2011).

A remoção de contaminantes de preocupação emergente em tratamento de água residual tem sido alvo de estudos e desenvolvimento de novas tecnologias. No entanto, a

nível do solo, as soluções ainda são escassas. Uma vez que estes contaminantes são encontrados no solo a nível global, deve ser dada a devida importância à procura de soluções de remoção e remediação (Guedes et al., 2020).

## 1.1. Objetivos

A presente dissertação tem como objetivo a avaliação da capacidade de recuperação do solo após aplicação do processo eletrocinético para remoção de dez PFCs presentes na matriz após irrigação com água contaminada.

Deste modo, é pretendido obter resposta para as seguintes questões:

- a) O processo eletrocinético tem capacidade de degradar compostos orgânicos emergentes no solo?
- b) Como variam as propriedades físico-químicas do solo após irrigação com água dopada (pH, condutividade, temperatura, humidade)?
- c) Após desligar a aplicação de corrente, tem o solo capacidade para recuperar dos efeitos da sua aplicação?

## 1.2. Estrutura da dissertação

1. Introdução – Relevância do trabalho, objetivos e estrutura da dissertação;
2. Estado da arte – Descrição do tema, terminologia relevante e revisão de trabalhos desenvolvidos anteriormente;
3. Materiais e Métodos – Descrição dos materiais e procedimentos utilizados, identificação e tratamento de dados;
4. Resultados e Discussão – Apresentação, formulação e discussão dos resultados obtidos.
5. Conclusões
6. Desenvolvimentos futuros
7. Referências bibliográficas
8. Anexos





## 2. Estado da arte

### 2.1. Reutilização de água residual

O crescimento da população mundial e o conseqüente aumento das suas necessidades resulta numa exploração intensa de recursos hídricos a nível global. Segundo o *World Water Development Report* elaborado pelas Nações Unidas (WWAP, 2017), prevê-se um aumento significativo nas necessidades hídricas de cada nação. Este aumento proporciona um desequilíbrio entre os recursos disponíveis e os recursos necessários para satisfazer as exigências da população e é agravado pelo efeito das alterações climáticas no ciclo da água. A ONU estima que cerca de 70% das exigências hídricas correspondem ao sector da agricultura.

Dentro das estimativas apresentadas pela ONU, é concluído que dois terços da população mundial é vítima de escassez de água pelo menos uma vez por mês. Em países desenvolvidos, cerca de 70% da água residual produzida é tratada (WWAP, 2017), o que torna a água residual um recurso a considerar, não só pela resolução de problemas de escassez hídrica, como também como uma fonte alternativa potencial de nutrientes para o solo.

Atualmente, a reutilização de água residual tratada ocorre em países do Médio Oriente, Norte de África, Austrália, China, México, Estados Unidos e países do Mediterrâneo, geralmente, em zonas com atividades agrícolas e fácil acesso a água residual (WWAP, 2017). Contudo, a nível global, da água utilizada para a agricultura, apenas 2 a 7% corresponde a água residual tratada (FAO, 2011; WWAP, 2017). Para garantir a segurança na reutilização de água residual, são várias as opções de tratamento disponíveis. Este tratamento é decisivo para que esta opção seja viável.

Em 2006, a Comissão Europeia identificou quais as principais categorias para a reutilização de água e qual a sua aplicação à escala mundial (Figura 2.1.). O projeto AQUAREC identificou cerca de 3300 instalações para recuperação de água à data de 2003, declarando que esse número rapidamente estaria desatualizado (Bixio & Wintgens, 2006).

Na Europa, a água tem um uso predominantemente urbano, sendo que em zonas costeiras ou insulares na região Sul, também é muito utilizada na agricultura (Bixio & Wintgens, 2006).

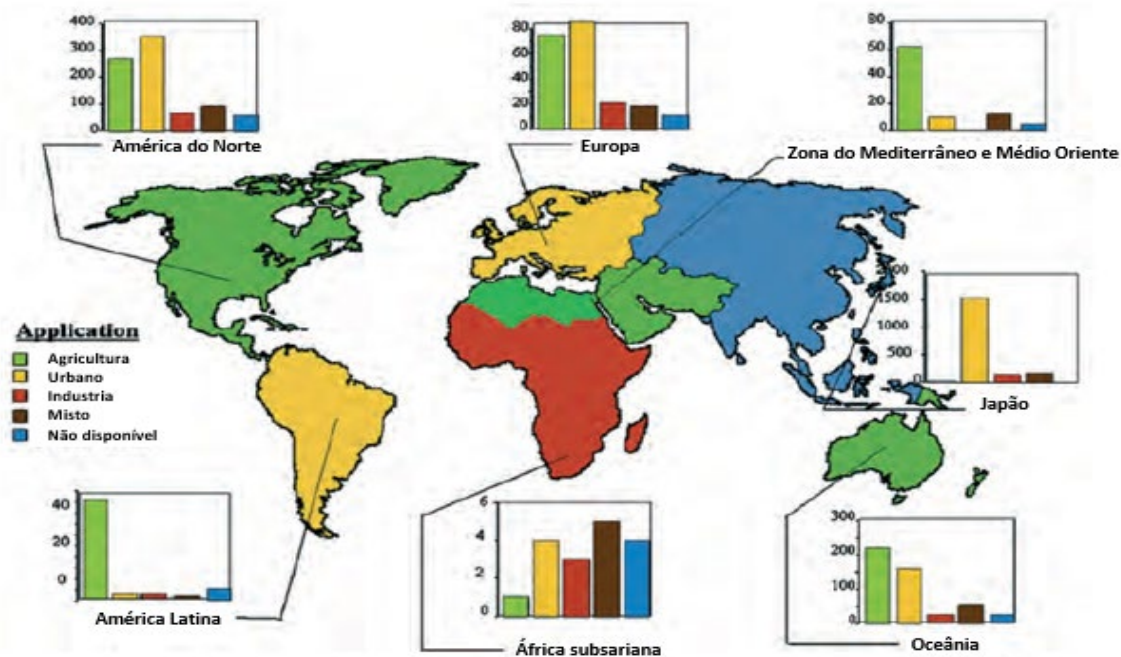


Figura 2.1. – Esquema de reutilização de água em 6 regiões por tipo de aplicação (Fonte: European Commission, 2006).

Em Portugal, anteriormente ao Decreto-Lei n.º 119/2019, que visa estabelecer o regime jurídico de produção de água para reutilização, foi elaborada a Norma Portuguesa NP 4434 de 2005 sobre reutilização de águas residuais urbanas tratadas para rega, que visava fornecer orientações referentes à qualidade de água, à técnica de irrigação, monitorização de impactos e proteção da saúde pública. Segundo a publicação, ainda em vigor, existiam quatro classes de culturas para irrigação com água residual tratada. A distinção entre as diferentes classes era feita a partir do nível de risco de contaminação microbiológica (Monte, 2014). A Tabela 2.1 apresenta as quatro classes e a sua caracterização correspondente.

Tabela 2.1 - Caracterização das classes de culturas passíveis de irrigação (Adaptado de Monte, 2014).

Classe	Caracterização
A	Vegetais e culturas para consumo em cru
B	Relvados em espaços públicos e destinados a atividades desportivas, jardins e florestas de acesso público
C	Culturas para cozinhar, vinhas, pomares e culturas forrageiras
D	Culturas de cereais (com exceção do arroz), culturas sujeitas a processos industriais, culturas para a indústria têxtil, culturas para extração de óleos, florestas e relvados de difícil acesso

Para cada classe, foi definido um tratamento apropriado para a água de irrigação. Com exceção da classe D, todas as outras classes necessitavam de tratamento terciário. Em relação a valores limite, a norma apenas considerava dois parâmetros, sendo estes os coliformes fecais e os ovos de helmintas (Monte, 2014), pelo que não foram considerados PFCPs.

Quando a utilização de água residual tem como fim a irrigação de culturas, é fundamental compreender qual a eficiência de remoção de contaminantes a montante, na ETAR, de modo a perceber de que forma o solo poderá ser afetado por esta irrigação.

O tratamento primário e secundário são comuns numa ETAR, e o tratamento terciário tem ganho relevância, em particular quando se equaciona a reutilização da água (Ungureanu & Vladut, 2018). Geralmente o objetivo do tratamento terciário consiste na remoção de microrganismos patogénicos, a fim de proteger águas utilizadas para usos recreativos (Monte et al., 2016). Segundo Turtoi (2013), o objetivo consiste em remover vírus, bactérias e protozoários de modo a atingir valores referidos na legislação. A figura 2.2 descreve as etapas de tratamento em ETAR.

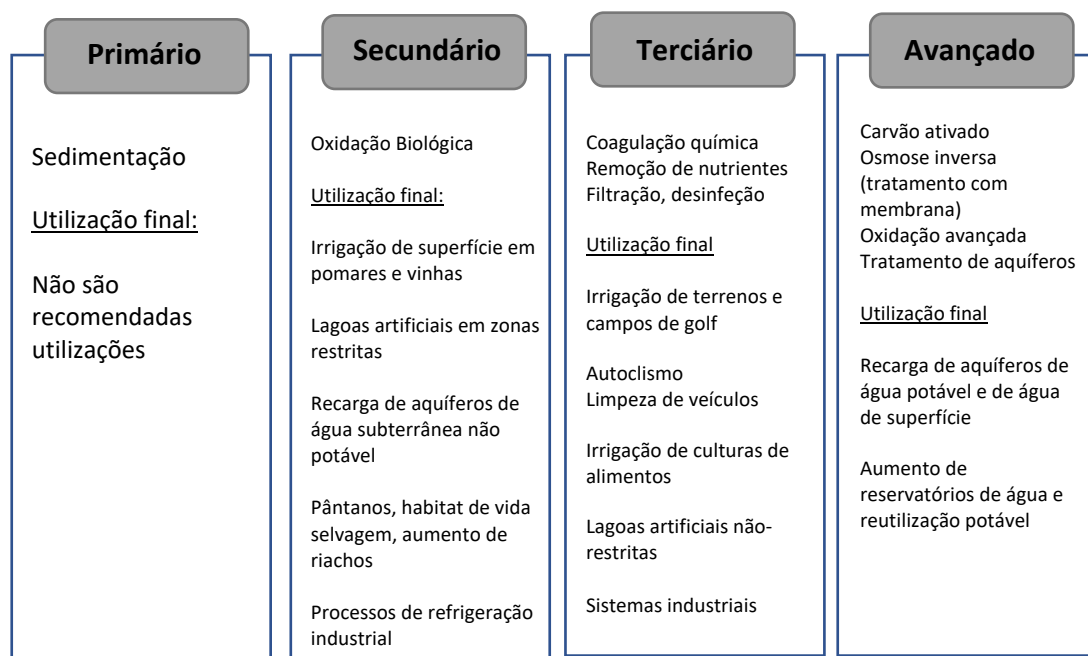


Figura 2.2 – Tipos e processos de tratamento em ETAR (Adaptado de: Ungureanu & Vladut, 2018).

Quando falamos de desinfecção de água residual, o processo usualmente associado é a aplicação de cloro e dos seus derivados, uma vez que, é eficiente e de baixo custo (Pei et al., 2019). Segundo a OMS, a utilização de cloro como desinfetante resulta na formação de subprodutos organohalogenados, nomeadamente trihalometanos. Dentro dos

trihalometanos, encontra-se o clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano e o bromofórmio. O tipo e a concentração de matéria orgânica são determinantes para a formação destes subprodutos, quando mais elevado for o teor de matéria orgânica, maior é a probabilidade da formação destes compostos (IRAR, 2007).

Gomes (2019) estudou a formação de trihalometanos durante a desinfecção de águas residuais com recurso a hipoclorito de sódio. Os resultados obtidos nos ensaios de cloração realizados permitiram comprovar que um aumento na concentração de cloro, provoca um aumento na formação de trihalometanos e no tempo de reação.

Em alguns estudos estes compostos estão relacionados com diferentes tipos de cancro, contudo, a organização informa que segundo a *International Agency for Research of Cancer* (IARC), estas correlações estatísticas são muito fracas. Mesmo assim, estes dados foram suficientes para que alguns países optassem por alternativas à desinfecção por cloro. Os derivados do cloro não são uma solução eficaz para este problema, uma vez que existem também estudos que concluem sobre a existência de riscos semelhantes associados a estes derivados (OMS, 1996).

A procura por uma alternativa ao cloro levou a que o tratamento por radiação ultravioleta (UV) se tenha tornado na opção mais comum (Pei et al., 2019). A preferência por este processo está associada à ausência de subprodutos nos efluentes e às suas características não corrosivas, no entanto, este método não está isento de desvantagens.

A aplicação de ozono no tratamento terciário em ETAR tem surgido como uma alternativa (de Wilt et al., 2018). De modo a aumentar a eficiência de tratamento, a ozonização pode ser combinada com outros processos, como por exemplo, processos biológicos. de Wilt *et al.* (2018) concluíram que estes dois métodos são complementares permitindo a remoção de compostos farmacêuticos de efluentes de ETAR com concentrações elevadas de carbono orgânico total (COT). O principal problema encontrado nesta opção de tratamento está relacionado com um aumento de 15% no custo do típico tratamento de água residual e de 25 a 38% nas exigências energéticas da ETAR.

Algumas das vantagens e desvantagens dos processos mencionados encontram-se resumidas na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 – Vantagens e desvantagens de processos utilizados no tratamento terciário..

Método	Vantagens	Desvantagens
<b>Cloragem</b>	<p>Eficiente na inativação de organismos patogénicos.</p> <p>Deixa residual na água que pode ser controlado.</p> <p>Possui um histórico de sucesso na otimização de tratamento.</p>	<p>Reage com compostos orgânicos e inorgânicos de origem natural produzindo subprodutos.</p> <p>Perigos associados à manutenção.</p> <p>Pode causar odor e sabor.</p>
<b>Radiação ultravioleta</b>	<p>Não deixa residual; Não há alterações físico-químicas na água.</p> <p>Fácil manutenção; Não ocorre corrosão; Tempos de contacto reduzidos.</p> <p>Eficiente na remoção de bactérias e em efluentes não nitrificados.</p> <p>Não causa sabor ou odor.</p>	<p>Investimento inicial de custo elevado.</p> <p>Sujidade no equipamento pode requerer um programa de manutenção.</p> <p>Remoção de vírus pouco eficaz; pode existir a necessidade de um desinfetante complementar.</p> <p>Para lâmpadas de baixa pressão num sistema otimizado abaixo da dose mínima de UV, podem existir problemas de foto-reatividade.</p> <p>Eficiência depende da qualidade da água a desinfetar; a monitorização da qualidade não é possível devido a ausência de residual.</p>
<b>Ozonização</b>	<p>Eficaz na desinfecção de bactérias vegetativas, vírus e <i>Giardia</i>.</p> <p>Remoção de odor e sabor indesejados.</p> <p>Oxidação seletiva de substâncias persistentes (químicos industriais, pesticidas...).</p> <p>Não é necessário transporte e armazenamento de reagentes químicos tóxicos.</p> <p>Baixa quantidade de subprodutos produzidos.</p> <p>Promove a coagulação.</p>	<p>Custo de investimento elevado.</p> <p>Custos de operação e manutenção relativamente elevados.</p> <p>Produção de carbono orgânico assimilável (risco de reaparecimento).</p> <p>A produção necessita de ser local.</p> <p>Produção de bromato na presença de brometo.</p> <p>Requer especialização por parte dos técnicos de manutenção.</p> <p>Corrosivo e tóxico; é necessário material apropriado e medidas de segurança.</p>

	Oxidação de ferro, manganês e sulfitos.	
	Tempos de contacto reduzidos.	

É, também, relevante referir o sistema MBR (*membrane bioreactor*), que consiste numa tecnologia que combina o tratamento biológico com processos de membranas. Pode ser utilizado como alternativa ao tratamento secundário convencional de lamas ativadas para a remoção de matéria orgânica, nutrientes e poluentes orgânicos persistentes. No entanto, a sua eficiência é significativamente reduzida quando ocorrem problemas a nível de colmatação de membranas, uma vez que resulta na redução da qualidade e quantidade de água e aumenta os custos de operação (Sari Erkan et al., 2020).

## 2.2. PFCPs

### 2.2.1. Contaminantes

Existem diferentes propriedades químicas que permitem caracterizar um contaminante. A solubilidade em água corresponde à capacidade da substância química se dissolver na água a uma temperatura específica (Herrmann & Bucksch, 2014). O pKa permite avaliar a força de um ácido e a sua solubilidade. Quanto menor o valor de pKa, maior a força do ácido e maior a sua solubilidade (Helmenstine, 2019). O coeficiente de partição octanol/água ( $K_{ow}$ ) permite avaliar a solubilidade de uma substância num solvente orgânico (octanol) ou em água. Quanto maior o valor de  $\text{Log } K_{ow}$ , maior a solubilidade (European Commission, 2018). Por último, o coeficiente de partição de carbono orgânico ( $\text{Log } K_{oc}$ ) é de extrema importância para sistemas solo/água pois avalia a mobilidade das substâncias no solo (Jagiello et al., 2014). As características e propriedades dos PFCPs em estudo, que são geralmente encontrados em águas residuais da zona Sudoeste da Europa, nomeadamente Portugal, Espanha e Sul de França são apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3- Propriedades físico-químicas de cada contaminante de preocupação emergente utilizado neste estudo (Fonte: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

Composto	CAS	Fórmula Química	Peso Molecular (g/mol)	Solubilidade em água (mg/L)	pKa	Log Kow	Log Koc
Oxibenzona (OXY)	131-57-7	$C_{14}H_{12}O_3$	228,25	69	8,07	3,79	2,98
Diclofenac (DCF)	15307-86-5	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	296,15	2,37	4,15	4,51	2,39
Triclosan (TCS)	3380-34-5	$C_{12}H_7Cl_3O_2$	289,54	10	7,90	4,76	3,38-4,20

Cafeína (CAF)	58-08-2	$C_8H_{10}N_4O_2$	194,19	$2,16 \times 10^4$	0,7/14,0	-0,07	2,87-3,89
Sulfametoxazole (SMX)	723-46-6	$C_{10}H_{11}N_3O_2S$	253,28	610	1,60	0,89	1,85
Carbamazepina (CBZ)	298-46-4	$C_{15}H_{12}N_2O$	236,27	17,7	13,9	2,45	2,71
Bisfenol A (BPA)	80-05-7	$C_{15}H_{16}O_2$	228,29	120	9,60	3,32	2,06-3,59
17 $\beta$ -estradiol (E2)	50-28-6	$C_{18}H_{24}O_2$	272,40	3,6	10,3	4,01	4,48
17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2)	57-63-6	$C_{20}H_{24}O_2$	296,41	11,3	10,3	3,67	2,71
Ibuprofeno (IBU)	15687-27-1	$C_{13}H_{18}O_2$	206,29	21	4,91	3,97	3,53

#### 2.2.1.1. Oxibenzona (OXY)

Devido à sua capacidade de absorver raios UV, a oxibenzona é um composto orgânico utilizado em protetores solares e produtos de cosmética. A sua absorção é feita via transdérmica e a excreção ocorre através da urina, o que constitui uma via de entrada do composto na água residual (DrugBank, 2020g).

Atualmente, as concentrações observadas para este composto no solo são inferiores às reportadas para água residual, no entanto, a oxibenzona é um composto lipofílico, o que promove a sua acumulação em lamas e organismos, como as plantas, o que pode estimular a sorção do contaminante pelas partículas do solo, representando, desta forma, uma tendência para o aumento das concentrações observadas no solo (Zhong et al., 2020).

#### 2.2.1.2. Diclofenac (DCF)

Diclofenac é um derivado do ácido fenilacético e pertence à classe dos anti-inflamatórios não esteróides. É administrado, geralmente, como tratamento para dores agudas causadas por inflamação devido a cirurgia ou trauma físico, ou dores crónicas associadas a condições como artrite reumatóide ou artrose (DrugBank, 2020c). Ikehata *et al.* (2006) observaram que este composto é extremamente reativo em relação à molécula de ozono e, por este motivo, a ozonização permite a sua degradação.

Al-Rajab *et al.* (2010) reportaram que o diclofenac estava sujeito a biodegradação aeróbia no solo. Contudo, a sua taxa de dissipação diminuía para um solo saturado ou para uma temperatura mais baixa. Para ambas as texturas de solo analisadas no estudo (solo argiloso e solo arenoso), foi verificada a remediação de diclofenac, não excluindo a hipótese



de contaminação de águas subterrâneas ou superficiais adjacentes se o escoamento superficial ou o fluxo preferencial não forem controlados.

#### 2.2.1.3. Triclosan (TCS)

O triclosan é um fenol que apresenta diversas utilizações. As suas propriedades permitem que seja utilizado como antimicrobiano e para conservação. Exemplos da sua aplicação são: sabonetes, pasta de dentes, desodorizantes, equipamento desportivo e calçado. Este composto é absorvido pela pele e apresenta um rápido metabolismo e excreção (DrugBank, 2020i). À semelhança do que ocorre com os restantes PFCPs em estudo, o triclosan não é removido de forma eficaz no tratamento em ETAR, podendo chegar ao solo e, devido à sua natureza recalcitrante, permanecer neste meio e ser adsorvido pelas plantas. Quando comparado com outros contaminantes, o triclosan demonstrou uma alta capacidade para ser bioacumulado por raízes de plantas (Thelusmond et al., 2019).

#### 2.2.1.4. Cafeína (CAF)

A cafeína é um estimulante do sistema nervoso central, no entanto, o seu mecanismo é complexo e pode afetar a ação das células, o sistema respiratório, o sistema renal e o sistema cardiovascular. É indicada para o tratamento de apneia e displasia broncopulmonar em recém-nascidos. Por ser um estimulante do sistema nervoso, pode ser encontrado na composição de suplementos energéticos e outros produtos associados à prática de desporto. Também pode ser encontrada em analgésicos (DrugBank, 2020a).

A cafeína é absorvida por via oral ou através de injeção e é solúvel em água. O seu metabolismo ocorre principalmente no fígado, pelo que os seus metabolitos estão presentes predominantemente na urina (DrugBank, 2020a).

Ao realizar uma revisão sobre a contaminação de PFCPs nos em ecossistemas Chineses, Liu & Wong (2013) concluíram que a cafeína pode ser removida eficientemente em ETAR quando são utilizados mecanismos de adsorção e biorremediação.

#### 2.2.1.5. Sulfametoxazole (SMX)

O sulfametoxazole é um antibiótico bacteriostático que interfere na síntese de ácido fólico, geralmente administrado com trimetoprima. Desta forma, a combinação destes dois compostos permite o tratamento de infeções bacterianas, como as infeções urinárias, respiratórias e gastrointestinais. É um composto de rápida absorção por via de administração oral e excretado através da urina, onde é possível obter cerca de 30% de sulfametoxazole livre (DrugBank, 2020h).

Estudos realizados na Austrália reportaram seis classes de antibióticos presentes no efluente de uma ETAR, entre eles o sulfametoxazole, e a resistência de 2 duas estripes de bactérias existentes no meio recetor aumentava após a descarga do efluente (Ebele et al., 2017). Alguns estudos verificaram que este composto não é facilmente biodegradável e pode sofrer biotransformação quando é irrigado e recebe radiação solar, em matriz aquosa ou no solo (Liu et al., 2010).

#### 2.2.1.6. Carbamazepina (CBZ)

A carbamazepina é um anticonvulsivo e analgésico utilizado no controlo dos sintomas de epilepsia, nevralgia do trigémio, doença bipolar e outros problemas psiquiátricos. Da totalidade ingerida, 72% é excretada na urina (DrugBank, 2020b).

#### 2.2.1.7. Bisfenol A (BPA)

O bisfenol A é um composto orgânico utilizado no fabrico de plásticos e aditivos. A sua solubilidade em água é moderada e pode ser consumido pelo ser humano através de processos de lixiviação em garrafas de plástico ou ao revestimento de coletores de água. Não é volátil quando se encontra em água ou no solo, onde pode ser degradado através de radiação solar (PubChem, 2020).

Se as condições forem anaeróbias, este composto pode não ser biodegradável. Estudos reportam que em ambiente natural, cerca de 78 a 99,3% de BPA pode ser fixado ao solo. A persistência deste contaminante no ambiente pode estar associada ao seu baixo  $K_{ow}$  (Viecelli et al., 2014).

#### 2.2.1.8. 17 $\beta$ -estradiol (E2)

O 17 $\beta$ -estradiol (estradiol) é uma hormona que é produzida naturalmente pelo organismo. Existem diversas formas de administração e é usualmente utilizada para terapia hormonal relacionada com a carência de estrogénio, efeitos da menopausa e hipertireoidismo (DrugBank, 2020d).

Ao entrar em contacto com o solo, o estradiol pode sofrer imobilização e mineralização por parte de microrganismos, transformação abiótica, sorção à fase sólida, assimilação por parte das plantas, lixiviação e escoamento (Lucas & Jones, 2006).

#### 2.2.1.9. 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2)

O 17 $\alpha$ -etinilestradiol (etinilestradiol) é uma hormona sintética criada com o objetivo de gerar estrogénio com maior biodisponibilidade. Combinado com outros compostos, é

utilizado em métodos contraceptivos e outros problemas relacionados com o ciclo menstrual feminino (DrugBank, 2020e).

#### 2.2.1.10. Ibuprofeno (IBU)

O ibuprofeno é um anti-inflamatório não esteroide. É o fármaco, não sujeito a receita médica, mais utilizado como analgésico, anti-inflamatório e antipirético (DrugBank, 2020f).

Este fármaco pode movimentar-se em profundidade no solo, uma vez que a sua sorção ao solo é reduzida. Este comportamento pode resultar na contaminação de águas subterrâneas, dependendo da textura e de outras propriedades físico-químicas do solo (González-Naranjo et al., 2013).

#### 2.2.2. Comportamento de PFCs no solo

A entrada de PFCs no solo pode ser consequência da aplicação de fertilizantes provenientes de lamas ou da irrigação com água contaminada (Carter et al., 2016). De modo a compreender o comportamento dos contaminantes no solo, é essencial identificar quais os mecanismos responsáveis pela sua degradação.

De acordo com Sui *et al.* (2015), existem registos de que a atenuação natural do solo permite reduzir os PFCs presentes no solo, no entanto, não é suficiente para impedir que os contaminantes alcancem águas subterrâneas e superficiais, . A sorção é um processo fundamental para perceber o comportamento dos contaminantes no solo e é afetada pelas suas propriedades físico-químicas, nomeadamente, o pH, o teor em matéria orgânica, a capacidade de troca de iões e a textura (Hu et al., 2019). Uma vez que a mobilidade dos contaminantes no solo é afetada pela sua capacidade de sorção, é importante determinar de que modo estes parâmetros aumentam ou diminuem esta capacidade por forma a obter informação relevante para aperfeiçoar a redução e remediação de contaminação por PFCs no solo ( Xu et al., 2021).

O movimento de PFCs no solo, assim como a absorção por parte das plantas e a sua biodisponibilidade, também é afetado pelas propriedades físico-químicas dos contaminantes. Se o contaminante for fortemente sorvido, o seu movimento no solo será menor e, conseqüentemente, o seu potencial para ser lixiviado é reduzido. Pelo contrário, se apresentar uma fraca sorção, poderá, por exemplo, sofrer movimento descendente no solo. O potencial dos contaminantes para serem adsorvidos está relacionado com os seus parâmetros físico-químicos, nomeadamente, a sua estrutura molecular, a solubilidade em água e a sua hidrofobicidade (Sui et al., 2015).

Ao avaliar o potencial do antibiótico SMX para ser mobilizado em solo natural, utilizando solos com propriedades físico-químicas distintas, Archundia *et al.* (2019) concluíram que, devido às suas características moleculares, o SMX possui uma mobilidade média a elevada no solo, o que aumenta a possibilidade deste composto ser lixiviado e atingir águas superficiais e subterrâneas. Contudo, a mobilidade deste composto varia com a textura do solo, pH e teor em matéria orgânica. Os resultados obtidos permitiram concluir que num Regossolo, textura grosseira, com elevado teor em matéria orgânica, a SMX sofre maior retenção devido ao alto teor em carbono e pH ácido e, conseqüentemente, possui menor mobilidade. A migração de SMX para as camadas inferiores pode ocorrer em maior quantidade devido à macroporosidade, onde circula a água gravitacional, criando caminhos preferenciais para a água.

Em relação ao Cambissolo utilizado, este apresentou uma mobilidade de SMX elevada e uma capacidade de retenção reduzida associada à sua textura e teor em matéria orgânica. Adicionalmente, o estudo também concluiu que a presença de íões metálicos afeta a retenção de SMX no solo, assim como o seu transporte.

Ao avaliar a sorção, fotodegradação e transformação química do ibuprofeno, Vulava *et al.* (2016) concluíram que sua sorção era mais elevada em solos com maior teor em matéria orgânica do que em solos argilosos ou solos ricos em ferro, no entanto, a sorção neste tipo de solos continua a ser significativa.

A degradação e adsorção de seis PFCs, entre os quais, o triclosan, bisfenol A, diclofenac e ibuprofeno em solos agrícolas foi estudada por Xu *et al.* (2009). Os ensaios realizados permitiram concluir sobre uma maior capacidade de adsorção em solos ricos em matéria orgânica (ricos em coloides húmicos). Os investigadores concluíram que o ibuprofeno apresentava um tempo de retenção reduzido, acompanhando a percolação da água em profundidade, enquanto que o triclosan e o bisfenol A ficavam retidos no solo. Relativamente à degradação dos compostos, a matéria orgânica e compostos argilosos presentes no solo diminuam a taxa de degradação.

Um dos principais processos de atenuação natural do solo, a par da sorção, é a biodegradação. Este mecanismo consiste na capacidade que a comunidade microbiana presente no solo tem para degradar compostos orgânicos em moléculas mais simples (Nezha *et al.*, 2013).

Um estudo de cinética elaborado por Martínez-Hernández *et al.* (2016) teve como um dos seus objetivos determinar qual o papel da sorção e da biodegradação na diminuição da

concentração de cinco PFCPs num solo argilo-arenoso. Os ensaios realizados tiveram uma duração de 12 dias (288 horas), tendo sido concluído que nas primeiras 48 h de contacto entre o solo e os contaminantes, a sorção era o principal mecanismo a atuar. Após esse período, a biodegradação foi o principal processo responsável pela remoção dos compostos em estudo.

Topp *et al.* (2006) investigaram o comportamento da cafeína em três tipos de solos destinados à agricultura para verificar a possibilidade de esta funcionar como marcador para a contaminação do efluente utilizado na irrigação. No decorrer da investigação foi possível concluir que a cafeína pode ser biodegradável no solo, no entanto, a capacidade de degradação depende da sua cinética e das propriedades do solo, nomeadamente, textura, temperatura e humidade.

O estudo da biodegradação de PFCPs é particularmente relevante quando aplicado a antibióticos, pois estes compostos têm a capacidade de alterar a atividade e composição da comunidade microbiana presente no solo, podendo resultar no desenvolvimento de resistência a estes compostos por parte dos microrganismos (Zhi *et al.*, 2019).

Zhi *et al.* (2019) investigaram os processos de biodegradação de antibióticos no solo e reportaram que este processo é afetado pela temperatura e pH do solo, sendo que para obter uma taxa mais elevada de atividade microbiana, o pH do solo deve estar entre 6,5-8,5 e a temperatura entre 25-45 °C.

Ao explorar a taxa de biodegradação para ambientes contaminados com anti-inflamatórios não esteróides em solo agrícola esterilizado e não esterilizado, ao qual foram adicionadas lamas de ETAR como fertilizante, Shu *et al.* (2020) concluíram que, independentemente da esterilização do solo e da adição ou não de fertilizante biológico, a biodegradação foi o principal mecanismo de remoção de contaminantes.

A estrutura química dos contaminantes também vai determinar a facilidade que estes têm para serem degradados. A presença de halogéneos na composição dos contaminantes é um fator que dificulta a sua degradação, sendo este o caso do triclosan que possui três cloros na sua estrutura, e do diclofenac que possui dois (Guedes *et al.*, 2020).

Os riscos para o ambiente e saúde pública que os PFCPs representam são suficientes para justificar a necessidade da sua remoção. No entanto, como destacam Yin *et al.* (2017), estes compostos possuem características físico-químicas complexas que podem levar à formação de subprodutos. À data de 2017, nove subprodutos da carbamazepina foram

detetados em ETARs e 13 subprodutos de diclofenac foram encontrados em ambiente natural (Yin et al., 2017).

### 2.3. Processo eletrocinético

O processo eletrocinético (EK) consiste na aplicação de uma corrente de baixa intensidade, utilizando par(es) de eléctrodos (ânodo e cátodo), diretamente inseridos numa matriz sólida ou líquida. A corrente aplicada provoca a eletrólise da água, que dá origem ao ião hidrogénio ( $H^+$ ) e ao ião hidróxido ( $OH^-$ ), que migram para o eléctrodo de carga oposta. A aplicação deste processo no solo, promove a mobilização e transporte de contaminantes que podem, posteriormente, ser removidos do meio (Cameselle & Gouveia, 2018; Gill et al., 2014).

Os métodos de biorremediação e o processo de biodegradação possuem várias limitações. No caso da biorremediação, é necessário criar condições ambientais específicas e favoráveis para desencadear os processos bioquímicos essenciais à biorremediação e a interação entre microrganismos, contaminantes e nutrientes. Por outro lado, a biodegradação está dependente da biodisponibilidade de contaminantes no meio. Ao aplicar o processo EK em conjunto com a biorremediação, estas limitações podem ser superadas (Gill et al., 2014).

O transporte de contaminantes provocado pela aplicação de corrente pode ocorrer por diferentes mecanismos apresentados na Figura 2.3. Acar *et al.* (1993); Cameselle *et al.* (2013); Reddy *et al.* (2009), enumeraram os seguintes:

- Eletromigração: Transporte de iões na solução do solo em direção ao eléctrodo de carga oposta (movimento de catiões para o cátodo e aniões para o ânodo).
- Electrosmose: Fluxo de água ou fluido intersticial induzido pelo campo elétrico. Depende das características elétricas e propriedades da superfície sólida e dos componentes em solução. As partículas sólidas têm, geralmente, carga negativa, pelo que o fluxo se move em direção ao cátodo.
- Eletroforese: Transporte de partículas coloidais e contaminantes devido à aplicação de uma corrente contínua. O transporte de massa por via deste mecanismo é muito reduzido em solos de baixa permeabilidade.

- Difusão: Transporte de massa provocado por um gradiente de concentração. Para a aplicação de EK, a difusão ocorre de forma muito reduzida, como consequência dos gradientes de concentração gerados pelos processos de eletromigração e eletrosmose.

Os principais mecanismos a atuar na biorremediação com EK no solo são a eletromigração e a eletrosmose (Gill et al., 2014). A estimulação destes processos por aplicação de corrente elétrica não excluem a ocorrência de biodegradação dos contaminantes (Ferreira et al., 2020).

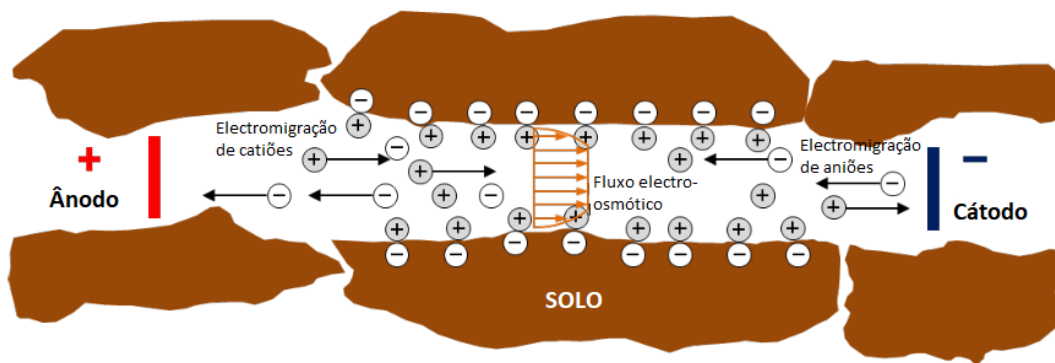


Figura 2.3 - Mecanismos de transporte por remediação eletrocinética (Adaptado de: Cameselle et al., 2013; Acar et al., 1993).

Tendo por base a teoria em que assenta o processo eletrocinético, e adicionando a utilização de membranas de troca iónica, falamos de processo eletrodialítico. A membrana permite a passagem seletiva de cátions ou aniões ou devido à sua constituição, isto é, uma membrana de troca catiónica permite a passagem de cátions, enquanto que para a passagem de aniões é utilizada uma membrana de troca aniónica. Este processo permite diferentes configurações de células electrodialíticas, com dois ou mais compartimentos (Guedes et al., 2016).

Ferreira et al. (2017) concluíram que o processo eletrocinético e eletrodialítico, juntamente com o tipo de célula utilizada, permite a remoção de 44% a 100% de PFCPs, nomeadamente, bisfenol A, 17 $\alpha$ -etinilestradiol e oxibenzona. Se o processo eletrocinético for suficiente para remover PFCPs no solo é preferível optar por este tratamento, pois o processo eletrodialítico, apresenta uma estimativa de custos mais elevada associada a colmatação e manutenção das membranas que, no caso do solo, seria um problema recorrente.

Guedes *et al.* (2019) utilizaram o processo eletrocinético para verificar quais os efeitos deste sistema na mobilização e degradação de contaminantes emergentes, permitindo avaliar quais os efeitos desta tecnologia nas propriedades físico-químicas do solo. Para tal, foi utilizado um solo argiloso, com elevado teor de colóides minerais e de orgânicos e aplicadas diferentes intensidades de corrente. Adicionalmente, foi aplicada uma corrente de 10 mA com um interruptor ON/OFF, de modo a obter tempos iguais de aplicação de corrente e de repouso. Para o último caso, foram obtidos os melhores resultados, sendo possível verificar a remoção de todos os contaminantes quando aplicado um período de 12 h para o interruptor. As alterações nos parâmetros físico-químicos do solo não foram significativas, fomentando a ideia de que o processo poderá ser aplicado *in-situ*.

Quando o efluente tratado é aplicado ao solo, deve existir uma monitorização das suas características de forma a avaliar os possíveis efeitos a longo prazo. Estudos realizados por Abd-Elwahed (2019) tiveram como objetivo avaliar estes efeitos na zona de Bahr el-Baqar no Egito. O estudo concluiu que apesar do enriquecimento do solo em termos de nutrientes e matéria orgânica, ocorria a acumulação de substâncias tóxicas como metais pesados. Também foram expostas preocupações em relação aos níveis mais elevados de salinidade do solo.

Para estudar o papel do processo eletrocinético na degradação de PFCs, o procedimento deve ser primeiro efetuado em laboratório, onde as concentrações de cada contaminante podem ser aumentadas em relação às concentrações ambientais. Esta dopagem permite acompanhar o processo de degradação.

## 2.5. Técnicas analíticas

### 2.5.1. Cromatografia Líquida de alta eficiência (HPLC)

A cromatografia é uma técnica de separação de misturas, com base nas suas propriedades moleculares, que possibilita a sua análise quantitativa e qualitativa. A base do método assenta na existência de uma fase estacionária e uma fase móvel. As moléculas que compõem a mistura possuem diferenças a nível da adsorção (líquido-sólido), partição (líquido-sólido), afinidade e peso molecular. A diferença nestas propriedades faz com que algumas moléculas permaneçam na fase estacionária mais tempo do que outras, isto é, a velocidade a que se movem no sistema é menor, enquanto que outras passam para a fase móvel muito rapidamente (Coskun, 2016).



Entre as diferentes técnicas de cromatografia, um dos métodos mais versáteis, rápidos e seguros para o controlo de PFCPs é a cromatografia líquida de alta eficiência ou HPCL (*High Performance Liquid Chromatography*) (Ravi Sankar et al., 2020).

O funcionamento deste método consiste na utilização de pequenas partículas e na aplicação de alta pressão no fluxo do eluente, de modo a promover a separação e a finalização da análise em tempo reduzido. Para tal, o material necessário consiste num depósito para o eluente, uma bomba de alta pressão, uma coluna de separação, um detetor e um sistema computadorizado que permita captar e transcrever a informação (Coskun, 2016).

Neste caso, o HPLC permite determinar a concentração dos PFCPs em estudo, permitindo avaliar a eficiência do tratamento aplicado e (em alguns casos) a existência de novos produtos ou subprodutos dessa degradação, através da formação de novos picos. O tempo que a amostra demora a atravessar a coluna na sua totalidade denomina-se tempo de retenção e varia de acordo com a substância analisada.

O mecanismo do sistema HPLC consiste numa fase de separação e uma fase de deteção. Inicialmente, a mistura em análise é injetada na coluna por ação da bomba de alta pressão. Nesta fase, ocorre a separação de compostos que serão posteriormente encaminhados para os detetores em série de arranjo de díodos (DAD) e de fluorescência (FLD), permitindo analisar a área e o tempo de retenção para cada pico observado, que corresponde a uma substância diferente (Silva, 2018). A figura 2.5 ilustra um modelo de um sistema de HPLC.

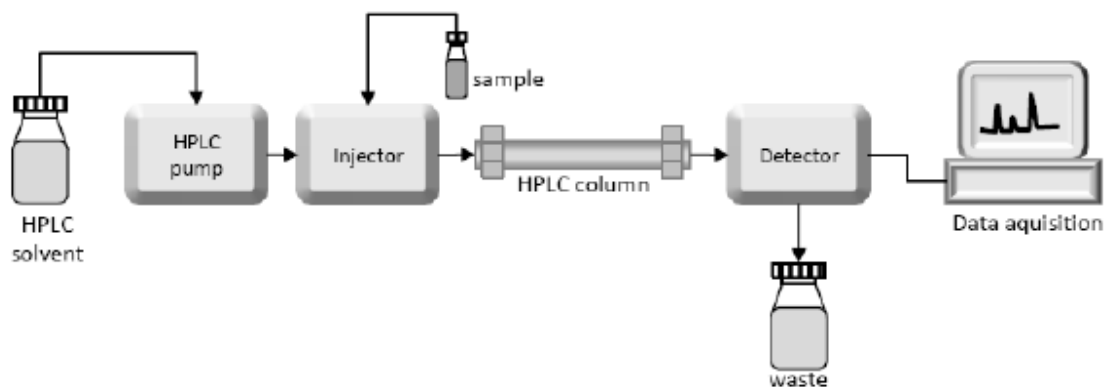


Figura 2.4 - Esquema de um sistema de HPLC (Fonte: LaboratoryInfo, 2020)

### 2.5.2. QuEChERS

Anastassiades *et al.* (2003) desenvolveram, em 2003, uma metodologia que denominaram de *QuEChERS* (*Quik, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), traduzido por “Rápido, Fácil, Barato, Robusto e Seguro”. Apesar de ter sido inicialmente desenvolvida com o objetivo de determinar a presença de pesticidas em fruta e vegetais, esta metodologia tem vindo a ser utilizada com eficácia na análise de xenobióticos, assim como de outros contaminantes com níveis de recuperação superiores aos de outros métodos (Garcia & Gotah, 2017). Este método baseia-se na extração de uma amostra à qual se adiciona acetonitrilo e posteriormente sulfato de magnésio ou cloreto de sódio, de modo a promover a separação sólido-líquido. Seguidamente, ocorre uma fase de centrifugação de modo a obter um sobrenadante contendo os analitos que se pretendem analisar (Anastassiades *et al.*, 2003; Silva, 2018).

As conclusões obtidas por Anastassiades *et al.* (2003) relativamente ao método, foram as seguintes:

- Rápido (8 amostras em menos de 30 minutos)
- Simples (sem etapas complexas, reduz a possibilidade de erro)
- Barato (cerca de 1€ por amostra para a preparação de amostras)
- Consumo reduzido de solvente (10 mL de acetonitrilo)
- Não necessita de material em vidro em grande quantidade
- Gama de pesticidas variados (polares, compostos dependentes do pH)
- Extrato em acetonitrilo (cromatografia líquida e gasosa)

Quando associado a análise HPLC, o método de *QuEChERS* promove o aumento da eficiência na quantificação de compostos pois a separação entre a fase sólida e a fase orgânica permite uma diminuição na presença de compostos interferentes.



### 3. Materiais e métodos

#### 3.1. Amostra de solo

A amostra de solo argiloso utilizada foi recolhida em outubro de 2017, sendo proveniente de uma cultura biológica de tomate localizada em São Nicolau, Santarém, Portugal (39°12'42.6"N 8°42'41.5"W).

A amostragem foi realizada entre os 0-15 cm de profundidade, utilizando equipamento apropriado, nomeadamente, uma picareta e uma pá de aço inoxidável, seguindo métodos padronizados (Lopes, 2018), de modo a obter uma amostra representativa. De modo a garantir a ausência de elementos grosseiros, raízes e restos de tomate, foi realizada uma remoção manual dos mesmos antes da recolha da amostra. A amostra de solo foi encaminhada para o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., UEIS Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, Ambiente e Recursos Naturais, ex. Estação Agronómica Nacional (Solos). Aí foi seca ao ar, ao abrigo da radiação solar direta, e sujeita a uma crivagem por peneira N.10 IS de 2.0 mm, de modo a separar os elementos grosseiras da terra fina. A amostra de terra fina homogeneizada foi caracterizada, segundo os procedimentos padrão utilizados na Instituição.

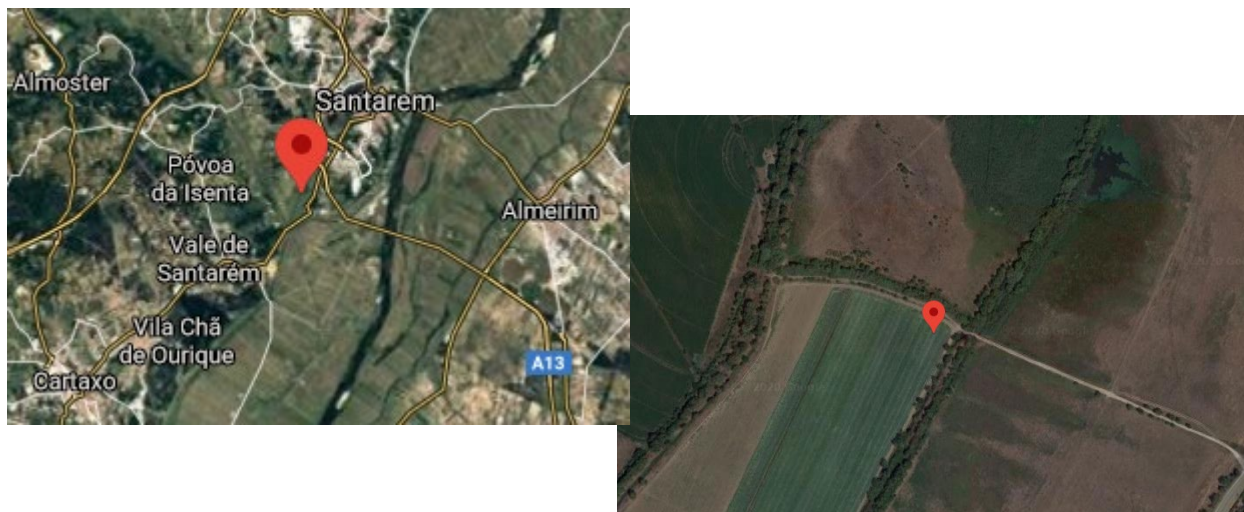


Figura 3.1 - Localização da zona de recolha da amostra (39°12'42.6"N 8°42'41.5"W: Google Maps, 2020)

#### 3.2. Solventes e reagentes

Os compostos orgânicos foram adquiridos à Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha). Os compostos utilizados foram, nomeadamente, CAF ( $\geq 97\%$ ), BPA ( $\geq 99\%$ ), E2 ( $\geq 97\%$ ), EE2 ( $\geq 98\%$ ), SMX (padrão analítico), CBZ ( $\geq 99\%$ ), TCS ( $\geq 97\%$ ), OXY ( $\geq 98\%$ ), IBU (Traceable to USP

PI Eur, BP) e DCF ( $\geq 97\%$ ). Os solventes utilizados são provenientes da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha), Panreac (Barcelona, Espanha) e Merck (Darmstadt, Alemanha). O metanol (MeOH), o acetonitrilo (ACN), a acetona (ACE) e a água foram fornecidos pelo HPLC Gradient Grade, das marcas Honeywell, Carlo Erba (USA) e Panreac, respetivamente. A água desionizada utilizada foi purificada com um sistema Milli-Q plus da Millipore (Bedford, MA, EUA). O meio de cultura para a análise microbiológica foi adquirido na Biolife e consiste em meio de dextrose batata.

Todos os resíduos provenientes da utilização de solventes e reagentes foram descartados de acordo com as regras da FCT NOVA.

### 3.3. Delineamento experimental

Em todas as experiências realizadas o solo foi colocado em recipientes retangulares de acrílico (100 x 50 x 70 mm). Quando a experiência requeria corrente elétrica, eram introduzidos dois elétrodos na forma de malhas de MMO (*mixed metal oxide*; óxidos de metais misto), de acordo com a Figura 3.2. De forma a fornecer uma corrente direta, os elétrodos foram ligados a uma fonte de alimentação (Hewlett Packard E3612A, Palo Alto, EUA). Na Figura 3.3. estão representados dois reatores com aplicação de corrente e dois reatores de controlo (sem aplicação de corrente). A figura 3.4 representa a duração de cada ensaio, tendo em conta os períodos de aplicação de corrente e os períodos de repouso, assim como, o controlo.

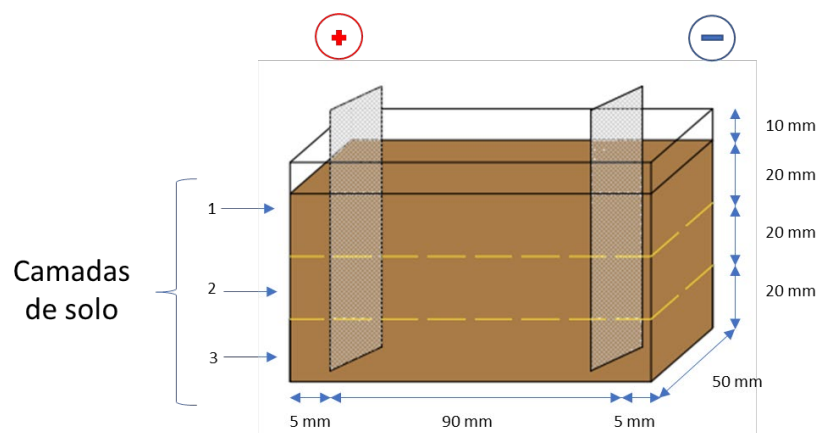


Figura 3.2 - Esquema da célula electrocinética utilizada, contendo solo e elétrodos



Figura 3.3 - Configuração da experiência (controle (1) e aplicação de corrente (2))

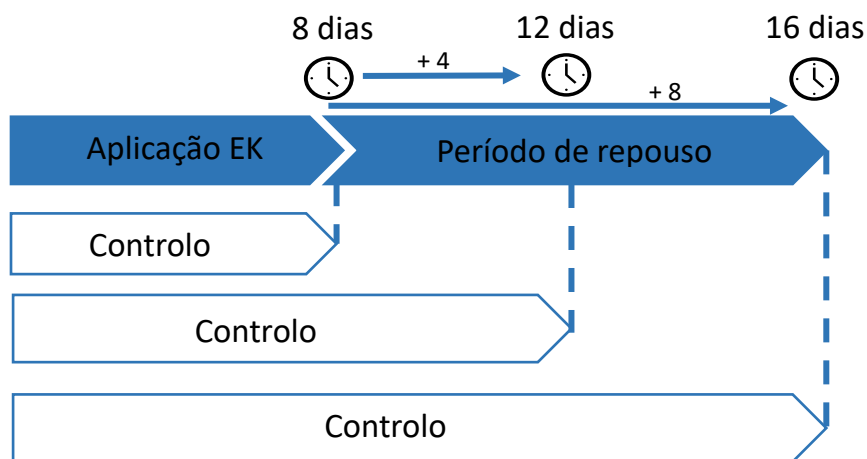


Figura 3.4 - Esquema da aplicação do tratamento EK, período de repouso e controlo para os três ensaios.

De forma a obter o meio ideal para a realização das experiências, foram sobrepostas 3 camadas em cada recipiente, sem separação física, cada uma com 115 g de solo num total de 345 g em peso seco. As duas camadas inferiores foram regadas com 25 mL de água desionizada enquanto que a camada superior foi regada com 25 mL da solução de dopagem, de modo a que a concentração de PFCs na camada superior do solo fosse aproximadamente de 10 mg/kg m.s. de cada contaminante.

No decorrer das experiências foram monitorizados três parâmetros, a corrente, a voltagem e a temperatura a cada dois dias, tendo-se também procedido à rega do solo com 25 mL de água desionizada. O material utilizado durante as medições foi previamente desinfetado com etanol (70%).

Cada uma das experiências foi realizada em duplicado, mantida à temperatura ambiente e protegida da radiação solar. A intensidade de corrente aplicada na experiência “EK-8d” e “EK-16d” foi constante, com o valor de 20 mA. No final, por forma a analisar especificamente cada camada, a amostra foi dividida em seis seções, tal como exemplificado na Figura 3.5. A divisão intermédia vertical separa as camadas de solo do ânodo e do cátodo. Horizontalmente, encontram-se as camadas 1, 2 e 3 previamente representadas na Figura 3.2. As amostras foram posteriormente analisadas para o teor de contaminantes, humidade, pH, condutividade e unidades formadoras de colónias (UFCs apenas na camada 1).

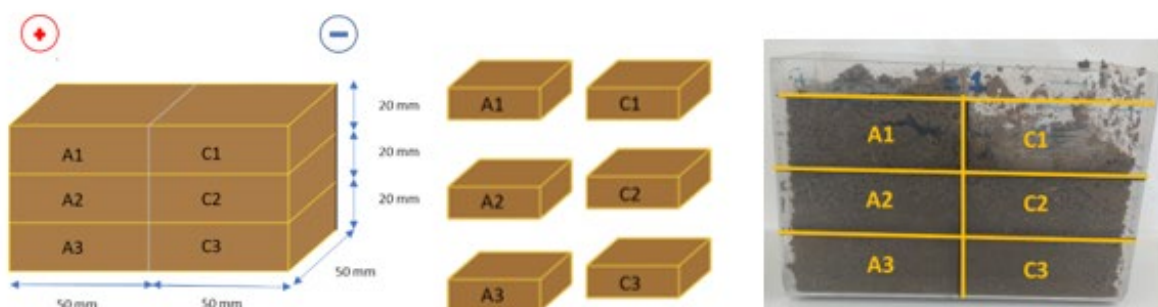


Figura 3.5 - Representação das diferentes camadas delimitadas

### 3.4. Métodos analíticos

#### 3.4.1. Parâmetros físico-químicos

##### 3.4.1.1. Temperatura

A medição da temperatura foi efetuada com recurso a um termómetro digital previamente desinfetado com etanol (70%).

##### 3.4.1.2. Teor de humidade

Para o cálculo do teor da humidade é utilizada a equação 3.1. tendo em conta a massa húmida e seca (105 °C) que foi pesada no decorrer da experiência:

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{\text{massa de solo húmido (g)} - \text{massa de solo seco (g)}}{\text{massa de solo seco (g)}} \times 100 \quad (3.1)$$

### 3.4.1.3. pH e condutividade

Em todos os ensaios realizados, foram recolhidos 5 g de solo seco para Falcons de 50 mL e adicionada água desionizada na proporção 1:2 (massa:volume). As amostras foram agitadas durante 1 h a 100 rpm, e sujeitas à medição de pH e condutividade. Para tal, foram utilizados um medidor de pH (*Hanna Edge*) e um medidor de condutividade (*Thermo Scientific Orion 4 Star*).

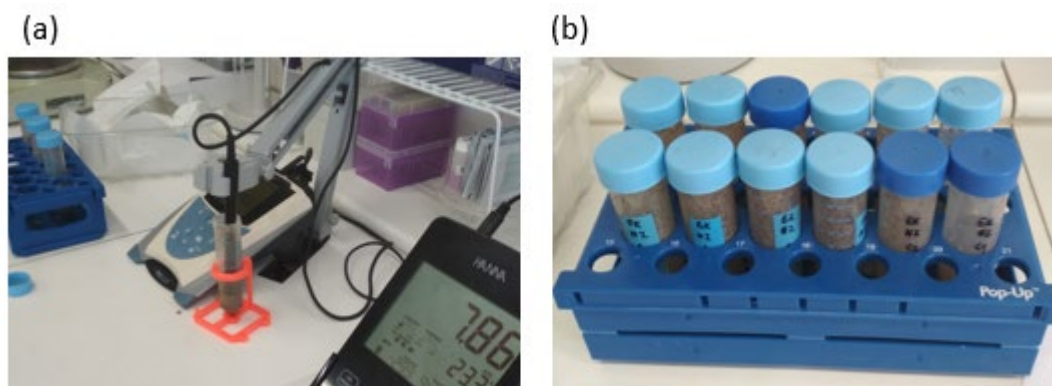


Figura 3.6 - Medição de pH (a); Amostras em Falcons de 50mL após agitação (b).

### 3.4.2. Extração de contaminantes

#### 3.4.2.1. Testes de QuEChERS para otimização

Os testes de otimização para QuEChERS tiveram como principal foco o aumento da taxa de recuperação para cada contaminante. Os parâmetros testados encontram-se representados na Figura 3.7.

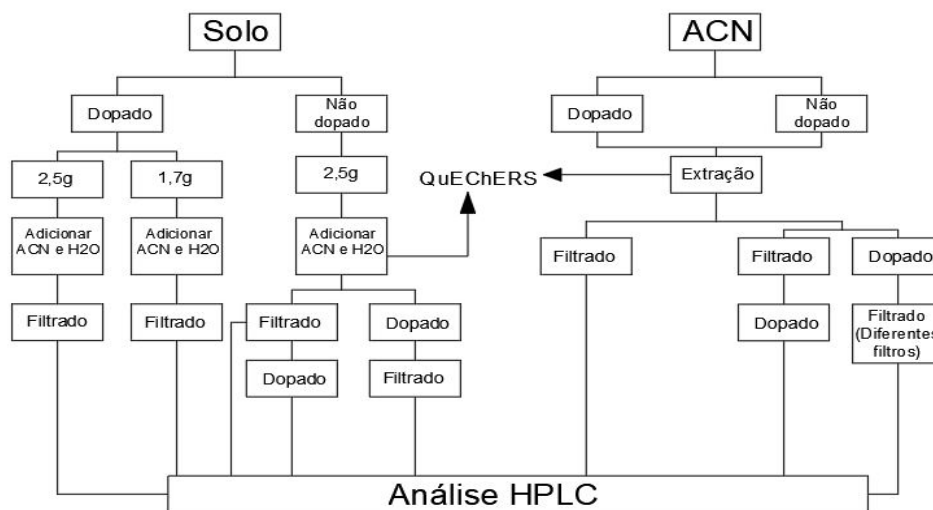


Figura 3.7 - Diagrama de processo dos testes de otimização realizados



#### 3.4.2.1.1. Teste da influência do solo e da massa extraída

De modo a verificar a recuperação e a influência do solo na extração e análise dos PFCs, foram inicialmente realizados testes com o solo em estudo não dopado, dopado e solo estéril dopado. Para tal, foram pesados 18,4 g de solo tendo este sido adicionados 4 mL de uma solução de dopagem (H<sub>2</sub>O:ACE; 5:2, V:V) com aprox 50 ppm (aprox. 10 mg/kg m.s. de cada PPCP no solo).

Foi testado o efeito de diferentes massas de solo na extração, tendo-se utilizado esferas de vidro em substituição do solo e a extração sem solo como controlos (Tabela 3.1).

Posteriormente realizou-se a extração por QuEChERS (método descrito na seção 2.5.2.). Para cada teste foram efetuadas duas réplicas.

Tabela 3.1 - Quantidade de solo extraído (g) para cada teste.

	Massa de solo extraído (g)
Solo não dopado	2,5
Solo dopado	2,5
	1,7
Solo estéril dopado	2,5
Esferas de vidro	2,5
ACN	-

Relativamente ao solo não dopado, foram realizados dois processos para se verificar o efeito matriz na análise por HPLC, ambos com duas réplicas:

- I. O solo não dopado foi filtrado e seguidamente foi dopado.
- II. O solo foi dopado e seguidamente filtrado.

Posteriormente, foi realizada a análise por HPLC.

#### 3.4.2.1.2. Influência da quantidade de massa de solo dopada

Para avaliar a influência da massa de solo dopada, foram feitos 3 testes com diferentes massas de solo a serem dopadas: 57,5 g, 86,25 g e 115 g.

Os solos foram irrigados com a solução de dopagem (H<sub>2</sub>O:ACE; 5:2, V/V) com aproximadamente 50 ppm na proporção de 4,6:1 m:V, i.e., 12,5; 18,75; e 25 mL, de modo a perfazer a concentração final no solo de 10 ppm.

Para a solução de dopagem das restantes amostras, foi utilizado um balão volumétrico de 50 mL preenchido até meio com H<sub>2</sub>O (tipo II). Adicionou-se, de seguida, 312 µL de solução 8000 ppm e 10 mL de ACE. Por último, perpez-se o volume do balão com água desionizada, até aos 50 mL.

Após todas as amostras estarem dopadas, foram extraídas 4 réplicas com 2,5 g de solo a partir de cada amostra para a realização do método de *QuEChERS*, ficando com um total de 12 réplicas.

#### 3.4.2.1.3. Influência do tipo de Filtro

Os testes realizados ao tipo de filtro basearam-se na utilização de filtros de três composições distintas:

- Filtro A (PTFE)
- Filtro B (FTFE)
- Filtro C (PP)

A amostra analisada consistia numa solução de 10 mL de ACN submetido à extração por *QuEChERS*, dopado com 12 ppm, em duplicado. Todas as amostras foram posteriormente submetidas a análise por HPLC.

#### 3.4.2.2. Extração de contaminantes pelo método de *QuEChERS*

O método de *QuEChERS* (descrito na seção 2.5.2.) foi utilizado para a extração de contaminantes em todos os ensaios. Na fase final de cada experiência, foram extraídos 2,5 g de cada camada de solo húmido para Falcons de 15 mL, devidamente identificados. A cada Falcon foram adicionados 1,5 mL de água desionizada. Após as amostras presentes nos Falcons serem submetidas a agitação por vortex, foram adicionados 2,5 mL de ACN. As amostras foram novamente colocadas no vortex durante 1 minuto e, por fim, foi adicionado à mistura 1 g de sulfato de magnésio (MgSO<sub>4</sub>), e agitado vigorosamente. A mistura foi colocada uma última vez no vortex, durante 30 segundos.

Na etapa seguinte do processo, todas as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm durante 5 minutos. Por último, o sobrenadante obtido foi pipetado para seringas de 5 mL e filtradas através de filtros PTFE de 13 mm, previamente passados por ACN. Cada amostra foi filtrada para um frasco de vidro de 4 ou 7 mL, e refrigerada até posterior análise. O processo foi realizado em triplicado para cada camada de solo.

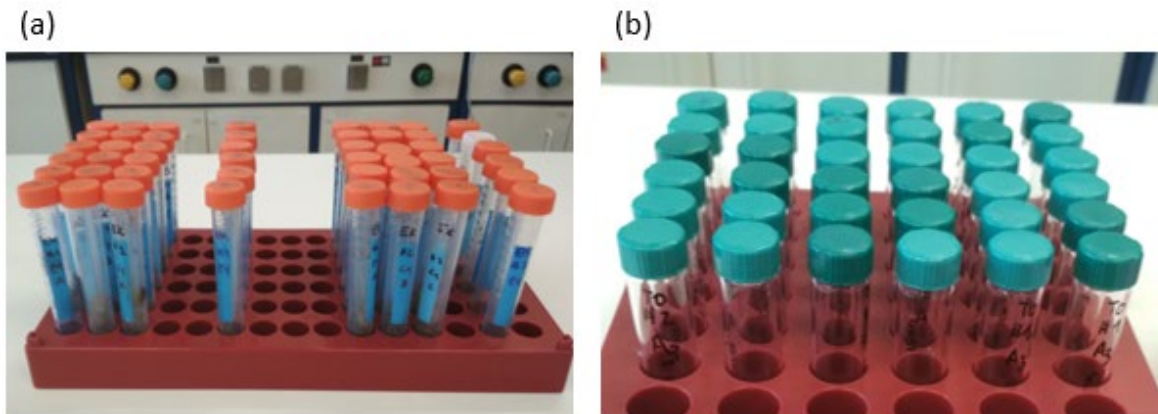


Figura 3.8 - Falcons de 15 mL contendo as amostras (a) e frascos de vidro (b) utilizados no processo, devidamente identificados.

### 3.4.3. Análise por HPLC

Para proceder a esta análise utilizou-se um cromatógrafo equipado com um detetor de arranjo de díodos (DAD) (G1315B) e um detetor de fluorescência (FDL) (1321A), ambos pertencentes à série 1100 da Agilent, colocados em série (Figura 3.8). Foi utilizada uma coluna Poroshell 120 EC-C18 2,7  $\mu\text{m}$  (dimensão: 4,6 x 100 mm), marca Agilent (Califórnia, EUA) e uma pré-coluna Onyx SecurityGuard C18 (dimensão: 5 x 4,6 mm) adquirido na Phenomenex (Torrance, EUA). Adicionalmente, o equipamento possui uma bomba quaternária Infinity 1260 (G7111B) e um amostrador automático 1260 (G7129). O *software* responsável pelo processamento de dados provenientes da análise HPLC denomina-se LC OpenLab.



Figura 3.9 - Cromatógrafo série 100 Agilent.

Para as medições dos contaminantes CAF, SMX, CBZ, DCF, OXY e TCS foi utilizado o canal DAD B com um comprimento de onda de 282 nm. O detetor de fluorescência definido para um comprimento de onda de 220 a 290 nm (canal FLD A), permitiu quantificar os contaminantes BPA, E2, EE2 e IBU.

Sempre que o método foi executado, foi definido um fluxo constante a 1,5 mL/min em modo gradiente (Tabela 3.3), para um forno ajustado a 36 °C e um período de pós-equilíbrio definido para 2 minutos. Como eluentes, foi preparada uma mistura de ACN/Milli-Q/ácido

fórmico (50%), mais concretamente, o eluente A (5/94,5/0,5 %) e o eluente B (94,5/5/0,5 %). Os eluentes foram sujeitos a filtração por membranas de nylon de 0,45 µm (Bellefonte, EUA).

Para todos os ensaios, a mistura inserida no cromatógrafo continha 100 µL de eluente A e 100 µL de amostra.

Tabela 3.2 - Fluxo de eluente a 1,5 mL/min em modo gradiente.

Tempo (min.)	A (%)	B (%)
1,0	95,0	5,0
9,0	5,0	95,0
10,0	3,0	97,0
12,0	3,0	97,0
13,0	95,0	5,0

#### 3.4.3.1. Determinação da curva de calibração e limites

Para proceder à elaboração da curva de calibração e cálculo dos limites de deteção (LD) e quantificação (LQ) dos PFCs, foram definidas sete concentrações (0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 e 12,5 mg/L). A regressão linear obtida através da relação entre a concentração e a área obtida permite chegar a um valor de desvio padrão dos residuais da calibração que, ao ser multiplicado por três, resulta no LD. Uma vez obtido este valor, é possível concluir qual o limite de quantificação LQ, multiplicando o limite de deteção por 3.

#### 3.4.4. Análise microbiológica

Foram realizadas análises a nível microbiológico de modo a contabilizar as UFCs presentes nas amostras da camada 1 após o fim de cada experiência.

O ensaio foi realizado numa câmara de fluxo laminar previamente esterilizada com solução de etanol a 70% e exposição a radiação UV durante 30 minutos, de modo a evitar contaminações. Pelo mesmo motivo, todo o material posteriormente utilizado dentro da câmara foi limpo com a referida solução de etanol.

O material utilizado consistiu em duas micropipetas de 100 µL e 1000 µL e as respetivas pontas, placas de Petri contendo ágar (três por cada amostra), tubos, varetas em “L” e uma pipeta de 10 mL. As soluções utilizadas, cujos frascos também foram sujeitos a limpeza com

etanol 70%, foram água estéril e NaCl a 0,9%. Todo o material utilizado pode ser observado na Figura 3.10.



Figura 3.10 - Material utilizado para a análise microbiológica.

O meio de cultura presente nas placas de Petri é composto por 5 g/L de extrato de batata, 20,0 g/L de glicose e 17,0 g de ágar. Antes da sua utilização, o meio foi preparado em placas de Petri estéreis, às quais foram adicionados 42 g de pó suspenso em 1000 mL de água ultrapura. A mistura é posteriormente agitada e esterilizada em autoclave a 121 °C, durante meia hora.

Para inocular as placas, 1 g de solo foi extraído com 10 mL de NaCl 0,9% (3 minutos no vortex). Posteriormente, 100 µL do extrato de NaCl foi adicionado a 1,9 mL de água esterilizada. Por fim, foram inoculadas 3 placas por amostra, cada uma com 100 µL. Após serem inoculadas, as placas foram embrulhadas em papel de alumínio e colocadas na estufa a 37 °C durante 24 h. Finalmente, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colónias.

#### 3.4.5. Análise estatística

A análise estatística de resultados foi elaborada através do software GraphPad Prism 8, utilizando o teste ANOVA e o teste de Tukey. Para a realização do teste de Tukey, foi considerado um nível de significância de 5% (intervalo de confiança de 95%,  $p < 0,05$ ).

Foram elaboradas comparações para a degradação de contaminantes, pH, humidade e percentagem mássica de contaminante por seção de solo. Relativamente aos PFCs, os valores que se encontravam fora do LQ e LD foram considerados igual a zero. As variáveis analisadas para cada parâmetro experimental, encontram-se representadas na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Parâmetros testados na análise estatística e as respectivas variáveis avaliadas.

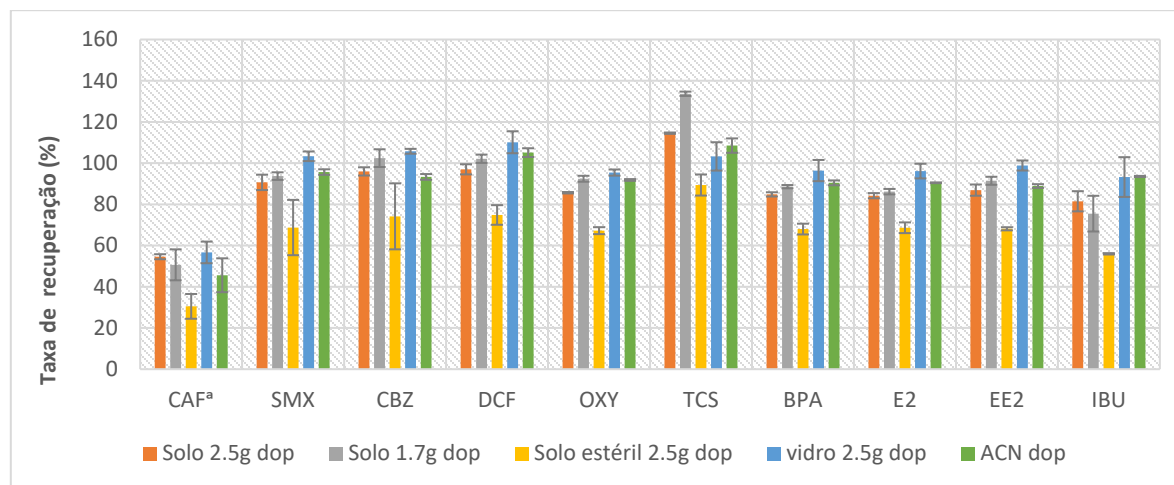
<b>Parâmetro</b>	<b>Variável</b>
<b>Taxa de recuperação</b>	(i) Mesmo ensaio, diferentes contaminantes
<b>Degradação de PFCs</b>	(i) Mesmo ensaio; diferentes contaminantes (ii) Mesmo contaminante; diferentes ensaios
<b>Massa de PFCs por seção de solo</b>	(i) Mesmo ensaio; diferentes contaminantes (ii) Mesmo contaminante; diferentes ensaios
<b>pH</b>	(i) Mesmo ensaio; diferentes camadas (ii) Mesma camada; diferentes ensaios
<b>Humidade</b>	(i) Mesmo ensaio; diferentes camadas (ii) Mesma camada; diferentes ensaios
<b>UFC</b>	(i) Mesma camada; diferentes ensaios



## 4. Resultados e discussão de resultados

### 4.1. Testes de otimização de *QueChERS*

Os resultados obtidos nos testes de otimização de extração permitiram testar a influência de diferentes parâmetros na taxa de recuperação de cada contaminante. A Figura 4.1 apresenta os resultados obtidos no teste da influência da matriz sólida (solo: estéril, dopado; esferas de vidro) e da massa extraída.



<sup>a</sup>Diferenças significativas em comparação com os restantes contaminantes.

Figura 4.1 - Taxa de recuperação de cada contaminante para os diferentes tipos de solo.

A análise estatística realizada para a taxa de recuperação na matriz sólida revelou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os ensaios ( $p < 0,05$ ). O solo estéril apresentou uma taxa de recuperação menor do que o solo não-estéril, provavelmente devido a alterações físico-químicas no solo devido ao processo de esterilização (solo sujeito a radiação UV e autoclavado a 121 °C em 6 ciclos de 1h, de modo a reduzir a atividade da comunidade microbiana), apresentando diferenças significativas quando comparado com os restantes tipos de solo ( $p < 0,05$ ). Em relação aos contaminantes, a cafeína pode ser destacada ( $p < 0,05$ ), apresentando sempre valores inferiores aos restantes contaminantes.

Em relação à massa de solo extraída, a diferença entre utilizar 2,5 g ou 1,7 g é muito reduzida, com exceção dos contaminantes OXY e TCS. Por este motivo, foram utilizados 2,5 g de solo com o objetivo de obter uma maior quantidade de composto no extrato final, considerando o limite de quantificação para HPLC.

Os resultados representados na Figura 4.2 foram submetidos a uma análise estatística que permitiu concluir que não há influência direta do efeito matriz na filtração e na análise



por HPLC. Existem diferenças significativas apenas quando a cafeína é comparada com os restantes contaminantes ( $p < 0,05$ ), semelhante ao já verificado na seção anterior, o que reflete a maior dificuldade para a extração completa deste PFCP.

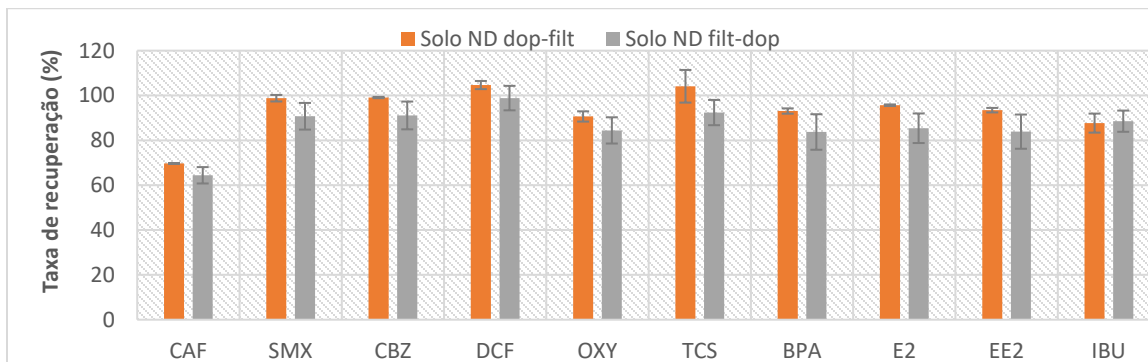


Figura 4.2 - Taxa de recuperação de cada contaminante nos testes para solo não-dopado.

Os resultados da análise estatística (Figura 4.3) permitem concluir que não existe diferença significativa entre dopar 57 g ou 86 g de solo, no entanto a taxa de recuperação aumenta quando utilizados 115 g ( $p < 0,05$ ). Uma vez que o volume de dopagem foi proporcional à massa, a taxa de recuperação mais elevada pode estar associada a uma maior superfície de contacto ou a um volume mais elevado de matriz a extrair, ou a um maior efeito matriz (p.e. TCS 128%).

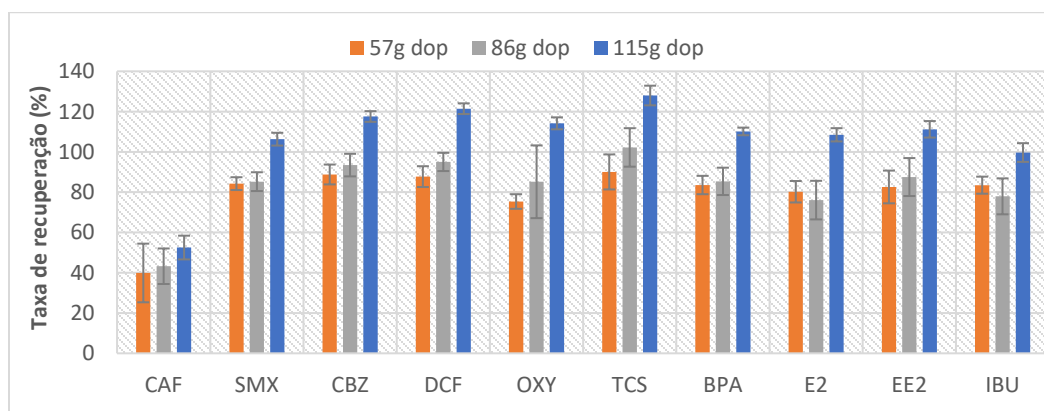


Figura 4.3 - Taxa de recuperação de cada contaminante para as diferentes massas de solo.

Em relação ao tipo de filtro (Figura 4.4), as maiores diferenças são observadas para IBU e TCS ( $p < 0,05$ ). O filtro A (PTFE) mostrou ser menos eficiente quando comparado com os

filtros B (FTFE) e C (PP) para a recuperação de IBU. No entanto, os valores do filtro A são semelhantes ao do filtro C para o contaminante TCS. No geral, não existe indicação de que as taxas de recuperação sejam afetadas pelo tipo de filtro testado.

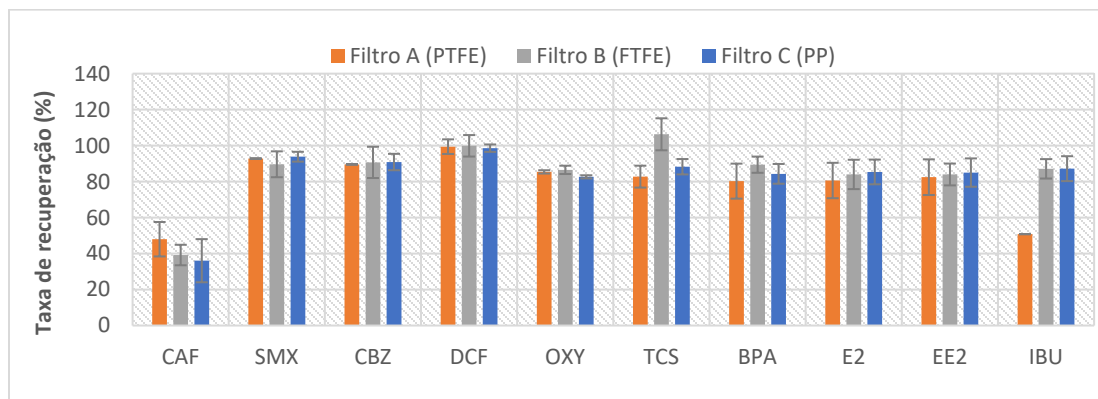


Figura 4.4 - Taxa de recuperação de cada contaminante para os três tipos de filtro.

## 4.2. Curva de calibração HPLC-DAD-FLD

Como mencionado anteriormente, foi elaborada a curva de calibração e calculados os limites de deteção e quantificação. Para cada contaminante foi determinada a gama de trabalho, obtido um valor de coeficiente de determinação ( $r^2$ ), limite de deteção (LD) e limite de quantificação (LQ), apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Coeficiente de correlação da curva de calibração, gama de trabalho, LD e LQ dos contaminantes em estudo para o método HPLC-DAD-FLD.

PPCP	$r^2$	LD (ppm)	LQ (ppm)	Gama de trabalho (ppm)
CAF	0,9995	0,13	0,40	0,4-8,63
SMX	0,9997	0,19	0,58	0,58-8,94
CBZ	0,9995	0,09	0,26	0,26-8,14
DCF	0,9985	0,18	0,54	0,54-7,48
OXY	0,9996	0,17	0,5	0,50-7,78
TCS	0,9987	0,33	0,99	0,99-10,97
BPA	0,9999	0,11	0,34	0,34-10,3
E2	1,000	0,08	0,24	0,24-12,5
EE2	0,9999	0,14	0,42	0,42-10,0
IBU	0,9996	0,27	0,82	0,82-13,0

O coeficiente de determinação apresenta valores muito próximos de 1, pelo que a interpolação das amostras pode ser realizada.

#### 4.3. Caracterização do solo

As propriedades físico-químicas do solo têm influência nos resultados dos ensaios. O solo utilizado, cujas características estão apresentadas na Tabela 4.2, era argiloso. Este tipo de solo é caracterizado por possuir uma alta capacidade de retenção de água, baixa permeabilidade, alto poder tampão e elevada capacidade para troca catiônica, tendo o potencial de ser fértil para determinadas culturas (Lopes, 2018). Análises realizadas anteriormente ao início das experiências permitiram confirmar que nenhum dos compostos em estudo estava presente na amostra inicial.

Apesar de se saber que o tipo e teor de colóides minerais e de colóides orgânicos presentes no solo interferirem grandemente com os resultados obtidos, Hu *et al.* (2019), observaram que solos argilosos apresentaram uma capacidade de adsorção 2,5 vezes mais elevada do que os solos arenosos.

Tabela 4.2 - Características do solo

Parâmetro	Valor
<b>Distribuição de partículas (%)</b>	
Areia ( $0,02 < \phi < 2$ mm)	10
Limo ( $0,002 < \phi < 0,02$ mm)	29
Argila ( $\phi < 0,002$ mm)	61
<b>Classificação textural</b>	Argiloso
<b>Catiões de troca (mg/kg)</b>	
Ca <sup>2+</sup>	2245
Mg <sup>2+</sup>	402
Na <sup>+</sup>	688
K <sup>+</sup>	250
pH (H <sub>2</sub> O)	8,06
Condutividade (mS/cm)	0,71
Matéria orgânica (g/kg)	27
Azoto orgânico (g/kg)	1,48

## 4.4. Experiências eletrocinéticas

### 4.4.1. Voltagem

Os valores representados na Tabela 4.3 permitem verificar que a voltagem sofreu um aumento no decorrer dos primeiros dias dos ensaios, seguida de um decréscimo. O incremento dos valores pode estar associado à dissolução de compostos e/ou degradação, assim como à irrigação que ocorreu a cada dois dias. No dia 2 do ensaio EK-12d, foi registrado um valor de voltagem de  $67,55 \pm 50,28$  V. A irregularidade deste valor em comparação com os restantes pode estar associada ao facto de no segundo dia da experiência, os clips de crocodilo se encontravam numa posição ligeiramente diferente (zona mais superior do eléctrodo), refletindo-se em voltagens mais elevadas. A posição dos dois clips de crocodilo foi corrigida nos restantes dias e ensaios, pelo que não voltaram a ser atingidos níveis tão elevados.

Tabela 4.3 - Voltagem para cada ensaio

Dia	Voltagem (V)		
	EK 8d	EK 12d	EK 16d
0	7,70	9,60	8,70
2	11,65	67,55	12,35
4	20,80	12,55	16,75
6	12,10	17,5	25,10
8	12,10	16,85	12,05

### 4.4.3. Condutividade

Para os valores de condutividade medidos no final dos ensaios (Figura 4.5), as alterações mais acentuadas observaram-se, novamente, naqueles onde foi aplicada corrente. Os valores de condutividade no ânodo são muito superiores aos do cátodo, o que pode estar associado a níveis de salinidade superiores no ânodo. Foi também observada uma tendência para a condutividade aumentar com a profundidade. À semelhança do que é verificado para o pH, existem diferenças significativas entre o cátodo e o ânodo ( $p < 0,05$ ), apenas para os ensaios em que é aplicada corrente.

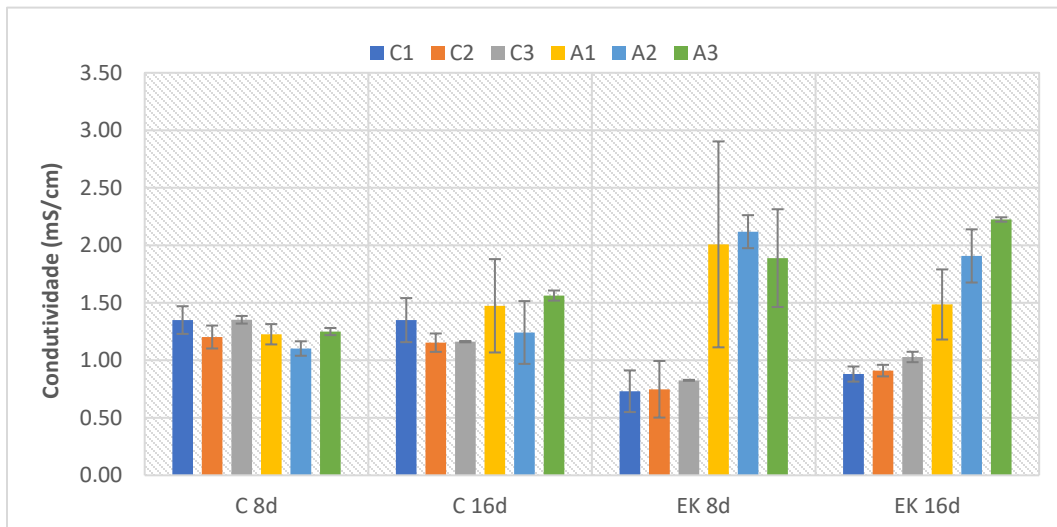


Figura 4.5 - Valores de condutividade nos diferentes ensaios, em cada camada.

Por questões logísticas, não foi possível quantificar a condutividade nos ensaios de 12 dias, pelo que a discussão se centrou nos de 8 e 16 dias.

#### 4.4.2. pH

A Figura 4.6 apresenta os valores de pH obtidos no final dos ensaios, verificando-se que a aplicação de corrente provocou alterações no pH do solo. Nos ensaios de controlo os valores são semelhantes entre o ânodo e o cátodo, para todas as camadas, quer no ensaio de 8 dias (8,06 a 8,17), quer no ensaio de 16 dias (7,76 a 8,27). O valor de pH inicial do solo é de 8,06, semelhante aos valores obtidos nos controlos. Quando é aplicada corrente, os níveis de pH no cátodo aumentam para valores de alcalinidade entre 9,75-11,04 para EK-8d, e 9,07-11,25 para EK-16d, enquanto que os níveis de pH no ânodo diminuem até níveis mais próximos da acidez, nomeadamente 6,64-6,88 (EK-8d) e 6,62-7,20 (EK-16d). Também é possível observar o comportamento entre as diferentes camadas. No cátodo, o pH aumenta com a profundidade enquanto que no ânodo diminui. A variação de pH está ligada a formação do ião  $H^+$  no ânodo e do ião  $OH^-$  no cátodo. A resistência do solo às mudanças de pH, nomeadamente para pH mais baixo pode ser explicada pelo poder tampão do solo, isto é a capacidade que o solo tem de resistir a alterações de pH. Esta capacidade de resistência pode estar associada a propriedades como a quantidade de argila e matéria orgânica presentes na matriz, assim como ao pH natural do solo. Para os ensaios de controlo, verificaram-se valores semelhantes e constantes de pH ao longo do estudo. Estes resultados são validados estatisticamente, com diferença entre o cátodo e o ânodo em EK ( $p < 0,05$ ) e a inexistência destas diferenças para os ensaios de controlo ( $p > 0,05$ ).

A pH alcalino é expectável a precipitação de várias espécies no solo, o que provoca um aumento do pH e uma diminuição da condutividade.

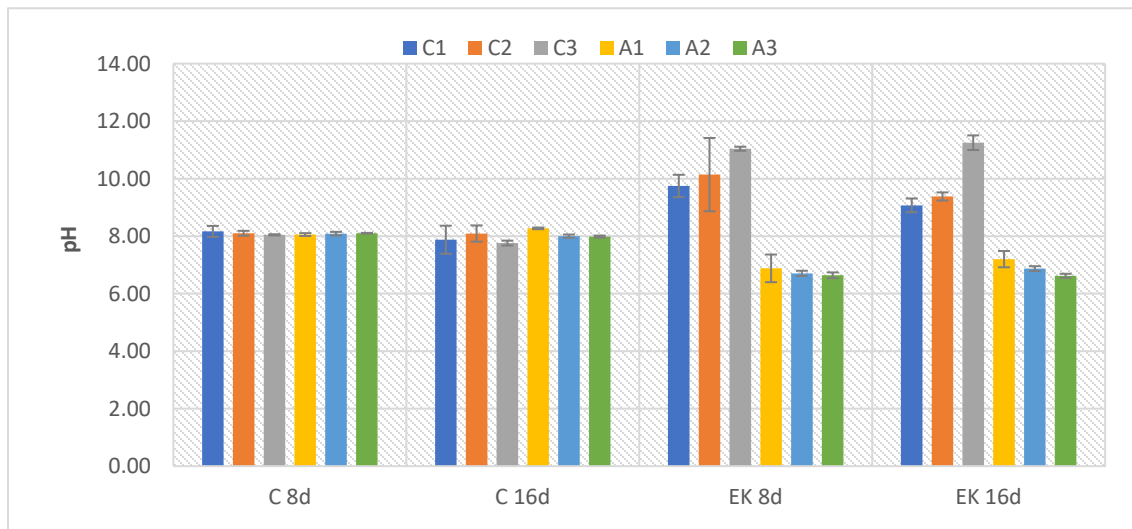


Figura 4.6 - Valores de pH nos diferentes ensaios, em cada camada.

Por questões logísticas, não foi possível quantificar os valores de pH no ensaio de 12 dias, pelo que a discussão se centrou nos 8 e 16 dias.

#### 4.4.4. Teor de humidade

O teor de humidade no cátodo e no ânodo para os ensaios com EK pode ser afetado pela eletroosmose. Este fenómeno ocorre quando, ao ser aplicada uma corrente e gerado um campo elétrico entre elétrodos, é também gerado um fluxo de fluido do ânodo para o cátodo (Kijssamanmith et al., 2020). Esta hipótese pode ser suportada pelo teor de humidade ser, geralmente, superior no cátodo, na camada superior (C1), e de uma forma mais acentuada para o ensaio com maior duração (16 dias). No entanto, os testes estatísticos realizados para este parâmetro (Figura 4.7) não apresentaram diferenças significativas entre as camadas nos diferentes ensaios ( $p > 0,05$ ).

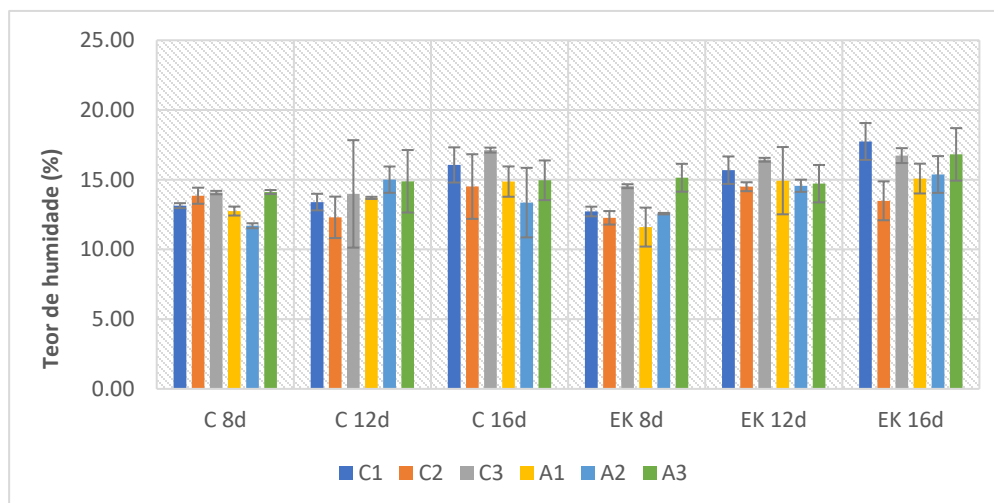


Figura 4.7 - Teor de humidade nos diferentes ensaios, em cada camada.

Ao avaliar detalhadamente os valores de humidade obtidos, o teor de humidade foi superior para os ensaios que tiveram um período de repouso após a aplicação de EK (> 90% de humidade) para o qual a irrigação continuou, em comparação com o ensaio EK-8d que terminou ao 8º dia, sem período de repouso. Para este ensaio (16 dias), o teor de humidade no cátodo foi geralmente superior ao teor no ânodo, independentemente de existir, ou não aplicação de corrente, embora sem diferenças estatisticamente significativas entre as camadas do controlo.

Guedes *et al.* (2020) concluíram que devido ao efeito de eletroosmose, o teor de humidade era superior no cátodo quando não existia irrigação. Para uma irrigação periódica, essa diferença entre o cátodo e o ânodo existia a um nível muito inferior. Nos ensaios realizados neste estudo, as células foram regadas a cada 2 dias, o que pode justificar a diferença não significativa ( $p > 0,05$ ) do teor de humidade entre os elétrodos. No entanto, verifica-se que existe uma tendência para que os valores no cátodo sejam ligeiramente superiores aos do ânodo, na maioria dos ensaios.

#### 4.4.5. Temperatura

Em relação à temperatura, foram verificadas alterações significativas entre as médias de temperatura para os ensaios de controlo e para os ensaios EK ( $p < 0,05$ ), tendo estes valores superiores (Tabela 4.4). O menor valor foi registado para C-12d ( $19,2 \pm 0,0$  °C), enquanto que o maior foi registado para EK-8d ( $24,4 \pm 0,1$  °C). Para todos os ensaios houve tendência para a temperatura diminuir em comparação com os valores registados no primeiro dia de medição. O procedimento inicial e o delineamento experimental podem estar na origem desta diminuição.

Tabela 4.4 - Temperatura registrada a cada 2 dias em cada ensaio.

Dia	Temperatura (°C)					
	C 8d	C 12d	C 16d	EK 8d	EK 12d	EK 16d
0	24,1 ± 0,0	23,5 ± 0,0	23,3 ± 0,4	24,4 ± 0,1	23,5 ± 0,1	23,5 ± 0,6
2	21,6 ± 0,2	20,1 ± 0,0	20,5 ± 0,1	22,8 ± 0,0	24,3 ± 2,8	21,2 ± 0,1
4	21,1 ± 0,1	20,1 ± 0,1	20,9 ± 0,1	22,7 ± 0,2	21,6 ± 0,2	23,7 ± 0,0
6	21,2 ± 0,4	21,0 ± 0,1	19,9 ± 0,2	21,9 ± 0,2	22,1 ± 0,2	22,3 ± 0,4
8	21,0 ± 0,3	19,2 ± 0,0	20,7 ± 0,0	21,8 ± 0,1	20,5 ± 0,1	20,3 ± 0,1
10	-	19,5 ± 0,1	20,3 ± 0,2	-	19,4 ± 0,1	20,8 ± 0,1
12	-	19,9 ± 0,1		-	19,8 ± 0,0	20,6 ± 0,1
14	-	-		-	-	21,7 ± 0,1

#### 4.5. Degradação de contaminantes

As percentagens de recuperação obtidas para cada contaminante estudado encontram-se apresentadas na Tabela 4.5. As taxas de degradação foram obtidas tendo em conta a recuperação obtida para cada contaminante após a dopagem (Tabela 4.5) e podem ser observadas na Figura 4.8.

Tabela 4.5 - Percentagem de recuperação para cada contaminante.

PFCP	CAF	SMX	CBZ	DCF	OXY	TCS	BPA	E2	EE2	IBU
<b>Recuperação (%)</b>	58	73	84	87	73	91	65	58	74	74

Os testes estatísticos confirmam a existência de diferenças significativas na degradação (Figura 4.8) de diferentes contaminantes para os mesmos ensaios ( $p < 0,05$ ).



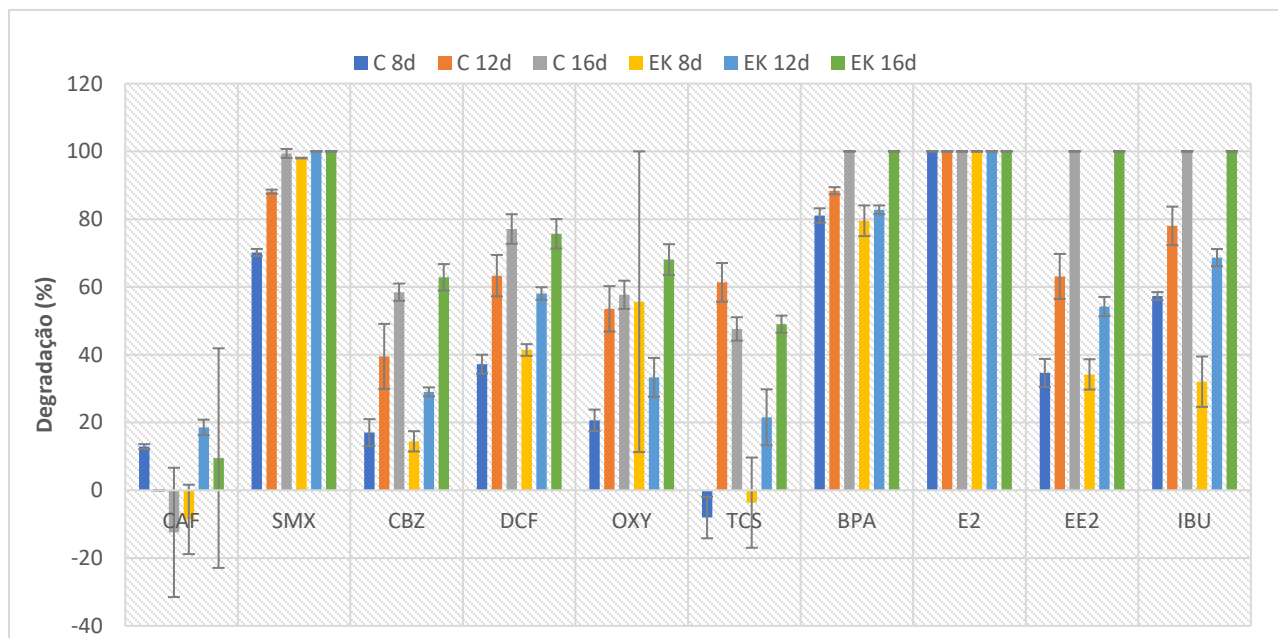


Figura 4.8 - Percentagem de degradação de contaminantes para cada ensaio.

A percentagem de degradação para os ensaios de controlo foi, por ordem decrescente, a seguinte:

- Para C-8d:

E2 (100%) > BPA (81%) > SMX (70%) > IBU (57%) > DCF (37%) > EE2 (35%) > OXY (21%) > CBZ (17%) > CAF (13%) > TCS (0%)

- Para C-12d:

E2 (100%) > BPA ≈ SMX (88%) > IBU (78%) > EE2 ≈ DCF (63%) > TCS (61%) > OXY (54%) > CBZ (40%) > CAF (0%)

- Para C-16d:

E2 ≈ BPA ≈ EE2 ≈ IBU (100%) > SMX (99%) > DCF (77%) > CBZ (58%) > OXY ≈ TCS (48%) > CAF (0%)

Os ensaios de controlo permitiram avaliar a eficiência da remediação biológica (remoções bióticas e abióticas) que ocorre no solo, uma vez que não existe aplicação de corrente.

Para os ensaios onde foi aplicada corrente, a percentagem de degradação, por ordem decrescente foi a seguinte:

- Para EK-8d:

E2 (100%) > SMX (98%) > OXY (56%) > DCF (41%) > EE2 (34%) > IBU (32%) > CBZ (14%) > CAF  $\approx$  TCS (0%)

- Para EK-12d:

E2  $\approx$  SMX (100%) > BPA (83%) > IBU (69%) > DCF (58%) > EE2 (54%) > OXY (33%) > CBZ (29%) > TCS (22%) > CAF (19%)

- Para EK-16d:

E2  $\approx$  SMX  $\approx$  BPA  $\approx$  EE2  $\approx$  IBU (100%) > DCF (76%) > OXY (68%) > CBZ (63%) > TCS (49%) > CAF (9%)

Numa análise geral dos resultados é possível verificar que E2, SMX e BPA apresentam maiores degradabilidades, enquanto que CBZ, TCS e CAF possuem uma percentagem muito baixa de degradação. Deste modo os contaminantes podem ser divididos em dois grupos: facilmente degradáveis (SMX, BPA, E2, EE2 e IBU) e recalcitrantes (CAF, CBZ, OXY e TCS).

De um modo geral a aplicação de corrente mostrou ser vantajosa para a degradação dos contaminantes. As maiores percentagens de degradação foram obtidas no ensaio EK-16d, com exceção da CAF, cujo valor mais elevado de remoção foi registado no ensaio EK-12d. A diferença entre os dois ensaios consiste no período sem EK, para EK-16d ocorreram 8 dias de repouso enquanto que para EK-12d, o período de repouso foi de 4 dias. A cafeína é uma amina terciária que contém na sua estrutura átomos de azoto e ligações duplas, o que faz desta molécula um composto recalcitrante. A CBZ e o TCS possuem estruturas que dificultam a sua degradação, nomeadamente, uma amina secundária tricíclica e um fenol com dois anéis aromáticos. À semelhança da CAF, estes compostos também se encontram no grupo de compostos recalcitrantes, com os valores mais baixos de degradação (< 64%) (Guedes *et al.*, 2020; Martínez-Hernández *et al.*, 2016). Para ensaios com duração de 4, 8 e 16 dias, Guedes *et al.* (2020) avaliaram a degradação de contaminantes emergentes num solo argiloso, obtendo valores de degradação para CBZ e TCS inferiores a 50%.

O aumento da duração do ensaio foi acompanhado por um aumento da percentagem de degradação de DCF. Em EK-16d, o DCF obteve valores de degradação superiores a 70%. Este contaminante é persistente, com baixos valores de degradação, em solos com condições anaeróbias. Para solos com presença de oxigénio, a degradação é mais eficiente. A

degradação e a adsorção são os principais processos responsáveis pela atenuação deste contaminante, dependendo do teor de água presente no solo (Yu & Bi, 2019). Por ser um fármaco aniónico com um pKa inferior ao pH do solo, o DCF sofre desprotonação e, pode assim, migrar em direção ao ânodo (Ferreira et al., 2020).

A OXY encontra-se no grupo de contaminantes com os menores valores de degradação (o valor máximo observado foi de 68%). Com exceção do ensaio EK-12d, a aplicação de corrente mostrou ser benéfica para a degradação deste composto, atingindo um valor máximo de 68% no ensaio EK-16d. O teor de humidade registado foi superior para EK-16, o que pode ter contribuído para uma percentagem de degradação superior neste ensaio. Ao estudar a remediação por EK em solo contaminado com PFCs, Dionísio (2019) verificou que a água presente no solo aumentava o nível de degradação da oxibenzona em 10%, pois aumentava a taxa de degradação, contribuindo para maior eficiência dos processos de eletrodegradação.

O sulfametoxazole apresenta sempre valores de degradação mais elevados, em comparação com a maioria dos restantes contaminantes. Quando são comparados os valores de degradação com o controlo e para os ensaios com aplicação de corrente, as percentagens de degradação são mais elevadas para as experiências com EK. No entanto, os valores aproximam-se para os ensaios com a duração de 16 dias. Nos ensaios de controlo os valores de degradação encontram-se acima de 70%, o que pode sugerir a existência de biodegradação. Embora vários estudos mencionem a dificuldade do SMX ser biodegradado, Liu *et al.* (2010) investigaram a dissipação de SMX num solo agrícola (estéril e não estéril), com condições aeróbias e anóxicas durante quarenta e nove dias, obtendo taxas de dissipação para o solo não-estéril entre 49 e 74% nos primeiros três dias. No 49º dia, 38% da remoção de SMX foi atribuída a processos de biodegradação para condições aeróbias.

O contaminante BPA apresentou valores de degradação iguais ou superiores a 80% para todos os ensaios, considerando-se um contaminante facilmente degradável. Os valores dos ensaios EK são semelhantes aos valores do controlo, pelo que o principal processo responsável pela degradação deste composto parece ser a remediação biológica. Para EK-16d e para o respetivo controlo, foram obtidos valores de 100% de remoção.

A diferença entre a percentagem de degradação para E2 e EE2 pode ser explicada pelo facto da hormona E2 ser um estrogénio natural altamente biodegradável, enquanto que EE2 é uma hormona sintética derivada de E2 que contém um grupo etinil, o que dificulta a sua degradação (Guedes et al., 2020). No entanto, para o ensaio de 16 dias foi possível obter valores de degradação de EE2 semelhantes aos de E2, o que pode estar relacionado com a duração do ensaio, isto é, ao longo dos 16 dias terá ocorrido degradação de E2 em primeiro

lugar e quando a disponibilidade desta hormona era reduzida, iniciou-se a degradação de EE2. Guedes *et al.* (2020) reportaram que, em condições de ensaio semelhantes, os valores mais elevados de degradação de EE2 foram obtidos para o ensaio de 16 dias de aplicação de EK.

A influência do desenho experimental na eficiência do processo eletrocinético e eletrodialítico para solo em suspensão foi investigada por Ferreira *et al.* (2017) para OXY, BPA e EE2. Esta investigação concluiu que uma célula com um compartimento promovia a remoção dos contaminantes em estudo por degradação ao invés da sua mobilização para o compartimento do elétrodo. Foi concluído que este desenho de célula ED poderia ser aplicado a uma amostra mais abrangente de contaminantes, como foi o caso do presente estudo de EK.

Quando se fala de degradação de contaminantes no solo, é importante ter em conta os diferentes fenómenos que podem levar à remoção de contaminantes. Em teoria, quanto maior o valor de  $K_{ow}$ , maior o coeficiente de partição sólido/líquido, o que pode dificultar a degradação (Ferreira et al., 2020).

Como foi referido anteriormente, a classe de textura do solo utilizado nos ensaios é argilosa, com cerca de 61% em argila. Para solos com percentagens de argila superiores a 50%, são favorecidos os processos de sorção aos minerais argilosos e matéria orgânica (Ferreira et al., 2020).

#### 4.6. Distribuição de contaminantes no solo

Em média, para todos os ensaios, as camadas superiores (C1 e A1) continham a maior percentagem de contaminantes, sendo que essa percentagem variava entre o cátodo e o ânodo. A ausência de contaminantes nas camadas inferiores está relacionada com a irrigação inicial com solução de dopagem nas camadas A1 e C1 e com água desionizada (sem contaminação) nas restantes camadas (A2-A3 e C2-C3). A dificuldade de migração de contaminantes para as camadas inferiores terá sido afetada pela textura argilosa do solo. Em determinados casos, é possível encontrar contaminantes na segunda camada, o que pode ter sido promovido pela mobilidade da água (Guedes et al., 2020). Nas ocasiões em que é observada mobilização dos contaminantes para outras camadas do ânodo ou do cátodo, como se pode observar na Tabela 4.6, esse fenómeno pode ser explicado pela migração de água ou pela aplicação de corrente elétrica.

Tabela 4.6 - percentagem mássica dos diferentes contaminantes em cada camada de solo (C – cátodo; A – ânodo). Valores acima de 50% encontram-se indicados a amarelo. Valores detetados abaixo de 50% encontram-se indicados a azul, com exceção dos não-detetados (0%).

Ensaio	Camada	Massa de contaminante por secção (%)									
		CAF	SMX	CBZ	DCF	OXY	TCS	BPA	E2	EE2	IBU
C - 8d	C1	57	55	51	54	52	40	54	0	53	58
	C2	0	0	5	0	0	12	0	0	0	0
	C3	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
	A1	43	45	44	46	48	38	46	0	47	42
	A2	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
	A3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EK - 8d	C1	46	0	47	16	53	44	64	0	53	0
	C2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	C3	0	0	7	0	4	10	0	0	0	0
	A1	54	5	44	76	42	40	36	0	47	70
	A2	0	0	4	8	2	10	0	0	0	0
	A3	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0
C - 12d	C1	43	0	40	47	38	40	34	0	38	48
	C2	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
	C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A1	57	0	54	53	62	60	66	0	62	52
	A2	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0
	A3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EK - 12d	C1	53	0	43	49	45	44	46	0	47	56
	C2	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
	C3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A1	47	0	50	51	55	56	54	0	53	88
	A2	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
	A3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C - 16d	C1	28	0	45	32	42	37	0	0	0	0
	C2	39	0	0	0	0	19	0	0	0	0
	C3	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A1	30	0	55	68	58	54	0	0	0	0
	A2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A3	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EK - 16d	C1	38	0	64	35	55	49	0	0	0	0
	C2	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0
	C3	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A1	27	0	32	65	45	51	0	0	0	0
	A2	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	A3	28	0	0	0	0	0	0	0	0	0

As camadas com maior percentagem de massa de contaminante por seção de solo correspondem às camadas mais superficiais (A1 e C1).

Guedes et al. (2020) verificaram que a aplicação de EK resultava na detecção de uma maior percentagem de contaminantes no cátodo em comparação com o ânodo, no entanto, a existência de rega diária provocava uma distribuição mais homogênea de contaminantes entre os dois eletrodos. No caso em estudo, uma vez que as células foram regadas frequentemente (a cada dois dias), a distribuição de contaminantes poderá ter sido afetada por essa irrigação. Ao observar a Tabela 4.6 não são destacados valores muito distintos entre o cátodo e o ânodo nos vários ensaios.

Os contaminantes SMX, BPA, IBU, E2 e EE2 possuem uma percentagem final de 0% em todas as camadas dos ensaios de 16 dias. Como foi observado anteriormente, estes compostos alcançaram os valores mais elevados de degradação (correspondendo a cerca de 100% de remoção).

Quando é aplicada corrente elétrica existe mobilização de CAF do cátodo para o ânodo. Este fato é claramente observado para EK-8d, quando comparado com C-8d. Neste caso, o ensaio controlo, sem corrente, contém uma percentagem de CAF de 57% no cátodo enquanto que no ânodo a percentagem está abaixo de 50%. Quando é aplicada corrente, os valores invertem, isto é, no cátodo a percentagem é inferior a 50% e no ânodo é superior. Por regra, o efeito de eletrosmose deveria mobilizar os contaminantes do ânodo para o cátodo. Como verificou Dionísio (2019) para ensaios em condições semelhantes, o teor de humidade aumenta do ânodo para o cátodo, sendo os menores valores registados na camada superficial devido à evaporação e ao calor gerado durante a remediação eletrocinética. Contudo, na presente discussão, os valores de humidade não apresentam diferenças significativas entre eletrodos, pelo que a ocorrer eletrosmose para o cátodo, esta não foi detetada devido à irrigação a cada dois dias. Desta forma é possível sugerir que a cafeína está sujeita a outros mecanismos de degradação/mobilização, como a eletromigração, que pode ter sido responsável por esta movimentação. A cafeína é muito solúvel em água, pelo que sua migração também pode estar associada à dispersão da água durante a irrigação.

A migração dos restantes contaminantes recalcitrantes para as camadas inferiores é observada em C-8d e EK-8d. Nos restantes ensaios, esta migração em profundidade não ocorreu com a mesma frequência. Quando comparados os controlos de 12 dias e 16 dias com os respetivos ensaios EK, é observada uma ligeira mobilização dos contaminantes do

ânodo para o cátodo quando é aplicada corrente, sendo que o efeito da eletromigração pode estar na origem desta mobilização. Uma vez que o efeito de eletrosmose não foi evidente ao longo dos ensaios, este mecanismo não será uma hipótese a ser considerada.

#### 4.7. Unidades formadoras de colónias (UFC)

Com exceção do ensaio EK-16d, o valor de unidades formadoras de colónias é superior no cátodo em relação ao ânodo (Tabela 4.7). Relativamente ao número total nos ensaios, o valor mais elevado foi observado para C-16d e o menor para EK-8d ( $EK8d < C8d < EK16d < C16$ ). Avaliando todos os ensaios, é possível afirmar que a aplicação de corrente resultou numa diminuição de UFCs em comparação com os ensaios de controlo.

Tabela 4.7 - UFCs no final das experiências.

UFCs/1 g de solo	Ensaio	Camada		Total	Log <sub>10</sub> de diminuição (C1)	Log <sub>10</sub> de descida (A1)
		C1	A1			
	C-8d	$6,64 \times 10^5 \pm 4 \times 10^5$	$4,64 \times 10^5 \pm 1 \times 10^5$	$1,10 \times 10^6$	0,29	0,48
	EK-8d	$3,29 \times 10^5 \pm 3 \times 10^5$	$1,54 \times 10^5 \pm 3 \times 10^4$	$4,84 \times 10^5$		
	C-12d	$2,77 \times 10^5 \pm 7 \times 10^4$	$8,47 \times 10^5 \pm 6 \times 10^5$	$6,41 \times 10^5$	0	0
	EK-12d	$1,21 \times 10^6 \pm 1 \times 10^6$	$2,12 \times 10^6 \pm 3 \times 10^6$	$3,33 \times 10^6$		
	C-16	$4,14 \times 10^6 \pm 2 \times 10^6$	$2,47 \times 10^6 \pm 1 \times 10^6$	$6,61 \times 10^6$	0,18	0
	EK-16d	$2,73 \times 10^6 \pm 4 \times 10^5$	$3,16 \times 10^6 \pm 7 \times 10^5$	$5,90 \times 10^6$		

Quando é gerada uma corrente, ocorrem reações que podem alterar as propriedades físico-químicas do meio, particularmente, nas proximidades dos eléctrodos. Estas alterações podem aumentar a toxicidade do meio e diminuir a atividade da comunidade microbiana. Por outro lado, o processo eletrocinético pode promover processos de biodegradação de contaminantes. A intensidade de corrente aplicada também influencia a comunidade de microrganismos, uma vez que, estudos prévios afirmam que uma corrente pouco intensa não provoca alterações significativas na comunidade microbiana enquanto que, uma corrente mais intensa (> 40 mA) pode provocar modificações a nível celular (Gill et al., 2014).

Guedes (2015) identificou protozoários e metazoários na constituição da comunidade microbiota de lamas provenientes de ETAR, verificando que a aplicação de corrente por meio do processo eletrodialítico apresentava efeitos negativos na comunidade. Estes efeitos podem estar associados à aplicação direta de corrente ou às alterações nas propriedades físico-químicas do meio.

Gonçalves (2020) verificou que a aplicação do processo EK num efluente de ETAR provocava uma diminuição nas UFCs.

Através da análise estatística elaborada para este parâmetro, não foram verificadas diferenças significativas entre o cátodo e o ânodo ( $p > 0,05$ ).





## 5. Conclusão

A presente dissertação teve como objetivo o estudo do processo eletrocinético aplicado a um solo argiloso para remoção de contaminantes orgânicos emergentes. De modo a melhorar a análise do efeito da aplicação de corrente na remediação e mobilização de contaminantes, a amostra de solo argiloso foi dopada com uma solução contendo dez produtos farmacêuticos e de cuidado pessoal: cafeína (CAF), sulfametoxazole (SMX), carbamazepina (CBZ), diclofenac (DCF), oxibenzona (OXY), triclosan (TCS), bisfenol A (BPA), 17 $\beta$ -estradiol (E2), 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) e ibuprofeno (IBU).

Foi possível observar diferenças entre a degradação de cada contaminante, podendo estes ser divididos em facilmente degradáveis (SMX, BPA, E2, EE2 e IBU) e recalcitrantes (CAF, CBZ, OXY e TCS). Para os contaminantes degradáveis foi possível obter percentagens de remoção de 100%, enquanto que para os recalcitrantes, o valor mais elevado foi 77% de degradação para DCF, obtido no ensaio C-16d.

Para os ensaios sujeitos a períodos de repouso (EK-12d e EK-16d), foram obtidas percentagens de degradação superiores às obtidas no ensaio EK-8d, com exceção da OXY para EK-12d. Quando comparados entre si, as percentagens obtidas para EK-12d (6 dias de repouso) foram sempre inferiores a EK-16d (8 dias de repouso). Estes dados podem refletir o efeito vantajoso de um período de repouso após a aplicação de corrente.

É possível sugerir que o tratamento EK poderá aumentar a velocidade de degradação, como foi observado no caso do SMX, para o qual a aplicação de corrente permitiu uma degradação de 98% no ensaio de 8 dias.

A biorremediação (controlo) mostrou ser o principal mecanismo a atuar na remoção de contaminantes, no entanto, a utilização de EK permitiu aumentar a percentagem de degradação para alguns contaminantes recalcitrantes, estando de acordo com a literatura existente. As maiores percentagens de degradação foram obtidas, em média, para o ensaio EK-16d, seguido do ensaio C-16d. Contudo, este resultado não se traduz numa eficiência de remoção maior para todos os contaminantes. No caso da cafeína, a percentagem de degradação mais elevada foi obtida para EK-12d (19%).

O efeito de eletroosmose também foi observado, uma vez que o teor de humidade foi mais elevado no cátodo do que no ânodo, no entanto, a diferença entre os dois elétrodos não foi estatisticamente significativa. Para a maioria dos contaminantes nos ensaios de 12 e 16 dias ocorreu mobilização do ânodo para o cátodo, nomeadamente, para os compostos recalcitrantes TCS, OXY, DCF e CBZ.

As alterações provocadas no pH e condutividade do solo estão de acordo com o que seria de esperar, uma vez que a aplicação de corrente favorece a formação dos iões  $H^+$  e  $OH^-$  no ânodo e cátodo, respetivamente, o que resulta em ligeiras alterações ao pH do solo: diminuição de pH no ânodo e aumento no cátodo. Em relação aos valores de humidade, não foram registadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).

Após desligar a aplicação de corrente, verificou-se que as propriedades endógenas do solo (pH, condutividade e teor de humidade) não sofreram alterações acentuadas.

Os resultados e conclusões obtidos na presente dissertação devem ser considerados apenas para o tipo de solo utilizado e para as condições ambientais definidas. Alterações na matriz solo ou nos parâmetros físico-químicos podem levar a resultados diferentes.

## 6. Desenvolvimentos futuros

Os resultados obtidos na presente dissertação fornecem informação em relação à utilização do processo eletrocinético para remediação de solo contaminado com PFCs. Contudo, constituem resultados específicos para a textura de solo utilizada e para as condições definidas.

De modo a alargar o estudo de EK como processo de remediação de solo, devem ser utilizadas outros solos com propriedades físico-químicas diferentes. Também será relevante sujeitar o solo a alterações superiores de temperatura e pH às que ocorreram neste estudo, de modo a verificar como é que essas alterações poderão afetar a eficiência de EK.

Em relação ao desenho experimental, existe a hipótese de alterar o tipo de eletrodo utilizado, com o objetivo de aumentar as taxas de degradação ou a migração.

Uma análise microbiológica mais profunda pode possibilitar a identificação dos microrganismos presentes no solo, o que permite a procura por métodos específicos e *“tailored-made”* que aumentem a eficiência da biodegradação.

A identificação dos subprodutos formados durante os processos de degradação é relevante, de modo a determinar quais os riscos associados a estes subprodutos.



## 7. Referências Bibliográficas

- Abd-Elwahed, M. S. (2019). Effect of long-term wastewater irrigation on the quality of alluvial soil for agricultural sustainability. *Annals of Agricultural Sciences*, 64(2), 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2019.10.003>
- Acar, Y. B., & Alshawabkeh, A. N. (1993). Principles of electrokinetic remediation. *Environmental Science and Technology*, 27(13), 2638–2647. <https://doi.org/10.1021/es00049a002>
- Al-Rajab, A. J., Sabourin, L., Lapen, D. R., & Topp, E. (2010). The non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac is readily biodegradable in agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 409(1), 78–82. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.09.020>
- Al Aukidy, M., Verlicchi, P., Jelic, A., Petrovic, M., & Barcelò, D. (2012). Monitoring release of pharmaceutical compounds: Occurrence and environmental risk assessment of two WWTP effluents and their receiving bodies in the Po Valley, Italy. *Science of the Total Environment*, 438, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.08.061>
- Alygizakis, N. A., Urík, J., Beretsou, V. G., Kampouris, I., Galani, A., Oswaldova, M., Berendonk, T., Oswald, P., Thomaidis, N. S., Slobodnik, J., Vrana, B., & Fatta-Kassinos, D. (2020). Evaluation of chemical and biological contaminants of emerging concern in treated wastewater intended for agricultural reuse. *Environment International*, 138, 105597. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105597>
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412–431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>
- Anastassiades, M., Scherbaum, E., & Bertsch, D. (2003). Validation of a Simple and Rapid Multiresidue Method and its Implementation in Routine Pesticide Analysis. Poster presented at the MGPR Symposium (May 2003, Aix en Provence, France).
- Archundia, D., Duwig, C., Spadini, L., Morel, M. C., Prado, B., Perez, M. P., Orsag, V., & Martins, J. M. F. (2019). Assessment of the Sulfamethoxazole mobility in natural soils and of the risk of contamination of water resources at the catchment scale. *Environment International*, 130(May), 104905. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104905>
- Bixio, D., & Wintgens, T. (2006). *Water reuse system management manual - Publications Office of the EU*. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/b1912e31-3945-45a9-a01e-b29bfd058949/language-en/format-PDF/source-106982637>
- Cameselle, C., Gouveia, S., Akretche, D., & Belhadj, B. (2013). Advances in electrokinetic remediation for the removal of organic contaminants in Soils. In: *Organic Pollutants - Monitoring, Risk and Treatment*, 13. <https://doi.org/10.5772/54334>.
- Cameselle, Claudio, & Gouveia, S. (2018). Electrokinetic remediation for the removal of organic contaminants in soils. *Current Opinion in Electrochemistry*, 11, 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.07.005>
- Carter, L. J., Ryan, J. J., & Boxall, A. B. A. (2016). Effects of soil properties on the uptake of pharmaceuticals into earthworms. *Environmental Pollution*, 213, 922–931. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.044>
- Coskun, O. (2016). Separation Techniques: Chromatography. *Northern Clinics of Istanbul*, 3(2), 156–160. <https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>
- de Wilt, A., van Gijn, K., Verhoek, T., Vergnes, A., Hoek, M., Rijnaarts, H., & Langenhoff, A. (2018). Enhanced pharmaceutical removal from water in a three step bio-ozone-bio process. *Water Research*, 138, 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.028>
- Dionísio, J. M. (2019). *Electrokinetic remediation of PPCPs in soil: influence of soil biota and environmental factors*. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa, 88pp.
- DRE. (2019). *Decreto-Lei n.º 119/2019*.
- DrugBank. (2020a). *Caffeine*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00201>
- DrugBank. (2020b). *Carbamazepine*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00564>
- DrugBank. (2020c). *Diclofenac*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00586>
- DrugBank. (2020d). *Estradiol*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00783>

- DrugBank. (2020e). *Ethinylestradiol*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00977>
- DrugBank. (2020f). *Ibuprofen*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01050>
- DrugBank. (2020g). *Oxybenzone*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01428>
- DrugBank. (2020h). *Sulfamethoxazole*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01015>
- DrugBank. (2020i). *Triclosan*. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB08604>
- Ebele, A., Abdallah, M. A., & Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products ( PPCPs ) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 3(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>
- European Commission. (2018a). Proposal for a REGULATION OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on minimum requirements for water reuse. Brussels, 2018. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A52018PC0337>
- European Commission. (2018b). *Regulation (EC) No. 1907/2006*. 2016(68), 48–119.
- FAO. (2011). The state of the world's land and water resources for food and agriculture (SOLAW). In *Managing systems at risk. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Vol. 10907 LNCS*. <http://www.fao.org/3/a-i1688e.pdf>
- FAO. (2017). *Voluntary Guidelines for Sustainable Soil Management. Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Rome, Italy. <http://www.fao.org/3/i6874en/i6874EN.pdf>
- Ferreira, A. R., Couto, N., Guedes, P., Pinto, J., Mateus, E. P., & Ribeiro, A. B. (2018). Electrodealytic 2-compartment cells for emerging organic contaminants removal from effluent. *Journal of Hazardous Materials*, 358, 467–474. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.066>
- Ferreira, A. R., Guedes, P., Mateus, E. P., Couto, N., & Ribeiro, A. B. (2017). Influence of the cell design in the electroremoval of PPCPs from soil slurry. *Chemical Engineering Journal*, 326, 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.05.148>
- Ferreira, A. R., Guedes, P., Mateus, E. P., Ribeiro, A. B., & Couto, N. (2020). Emerging organic contaminants in soil irrigated with effluent: electrochemical technology as a remediation strategy. *Science of the Total Environment*, 743, 140544. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140544>
- Garcia, C. V., & Gotah, A. (2017). Application of QuEChERS for determining xenobiotics in foods of animal origin. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2017, 2603067. <https://doi.org/10.1155/2017/2603067>
- Gill, R. T., Harbottle, M. J., Smith, J. W. N., & Thornton, S. F. (2014). Electrokinetic-enhanced bioremediation of organic contaminants: A review of processes and environmental applications. *Chemosphere*, 107, 31–42. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.019>
- Gomes, J. M. M. (2019). *Influência de parâmetros operacionais na formação de trihalometanos em águas residuais desinfetadas com cloro*. Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa.
- Gonçalves, C. (2020). *Electro-reactor for the removal of PPCPs and microorganisms from effluent : feasibility assessment*. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa.
- González-Naranjo, V., Boltes, K., & Biel, M. (2013). Mobility of ibuprofen, a persistent active drug, in soils irrigated with reclaimed water. *Plant, Soil and Environment*, 59(2), 68–73. <https://doi.org/10.17221/590/2012-pse>
- Guedes, P. A. R. A. (2015). *Electrokinetic treatment of environmental matrices. Contaminants removal and phosphorus recovery*. <https://run.unl.pt/handle/10362/17099>
- Guedes, P., Lopes, V., Couto, N., Mateus, E. P., Pereira, C. S., & Ribeiro, A. B. (2019). Electrokinetic remediation of contaminants of emergent concern in clay soil: Effect of operating parameters. *Environmental Pollution*, 253, 625–635. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.040>
- Guedes, Paula, Mateus, E. P., Almeida, J., Ferreira, A. R., Couto, N., & Ribeiro, A. B. (2016). Electrodealytic treatment of sewage sludge: Current intensity influence on phosphorus recovery and organic contaminants removal. *Chemical Engineering Journal*, 306, 1058–1066. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.08.040>
- Guedes, P., Dionísio, J., Couto, N., Mateus, E. P., Pereira, C. S. & Ribeiro, A. B., (2020). *Electro-bioremediation of a mixture of structurally different contaminants of emerging concern: Uncovering electrokinetic contribution*. *Journal of Hazardous Materials*, 124304. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124304>
- Herrmann, H., & Bucksch, H. (2014). *Water Solubility*. Dictionary Geotechnical Engineering/Wörterbuch GeoTechnik. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-41714-6\\_230714](https://doi.org/10.1007/978-3-642-41714-6_230714)

- Hu, S., Zhang, Y., Shen, G., Zhang, H., Yuan, Z., & Zhang, W. (2019). Adsorption/desorption behavior and mechanisms of sulfadiazine and sulfamethoxazole in agricultural soil systems. *Soil and Tillage Research*, 186, 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.still.2018.10.026>
- Ikehata, K., Jodeiri Naghashkar, N., & Gamal El-Din, M. (2006). Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: A review. *Ozone: Science and Engineering*, 28(6), 353–414. <https://doi.org/10.1080/01919510600985937>
- IRAR. (2007). *Recomendação IRAR n.º 05/2007 Desinfecção da Água Destinada ao Consumo Humano*.
- Jagiello, K., Sosnowska, A., Walker, S., Haranczyk, M., Gajewicz, A., Kawai, T., Suzuki, N., Leszczynski, J., & Puzyn, T. (2014). Direct QSPR: The most efficient way of predicting organic carbon/water partition coefficient (log K<sub>OC</sub>) for polyhalogenated POPs. *Structural Chemistry*, 25(3), 997–1004. <https://doi.org/10.1007/s11224-014-0419-1>
- Kijsamanmith, K., Vongsavan, N., & Matthews, B. (2020). Electroosmosis in human dentine in vitro. *Archives of Oral Biology*, 119(March), 104885. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2020.104885>
- LaboratoryInfo - High Performance Liquid Chromatography (HPLC) : Principle, Types, Instrumentation and Applications. 2020. <https://laboratoryinfo.com/hplc/> (Acedido a 10/09/2020).
- Libutti, A., Gatta, G., Gagliardi, A., Vergine, P., Pollice, A., Beneduce, L., Disciglio, G., & Tarantino, E. (2018). Agro-industrial wastewater reuse for irrigation of a vegetable crop succession under Mediterranean conditions. *Agricultural Water Management*, 196, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.10.015>
- Liu, F., Ying, G. G., Yang, J. F., Zhou, L. J., Tao, R., Wang, L., Zhang, L. J., & Peng, P. A. (2010). Dissipation of sulfamethoxazole, trimethoprim and tylosin in a soil under aerobic and anoxic conditions. *Environmental Chemistry*, 7(4), 370–376. <https://doi.org/10.1071/EN09160>
- Liu, J., & Wong, M. (2013). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs): A review on environmental contamination in China. *Environment International*, 59, 208–224. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.06.012>
- Lopes, V. V. (2018). *Electrokinetic Remediation of PPCPs in Soil : Effect of operating parameters*. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa.
- Lucas, S. D., & Jones, D. L. (2006). Biodegradation of estrone and 17  $\beta$ -estradiol in grassland soils amended with animal wastes. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(9), 2803–2815. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.033>
- Martínez-Hernández, V., Meffe, R., Herrera López, S., & de Bustamante, I. (2016). The role of sorption and biodegradation in the removal of acetaminophen, carbamazepine, caffeine, naproxen and sulfamethoxazole during soil contact: A kinetics study. *Science of the Total Environment*, 559, 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.131>
- Matos, C., Sampaio, A., & Bentes, I. (2012). Greywater Use in Irrigation: Characteristics, Advantages and Concerns. *Irrigation - Water Management, Pollution and Alternative Strategies*. <https://doi.org/10.5772/30026>
- Monte, M. H. M. (2014). Guidelines for good practice of water reuse for irrigation: Portuguese Standard NP 4434. *NATO Security through Science Series C: Environmental Security*, May. Guidelines for Good Practice of Water Reuse for Irrigation: Portuguese Standard NP 4434, pp. 253-265. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6027-4>
- Monte, M. H. M., Santos, M., Barreiros, A., & Albuquerque, A. (2016). Tratamento de águas residuais: operações e processos de tratamento físico e químico. Guide – Artes Gráficas, Lda.
- Nezha, T. J., Wifak, B., Ghachtouli, H. S., & Naïma, E. (2013). Biodegradation: Involved Microorganisms and Genetically Engineered Microorganisms. *Biodegradation - Life of Science*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/56194>
- OMS. (1996). *Désinfection de l'eau*.
- OMS. (2012). *Water quality for drinking: WHO guidelines*. 876–883. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4410-6\\_184](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4410-6_184)
- Pei, M., Zhang, B., He, Y., Su, J., Gin, K., Lev, O., Shen, G., & Hu, S. (2019). State of the art of tertiary treatment technologies for controlling antibiotic resistance in wastewater treatment plants. *Environment International*, 131, 105026. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105026>
- PubChem. (2020). *Bisphenol A*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6623#section=Overview>
- Ravi Sankar, P., Madhuri, B., Naga Lakshmi, A., Pooja, A., Bhargava Sai, M., Suresh, K., & Srinivasa Babu, P.



- (2020). Selected HPLC Applications - Quick Separation Guide: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 60(2), 13-20.  
<https://globalresearchonline.net/journalcontents/v60-2/03.pdf>
- Reddy, K.R. & Cameselle, C. (2009). *Electrochemical Remediation Technologies for Polluted Soils, Sediments and Groundwater*. John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey.
- Sari Erkan, H., Çağlak, A., Soysaloglu, A., Takatas, B., & Onkal Engin, G. (2020). Performance evaluation of conventional membrane bioreactor and moving bed membrane bioreactor for synthetic textile wastewater treatment. *Journal of Water Process Engineering*, 38, 101631.  
<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101631>
- Shu, W., Price, G. W., Jamieson, R., & Lake, C. (2020). Biodegradation kinetics of individual and mixture non-steroidal anti-inflammatory drugs in an agricultural soil receiving alkaline treated biosolids. *Science of the Total Environment*, 755, 142520. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142520>
- Silva, J. M. (2018). *The use of reclaimed wastewater for irrigation purposes: influence on soil capacity for natural attenuation of emerging organic contaminants*. Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa.
- Sui, Q., Cao, X., Lu, S., Zhao, W., Qiu, Z., & Yu, G. (2015). Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. *Emerging Contaminants*, 1(1), 14–24.  
<https://doi.org/10.1016/j.emcon.2015.07.001>
- Thelusmond, J. R., Strathmann, T. J., & Cupples, A. M. (2019). Carbamazepine, triclocarban and triclosan biodegradation and the phylotypes and functional genes associated with xenobiotic degradation in four agricultural soils. *Science of the Total Environment*, 657, 1138–1149.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.145>
- Topp, E., Hendel, J. G., Lu, Z., & Chapman, R. (2006). Biodegradation of caffeine in agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 86(3), 533–544. <https://doi.org/10.4141/s05-064>
- Turtoi, M. (2013). Ultraviolet light potential for wastewater disinfection. *Annals. Food Science and Technology*, 14(1), 153–164.
- WWAP (United Nations World Water Assessment Programme). (2017). *The United Nations World Water Development Report 2017: Wastewater, The Untapped Resource*. Paris, UNESCO.
- UNESCO. (2017). *Wastewater: The Untapped Resource. WWAP (United Nations World Water Assessment Programme) - The United Nations World Water Development Report 2017*, 53(9), 1689–1699.  
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ungureanu, N., & Vladut, V. (2018). *Reuse of Wastewater for Irrigation, a Sustainable Practice in Arid and Semi-Arid Regions*. 7<sup>th</sup> International Conference on Thermal Equipment, Renewable Energy and Rural Development, Drobeta Turnu Severin, Romania, June, 379–384.
- Viecelli, N. C., Baldasso, R. P., Manfredini, K. L., & Filho, I. N. (2014). Bisphenol A in two kinds of soil samples. *Environmental Science and Biological Engineering*, 1, 381–388. <https://doi.org/10.2495/esbe140481>
- Vulava, V. M., Cory, W. C., Murphey, V. L., & Ulmer, C. Z. (2016). Sorption, photodegradation, and chemical transformation of naproxen and ibuprofen in soils and water. *Science of the Total Environment*, 565, 1063–1070. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.132>
- Xu, J., Wu, L., & Chang, A. C. (2009). Degradation and adsorption of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in agricultural soils. *Chemosphere*, 77(10), 1299–1305.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.063>
- Xu, Y., Yu, X., Xu, B., Peng, D., & Guo, X. (2021). Sorption of pharmaceuticals and personal care products on soil and soil components : In fl uencing factors and mechanisms. *Science of the Total Environment*, 753, 141891. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141891>
- Yin, L., Wang, B., Yuan, H., Deng, S., Huang, J., Wang, Y., & Yu, G. (2017). Pay special attention to the transformation products of PPCPs in environment. *Emerging Contaminants*, 3(2), 69–75.  
<https://doi.org/10.1016/j.emcon.2017.04.001>
- Yu, C., & Bi, E. (2019). Adsorption site-dependent transport of diclofenac in water saturated minerals and reference soils. *Chemosphere*, 236, 124256. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.226>
- Zhi, D., Yang, D., Zheng, Y., Yang, Y., He, Y., Luo, L., & Zhou, Y. (2019). Current progress in the adsorption, transport and biodegradation of antibiotics in soil. *Journal of Environmental Management*, 251, 109598.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109598>
- Zhong, X., Downs, C. A., Li, Y., Zhang, Z., Li, Y., Liu, B., Gao, H., & Li, Q. (2020). Comparison of toxicological

effects of oxybenzone, avobenzone, octocrylene, and octinoxate sunscreen ingredients on cucumber plants (*Cucumis sativus* L.). *Science of the Total Environment*, 714, 136879.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136879>