

II-550 - DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS RESIDUAIS EM EFLUENTES DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS

Neyliane Costa de Souza

Química Industrial pela Universidade Federal do Ceará. Mestre em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela Universidade de Federal do Ceará (UFC). Doutoranda em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela UFC.

Germana de Paiva Pessoa

Química Industrial pela Universidade Federal do Ceará. Mestre em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela Universidade de Federal do Ceará (UFC). Doutoranda em Engenharia Civil, área de concentração em Saneamento Ambiental pela UFC.

Francisco Vieira Paiva

Engenheiro civil pela Universidade de Fortaleza (UNIFOR). Mestre em Eng. Civil- Saneamento Ambiental pela UFC. Doutor em Recursos Naturais pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

Joana angélica correia Alves

Aluna de graduação do curso de Engenharia Química (UFC). Bolsista IC-CNPQ.

André Bezerra dos Santos⁽¹⁾

Doutor em Saneamento Ambiental pela Wageningen University - Holanda. Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará.

Endereço⁽¹⁾: Campus do Pici, bloco 713. Pici. Fortaleza-Ceará-Brasil. CEP: 60.455-900 - Tel: (85) 3366-9490 - e-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

Fármacos e poluentes orgânicos persistentes são classes de substâncias muito investigadas, devido, principalmente, aos seus possíveis efeitos adverso ao meio ambiente e à saúde pública. Entretanto, a detecção e quantificação de fármacos a níveis traços em amostras aquosas ambientais é uma área que ainda está se difundindo. Neste estudo, buscou-se desenvolver um método de identificação e concentração dos fármacos dipirona, diclofenaco de sódio, etinilestradiol e cafeína presentes em amostras de efluentes sanitários e hospitalar por meio da técnica de extração em fase sólida (SPE), assim como a quantificação dos compostos pelo uso da técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS). As amostras foram coletadas em três Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) da Região Metropolitana de Fortaleza: Sistema Integrado do Distrito Industrial (SIDI), Estação de Pré-Condicionamento (EPC) e Hospital Geral Waldemar de Alcântara (HGWA). Foram realizados estudos das condições instrumentais e experimentais para proporcionar a detecção da maioria dos compostos. Na avaliação do GC/MS foram identificados compostos farmacêuticos e hormônios em todas as amostras estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: Fármacos residuais, efluentes sanitários, micropoluentes, poluentes orgânicos.

INTRODUÇÃO

Desde o final do século passado que os produtos da indústria química e farmacêutica, tais como medicamentos, desinfetantes, detergentes, surfactantes, pesticidas, corantes, tintas, conservantes, aditivos alimentares e produtos para cuidados pessoais são estudados por constituírem um novo tipo de poluição ambiental e risco à saúde humana (Kummerer, 2011). Centenas de toneladas de produtos farmacêuticos são anualmente descartadas no meio ambiente, quer em sua forma original ou já metabolizada.

Segundo Ponezzi *et al.* (2007), trabalhos de pesquisas no campo de análise química têm relatado a presença de fármacos como antibióticos, hormônios, anestésicos, depressivos, antiinflamatórios, dentre outros, em esgoto doméstico, em águas superficiais e sedimentos. A falta de identificação e quantificação da maioria destes micropoluentes presentes em matrizes ambientais é preocupante, por conta dos efeitos adversos que estas substâncias podem causar nos organismos expostos, mesmo em concentrações a níveis de traços. Dados conclusivos revelam que alguns fármacos promovem efeitos tóxicos em organismos vivos, mesmo em baixas concentrações (Andreozzi *et al.*, 2003).

A comunidade científica está de acordo com a ampla possibilidade de que a presença de produtos farmacêuticos possam causar efeitos adversos, não só para a saúde humana, mas também para os organismos aquáticos.

Vários, e quase insignificantes efeitos são notados a partir de exposição contínua durante o ciclo de vida de vertebrados aquáticos e invertebrados a concentrações sub-terapêuticas de drogas. Entretanto, tais efeitos se acumulam lentamente e se manifestam em uma condição final irreversível, que só é freqüentemente notada depois de várias gerações futuras, assim afetando a sustentabilidade populacional dos organismos aquáticos (Santos *et al.*, 2010). De acordo com Sanderson *et al.* (2004), farmacêuticos são fabricados com a intenção de causar um efeito biológico, portanto, muitas vezes eles têm tipos semelhantes de comportamento físico-químico que são prejudiciais e característicos dos xenobióticos, são relativamente persistentes, pois são produzidos para serem ativos até alcançarem o efeito terapêutico. Segundo Gil e Mathias (2005), um impacto ambiental de relevância em saúde pública é o desenvolvimento da resistência. Estima-se que 55% de todos os microrganismos apresentem resistência a pelo menos um antibiótico.

Alguns agentes terapêuticos e farmacêuticos são classificados como desreguladores ou interferentes endócrinos, como os estrogênios sintéticos usados como contraceptivos orais, na reposição terapêutica da menopausa ou na prevenção do aborto, tal como o 17 α -etinilestradiol, que tem sua maior aplicação médica em pílulas contraceptivas, em uma quantidade aproximada de 30 a 50 μ g de 17 α -etinilestradiol por pílula (Bila e Dezotti, 2007). De acordo com Giselle e Jardim (2007), alguns pesquisadores definem um interferente endócrino com base nos seus efeitos, ou seja, trata-se de uma substância química que, mesmo presente em concentração extremamente baixa, é capaz de interferir no funcionamento natural do sistema endócrino causando câncer e prejudicando o sistema reprodutivo.

Conforme Heberer (2002), a ocorrência e destino dos compostos farmacologicamente ativos (PhAC's) no ambiente aquático tem sido reconhecida como uma das questões emergentes na química ambiental. Em algumas investigações realizadas na Áustria, Brasil, Canadá, Croácia, Inglaterra, Alemanha, Grécia, Itália, Espanha, Suíça, Holanda, e os EUA, foram detectados no ambiente aquático mais de 80 compostos, medicamentos e metabólitos de drogas diversas.

Os processos convencionais de tratamento apresentam escassa utilidade na remoção deste tipo de poluente. Nos processos biológicos, por exemplo, a eficiência de degradação é fortemente influenciada pela presença de outros macro-constituintes, o que faz com que a degradação dos fármacos, além de ocasional, seja apenas parcial (Da Cruz *et al.*, 2010).

Neste estudo, buscou-se desenvolver um método de identificação e concentração dos fármacos: dipirona, diclofenaco de sódio, etinilestradiol e cafeína, presentes em amostras de efluentes sanitários e hospitalar por meio da técnica de extração em fase sólida (SPE), assim como a quantificação dos compostos pelo uso da técnica de Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS).

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e coleta das amostras

As amostras de efluentes foram coletadas em três ETE's da Região Metropolitana de Fortaleza: Sistema Integrado do Distrito Industrial (SIDI), Estação de Pré-condicionamento (EPC), e Hospital Geral Waldemar de Alcântara (HGWA). As coletas foram realizadas no período de maio a julho para a ETE- EPC; de junho a agosto para a ETE-HGWA; e de julho a setembro de 2009 para a ETE-SIDI, no total de quatro coletas para cada ETE.

As amostras foram coletadas em baldes de alumínio com volume de 10 litros, a partir dos quais eram distribuídas em frascos de vidro âmbar que tinham pH ajustado para 3,0 com gotas de ácido clorídrico concentrado. As amostras foram acondicionadas em gelo durante o transporte até o Laboratório de Saneamento (Labosan), do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da UFC, sendo que o tempo limite de preservação das amostras era de 48 horas sob refrigeração (APHA, 2005).

Extração em fase-sólida

A pré concentração dos analitos por extração em fase sólida, foi realizada de acordo com adaptação da metodologia de outros trabalhos (Ternes *et al.*, 2001; Queiroz *et al.*, 2001; Bila, 2005). O cartucho utilizado foi o C18 - Octadecil silano – DSC 18 de 500 mg e 6 mL, condicionado com hexano, acetona, metanol e água miliQ acidificada. Um volume de 1L de amostra foi extraída em aparelho *Vacuum Manifold* da Supelco e, após a extração, o cartucho foi secado à vácuo por 30 minutos. Os cartuchos foram eluídos com 2 mL de metanol e 2 mL de acetona, sendo o extrato final evaporado em estufa a 60° C, derivatizado com 100µL do derivatizante MBTSTFA com 1%TBDMCS (N-ter-butildimetilsilil N-trimetilfluoroacetamida com 1% ter-butildimetilclorosilano), sendo finalmente colocado em banho-maria a 75°C por 3 horas.

Análise no GC-MS

A análise qualitativa e quantitativa dos fármacos foi desenvolvida utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa (GC/MS 2010 Plus, SHIMADZU) com programação de temperatura em condições específicas para o método usado “HormFarmMS.qgm”, apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Condições operacionais do GC/MS para fármacos.

PARÂMETROS DO GC/MS	PROGRAMA
Temperatura do Injetor	280° C
Temperatura inicial coluna	80° C
Temperatura da fonte íons	200° C
Temperatura da interfase	290° C
Tempo de corte do solvente	3 min
Volume de injeção	1 µL
Modo de injeção	Split 1:50
Gás de arraste	Hélio
Coluna	RTX- 5MS
Fluxo da coluna	1,93 mL/min
Rampa de aquecimento da coluna	80°C Tx: 40°C/min a 130°C Tx:10°C/min à 280° C (4 min) Tx 10° C à 300° C (1 min)
Pressão	130 kPa/min
Método de ionização	EI
Modo de aquisição	SCAN
m/z inicial	40
m/z final	450

Quantificação dos fármacos

As curvas analíticas foram preparadas pelo método do padrão externo, com injeções em duplicatas, dos padrões disponíveis de fármacos (dipirona, diclofenaco, etinilestradiol e cafeína). Para isso, foram preparadas soluções-estoque em metanol para os supracitados compostos. A partir destas, foi preparada uma solução multielementar de concentração 500 mg/L e, em seguida, preparadas soluções padrões de 10-100 mg/L, armazenadas em frascos de vidro a 10°C. Os coeficientes de correlação das curvas obtidas foram acima de 0,99 para todos os fármacos.

Foram realizados cálculos de recuperação dos fármacos no cartucho C18, preparados com água miliQ com um nível de concentração de 20 ppm e obtidos um percentual de recuperação de 29%, 50%, 45,5% e 83 % para o dipirona, diclofenaco de sódio, etinilestradiol e cafeína, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análises qualitativas no GC/MS

As análises cromatográficas qualitativas realizadas no GC/MS em sua maioria foram comparativas, usando dados da biblioteca NIST/2005. Apesar de não fornecerem total segurança de identificação, considerou-se um percentual de similaridade de 70 a 100%. Considerou-se também o tempo de retenção para os padrões disponíveis (dipirona, etinilestradiol, diclofenaco de sódio e cafeína), além dos íons de quantificação - m/z(1), e

de identificação - m/z (2). Os possíveis ou mesmo prováveis compostos farmacêuticos nas amostras das ETE's em estudo estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Análise qualitativa dos efluentes das ETE's, a partir da biblioteca NIST05.LIB do GC/MS e padrões disponíveis.

ETE	Compostos identificados
EPC	Cafeína, diclofenaco de sódio, labetalol, colestano, aziridina, pirole/azole, ácido ascórbico, etinilestradiol,
SIDI	Ibuprofeno, captopril, tranilcipromina, ácido cítrico (citrato), cafeína, benzoxazole.
HGWA	Cafeína, ácido cítrico, piperidina, oxindol, cinoxato, colesterol, coprostanol, amidrine, antipirina, dipirona, furazabol.

O citrato, comumente usado em alimentos, cosméticos, farmacêuticos, bem como na indústria de plástico foi encontrado nas amostras coletadas no SIDI e HGWA.

As amostras coletadas no SIDI também revelaram a presença de possíveis fármacos e intermediários como: ibuprofeno, captopril, benzoxazole, 1-etil benzimidazole, tranilcipromina ou 2-fenilciclopropilamina (PCPA; Parnate). O benzoxazole é um composto heterocíclico, usado em pesquisas como matéria-prima para a síntese de estruturas maiores, assim como pode estar presente na estrutura química de fármacos (flunoxapron). O captopril é um medicamento indicado para tratamento de Hipertensão arterial, e o ibuprofeno é a terceira droga mais utilizada no mundo, administrada em elevadas quantidades como antiinflamatório.

Na ETE-HGWA foram detectados analgésicos e antipiréticos como a antipirina ou fenazona, também foi identificado os medicamento amidrine e dipirona. Segundo Santos *et al.* (2010), a ETE de efluente de hospital assim como de indústria, devem seguir um tratamento adequado de acordo com suas especificidades como biodegradabilidade, hidrofobicidade e coeficientes de adsorção para os tipos de resíduos ou drogas administradas. De acordo com Pamplona *et al.* (2011), a dipirona é uma das drogas mais comumente encontradas em efluentes hospitalares, sendo que a presença de seus metabólitos é também relatada em efluentes e águas superficiais por muitos autores. Apesar do fato de que a dipirona é uma droga amplamente utilizada no Brasil e em outros países da América do Sul, não existem estudos sobre seu destino no ambiente, nem sobre seus efeitos tóxicos para organismos.

A amostra da ETE-EPC foi a que apresentou a maior quantidade de possíveis esteróides e hormônios, devido ao fato de a ETE receber esgotos basicamente domésticos e por ser uma estação de pré-condicionamento, sendo removidos basicamente sólidos grosseiros e areia. Pode-se afirmar que estes estrogênios são naturalmente e diariamente excretados na urina humana e, assim, descartados no esgoto doméstico. O 17 α -etinilestradiol ou etinilestradiol é um dos estrogênios sintéticos mais usados em contraceptivos orais (Bila e Dezotti, 2007) sendo também excretado na urina e considerado como um desregulador endócrino.

A presença de cafeína em todas as amostras é também preocupante por ser uma substância solúvel em água e lentamente degradada. Segundo Gonçalves *et al.* (2008), a cafeína é um alcalóide pertencente ao grupo das metilxantinas, composto estimulante, muito persistente no meio devido à sua estabilidade e ter também alta solubilidade em água (21,7 g. L⁻¹). Tal composto também pode ser utilizado como um potencial traçador químico de poluição já que dentre as metilxantinas existentes na natureza é a que mais prevalece na dieta humana (Silva e Augusto, 2006), e, além disto, estar presente na maioria dos medicamentos analgésicos. As leis ambientais existentes ainda não determinam a concentração de cafeína permitida para descarte de um efluente.

Análises quantitativas

Apesar dos vários compostos identificados mostrados na Tabela 2, as análises quantitativas somente foram realizadas para os padrões disponíveis: diclofenaco de sódio, dipirona, cafeína e etinilestradiol. Todas as amostras coletadas apresentaram um fármaco ou hormônio selecionado para o estudo. Segundo Smital *et al.*

(2011), a capacidade limitada dos laboratórios para atividades de análises de acompanhamento de possíveis contaminantes emergentes, são geralmente restritos a um número relativamente pequeno de análises. Como consequência, a ocorrência de substâncias potencialmente tóxicas e outros poluentes prioritários em locais expostos à contaminação química é freqüentemente negligenciado e o perigo potencial que representa para o ambiente e a saúde humana amplamente subestimados.

Na amostra da ETE-EPC constatou-se 1,2 e 1,6 µg/L para o etinilestradiol e diclofenaco de sódio respectivamente. Para a amostra da ETE-SIDI somente detectou-se a cafeína em uma concentração de 60,5 µg/L. Na amostra da ETE-HGWA foi constatada a presença dos fármacos diclofenaco de sódio e dipirona, em concentrações elevadas de 4,46 e 20,8 µg/L respectivamente, por se tratar de esgoto hospitalar.

Estudos realizados por Pamplona *et al.* (2011) demonstraram que peixes expostos em três concentrações de dipirona 0,5, 5 e 50 µg / L, na água por 15 dias, mostraram danos ao DNA na menor concentração de dipirona e significativos danos renais. Além disso, houve decréscimo de hematócrito, glóbulos vermelhos e nas contagens de plaquetas em todos os três grupos expostos em relação ao grupo controle, portanto sugerindo que a constante exposição de organismos aquáticos a dipirona apresenta os potenciais efeitos tóxicos.

CONCLUSÕES

A metodologia proposta foi capaz de identificar por CG-MS compostos farmacêuticos e hormônios em amostras complexas como a dos efluentes das ETE's selecionadas.

Foram identificados fármacos, hormônios e metabólitos em todas as amostras de efluente das ETE's, além de cafeína e colesterol em concentrações consideráveis.

Foram encontradas baixas concentrações de fármacos e hormônio selecionados, no entanto não se sabe dos possíveis efeitos adversos no ambiente aquático que estes efluentes são lançados, principalmente em rios com baixa capacidade de diluição.

Os tratamentos empregados nas ETE's em estudo, não foram suficientes para total remoção de fármacos e hormônios, portanto faz-se necessário a realização de estudos que apontem os níveis de eficiência de várias tecnologias de tratamento de esgotos, assim como estudos de pós-tratamento.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Processo nº. 577000/2008-2) pelo apoio financeiro para realização da pesquisa, à Companhia de Água e Esgotos do Ceará (CAGECE), e à CAPES pela concessão das bolsas de doutorado e ao CNPq pela concessão da bolsa IC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, 21th, 2005.
2. ANDREOZZI, R.; CAPRIO, V.; MAROTTA, R.; VOGNA, D. Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H₂O₂/UV system Water Research. n. 37, p. 993–1004, 2003.
3. BILA, D. M. Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17β-Estradiol pelo Processo de Ozonização. Rio de Janeiro. 2005. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro 2005.
4. BILA, D. M.; E DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. Quim. Nova, Vol. 30, No. 3, p. 651-666, 2007.
5. DA CRUZ, L. H.; HENNING, F. G.; DOS SANTOS, A. B.; PERALTA-ZAMORA, E. P. Degradação fotocatalítica de sulfametoxazol, trimetoprima e diclofenaco em solução aquosa. Quim. Nova, vol. 33, no. 6, p. 1270-1274, 2010.
6. GHISELLI, G.; JARDIM, W. J. Interferentes endócrinos no ambiente. Química nova, v. 30, n. 3, p. 695-706, 2007.
7. GIL, E. D. S.; MATHIAS, R. O. Classificação e riscos associados aos resíduos químicos- Farmacêuticos. Revista Eletrônica de Farmácia 2: 87-93 p. 2005.

8. GONÇALVES, M. GUERREIRO, M. C.; OLIVEIRA, L. C. A.; ROCHA, C. L. Materiais à base de óxido de ferro para oxidação de compostos presentes no efluente da despolpa do café. *Química nova*, v. 31, p. 1636-1640, 2008.
9. HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology Letters**, v. 131, n. 1-2, p. 5-17, 2002.
10. KUMMERER, K. Emerging contaminants. *Treatise on Water Science* v. 3, p. 69-87, 2011.
11. PAMPLONA, J. H.; OBA, E. T.; DA SILVA, T. A.; RAMOS, L. P.; RAMSDORF, W. A.; CESTARI, M. M.; RIBEIRO, C. A. O.; ZAMPRONIO, A. R.; DE ASSIS, H. C. S. Subchronic effects of dipyrone on the fish species *Rhamdia quelen*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, p. 342-349, 2011.
12. PONEZI, A. N.; DUARTE, M. C. T.; CLAUDINO, M. C., *Fármacos em Matrizes Ambientais CPQBA UNICAMP*, 2007.
13. QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Química Nova*, v.24, n.1, 2001, p. 68-76.
14. SANDERSON, H.; BRAIN, R. A.; JOHNSON, D. J.; WILSON, C. J.; SOLOMON, K. R. Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. *Toxicology*, v. 203, n. 1-3, p. 27-40, 2004.
15. SANTOS, L. H. M. L. M. et al. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, v. 175, n. 1-3, p. 45-95, 2010.
16. SILVA, R. G. D. C.; AUGUSTO, F. Metodologia para determinação de caféina em águas naturais por MISPE-HPLC-UV. 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ), S. B. D. Q. 2006.
17. SMITAL, T. et al. Assessment of toxicological profiles of the municipal wastewater effluents using chemical analyses and bioassays. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 74, n. 4, p. 844-851, 2011.
18. TERNES, T.A. Analytical methods for the determination of pharmaceutical in aqueous environmental samples. Elsevier Science, trends in anal. chem., v.20, n.8, 2001.