

II-132 – SCREENING PRELIMINAR DOS CONTAMINANTES EMERGENTES ENCONTRADOS EM ETES DA REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE-PE EMPREGANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO**Rogério F. da Silva**⁽¹⁾

Bacharel em Química pela Universidade Federal de Pernambuco. Mestrando em Química Pelo DQF/UFPE

Paula Tereza S. Silva⁽²⁾

Doutora em Química pelo DQF/UFPE. Pesquisadora da EMBRAPA Semiárido.

Luann Karlos Alves da Silva⁽¹⁾

Técnico em Química pelo IFPE. Graduando em Engenharia Química Pelo DEQ/UFPE.

Ana Paula Paim⁽³⁾

Doutora em Ciências (Energia Nuclear na Agricultura) pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo. Professora Adjunta III do DQF/UFPE.

Valdinete Lins da Silva⁽¹⁾

Doutora em Ciências pela Universidade Estadual de Campinas. Professora Titular do DEQ/UFPE

Endereço⁽¹⁾: Rua Teresa Mélia s/n Cidade Universitária 50740-521 - Recife, PE – Brasil Telefone: (081) 8121268711 Fax: (081) 8121267278 – e-mail: rogerio1986@gmail.com**RESUMO**

A Organização Mundial de Saúde (OMS) afirma que grande parte das doenças que acometem a população mundial é provocada por águas contaminadas. A comunidade científica vem também chamando a atenção para a presença de micropoluentes em nível de ng.L^{-1} e $\mu\text{g.L}^{-1}$, tais como: os interferentes endócrinos, fármacos, produtos de cuidado pessoal e de limpeza e subprodutos da desinfecção de água potável. Muitas pesquisas vêm sendo realizadas em vários países comprovando a presença desses micropoluentes em águas naturais, efluentes de ETE e águas de abastecimento público. No Brasil, apenas as cidades de Campinas, Ouro Preto e Rio de Janeiro fizeram tais determinações preliminarmente. Devido às baixas concentrações, o desenvolvimento de métodos analíticos robustos é desafiador. O objetivo deste trabalho é realizar um levantamento “screening” dos contaminantes emergentes de três ETEs (Cabanga, Caçote e Mangueira) na região metropolitana de Recife-PE, cada uma com um processo de tratamento diferente. Coletas mensais estão sendo realizadas na entrada e saída destas estações. Os contaminantes foram extraídos por extração líquido-líquido e identificados com um LC-MS/IT-TOF com interface ESI da Shimadzu. As condições cromatográficas foram: coluna Phenomenex gemini C18 3 μm 50 x 2,1 mm, fase móvel (água e metanol grau HPLC com 1% de ácido fórmico), vazão da fase móvel 0,2 mL/min e volume de injeção 5 μL . Quanto ao espectrômetro de massa, a fonte de ionização utilizada foi ESI, tempo de acumulação dos íons no octopolo de 50 ms, adquiriram-se os espectros no modo negativo e positivo. Os contaminantes mais encontrados foram: cafeína, dietilftalato, nonilfenol, droga ilícita, 17 α -etinilestradiol e diclofenaco. Com os resultados obtidos, daremos início à quantificação de cada substância encontrada.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminantes Emergentes, ETE, Screening, LCMS-IT-TOF**INTRODUÇÃO**

As atividades humanas e industriais são as principais responsáveis pela poluição das águas. Essas atividades geram rejeitos com uma imensa diversidade de poluentes, comprometendo o corpo hídrico (rios, lagos e reservatórios). Esses rejeitos compreendem cerca de 50% da carga poluidora do planeta, merecendo atenção dos órgãos de Legislação Ambiental [1].

O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) através da resolução CONAMA 357/05 estabeleceu limites para lançamentos de efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) em corpos receptores, segundo os quais os parâmetros físico-químicos exigidos para descarte de efluentes são: pH (5-9), temperatura inferior a 40 °C, materiais sedimentáveis até 1 mL.L^{-1} em teste de 1 hora em cone Imhoff, óleos minerais até 20 mg.L^{-1} , óleos vegetais e gorduras animais até 20 mg.L^{-1} , ausência de materiais flutuantes.

No art. 27 desta resolução está estabelecido que é vedado o lançamento de Poluentes Orgânicos Persistentes (POP) – mencionados na Convenção de Estocolmo e ratificada pelo Decreto Lei 204 /2004. No seu art. 28, os efluentes não poderão conferir ao corpo d'água características em desacordo com as metas obrigatórias progressivas, intermediárias e finais, do seu enquadramento.

Os contaminantes emergentes são micropoluentes que não são comumente monitorados uma vez que não têm uma legislação correspondente, embora apresentem risco à saúde. Pertence a classe dos contaminantes emergentes: os produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP), indicadores de atividade antrópica, subprodutos industriais, hormônios naturais e drogas ilícitas. Atualmente, sabe-se pouco sobre os efeitos destes contaminantes em águas naturais, embora muitos deles sejam classificados como interferentes endócrinos. [2]

Os interferentes endócrinos (IE) vêm trazendo preocupações devido a sua interferência no sistema endócrino. Embora já existissem, desde o início do século XX, hipóteses prevendo alterações no funcionamento do sistema endócrino de algumas espécies animais expostas a determinadas substâncias químicas tóxicas, apenas recentemente esta importante questão tem recebido atenção por parte da comunidade científica, principalmente devido ao número crescente de publicações que relatam o aumento da incidência de disfunções no sistema endócrino de seres humanos (incluindo a infertilidade masculina) e, mais significativamente, efeito fisiológico adverso observado em espécie animal para as quais a relação causa/efeito é mais evidente. De fato, as evidências observadas em estudos envolvendo moluscos, crustáceos, peixes, répteis, pássaros e alguns mamíferos têm sugerido que possíveis alterações de saúde humana envolvendo o sistema reprodutivo tais como o câncer de mama e de testículo, podem estar relacionadas à exposição a tais substâncias [1,2].

Um grave problema para a qualidade da água é a descarga de esgoto sem nenhum tratamento domiciliar em rios e represas que abastecem as cidades e irrigam as plantações, embora as ETE disponham de diversas formas de tratamento, estas são insuficientes para garantir a ausência de poluição, sendo necessário muitas vezes recorrer a um tratamento de polimento como, por exemplo, os Processos Oxidativos Avançados (POA). Tais processos degradam a matéria orgânica formando produtos menos poluentes.

O destino de um composto no sistema de tratamento é ditado pela sua estrutura química, que influencia significativamente na sua taxa de degradação e remoção. Compostos simples, que possui uma cadeia alquílica curta, é passível de ser facilmente degradado em um sistema de tratamento biológico. Por outro lado, estruturas complexas de alguns fármacos apresentam baixas eficiências de remoção, sobretudo em sistemas de tratamento biológico. A presença de anéis aromáticos nas estruturas dessas substâncias as torna recalcitrantes ao tratamento, principalmente aqueles que empregam o metabolismo anaeróbico. Assim também acontece com moléculas que contêm átomos de cloro ou grupos nitro ligados a anéis aromáticos, sabidamente recalcitrantes aos processos biológicos de tratamento. [3]

Diante desse cenário, é notória a gravidade da situação com relação à disponibilidade e qualidade das águas, proveniente de lançamentos nos cursos d'água, de cargas poluidoras provenientes de esgotos urbanos e industriais. No Brasil, estão sendo realizados estudos ainda preliminares; e vem sendo desafiante a identificação e o monitoramento desses compostos que geralmente se apresentam em baixas concentrações (na faixa de $\mu\text{g l}^{-1}$ a ng l^{-1}) em águas naturais, ETE, estações de tratamento de água (ETA), solos e sedimentos, pois exigem métodos analíticos de elevada sensibilidade e resolução. Em São Paulo, já foram constatados avançados estágios de degradação de mananciais. Em Pernambuco, somente 30% dos esgotos gerados possuem rede coletora pública, sendo geralmente restrita a capital, Recife, e bairros onde reside a população de maior poder aquisitivo. [3]

Nesse trabalho está sendo avaliada a presença desses contaminantes em três ETE do estado de Pernambuco, utilizando a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução (CLAE-EM). As três ETE que estão sendo estudadas são: Cabanga, Caçote e Mangueira, cada uma delas apresentam processos de tratamentos de efluentes diferentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os pontos de amostragem são apresentados na Tabela 1 e Figura 1, bem como seus respectivos tratamentos.

Tabela 1- Pontos de amostragem e seus respectivos tratamentos de esgoto

ETEs	Tipo de tratamento
ETE Cabanga	Tratamento primário
ETE Mangueira	Reator anaeróbio de fluxo ascendente mais Lagoa de estabilização
ETE Caçote	Lodo ativado



(a)



(b)



(c)

Figura 1: (a) ETE Cabanga, (b) ETE Mangueira e (c) ETE Caçote

Os materiais e vidrarias utilizados na coleta e extração das amostras foram lavados com água, detergente, deixados por 24h em HNO₃(10%) e, em seguida, água deionizada. Foram coletados dois litros de amostras em garrafas de polipropileno e congeladas a fim de preservá-las até o momento da filtração e extração. Por mês eram coletadas 7 amostras incluindo entrada e saída. Na ETE Mangueira, foram coletadas duas saídas por conta dos dois tratamentos.

Extração e concentração dos compostos de interesse

Em um funil de separação de 2 L, adicionou-se 1 L da amostra e 60 mL de diclorometano. A mistura foi agitada vigorosamente por cerca de 2 minutos e deixada em repouso até a separação completa das fases. A fase orgânica foi passada por um funil contendo lã de vidro e sulfato de sódio anidro e recolhida em um balão de fundo chato e boca esmerilhada de 250 mL, adicionaram-se mais 60 mL de diclorometano e o procedimento foi repetido por mais uma vez totalizando um volume de 180 mL de extrato orgânico. O volume final de extrato obtido foi concentrado em rota-evaporador a 40 ± 1°C. O extrato concentrado foi transferido para um balão de 5 mL e o volume foi aferido com metanol.

Análise por LC/MS- IT- TOF

Foram monitorados 16 contaminantes emergentes: cafeína, dibutilftalato, dietilftalato, nonilfenol, progesterona, 17 α -etenilestradiol, 17 β -estradiol, droga ilícita, clorafenicol, tetraciclina, oxitetraciclina, amoxicilina, ampicilina, AAS, paracetamol e diclofenaco, utilizando o LC-MS/IT-TOF (Figura 2).

As condições cromatográficas estabelecidas foram: coluna Phenomenex gemini C18 3 μ m 50 x 2,1 mm, fase móvel (água e metanol grau HPLC com 1% de ácido fórmico), vazão da fase móvel 0,2 mL/min e volume de injeção 5 μ L. Em relação ao espectrômetro de massa, a fonte de ionização utilizada foi ESI, fluxo de gás de nebulização N₂ igual a 1,5L/min, pressão do gás de secagem N₂ igual a 100 kPa, temperatura de interface (CDL- curved dissolution time) igual a 200°C, tempo de acumulação dos íons no octopolo de 50 ms, os espectros de massa foram adquiridos no modo negativo e positivo com varredura na faixa de 100-500 m/z.



Figura 2- LC-MS/IT-TOF (Shimadzu)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foram injetados os padrões para conhecer o m/z do íon precursor e com isso pode-se identificar a presença do contaminante na amostra. Na Tabela 2, encontram-se m/z medidos dos padrões, o calculado pelo programa Formula predictor. Através deles pode-se iniciar o processo de “screening” caracterização dos esgotos. Dentre os compostos encontrados na Tabela 2, só o nonilfenol apresentou uma grande diferença entre as massas, mas mesmo assim está dentro do erro aceitável do equipamento que é 20 mDa.

Tabela 2- Resultados do m/z medido dos contaminantes emergentes

Composto	m/z medido	m/z calculado	Diferença (mDa)	Ionização
Caféina	195,0843	195,0877	3,4	+
Dibutilftalato	279,1563	279,1597	3,4	+
Dietilftalato+Na	245,0747	245,0750	0,3	+
Nonilfenol	219,1777	219,1574	20,0	-
Progesterona	315,2263	315,2319	5,6	+
17 α – etinilestradiol	295,1712	295,1704	0,8	-
17 β – estradiol	271,1727	271,1704	2,3	-
Droga ilícita	304,1513	304,1543	3	+
Clorafenicol	321,0059	321,0051	0,8	-
Tetraciclina	445,1748	445,1605	14,3	+
Oxitetraciclina	461,1568	461,1555	1,3	+
Amoxicilina	397,1461	397,1302	15,9	+
Ampicilina	350,1214	350,1169	4,5	+
AAS	137,0267	137,0231	3,6	-
Paracetamol	150,0597	150,0561	3,6	-
Diclofenaco	294,0096	294,0094	0,2	-

Dentre os contaminantes estudados, o dietilftalato, nonilfenol, droga ilícita, tetraciclina, ampicilina e amoxicilina foram encontrados em 100% das amostras. Resultados similares foram obtidos por (Glassmeyer *et al.*, 2005; Sodré *et al.* 2007) [1, 2]. Em relação aos fármacos, esses e seus metabólicos vêm chamando muita atenção, pois resistem à decomposição podendo causar sérios riscos à espécie humana, ao ecossistema e contribuir para o aumento da resistência a antibióticos [3,4]. Os fármacos podem passar para a rede de esgoto através de urina, fezes de humanos e animais ou pelo lançamento inadequado desses no meio ambiente. Quanto à presença da droga ilícita, estudos recentes por pesquisadores em Brasília, detectaram a presença de cocaína no esgoto de Brasília. Através desse estudo pesquisadores conseguiram localizar pontos de consumo e produção de cocaína [5]. Em relação ao nonilfenol, esse apresenta uma variedade de aplicações, incluindo detergentes industriais e domésticos, lubrificantes, emulsificantes e estão presentes em formulações de pesticidas, de tintas e de produtos de uso pessoal (maquiagem, cremes de pele, produtos para cabelo e banho). Nas ETE, os alquilfenóis polietoxilatos (AP) são inicialmente biodegradados, derivando em metabólitos persistentes e altamente lipofílicos, incluindo alquilfenóis etoxilatos e, finalmente, nos alquilfenóis, tais como nonilfenol (NP) e octilfenol (OP). Estes metabólitos são freqüentemente detectados nos efluentes de ETE e águas superficiais, sendo também relatados seus efeitos em organismos expostos a essas substâncias estrogênicas. Já os ftalatos, nesse trabalho o dietilftalato, sua presença nas ETE deve-se a papel reciclável,

filmes plásticos, alimentos e outros plásticos. Abaixo segue o cromatograma e um espectro obtido do AAS, o mesmo foram obtidos para os demais contaminantes, figura 3.

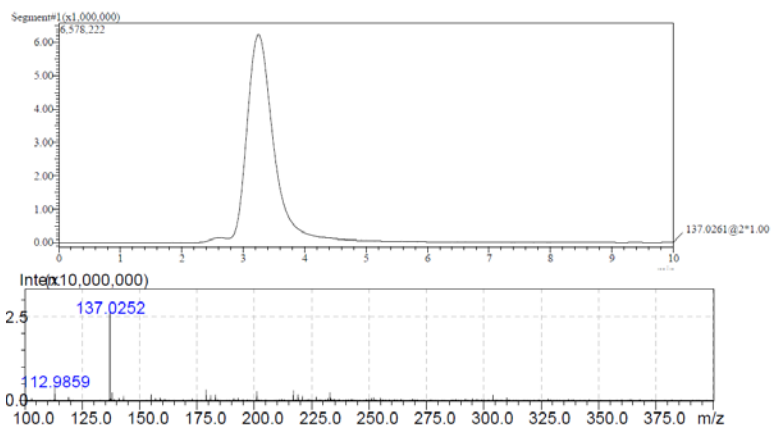


Figura 3: Cromatograma e espectro de massa do AAS

Na (Figura 4), analisando a PCA1 e PCA2 pode-se explicar 48% das informações dos dados. Observando a (Figura 4a), o gráfico dos scores indica pouca eficiência dos tratamentos de esgoto adotados. A ETE Mangueira demonstrou ser a mais eficiente, pois existe certa distância entre o efluente de entrada e saída. Nessa ETE, dois tratamentos são adotados (Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Lagoa de Estabilização), levando a um melhor abatimento desses contaminantes. Em relação à (Figura 4b), dos loadings, há uma distribuição heterogênea da presença dos contaminantes nos efluentes de entrada e saída das ETES. Grande concentração dos fármacos e da presença da droga ilícita está presente na maioria dos efluentes oriundos da entrada e saída da ETE mangueira. As amostras continuam sendo coletadas para se ter um mapeamento maior da situação dessas ETES estudadas do estado de Pernambuco.

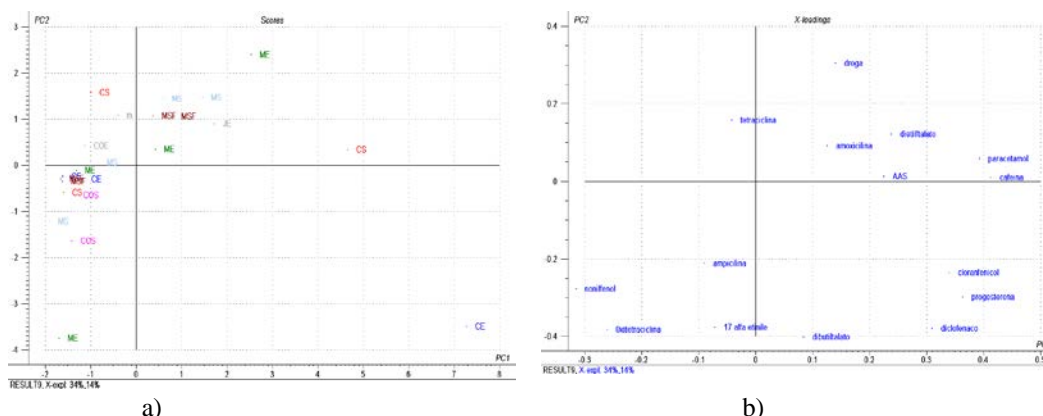


Figura 4: Análise de componentes principais scores (a) e loadings (b) em relação às amostras e os 15 contaminantes emergente

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

Foi detectada com maior a frequência a presença dos seguintes contaminantes emergentes nos efluentes de entrada e saída das ETES: dietiltalato, nonilfenol, droga ilícita, tetraciclina, ampicilina e amoxicilina. Embora, outros compostos também foram identificados com menor frequência como: amoxilina, oxitetraciclina, progesterona e cloranfenicol. Através desse “screening” iremos quantificar esses contaminantes no esgoto. Os procedimentos analíticos se mostraram eficientes para identificação desses contaminantes na análise dos efluentes domésticos (bruto e tratado).

Com relação aos processos geralmente empregados nas ETEs ficou comprovada a ineficiência deste tipo de tratamento empregado na remoção dos contaminantes.

O uso da extração líquido-líquido, associada à cromatografia líquida e espectrometria de massa e alta resolução possibilitaram identificar os contaminantes emergentes.

Com o espectrômetro de massa de alta resolução podemos realizar o primeiro trabalho de identificação dos contaminantes emergentes no estado de Pernambuco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sodré, F.F; Montagner, C.C, Locatelli, M.A.F; Jardim, W.F. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil). J. Braz. Soc. Ecotoxicol, v.2, n.2, p. 187-196, 2007.
2. Glassmeyer, S.T; Furlong, E.T; Kolpin, D; Cahill, j; Zaugg, S; Werner,S; Meyer,M; Kryak, D. Transport of chemical and microbial compounds from known wastewater discharge: potential for use as indicators of human fecal contamination. Environmental Science Technology, 39, p.5157-5169, 2005.
3. KOLPIN, D. W. *et al.* Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. Environmental science & Technology, 36(6):1202-1211, 2002.
4. Leite, G.S; Afonso, R.J; Aquino, S.F. Caracterização de contaminantes presentes em sistemas de tratamento de esgotos, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em alta resolução. Química Nova, v.33, p. 734-738, 2010.
5. <http://www.unb.br/noticias/unbagencia/unbagencia.php?id=3706>. Acesso em 29/08/10.