**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

***A presença de fármacos nos esgotos
domésticos e sua remoção pelos processos de
lodo ativado com oxigênio puro, lagoa aerada e
reator anaeróbico de fluxo ascendente.***

Camila Delanesi Guedes

**Tese de Doutorado apresentada ao
Departamento de Saúde Ambiental da
Faculdade de Saúde Pública da
Universidade de São Paulo.**

Área de concentração: Saúde Ambiental

**Orientador: Prof. Dr. Wanderley da Silva
Paganini**

**São Paulo
2017**

A presença de fármacos nos esgotos domésticos e sua remoção pelos processos de lodo ativado com oxigênio puro, lagoa aerada e reator anaeróbio de fluxo ascendente.

Camila Delanesi Guedes

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública para obtenção do título de Doutorado em Saúde Pública.

Área de concentração: Saúde Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Wanderley da Silva Paganini.

Versão revisada

**São Paulo
2017**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

DEDICATÓRIA

*A Deus e a Nossa Senhora
Aparecida a quem sempre elevo
meus pensamentos nos
momentos de alegrias, tristezas e
dificuldades.*

*Aos meus pais, Maria Helena e
Edson, por terem sempre apoiado
meus estudos, fornecendo toda a
base, fundamental para que eu
pudesse chegar até aqui.*

*Ao meu lindo bebê, Lucas, que
nasceu no decurso desta
pesquisa e forneceu, gentilmente,
consideráveis horas de cuidados
exclusivos dele para a realização
deste trabalho.*

A minha irmã Priscila, por ter me apoiado, sabendo compreender minha dedicação.

Aos meus avós que representaram exemplos de vida, dedicação e perseverança, servindo como inspiração para que eu apresentasse o meu melhor.

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares que torceram por mim e colaboraram facilitando a realização deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Wanderley da Silva Paganini por aceitar meu projeto e confiar que o concluiria, me direcionando nos momentos de dúvida e me acalmando nos momentos de ansiedade.

Aos doutores Prof. Pedro Caetano Mancuso e Cristiano K. Iway, pelas pontuações precisas proferidas no exame de qualificação deste trabalho que muito contribuíram para a boa condução do estudo.

À Dr^a Lucilena Martins Kayo por permitir o uso das instalações do laboratório para a realização das análises, e por tolerar ausências físicas e mentais, sabendo que o conhecimento a ser adquirido contribuiria muito com os serviços ali realizados.

A todos os colegas do Núcleo de Análise Instrumental do CEAP – IC – SPTC/SP que contribuíram com amizade, interesse e estímulo ao trabalho.

A todos os colegas da pós-graduação, em especial à Dr^a Miriam Moreira e à Dr^a Claudia Gomes pelo acompanhamento no desenvolvimento da pesquisa, pelas idéias e críticas construtivas, e pelos diversos auxílios na execução do estudo.

Aos funcionários das estações de tratamento de esgotos estudadas, que permitiram a coleta das amostras e auxiliaram, determinantemente, nos procedimentos de amostragem das mesmas.

Especialmente ao meu filho Lucas que, nas minhas ausências, ficou impaciente e sofreu, mas se esforçou, ao seu modo, para que sua mamãe pudesse realizar este sonho e concretizar a tese de doutorado.

RESUMO

A presença de fármacos nos esgotos domésticos e sua remoção pelos processos de lodo ativado com oxigênio puro, lagoa aerada e reator anaeróbio de fluxo ascendente.

Processos biológicos de tratamento de esgotos são largamente utilizados mundialmente e, apesar de serem eficientes na remoção de matéria orgânica, têm capacidades limitadas na remoção de poluentes orgânicos emergentes, principalmente fármacos. Este trabalho avaliou a eficiência dos processos de tratamento de esgotos por lodos ativados com oxigênio puro, lagoas aeradas e reator anaeróbio de fluxo ascendente (RAFA) na remoção de seis fármacos selecionados - paracetamol, ibuprofeno, atenolol, sinvastatina, carbamazepina e clonazepam, com altos índices de utilização pela população. Para isto, foram analisadas amostras de esgoto bruto e de esgoto tratado oriundas de três estações de tratamento de esgotos em operação no Estado de São Paulo, sendo realizadas quatro campanhas de coleta, durante dois anos, em períodos hidrológicos de seca e chuva. A técnica analítica utilizada foi a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), através de método estabelecido e validado para a execução desta pesquisa. Ibuprofeno, sinvastatina e clonazepam não foram identificados em nenhuma das amostras analisadas. Atenolol, paracetamol e carbamazepina foram detectados em todas as estações estudadas, observando-se remoção e liberação deles durante todos os processos de tratamento. A estação que adota o processo por lagoas aeradas mostrou maior eficiência na remoção de paracetamol e atenolol, sendo que um elevado tempo de detenção hidráulica empregado nela parece ter influenciado positivamente na eficácia de remoção destas substâncias. A estação que utiliza lodos ativados com oxigênio puro apresentou remoções inferiores e maiores taxas de liberação dos fármacos paracetamol e carbamazepina. Já a estação que adota RAFA apresentou discreta superioridade na remoção de carbamazepina, e eficiências intermediárias para paracetamol e atenolol. A carbamazepina mostrou resistência à degradação pelos processos avaliados, porém a desinfecção do efluente final, por cloração, aparentemente elevou a remoção deste composto.

PALAVRAS-CHAVE: fármacos, esgoto, tratamento biológico, lodos ativados, reator anaeróbio, lagoa aerada.

ABSTRACT

Pharmaceuticals in domestic sewage and their removal by pure oxygen activated sludge, aerated basin and upflow anaerobic sludge blanket

Sewage biological treatment processes are the most used worldwide and, in general, they show organic matter removal high efficiency, however their pharmaceuticals removal capacity were quite limited. The aim of this study is verify the efficiency of sewage biological treatment processes per pure oxygen activated sludge, aerated basin and upflow anaerobic sludge blanket (UASB), in removal of six selected drugs – acetaminophen, ibuprofen, atenolol, simvastatin, carbamazepine and clonazepam, most frequently used by population. For this purpose, it was analyzed raw sewage and treated sewage samples from three sewage treatment plants localized at Sao Paulo, Brazil, in four collection stages, during two years, at dry and wet periods. The analytical technique of choice was high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), by developed and validated method for this study. Ibuprofen, simvastatin and clonazepam were not detected at any samples collected. Atenolol, acetaminophen and carbamazepine were identified at all plants investigated, with removal and production during all treatment processes here considered. Aerated basin plant was most efficient in acetaminophen and atenolol removal, and a high hydraulic detention time seem be better to remove these compounds. Pure oxygen activated sludge plant showed lower removal rates and higher production of acetaminophen and carbamazepine. Already the UASB plant revealed a little superiority in carbamazepine removal, and intermediary efficacy to acetaminophen and atenolol removal. Carbamazepine showed persistence in treatment processes evaluated, however final effluent disinfection, with chlorination, apparently raised this compound removal.

PALAVRAS-CHAVE: pharmaceuticals, sewage, biological treatment, activated sludge, anaerobic reactor, aerated lagoon.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL.....	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
3.1 A PROBLEMÁTICA DOS FÁRMACOS	20
3.1.1 O Termo Fármaco: Conceituação.....	20
3.1.2 Uso De Fármacos Pela População.....	21
3.1.3 Fármacos No Meio Ambiente	22
3.1.4 Ocorrência de fármacos nos sistemas de tratamento de esgotos e sua remoção.....	28
3.1.5 Fármacos Seleccionados Para O Estudo	33
3.1.5.1 Paracetamol.....	34
3.1.5.2 Ibuprofeno.....	36
3.1.5.3 Atenolol	38
3.1.5.4 Sinvastatina	40
3.1.5.5 Carbamazepina	42
3.1.5.6 Clonazepam	44
3.1.6 Riscos da presença de fármacos no ambiente para a saúde da população.....	46
3.1.7 Aspectos Legais.....	47
3.2 OS PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ESGOTOS ESTUDADOS	53
3.2.1 Tratamento Biológico	55
3.2.2 Processo de Lodos Ativados	57
3.2.3 Lagoas Aeradas.....	59
3.2.4 Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente.....	61
3.3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA DO MÉTODO ANALÍTICO UTILIZADO	63
3.3.1 Métodos cromatográficos de análise	64
3.3.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência	65
3.3.2 Espectrometria de massas	68
3.3.2.1 Espectrometria de massas em sequência.....	70
3.3.3 Aplicação da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas nas análises de fármacos	72
3.3.4 Validação de métodos analíticos	73
3.3.4.1 Seletividade	74
3.3.4.2 Linearidade.....	75
3.3.4.3 Precisão	76
3.3.4.4 Exatidão	78
3.3.4.5 Limite de detecção e de quantificação	79
3.3.4.6 Robustez	80
4 MATERIAIS E METODOS.....	81
4.1 PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ESGOTOS E ESTAÇÕES SELECIONADAS PARA A PESQUISA	81

4.2 AMOSTRAGEM	83
4.3 ANÁLISES LABORATORIAIS	85
4.3.1 Materiais de referência dos fármacos	85
4.3.2 Reagentes, solventes e materiais.....	86
4.3.3 Equipamentos e acessórios.....	86
4.3.4 Otimização das condições do sistema de detecção	87
4.3.5 Determinação das condições cromatográficas.....	88
4.3.6 Validação analítica para amostras aquosas.....	89
4.3.6.1 Seletividade e especificidade	89
4.3.6.2 Linearidade e intervalo	89
4.3.6.3 Precisão.....	90
4.3.6.4 Exatidão	90
4.3.6.5 Sensibilidade (limite de quantificação e limite de detecção)	91
4.3.6.6 Robustez	91
4.4 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (LC-MS/MS)	91
4.4.1 Otimização das condições no espectrômetro de massas.....	91
4.4.2 Descrição das condições cromatográficas de trabalho.....	100
4.5 VALIDAÇÃO ANALÍTICA DO MÉTODO PRÉ-ESTABELECIDO	102
4.5.1 Seletividade e especificidade	102
4.5.2 Linearidade e intervalo	103
4.5.3 Precisão.....	107
4.5.4 Exatidão	109
4.5.5 Sensibilidade (limite de quantificação - LOQ e limite de detecção - LOD)	109
4.5.6 Robustez.....	110
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	112
5.1 IBUPROFENO, CLONAZEPAM E SINVASTATINA.....	114
5.2 PARACETAMOL, ATENOLOL E CARBAMAZEPINA	116
5.2.1 Paracetamol.....	118
5.2.2 Atenolol.....	121
5.2.3 Carbamazepina	124
6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	130
7 REFERÊNCIAS	135

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Fármacos usualmente encontrados em água e esgoto.	28
Tabela 2 -	Características físico-químicas do paracetamol.	36
Tabela 3 -	Características físico-químicas do ibuprofeno.	37
Tabela 4 -	Características físico-químicas do atenolol.	40
Tabela 5 -	Características físico-químicas da sinvastatina.	42
Tabela 6 -	Características físico-químicas da carbamazepina.	44
Tabela 7 -	Características físico-químicas do clonazepam.	45
Tabela 8 -	Identificação dos fragmentos iônicos mais intensos.	100
Tabela 9 -	Gradiente aplicado na fase móvel	101
Tabela 10 -	Equações de regressão linear e coeficientes de determinação (r^2) e de correlação (r) para cada fármaco.	107
Tabela 11 -	Repetibilidade – CV% mínimo e máximo obtidos para os seis fármacos em estudo, e as médias.	108
Tabela 12 -	Precisão intermediária – CV% mínimo e máximo obtidos para os seis fármacos em estudo, e as médias.	108
Tabela 13 -	Valores de recuperação (%) obtidos para cada fármaco, em três níveis distintos de concentração.	109
Tabela 14 -	Dados dos testes de robustez.	111
Tabela 15 -	Resultados obtidos no monitoramento da ETE “A”.	113
Tabela 16 -	Resultados obtidos no monitoramento da ETE “B”.	113
Tabela 17 -	Resultados obtidos no monitoramento da ETE “C”.	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Vias simplificadas de entrada de fármacos no meio aquático.	25
Figura 2 -	Estrutura do paracetamol.	34
Figura 3 -	Estrutura do ibuprofeno.	37
Figura 4 -	Estrutura do atenolol.	39
Figura 5 -	Estrutura da sinvastatina.	41
Figura 6 -	Estrutura da carbamazepina.	42
Figura 7 -	Estrutura do clonazepam.	45
Figura 8 -	Níveis de tratamento de esgoto.	54
Figura 9 -	Representação dos tratamentos preliminar, primário e secundário, contemplando o esquema convencional de tratamento por lodos ativados.	58
Figura 10 -	Sistema de tratamento por lodo ativado com oxigênio puro (somente fase líquida).	59
Figura 11 -	Esquema clássico de tratamento por lagoas aeradas.	61
Figura 12 -	Esquema clássico de tratamento por reator anaeróbio de fluxo ascendente.	63
Figura 13 -	Diagrama em blocos de um sistema HPLC típico.	67
Figura 14 -	Análise por espectrometria de massas.	69
Figura 15 -	Componentes básicos de um espectrômetro de massas.	70
Figura 16 -	Localização da região de estudo, onde estão as estações de tratamento de esgoto selecionadas para este estudo.	81
Figura 17 -	Esquema de amostragem.	84
Figura 18 -	Espectro de massa do paracetamol, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.	93

Figura 19 -	Espectro de massa do ibuprofeno, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.	94
Figura 20 -	Espectro de massa do atenolol, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.	94
Figura 21 -	Espectro de massa da sinvastatina, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.	95
Figura 22 -	Espectro de massa da carbamazepina, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.	95
Figura 23 -	Espectro de massa do clonazepam, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.	96
Figura 24 -	Espectro de massa sequencial do paracetamol com os fragmentos iônicos mais intensos.	97
Figura 25 -	Espectro de massa sequencial do ibuprofeno com os fragmentos iônicos mais intensos.	97
Figura 26 -	Espectro de massa sequencial do atenolol com os fragmentos iônicos mais intensos.	98
Figura 27 -	Espectro de massa sequencial da sinvastatina com os fragmentos iônicos mais intensos.	98
Figura 28 -	Espectro de massa sequencial da carbamazepina com os fragmentos iônicos mais intensos.	99
Figura 29 -	Espectro de massa sequencial do clonazepam com os fragmentos iônicos mais intensos.	99
Figura 30 -	Cromatograma dos padrões de fármacos.	102
Figura 31 -	Cromatograma do branco.	103
Figura 32 -	Curva de calibração do paracetamol, na faixa concentração: 0,1 a 40 µg/L.	104
Figura 33 -	Curva de calibração do ibuprofeno, na faixa concentração: 50 a 1000 µg/L.	105
Figura 34 -	Curva de calibração do atenolol, na faixa concentração: 0,5 a 80 µg/L.	105
Figura 35 -	Curva de calibração da sinvastatina, na faixa concentração: 1 a 100 µg/L.	106

Figura 36 -	Curva de calibração do clonazepam, na faixa concentração: 0,5 a 80 µg/L.	106
Figura 37 -	Curva de calibração da carbamazepina, na faixa concentração: 0,1 a 25 µg/L.	107
Figura 38 -	Frequência de detecção de carbamazepina, paracetamol e atenolol nas amostras analisadas.	117
Figura 39 -	Comparação entre as frequências de liberação e remoção (%) dos fármacos carbamazepina, paracetamol e atenolol nas estações estudadas.	118
Figura 40 -	Comparação entre as frequências de liberação e/ou remoção (%) do paracetamol nas ETES "A", "B" e "C".	119
Figura 41 -	Comparação entre as magnitudes de liberação e/ou remoção (%) de paracetamol nas ETES "A", "B" e "C".	119
Figura 42 -	Comparação entre as frequências de liberação e/ou remoção (%) do atenolol nas ETES "A", "B" e "C".	122
Figura 43 -	Comparação entre as magnitudes de liberação e/ou remoção (%) de atenolol nas ETES "A", "B" e "C".	123
Figura 44 -	Comparação entre as frequências de liberação e/ou remoção (%) da carbamazepina nas ETES "A", "B" e "C".	125
Figura 45 -	Comparação entre as magnitudes de liberação e/ou remoção (%) de carbamazepina nas ETES "A", "B" e "C".	125

SIGLAS UTILIZADAS

ANVISA -	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ABNT -	Associação Brasileira de Normas Técnicas
C-18 -	Octadecilsilano
CETESB -	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA -	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CV% -	Coeficiente de variação
DBO _{5,20} -	Demanda bioquímica de oxigênio
DQO -	Demanda química de oxigênio
EPA -	Environmental Protection Agency
ESI -	Electrospray ionization
ETE -	Estação de tratamento de esgoto
FDA -	Food and Drug Administration
HPLC -	High Performance Liquid Chromathography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
IBOPE -	Instituto Brasileiro de Opinião e Estatística
INMETRO -	Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial
IUPAC -	União Internacional de Química Pura e Aplicada
K _{oc} -	Coeficiente de adsorção
K _{ow} -	Coeficiente de partição octanol-água
LC-MS/MS -	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas

LOD -	Limite de detecção
LOQ -	Limite de quantificação
m/z	Relação massa / carga.
MRM -	Multiple reaction monitoring
NBR	Norma Brasileira
OMS	Organização Mundial da Saúde
pKa	Constante de dissociação
RAFA	Reator anaeróbio de fluxo ascendente
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RSD% -	Desvio padrão relativo
RSS	Resíduos de serviços de saúde
SABESP -	Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo

1 INTRODUÇÃO

A preocupação com a presença de fármacos no meio ambiente começou na década de 70, motivada pelo crescimento populacional, desenvolvimento industrial e científico e aumento do consumo de medicamentos pela população mundial (ALMEIDA, 2005; MELO, 2009).

O amplo entendimento que uma parte destas substâncias utilizadas no tratamento de doenças, após a passagem pelo organismo humano e animal, é excretada para o meio externo e pode não estar sendo removida a contento pelas técnicas de tratamento de esgotos, antes de atingir definitivamente o meio ambiente, suscitou a realização de diversos estudos que revelaram a presença de fármacos em águas superficiais de todo o mundo (MELO, 2009).

Além disso, o descarte de medicamentos pela população, feito indevidamente na rede de esgotos, bem como o aporte de esgoto não tratado nos corpos hídricos, que ainda é um fator a ser considerado na realidade brasileira, contribuem para a contaminação ambiental por essas substâncias.

A questão da presença de fármacos como contaminantes de águas superficiais pode ser um problema complicado quando a comunidade científica se depara com uma extensa variedade de compostos utilizados comumente na terapêutica, compostos estes pensados e elaborados com a finalidade de modificar os sistemas biológicos por múltiplas vias de ação. Desta forma, no ambiente eles também serão compostos ativos, que poderão interferir significativamente na fisiologia, no metabolismo e no comportamento das espécies aquáticas, ou alterar suas defesas imunológicas, tornando-os mais susceptíveis a parasitas e outras doenças. E ainda, a própria população poderá estar exposta aos riscos de consumir alimentos ou água contendo esses contaminantes.

Os possíveis efeitos que advém da contínua presença de compostos com ação farmacológica no meio ambiente são oriundos, na maioria dos casos, de uma toxicidade crônica, caracterizada pela introdução de quantidades muito baixas das

substâncias nos organismos expostos, durante um longo período de tempo, por vezes toda a vida. E este padrão tóxico torna o problema ainda mais preocupante, visto que dados conclusivos acerca dos efeitos crônicos da maioria das substâncias químicas que são utilizadas na atualidade, ainda estão sendo estabelecidos ou são completamente desconhecidos.

Desta forma, torna-se imprescindível conhecer a quantidade desses contaminantes, ditos emergentes, que estão atingindo os corpos hídricos também via efluentes das estações de tratamento de esgotos, bem como a eficiência na sua remoção, por elas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é avaliar a eficiência dos processos de tratamento de esgotos por lodos ativados com oxigênio puro, lagoas aeradas e reator anaeróbio de fluxo ascendente (RAFA) na remoção dos fármacos paracetamol, ibuprofeno, atenolol, sinvastatina, carbamazepina e clonazepam, em estações de tratamento de esgotos (ETE) no Estado de São Paulo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Desenvolver e validar método analítico para quantificar os fármacos paracetamol, ibuprofeno, atenolol, sinvastatina, carbamazepina e clonazepam em esgoto bruto e efluente de ETE.
- ✓ Avaliar a eficiência das remoções dos fármacos paracetamol, ibuprofeno, atenolol, sinvastatina, carbamazepina e clonazepam pelos diferentes processos de tratamento aqui abordados.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A PROBLEMÁTICA DOS FÁRMACOS

3.1.1 O Termo Fármaco: Conceituação

A palavra fármaco é um termo técnico consagrado pela literatura especializada, que se refere à toda substância de estrutura química definida, capaz de modificar ou explorar sistema fisiológico ou estado patológico, em benefício do organismo receptor (OGA et al., 2008).

Outros termos, como “droga” e “medicamento”, podem também ser encontrados se referindo a tais compostos, apesar de alguns autores considerarem a existência de fundamentais diferenças em suas definições.

Segundo OGA (2008), o termo droga é usado para designar compostos capazes de modificar ou explorar sistemas fisiológicos ou estados patológicos, utilizados com ou sem intenção de benefício ao organismo receptor.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 1994) adota o termo “droga” para usos variados. Na medicina, a palavra se refere a qualquer substância com potencial para curar ou prevenir doenças, ou para aumentar o bem-estar físico ou mental. Na farmacologia, a palavra “droga” é usada para indicar agentes químicos capazes de alterar processos bioquímicos ou fisiológicos dos organismos, podendo ser listadas em uma farmacopéia. São reconhecidos ainda os usos comuns, ou populares, da palavra, que frequentemente é adotada para se referir a compostos psicoativos e ilícitos, dos quais são feitos usos não médicos ou não terapêuticos (WHO, 1994).

A OMS define também o termo “droga farmacêutica”, que são aquelas disponíveis de fontes farmacêuticas, como as produzidas pelas indústrias ou farmácias de manipulação (WHO, 1994).

Já a legislação brasileira, por meio da Lei Federal nº 5.991, de 1973, utiliza a palavra medicamento, definindo-a como produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico (BRASIL, 1977).

É comum encontrar também, na literatura internacional, as palavras *compound* e *substances* como termos mais genéricos que podem também ser utilizados na designação de fármacos, e cujas traduções para a língua portuguesa seriam “composto” e “substância”, respectivamente.

Neste trabalho, será adotada a palavra “fármaco” como termo principal, seguindo a definição de OGA (2008). Eventualmente, poderão ser adotadas as designações “droga” e “medicamento” como sinônimos, bem como os termos “composto” e “substância”, com a intenção de tornar a grafia menos repetitiva.

3.1.2 Uso De Fármacos Pela População

Algumas toneladas de medicamentos são produzidas anualmente, e aplicadas na medicina humana e veterinária.

Segundo o Instituto Brasileiro de Opinião e Estatística (IBOPE, 2013), o comércio nacional de medicamentos movimentou R\$ 70 bilhões em 2013, 12% a mais do que em 2012, e estima-se que o gasto médio anual, por brasileiro, seja de R\$ 430,92 com medicamentos.

De acordo com a mesma fonte, a região Sudeste é a que apresenta maior potencial de consumo, com 52% (R\$ 37 bilhões), seguida pelas regiões Sul (16% ou R\$ 12 bilhões) e Nordeste (18% ou R\$ 13 bilhões) (IBOPE, 2013).

Em relação ao volume de vendas de medicamentos no varejo brasileiro, a consultora sobre o mercado farmacêutico, IMS-Health, elencou os maiores valores por classe terapêutica, no período de junho de 2002 a junho de 2003, sendo mais vendidos os produtos que atuam sobre o sistema alimentar e metabólico, seguidos pelos produtos com ação no sistema nervoso central, sistema cardiovascular, sistema gênito-urinário, sistema respiratório, uso tópico, sistema muscular e ósseo, e uso para tratamento de infecções (ENCONTRO CEPAL, 2003).

Segundo SIMÕES e FILHO (1988), os medicamentos mais utilizados na região central do Estado de São Paulo, no ano de 1988, eram os analgésicos e antitérmicos, os com ação terapêutica no aparelho cardiovascular, os antibióticos e quimioterápicos e os com ação no sistema nervoso central.

É possível encontrar, em literaturas científicas e não científicas (jornalísticas) diversas listas de medicamentos mais vendidos e mais consumidos no Brasil, apresentando pequenas variações de ano para ano. Aparecem, porém, com grande frequência em tais “*rankings*”, as substâncias dipirona, paracetamol, losartan, sildenafil, atenolol, nimesulida, metformina, hidroclorotiazida, enalapril, amoxicilina, clonazepam, bromazepam e sinvastatina (PHARMA, 2012; FIOCRUZ, 2012).

3.1.3 Fármacos No Meio Ambiente

O crescimento populacional e a expansão industrial trouxeram como consequência quadros de contaminação do meio ambiente em todo o mundo. Questões relacionadas à qualidade das águas e ao tratamento dos esgotos têm sido extensivamente discutidas, o que suscitou grande preocupação com a conservação dos recursos naturais (ALMEIDA, 2005).

Na década de 70, começou-se a atentar para a presença de fármacos em ambientes aquáticos. Desde então, diversos estudos têm sido realizados e revelaram a presença de resíduos de fármacos no mundo todo (MELO, 2009), porém mais notadamente nos Estados Unidos (EUA) e Europa, tais como antibióticos, hormônios, anestésicos, anti-inflamatórios, dentre outros, sendo estes denominados, atualmente, contaminantes ambientais emergentes (CARVALHO et al., 2009). Isto só foi possível devido ao desenvolvimento de novas técnicas analíticas (por exemplo a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas) que permitiram o monitoramento de fármacos nas baixas concentrações que ocorrem no ambiente (IWA, 2010).

Quando um fármaco é administrado, parte dele é absorvido pelo organismo receptor a fim de ter sua ação terapêutica. No interior deste organismo, ele é transformado total ou, mais frequentemente, parcialmente, em outras substâncias (SANTOS et al., 2007).

Este processo, denominado biotransformação ou metabolização de fármacos, dá lugar à formação de compostos mais hidrossolúveis e facilmente excretados pela urina, que podem ser compostos completamente diferentes dos originais ou somente conjugados, e também inativos ou ainda ativos (SANTOS et al., 2007).

Ou seja, a metabolização dos fármacos em um organismo inicia-se por diversas reações bioquímicas de hidroxilação, epoxilação, redução, hidrólise e adição de grupos funcionais. Em seguida ocorrem as conjugações, que é quando moléculas endógenas altamente polares se ligam aos metabólitos formados nas reações anteriores ou aos próprios fármacos originais não metabolizados, de forma a torná-los mais solúveis em água, facilitando assim a sua excreção. Entre as diversas moléculas endógenas que participam do processo de conjugação destacam-se os glicuronídeos, os sulfatos e os aminoácidos (AQUINO et al., 2013).

Assim, em uma população consumidora de medicamentos, é esperado encontrar fármacos e seus metabólitos nos esgotos. E mesmo estes metabólitos, do tipo conjugados, podem sofrer desconjugação devido à ação de microrganismos presentes no próprio esgoto e nas estações de tratamentos dos mesmos,

liberando o fármaco inalterado novamente. Existe, ainda, uma fração do ingrediente ativo que é excretada diretamente na urina, e em menor quantidade nas fezes, sem sofrer qualquer processo de biotransformação (CARVALHO et al., 2009).

A quantidade de fármaco excretado, seja na forma metabolizada ou na forma inalterada, varia de acordo com a substância em questão e de indivíduo para indivíduo, e vai atingir diretamente as redes de coleta e estações de tratamento de esgotos (ETEs) ou diretamente os corpos hídricos, em regiões que não dispõem deste serviço (CARVALHO et al., 2009).

Outra via importante de entrada de fármacos no meio ambiente é o descarte inadequado de medicamentos, vencidos ou não mais desejados, em pias e vasos sanitários, uma prática comum que promove o aporte destas substâncias às ETEs ou, eventualmente, diretamente aos corpos hídricos, e pode contribuir de forma mais acentuada para a contaminação ambiental. (CARVALHO et al., 2009.)

Ademais, ao contrário de outros micropoluentes, tais como pesticidas e poluentes industriais, cujas concentrações no meio ambiente tenderão a diminuir nos próximos anos devido a restrições legais, é esperada uma ampliação no consumo de fármacos em decorrência dos seus efeitos benéficos à saúde, podendo consequentemente resultar em aumento na sua ocorrência no meio ambiente (AQUINO et al., 2013).

Deste modo, os fármacos poderão atingir as águas superficiais principalmente devido ao lançamento de esgoto *in natura* nos corpos hídricos, mas também devido ao aporte de efluentes de estações de tratamento de esgotos, uma vez que muitos fármacos são resistentes aos processos de tratamento utilizados atualmente (Figura 1) (BILA e DEZOTTI, 2003).

Figura 1 - Vias simplificadas de entrada de fármacos no meio aquático.

Fonte: Autor

A grande variedade de compostos utilizados comumente pela população, no tratamento das suas enfermidades, implica em múltiplas vias de ação deles no ambiente, podendo interferir significativamente na fisiologia, no metabolismo e no comportamento das espécies aquáticas, ou alterar suas defesas imunológicas, tornando-os mais susceptíveis aos parasitas e outras doenças.

Embora os efeitos tóxicos decorrentes da exposição ambiental aos fármacos ainda não estejam totalmente claros, estudos mostram que estes compostos interferem no metabolismo e comportamento dos organismos aquáticos, resultando em desequilíbrio das suas populações (CARVALHO et al., 2009).

Em termos de periculosidade, essas substâncias possuem alguns agravantes: 1) são desenvolvidas para desencadear efeitos fisiológicos e, conseqüentemente, a biota se torna mais suscetível; 2) muitas são persistentes e mesmo aquelas que possuem meia-vida curta são passíveis de causar efeitos crônicos devido a sua introdução contínua no ambiente; 3) embora a concentração de alguns fármacos encontrados no ambiente seja baixa, a exposição a longo prazo e a combinação de compostos pode desencadear efeitos pronunciados e inesperados (REIS FILHO et al., 2007).

Dados a respeito das consequências da exposição crônica do meio ambiente a tais compostos são extremamente escassos. Maior conhecimento sobre o assunto versa a respeito das substâncias (fármacos ou não) interferentes endócrinas, que não serão objetos do presente estudo.

Aqui, serão estudados fármacos sem evidência de ação desreguladora de sistemas hormonais e, para eles, os efeitos ambientais ou são completamente desconhecidos ou estão sendo observados apenas em condições laboratoriais e, em algumas avaliações de risco utilizando testes de toxicidade que têm demonstrado que as concentrações de alguns compostos presentes nos corpos hídricos são suficientes para representar riscos a organismos como a *Daphnia magna* (CARVALHO et al., 2009).

Por exemplo, HOEGGER et al. (2005) verificou que diclofenaco, em concentrações que variam de 0,5 a 50 µg/L podem afetar os tecidos branquiais e renais de peixes da espécie *Salmo trutta f. fario*. CARLSSON et al. (2006) concluiu que o ibuprofeno e o diclofenaco representam risco de efeitos tóxicos crônicos para o meio ambiente aquático, com inibição de regeneração de pólipos e redução da reprodução. POMATI et al. (2006) verificou que a associação de 13 fármacos (atenolol, bezafibrato, carbamazepina, ciclofosfamida, ciprofloxacino, furosemida, hidroclorotiazida, ibuprofeno, lincomicina, ofloxacino, ranitidina, salbutamol e sulfametoxazol), em concentrações variando de 10 a 1000 ng/L promoveram até 30% de inibição no crescimento de células embriônicas renais humanas.

A maior parte dos estudos que relatam a ocorrência de fármacos em matrizes aquosas ambientais são estrangeiros, sendo o assunto relativamente pouco explorado no Brasil.

Tanto os dados brasileiros quanto os estudos estrangeiros demonstram grande variabilidade na ocorrência dos fármacos em águas superficiais, esgoto sanitário bruto e tratado, o que possivelmente pode ser explicado pelo padrão de consumo diferenciado dessas substâncias. Diferentes países e regiões apresentam características bem distintas em termos de prevalência de doenças, de processos de tratamento de esgotos, de hábitos culturais ou até de restrições relacionadas ao mercado farmacêutico (AQUINO et al., 2013).

De acordo com SANTOS et al. (2010), os fármacos mais frequentemente detectados em ambientes aquáticos são os anti-inflamatórios não esteroidais (16%), seguidos dos antibióticos (15%), reguladores lipídicos (12%) e hormônios sintéticos (9%), que somados perfazem 50% dos 134 artigos publicados entre 1997 e 2009 sobre a ocorrência de fármacos em ambientes aquáticos (SANTOS et al., 2010).

PAL et al. publicaram em 2010 um estudo de revisão sobre ocorrência, fontes, destino e efeito dos fármacos em corpos hídricos e efluentes de ETEs. Diversas substâncias foram detectadas na América do Norte, Europa e Ásia / Austrália, dentre elas o ibuprofeno, o paracetamol, a carbamazepina e o atenolol. As concentrações encontradas tinham a magnitude de ng/L para o paracetamol e carbamazepina, e concentrações da ordem de µg/L para ibuprofeno e atenolol.

No Brasil, já foram detectados, em águas superficiais, ácido acetilsalicílico, paracetamol, sulfametoxazol, trimetoprima, amoxicilina, tetraciclina, cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno e bezafibrato. Em esgoto sanitário bruto, dipirona, paracetamol, sulfametoxazol, trimetoprima, cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, bezafibrato e genfibrozil. E, por fim, em efluentes de ETEs detectou-se ácido acetilsalicílico, dipirona, paracetamol, sulfametoxazol, trimetoprima, cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, bezafibrato e genfibrozil. Todos estes dados se referem a estudos realizados entre 1999 e 2012, nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Ceará e Minas Gerais (AQUINO et al., 2013).

Um resumo destes dados está representado na tabela 1.

Desta forma, torna-se imprescindível conhecer a quantidade desses contaminantes, ditos emergentes, que estão atingindo os corpos hídricos via efluentes das ETEs, bem como a eficiência na sua remoção, pelas estações de tratamento de esgotos.

Tabela 1 – Fármacos usualmente encontrados em água e esgoto.

Referência	Fármaco	Ambiente
Santos et al., 2010	AINES*, reguladores lipídicos, hormônios	água superficial
Pal et al., 2010	Ibuprofeno, paracetamol, carbamazepina, atenolol	água superficial e efluentes de ETEs
Aquino et al., 2013	AAS, paracetamol, sulfametoxazol, trimetoprima, amoxicilina, tetraciclina, cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, bezafibrato	água superficial
Aquino et al., 2013	Dipirona, paracetamol, sulfametoxazol, trimetoprima, cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, bezafibrato, genfibrozil	esgoto bruto

3.1.4 Ocorrência de fármacos nos sistemas de tratamento de esgotos e sua remoção

Conforme descrito anteriormente, os fármacos após serem utilizados no tratamento de doenças podem atingir o meio ambiente aquático através da passagem pelos organismos humano e animal e da subsequente excreção para o meio externo, sendo esperados nos esgotos. A quantidade de cada fármaco presente nos esgotos vai depender da magnitude de uso da substância e de características individuais dos usuários.

A constatação da presença de fármacos em ambientes aquáticos tem suscitado questões acerca das eficiências dos processos de tratamento de esgotos na remoção destes compostos orgânicos. Isto quer dizer que uma possível incompleta ou ineficiente remoção deles pelas técnicas de tratamento de esgotos poderiam culminar com o aporte de quantidades variadas de fármacos para águas superficiais. Adicionalmente, outros fatores também podem estar contribuindo para a contaminação aquática por essas substâncias, como o descarte de medicamentos feito pela população, indevidamente, na rede de esgotos, bem

como lançamentos de esgoto não tratado diretamente nos corpos hídricos, lançamentos estes que podem ser clandestinos ou não. (CARVALHO et al., 2009)

Durante os processos de tratamento de esgotos, é sabido que os fármacos podem ser degradados de diversas maneiras distintas, dependendo do sistema de tratamento empregado, das peculiaridades das plantas de tratamento e das características das substâncias. Dentre estas maneiras, as mais importantes são:

- Biodegradação - a exposição das substâncias medicamentosas às grandes concentrações de microrganismos de um processo de tratamento secundário, por exemplo, potencialmente leva à degradação das mesmas. A biodegradabilidade dos fármacos já foi estudada por diversos autores, porém estes estudos se limitaram a condições laboratoriais ou escalas piloto, o que dificilmente retrata a realidade de uma planta de tratamento de esgotos. Nesta linha, foram estudadas a biodegradabilidade de antibióticos, quimioterápicos, anti-inflamatórios não esteroidais (dentre eles o paracetamol), entre outros. A biodegradabilidade deles variou de 27% a 95%, havendo uma tendência de aumento desta biodegradabilidade com o aumento do tempo de contato entre os microrganismos e os fármacos. Para algumas substâncias, entretanto, por serem tóxicas para os microrganismos, não houve degradação (JONES et al., 2005);
- Fotodegradação - outra possibilidade é que os fármacos sofram fotodegradação, pela luz ultravioleta do sol. A prevalência desta forma de degradação foi demonstrada para o diclofenaco, e já foi relatada para diversas outras substâncias também. Esta forma de degradação ocorre não somente nas ETEs, mas também no meio ambiente aquático. Andreozzi, et al., estudaram a fotodegradação de mais de 20 fármacos, sendo que seis deles, incluindo a carbamazepina, se mostraram persistentes. É relatado também que o balanço entre as concentrações de ácidos húmicos, fúlvicos e a concentração de oxigênio no meio influencia diretamente a degradação dos fármacos pela ação da luz ultravioleta (JONES et al., 2005);
- Partição - os fármacos podem, ainda, sofrer partição, ou seja, adsorverem-se às partículas sólidas, sendo transferidos da fase líquida para a fase sólida do esgoto. Este processo está diretamente relacionado às características físico-

químicas das substâncias, mais especificamente ao logaritmo do coeficiente de partição octanol-água (log Kow) de cada fármaco. Compostos com altos valores de log Kow (cerca de 9) sofrerão adsorção ao lodo, enquanto substâncias com valores baixos de log Kow (2 a 4) podem adsorver ao lodo ou permanecer na fase aquosa, dependendo do composto. Sabe-se também que as células bacterianas, fúngicas e de algas são capazes de adsorver e acumular poluentes orgânicos, dentre eles os fármacos (JONES et al., 2005);

- Deconjugação - fenômeno interessante que ocorre com os fármacos quando em contato com microrganismos presentes no esgoto e nas plantas de tratamento, que é a degradação dos metabólitos formados dentro do organismo humano ou animal. A bactéria *Escherichia coli*, presente no intestino e, portanto, no esgoto e nas ETEs, produz grandes quantidades da enzima β -glicuronidase, que degrada os metabólitos glicuronideo e sulfato-conjugados formados no interior dos organismos humano e animal, liberando, desta forma, o fármaco inalterado. (JONES et al., 2005)

Diversos estudos têm sido realizados no mundo, e eles têm demonstrado que os fármacos irão atingir as águas superficiais principalmente devido ao lançamento de esgoto *in natura* nos corpos hídricos, mas também devido ao aporte de efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETEs), uma vez que muitos fármacos são resistentes a determinados processos de tratamento utilizados (BILA e DEZOTTI, 2003; RADJENOVIC et al., 2009; VERLICCHI et al., 2012; GUEDES-ALONSO et al, 2013).

GAO et al (2012) verificou a ocorrência e a remoção de 15 fármacos em uma estação de tratamento de esgotos de Michigan, EUA, que adota o sistema de lodos ativados. Neste estudo, onze dos quinze fármacos pesquisados foram detectados no afluente da ETE. Dentre eles, o paracetamol e a cafeína foram encontrados em altas quantidades (62 e 41 $\mu\text{g/L}$ respectivamente). As taxas de remoção dos fármacos estudados variaram entre 22%, para sulfadiazina, e próximo de 100%, para clortetraciclina. A carbamazepina se mostrou persistente no tratamento convencional adotado, apresentando uma degradação mínima.

Concluiu-se que o principal processo responsável pela degradação dos fármacos era a biodegradação, enquanto a sorção foi insignificante.

GROS et al (2010), estudou a remoção de 73 fármacos (entre eles ibuprofeno, carbamazepina, atenolol e paracetamol) de sete estações de tratamento de esgotos, durante três anos, no norte da Espanha. Os resultados indicaram que o tratamento convencional aplicado nas estações estudadas não foi capaz de remover completamente a maioria das substâncias. Verificou-se que, para aumentar a degradação da maioria dos compostos, é necessário aumentar o tempo de detenção hidráulica da planta de tratamento. Além disto, as substâncias encontradas nos corpos hídricos receptores dos efluentes indicaram que as estações de tratamento de esgotos são as maiores fornecedoras de tais substâncias para o meio ambiente aquático.

Este mesmo estudo constatou três diferentes situações: altas taxas de remoção para anti-inflamatórios não esteroidais e enalapril; baixas a médias taxas de remoção para reguladores de lipídeos, antibióticos e alguns β -bloqueadores; e aumento da concentração durante a passagem pela planta de tratamento para alguns antibióticos, carbamazepina, benzodiazepínicos e inibidores de recaptação de serotonina. Estas variações de comportamento ocorrem devido às diferentes propriedades físico-químicas das substâncias, e a parâmetros operacionais das estações de tratamento (temperatura de operação, condições de óxido-redução disponíveis, tempo de retenção do lodo e tempo de detenção hidráulica) (GROS, et al, 2010).

JELIC et al. (2012) revisou os dados de remoção de 20 fármacos pelo tratamento convencional de esgotos, e concluiu que a eficiência de remoção dos mesmos não é alta, sendo influenciada por propriedades químicas e biológicas, condições operacionais da planta, tecnologia de tratamento utilizada e características do esgoto. Concluiu ainda que, de todos os parâmetros operacionais, os tempos de detenção hidráulica e de lodo são os mais importantes, verificando-se aumento da capacidade de remoção destas substâncias com o aumento deste tempo de detenção (JELIC, et al., 2012).

Estão sendo discutidas, na literatura científica, alternativas de tratamento para a remoção dos fármacos. Algumas técnicas de tratamento avançado, como a ozonização, biorreatores de membrana e coagulação/flotação são promissoras na melhora da remoção destes micropoluentes.

De acordo com WETZIG (2008), que revisou os dados de remoção de sete fármacos (diclofenaco, carbamazepina, ácido clofibrico, sulfametoxazol, lopromide e metoprolol) por técnicas de tratamento avançado, a coagulação/flotação pode ser uma opção para certos fármacos não polares, biorreatores de membrana não mostraram ganhos consideráveis de remoção quando comparados ao tratamento convencional, e a ozonização mostrou boa capacidade de remoção de fármacos por promover a oxidação das substâncias, inclusive da carbamazepina, que possui difícil remoção.

Já RADJENOVIC et al. (2009) verificaram que tratamentos por membrana, em escala piloto, aumentaram a eliminação de algumas substâncias, como ácido mefenâmico, indometacina, diclofenaco, etc, porém para o anti-convulsivante carbamazepina e para o diurético hidroclorotiazida as membranas não foram eficientes na eliminação.

Na realidade brasileira, o assunto ainda é pouco explorado, principalmente no que diz respeito à eficiência dos processos de tratamento de esgotos na redução ou remoção de fármacos, sendo que os dados disponíveis ainda são um tanto empíricos.

À questão da eficiência dos processos de tratamento de esgotos soma-se o crescente consumo de medicamentos no Brasil. Conforme já foi explicitado anteriormente, o mercado brasileiro de medicamentos movimentou R\$ 70 bilhões em 2013, 12% a mais do que em 2012, e foi estimado um gasto médio anual, por brasileiro, de R\$ 430,92 (IBOPE, 2013). Este consumo crescente aumenta as preocupações relacionadas às efetivas quantidades de fármacos que estão sendo liberadas para o meio ambiente via efluente de ETEs.

3.1.5 Fármacos Seleccionados Para O Estudo

Atualmente, a ocorrência de fármacos e seus produtos de degradação no meio ambiente aquático é um importante assunto, abordado em diferentes estudos provenientes de diversos países, e sendo reconhecido como um problema emergente mundial (GOMEZ, 2008). Por exemplo, no Canadá, Brasil e alguns países da Europa foram demonstradas a presença de antilipêmicos, antiinflamatórios e hormônios estrogênicos, enquanto nos Estados Unidos e na Alemanha, encontrou-se antibióticos (BILA e DEZOTTI, 2003).

Duas fontes diferentes de descarga destes compostos podem ser elencadas: os esgotos domésticos, oriundos de residências privadas, e os esgotos de serviços de saúde, por exemplo hospitais (FELDMANN et al., 2008).

Estes dois tipos de esgotos apresentam características diferentes em relação à ocorrência e composição de fármacos. Esgotos domésticos contêm uma variedade de substâncias sujeitas à prescrição médica e também de venda livre, incluindo analgésicos, antibióticos, antipertensivos, hormônios, dentre outros. Efluentes hospitalares também são fontes de fármacos encontrados nos esgotos residenciais, mas, adicionalmente, contêm outros compostos tipicamente administrados neste ambiente, por exemplo meios de contraste, agentes de diagnóstico, compostos citostáticos, determinados antibióticos e analgésicos opióides (FELDMANN et al., 2008).

Para a realização do presente estudo, foram considerados os seguintes critérios na seleção dos fármacos: (i) alta taxa de utilização pela população; (ii) doses terapêuticas relativamente altas e/ou baixa taxa de metabolização no organismo; (iii) histórico de detecção, na literatura científica, em águas superficiais e efluentes de ETEs. Desta forma, as substâncias selecionadas foram as mais representativas das seguintes classes de fármacos:

- analgésicos e antitérmicos (antiinflamatórios não esteroidais): paracetamol e ibuprofeno;

- com ação terapêutica no aparelho cardiovascular: atenolol e sinvastatina;
- com ação no sistema nervoso central: carbamazepina e clonazepam.

Os antibióticos não foram selecionados devido ao recente controle de tais substâncias, instituído pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

3.1.5.1 Paracetamol

O paracetamol, também chamado de acetoaminofeno, é um analgésico e antiinflamatório não esteroideamente utilizado para alívio de dores variadas e febre, podendo ser utilizado em adultos e crianças (GUGGENHEIMER e MOORE, 2011).

Ele foi sintetizado pela primeira vez na França no final do século XIV, e desde então suas propriedades terapêuticas já eram conhecidas, porém só foi comercializado na América após 1955 (GUGGENHEIMER e MOORE, 2011).

Sua estrutura molecular está representada na Figura 2.

Figura 2 - Estrutura do paracetamol.

Fonte: HSDB, 2013.

No Brasil existem medicamentos de inúmeras marcas contendo paracetamol, sozinho ou em associação com outros fármacos, por exemplo Tylenol®, Tylex®, Tandrilax®, Cimegripe®, Mioflex®, Beserol®, Cefalium®, Refenol®, Naldecon®, Vick Pyrena®, dentre outros, bem como medicamentos genéricos (ANVISA, 2013).

Estes medicamentos estão disponíveis em variadas formas farmacêuticas, como comprimidos, comprimidos de liberação prolongada, líquido, xarope, comprimidos efervescentes e supositórios, sendo considerada uma boa escolha para uso em crianças, gestantes e lactentes.

As suas ações analgésica e antitérmica se dão através da inibição das enzimas ciclooxigenases (COX), que culmina com a inibição da síntese de prostaglandinas E1 e E2 principalmente em nível central, sendo as prostaglandinas mediadores importantes da resposta inflamatória. Seu exato mecanismo de ação é ainda desconhecido, mas pode envolver também determinadas vias serotoninérgicas do sistema nervoso central, e inibição da síntese de óxido nítrico (GUGGENHEIMER e MOORE, 2011).

A dose terapêutica do paracetamol varia de 500 miligramas à 4000 miligramas por dia. A ingestão de 7500 miligramas por um adulto de uma única vez é considerada potencialmente tóxica, com sérios comprometimentos da função hepática.

A dose terapêutica do paracetamol administrada oralmente é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal, com pico de concentração plasmática sendo atingido em 90 minutos. Sua meia vida no organismo varia de 2 a 2,5 horas. Aproximadamente 85% da dose terapêutica sofre metabolização de fase II, do tipo conjugação com sulfato e com ácido glicurônico, sendo os metabólitos eliminados na urina. Cerca de 10% do paracetamol absorvido segue a via de metabolização de fase I, do tipo oxidação com posterior conjugação à glutatona, e uma quantidade menor, cerca de 4%, é eliminada de forma inalterada na urina (HODGMAN e GARRARD, 2012).

Em relação às características físico-químicas do paracetamol, ele é altamente hidrofílico, e seu log Kow é 0,46, o que significa que, devido à ampla solubilidade

em água, não há tendência de adsorção a partículas de lodo, e ocorre incompleta transformação biológica durante os processos de tratamento de esgoto (BEDNER e MACCREHAN, 2006; KIM et al, 2007) (tabela 2). Adicionalmente, seu baixo valor de Koc confirma esta tendência.

Tabela 2 - Características físico-químicas do paracetamol.

	Valores	Referência
pKa*	9,38	Kim et al, 2007
Log Kow*	0,46	Kim et al, 2007
Koc*	21	PubChem, 2015
Cte. De Henry*	$8,93 \times 10^{-10} \text{ atm-cu m/mol}$	Daubert e Danner, 1989
Pressão de vapor	$6,29 \times 10^{-5} \text{ mmHg}$	Daubert e Danner, 1989
Solubilidade em água	21 mg/L	Yalkolsky, 1992.

* pKa: constante de dissociação de uma substância (quanto menor o valor de pKa, mais ácida é a substância e, junto com informações sobre o pH do meio, pode-se prever a tendência desta molécula se dissociar); Log Kow: logaritmo do coeficiente de partição octanol-água, constante esta que se relaciona à lipossolubilidade de uma substância (substâncias com valores altos de log Kow - maiores que 4,0 - são altamente lipossolúveis e tendem a sofrer adsorção aos sólidos enquanto substâncias com valores baixos de log Kow – menores que 2,5 - têm maior tendência a ficarem na fase aquosa); Koc: coeficiente de partição carbono orgânico-água, constante esta que se relaciona à mobilidade de contaminantes no solo (substâncias com valores altos de Koc – maiores que 1000 - têm baixa mobilidade enquanto substâncias com valores baixos de Koc – menores que 100 - têm maior tendência à mobilidade); Cte. De Henry: coeficiente de partição da substância entre o ar e a solução, constante esta que pode ser significativamente afetada pela temperatura, e mostra a tendência de evaporação de um composto. (PREVIDELLO et al., 2006; USEPA, 2001)

3.1.5.2 Ibuprofeno

O ibuprofeno (figura 3), fármaco também pertencente ao grupo dos anti-inflamatórios não esteroidais, é um derivado do ácido propiônico, e foi introduzido na terapêutica em 1969 (BUSHRA e ASLAM, 2010).

Figura 3 - Estrutura do ibuprofeno.

Fonte: HSDB, 2013.

Sua ação analgésica e antipirética se deve, basicamente, à inibição das cicloxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2), envolvidas na síntese de prostaglandinas, compostos estes de fundamental importância na produção da dor, febre e inflamação (BUSHRA e ASLAM, 2010).

A dose usual deste composto varia de 400 a 800 mg, três vezes ao dia, sendo bem absorvido por via oral. O pico de concentração plasmática se dá entre 1 e 2 horas após a administração, e após 24 horas ele é completamente eliminado do organismo. Ocorre biotransformação hepática da maior parte da quantidade ingerida, porém uma fração que varia de 1 a 10 % do ibuprofeno é excretada de forma inalterada na urina (BUSHRA e ASLAM, 2010).

No mercado farmacêutico brasileiro existem diversos medicamentos contendo ibuprofeno, por exemplo Advil®, Buscofem®, Doraliv®, Actiprofen®, dentre outros, bem como medicamentos genéricos (ANVISA, 2013).

As principais características físico-químicas do ibuprofeno estão descritas na tabela 3.

Tabela 3 - Características físico-químicas do ibuprofeno.

	Valores	Referência
pKa	4,91 / 5,2	Sangster, 1994 / McEvoy, 1990
Log Kow	3,97	Avdeef, 1997
Koc	3.400	HSDB, 2013
Cte. De Henry	$1,5 \times 10^{-7}$ atm-cu m/mol	Daubert e Danner, 1989
Pressão de vapor	$4,7 \times 10^{-5}$ mmHg	Daubert e Danner, 1989
Solubilidade em água	21 mg/L	Yalkolsky, 1992.

Os valores de pKa, que são as constantes de dissociação da molécula, permitem inferir que nas condições ambientais normais ele se encontra preferencialmente na forma dissociada. Entretanto, quando lançado na água, espera-se que ele sofra adsorção a sólidos suspensos e sedimentos, devido aos seus valores estimados de log Kow e de Koc (constante de adsorção) e a sua baixa solubilidade em água (MCEVOY, 1990; YALKOSKY, 1992; SANGSTER, 1994; AVDEEF, 1997). A pressão de vapor e a constante de Henry revelam que sua volatilização a partir da superfície da água não é esperada (LYMAN, 1990).

Sua meia-vida em água é de cerca de 20 dias, e seu potencial de bioconcentração em organismos aquáticos é baixo (BUSER, 1999).

Ibuprofeno tem sido detectado em amostras de águas superficiais dos Estados Unidos e da Suécia (BUSER, 1999; KOLPIN, 2002), e também em esgotos urbanos e efluentes de estações de tratamento de esgotos do Canadá, Suécia e Alemanha (ROGERS et al, 1986; HALLING-SORENSEN et al, 1998; BUSER, 1999).

Um estudo realizado por Stumpf e Ternes em 1999 verificou uma eficiência de remoção do ibuprofeno por processo de tratamento de esgoto adotado no Rio de Janeiro, Brasil, de 22 a 75% (STUMPF et al, 1999).

3.1.5.3 Atenolol

O atenolol (figura 4) é um fármaco comumente utilizado na prática clínica como antipertensivo, antiarrítmico e no tratamento de angina e de infarto agudo do miocárdio (EHRENPREIS SEY e EHRENPREIS ELI, 2001).

Figura 4 - Estrutura do atenolol.

Fonte: REDDY et al, 2013.

Ele age através do bloqueio de receptores de adrenalina, do tipo β , existentes nos vasos sanguíneos e no músculo cardíaco (EHRENPREIS SEY e EHRENPREIS ELI, 2001). Este bloqueio reduz os impulsos nervosos nestas estruturas, promovendo vasodilatação, diminuição da força de contração cardíaca e bloqueio dos impulsos que causam arritmia. Adicionalmente, ele promove um efeito central que reduz a ação adrenérgica periférica. (REDDY et al, 2013)

A dose terapêutica oral do atenolol varia de 50 a 200 mg por dia, sendo rapidamente absorvido, porém não completamente. Somente cerca de 50% da dose administrada é absorvida no trato gastrointestinal, sendo o restante eliminado nas fezes. A porção absorvida atinge o plasma, ocorrendo o pico de concentração de 2 a 4 horas após a ingestão. Sua metabolização hepática é pequena ou inexistente, e a excreção do composto inalterado se dá por via urinária. (REDDY et al, 2013) Cerca de 90% excretado inalterado na urina, segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2011).

No Brasil, existem diversos medicamentos contendo atenolol, por exemplo Atenol[®], Angipress[®], bem como medicamentos genéricos (ANVISA, 2013).

As principais características físico-químicas do atenolol estão descritas na tabela 4.

Tabela 4 - Características físico-químicas do atenolol (Fonte: REDDY et al, 2013).

Valores	
pKa	9,6
Log Kow	0,23
Ponto de fusão	152-154°C
Koc	148
Solubilidade em etanol	3,4 mg/mL
Solubilidade em água	0,3 mg/mL

Os valores mostrados na tabela 4 indicam um baixo potencial do atenolol sofrer bioacumulação em organismos vivos e uma baixa afinidade da molécula por sedimentos (baixo valor de log kow – menor que 2,5), entretanto seu Koc evidencia que uma moderada tendência de adsorção ao lodo (valores de Koc entre 100 e 1000 – moderada afinidade à fase sólida) (ATSDR, 1992; KUSTER et al, 2010).

3.1.5.4 Sinvastatina

A sinvastatina é um agente antilipidêmico do grupo das estatinas amplamente utilizado na prática clínica atual (figura 5) (POLONINI et al, 2011).

Figura 5 - Estrutura da sinvastatina.

Fonte: POLONINI et al, 2011.

Quimicamente, trata-se de uma lactona inativa que é convertida na forma ativa, o β,δ -hidroxiácido correspondente, através do citocromo P450 hepático, após administração oral (POLONINI et al, 2011).

Sua ação se dá através da inibição da enzima hidroximetilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) redutase, que catalisa a síntese de colesterol. Desta forma, na dose máxima diária recomendada de 80 mg, ela promove redução do colesterol de baixa densidade (LDL), muito baixa densidade (VLDL), triglicérides e apolipoproteína B, bem como um modesto aumento no colesterol de alta densidade (HDL) (PEDERSEN e TOBERT, 2004).

É comercializada, no Brasil, com diversos nomes, por exemplo Zocor[®], Sinvastacor[®], Clinfar[®], e também como medicamento genérico, geralmente na forma de comprimidos revestidos (ANVISA, 2013).

A absorção oral estimada é de cerca de 85%, sendo o restante eliminado de forma inalterada nas fezes. Outra porção é ainda eliminada de forma inalterada na urina, após sua absorção (HSDB, 2013). De acordo com a bula internacional do medicamento de referência da sinvastatina, Zocor, cerca de 13% da forma inalterada é excretada pela urina e quantidades de até 60%, pelas fezes (MERCK, 1991).

As principais características físico-químicas da sinvastatina estão descritas na tabela 5.

Tabela 5 - Características físico-químicas da sinvastatina.

	Valores	Referência
Log Kow	4,68	Hansch e Hoekman, 1995
Koc	8.400	HSDB, 2013
Cte. De Henry	$2,8 \times 10^{-10}$ atm-cu m/mol	USEPA, 2003
Pressão de vapor	$6,4 \times 10^{-13}$ mmHg	USEPA, 2003
Solubilidade em água	0,765 mg/L	USEPA, 2003
Solubilidade em metanol	200 mg/mL	USEPA, 2003

A sinvastatina é pouco solúvel em água e altamente solúvel em metanol. Seus valores de log Kow e de Koc indicam uma tendência deste composto sofrer adsorção a sólidos em suspensão e sedimentos. Além disto, é relatado um alto potencial de bioconcentração deste composto em organismos aquáticos. (HSDB, 2013)

3.1.5.5 Carbamazepina

A carbamazepina é um derivado tricíclico (figura 6) muito utilizado na terapêutica devido a sua ação anticonvulsivante e antipsicótica. (ARAÚJO et al, 2010)

Figura 6 - Estrutura da carbamazepina.

Fonte: ALEMAN et al, 2007.

Ela foi descoberta em 1953 pelo químico Walter Schindler, e introduzida no mercado em 1962, passando a ser classificada também como estabilizante de humor. (ARAÚJO et al., 2010)

Sua ação se dá através do bloqueio neuronal dos canais de sódio voltagem dependentes, estabilizando a hiperexcitação das membranas das células nervosas. Desta forma, ela inibe as descargas neuronais repetitivas e reduz a propagação dos impulsos excitatórios sinápticos dos neurônios despolarizados via bloqueio dos canais de sódio voltagem dependentes. (ARAÚJO et al., 2010)

A dose terapêutica da carbamazepina varia dependendo da finalidade do uso (anticonvulsivante, antineurálgico, doença bipolar ou tratamento da síndrome de abstinência alcoólica), podendo ir de 100 mg até 1200 mg diários. (ARAÚJO et al., 2010)

Após administração oral, ela é quase completamente absorvida, atingindo o pico plasmático médio em 12 horas após dose única. A maioria da carbamazepina ingerida é metabolizada no fígado, sendo que cerca de 1% a 2% é eliminada de forma inalterada na urina (ARAÚJO et al., 2010). Alguns autores relatam, porém, uma eliminação do composto inalterado de cerca de 31% (KHAN e ONGERTH, 2004).

Em humanos, após a administração oral, a carbamazepina é amplamente biotransformada, sendo relatados mais de 30 metabólitos, ativos e inativos, em uma complexa cadeia, envolvendo processos de epoxidação, hidrólise e conjugação com ácido glicurônico. Um dos metabólitos mais abundantes é o carbamazepina – N – glicuronideo conjugado (STAINES et al., 2004; GUASCH et al., 2012).

Os medicamentos comercializados, no Brasil, com carbamazepina incluem o Tegretol® e o Anoril®, além de medicamentos genéricos (ANVISA, 2013).

As principais características físico-químicas da carbamazepina estão descritas na tabela 6.

Tabela 6 - Características físico-químicas da carbamazepina.

	Valores	Referência
pKa	13,9	Oah et al, 2002
Log Kow	2,45	Dal pozzo, 1989
Koc	520	HSDB, 2013
Cte. De Henry	$1,1 \times 10^{-10}$ atm-cu m/mol	Meylan e Howard, 1991
Pressão de vapor	$1,8 \times 10^{-7}$ mmHg	HSDB, 2013
Solubilidade em água	18 mg/L	USEPA, 2003
Solubilidade em metanol	solúvel	USEPA, 2003

Ao observar as características físico-químicas da carbamazepina, é esperada uma moderada adsorção aos sólidos em suspensão e sedimentos, no ambiente aquático, devido aos seus valores de log Kow e Koc. A volatilização a partir da superfície aquática não é esperada. A meia-vida em regimes lóticos é de cerca de 907 horas (ou 38 dias), podendo ser maior em lênticos, e apresenta baixo potencial de bioconcentração em organismos aquáticos. (HSDB, 2013)

3.1.5.6 Clonazepam

O clonazepam (figura 7) é um fármaco do grupo dos benzodiazepínicos, possuindo como principais propriedades a inibição leve de várias funções do sistema nervoso, o que permite com isto, uma ação anticonvulsivante, alguma sedação, relaxamento muscular e efeito tranquilizante (DEF, 2008).

Figura 7 - Estrutura do clonazepam.

Fonte: HSDB, 2013.

Ele está indicado no tratamento de crises epiléticas, transtornos de ansiedade, transtornos de humor, algumas síndromes psicóticas, síndrome das pernas inquietas, dentre outros (DEF, 2008).

A dose terapêutica do clonazepam varia dependendo da finalidade do uso, podendo ir de 0,25 mg até 20 mg diários (DEF, 2008).

Após ingestão, o clonazepam é amplamente absorvido, e sofre biotransformação, porém, cerca de 2% da quantidade ingerida é excretada na forma inalterada, na urina (DEF, 2008).

Alguns medicamentos comercializados no mercado farmacêutico incluem Rivotril® e Cloпам®, bem como medicamentos genéricos.

As principais características físico-químicas do clonazepam estão descritas na tabela 7.

Tabela 7 - Características físico-químicas do clonazepam.

	Valores	Referência
pKa	13,9	Oah et al, 2002
Log Kow	2,41	Hansch e Hoekman, 1995
Koc	280	HSDB, 2013
Cte. De Henry	$7,0 \times 10^{-13}$ atm-cu m/mol	USEPA, 2011
Pressão de vapor	$7,32 \times 10^{-11}$ mmHg	USEPA, 2011
Solubilidade em água	< 100 mg/L	Budavaris, 1989
Solubilidade em metanol	8,6 mg/mL	Budavaris, 1989

Através da interpretação destas características físico-químicas, espera-se que o clonazepam possa sofrer moderada adsorção a sólidos em suspensão e sedimentos no meio ambiente aquático, devido aos seus valores de log Kow e Koc. A volatilização através da superfície da água não é esperada, e não existe um potencial importante para sofrer bioacumulação. (HSDB, 2013)

3.1.6 Riscos da presença de fármacos no ambiente para a saúde da população

Uma ferramenta fundamental para se avaliar a dimensão da problemática da exposição da população aos resíduos de fármacos no meio ambiente, e suas consequências para a saúde, é a avaliação de riscos, que é definida como sendo a análise sistemática científica dos potenciais efeitos adversos à saúde, resultantes da exposição humana a diversas substâncias. O risco é definido como a probabilidade da ocorrência de efeitos adversos baseados na exposição e no 'perigo' do agente em questão (KLAASSEN, 2008).

Assim, quando a população está exposta desavisadamente a substâncias que podem ser potencialmente danosas ao organismo humano, é fundamental conhecer-se o real risco à saúde, oriundo dessa exposição.

Finalmente, os fármacos, podem estar sendo ingeridos pela população, durante um período prolongado, representando riscos à saúde e estes devem ser avaliados.

Este trabalho não pretende realizar uma avaliação de risco completa, porém discutirá os principais aspectos do risco relacionado ao contato da população humana com a água eventualmente contaminada pelos fármacos anteriormente discutidos.

3.1.7 Aspectos Legais

A Política Nacional de Resíduos Sólidos, instituída pela Lei Federal nº 12.305/2010, representou um necessário marco regulatório para o Brasil no que diz respeito à gestão integrada e ao gerenciamento de resíduos sólidos (BRASIL, 2010),.

Entretanto, o Brasil não dispõe atualmente de regulamentação específica para o gerenciamento de resíduos de medicamentos, sejam eles gerados nos serviços de saúde ou nos domicílios, vencidos ou não.

Especificamente sobre a classificação dos resíduos de medicamentos e seus rejeitos existem algumas leis e normas infra legais direcionadas para determinados setores da cadeia de produção farmacêutica, bem como aos serviços de saúde, porém elas não definem claramente o modo correto de descarte de todas as substâncias medicamentosas atualmente utilizadas. As principais regulamentações neste sentido são:

- Decreto nº 7.404/2010;
- Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 17/2010;
- RDC da ANVISA nº 44/2009;
- Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 358/2005;
- RDC da ANVISA nº 306/2004;

Referidas regulamentações consideram que alguns tipos de medicamentos são resíduos sólidos de serviços de saúde (RSS), uma vez que são gerados em serviços relacionados com o atendimento à saúde humana ou animal, mais especificamente em serviços de assistência domiciliar e de trabalhos de campo,

laboratórios analíticos de produtos para saúde, drogarias e farmácias inclusive as de manipulação, estabelecimentos de ensino e pesquisa na área de saúde, centros de controle de zoonoses, distribuidores de produtos farmacêuticos, unidades móveis de atendimento à saúde, dentre outros similares.

A RDC ANVISA n.º 17/2010 dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos (ANVISA, 2010). Já a RDC ANVISA nº 306/2004 e a Resolução CONAMA nº 358/2005 tratam especificamente do gerenciamento e destinação final de resíduos sólidos de saúde, inclusive classificando certos tipos de substâncias medicamentosas no Grupo B, que engloba (ANVISA, 2004; CONAMA, 2005):

“resíduos contendo substâncias químicas que podem apresentar risco à saúde pública ou ao meio ambiente, dependendo de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade e toxicidade.

- Produtos hormonais e produtos antimicrobianos; citostáticos; antineoplásicos; imunossuppressores; digitálicos; imunomoduladores; anti-retrovirais, quando descartados por serviços de saúde, farmácias, drogarias e distribuidores de medicamentos ou apreendidos e os resíduos e insumos farmacêuticos dos Medicamentos controlados pela Portaria MS 344/98 e suas atualizações.

- Resíduos de saneantes, desinfetantes, desinfestantes; resíduos contendo metais pesados; reagentes para laboratório, inclusive os recipientes contaminados por estes.

- Efluentes de processadores de imagem (reveladores e fixadores).

- Efluentes dos equipamentos automatizados utilizados em análises clínicas

- Demais produtos considerados perigosos, conforme classificação da NBR 10.004 da ABNT (tóxicos, corrosivos, inflamáveis e reativos).”

Por sua vez, a Norma Brasileira (NBR) 10.004 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), citada na RDC ANVISA nº 306/2004 e Res. CONAMA nº 358/2005, define resíduos sólidos como sendo *“resíduos nos estados sólido e semi-sólido, que resultam de atividades de origem industrial, doméstica,*

hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e de varrição.[...]”, e os classifica, disponibilizando listas de substâncias que devem ser classificadas como resíduos perigosos. As substâncias que não se encaixem nas suas definições são consideradas resíduos não perigosos, que podem ser ainda não inertes ou inertes (ABNT, 2004).

Através do minucioso estudo das aludidas regulamentações, pode-se verificar que, dentre os fármacos estudados, a carbamazepina e o clonazepam são classificados como RSS, do Grupo B, ou seja, grupo de resíduos tóxicos, por serem substâncias controladas pela Portaria nº 344/98 do Ministério da Saúde, e desde de que sejam gerados em serviços de saúde (MS, 1998).

Já as outras substâncias, a citar: paracetamol, ibuprofeno, atenolol e sinvastatina, são enquadradas como resíduos não perigosos, não inertes.

As orientações para o correto descarte de cada uma destas classes de resíduos, explicitadas nas regulamentações acima citadas, são bem diversas e, às vezes, controversas.

Para o clonazepam e a carbamazepina, classificados como RSS do grupo B, a RDC ANVISA nº 306/2004 preconiza que seus resíduos atendam à legislação sanitária em vigor, desde que gerados em serviços de saúde, ou seja, não especifica uma destinação adequada (ANVISA, 2004).

Já para paracetamol, ibuprofeno, atenolol e sinvastatina, abordados neste estudo e considerados resíduos não perigosos, não há regulamentação nacional para o correto descarte.

No Estado de São Paulo, existe a Norma Técnica da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) P 4.262/2007, que se refere aos resíduos não perigosos, e estabelece procedimentos para seu descarte, sendo (CETESB, 2007):

- O resíduo químico não perigoso e não reciclável no estado sólido ou semi-sólido, segregado pode ser acondicionado em saco plástico (NBR 9.191), para descarte como resíduo comum em sistemas devidamente licenciados pela CETESB.

- Os resíduos químicos não perigosos e não recicláveis no estado líquido, quando descartados isoladamente ou em conjunto deverão atender ao artigo 19-A do Decreto nº 8.468 que regulamenta a Lei nº 997, para lançamento em rede coletora conectada à estação de tratamento de esgotos e no caso de lançamento em corpo d'água deverão atender à Resolução CONAMA nº 357 e ao Decreto nº 8.468 que regulamenta a Lei nº 997. Caso necessário estes resíduos deverão sofrer tratamento adequado ao tipo de destinação adotada. (CETESB, 2007)

Adicionalmente, a Portaria nº 21/2008, do Centro de Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo, dispõe diretrizes para o correto gerenciamento de resíduos perigosos de medicamentos gerados em serviços de saúde. Esta portaria apresenta dois anexos com substâncias classificadas como resíduos perigosos de medicamentos (RPM) e não se aplica a resíduos de medicamentos oriundos de residências. Em tempo, vale destacar que nenhuma das substâncias abordadas neste trabalho constam nos anexos da Portaria nº 21/2008, e portanto não são considerados RPM.

Apesar de estas regulamentações não se referirem especificamente aos resíduos de medicamentos domiciliares, hoje se tem consciência de que o descarte aleatório de medicamentos vencidos ou sobras é feito, por grande parte da população, no lixo comum ou na rede pública de esgoto, prática esta de certa forma estimulada pelas resoluções, decretos e normas técnicas historicamente em vigor.

Uma vez que os conhecimentos científicos acerca dos efeitos crônicos para o meio ambiente e para a saúde humana, oriundos da contaminação ambiental por fármacos, ainda não estão satisfatoriamente elucidados, e também, considerando os potenciais de ação deles sobre os sistemas biológicos, bem como os dados já existentes na literatura científica sobre estes efeitos, nota-se que as regulamentações atuais acima mencionadas podem estar contribuindo para uma potencial contaminação ambiental por fármacos.

A despeito do vácuo legislativo brasileiro atual, a forma correta de descarte de medicamentos tem sido uma preocupação constante da sociedade em diversos países do mundo.

A tendência legislativa é seguir a coerência da logística reversa, já prevista na RDC ANVISA nº 44/2009 e no Decreto nº 7.404/2010 (ANVISA, 2009; BRASIL, 2010).

A RDC ANVISA nº 44/2009, em seu artigo 93, permite *“às farmácias e drogarias participarem de programa de coleta de medicamentos a serem descartados pela comunidade, com vistas a preservar a saúde pública e a qualidade do meio ambiente, considerando os princípios da biossegurança de empregar medidas técnicas, administrativas e normativas para prevenir acidentes, preservando a saúde pública e o meio ambiente”*.

Já o Decreto nº 7.404/2010, que regulamenta a Lei nº 12.305/2010, em seu artigo 13, define a logística reversa como sendo *“o instrumento de desenvolvimento econômico e social caracterizado pelo conjunto de ações, procedimentos e meios destinados a viabilizar a coleta e a restituição dos resíduos sólidos ao setor empresarial, para reaproveitamento, em seu ciclo ou em outros ciclos produtivos, ou outra destinação final ambientalmente adequada”*.

Neste sentido, a ANVISA tem discutido o assunto desde 2011, quando lançou uma consulta pública, e atualmente, propõe a implantação de uma logística reversa para os resíduos de medicamentos gerados em serviços de saúde, por meio do Grupo de Trabalho Temático de Medicamentos, que conta com a participação de representantes do setor farmacêutico, órgãos de vigilâncias sanitárias estaduais e municipais, órgãos do meio ambiente, entidades profissionais e representantes da sociedade civil organizada, dentre outros (ANVISA, 2011).

Em setembro de 2016 a ABNT publicou a NBR 16457, especificando os requisitos aplicáveis às atividades de logística reversa de medicamentos descartados pelo consumidor (ABNT, 2016). Esta Norma, que não tem força de lei, estabelece as condições mínimas para *“proteção e prevenção dos riscos ao meio ambiente, segurança ocupacional, saúde pública, no processo de descarte, armazenamento temporário, coleta e transporte de medicamentos de uso humano provenientes de domicílios, descartados pelo consumidor”*. Ela prevê a existência de pontos de recebimento com responsável técnico, que devem ter dispensador contendor,

suprimentos para operação e espaço para armazenamento temporário e pontos de recebimento temporários, instalados em locais que não possuam autorização sanitária para comercialização ou dispensação de medicamentos, e que devem comunicar a coleta aos órgãos competentes. Prevê também a existência de coleta externa de medicamentos que deve ser realizada em veículos com carroceria fechada, nos mesmos sacos ou embalagens dos coletores onde foram descartados, os quais devem permanecer fechados, para serem transportados de maneira segura durante todo o trajeto. A norma recomenda, ainda, a reciclagem de bulas e embalagens secundárias (Simpósio Internacional de Resíduos de Serviços de Saúde, 2017).

O Estado do Paraná saiu na frente na regulamentação do descarte adequado de medicamentos vencidos ou fora de uso, através da Lei Estadual 17.211/2012. Tal lei implementa como obrigação legal a logística reversa, tendo como justificativa a sustentabilidade do planeta (PARANÁ, 2012).

Mais recentemente, a Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, através da Resolução nº 45/2015, definiu diretrizes para o aprimoramento, implementação e operacionalização da responsabilidade pós-consumo, determinando, em seu artigo 2º que:

“São obrigados a estruturar e implementar sistemas de logística reversa, mediante retorno dos produtos e embalagens após o uso pelo consumidor, de forma independente do serviço público de limpeza urbana e de manejo dos resíduos sólidos, os fabricantes, importadores, distribuidores e comerciantes dos produtos que, por suas características, exijam ou possam exigir sistemas especiais para acondicionamento, armazenamento, coleta, transporte, tratamento ou destinação final, de forma a evitar danos ao meio ambiente e à saúde pública, mesmo após o consumo desses itens.

Parágrafo único - Fica inicialmente estabelecida a seguinte relação de produtos e embalagens comercializados no Estado de São Paulo sujeitos à logística reversa: I - Produtos que, após o consumo, resultam em resíduos considerados de significativo impacto ambiental: a) Óleo lubrificante usado e contaminado; b) Óleo Comestível; c) Filtro de óleo

lubrificante automotivo; d) Baterias automotivas; e) Pilhas e Baterias portáteis; f) Produtos eletroeletrônicos e seus componentes; g) Lâmpadas fluorescentes, de vapor de sódio e mercúrio e de luz mista; h) Pneus inservíveis; e i) Medicamentos domiciliares, vencidos ou em desuso.”

Entretanto, conforme abordado acima, o Brasil até o momento não unificou a forma de tratamento de resíduos de medicamentos, sejam eles gerados nos serviços de saúde, sejam nos domicílios residenciais.

3.2 OS PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ESGOTOS ESTUDADOS

A composição dos esgotos sanitários muda em função de diversas variáveis incluindo clima e hábitos culturais da população local, e também ao longo do tempo.

Seu tratamento tem como objetivo (CETESB, 1989):

- prevenir e reduzir a disseminação de doenças transmissíveis causadas pelos microrganismos patogênicos;
- conservar as fontes de abastecimento de água para uso doméstico, industrial e agrícola;
- manter as características da água necessária à piscicultura;
- fazer a manutenção das águas para banho e outros propósitos recreativos e;
- preservar a fauna e flora aquática.

O grau necessário a ser alcançado num determinado tratamento de esgotos sanitários varia de um lugar para outro e depende dos seguintes requisitos:

- usos preponderantes das águas receptoras a jusante do ponto de lançamento dos esgotos;

- capacidade do corpo de água em assimilar, por diluição e autodepuração, o líquido tratado e;
- exigências legais estabelecidas pelos órgãos de controle de poluição para o corpo receptor em apreço.

Assim, o tratamento dos esgotos sanitários pode ocorrer em determinados níveis, sendo: tratamento preliminar, tratamento primário, tratamento secundário e tratamento terciário (figura 8).

Figura 8 - Níveis de tratamento de esgoto.

Fonte: Paganini W.S. – modificado.

O tratamento preliminar promove a remoção do material mais grosseiro do esgoto, tais como os sólidos maiores suspensos (trapos, escovas de dente, bitucas de cigarro, excretas, galhos e troncos) e os sólidos decantáveis, tais como areia e gordura, os quais podem provocar manutenção ou problemas operacionais nas operações de tratamento, processos e sistemas auxiliares de uma estação de tratamento (METCALF e EDDY, 2003).

O tratamento primário promove a remoção dos sólidos menores suspensos e matéria orgânica do esgoto (METCALF e EDDY, 2003). Esse tipo de material em suspensão, não grosseiro, que flutua ou decanta, requer o emprego de equipamentos com tempo de detenção maior que no tratamento preliminar, tais como decantadores e flotadores, os quais produzem o lodo primário ou cru, que deve ser tratado antes de sua disposição (CETESB, 1989).

No tratamento secundário há a remoção da matéria orgânica biodegradável (em solução ou suspensa) e dos sólidos suspensos. A desinfecção pode incluída na definição de um tratamento secundário convencional (METCALF e EDDY, 2003). Nele, são utilizados microrganismos que se alimentam dessa matéria orgânica suspensa ou solúvel, transformando-a em sais minerais e novos microrganismos.

Já o tratamento terciário promove a remoção de sólidos suspensos residuais, após o tratamento secundário, feito usualmente por filtração média granular ou microtelas. A desinfecção pode, tipicamente, ser considerada parte do tratamento terciário, bem como a remoção de nutrientes (METCALF e EDDY, 2003). O tratamento terciário é utilizado quando se deseja um esgoto tratado de qualidade superior. Nesse tratamento é possível remover nutrientes, que normalmente não são retirados nos tratamentos anteriores, além de matéria orgânica, sólidos suspensos e patogênicos em um grau ainda maior que no tratamento secundário (CETESB, 1989)

3.2.1 Tratamento Biológico

Os processos biológicos de tratamento de esgotos, ditos em níveis secundários, são os mais utilizados mundialmente, e se baseiam na degradação da matéria orgânica por microrganismos naturalmente presentes no ambiente. Isto significa que o tratamento biológico de esgotos é um processo que pode ocorrer naturalmente no solo ou na água, desde que predominem condições apropriadas,

e uma estação de tratamento de esgotos é, em essência, um sistema que explora esses mesmos organismos, procurando-se otimizar condições como espaço físico para ocorrência das reações, tempo de detenção hidráulica, eficiência das reações bioquímicas, entre outros. (CAMPOS, 1999).

O tratamento secundário ou biológico consegue transformar a matéria orgânica solúvel do esgoto em matéria orgânica insolúvel, os microrganismos. Os microrganismos mais importantes para o tratamento dos esgotos são as bactérias, seres microscópicos que se reproduzem em grandes velocidades. O ponto fundamental do tratamento biológico de esgotos é fornecer condições para que as bactérias sobrevivam e utilizem o esgoto de maneira mais eficiente (CETESB, 1989). Pode-se classificar o tratamento biológico de esgotos em aeróbio, se for fornecido oxigênio ao sistema; anaeróbio, se o oxigênio estiver ausente; e facultativo se, no mesmo tratamento, existirem regiões aeróbias e anaeróbias. As bactérias facultativas, devido às suas propriedades, podem participar destes três tipos de tratamento. O tratamento secundário gera algumas vezes um lodo que precisa ser convenientemente manuseado. Seu tratamento e disposição devem ser encarados com atenção, pois, muitas vezes, essas operações tornam-se mais complicadas e dispendiosas do que o próprio tratamento dos esgotos (CETESB, 1989).

Em geral os tratamentos biológicos apresentam alta eficiência na remoção de matéria orgânica, mas as suas capacidades de remoção de fármacos se mostraram bem variadas, nas literaturas disponíveis, dependendo da substância em questão e das particularidades da planta de tratamento avaliada. (LOOS et al, 2012; VERLICH I et al, 2012)

Inúmeras variações nestes processos biológicos de tratamento de esgotos são descritas e utilizadas na redução da carga orgânica de esgotos domésticos e urbanos. Neste estudo foram selecionadas estações de tratamento que utilizam o sistema de lodos ativados com oxigênio puro, o sistema de lagoas aeradas e o sistema de reator anaeróbio de fluxo ascendente associado a filtro anaeróbio e filtro aeróbio submerso. Nas três situações, o efluente final é submetido à desinfecção por cloro.

3.2.2 Processo de Lodos Ativados

O processo de lodos ativados convencional, que é um dos tipos de tratamentos secundários, é utilizado para tratamento de esgotos domésticos e industriais há mais de 60 anos. Sua origem se deu a partir da observação que o esgoto, quando aerado por certo período de tempo, apresentava uma redução do conteúdo de matéria orgânica e, ao mesmo tempo, havia a formação de um lodo floculento. Exames microscópicos deste lodo revelaram que ele é formado por uma população heterogênea de microrganismos (principalmente bactérias, mas também algas, fungos e protozoários) que se altera continuamente em resposta a variação da composição do esgoto e das condições ambientais. (RAMALHO, 1983)

A figura 9 mostra o esquema geral do processo de lodos ativados convencional, que consiste basicamente em decantação primária, que diminui a carga de sólidos do esgoto, tanque de aeração, onde o efluente é introduzido e misturado com o lodo rico em microrganismos, ocorrendo a oxidação da matéria orgânica, e tanque de sedimentação, utilizado para a sedimentação dos flocos microbiais produzidos durante a fase de oxidação no tanque de aeração. A medida que ocorre a oxidação da matéria orgânica e a sedimentação, há diminuição do nível de oxigênio no meio e a atividade de bactérias aeróbias decresce, ao passo que ocorre o desenvolvimento de bactérias anaeróbias. (FREIRE et al, 2000)

Uma importante característica do processo por lodo ativado é a recirculação de grande quantidade de biomassa, o que faz com que grande número de microrganismos permaneça por longo tempo no meio, facilitando o processo de oxidação dos compostos orgânicos e diminuindo o tempo de detenção do efluente.

Figura 9 - Representação dos tratamentos preliminar, primário e secundário, contemplando o esquema convencional de tratamento por lodos ativados.

Fonte: Sabesp, sem data.

O processo de lodos ativados com oxigênio puro consiste basicamente em tanque de oxigenação, onde ocorre injeção de oxigênio puro, e o efluente é introduzido e misturado com o lodo rico em microrganismos, ocorrendo a oxidação da matéria orgânica. Posteriormente há o tanque de sedimentação, utilizado para a sedimentação dos flocos microbiais produzidos durante a fase de oxidação (figura 10) (FREIRE et al, 2000).

O desenvolvimento de microrganismos anaeróbios é impedido, ocorrendo somente a degradação aeróbia (FREIRE et al, 2000), entretanto, o processo de recirculação de lodo é mantido da mesma forma que no processo de lodos ativados convencional, o que garante alta eficiência (a eliminação da demanda bioquímica de oxigênio – DBO - alcança a faixa de 90% a 95%) em um período de tempo reduzido e suportando altas cargas de matéria orgânica. Outros aspectos positivos são a produção reduzida de lodo, uma menor área necessária para instalação e um consumo de energia menor que o método convencional, porém os custos do oxigênio puro ainda encarecem o processo (GANGHIS e PESTANA, sem data).

Figura 10: Sistema de tratamento por lodo ativado com oxigênio puro (somente fase líquida).

Fonte: Autor.

3.2.3 Lagoas Aeradas

No sistema de tratamento por lagoas aeradas ocorre, também, o processo de degradação biológica da matéria orgânica, sendo essencialmente por via aeróbia. Consiste em lagoas com profundidade variando de 2,5 até 4,0 metros de profundidade, dotadas de aeradores que promovem, ao mesmo tempo, o suprimento de oxigênio e a completa mistura do líquido na lagoa. A qualidade do esgoto que vem da lagoa aerada não é adequada para lançamento direto, pelo fato de conter grande quantidade de sólidos. Por esta razão elas são geralmente seguidas de lagoas de decantação, que permitem a sedimentação dos sólidos contidos nos efluentes das lagoas aeradas. (SABESP, 2009)

O processo de tratamento por lagoas aeradas pode ser entendido como um processo de lodos ativados sem recirculação de lodo. As principais unidades que o compõem, são (Figura 11): (PIVELI, 2006)

- Tratamento preliminar: gradeamento e desarenação;
- Lagoas aeradas mecanicamente;
- Lagoas de decantação.

As lagoas aeradas mecanicamente foram concebidas para resolver problemas de sobrecargas em sistemas de lagoas de estabilização. Os esgotos tratados por lagoas aeradas apresentam as seguintes características em seus efluentes: DBO_5 inferior a 30 mg/L e sólidos em suspensão (SS) inferior a 40 mg/L e concentração de nitrogênio amoniacal (N_{amon}) superior à 25 mg/L. O excesso de lodo produzido é da ordem de 15 a 25 g SS / Hab.dia, sendo estabilizado e removido a cada 4 a 5 anos (PIVELI, 2006).

Elas podem ser classificadas como reatores de crescimento em suspensão na massa líquida, sem retenção de biomassa. Da mesma forma que no processo de lodos ativados, ocorre a floculação biológica como resultado da interação entre microrganismos e matéria orgânica, sendo os flocos mantidos em suspensão pela aeração mecânica, que tem por objetivo principal o suprimento de oxigênio para as reações bioquímicas de decomposição de matéria orgânica. Porém, no sistema de lagoas aeradas não há recirculação de biomassa e, desta forma, não há necessidade de decantadores de concreto armado com removedores mecânicos de lodo. Empregam-se como unidades separadoras de sólidos as lagoas de decantação, obras de terra taludadas que têm também por objetivo o armazenamento e a digestão do lodo durante o período entre limpezas, o que ocorre geralmente a cada dois anos ou mais. As próprias lagoas aeradas são também obras de terra que podem ser revestidas com concreto para impedir processos erosivos dos taludes e do solo sob os aeradores (PIVELI, 2006).

O sistema de aeração pode ser constituído de aeradores superficiais de alta rotação flutuantes ou de ar soprado e difuso distribuído ao longo do fundo das unidades. Deve ser notado que, não havendo reciclagem de células, a concentração de sólidos em suspensão é bem menor do que a dos processos de lodos ativados, o que faz com que as lagoas aeradas sejam proporcionalmente bem maiores que os tanques de aeração dos sistemas de lodos ativados, uma vez que a idade do lodo é praticamente igual ao tempo de detenção hidráulica (PIVELI, 2006).

O sistema é composto pelo tratamento preliminar, gradeamento e desarenação, seguido das lagoas aeradas mecanicamente e das lagoas de decantação. É

necessária a previsão de dispositivos de remoção e secagem do lodo acumulado nas lagoas de decantação (PIVELI, 2006).

Obedecendo a tendência atual do tratamento de esgotos, é possível a aplicação de tratamento anaeróbico antes das lagoas aeradas, reduzindo-se os custos de energia elétrica para a aeração. Na literatura são descritas duas modalidades de lagoas aeradas mecanicamente: as de mistura completa e as facultativas. Para a ocorrência de mistura completa do conteúdo da lagoa, é necessária a disponibilização de uma densidade de potência de pelo menos 4 w/m³. Empregando-se densidades menores parte do lodo se sedimenta na própria lagoa aerada, entrando em decomposição anaeróbia e tornando-a facultativa (PIVELI, 2006).

Os sistemas de lagoas aeradas mecanicamente seguidas de lagoas de decantação demonstram-se viáveis para a aplicação em uma faixa ampla de tamanho de municípios, de pequeno a médio portes. Seus custos de implantação são mais baixos e a operação é mais simples que a dos sistemas de lodos ativados. É um tratamento bastante objetivo, removendo eficientemente DBO carbonácea, cerca de 90% (PIVELI, 2006).

Figura 11 - Esquema clássico de tratamento por lagoas aeradas.

Fonte: Autor.

3.2.4 Reator Anaeróbico de Fluxo Ascendente

O sistema de tratamento através de reator anaeróbio de fluxo ascendente (RAFA), ou em inglês, upflow anaerobic sludge blanket (UASB), trabalha basicamente com a degradação anaeróbia da matéria orgânica. Ele foi desenvolvido no início da década de 70, na Holanda. Seu princípio de funcionamento consiste em distribuir o esgoto uniformemente no fundo do reator para que ele escoe em fluxo ascendente através do mesmo, que se encontra sob estritas condições anaeróbias, a uma velocidade que varia de 0,5 a 1,5 m/h. No interior do reator ocorre um processo de seleção, que pode resultar no crescimento de microrganismos anaeróbios em conglomerados compactos na forma de grânulos de tamanho variando entre 0,5 e 5 mm. Estes grânulos funcionam como catalisadores biológicos que convertem a matéria orgânica degradável em biogás, de maneira rápida e completa (SILVA, 2007).

O substrato a ser tratado é distribuído ao longo da parte inferior, através de uma densa camada de lodo anaeróbio. O resíduo flui na direção da parte superior, passando pelo leito do lodo, no qual sua demanda química de oxigênio (DQO) é parcialmente convertida em biogás (SILVA, 2007).

No topo do reator, o separador de três fases atua sobre o efluente tratado e o lodo bacteriano granulado que foi arrastado torna-se o biogás. Enquanto o biogás é retirado do sistema, o lodo granulado, mais pesado, volta a se depositar no fundo e o efluente sai pela parte mais alta do reator. Um bom contato entre o resíduo a ser tratado e o lodo anaeróbio é de fundamental importância para a performance do reator, daí é necessário um sistema de distribuição que evite curtos-circuitos e espaços desperdiçados, e seja de fácil limpeza por causa de entupimentos (SILVA, 2007).

O processo anaeróbio de tratamento apresenta elevado grau de conversão da matéria orgânica, baixa produção de lodo, destruição de microrganismos patogênicos e geração de gases com elevada concentração de metano.

O sistema completo apresenta, comumente, outras unidades além do reator (Figura 12): tratamento preliminar (gradeamento e desarenação), RAFA e lagoa de decantação.

Figura 12 - Esquema clássico de tratamento por reator anaeróbico de fluxo ascendente.

Fonte: Autor.

Na estação de tratamento selecionada para este estudo existe ainda um filtro anaeróbico e um filtro aeróbico submerso associado ao RAFA. O filtro anaeróbico é um tanque preenchido com pedras britadas, ou outro material inerte, que serve de suporte para aderência e desenvolvimento de microrganismos, recebendo um fluxo de esgoto que pode ser horizontal, ascendente ou descendente, que sofre degradação anaeróbica da matéria orgânica, na medida em que percorre o filtro (SILVA, 2007). Finalmente, o filtro aeróbico submerso consiste em um tanque também preenchido por material inerte, e no seu interior é introduzido ar comprimido, ocorrendo o crescimento de microrganismos aeróbios no meio suporte. As bolhas de ar promovem erosão do biofilme e previnem a colmatação do meio filtrante, e a turbulência assegura o bom contato entre o substrato e os microrganismos. Este filtro é muito utilizado como pós tratamento de efluentes anaeróbios. (AISSE, 2001)

3.3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA DO MÉTODO ANALÍTICO UTILIZADO

Este trabalho utilizou a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) como método analítico para analisar os fármacos paracetamol, ibuprofeno, atenolol, sinvastatina, carbamazepina e clonazepam em esgoto bruto e efluente de ETE.

A cromatografia líquida de alta eficiência é uma das técnicas de separação de grande destaque dentro da química analítica e da ciência ambiental, sendo utilizada como uma excelente ferramenta para os mais variados estudos envolvendo os poluentes orgânicos emergentes, principalmente fármacos. Sendo assim, existem diversos trabalhos publicados nesta área, principalmente em amostras aquosas, mas podem ser encontrados na literatura vários estudos com outros poluentes orgânicos emergentes em várias matrizes ambientais. Os detectores que utilizam espectrômetro de massas são os mais empregados, devido às baixas concentrações que esses analitos apresentam, sendo este o único detector que permite a detecção destas baixas quantidades e, ao mesmo tempo, a confirmação estrutural dos analitos, principalmente quando usado em série à cromatografia líquida (SILVA e COLLINS, 2011).

3.3.1 Métodos cromatográficos de análise

A União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) define a cromatografia como sendo um método físico de separação no qual os componentes são separados e distribuídos entre duas fases, uma delas fixa (a fase estacionária) e a outra dotada de movimento em determinada direção (a fase móvel) (ANDREY, 2003).

A cromatografia possui aplicação em todas as áreas de ciência, e atualmente, a conformação em coluna é a mais difundida. Ela foi inventada e assim denominada no início do século XX pelo botânico russo Mikhail Tswett, que empregou a técnica para separar vários pigmentos vegetais, tais como clorofilas e xantofilas, fazendo-se passar dissoluções destes compostos através de uma coluna de vidro preenchida com carbonato de cálcio finamente dividido. As espécies separadas apareciam como bandas coloridas na coluna, o que deu origem ao nome

cromatografia (do grego *chroma* que significa cor, e *graphein* que significa escrita) (SKOOG et al, 2001).

Ela agrupa um conjunto importante e diverso de métodos de separação, sendo que em todos eles, a amostra se desloca juntamente com uma fase móvel, que pode ser um gás, um líquido ou um fluido supercrítico. Essa fase móvel passa através de uma fase estacionária imiscível e fixa a uma coluna ou a uma superfície sólida. Existem diversos tipos de fases estacionárias e fases móveis, sendo escolhidas de tal forma que os componentes da amostra se distribuam de modo distinto entre elas. Assim, aqueles componentes que são fortemente retidos pela fase estacionária se movem lentamente com o fluxo de fase móvel; e ao contrário, os componentes que são pouco retidos pela fase estacionária, se movimentam com rapidez junto com a fase móvel. Como consequência, os componentes da amostra se separam em bandas que podem ser analisadas qualitativa ou quantitativamente. Ao final da coluna, há um detector que registra o sinal em função do tempo, sendo obtido, desse modo, um “gráfico” denominado cromatograma, o qual fornece informação a respeito da identificação do componente através da posição do pico ao longo do tempo, ou seja, do tempo de retenção do composto, e também da sua quantidade, através da intensidade da resposta de um analito (altura ou área do pico) na amostra investigada e sua comparação com a intensidade de resposta de quantidades conhecidas do padrão analítico da mesma substância, medida sob as mesmas condições (SKOOG et al, 2001; ANDREY, 2003).

3.3.1.1 Cromatografia líquida de alta eficiência¹

A cromatografia líquida é caracterizada pelo uso de uma fase móvel líquida.

¹ CLAE; em Inglês: High Performance Liquid Chromathography, HPLC.

Em uma primeira etapa de seu desenvolvimento, em meados do Século XX, a cromatografia líquida utilizava colunas de vidro com diâmetros de 1 a 5 centímetros, e comprimentos de 50 a 500 centímetros. Essas colunas eram preenchidas com partículas de fase sólida grandes, em geral de 150 a 200 micrômetros de diâmetro. Desse modo, os fluxos de solventes (fases móveis) eram baixos e consequentemente os tempos de separação e análise eram altos, podendo levar várias horas. Com a necessidade de acelerar as análises, os cientistas perceberam que poderiam diminuir os tamanhos das colunas (diâmetro e comprimento) e os tamanhos das suas partículas de preenchimento, obtendo-se com isso resultados melhores e em menor tempo. Porém, somente em finais de 1960 é que a tecnologia adequada para produzir partículas de preenchimento bem pequenas (da ordem de 3 a 10 micrometros) tornou-se disponível. Essas novas colunas requereram o desenvolvimento de uma instrumentação sofisticada, capaz de trabalhar a altas pressões, e a todo esse novo aparato deu-se o nome de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, sigla oriunda do termo em inglês) (SKOOG et al, 2001).

Atualmente a cromatografia líquida de alta eficiência é a técnica analítica de separação mais utilizada, com vendas anuais de equipamentos e acessórios que se aproximam a um bilhão de dólares. Isso se deve à sua boa sensibilidade, fácil adaptação às determinações quantitativas exatas e, sobretudo a sua grande aplicabilidade a compostos de interesse para a ciência, indústria e sociedade em geral. Alguns exemplos desses materiais são: fármacos diversos, praguicidas, drogas, esteróides, hidrocarbonetos, carboidratos, aminoácidos, proteínas e até mesmo uma variedade de espécies inorgânicas (SKOOG et al, 2001).

Um cromatógrafo líquido típico é composto pelos seguintes módulos: reservatório de fase móvel, bomba, injetor, coluna e detector (Figura 13).

Figura 13 - Diagrama em blocos de um sistema HPLC típico.

Fonte: Autor.

Esse sistema funciona através do bombeamento contínuo de solventes (fase móvel) ao longo dos módulos representados acima. Em determinado momento, uma única alíquota de amostra é introduzida na parte inicial da coluna. Seus componentes se distribuem então, em diferentes extensões, entre as duas fases. O fluxo contínuo do solvente faz com que a amostra avance pela coluna, ao mesmo tempo em que ocorre uma série de transferências contínuas do soluto entre a fase móvel e a estacionária. Se o analito tiver maior afinidade pela fase móvel, ele se moverá com maior velocidade através da coluna, porém se ele tiver maior afinidade pela fase estacionária, ficará mais tempo retido por ela e se moverá mais lentamente, até que o detector seja atingido.

As colunas são tubos de aço inoxidável com diâmetro interno uniforme, preenchidas por partículas porosas com diâmetros constantes e pequenos, da ordem de poucos micrômetros. Normalmente as partículas são de sílica, alumina ou poliestireno-divinilbenzeno e podem ser recobertas com películas orgânicas que se unem química ou fisicamente a elas, determinando a polaridade da coluna (SKOOG et al, 2001).

Os detectores utilizados em cromatografia líquida de alta eficiência devem apresentar adequada sensibilidade, boa estabilidade e reprodutibilidade, resposta semelhante e linear para os analitos, estendendo a várias ordens de magnitude, tempo de resposta curto e independente do fluxo, dentre outras (SKOOG et al, 2001).

Um grande número de tipos de detectores são usados rotineiramente, incluindo-se detectores por radiação ultravioleta, fluorescência, eletroquímicos, de condutividade, índices de refração e espectrometria de massas.

3.3.2 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas foi desenvolvida em meados do ano 1907, por J. J. Thomson, porém, somente em meados da década de 1940 ela começou a ser aplicada em análises químicas de rotina pela indústria do petróleo, para a quantificação de misturas de hidrocarbonetos produzidos no fracionamento catalítico. Anteriormente, análises de amostras desse tipo, que com frequência possuíam até nove hidrocarbonetos diferentes em sua composição, eram realizadas através de destilação fracionada e posteriores medidas dos índices de refração dos componentes separados. Para tal, era requerido um tempo de operação de cerca de 200 horas ou mais (SKOOG et al, 2001).

No início da década de 1950 ocorreu um rápido aperfeiçoamento dos espectrômetros de massas comerciais, e eles começaram a ser utilizados na área química para a identificação e a elucidação estrutural de uma ampla variedade de compostos orgânicos. E, a partir da década de 1980, outros avanços na tecnologia dos equipamentos usados na espectrometria de massas permitiram difundir seu uso para outras áreas da ciência como a biologia e a bioquímica (SKOOG et al, 2001).

Atualmente, esta técnica está sendo amplamente difundida devido à sua versatilidade nas aplicações, confiabilidade dos resultados obtidos e alta sensibilidade, porém apresenta elevados custos de aquisição, manutenção e operação.

A grande quantidade de substâncias químicas orgânicas existentes e utilizadas nos dias atuais, muitas delas com características semelhantes, torna difícil a tarefa de identificá-las inequivocamente em uma amostra, somente com o uso da cromatografia como ferramenta, uma vez que os resultados de tempo de retenção obtidos não são específicos para cada composto. Desse modo, informações complementares são necessárias e, normalmente, são provenientes de uma técnica auxiliar, freqüentemente alguma forma de espectrometria.

A espectrometria de massas pode fornecer, em muitos casos, a identificação absoluta da molécula questionada. Isso ocorre pois ela fornece não somente informações estruturais do composto, como por exemplo, principais grupos funcionais presentes, mas também a massa molecular do analito. Esta última é, muitas vezes, uma informação valiosíssima, que reduz dramaticamente o número de possíveis estruturas para o composto analisado (ANDREY, 2003).

Uma outra grande vantagem da espectrometria de massas é a sua alta sensibilidade, onde a identificação inequívoca do composto e sua quantificação podem ser obtidas mesmo com quantidades muito baixas do analito (da ordem de picogramas), com altas exatidão e precisão (ANDREY, 2003).

Um resumo do processo integral de análise pela espectrometria de massa clássica, culminando num espectro de massa típico frequentemente encontrado na literatura é mostrado na Figura 14, onde M representa as moléculas de um composto puro. Após um processo de ionização, M^+ se decompõe, criando íons de massas menores que, detectados, geram o espectro de massa.

Figura 14 - Análise por espectrometria de massas.

Fonte: RODRIGUEZ, 2003.

Para que o processo possa acontecer, é preciso que o instrumento possua os componentes adequados. A Figura 15 mostra um diagrama de blocos dos componentes principais de um espectrômetro de massa. Como é possível ver na figura, são três os componentes principais: uma fonte de íons, o analisador de massas e o detector. Na fonte de íons, os componentes de uma amostra são

convertidos em íons, pela ação de um agente ionizante, e os íons positivos ou negativos são imediatamente acelerados em direção ao analisador de massas. A função do analisador de massas é separar tais íons de acordo com a sua relação massa-carga (m/z). Os espectrômetros de massa podem ser classificados em várias categorias dependendo da natureza do analisador de massas. Finalmente um detector recebe os íons que foram separados pelo analisador, transformando a corrente de íons em sinais elétricos que são processados, armazenados na memória de um computador e mostrados em uma tela (RODRIGUEZ, 2003).

Figura 15 - Componentes básicos de um espectrômetro de massas.

Fonte: RODRIGUEZ, 2003

É essencial para o funcionamento desses equipamentos, a manutenção de um alto vácuo (10^{-8} a 10^{-4} torr) em todos os componentes do instrumento, com exceção do processador de sinais. Isso se deve ao fato de os componentes da atmosfera interagirem com as partículas carregadas geradas pelo sistema, destruindo-as.

3.3.2.1 Espectrometria de massas em sequência

A espectrometria de massas em sequência, normalmente abreviada como MS/MS, consiste no acoplamento de um espectrômetro de massas a outro, geralmente do tipo quadrupolar. Este consiste em quatro varetas cilíndricas precisamente alinhadas paralelamente, entre as quais são aplicadas radio frequências e voltagens variáveis, de modo que somente uma unidade de massa (ou algumas unidades, pré-selecionadas) pode atravessar os quadrupolos e atingir o detector (SMITH, 2005).

O primeiro espectrômetro serve para isolar um ou mais íons moleculares presentes em uma mistura, ou seja, passarão através dele moléculas inteiras, previamente ionizadas por uma fonte de ionização branda, normalmente o electrospray. É possível pré-estabelecer quais íons moleculares serão selecionados nesse primeiro espectrômetro, isto é, somente os compostos de interesse. Eles atingirão então um segundo quadrupolo que atua como uma câmara de colisão, livre de campos elétricos e magnéticos, na qual se bombeia um gás inerte, normalmente nitrogênio ou hélio. As colisões entre os íons moleculares de interesse, selecionados no primeiro quadrupolo, e o gás produzem fragmentações dos primeiros, dando numerosos íons filhos. Estes atingirão um terceiro quadrupolo que fará uma varredura das massas dos íons filhos, sendo posteriormente detectados e registrados. É possível também, nesse último quadrupolo, pré-estabelecer quais íons filhos atingirão o detector, normalmente dois ou três fragmentos mais abundantes e característicos da fragmentação do composto de interesse. Desse modo, somente atingirão o detector fragmentos iônicos previamente determinados e oriundos da fragmentação da substância que se quer analisar, método esse denominado MRM (multiple reaction monitoring).

A ionização por electrospray, citada anteriormente, ocorre em condições atmosféricas de temperatura e pressão, e resumidamente consiste no bombeamento da amostra através de um capilar de aço inoxidável sobre o qual é aplicado um potencial elétrico. A amostra é então nebulizada e dessolvatada,

havendo subsequente aumento na sua densidade de carga e a formação dos íons, já em fase gasosa (SKOOG et al, 2001).

Todo esse processo faz com que a técnica de espectrometria de massas, particularmente MS/MS, forneça uma identificação inequívoca do composto.

Alguns autores descrevem ainda, como uma outra vantagem da espectrometria de massas em sequência, a não obrigatoriedade de haver um cromatógrafo antes do espectrômetro, uma vez que este último, por si só, já é capaz de separar o composto de interesse das outras substâncias presentes na amostra (SKOOG et al, 2001; SMITH, 2005). Porém, a visualização dos resultados é facilitada com o uso do cromatógrafo acoplado, uma vez que são obtidos cromatogramas, de interpretação mais rápida e simples que espectros de massa.

3.3.3 Aplicação da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas nas análises de fármacos

Atualmente, a espectrometria de massas em sequência tem sido aplicada à determinação qualitativa e quantitativa dos componentes de uma ampla variedade de materiais complexos encontrados na natureza e na indústria. Alguns exemplos incluem a determinação de fármacos diversos e seus metabólitos, drogas de abuso, feromônios de insetos, alcalóides em plantas, traços de contaminantes ambientais, polímeros, compostos petroquímicos, bifenilas policloradas, prostaglandinas, praguicidas, etc., sendo uma técnica de crescente aplicação (SKOOG et al, 2001).

A cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), intrinsecamente, apresenta elevada sensibilidade, ou seja, é capaz de quantificar traços de substâncias em variadas matrizes, inclusive esgoto e água

Experiência prévia com a LC-MS/MS forneceu limites de quantificação e de detecção da ordem de partes por trilhão, na análise do inseticida organofosforado metamidofós em água superficial (GUEDES e PAGANINI, 2009).

3.3.4 Validação de métodos analíticos

Segundo LANÇAS (2004), validação é “o ato ou efeito de validar, dar validade, tornar válido, tornar legítimo ou legal. Visa diminuir ou controlar os fatores que levam à imprecisão ou inexatidão de um dado gerado”.

No caso de um sistema de análise de substâncias químicas, a validação permite assegurar que o sistema esteja funcionando adequadamente dentro das condições para as quais foi validado, e principalmente, permite conhecer as limitações do processo e assegurar que o desempenho esperado seja atingido, dentro dos limites pré-determinados durante a validação.

O processo de validação em laboratórios de análises químicas passou a ter importância na década de 1970, a partir da constatação de enormes variabilidades entre os resultados obtidos em análises toxicológicas de amostras submetidas a estudos interlaboratoriais, por órgãos do governo dos Estados Unidos da América. Posteriormente, instituições governamentais americanas, como o Food and Drug Administration (FDA) e a Environmental Protection Agency (EPA) iniciaram esforços para a criação do sistema denominado ISO/IEC-25, do inglês International Standardization Organization / International Electrotechnical Commission, cujo objetivo principal é criar normas que promovam a padronização das exigências a serem seguidas pelos laboratórios para que eles demonstrem competência na realização dos serviços e para que os resultados obtidos se tornem internacionalmente aceitos e passíveis de reprodução em outros laboratórios (LANÇAS, 2004).

A partir disso, cada país passou a estabelecer seus próprios programas para assegurar a qualidade dos serviços laboratoriais prestados e dos dados gerados.

A importância fundamental da validação de uma metodologia analítica reside no fato de que dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis.

Existem vários procedimentos distintos para a validação, dependendo da finalidade da análise, havendo freqüentemente discrepâncias entre os diferentes sistemas de validação. Ou seja, não há um sistema único de validação que atenda às exigências dos diferentes órgãos nacionais e internacionais de avaliação da qualidade dos laboratórios de análise. Apesar dessa discrepância, a maioria das instituições responsáveis pela qualidade dos dados gerados concorda com a necessidade de adoção de alguns critérios fundamentais para a validação de metodologias analíticas (LANÇAS, 2004).

Atualmente, no Brasil, para demonstrar sua competência técnica, os laboratórios devem se submeter a um credenciamento pelos órgãos responsáveis: a ANVISA e/ou o Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial (INMETRO). Eles disponibilizam guias para o procedimento de validação de métodos analíticos, respectivamente a Resolução ANVISA RE nº 899/2003 e o documento INMETRO DOQ-CGCRE-008 / 2003 (RIBANI, 2004).

Desse modo, como não há consenso sobre os procedimentos de validação e os parâmetros a serem determinados, alguns autores sugerem critérios mínimos que devem ser atendidos no processo. Segundo RIBANI e colaboradores, 2004, os parâmetros mínimos a serem determinados na validação de uma metodologia analítica são: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez. A ANVISA considera esses mesmos parâmetros, já o INMETRO inclui alguns outros, como a especificidade e a sensibilidade.

3.3.4.1 Seletividade

A seletividade é a capacidade de um método determinar o composto de interesse de maneira inequívoca, na presença de outras substâncias susceptíveis de interferirem na determinação (LANÇAS, 2004).

Assim, a seletividade avalia o grau de interferência de outras espécies, além da substância de interesse, que possam estar presentes, e deve garantir que o pico de resposta seja exclusivamente do composto desejado (RIBANI, 2004).

Alguma confusão é frequentemente criada entre os termos seletividade e especificidade. Este último é atribuído, por alguns autores, a um método experimental que produza resposta somente para uma única substância de interesse. Já um método que produza respostas para um conjunto de substâncias com características em comum pode ser chamado de seletivo. Atualmente, diversos órgãos internacionais, por exemplo a IUPAC têm sugerido apenas o uso do termo seletividade (RIBANI, 2004).

A seletividade de um método cromatográfico pode ser verificada através da injeção, no cromatógrafo, de um branco confeccionado com a mesma matriz da amostra a ser analisada. Nesse processo, não devem ser observados picos na região do tempo de retenção do composto de interesse.

3.3.4.2 Linearidade

A linearidade é a capacidade de um método analítico para produzir resultados diretamente proporcionais à concentração da substância de interesse nas amostras, dentro de uma faixa de concentração (INMETRO, 2007).

Na prática, a linearidade pode ser obtida através de padronização externa, onde são preparadas diversas soluções, de concentrações conhecidas, a partir de um padrão certificado da substância de interesse. Essas soluções de padrões são

analisadas pelo método proposto e os sinais obtidos (área ou altura dos picos) são relacionados com as concentrações em um gráfico onde as concentrações são plotadas no eixo x e as áreas, no eixo y . A curva obtida é denominada curva de calibração ou curva analítica e deve ser uma reta, para que o método seja considerado linear. Tais curvas necessitam também de um tratamento estatístico adequado usando-se o método matemático conhecido como regressão linear, o qual permite obter a equação da reta ($y = ax + b$), os coeficientes de regressão a e b e o coeficiente de correlação r .

O coeficiente de correlação r fornece uma estimativa da qualidade da curva obtida, onde valores mais próximos de 1,0 indicam uma menor dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Alguns autores consideram valores de r superiores à 0,999 como sendo evidência de ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. A ANVISA aceita valores de r de no mínimo 0,99 e o INMETRO, 0,90 (ANVISA, 2003; RIBANI, 2004; INMETRO, 2007).

É importante ressaltar que, para a construção das curvas analíticas, devem ser preparados e analisados no mínimo seis níveis de concentração, distribuídos uniformemente sobre a faixa de concentração de interesse (ANVISA, 2003).

3.3.4.3 Precisão

A precisão é a expressão da concordância entre vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra, ou seja, é o termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas (RIBANI, 2004; LANÇAS, 2004; INMETRO, 2007)

O modo mais simples e difundido de se expressar e avaliar a precisão é através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV), onde:

$$\text{RSD (\%)} \text{ ou } \text{CV (\%)} = \frac{s}{\text{média}} \times 100$$

Normalmente, métodos de quantificação de substâncias em macro quantidades requerem um CV de 1 a 2%. Em métodos de análises de resíduos ou traços, são aceitos CV de 15% a 20% (RIBANI, 2004; ANVISA, 2003).

A precisão é considerada em três níveis diferentes: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade.

A repetibilidade, ou repetitividade, termos considerados sinônimos por diversos autores, representa o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurado, por um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição descritas abaixo (RIBANI, 2004; INMETRO, 2007):

- Mesmo procedimento;
- Mesmo analista;
- Mesmo instrumento usado sob as mesmas condições;
- Mesmo local;
- Repetições em um curto intervalo de tempo.

A literatura consultada sugere que sejam realizadas análises de padrões da substância de interesse em no mínimo três níveis de concentração diferentes (baixa, média e alta), com o número de replicatas, para cada nível, variando de 3 a 7, a fim de ser calculado o CV (ANVISA, 2003; LANÇAS, 2004; RIBANI, 2004; INMETRO, 2007).

A precisão intermediária indica o efeito das variações dentro de um mesmo laboratório, devido a eventos como diferentes dias, diferentes analistas, diferentes equipamentos ou uma combinação desses fatores. O procedimento para sua determinação segue os mesmos preceitos da determinação da repetibilidade, supra descrita e também é expressa em termos de RSD ou CV (RIBANI, 2004).

A reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra usando-se (LANÇAS, 2004; RIBANI, 2004):

- Mesmo método;
- Diferentes laboratórios;
- Diferentes operadores;
- Diferentes equipamentos.

Ela se refere aos resultados dos estudos de colaboração entre laboratórios e não é imprescindível na validação de um método que será executado por um único laboratório (INMETRO, 2007).

3.3.4.4 Exatidão

A exatidão de um método é definida como sendo o grau de concordância entre os resultados obtidos em um ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (INMETRO, 2007; RIBANI, 2004).

Na prática a exatidão é determinada através da adição de quantidades conhecidas de um padrão certificado da substância de interesse à matriz e comparando-se os valores medidos com os valores reais, obtidos através do certificado de análise do padrão utilizado.

De acordo com a Resolução 899/2003 da ANVISA, a exatidão deve ser determinada utilizando-se no mínimo três concentrações (baixa, média e alta) contemplando a faixa de aplicação do procedimento, realizando-se no mínimo

cinco determinações por concentração. O desvio não deve exceder 20%, quando se tratarem de análises de resíduos. Ela é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente, através da expressão:

$$\text{Exatidão} = [\text{concentração média experimental} / \text{concentração teórica}] \times 100$$

3.3.4.5 Limite de detecção e de quantificação

O limite de detecção (LOD) é a menor quantidade de uma substância que pode ser detectada pelo método em questão, porém sem ser necessariamente quantificada (LANÇAS, 2004). Na prática, ele é correspondente à menor concentração do analito capaz de produzir um sinal diferente do ruído, indicando com segurança a presença da substância.

Já o limite de quantificação (LOQ) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e precisão aceitáveis (LANÇAS, 2004; RIBANI, 2004).

O modo mais simples e difundido de se determinar LOD e LOQ é através da comparação entre a medição dos sinais de amostras em baixas concentrações conhecidas da substância de interesse e um branco (matriz isenta do composto). A concentração do analito capaz de fornecer um sinal três vezes maior, para LOD, e dez vezes maior, para LOQ, que o ruído obtido com os brancos é considerada o limite de detecção e de quantificação do método, respectivamente (RIBANI, 2004). Especificamente para o LOQ, a ANVISA considera aceitável a relação 5:1 entre o sinal e o ruído da linha de base, ou seja, o limite de quantificação pode ser uma concentração que produza um sinal no mínimo cinco vezes superior a qualquer interferência do branco no tempo de retenção do analito. Além disso, seu pico deve ser identificável e reproduzível com precisão de

20% e exatidão de 80% a 120%, através da análise de cinco amostras de padrões (ANVISA, 2003).

3.3.4.6 Robustez

A robustez de um método é uma medida da sua capacidade de não sofrer alterações em decorrência de pequenas variações, deliberadamente introduzidas nos parâmetros do método (LANÇAS, 2004).

Em análises por cromatografia líquida de alta eficiência, a robustez pode ser avaliada através da variação de diversos parâmetros como a composição (cerca de $\pm 2\%$), o pH e o fluxo da fase móvel, temperatura da coluna ($\pm 5^{\circ}\text{C}$), dentre outras. Se estas mudanças estiverem dentro dos limites de exatidão, precisão e seletividade aceitáveis, então o método é dito robusto e tais variações são aceitas no procedimento (RIBANI, 2004).

4 MATERIAIS E METODOS

4.1 PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ESGOTOS E ESTAÇÕES SELECIONADAS PARA A PESQUISA

Neste estudo, foram selecionadas três estações de tratamento de esgotos (ETE) em operação no Estado de São Paulo. As identificações e localizações destas ETEs serão suprimidas deste trabalho, nomeando-as apenas como ETE “A”, ETE “B” e ETE “C” (Figura 16).

Cada uma delas adota o sistema de tratamento mais adequado para atender as demandas específicas da sua respectiva região, sendo eles, respectivamente: lodos ativados com oxigênio puro, lagoas aeradas e reator anaeróbico de fluxo ascendente, todos tratamentos secundários.

Figura 16 - Localização da região de estudo, onde estão as estações de tratamento de esgoto selecionadas para este estudo.

O grau de tratamento requerido para determinado esgoto depende, essencialmente, das exigências de qualidade para a descarga do efluente (Figuras 9 e 10). O tratamento preliminar é responsável pela retirada mecânica de sólidos grosseiros e areia, através de gradeamento e caixa de areia. Já o tratamento primário, constituído essencialmente por decantadores, é empregado

para a remoção de sólidos em suspensão e materiais flutuantes, e também para condicionar o esgoto que irá passar por tratamento secundário. Por fim, os tratamentos secundário e terciário envolvem, respectivamente, processo convencional de tratamento biológico e processo para a eliminação de poluentes não removidos pelos tratamentos biológicos convencionais. (RAMALHO, 1983)

A primeira ETE selecionada para este estudo, aqui denominada ETE “A”, utiliza o processo de lodos ativados com oxigênio puro para o tratamento dos esgotos. Ela foi inaugurada em 2010, operando com uma vazão nominal de 1050 L/s, vazão média de 380 L/s, tempo de detenção hidráulica médio entre 17 e 18 horas, e atende atualmente uma população de cerca de 320 mil habitantes. É composta por tratamento preliminar e tratamento biológico, e o efluente, desinfetado com cloro, é liberado em um corpo hídrico classificado pelo Decreto Estadual 10.755/1977, como Classe II.

A segunda ETE selecionada para este estudo, aqui denominada ETE “B”, utiliza o processo de lagoas aeradas para o tratamento dos esgotos. Ela foi inaugurada em 2013, projetada para uma vazão máxima de 57,77 L/s e vazão média de 29,32 L/s, com tempo de detenção hidráulica médio de 48 horas, e atende atualmente uma população de cerca de 18 mil habitantes.

Ela é composta por tratamento preliminar (gradeamento e caixa de areia), tratamento biológico, dotado de três lagoas aeradas e três lagoas de decantação e estrutura para realização de cloração do efluente tratado, sendo este liberado em um corpo hídrico classificado pelo Decreto Estadual 10.755/1977, como Classe II.

A terceira ETE selecionada para este estudo, aqui denominada ETE “C”, utiliza o processo composto por reator anaeróbio de fluxo ascendente (RAFA). Ela foi inaugurada em 2012, projetada para uma vazão máxima de 57,27 L/s (projeção para o ano de 2020), operando com uma vazão média de 32,86 L/s, para o ano de 2016, com a estimativa de cerca de 6,58 L/s de vazão de infiltração total. Ela opera com tempo de detenção hidráulica médio de 24 horas, e atende atualmente uma população de cerca de 19 mil habitantes (SABESP, 2008).

A estrutura de tratamento desta ETE é composta por tratamento preliminar (peneira e caixa de areia mecanizadas), reator anaeróbio de fluxo ascendente (RAFA), filtro anaeróbio (FAN), filtro aeróbio submerso (FAS, processo no qual os microorganismos estão na forma de filme biológico, não sendo necessária a formação de flocos), decantador e desinfecção do efluente final, que é liberado em um corpo hídrico classificado pelo Decreto Estadual 10.755/1977, como Classe II (SABESP, 2008).

4.2 AMOSTRAGEM

Na realização deste projeto foram coletadas amostras de esgoto afluente (esgoto bruto) e efluente (esgoto tratado) das três estações de tratamento de esgotos (ETE) descritas, em duas campanhas anuais nos períodos hidrológicos de seca e de chuva, durante dois anos, iniciando-se no primeiro semestre de 2015.

As amostras de esgoto bruto e de esgoto tratado utilizadas para análise dos fármacos foram obtidas seguindo os mesmos locais de coleta adotados pela operação de cada ETE, a fim de se manter coerência e, também, para ser possível comparar os resultados obtidos no presente estudo com parâmetros já usualmente avaliados pelas operadoras de saneamento de cada estação de tratamento analisada, como por exemplo, dados de vazão, pH, temperatura, etc. A rotina das coletas seguiu, inicialmente, o Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB-ANA, 2011).

Assim, para as coletas dos esgotos brutos e tratados nas três ETEs (“A”, “B” e “C”), foram previstas amostragens compostas, sendo coletadas alíquotas horárias de volume fixo (e não variando conforme a vazão) durante 24 horas seguidas, obtendo-se uma amostra final representativa do esgoto das 24 horas anteriores. A coleta de alíquotas compostas garante a representatividade da amostragem ao longo do dia, minimizando os efeitos da descarga variável dos esgotos,

observando-se a sazonalidade e as possíveis interferências ao longo do dia e do período hidrológico. O fluxograma das coletas está representado na figura 17.

Uma vez que o pleno acesso às instalações das ETEs, bem como a prática no procedimento de coleta foram fundamentais para a obtenção das amostras, as fases operacionais das coletas foram concretizadas por funcionários das estações de tratamento, em colaboração com esta pesquisa, e sob a supervisão da pesquisadora principal.

Figura 17 - Esquema de amostragem.

Fonte: Autor.

Após cada coleta, as amostras foram enviadas para o laboratório dentro de no máximo 48 horas, devidamente acondicionadas em frascos apropriados (garrafas de vidro ou de plástico), identificados, com isolamento térmico adequado (mantidas em isopores com gelo durante o transporte,) e ao abrigo da luz, a fim de manter a sua conservação. Após a chegada ao laboratório, as amostras foram mantidas sob refrigeração de 2 à 8°C, e ficaram aguardando momento oportuno para a realização das análises, que não ultrapassou 14 dias, de acordo com diretrizes do Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB-ANA, 2011).

As amostras obtidas conforme procedimentos de coleta acima expostos foram, por fim, analisadas através do método previamente desenvolvido e validado.

4.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

A fase analítica do presente estudo foi desenvolvida no laboratório de Análise Instrumental do Instituto de Criminalística de São Paulo, que forneceu a estrutura física do laboratório para o trabalho da pesquisadora, bem como o uso do equipamento LC-MS/MS. Todos os insumos e reagentes utilizados foram de responsabilidade da pesquisadora.

4.3.1 Materiais de referência dos fármacos

Os padrões analíticos dos seis fármacos utilizados no presente estudo foram obtidos por meio de doação de fabricantes dos medicamentos que contém tais fármacos, a citar:

- Paracetamol;
- Ibuprofeno;
- Atenolol;
- Sinvastatina;
- Clonazepam;
- Carbamazepina.

Soluções com diferentes concentrações deles foram preparadas com água ultrapurificada em sistema Direct-Q UV₃[®] Millipore (resistividade 18,2 mΩ cm).

4.3.2 Reagentes, solventes e materiais

Foram utilizados, na cromatografia líquida e na espectrometria de massas, os reagentes, solventes e materiais abaixo listados:

- Metanol grau HPLC (Merck, Brasil);
- Acetonitrila grau HPLC (J.T.Baker, Brasil);
- Água ultrapurificada em sistema Direct-Q UV₃[®] Millipore (resistividade 18,2 mΩ cm);
- Formiato de amônio puríssimo p.a. para espectrometria de massas ≥ 99,0% (Sigma-Aldrich, EUA);
- Ácido fórmico p.a. 98 – 100% (Merck, Alemanha);
- Tubos de polipropileno, com tampas de rosca, com capacidade para 50 mL e 12 mL (Eurotips scientific);
- Balões volumétricos de vidro incolor, com capacidade para 10 mL;
- Micropipetas automáticas com capacidade para volumes entre 10 µL e 1000 µL (Transferpette[®], Alemanha), bem como ponteiras compatíveis;
- Seringas descartáveis com capacidade nominal de 5 mL (TKL[®]);
- Vial de vidro âmbar, capacidade para 1,8 mL, com tampa e septo (CMS[®], Brasil);
- Filtro com membrana PVDF (fluoreto polivinidileno) de 0,20 µm de poro e 13 mm de diâmetro (Millipore, Brasil).
- Membrana em ésteres de celulose de 0,45 µm de poro, 47 mm de diâmetro;

4.3.3 Equipamentos e acessórios

O equipamento utilizado no desenvolvimento do método e nas análises das amostras, bem como seus componentes, estão descritos abaixo:

- Cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Agilent Technologies (1200 series), constituído por:
 - Degaseificador;
 - Bomba quaternária;
 - Amostrador automático
 - Forno de coluna;
- Detector acoplado ao cromatógrafo: espectrômetro de massas Triploquadrupolo Q-trap 3200 da marca Applied Biosystems, com ionização à pressão atmosférica por *Electrospray*.
- Sistema de aquisição de dados através do software Analyst (Applied Biosystems).
- Coluna cromatográfica Phenomenex Synergi Hydro-RP 80Å, com 50 mm de comprimento, 2 mm de diâmetro interno e tamanho de partícula de 5 µm, com pré-coluna equivalente.

4.3.4 Otimização das condições do sistema de detecção

Para otimizar as condições do espectrômetro de massas foram feitas infusões, ou seja, injeções diretas sequenciais no espectrômetro de massas, de soluções analíticas dos padrões dos fármacos em estudo na concentração de 200 µg/L. A partir deste procedimento foi possível determinar as melhores condições de análise destes fármacos simultaneamente, ou seja, fixou-se o modo de ionização

da fonte, a voltagem do cone, a energia de colisão e a temperatura da fonte, dentro da faixa indicada pelo fabricante.

Após a otimização dessas condições, foram selecionados os íons a serem monitorados para a qualificação e quantificação das substâncias e um método único foi criado no modo *multiple reaction monitoring* (MRM).

4.3.5 Determinação das condições cromatográficas

As fases móveis testadas continham diferentes combinações e proporções dos seguintes solventes: A – tampão com ácido fórmico e formiato de amônio; B – acetonitrila contendo ácido fórmico; C – água contendo formiato de amônio; D – metanol.

Foram testadas as seguintes proporções:

- 100% de A;
- 100% de B;
- 100% de C;
- 100% de D;
- 75% de A e 25% de B;
- Gradiente iniciando-se com 100% de A até 100% de B em 2 minutos;
- Gradiente iniciando-se com 90% de A e 10% de B, variando até 20% de A e 80% de B em 12 minutos, voltando à condição inicial e mantendo-a até 17 minutos.

Foram testados os seguintes fluxos de fase móvel, por minuto: 250 µL, 300 µL e 400 µL; e também os seguintes volumes de injeção: 5 µL, 10 µL, 20 µL e 30 µL.

4.3.6 Validação analítica para amostras aquosas

Após a determinação das melhores condições cromatográficas e espectrométricas, foi realizada a validação do método.

Como já foi dito anteriormente, existem vários procedimentos distintos para a validação, havendo freqüentemente discrepâncias entre os diferentes sistemas de validação. No presente trabalho foram adotados os preceitos da ANVISA, do INMETRO e dos autores Lanças e Ribani (ANVISA, 2003; LANÇAS, 2004; RIBANI, 2004; INMETRO, 2007).

Neste procedimento, foram avaliados os parâmetros seletividade/especificidade, linearidade, intervalo, exatidão, precisão, sensibilidade e robustez.

4.3.6.1 Seletividade e especificidade

Analisaram-se inúmeros brancos em todas as etapas da validação a fim de ser verificado se, nos tempos de retenção esperados para os compostos, eram observados interferentes que pudessem conduzir a uma falsa identificação dos analitos ou que impedissem as suas identificações.

4.3.6.2 Linearidade e intervalo

A linearidade foi verificada em faixas de concentração diferentes para cada substância, uma vez que o método apresenta sensibilidades distintas para cada um deles:

- Paracetamol: 0,1 a 40 $\mu\text{g/L}$
- Ibuprofeno: 50 a 1000 $\mu\text{g/L}$
- Atenolol: 0,5 a 80 $\mu\text{g/L}$
- Sinvastatina: 1 a 100 $\mu\text{g/L}$
- Clonazepam: 0,5 a 80 $\mu\text{g/L}$
- Carbamazepina: 0,1 a 25 $\mu\text{g/L}$

Para este estudo foram utilizadas soluções de calibração dos fármacos supracitados, preparadas com diferentes concentrações de cada um ao longo das faixas estudadas e avaliadas em triplicatas, tendo sido determinados os coeficientes de correlação (r).

4.3.6.3 Precisão

A precisão foi determinada através de ensaios de repetibilidade e precisão intermediária, sendo demonstrada através do cálculo do coeficiente de variação médio (CV%) para cada substância.

Para a determinação da repetibilidade, foram analisadas seis concentrações distintas de cada substância, distribuídas ao longo da faixa linear estudada, e cada concentração foi avaliada em triplicata, em um mesmo dia.

Já para a precisão intermediária, foram estudadas três diferentes concentrações (baixa, média e alta) de cada fármaco, também em triplicata, em dias distintos.

4.3.6.4 Exatidão

A exatidão do método foi verificada pela análise de seis amostras de concentrações conhecidas de cada fármaco, contemplando a faixa de trabalho linear, e expressa em porcentagem de recuperação (R%).

4.3.6.5 Sensibilidade (limite de quantificação e limite de detecção)

Os limites de quantificação (LOQ) e de detecção (LOD) foram estabelecidos através dos parâmetros das curvas analíticas, pelas equações:

$$\text{LOD} = 3,3 \times \text{s/s} \quad \text{e} \quad \text{LOQ} = 10 \times \text{s/s}$$

4.3.6.6 Robustez

Para avaliar a robustez do método, foram variados os seguintes parâmetros: fluxo, composição da fase móvel e temperatura da coluna.

4.4 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (LC-MS/MS)

4.4.1 Otimização das condições no espectrômetro de massas

Através de infusões diretas dos padrões dos fármacos em estudo, no espectrômetro de massas, separada e sequencialmente, foram obtidos os espectros de massa abaixo expostos (Figuras 18 até 23), todos adquiridos por ionização através de electrospray, no modo positivo (ESI+).

Antes de se prosseguir com os resultados, cabe uma breve explanação acerca dos espectros de massas e sua interpretação.

Para se obter um espectro de massas o vapor de determinada substância é atingido por um *spray* de elétrons, ou outro agente ionizante, dando origem a esta mesma substância na sua forma carregada (positiva ou negativamente). Assim, a espécie gerada terá a massa molecular da substância ± 1 , e serão gerados também, mas em menores quantidades, fragmentos desta substância, que apresentarão massas menores (SKOOG et al, 2001).

Todas estas formas carregadas serão analisadas pelo espectrômetro de massas de acordo com a sua relação massa / carga (m/z), e os resultados são expressos por representações gráficas, como as das figuras 18 até 29, que têm a forma de um gráfico de barras, em cada uma das quais se relaciona a intensidade dos picos de massa (ordenada), ou seja, a quantidade de íons produzidos e detectados, em relação a sua massa/carga (m/z) (abscissa) (SKOOG et al, 2001).

Assim, um espectro de massas apresenta a massa da molécula (massa maior) e as massas de “pedaços” da molécula (massas menores). Podem apresentar também picos adicionais devido ao ruído de fundo do instrumento, oriundos, por exemplo, de compostos que são dessorvidos das paredes do instrumento (AZEVEDO, 2004). Desta forma, cada pico representado em um espectro de massas indica a presença de uma estrutura orgânica com sua massa definida na abcissa, e a quantidade, definida na ordenada. Um espectro de massas de uma molécula composta de subestruturas estáveis conectadas por ligações fracas gera um espectro com poucos fragmentos proeminentes, e ao contrário, moléculas de estrutura pouco estável geram um espectro com muitos fragmentos (AZEVEDO, 2004).

As figuras 18 a 23 representam o espectro de massas dos padrões de cada fármaco estudado, infundidos no primeiro espectrômetro de massas. Neles, deve-se observar o pico de maior massa, que será correspondente à massa molecular do composto sob análise, e os picos de massas menores, que representarão os fragmentos mais abundantes da molécula, fragmentos estes que serão característicos da substância, e indicarão se tratar, inequivocamente, daquele composto que se está examinando. Esta primeira etapa da otimização do método é necessária para que se “apresente” ao equipamento, as substâncias a serem analisadas, definindo nesta etapa parâmetros, como por exemplo, voltagem e temperatura de ionização mais adequadas para cada composto.

As figuras 24 a 29 representam o espectro de massas sequencial dos padrões de cada fármaco estudado, ou seja, que atingiram o segundo espectrômetro de massas. Neles não é mais observado o pico do íon molecular (com a massa molecular da substância), mas somente picos de massas menores, dos fragmentos mais abundantes da molécula, fragmentos estes que selecionados para a construção do método final.

Figura 18 - Espectro de massa do paracetamol, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.

Figura 19 - Espectro de massa do ibuprofeno, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.

Figura 20 - Espectro de massa do atenolol, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.

Figura 21 - Espectro de massa da sinvastatina, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.

Figura 22 - Espectro de massa da carbamazepina, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.

Figura 23 - Espectro de massa do clonazepam, obtido por ionização através de electrospray, no modo positivo.

As Figuras 24 a 29 mostram os espectros de massa obtidos por espectrometria de massa sequencial das moléculas protonadas dos fármacos estudados, com identificação dos fragmentos iônicos mais intensos, sendo estes expressos na Tabela 07.

Figura 24 - Espectro de massa sequencial do paracetamol com os fragmentos iônicos mais intensos.

Figura 25 - Espectro de massa sequencial do ibuprofeno com os fragmentos iônicos mais intensos.

Figura 26 - Espectro de massa sequencial do atenolol com os fragmentos iônicos mais intensos.

Figura 27 - Espectro de massa sequencial da sinvastatina com os fragmentos iônicos mais intensos.

Figura 28 - Espectro de massa sequencial da carbamazepina com os fragmentos iônicos mais intensos.

Figura 29 - Espectro de massa sequencial do clonazepam com os fragmentos iônicos mais intensos.

As transições iônicas (íon precursor > íon produto) escolhidas para a quantificação dos fármacos também estão expressas na Tabela 8, uma vez que foram as que resultaram em sinais mais intensos no modo de trabalho MRM.

Tabela 8 - Identificação dos fragmentos iônicos mais intensos.

	Pares iônicos para identificação (m/z)	Pares iônicos para quantificação (m/z)
Paracetamol	152,2/110,1; 152,2/109,6	152,2/110,1
Ibuprofeno	207,2/161,1; 207,2/119,1	207,2/161,1
Atenolol	267,3/145,1; 267,3/74,1	267,3/145,1
Sinvastatina	419,4/199,3; 419,4/173,3	419,4/199,3
Carbamazepina	237,2/194,2; 237,2/193,1	237,2/194,2
Conazepam	316,1/270,2; 316,1/214,2	316,1/270,2

Os espectros de massas mostrados nas Figuras 18 a 29 têm a finalidade de demonstrar o comportamento dos fármacos pesquisados quando submetidos às condições de análise no espectrômetro de massas, identificando seus padrões de fragmentação sob as condições ideais estabelecidas e abaixo descritas:

- modo de ionização da fonte: electrospray no modo positivo;
- voltagem do cone: 4500 volts
- energias de colisão: paracetamol 21 volts; ibuprofeno 13 volts; atenolol 33 volts; sinvastatina 29 volts; carbamazepina 29 volts e clonazepam 39 volts.
- temperatura da fonte: 450° C

4.4.2 Descrição das condições cromatográficas de trabalho

Dentre as diversas fases móveis testadas e expressas no item 4.3.6, e suas diferentes proporções, a que forneceu tempos de retenção mais adequados, associados a boas simetrias e alturas dos picos, foi o gradiente expresso na tabela 9. O tempo total de análise foi de 17 minutos.

Tabela 9 - Gradiente aplicado na fase móvel.

Tempo (min)	Tampão ácido fórmico / formiato de amônio	Acetonitrila	Fluxo da Fase móvel (µL/min)
0	90%	10%	300
12,00	20%	80%	300
13,00	90%	10%	300
17,00	90%	10%	300

Considerando-se as vazões de fase móvel testadas e expressas no item 4.3.6, a que forneceu melhores condições de simetria de picos e tempos de retenção foi 300µL por minuto. Optou-se por não variar a vazão durante a corrida.

Os volumes de injeção testados foram decisivos para estabelecer um método com sensibilidade adequada para análise de resíduos de fármacos na fase aquosa do esgoto bruto e tratado. O volume de injeção de amostra adotado foi 30µL, que representou um excelente ganho de sinal sem afetar a simetria dos picos.

A temperatura da coluna foi ajustada para 20°C, temperatura esta que se assemelha a do ambiente em que o equipamento se encontra.

Com estas condições, obteve-se o cromatograma representado na Figura 30, a partir da injeção de soluções padrão dos fármacos paracetamol, ibuprofeno, atenolol, sinvastatina, carbamazepina e clonazepam.

Uma vez que o objetivo do método foi alcançado com sucesso, partiu-se então para a validação analítica.

Figura 30 - Cromatograma dos padrões de fármacos.

4.5 VALIDAÇÃO ANALÍTICA DO MÉTODO PRÉ-ESTABELECIDO

4.5.1 Seletividade e especificidade

A técnica de espectrometria de massas em sequência já é, por si só, uma técnica específica uma vez que as massas moleculares dos compostos de interesse, e somente estas massas, são selecionadas no primeiro quadrupolo, percorrendo o restante da estrutura do equipamento, sendo fragmentadas e seus fragmentos característicos serão selecionados em um terceiro quadrupolo para, por fim, serem detectados.

A seletividade do método foi comprovada pela ausência de picos na injeção de brancos, analisando-os sob as condições descritas no item 5.1 (Figura 31).

Figura 31 - Cromatograma do branco.

4.5.2 Linearidade e intervalo

As linearidades foram estabelecidas com sucesso, para os seis fármacos estudados, nas seguintes faixas de concentração:

- Paracetamol: 0,1 a 40 $\mu\text{g/L}$
- Ibuprofeno: 50 a 1000 $\mu\text{g/L}$
- Atenolol: 0,5 a 80 $\mu\text{g/L}$
- Sinvastatina: 1 a 100 $\mu\text{g/L}$
- Clonazepam: 0,5 a 80 $\mu\text{g/L}$
- Carbamazepina: 0,1 a 25 $\mu\text{g/L}$

As curvas de calibração, obtidas a partir da análise de no mínimo cinco concentrações diferentes dos padrões, estão mostradas nas Figuras 32 até 37.

As equações de regressão linear e os coeficientes de determinação (r^2) e de correlação (r) para cada fármaco estão expressos na tabela 10.

Os coeficientes de correlação (r) e de determinação (r^2) foram satisfatórios para os seis fármacos, uma vez que a ANVISA preconiza valores de r superiores a 0,99, o INMETRO aceita r maior que 0,90 e Lanças indica que r^2 deve ser no mínimo 0,98.

Figura 32 - Curva de calibração do paracetamol, na faixa concentração: 0,1 a 40 µg/L.

Figura 33 - Curva de calibração do ibuprofeno, na faixa concentração: 50 a 1000 $\mu\text{g/L}$.

Figura 34 - Curva de calibração do atenolol, na faixa concentração: 0,5 a 80 $\mu\text{g/L}$.

Figura 35 - Curva de calibração da sinvastatina, na faixa concentração: 1 a 100 $\mu\text{g/L}$.

Figura 36 - Curva de calibração do clonazepam, na faixa concentração: 0,5 a 80 $\mu\text{g/L}$.

Figura 37 - Curva de calibração da carbamazepina, na faixa concentração: 0,1 a 25 µg/L.

Tabela 10 - Equações de regressão linear e coeficientes de determinação (r^2) e de correlação (r) para cada fármaco.

	Equação	Coeficiente de determinação (r^2)	Coeficiente de correlação (r)
Paracetamol	$y = 1358,9x + 1762,7$	0,9953	0,9976
Ibuprofeno	$y = 18,28x + 244,09$	0,9994	0,9997
Atenolol	$y = 309,92x + 171,44$	0,9826	0,9913
Sinvastatina	$y = 1316,2x + 2269,8$	0,9982	0,9991
Clonazepam	$y = 2784,6x - 81,308$	0,9989	0,9994
Carbamazepina	$y = 49025x + 10102$	0,9996	0,9998

4.5.3 Precisão

A repetibilidade foi avaliada para três níveis de concentrações distintas (baixa, média e alta), distribuídas ao longo da faixa de trabalho linear, para cada fármaco estudado, tendo sido cada nível analisado em triplicata, todos no mesmo dia. Os

CV% mínimo e o máximo, bem como a média, obtidos estão expressos na tabela 11.

Tabela 11 - Repetibilidade – CV% mínimo e máximo obtidos para os seis fármacos em estudo, e as médias.

	Intervalo (CV%)	Média (CV%)
Paracetamol	2,10 – 11,47	5,39
Ibuprofeno	4,81 - 18,45	8,53
Atenolol	0,66 – 5,16	3,14
Sinvastatina	2,49 – 5,99	3,75
Clonazepam	0,63 – 7,07	2,31
Carbamazepina	1,19 – 4,77	2,32

A precisão intermediária foi estudada em três diferentes concentrações (baixa, média e alta), dentro da faixa de trabalho linear, também em triplicata, variando-se o dia de análise. Os CV% mínimo e o máximo, bem como a média, obtidos estão expressos na tabela 12.

Tabela 12 - Precisão intermediária – CV% mínimo e máximo obtidos para os seis fármacos em estudo, e as médias.

	Intervalo (CV%)	Média (CV%)
Paracetamol	2,78 – 7,00	4,13
Ibuprofeno	5,89 – 15,98	10,87
Atenolol	3,87 – 11,76	6,83
Sinvastatina	2,31 – 3,11	2,64
Clonazepam	2,22 – 13,97	10,14
Carbamazepina	2,51 – 3,05	2,74

Os coeficientes de variação obtidos tanto para a repetibilidade quanto para a precisão intermediária foram satisfatórios. Ribani e Brito afirmam que, para análise de traços ou impurezas, como por exemplo a análise de resíduos de

fármacos, são aceitos valores de coeficiente de variação de até 20% (BRITO et al, 2003).

4.5.4 Exatidão

A exatidão do método foi estabelecida para cada um dos fármacos em três concentrações conhecidas e distintas, contemplando os níveis baixo, médio e alto dentro faixa de trabalho linear de cada um deles, sendo obtidos valores de recuperação expressos na tabela 13.

De acordo com Ribani e Lanças, os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%. Deste modo, os valores de exatidão obtidos para o método em questão estão dentro do aceitável.

Tabela 13 - Valores de recuperação (%) obtidos para cada fármaco, em três níveis distintos de concentração.

	Recuperação – nível baixo	Recuperação – nível médio	Recuperação – nível alto
Paracetamol	89,29%	106,52%	100,54%
Ibuprofeno	93,9%	99,5%	98,3%
Atenolol	90,6%	102,5%	100,1%
Sinvastatina	78,04%	102,28%	98,19%
Clonazepam	87,2%	108,0%	99,84%
Carbamazepina	90,7%	102,3%	98,7%

4.5.5 Sensibilidade (limite de quantificação - LOQ e limite de detecção - LOD)

Utilizando-se a relação sinal / ruído como base para o estabelecimento dos LOD e LOQ, pode-se definir os mesmos para cada um dos fármacos em estudo.

A menor concentração do paracetamol capaz de produzir um sinal dez vezes maior que o ruído e, portanto, ser quantificada com confiabilidade aceitável, foi 0,2 µg/L, sendo este o limite de quantificação (LOQ) do método para esta substância. Já seu limite de detecção (LOD) foi 0,1 µg/L.

Para o ibuprofeno, o LOQ estabelecido foi 100 µg/L, e o LOD 50 µg/L, valores consideravelmente maiores que os limites para os outros fármacos o que demonstra uma menor sensibilidade desta técnica analítica na análise de ibuprofeno.

Em relação ao atenolol, o LOQ estabelecido foi 0,2 µg/L, e o LOD 0,1 µg/L.

Para a sinvastatina o LOQ estabelecido foi 0,5 µg/L, e o LOD 0,3 µg/L,

E, finalmente, para o clonazepam e a carbamazepina, foram estabelecidos LOQ de 0,5 µg/L e 0,1 µg/L e LOD de 0,2 µg/L e 0,05 µg/L, respectivamente.

Tanto o limite de quantificação quanto o limite de detecção atingiram valores bastante baixos e compatíveis com os resultados de detecção de fármacos em esgoto relatados na literatura.

4.5.6 Robustez

Aplicando-se variações pré-estabelecidas de fluxo e temperatura às condições cromatográficas anteriormente otimizadas, verificou-se que este método tolera bem tais variações, para os fármacos em estudo.

Já a variação da composição da fase móvel não foi tolerada (tabela 14).

Tabela 14 - Dados dos testes de robustez.

	Variação 1	Variação 2	Variação máx. RT (%)	CV máximo (%)	Variação máx. recup. (%)
Fase móvel	Tampão:Acetonitrila (88%:12%)	Tampão:Acetonitrila (92%:8%)	0,90	10,5	31,2
Fluxo	294 µL/min	306 µL/min	2,5	6,5	9,6
Temperatura	21 °C	19 °C	0,80	1,4	6,5

Desta forma, verificou-se que o método, apresentou:

- Seletividade adequada, por não apresentar sinal (ou seja ‘pico’) nos tempos de retenção esperados para os analitos (fármacos), quando da injeção de inúmeros brancos;
- O parâmetro linearidade foi satisfatório para análise de resíduos dos seis fármacos, demonstradas através dos coeficientes de determinação (r^2) e de correlação (r) não inferiores a 0,98;
- Precisão aceitável para níveis residuais, demonstrada através dos coeficientes de variação máximos (CV%) obtidos tanto para a repetibilidade, quanto para a precisão intermediária, que não excederam 20% (BRITO et al, 2003);
- Exatidão dentro dos intervalos aceitáveis, de acordo com Ribani e Lanças, explicitada pelas recuperações obtidas, que não excederam o limite 70% à 120%;
- Sensibilidade alta, já que os limites de quantificação e de detecção obtidos foram da ordem de poucos microgramas por litro (µg/L – partes por bilhão), valores esses bastante baixos e compatíveis com os resultados de detecção de fármacos em esgoto relatados na literatura;
- Robustez estabelecida para o método, sendo toleradas pequenas variações de fluxo e de temperatura. Não foram toleradas, porém, as variações na composição da fase móvel testadas. Isso se deve ao fato que as ionizações das moléculas podem variar consideravelmente dependendo, dentre outros fatores, da composição da fase móvel (MORAES e LAGO, 2003).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

De maio de 2015 a agosto de 2016, foram realizadas coletas dos afluentes e efluentes das ETEs “A”, “B” e “C”, conforme diagrama especificado no item 4.2.

Inicialmente as coletas foram programadas para serem através de amostragem composta, porém, para a ETE “A”, a terceira e a quarta coleta tiveram que ser através de amostragem simples, visto que o coletor automático ficou indisponível durante a execução do projeto. Para todas as outras coletas a programação de amostragem composta foi concretizada. Em relação às amostragens simples, a coletas foram realizadas por volta das 11 horas da manhã.

As coletas foram realizadas nas seguintes datas:

- ETE “A”: 26/05/2015, 07/10/2015, 16/03/2016 e 31/08/2016;
- ETEs “B” e “C”: 13/05/2015, 15/09/2015, 23/02/2016 e 30/08/2016.

As amostras foram analisadas através da metodologia previamente estabelecida e validada de acordo com os itens 4.3.5, 4.3.6, 4.3.7 e 4.4, aplicando-se somente uma filtração, em membrana do tipo PVDF (fluoreto de polivinilideno), como preparo de todas elas. Esta filtração tem a finalidade de se evitar o entupimento dos canais do cromatógrafo líquido e do espectrômetro de massas, mas pode acarretar em perda de substâncias que tendam a adsorção aos sólidos em suspensão. No caso dos fármacos aqui estudados, somente não apresenta esta tendência o paracetamol.

Os resultados obtidos estão expressos nas Tabelas 15 a 17 e Figuras 40 a 42.

Tabela 15 - Resultados obtidos no monitoramento da ETE “A”.

			Paracetamol	Ibuprofeno	Atenolol	Sinvastatina	Clonazepam	Carbamazepina
ETE A	Coleta 1	Conc. afluyente (µg/L)	n.d.	n.d.	0,52 µg/L	n.d.	n.d.	0,54 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	0,20 µg/L	n.d.	2,09 µg/L	n.d.	n.d.	0,57 µg/L
		Remoção (%)	***	-	-401,94%	-	-	-105,64%
	Coleta 2	Conc. afluyente (µg/L)	n.d.	n.d.	1,59 µg/L	n.d.	n.d.	0,79 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	positivo	n.d.	0,63 µg/L	n.d.	n.d.	0,85 µg/L
		Remoção (%)	***	-	60,38%	-	-	-107,63%
	Coleta 3	Conc. afluyente (µg/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,37 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	n.d.	n.d.	positivo	n.d.	n.d.	0,55 µg/L
		Remoção (%)	-	-	***	-	-	-147,13%
	Coleta 4	Conc. afluyente (µg/L)	n.d.	n.d.	5,78 µg/L	n.d.	n.d.	0,54 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	positivo	n.d.	0,40 µg/L	n.d.	n.d.	0,88 µg/L
		Remoção (%)	***	-	98,08%	-	-	-162,33%

Observações:

Positivo: detectado mas não quantificado por estar abaixo do limite de quantificação do método.

n.d.: não detectado.

***resultados indicam que houve liberação da substância durante a passagem do esgoto pela estação de tratamento, porém não existem valores numéricos para serem expressos uma vez que as substâncias em pauta foram identificadas somente no efluente, e em níveis extremamente baixos.

Tabela 16 - Resultados obtidos no monitoramento da ETE “B”.

			Paracetamol	Ibuprofeno	Atenolol	Sinvastatina	Clonazepam	Carbamazepina
ETE B	Coleta 1	Conc. afluyente (µg/L)	83,62 µg/L	n.d.	2,23 µg/L	n.d.	n.d.	0,53 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	0,26 µg/L	n.d.	0,20 µg/L	n.d.	n.d.	0,41 µg/L
		Remoção (%)	99,68%	-	91,03%	-	-	22,64%
	Coleta 2	Conc. afluyente (µg/L)	0,80 µg/L	n.d.	1,13 µg/L	n.d.	n.d.	0,36 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	0,33 µg/L	n.d.	0,20 µg/L	n.d.	n.d.	0,42 µg/L
		Remoção (%)	58,75%	-	84,07%	-	-	-116,66%
	Coleta 3	Conc. afluyente (µg/L)	19,34 µg/L	n.d.	4,47 µg/L	n.d.	n.d.	0,24 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	0,29 µg/L	n.d.	positivo	n.d.	n.d.	0,32 µg/L
		Remoção (%)	98,50%	-	97,76%	-	-	-133,33%
	Coleta 4	Conc. afluyente (µg/L)	n.d.	n.d.	3,56 µg/L	n.d.	n.d.	0,28 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	0,23 µg/L	n.d.	positivo	n.d.	n.d.	0,44 µg/L
		Remoção (%)	***	-	98,31%	-	-	-157,14%

Observações:

Positivo: detectado mas não quantificado por estar abaixo do limite de quantificação do método.

n.d.: não detectado.

***resultados indicam que houve liberação da substância durante a passagem do esgoto pela estação de tratamento, porém não existem valores numéricos para serem expressos uma vez que a substância em pauta foi identificada somente no efluente.

Tabela 17 - Resultados obtidos no monitoramento da ETE “C”.

		Paracetamol	Ibuprofeno	Atenolol	Sinvastatina	Clonazepam	Carbamazepina
ETE C	Coleta 1	Conc. afluyente (µg/L)	n.d.	n.d.	0,46 µg/L	n.d.	0,94 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	n.d.	n.d.	0,74 µg/L	n.d.	0,87 µg/L
		Remoção (%)	-	-	-160,87%	-	7,45%
	Coleta 2	Conc. afluyente (µg/L)	11,35 µg/L	n.d.	3,80 µg/L	n.d.	0,95 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	0,30 µg/L	n.d.	1,41 µg/L	n.d.	0,90 µg/L
		Remoção (%)	97,36%	-	62,89%	-	5,26%
	Coleta 3	Conc. afluyente (µg/L)	n.d.	n.d.	positivo	n.d.	0,37 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	0,28 µg/L	n.d.	n.d.	n.d.	0,40 µg/L
		Remoção (%)	***	-	100%	-	-108,11%
	Coleta 4	Conc. afluyente (µg/L)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,24 µg/L
		Conc. efluente (µg/L)	0,63 µg/L	n.d.	2,02 µg/L	n.d.	1,59 µg/L
		Remoção (%)	***	-	***	-	-128,23%

Observações:

Positivo: detectado mas não quantificado por estar abaixo do limite de quantificação do método.

n.d.: não detectado.

***resultados indicam que houve liberação da substância durante a passagem do esgoto pela estação de tratamento, porém não existem valores numéricos para serem expressos uma vez que as substâncias em pauta foram identificadas somente no efluente.

Antes de se iniciar a discussão dos resultados obtidos, é importante tecer algumas explicações sobre dois termos fundamentais, muito utilizados nesta etapa do trabalho: a remoção e a liberação. O termo remoção significa que houve redução do lançamento pelo efluente, no meio, em relação aos valores do afluyente, ou seja, o processo de tratamento de esgoto foi capaz de diminuir a concentração do fármaco no efluente em relação ao afluyente. Já o termo liberação significa que ocorreu a liberação do fármaco (que estava sob forma de metabólitos conjugados, ou adsorvidos ao lodo, por exemplo) para o meio, através da fase líquida, incrementando sua concentração no efluente em relação ao afluyente.

5.1 IBUPROFENO, CLONAZEPAM E SINVASTATINA

Nas tabelas 15 a 17 o primeiro dado evidenciado é a não detecção dos fármacos ibuprofeno, clonazepam e sinvastatina em nenhuma das amostras, ou seja, nem em esgoto bruto nem em tratado de nenhuma das coletas realizadas nas ETEs estudadas.

Existem algumas hipóteses que podem indicar a explicação para estes fatos.

Para o ibuprofeno, apesar de ser um fármaco largamente utilizado, e em doses terapêuticas relativamente altas, de 400 a 800 mg, 3 vezes ao dia, o método analítico desenvolvido nesta pesquisa não apresentou alta sensibilidade, quando comparada às outras substâncias aqui analisadas, sendo o limite de detecção obtido 50 µg/L, valor este relativamente alto para a análise de resíduos.

Além disto, é esperado que o ibuprofeno sofra adsorção a sólidos suspensos e sedimentos, devido a seu valor estimado de K_{oc} (constante de adsorção) e a sua baixa solubilidade em água. Assim, pode ter ocorrido adsorção deste fármaco no trajeto entre os pontos de emissão do esgoto e as entradas das estações estudadas e, levando-se em consideração que somente a fase líquida do esgoto está sendo avaliada neste estudo, inclusive com uma etapa de filtração das amostras como pré-tratamento das mesmas antes das análises, o processo de adsorção pode ter sido importante para a não detecção do ibuprofeno nesta pesquisa (MCEVOY, 1990; YALKOSKY, 1992; SANGSTER, 1994; AVDEEF, 1997).

Para o clonazepam, por ser uma substância controlada pela Portaria nº 344/98 do Ministério da Saúde, necessitando de notificação de receita médica para comercialização e uso, sua taxa de utilização pela população é mais baixa que a dos outros fármacos ora pesquisados, exceto a carbamazepina. Soma-se a isto uma baixa dose terapêutica necessária para a obtenção dos efeitos farmacológicos desejados, que varia entre 0,25 e 20 mg diários. Estes dois fatores, provavelmente, contribuíram sobremaneira para a não detecção do fármaco nas amostras analisadas, a despeito do método desenvolvido apresentar uma sensibilidade alta, adequada para a análise de resíduos.

A sinvastatina é um fármaco de uso contínuo com ampla utilização pela população, sendo inclusive distribuído gratuitamente nos postos de saúde pelo Sistema Único de Saúde (SUS), e sua dose terapêutica é mediana, de no máximo 80 mg por dia. Apesar disto, ele não foi detectado nas amostras estudadas, provavelmente por apresentar uma tendência a sofrer adsorção a sólidos em suspensão e sedimentos (devido ao seu valor de K_{oc}) (HSDB, 2013). Assim, da mesma forma que o ibuprofeno, a sinvastatina pode ter sofrido adsorção aos sólidos do esgoto no trajeto entre os pontos de emissão e as entradas das ETEs, não tendo sido detectada neste estudo que avaliou somente a fase líquida do esgoto.

5.2 PARACETAMOL, ATENOLOL E CARBAMAZEPINA

A figura 38 mostra, em uma representação qualitativa, a frequência de detecção dos fármacos carbamazepina, paracetamol e atenolol, em relação ao total de amostras analisadas. Pode-se verificar que a carbamazepina estava presente em 100% das amostras, sendo estas de afluente ou efluente, das ETEs “A”, “B” ou “C”. O atenolol apareceu em 87,5% das amostras e o paracetamol, em 50% delas.

Estas porcentagens de detecção são altas, destacando a importância da eficiência do tratamento de esgoto em remover tais substâncias.

Figura 38 - Frequência de detecção de carbamazepina, paracetamol e atenolol nas amostras analisadas.

Fonte: Autor

Observação: esta figura ilustra uma representação qualitativa.

A análise dos dados apresentados nas tabelas 15 a 17 e na figura 39 mostra que houve remoção destes três fármacos detectados em parte das amostras, porém em outra parte, houve liberação deles durante os processos de tratamento de esgoto. Este fenômeno ocorreu nas três ETEs estudadas, e fica evidenciado ao se observar uma maior concentração do fármaco no efluente, em relação ao afluente.

Comparando-se os três fármacos (Figura 39), pode-se verificar que o atenolol apresentou as maiores incidências de remoção pelos processos de tratamento em estudo. Já a carbamazepina apresentou a maior frequência de liberação nas ETEs durante o período estudado, seguida pelo paracetamol.

Este fenômeno de aumento da concentração da substância durante o tratamento biológico é relatado frequentemente na literatura relacionada ao estudo da remoção de fármacos pelos tratamentos de esgotos, e por estar intimamente ligado às peculiaridades de cada substância e das plantas de tratamento, será discutido a seguir.

Figura 39 - Comparação entre as frequências de liberação e remoção (%) dos fármacos carbamazepina, paracetamol e atenolol nas estações estudadas.

5.2.1 Paracetamol

O paracetamol foi detectado nas três ETEs estudadas. A figura 40 compara as três ETEs em relação a remoção e liberação do paracetamol. Na ETE “A”, não foi observada remoção do paracetamol em nenhuma das quatro campanhas de coleta realizadas e, ao contrário, em três das quatro campanhas de coleta observou-se a liberação deste fármaco durante o processo de tratamento do esgoto, ou seja, foram encontradas concentrações maiores deste fármaco no efluente da estação do que no afluente. Na ETE “B” o paracetamol foi removido em 75% das campanhas de coleta, e na ETE “C” a tendência foi de liberação deste fármaco durante tratamento, com menor frequência de remoção.

Figura 40 - Comparação entre as frequências de liberação e/ou remoção (%) do paracetamol nas ETES "A", "B" e "C".

Figura 41 - Comparação entre as magnitudes de liberação e/ou remoção (%) de paracetamol nas ETES "A", "B" e "C".

As menores concentrações de paracetamol foram encontradas nos efluentes da ETE “A”, onde referido fármaco estava presente em três das quatro coletas de esgoto tratado em quantidades baixas, que variaram de 0,12 a 0,20 µg/L. Este fármaco não foi detectado em nenhuma das amostras de esgoto bruto desta ETE (tabelas 15 a 17). Isto demonstra uma liberação do fármaco durante o processo de tratamento (Figura 41), entretanto não é possível definir a porcentagem de liberação do paracetamol pois ele não foi detectado no esgoto bruto, ou seja, o paracetamol estava presente no esgoto bruto e na própria ETE (ressolubilização a partir do lodo), mas em quantidades inferiores ao limite de detecção do método analítico empregado.

Na ETE “B”, o paracetamol foi identificado nos afluentes de três, de um total de quatro, campanhas de coleta, e em concentrações absolutas mais elevadas do que as encontradas nas outras ETEs, chegando à concentração de 83,62 µg/L no esgoto bruto. Nos efluentes da ETE “B” o paracetamol foi identificado em todas as campanhas de coleta. Nesta mesma ETE, entretanto, foram observadas elevadas taxas de remoção deste contaminante, chegando a 99,68%. A liberação do paracetamol foi observada somente na quarta coleta, não sendo possível definir a sua porcentagem pelo mesmo motivo relatado acima (tabelas 15 a 17 e figura 41).

Na ETE “C” o paracetamol foi identificado nos efluentes de três das quatro campanhas de coleta realizadas, e no afluente de apenas uma campanha, apresentando a concentração de 11,35 µg/L neste último. Em uma das coletas a remoção foi alta, de 97,36%, mas nas outras duas coletas houve liberação de pequena quantidade deste fármaco durante o tratamento, não sendo possível definir a sua porcentagem pois ele não foi detectado nas amostras de esgoto bruto correspondentes (tabelas 15 a 17 e figura 41).

O incremento da concentração de paracetamol no efluente em relação ao afluente, verificada nas três ETEs, em maiores ou menores proporções, confirma um fato já reportado, na literatura científica, como relativamente comum para fármacos. Este é um efeito observado em tratamentos biológicos de fármacos, e é decorrente, principalmente, do modo de metabolização da substância ainda no

organismo humano, antes da sua eliminação (TAMBOSI et al., 2010; GUASCH et al., 2012).

As vias metabólicas do organismo atuam de forma a tornar as substâncias estranhas mais hidrossolúveis, para serem eliminadas através da urina. No caso do paracetamol, cerca de 85% do que é ingerido sofre conjugação com sulfato e com ácido glicurônico, e outros cerca de 10% são oxidados com posterior conjugação à glutathione. Somente cerca de 4% do paracetamol ingerido é eliminado de forma inalterada. Todos os conjugados formados durante a metabolização são, na verdade, a molécula do paracetamol ligada ao componente endógeno sulfato, ácido glicurônico ou glutathione. Isto quer dizer que não ocorre uma real degradação da substância, dentro do corpo humano, e a ligação entre o paracetamol e seu conjugado pode ser rompida facilmente através da ação de microrganismos presentes tanto no meio ambiente quanto nas ETEs, o que pode explicar a observada liberação deste fármaco, no efluente das ETEs, durante o processo de tratamento biológico.

Outras características do processo de tratamento podem, entretanto, ser decisivos para a remoção de fármacos, como por exemplo a vazão de operação da ETE, o tempo de detenção hidráulica do esgoto, a idade do lodo (para lodos ativados) e a adoção de desinfecção do efluente final através de cloração. São particularmente importantes o tempo de detenção hidráulica da estação, que quando é elevado parece promover uma maior degradação dos fármacos (caso estes não sejam tóxicos para os microrganismos da estação) e a cloração, que por promover uma forte oxidação de compostos químicos, pode acabar por degradar também os fármacos.

5.2.2 Atenolol

O atenolol foi detectado nas três ETEs estudadas, tanto nos afluentes quanto nos efluentes, com concentrações de até 5,78 µg/L para o esgoto bruto, e de até 2,09 µg/L para o esgoto tratado (tabelas 15 a 17).

A figura 42 compara as três ETEs em relação a remoção e liberação do atenolol durante o tratamento do esgoto. Nas ETEs “A” e “C” o atenolol foi removido em metade das coletas, e liberado na outra metade, ou seja, foram encontradas concentrações maiores no efluente da estação do que no seu afluente. Na ETE “B” o atenolol apresentou remoção em todas as campanhas de coleta.

Figura 42 - Comparação entre as frequências de liberação e/ou remoção (%) do atenolol nas ETES “A”, “B” e “C”.

Figura 43 - Comparação entre as magnitudes de liberação e/ou remoção (%) de atenolol nas ETES “A”, “B” e “C”.

Na ETE “A” as remoções, quando ocorreram, foram altas, de 60,38% na coleta 2 e 98,08% na coleta 4. Entretanto, foi verificada uma grande liberação de atenolol na coleta 1, traduzida como a detecção de uma quantidade bem maior deste fármaco no efluente em relação ao seu correspondente afluente (tabelas 15 a 17 e figura 43).

Na ETE “B” foi constatada uma remoção mínima de 84,07% e máxima de 98,31% do atenolol, mostrando uma boa eficiência de remoção deste fármaco pelo sistema de tratamento adotado nesta ETE (lagoas aeradas), quando comparada às outras ETES aqui estudadas, da mesma forma que foi observado para o paracetamol (tabelas 15 a 17 e figura 43).

Para a ETE “C” as remoções, quando ocorreram, foram também altas, de 62,89% na coleta 2 e 100% na coleta 3. Entretanto, foi verificada liberação de -160,87% de atenolol na coleta 1, traduzida como a detecção de uma quantidade

consideravelmente maior deste fármaco no efluente em relação ao seu correspondente afluente (tabelas 15 a 17 e figura 43).

O aumento da sua concentração durante o processo biológico de tratamento de esgoto ocorreu, possivelmente, devido à liberação, para a fase aquosa, das moléculas que se encontravam adsorvidas ao lodo (GAO et al, 2012), visto que pelo seu log Kow, existe a tendência da substância sofrer adsorção ao lodo por um período. No caso do atenolol, por ser uma substância pouco metabolizada no organismo, não se pode explicar a liberação, durante o tratamento de esgoto, como sendo decorrente da deconjugação dos metabólitos pelos microrganismos.

5.2.3 Carbamazepina

A carbamazepina foi detectada em 100% das amostras das três ETEs estudadas, tanto de esgoto bruto quanto de esgoto tratado, sendo as concentrações absolutas semelhantes entre as estações, com uma concentração mínima de 0,24 µg/L e máxima de 1,24 µg/L nos afluentes, e de 0,32 µg/L e 1,59 µg/L, respectivamente, nos efluentes (tabelas 15 a 17).

Das doze campanhas de coleta realizadas (quatro para cada ETE), nove delas mostraram liberação de carbamazepina durante o processo de tratamento biológico, e as três restantes evidenciaram uma discreta remoção deste fármaco.

A figura 44 compara as três ETEs em relação a remoção e liberação da carbamazepina. Na ETE “A”, não foi observada remoção da substância em nenhuma das quatro campanhas de coleta realizadas e, ao contrário, observou-se a liberação dela durante o processo de tratamento do esgoto em todas as campanhas, ou seja, foram encontradas concentrações maiores de carbamazepina nos efluentes da estação do que nos afluentes. Na ETE “B” a carbamazepina foi removida somente na primeira das quatro campanhas de coleta, e na ETE “C” houve remoção do fármaco nas duas primeiras campanhas realizadas, e nas duas últimas ocorreu liberação.

Figura 44 - Comparação entre as frequências de liberação e/ou remoção (%) da carbamazepina nas ETES "A", "B" e "C".

Figura 45 - Comparação entre as magnitudes de liberação e/ou remoção (%) de carbamazepina nas ETES "A", "B" e "C".

Na ETE “A” a carbamazepina apresentou concentrações mais elevadas nos efluentes do que nos seus respectivos afluentes, indicando liberação em magnitudes que variaram de -105,64% até -162,33%, sendo estes valores crescentes desde a primeira campanha de coleta até a última (tabelas 15 a 17 e figura 45).

Na ETE “B”, a carbamazepina apresentou remoção de 22,64% na primeira coleta, e liberação deste fármaco nas coletas seguintes, que variou de -116,66% a -157,14%, nas outras três coletas (tabelas 15 a 17 e figura 45).

Já na ETE “C”, o resultado das análises evidenciou uma discreta remoção da carbamazepina nas duas primeiras coletas (7,45% e 5,26%, respectivamente), e liberação deste fármaco nas duas últimas (-108,11% e -128,23%, respectivamente) (tabelas 15 a 17 e figura 45).

Tanto a baixa remoção da carbamazepina como a sua liberação, verificadas nas três ETEs, em maiores ou menores proporções, são relatadas na literatura científica.

A liberação é explicada como sendo decorrente da formação de glicuronídeo conjugados, no corpo humano, que são clivados durante o tratamento biológico, liberando a carbamazepina na sua forma original (GUASCH et al., 2012; STAINES et al., 2004).

Outra explicação possível para o aumento de carbamazepina durante o processo biológico de tratamento de esgoto seria a liberação, para a fase aquosa, das moléculas que se encontravam adsorvidas ao lodo (GAO et al., 2012).

Ainda sobre a carbamazepina, os resultados deste estudo mostraram que quando houve remoção desta substância pelos processos de tratamento estudados, ela foi discreta. De acordo com a literatura científica, se trata de uma substância de difícil degradação, o que culmina em uma alta persistência deste composto no meio ambiente. Ademais, segundo WEITZIG (2008), a carbamazepina em concentrações de 10 µg/L ou menores, pode inibir o crescimento dos microrganismos da estação de tratamento de esgoto, sendo esta uma possível razão para a baixa remoção deste composto no tratamento biológico, verificado

neste e em outros estudos (GROS et al., 2010). Uma alternativa proposta é a adição de ozonização ao tratamento biológico, o que forneceu resultados promissores na literatura científica, elevando para cerca de 60% a remoção da carbamazepina, segundo WEITZIG (2008).

5.3 MACRO-AVALIAÇÃO

Ao se avaliar as figuras 40, 42 e 44, pode-se verificar que a ETE “B” apresentou os melhores desempenhos de remoção para paracetamol e atenolol. Ao contrário, a ETE “A” apresentou pior desempenho, havendo 100% de incidência de liberação de paracetamol e carbamazepina nesta ETE, durante o período estudado. Já a ETE “C” apresentou desempenho variável dependendo da substância avaliada.

A ETE “B” apresenta um tempo de detenção hidráulica (TDH) de cerca de 48 horas, o maior entre as três ETEs estudadas, e a ETE “A” o menor tempo (ETE “A” apresenta TDH de 18 horas e ETE “C”, de 24 horas). De acordo com a literatura, um TDH elevado é fator importante para a potencialização da remoção de fármacos durante o tratamento de esgoto, ou seja, em geral, a decomposição biológica de micropoluentes, incluindo fármacos, aumenta com TDH elevados e com a idade do lodo (aplicado no tratamento por lodos ativados). Por exemplo, para o diclofenaco (que não foi estudado nesta pesquisa, e está sendo citado somente como referência, por possuir dado disponível na literatura) há melhora significativa na sua degradação quando o tempo de detenção do lodo é de no mínimo 8 dias. O mesmo não é verificado para a carbamazepina, que se mostra persistente mesmo com TDH elevados (TAMBOSI, et al., 2010).

Desta forma, o parâmetro operacional TDH da ETE “B” pode explicar seu melhor desempenho na remoção das substâncias ora estudadas, ao passo que a ETE

“A”, com menor TDH entre as três estações estudadas, apresentou as menores taxas de remoção dos fármacos em pauta.

Para a carbamazepina, um maior TDH não mostrou maior eficiência de remoção. Isto foi demonstrado neste estudo, onde a ETE “B” não apresentou a maior eficiência de tratamento em relação a este fármaco, e é respaldado por dados da literatura que afirmam sobre a persistência desta substância nos diferentes sistemas de tratamento de esgotos e sobre a inibição do crescimento dos microrganismos dos sistemas de tratamento por este fármaco (METCALF, 2003; TAMBOSI, et al., 2010).

Há de se considerar que no processo de tratamento por lodo ativado com oxigênio puro, empregado no ETE “A”, a recirculação do lodo, característica deste processo, implica em uma idade do lodo elevada, o que dificulta a comparação deste processo com o de lagoas aeradas e reator anaeróbio de fluxo ascendente, bem como sua correlação com o tempo de detenção hidráulica.

Outro dado que merece destaque é a realização da desinfecção do efluente final, com cloro, antes do seu lançamento no corpo hídrico. O cloro é um oxidante forte, que tende a promover degradação de compostos químicos, inclusive de fármacos. Inicialmente, a programação era que as três estações estudadas realizassem a cloração do efluente final, porém, durante a execução do projeto, verificou-se que a ETE “B” suspendeu a cloração, por problemas internos de operação que não serão aqui abordados, já na segunda campanha de coleta, sendo a cloração mantida nas ETEs “A” e “C” durante todo o estudo.

Observando-se os resultados globais obtidos para a ETE “B”, que interrompeu a cloração, verificou-se que para a carbamazepina houve remoção na primeira campanha de coleta (quando havia cloração), e liberação em todas as outras (com a cloração suspensa). Para o paracetamol, houve pior desempenho do tratamento na segunda e quarta coletas, mas não na terceira, e para o atenolol, não se notou diferença entre a primeira coleta e as demais. Desta forma, os efeitos oxidantes da cloração parecem ser mais importantes na degradação da carbamazepina, que é uma substância mais resistente ao tratamento biológico, quando comparada às demais analisadas nesta pesquisa. A literatura científica

sugere a adoção de processos alternativos ao tratamento biológico para a remoção da carbamazepina, citando a ozonização como uma possibilidade (WEITZIG, 2008).

6 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A preocupação com a presença de fármacos como contaminantes de ambientes aquáticos não é recente e inúmeros estudos foram realizados, revelando a presença de resíduos de tais substâncias nas águas superficiais e subterrâneas, podendo-se citar antibióticos, hormônios, anestésicos, anti-inflamatórios, dentre outros, em diversas partes do mundo, sendo eles denominados atualmente contaminantes ambientais emergentes.

Os fármacos, após passarem pelo organismo humano, irão atingir os esgotos, ou ainda podem chegar diretamente até eles devido ao aporte clandestino ou incorreto de medicamentos diretamente na rede de esgotos.

Os processos biológicos de tratamento de esgotos são os mais utilizados mundialmente e, em geral, apresentam alta eficiência na remoção de matéria orgânica, porém as suas capacidades de remoção de fármacos se mostraram bem variadas dependendo da substância em questão e das particularidades da planta de tratamento avaliada, podendo culminar com o aporte de quantidades variadas de fármacos para as águas superficiais, o que pode também ser verificado na literatura disponível.

No Brasil, estudos sobre a eficiência de remoção de fármacos pelos tratamentos de esgotos aqui empregados são escassos, sendo este um assunto importante e que necessita de avaliação para que as devidas atitudes sejam tomadas.

Este trabalho teve caráter exploratório e avaliou a eficiência de remoção dos fármacos ibuprofeno, paracetamol, atenolol, sinvastatina, carbamazepina e clonazepam em três estações de tratamento de esgoto localizadas no Estado de São Paulo, que empregam os processos de tratamento por lodos ativados com oxigênio puro, lagoas aeradas e reator anaeróbio de fluxo ascendente.

Para que este estudo fosse realizado, primeiramente foi desenvolvida e validada com sucesso metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massas (LC-MS/MS) para quantificar níveis

residuais dos fármacos selecionados, sendo que o método estabelecido apresentou seletividade, linearidade para análise dos seis fármacos, precisão, exatidão, sensibilidade e robustez, todos estes parâmetros dentro de limites aceitáveis para a análise de resíduos.

Uma limitação do método foi a sensibilidade demonstrada para o ibuprofeno, que apesar de alta, não atingiu níveis de concentração tão baixos quanto os observados para os outros fármacos aqui pesquisados.

Outra peculiaridade do método, que deve ser mencionada, foi a necessidade de realização de filtração em membrana como pré-tratamento das amostras, culminando na avaliação exclusiva da fase líquida do esgoto.

Em relação à avaliação dos fármacos nos afluentes e efluentes das estações de tratamento de esgotos, temos que:

- Não foram identificados, em nenhuma das amostras analisadas (afluentes e efluentes) os fármacos ibuprofeno, clonazepam e sinvastatina. Isto pode ter ocorrido devido a uma insuficiente sensibilidade do método analítico aliada à tendência de adsorção aos sólidos do esgoto, para o ibuprofeno; uma baixa dose terapêutica (apenas poucos miligramas) associada a um rigoroso controle na venda e uso do medicamento, que necessita de receita médica, para o clonazepam; e uma forte tendência a sofrer adsorção a sólidos em suspensão e sedimentos (devido ao seu valor de Koc), para a sinvastatina.
- Foi verificada uma alta incidência dos fármacos atenolol, paracetamol e carbamazepina nas ETEs estudadas, tanto nos afluentes quanto nos efluentes, em concentrações compatíveis com as relatadas na literatura científica.
- Para atenolol, paracetamol e carbamazepina verificou-se diminuição das concentrações em relação às iniciais, em parte das coletas, porém em outra parte, houve liberação das substâncias durante os processos de tratamento de esgoto. Este fenômeno ocorreu nas três ETEs estudadas, e ficou evidenciado ao se observar uma maior concentração desses fármacos nos efluentes, em relação aos afluentes.

- O atenolol apresentou a maior frequência de remoção pelos processos de tratamento em estudo, e a carbamazepina exibiu a maior frequência de liberação nas ETEs durante o período estudado.
- Para o paracetamol, a ETE “B” apresentou a maior eficiência de remoção, tanto em relação às magnitudes quanto em relação à incidência de remoção (remoção em três campanhas de coleta), e a ETE “A”, uma eficiência deficitária já que foi verificada liberação desta substância em todas as coletas em que o paracetamol foi identificado (três campanhas). A ETE “C” apresentou remoção e liberação do paracetamol, dependendo da campanha de coleta, sendo que quando foi verificada a remoção, na segunda coleta, ela foi alta. A liberação de paracetamol, verificada nas três ETEs, pode ser explicada pela deconjugação de seus metabólitos através da ação de microrganismos do esgoto, dado este sustentado pela literatura científica.
- Para o atenolol, a ETE “B” também apresentou a maior eficiência de remoção, com altos índices de remoção em 100% das campanhas de coleta. As ETEs “A” e “C” apresentaram eficiências semelhantes na remoção deste fármaco do esgoto, tanto em magnitude quanto em frequência de remoção. A liberação do atenolol durante o tratamento do esgoto, verificada nas ETEs “A” e “C”, pode ser explicada pela liberação, para a fase aquosa, das moléculas que se encontravam adsorvidas ao lodo, visto que pelo seu log Kow (coeficiente de partição octanol-água), existe uma relativa tendência de adsorção ao lodo.
- Para a carbamazepina, a ETE “C” apresentou a maior eficiência de remoção (nas duas primeiras coletas), seguida pela ETE “B”, porém as magnitudes foram discretas (não ultrapassaram 25%) e a frequência máxima foi de 50%. Já a ETE “A” não apresentou remoção da carbamazepina, somente liberação, e em magnitudes elevadas que chegaram a -162,33%. A carbamazepina é tida, na literatura, como um composto persistente, de difícil remoção e de liberação explicada pela deconjugação de metabólitos pelos microrganismos do tratamento biológico do esgoto, o que é concordante com os resultados obtidos nesta pesquisa.
- O tempo de detenção hidráulica (TDH) da estação de tratamento parece ser um parâmetro operacional importante na remoção de fármacos do esgoto. Isto

é relatado na literatura e foi confirmado neste estudo, onde a ETE “B”, com cerca de 48 horas de TDH, o maior entre as três ETEs estudadas, apresentou melhores eficiências de remoção dos fármacos aqui pesquisados, e a ETE “A”, com o menor TDH (cerca de 18 horas) apresentou as mais baixas eficiências de remoção desta pesquisa.

- Em relação à carbamazepina, um maior TDH não mostrou maior eficiência de remoção, resultado este respaldado por dados da literatura que afirmam sobre a persistência desta substância nos diferentes sistemas biológicos de tratamento de esgotos e mencionam a capacidade deste fármaco em inibir o crescimento dos microrganismos dos sistemas de tratamento.
- Sobre a desinfecção do efluente com cloro, a ETE “B” interrompeu este procedimento durante a execução deste estudo, o que pode ter influenciado negativamente na degradação da carbamazepina nesta estação, visto que foi observada liberação deste composto nas campanhas de coleta em que não estava sendo realizada a cloração. Desta forma, os efeitos oxidantes da cloração parecem ser importantes na degradação da carbamazepina, e a própria literatura científica sugere a adoção de processos alternativos ao tratamento biológico para a sua remoção, citando a ozonização como uma possibilidade (WEITZIG, 2008).

Esta pesquisa mostrou, confirmando o já relatado na literatura internacional, que os processos biológicos de tratamento de esgotos apresentam eficácia limitada na remoção de fármacos. Entretanto, algumas características operacionais da planta de tratamento, como elevado tempo de detenção hidráulica e desinfecção do efluente com cloro, parece colaborar para uma maior eficácia na degradação destas substâncias, e isto foi confirmado neste estudo.

Uma limitação desta pesquisa foi o reduzido número de amostras analisadas em um período de tempo restrito. Desta forma, ela adquiriu um caráter exploratório, e os resultados obtidos revelaram tendências de comportamento dos processos de tratamento abordados em relação à remoção dos fármacos selecionados.

Outro ponto que merece visibilidade foi a realização das coletas dos afluentes e efluentes de cada ETE no mesmo dia. Esta configuração de amostragem poderia ser uma limitação da pesquisa, entretanto não teve tanta influência uma vez que

as estações estudadas apresentam reduzido TDH, e os processos de tratamento utilizados propiciam mistura completa.

Sendo assim, o presente trabalho não esgota o assunto, e assume um papel fundamental de encorajar o desenvolvimento de outros estudos capazes de avaliar a eficiência de remoção de outras substâncias na realidade brasileira, outros processos de tratamento de esgotos e outras alternativas que melhorem a performance do tratamento neste aspecto, como por exemplo a associação de processos de tratamento, ou a inclusão de processos de polimento ao tratamento de esgoto secundário, passando para o tratamento terciário.

Não se pode deixar de recomendar uma necessária expansão dos conhecimentos científicos, através de pesquisas que avaliem processos de tratamento de esgotos com diferentes TDHs, com o emprego de radiações, de ozonização e também o efeito da idade do lodo que está contido no tratamento, visto que é provável que a idade do lodo também tenha influência na remoção de fármacos do esgoto, já que por um lado lodos mais antigos tendem a liberar diversas substâncias para a fase líquida e por outro, processos de lodos ativados, por apresentarem recirculação de lodo, podem conter lodos mais eficientes na remoção de determinados poluentes.

E por fim, vale destacar a importância das medidas preventivas neste assunto complexo, que envolve sobretudo a necessidade de se estabelecer uma efetiva gestão dos resíduos de medicamentos (em desuso ou vencidos) baseada na logística reversa, evitando descartes incorretos destes produtos na rede de esgoto, bem como investimentos em educação sanitária e farmacêutica, de modo que a população evite auto-medicação e faça uso de substâncias somente quando estritamente necessário e prescrito por um profissional médico.

7 REFERÊNCIAS

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Norma Brasileira nº 10.004, de 31 de maio de 2004. *Resíduos sólidos – classificação*.

ABNT – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Norma Brasileira nº 16.457, de 05 de setembro de 2016. *Logística reversa de medicamentos de uso humano vencidos e/ou em desuso*.

ANDREOZZI, R., RAFFAELE, M., NICKLAS, P. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere*. V. 50, p. 1319-1330. 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 306, de 07 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o regulamento técnico de resíduos de serviços de saúde. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 07 de dezembro de 2004.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 44, de 17 de agosto de 2009. Dispõe sobre boas práticas farmacêuticas para o controle sanitário do funcionamento, da dispensação e da comercialização de produtos e da prestação de serviços farmacêuticos em farmácias e drogarias e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 17 de agosto de 2009.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 16 de abril de 2010.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Consulta de produtos – medicamentos. Portal ANVISA*. Disponível em: <http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/consulta_produto/Medicamentos>. Acesso em: 15 ago. 2013.

ÁGUA ONLINE. *ETE de Jales é cartão postal da cidade*. Disponível em: <<http://www.aguaonline.com.br>>. Acesso em 20 fev. 2012.

AISSE M. M., SOBRINHO P. A. Avaliação do sistema reator UASB e filtro biológico aerado submerso para o tratamento de esgoto sanitário. *Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios – Coletânea de artigos técnicos – volume 2*. PROSAB-FINEP, Belo Horizonte, 2001.

ALEMAN N. M., CARBONELL J. E., YAQUIS A. S., LOZANO J. C. Método analítico por cromatografia de alta resolução para la determinacion de carbamazepina en plasma humano. *Revista Cubana de Farmacia*. V. 41, n. 1, 2007.

ALMEIDA G. A., WEBER, R. R. Fármacos na represa Billings. *Revista Saúde e Ambiente*. V. 66, n. 2, 2005.

AQUINO, S. F.; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: uma revisão. *Engenharia Sanitária e Ambiental*. V. 18, p. 187-204, 2013.

ANDREY, R. E. Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: an Introduction. 2003.

ARAUJO D. S., SILVA H. R., FREITAS R. M. Carbamazepina: uma revisão da literatura. *Revista eletrônica de farmácia*. V. 7, n. 4, p. 30-45, 2010.

ASMARDI G., JAMALI F. Pharmacokinetics of dipyrone in man; role of the administration route. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. V. 10, n. 2, p. 121 – 125, 1985.

ATSDR – AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES & DISEASE REGISTRY. 1992. Disponível em <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=122&tid=25>. Acesso em: 01 jun. 2017

AVDEEF A. Ibuprofen. *Journal of Pharmaceutical Science*. V. 82, p.183-190, 1997.

AZEVEDO, D. A. Espectrometria de massas. *Apostila de: Laboratório de espectrometria de massas*. Departamento de química orgânica, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. 2004.

BEDNER, M., MACCREHAN, W.A. Transformation of acetaminophen by chlorination produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine. *Environmental Science Technology*. V. 40(2), p. 516-522. 2006.

BENTUR Y., COHEN O. Dipyrone overdose. *Journal of Toxicology*. V. 42, n. 3, p. 261-265, 2004.

BILA D. M. DEZOTTI M. Fármacos no meio ambiente. *Química Nova*. V. 26, n. 4, p.523 – 530, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Decreto nº 79.094, de 05 de janeiro de 1977*. Sistema de legislação em vigilância sanitária. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso: 20 mai 2013.

BRASIL. Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 12 de fevereiro de 1998.

BRASIL. Lei nº 12.305, de 02 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 02 de agosto de 2010.

BRASIL. Decreto nº 7.404, de 23 de dezembro de 2010. Regulamenta a lei nº 12.305, de 02 de agosto de 2010, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, cria comitê interministerial da política nacional de resíduos sólidos e o comitê orientador para a implantação dos sistemas de logística reversa, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 23 de dezembro de 2010.

BRITO, N. M.; AMARANTE O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. Pesticidas: *R. Ecoltoxicol. e Meio Ambiente*. Curitiba, v. 13, p. 129-146, 2003.

BUDAVARI S. (ed.). *The Merck Index. Meerck & Co.:Rahway*, 11 ed., 1989.

BUSER H. R. et al. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. *Environmental Science Technology*. V. 33, p. 2529-2535, 1999.

BUSHRA R., ASLAM N. As overview of clinical pharmacology of ibuprofen. *Oman Medical Journal*. V. 25, n. 3, p. 155-160, 2010.

CAMPOS J. R. (coordenador). Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo. *Programa de pesquisas em saneamento básico (PROSAB) – FINEP*. 1999.

CARLSSON, C., et al. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants? Part I: environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Science of the total environment*. V. 364, p. 67-87, 2006.

CARVALHO E. V., FERREIRA E., MUCINI L., SANTOS, C. Aspectos legais e toxicológicos do descarte de medicamentos. *Revista Brasileira de Toxicologia*. São Paulo. V.22, n.1-2, p.1-8, 2009.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Operação e manutenção de lagoas anaeróbias e facultativas. *Série Manuais*. São Paulo, 1989.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Norma Técnica nº 4.262, de 04 de dezembro de 2007. Gerenciamento de resíduos químicos provenientes de estabelecimentos de serviços de saúde. *Diário Oficial do Estado*, São Paulo, SP, 27 de março de 2008.

CETESB-ANA - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. e Agência Nacional de Águas. *Guia nacional de coleta a preservação de amostras*. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 2011, 325 p.

CONAMA – CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 358, de 29 de abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providência. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 29 de abril de 2005.

CVS - CENTRO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA DA SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE. Portaria nº 21, de 10 de setembro de 2008. Norma Técnica sobre Gerenciamento de Resíduos Perigosos de Medicamentos em Serviços de Saúde. *Diário Oficial do Estado*, São Paulo, SP, 10 de setembro de 2008.

DAE – Departamento de águas e esgotos (website). Disponível em: <http://daescs.sp.gov.br>. Acesso em 20 fev. 2012.

DAL POZZO A. et al. In vitro model for the evaluation of drug distribution and plasma protein-binding relationships. *International Journal of Pharmacy*. V. 50, p. 97-101, 1989.

DAUBERT T.E., DANNER R.P. *Physical and Thermodynamic Properties of Pure Chemicals Data Compilation*. Washington, DC: Taylor and Francis, 1989.

DEF – *Dicionário de especialidades farmacêuticas*. Rio de Janeiro: Publicações Científicas, 2008.

EHRENPREIS S., EHRENPREIS E. D. *Clinician's handbook of prescription drugs*. McGraw-Hill: New York. 2001.

ENCONTRO INTERNACIONAL DE ATRAÇÃO DE INVESTIMENTO DIRETO EXTERNO, 2003. Documento setorial – fármacos. Brasil: CEPAL – Comissão econômica para a América Latina e o Caribe, 2003. Disponível em: <http://www.eclac.org/publicaciones/xml/3/21523/LCBRS146MariaFernandaEloanFarmacos.pdf>. Acesso em: 20 mar. 2013.

ETE Lavapés: projeto de referência. *Controle & Instrumentação*. Edição nº 51, 2000.

FELDMANN D. F., ZUEHLKE S., HEBERER T. Occurrence, fate and assessment of polar metamizole (dipyrone) residues in hospital and municipal wastewater. *Chemosphere*. V. 71, 2008, p. 1754-1764.

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz: Farmanguinhos Instituto de Tecnologia em Fármacos. Notícias (24 set. 2012). Disponível em: http://www2.far.fiocruz.br/farmanguinhos/index.php?option=com_content&view=a

rticle&id=541:mercado-farmaceutico&catid=53:outras-noticias&Itemid=94>.
Acesso em: 25 maio 2013.

FILHO R. W. R., *et al.* Fármacos, ETes e corpos hídricos. *Revista ambiente e água – An interdisciplinary journal of applied Science*. V. 2, n. 3, p. 54 – 61, 2007.

FREIRE R. S., PELEGRINI R., KUBOTA L. T., DURAN N., PERALTA-ZAMORA P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organoozoadas. *Química Nova*. V. 23, n. 4, 2000, p. 504-511.

GANGHIS D., PESTANA M. Tratamento de efluentes. Centro Federal de Educação Tecnológica [CEFET], Coordenação de Processos Industriais.

GAO P., *et al.* Occurrence of pharmaceuticals in a municipal wastewater treatment plant: mass balance and removal processes. *Chemosphere*. V. 88. P. 17-24. 2012.

GOMEZ, M. J. *et al.* Photodegradation study of three dipyrone metabolites in various water systems: identification and toxicity of their photodegradation products. *Water Research*. V. 42, 2008, p. 2698-2706.

GROS M., *et al.* Removal of pharmaceuticals during wastewater treatment and environmental risk assessment using hazard indexes. *Environment International*. V. 36. P. 15-26. 2010.

GUASCH, H., GINEBREDÀ, A., GEISZINGER, A. (editors.). *Emerging and priority pollutants in rivers - The Handbook of Environmental Chemistry. Occurrence and elimination of pharmaceuticals during conventional wastewater treatment*. Berlin, v. 19, 2012, 270p.

GUEDES-ALONSO R. *et al.* An assessment of the concentrations of pharmaceutical compounds in wastewater treatment plants on the island Gran Canaria (Spain). *Springer plus*. P. 2-24, 2013.

GUEDES C. D., PAGANINI W. S. Análise de resíduos do inseticida organofosforado metamidofós por LC-MS/MS – uma validação de metodologia analítica. In: *X Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Anais... Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2010.

GUGGENHEIMER J., MOORE P. The therapeutic applications of and risks associated with acetaminophen use: a review and update. *Journal of the American Dental Association*. V. 142, n. 1, p. 38-44, 2011.

HALLING-SORENSEN B. et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review. *Chemosphere*. V. 36, p. 357-393, 1998.

HANSCH, C., LEO, A., HOEKMAN D. Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. *American Chemical Society*. P. 185, 1995.

HOEGER, B. et al. Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*). *Aquatic Toxicology*. V. 75, p. 53-64, 2005.

HODGMAN, M. J., GARRARD A. R. A review of acetaminophen poisoning. *Critical care clinics*. V. 28, p. 499-516, 2012.

HSDB – Hazardous Substances Databank. Simvastatin. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 21 ago. 2013.

HSDB – Hazardous Substances Databank. Ibuprofen. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 13 dez. 2013.

HSDB – Hazardous Substances Databank. Acetaminophen. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 14 dez. 2013.

IBOPE – Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística. Notícias (04 abr. 2013). Disponível em: <<http://www.ibope.com.br/pt-br/noticias/Paginas/Venda-de-medicamentos-deve-movimentar-70-bilhoes-no-Brasil.aspx>>. Acesso em: 15 maio 2013.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. *Documento orientativo 008*. Revisão 02, jun. 2007.

IWA, International Water Association. (2010) Treatment of micropollutants in water and wastewater. VIRKUTYTE J.; VARMA R. S.; JEGATHESSAN V. (eds.). Londres.

JELIC, A., et al. Occurrence and elimination of pharmaceuticals during conventional wastewater treatment. In: GUASH, H. (eds.). *Hdb Environmental Chemistry*. V. 19, p. 1-24, 2012.

JONES, O.A.H., VOULVOULIS, N., LESTER, J.N. Human pharmaceuticals in wastewater treatment processes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. V. 35, p. 401-427. 2005.

KHAN, S.J., ONGERTH, J.E. Modelling of pharmaceutical residues in Australian sewage by quantities of use and fugacity calculations. *Chemosphere*. V. 54, n. 3, p. 355-367, 2004.

KIM, Y. et al. Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. *Environmental International*. V. 33, p. 370-375. 2007.

KLAASSEN, C. D. (editor). *Casarett and Doull's Toxicology – The basic science of poisons*. Nova Iorque : McGraw Hill, 7 ed., 2008, 1309p.

KOLPIN D.W. et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environmental Science Technology*. V. 36, p. 1202-1211, 2002.

KÜSTER A. et al. Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in the European Union: a case study with the β -blocker atenolol. *Integrated Environmental Assessment and Management*. V. 6, p. 514-523, 2010.

LANÇAS, F. M. *Validação de métodos cromatográficos de análise*. São Carlos : RiMa, 62p., 2004.

LOOS R., et al. *EU wide monitoring survey on waste water treatment plant effluents*. European Commission, Italy, 2012.

LYMAN W.J. et al. *Handbook of Chemical Property Estimation Methods*. Washington, DC: Amer Chem Soc, pp. 4-9, 15-1 to 15-29, 1990.

MADALOZZO, I. L. *Desempenho mecânico do solo condicionado com lodo de esgoto calcinado*. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2008.

MCEVOY, G.K. (ed.). *AHFS Drug Information 90*. Bethesda, MD: American Society of Hospital Pharmacists, Inc., p. 1020, 1990.

MELO S. A. S., *et al.* Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. *Química Nova*. V. 32, n. 1, p. 188 – 197, 2009.

MERCK & CO. *Zocor*. Highlights of prescribing information. EUA, 1991.

METCALF, EDDY. *Wastewater engineering: treatment and reuse*. 4th ed./revised, Mc Graw Hill, 2003.

MEYLAN WM, HOWARD PH. Bond contribution method for estimating Henry's Law Constants. *Environmental Toxicology Chemistry*. V.10, p. 1283-1293, 1991.

MS – MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998. Aprova o regulamento técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 12 de maio de 1998.

MORAES, M. C.; LAGO, C. L. Espectrometria de massas com ionização por electrospray aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas. *Química Nova*. V. 26, n. 4, p. 556-563, 2003.

OGA S., CAMARGO M. M. A., BATISTUZZO J. A. O. *Fundamentos de toxicologia*. São Paulo, 3 ed., 2008, p. 5.

OAH J. *et al.* Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Research*. V. 36, p. 5013-5022, 2002.

PAGANINI, W. S. Apointamentos de aula. São Paulo. 2014.

PAL, A., *et al.* Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Science of the total environment*. V. 408, p. 6062-6069, 2010.

PARANÁ. Lei nº 17.2011, de 03 de julho de 2012. Dispõe sobre a responsabilidade da destinação dos medicamentos em desuso no Estado do Paraná e seus procedimentos. *Diário Oficial do Estado*, Curitiba, PR, 03 de julho de 2012.

PEDERSEN T. R., TOBERT J. A. Simvastatin: a review. *Expert Opin Pharmacother*. V. 5, n. 12, p. 2583-2596, 2004.

PHARMA Portal Farmacêutico. Notícias - setor farmacêutico (22 maio 2012). Disponível em: <<http://pfarma.com.br/noticia-setor-farmaceutico/mercado/876-10-medicamentos-genericos-mais-consumidos-2011.html>>. Acesso em: 10 maio 2013.

PIVELI, R. P. Tratamento de Esgotos Sanitários. Apostila do curso de tratamento de Esgotos Sanitários. EP-USP, 71 p. São Paulo, 2006. Disponível em <http://www.ctec.ufal.br>. Acesso: 18 de janeiro de 2017.

POLONINI H. C. et al. Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação do teor de sinvastatina em cápsulas magistrais. *Química Nova*. V. 34, n. 3, p. 516-519, 2011.

POMATI, F., et al. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells. *Environmental science & technology*. V. 40, p. 2442 – 2447, 2006.

PREVIDELLO, B. A. F., et al. O pKa de indicadores ácido-base e os efeitos coloidais. *Química Nova*. V. 29, n. 3. 2006.

RADJENOVIC, J., PETROVIC, M., BARCELO, D. Fate and distribution os pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment. *Water research*. V.43, p. 831-841, 2009.

RAMALHO, R. S. *Introduction to wastewater treatment processes*. 2 ed., 1983, 580p.

REDDY M. M., et al. A novel review on anti-hypertensive drug combination – atenolol and amlodipine. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*. V. 2, n. 2, p. 1086-1089, 2013.

REIS FILHO, R. W.; BARREIRO, J. C.; VIEIRA, E. M.; CASS, Q. B. Fármacos, ETEs e corpos hídricos. *Revista Ambi-Água*. Taubaté. V.2, n.3, p. 54-61, 2007.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*. V. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RODRIGUEZ, R. M. *Estudo da emissão de íons estáveis e metaestáveis (LiF)_nLi⁺ induzida por fragmentos de fissão do ²⁵²Cf*. Dissertação de Mestrado em Física. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 2003.

ROGERS I.H. et al. Organic extractables in municipal wastewater. *Water Pollution Research Journal of Canada*. V. 21, p. 187-204, 1986.

ROXO, J. F. A. Simpósio Internacional de Resíduos de Serviços de Saúde – ABES. 2017.

SABESP – Companhia de saneamento básico do Estado de São Paulo. Plano diretor de saneamento básico dos municípios operados pela sabesp nas bacias hidrográficas do rio Paraíba do Sul e Serra da Mantiqueira: relatório técnico. Apêndice 2. SABESP, 2002.

SABESP – Companhia de saneamento básico do Estado de São Paulo. Plano diretor de saneamento básico dos municípios operados pela sabesp nas bacias hidrográficas do Turvo Grande, Tietê/Batalha, São José dos Dourados e do Baixo Tietê: relatório final. Apêndice 2: Planejamento dos sistemas de abastecimento de água e de esgotos sanitários. Jales: SABESP, 2003, p. 14-49.

SABESP – Companhia de saneamento básico do Estado de São Paulo. Emenda técnica ao projeto executivo do sistema de tratamento de esgotos de __. 2008.

SABESP – Companhia de saneamento básico do Estado de São Paulo. Norma Técnica SABESP NTS 230. Projeto de lagoas de estabilização e seu tratamento complementar para esgoto sanitário. 2009. Disponível em: <http://www2.sabesp.com.br/normas/nts/nts230.pdf>. Acesso em: 08 ago. 2016.

SABESP – Companhia de saneamento básico do Estado de São Paulo. Figura disponível em:

<http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=2&proj=sabesp&pub=T&nome=TratamentoDeEsgoto>. Acesso em: 10 dez. 2016.

SANTOS, J. H. Z., PIZZOLATO, T. M., CUNHA A. C. B. Desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de fármacos em meio aquático por extração em fase sólida e HPLC. *Revista de Ciências Ambientais*. Canoas. V.1, n.2, p.19-34, 2007.

SANTOS, L.H.M.L.M.; ARAÚJO, A. N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUEMATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*. V. 175, p. 45-95, 2010.

SANGSTER J. Log kow Databank. Sangster Res. Lab. Montreal Quebec, Canada (1994).

SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 45, de 23 de junho de 2015. Define as diretrizes para implementação e operacionalização da responsabilidade pós-consumo no Estado de São Paulo, e dá providências correlatas. *Diário Oficial do Estado*, São Paulo, SP, 24 de junho de 2015.

SILVA, R. F. *Estratégias para dimensionamento de uma instalação piloto de um biorreator anaeróbio de fluxo ascendente*. 2007. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos Ambientais) – Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2007.

SILVA, C. G. A., COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. *Química Nova*. V. 34, n. 4, p. 665-676. 2011.

SIMÕES M. J. S., FILHO A. F. Consumo de medicamentos em região do Estado de São Paulo (Brasil), 1985. *Rev. Saúde Pública*. V. 22, n. 6, p. 494 – 499, 1988.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Principios de análise instrumental*. Madri : McGraw Hill, 5 ed., 1028, 2001.

SMITH, F. P. (editor). *Handbook of forensic drug analysis*. USA : Elsevier, 562p., 2005.

STAINES A. G., COUGHTRIE M. W. H., BRUCHELL B. N-Glucuronidation of carbamazepine in human tissues is mediated by UGT2B7. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004. V. 311, N. 3, p. 1131-1137.

STUMPF M., TERNES T.A., WILKEN R-D., RODRIGUES S.V., BAUMANN W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro Brazil. *Science Total Environment*. V. 225, n. 1, p. 135-141, 1999.

TAMBOSI J. L., et al. Recent research data on the removal of pharmaceuticals from sewage treatment plants (STP). *Química nova*. V. 33, n. 2, p. 411-420, 2010.

VERLICCHI P., AUKIDY M., ZAMBELLO E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment – a review. *Science of the total environment*. V. 429, p. 123-155, 2012.

U.S. EPA - United States Environmental Protection Agency. Supplemental Guidance for Developing Soil Screening Levels for Superfund Sites. 2001.

US EPA – United States Environmental Protection Agency. Estimation Program Interface (EPI) Suite. 2003. Disponível em: <<http://www.epa.gov/>>. Acesso em: 21 ago. 2013.

US EPA - United States Environmental Protection Agency. Estimation Program Interface (EPI) Suite. 2011. Disponível em: <<http://www.epa.gov/>>. Acesso em: 26 ago. 2013.

WEITZIG R. Removal of selected pharmaceuticals from sewage water by advanced treatment techniques. *Freiberg Institute of Biowissenschaften*. 2008. Alemanha.

WHO - World Health Organization. *Pharmaceuticals in drinking-water*. 2011.

WHO – World Health Organization. *Lexicon of alcohol and drug terms*. Geneva, 1994. Disponível em: <<http://whqlibdoc.who.int/publications>>. Acesso em: 30 mai. 2013.

YALKOWSKY S.H., DANNENFELSER R.M. Aqueous Solubility. The aquasol database. 1992.