



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA**

**PROJETO DE PESQUISA**

**Análise de Ibuprofeno e Carbamazepina no Rio Paraíba do Sul, na Região de  
Volta Redonda**

Orientador: Prof. Doutor Flávio Teixeira da Silva

Orientando: Pedro Luiz Fernandes Assumpção

**Lorena – SP**

**Agosto de 2019**

## **1 Introdução**

### **1.1 Micropoluentes**

Micropoluentes são substâncias que se originam de atividades antropogênicas e aparecem em pequenas concentrações, variando desde de microgramas até picogramas por litro - em águas naturais. Como exemplo, pode-se citar os produtos químicos industriais, produtos farmacêuticos e hormônios (FARRÉ et al., 2008).

Dentre os micropoluentes existem aqueles conhecidos como “emergentes”. Estes podem ser definidos como os poluentes cujo os limites de concentração no meio ambiente não estão contemplados em nenhuma norma regulatória que envolva parâmetros de qualidade da água, que ainda não foram anteriormente estudados e que podem ser potenciais causadores de danos aos ecossistemas ambientais, bem como, à saúde e segurança humana). O termo “Micropoluente de Preocupação Emergente” também tem sido utilizado com frequência. Assim, devido à grande utilização, os fármacos constituem uma classe de compostos que está entre as que merece maior atenção (SAUVÉ; DESROSIERS, 2014).

### **1.2 Os Fármacos**

Os fármacos fazem parte de uma categoria de produtos industriais que apresenta uma das maiores demandas de produção mundial. Embora os dados exatos sejam raramente divulgados, os produtos farmacêuticos têm sido comercializados, em grandes quantidades em todas as partes do globo (TERNES, 1998). Mesmo tendo sua toxicidade estudada durante a fase de desenvolvimento, o potencial de contaminação ambiental e os mecanismos que ocorrem quando estes compostos estão no meio ambiente são pouco conhecidos, o que justifica o interesse na determinação desses contaminantes, bem como sua toxicidade e os efeitos potenciais sobre o meio ambiente e à saúde humana. Soma-se a isto, o fato de não estarem inseridos na legislação brasileira que regulamenta a qualidade da água e, portanto, podem ser usados como um elemento para a elaboração de futuras leis (AMÉRICO et al., 2012; BORECKA et al., 2015).

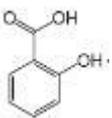
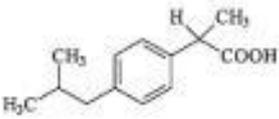
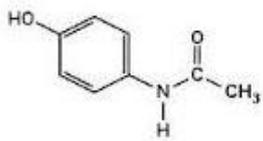
Nesse sentido, diversos estudos vêm sendo desenvolvidos para melhorar o processo de tratamento de esgoto e contribuir para os cuidados com o meio

ambiente. Esses trabalhos são impulsionados, principalmente, pelos avanços na análise da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC – MS/MS) o que permite a identificação e a possibilidade de rastreamento dos micropoluentes orgânicos polares (KÜMMERER, 2002). Por conseguinte, muitas análises ambientais têm sido realizadas em diversos países e em diversos tipos de matriz, culminando em publicações de artigos e possibilitando assim o estabelecimento de padrões de análise e a verificação da qualidade das águas e efluentes (GONZALEZ-REY et al., 2015; PETROVIĆ et al., 2014).

## 2 Materiais e Métodos

Os fármacos escolhidos foram ácido salicílico, ibuprofeno e paracetamol. A tabela 1 apresenta as propriedades dos fármacos escolhidos para este estudo.

Tabela 1: Fármacos que serão analisados. Estrutura, Número CAS, Massa Molar e pKa

Composto	Estrutura	Número Cas	Massa Molar (g/mol)	pKa
Ácido Salicílico		69-72-7	138,1	3,0
Ibuprofeno		15687-27-1	206.3	4,5
Paracetamol		103-90-2	151,1	9,4

### 2.1 Definição dos pontos de amostragem

A área de estudo deste trabalho, envolveu as maiores cidades da região da Bacia Hidrográfica do Médio Paraíba (Resende, Barra Mansa e Volta Redonda). Foram escolhidos 4 pontos de amostragem antes e depois das cidades (Tabela 2). Como Barra Mansa e Volta Redonda formam uma conurbação, apenas dois pontos de amostragem foram escolhidos, antes de Barra Mansa e depois de Volta Redonda.

As Figuras 1 e 2 mostram os mapas com os locais onde foram coletadas as amostras de água para análise.

Tabela 2: Pontos de amostragem, suas coordenadas geográficas e sua localização

Ponto	Localização	Coordenadas	Observação
P1	Resende/Itatiaia	22°28'19.0"S 44°30'30.9"W	1ª ponte da Cidade de Resende
P2	Resende	22°27'56.8"S 44°26'09.4"W	Última Ponte da cidade de Resende.
P3	Barra Mansa	22°31'30.1"S 44°11'21.0"W	1° Ponte da cidade de Barra Mansa.
P4	Volta Redonda	22°28'42.0"S 44°03'47.0"W	Última ponte da cidade de Volta Redonda.

Figura 1: Representação cartográfica dos pontos de coleta 1 e 2 (P1 e P2)

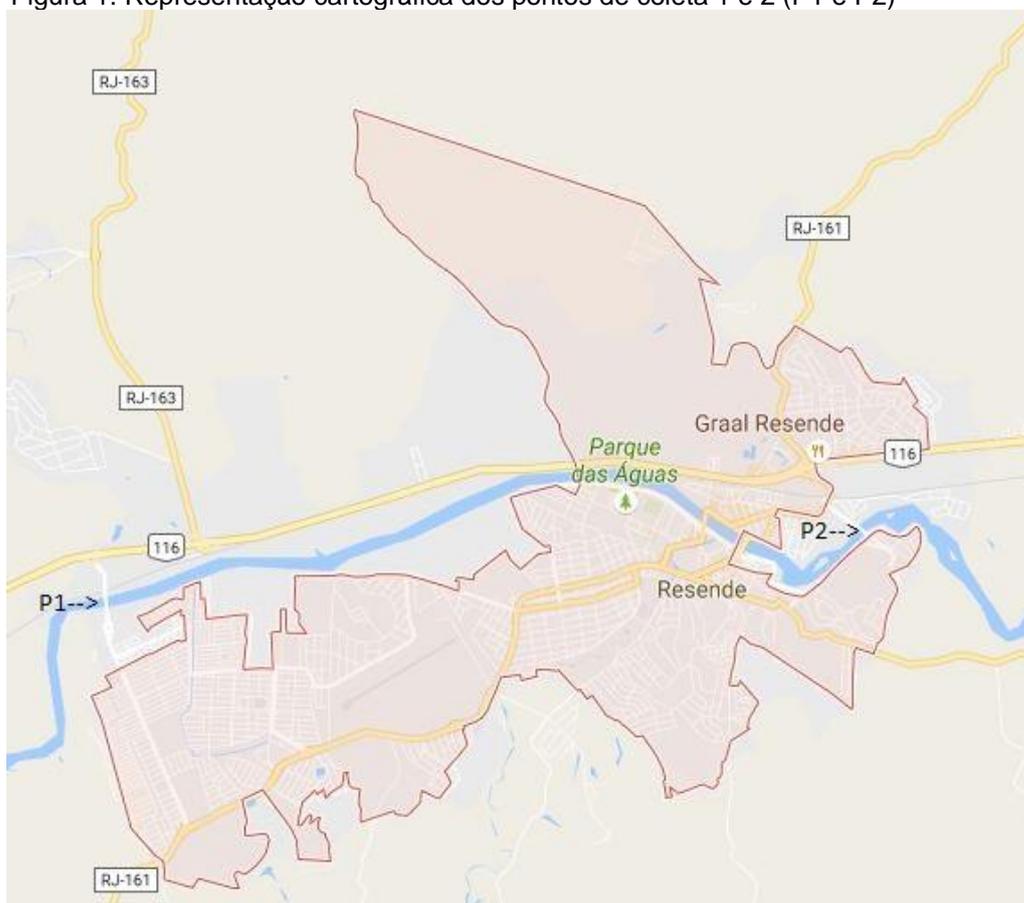
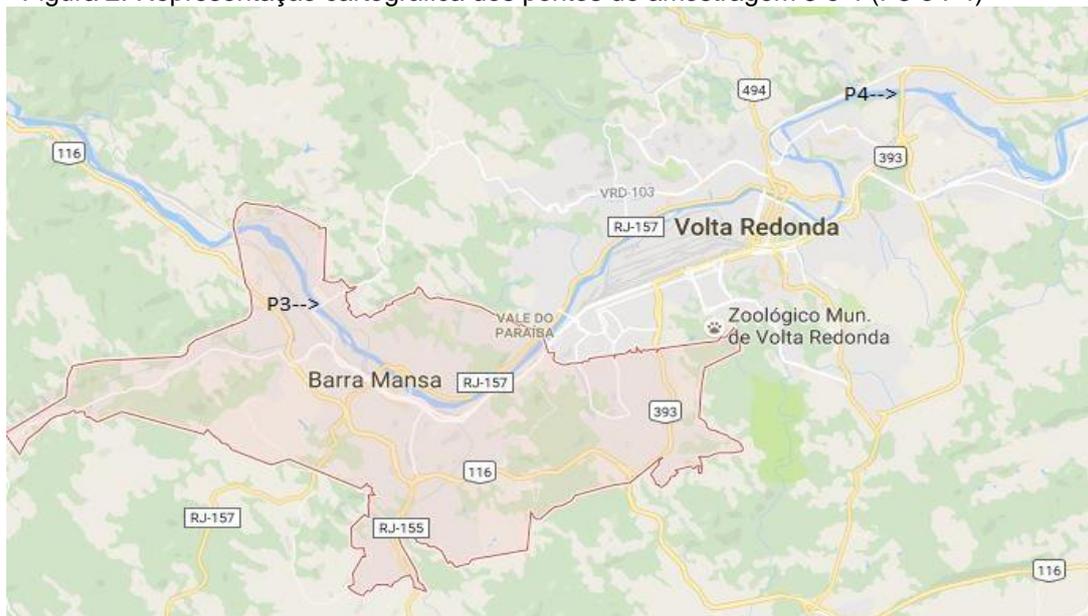


Figura 2: Representação cartográfica dos pontos de amostragem 3 e 4 (P3 e P4)



## 2.2 Plano de Amostragem e Coleta

As coletas foram feitas a cada dois meses, com início em setembro de 2016 e encerramento em julho de 2017, em um total de 5 coletas. Cada ponto foi amostrado com auxílio de um balde de plástico. Foram coletados 4 L de água em cada ponto, que foram transferidos para frasco âmbar e armazenados em gelo até a volta para o laboratório.

A limpeza das vidrarias utilizadas nas campanhas de amostragem, seguiram as recomendações do guia de coleta e amostragem da CETESB (CETESB, 2011).

## 2.3 Análises físicas e químicas

Após cada coleta, pH, condutividade, sólidos totais dissolvidos, temperatura e oxigênio dissolvido de cada amostra foram mensurados. As determinações foram feitas com o auxílio de uma sonda multi-parâmetro:

## 2.4 Filtração, extração e eluição

As amostras coletadas foram filtradas em membrana de fibra de vidro, de porosidade 1,2 µm, para a retirada de sólidos em suspensão. Em seguida, 500 mL de cada amostra filtrada foram percolados através de cartucho Oasis HLB, com ajuda de bomba peristáltica, a uma vazão de 7 mL.min<sup>-1</sup>, para a extração dos analitos de interesse. O sistema para a extração foi o mesmo desenvolvido por Sodré e colaboradores (SODRÉ; ANTONIO; FIGUEIREDO, 2010). A figura

3 mostra uma foto representativa do sistema usado para a extração dos analitos presentes nas amostras de água.

Figura 3: Foto do sistema usado para extração dos analitos presentes nas amostras de água.



Os cartuchos foram previamente ativados com 4 ml de metanol e 4 ml de água ultrapura. Após a extração, os cartuchos foram secos a vácuo.

A eluição destes analitos foi realizada com auxílio de um manifold, adicionando-se alíquotas de 4 ml metanol, seguidas de 4 ml de acetonitrila, que foram coletadas em tubos de ensaio. Após o processo de eluição ser concluído, as amostras resultantes foram secas completamente sob fluxo de nitrogênio e depois ressuspensas em solução água/metanol na proporção de 70:30 e em seguida injetadas no cromatógrafo.

## 2.5 Análises cromatográficas.

Para as análises cromatográficas foi utilizado um cromatógrafo Agilent 1200, acoplado a um espectrômetro de massa com triplo quadrupolo e ionização por eletrospray (ESI) 6410.

Foram utilizados dois métodos para a quantificação dos analitos estudados: um para ácido salicílico e ibuprofeno e outro para paracetamol.

Os parâmetros de cada método são descritos a seguir.

#### Ácido Salicílico e Ibuprofeno

Fase Móvel: ácido acético 0,04% e acetonitrila, com a eluição realizada em forma de gradiente. A composição do gradiente está descrita na tabela 3

Tabela 3: composição do gradiente utilizado para a eluição dos fármacos tendo Ácido Acético 0,04% e Acetonitrila como fase móvel.

Tempo (minutos)	% Ácido Acético 0,04%	% Acetonitrila
0	95	5
6	70	30
9	70	30
10	95	5

Coluna cromatográfica: Zorbax SB – C18 com dimensões de 2,1 x 30 mm e tamanho de partícula de 3,5 µm, fluxo: 0,3 mL por minuto, condição da fonte de ionização: temperatura de 300°C, voltagem de 3000V, pressão do nebulizador de 50 psi, fluxo do gás de secagem de 9 L. min<sup>-1</sup>.

#### Paracetamol

Fase Móvel: hidróxido de amônio 0,01% e metanol com proporção de 80:20, com a eluição isocrática. Coluna cromatográfica: Zorbax SB – C18 com dimensões de 2,1 x 30 mm e tamanho de partícula de 3,5 µm, fluxo: 0,3 mL por minuto, condições da fonte de ionização: temperatura de 350°C, voltagem de 4000V, pressão do nebulizador de 20 psi, fluxo do gás de secagem de 6 L.min<sup>-1</sup>.

#### 2.6 Análises ecotoxicológicas

Foram realizados testes de toxicidade aguda e crônica, com microcrustáceo *Daphnia similis* e alga *Pseudokirchmeriella subcapitata*, respectivamente. Para cada teste foram utilizadas as seguintes metodologias.

##### Teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis*

Os testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Daphnia similis* foram realizados conforme a NBR 12.713/04. Neonatos com 6 a 24 horas de vida foram

expostos às amostras de águas e ao controle de cultivo, por 48 horas. Os testes foram realizados com 20 mL de cada amostra, e foram utilizados 20 organismos em quatro réplicas com 5 organismos cada. Os organismos foram mantidos em câmaras incubadoras por um período, sem alimentação, de 48 horas, em uma temperatura de  $20 \pm 2$  °C.

Após do período de exposição, realizou-se a contagem dos organismos imóveis, sendo considerados imóveis àqueles que não conseguiram nadar após a leve agitação do recipiente.

#### Teste de toxicidade crônica com *Pseudokirchmeriella subcapitata*

Os testes de toxicidade crônica com alga *Pseudokirchmeriella subcapitata* para amostras ambientais foram realizados conforme a metodologia descrita na NBR 12.648/11. Esse método permite avaliar os efeitos tóxicos da amostra sobre o crescimento de uma cultura específica de algas, em fase exponencial de crescimento. A cultura foi exposta às amostras de água coletada, em triplicata, por 96 horas, à temperatura de  $25 \pm 2$  °C, intensidade luminosa de  $54 \mu\text{. fóton. m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  e agitação de 170 rpm. Erlenmeyers de 250 mL foram utilizados como recipientes-teste, contendo um volume de 100 mL de amostra. A determinação do crescimento algáceo final foi realizada através do método de contagem celular em câmara de Neubauer em microscópio óptico. A densidade algácea foi determinada nos controles no início do ensaio e em todos os recipientes-teste ao final do ensaio. As densidades médias produzidas em 96 horas foram obtidas através da subtração das densidades finais pelas iniciais. Os resultados foram considerados válidos quando ao término do período de ensaio, o crescimento da densidade algácea média do controle fosse pelo menos 100 vezes superior à densidade inicial, para 96 horas de exposição, e o coeficiente de variação da densidade algácea das replicatas do controle, no término do ensaio, for menor ou igual a 20%.

### **3 Resultados e discussão**

#### 3.1 Quantificação dos compostos farmacêuticos

As análises das amostras coletadas nos pontos P1, P2, P3 e P4 nas datas planejadas apresentaram apenas resultados de quantificação para o ibuprofeno

enquanto ácido salicílico e paracetamol não foram detectados. Os resultados obtidos estão mostrados na tabela 4.

Tabela 4: Resultados da quantificação de ácido salicílico, ibuprofeno e paracetamol em amostras de água do Rio Paraíba do Sul, região do médio Paraíba.

<b>Composto</b>	<b>Data da Coleta</b>	<b>P1</b>	<b>P2</b>	<b>P3</b>	<b>P4</b>
<b>Ácido Salicílico</b>	Ago/16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Set/16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Nov/16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Jan/17	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	Abr/17	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>Ibuprofeno</b>	Ago/16	n.d	17 ng.L <sup>-1</sup>	n.d.	17 ng.L <sup>-1</sup>
	Set/16	n.d	18 ng.L <sup>-1</sup>	n.d.	19 ng.L <sup>-1</sup>
	Nov/16	16	17 ng.L <sup>-1</sup>	19 ng.L <sup>-1</sup>	21 ng.L <sup>-1</sup>
	Jan/17	19	23 ng.L <sup>-1</sup>	16 ng.L <sup>-1</sup>	22 ng.L <sup>-1</sup>
	Abr/17	n.d	21 ng.L <sup>-1</sup>	n.d	15 ng.L <sup>-1</sup>
<b>Paracetamol</b>	Ago/16	n.d	n.d	n.d.	n.d.
	Set/16	n.d	n.d.	n.d.	n.d.
	Nov/16	n.d	n.d.	n.d.	n.d.
	Jan/17	n.d	n.d.	n.d.	n.d.
	Abr/17	n.d	n.d	n.d.	n.d.

n.d: não detectado

Observou-se para o ibuprofeno que sempre houve um aumento do valor da concentração nas amostras retiradas do corpo d'água após o mesmo percorrer trechos urbanos. Isso pode ser um indicativo da presença deste fármaco em efluentes domésticos (tratados e não tratados).

Quanto ao fato de ácido salicílico e paracetamol não terem sido detectados existe a possibilidade de ser mais um problema do método analítico empregado do que a não presença de ambos os compostos nas amostras. O emprego de um método mais sensível seria a alternativa a ser testada.

### 3.2 Análises físicas e químicas.

O pH das amostras esteve na faixa de 6,6 – 7,1, estando dentro do esperado. A temperatura variou entre 20 – 24°C, valores compatíveis com o período de coleta das amostras (todas foram coletadas na parte da manhã). A condutividade esteve na faixa de 60 – 90  $\mu\text{S cm}^{-1}$ , enquanto que os sólidos totais dissolvidos variaram entre 20 – 50  $\text{mg L}^{-1}$ .

### 3.3 Análises ecotoxicológicas

Para se determinar as toxicidades crônicas e aguda foram realizados testes ecotoxicológicos em cada amostra. O resultado obtido foi negativo, ou seja, não tóxicas. Somente o ponto 2 (P2), em coleta realizada em setembro de 2016, apresentou toxicidade crônica e aguda. Como apenas esse ponto apresentou toxicidade, é possível que este seja um acontecimento pontual, uma vez que as outras coletas não apresentaram toxicidade. O resultado não tóxico indica que as substâncias presentes na água estão diluídas, a ponto de não influenciar o crescimento dos organismos-teste.

## 4 Conclusão

Pode-se concluir que existe um aumento de concentração de ibuprofeno sempre que o rio Paraíba do Sul “percorre” trechos urbanos. Para se ter uma maior amplitude de como este aumento ocorre, é necessário um estudo mais localizado, com um plano de amostragem em pontos do onde o corpo d’água atravessa os municípios estudados.

## 5 Bibliografia

AMÉRICO, H. J. P. et al. Fármacos em uma estação de tratamento de esgoto na região Centro-Oeste do Brasil e os riscos aos recursos hídricos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 17, n. 2010, p. 61–67, 2012.

BORECKA, M. et al. Contamination of the southern Baltic Sea waters by the residues of selected pharmaceuticals: Method development and field studies. **Marine Pollution Bulletin**, v. 94, n. 1–2, p. 62–71, 15 maio 2015.

CETESB. **Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras - Água, Sedimento, Comunidades Aquáticas e Efluentes Líquidos**. [s.l: s.n.].

FARRÉ, M. LA et al. Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 11, p. 991–1007, 2008.

GONZALEZ-REY, M. et al. Occurrence of pharmaceutical compounds and pesticides in aquatic systems. **Marine Pollution Bulletin**, v. 96, n. 1–2, p. 384–400, 15 jul. 2015.

KÜMMERER, K. Erratum to “Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources—a review” [Chemosphere 45 (2001) 957–969]. **Chemosphere**, v. 48, n. 3, p. 383, jul. 2002.

PETROVIĆ, M. et al. Determination of 81 pharmaceutical drugs by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry with hybrid triple quadrupole–linear ion trap in different types of water in Serbia. **Science of The Total Environment**, v. 468–469, p. 415–428, 2014.

SAUVÉ, S.; DESROSIERS, M. A review of what is an emerging contaminant. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n. 15, p. 1–7, 2014.

SODRÉ, F. F.; ANTONIO, L. M.; FIGUEIREDO, J. Sistema limpo em linha para extração em fase sólida de contaminantes emergentes em águas naturais. **Quim. Nova**, v. 33, n. 1, p. 216–219, 2010.

TERNES, T. A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers1Dedicated to Professor Dr. Klaus Haberer on the occasion of his 70th birthday.1. **Water Research**, v. 32, n. 11, p. 3245–3260, nov. 1998.