

CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA - Química

**AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS EM
AMOSTRA DE EFLUENTE BRUTO DO IPEN**

Autor: DANUBIA FERNANDES

Instituição: Faculdade de Tecnologia de São Paulo (FATEC-SP)
Orientador(es): Elaine Arantes Jardim Martins

1. Resumo

Este projeto tem como foco investigar a presença de poluentes orgânicos persistentes (POPs) e de poluentes emergentes nos efluentes líquidos do IPEN, fornecendo ao instituto uma nova ferramenta no monitoramento ambiental. Estas substâncias não são totalmente eliminadas no processo de tratamento convencional e podem acarretar dano à saúde mesmo em baixas concentrações se liberadas nos corpos d'água. A maioria das substâncias estudadas não é contemplada na legislação vigente para emissão no meio ambiente. São estudadas amostras de efluente, proveniente do coletor tronco do IPEN – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Para a separação, concentração e determinação dos compostos estudados foi adaptada uma metodologia desenvolvida no Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN utilizada anteriormente para esgoto tratado.

2. Introdução

O lançamento de substâncias tóxicas na água é uma das causas mais complexas de deterioração da qualidade dos mananciais destinados ao abastecimento público. Um dos grandes desafios para um programa de monitoramento da qualidade da água é conhecer o funcionamento do ecossistema, organizar um banco de dados e entender os fatores que afetam a qualidade regionalmente e nacionalmente ^[1].

A preocupação com os recursos hídricos, o saneamento e a qualidade de vida tem crescido em todo o mundo, pois é necessário garantir que haja água de qualidade e segura para as gerações futuras. Os rios, principalmente aqueles localizados nos grandes centros urbanos, recebem diariamente uma carga enorme

de poluentes que comprometem a qualidade das águas. Esse problema já é observado há algum tempo até mesmo em áreas preservadas [2,3,4].

As legislações ambientais brasileiras não contemplam a grande maioria dos compostos orgânicos lançados diariamente nos corpos d'água, como no caso dos compostos orgânicos ditos como disruptores endócrinos, muitos dos quais não são contemplados na legislação brasileira nem nas legislações internacionais e apresentam elevada toxicidade. [5,6,7,8]

As matrizes ambientais são extremamente complexas no que diz respeito à composição química. Os esgotos domésticos, por exemplo, apresentam elevadas concentrações de produtos de limpeza como detergentes desinfetantes, fármacos, hormônios (naturais ou sintéticos), cafeína, colesterol, coprostanol, antioxidantes, plásticos, produtos industrializados, tensoativos entre outros. Pesquisas recentes encontraram vários destes compostos em águas e esgotos. Alguns compostos podem ser degradados química ou biologicamente pelo próprio meio ambiente, porém outros são transferidos para os corpos d'água por lixiviação ou escoamento superficial. [9,10,11,12,13,14]

Disruptores endócrinos e poluentes orgânicos persistentes (POP) são classes de substâncias extremamente importantes e muito investigadas devido aos seus efeitos no meio ambiente. Essas classes de substâncias podem produzir efeitos adversos aos organismos expostos em concentrações realmente muito baixas e essa é uma grande preocupação relacionada à saúde pública^[15].

3. Objetivos

Adaptar metodologia previamente desenvolvida para utilização em amostras de esgoto bruto. Identificar poluentes orgânicos persistentes e emergentes em amostras de efluente do IPEN, visando iniciar um monitoramento de contaminantes orgânicos.

4. Metodologia

As amostras foram coletadas no coletor tronco do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN. Essas amostras foram filtradas em membrana 0,45µm e mantidas sob refrigeração, em frasco âmbar, para preservação até a realização das análises. Tanto as amostras diárias como as compostas foram avaliadas para verificar as possíveis variações.

Para as determinações foi utilizado um cromatógrafo a gás, *Shimadzu* – 17A, acoplado ao detector de espectrometria de massas, *Shimadzu* - QP 5000; microprocessador de dados equipado com o software GCMS solution versão 1.20, *Shimadzu*. O sistema para filtração é da marca *Sartorius*, foram utilizados cartuchos SPE C₁₈ 3mL da *Supelco*, além de bomba de vácuo, balança analítica e vidraria básica de laboratório. Os solventes e reagentes utilizados neste estudo foram: Diclorometano (DCM), metanol (MeOH), acetato de etila (EtOAC) todos grau HPLC, água purificada por osmose reversa e água ultra pura de baixa condutividade.

4.1. Estudos realizados

Inicialmente avaliou-se a extração líquido-líquido (ELL) em comparação com a técnica de extração em fase sólida (SPE), observando-se que a ELL, embora apresente resultados reprodutivos, tem uma sensibilidade menor quando comparada a técnica SPE. Observou-se que a técnica de extração SPE utilizando a mistura extratora de DCM/MeOH (60:40) v/v foi a melhor opção. O resumo do procedimento dos testes de extração líquido-líquido e SPE realizados podem ser visualizados no fluxograma apresentado na figura 1.

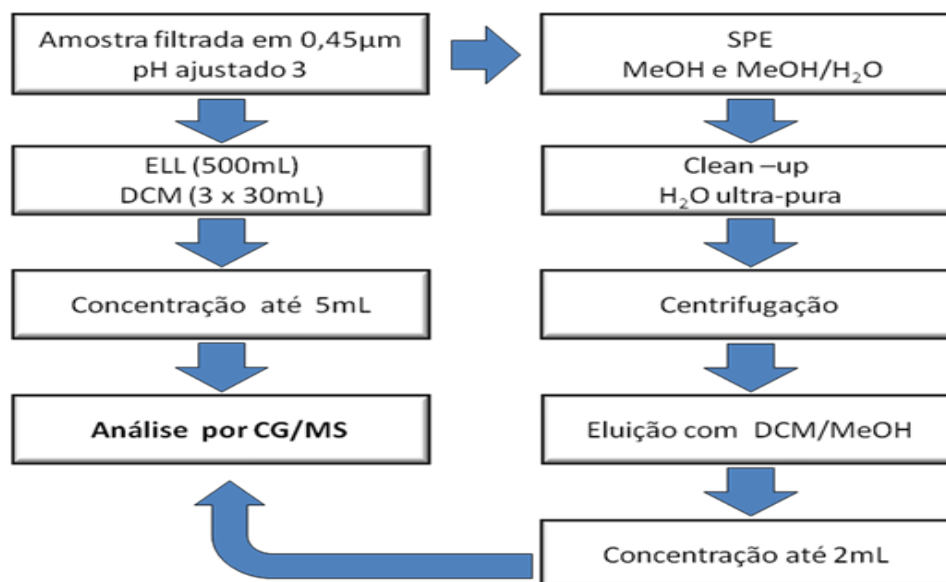


Figura 1: Fluxograma das etapas de extração.

No ensaio de extração em fase sólida (SPE), foram utilizadas alíquotas de 100mL, e cartucho C_{18} preenchido com *octadecil*, de 3mL. As etapas compreendidas nesta metodologia são: **condicionamento do cartucho** com 3mL de metanol e 3mL de solução metanol/água(10:90) v/v, a 1mL por minuto, **percolação da amostra** em fluxo aproximado de 6mL por minuto, **clean-up** com água ultra-pura, **secagem do cartucho** por centrifugação, a 2500 RPM durante 30 minutos, **dessorção** dos analitos de interesse com 3mL de solução DCM/MeOH (60:40) v/v, a 1mL por minuto e **concentração** até 2mL sob fluxo de N_2 . Posteriormente a análise é realizada por GC/MS.

5. Desenvolvimento

Inicialmente, foi injetada no GC/MS uma amostra fortificada com a mistura dos padrões utilizando-se um método para efluente tratado previamente desenvolvido por Otomo (2010). Após a extração, as amostras foram injetadas primeiramente no modo SCAN, por varredura dos íons em uma faixa pré-definida para identificação e posteriormente no modo SIM, por monitoramento seletivo de íons (*selective ion monitoring*), que é mais sensível e seletivo para quantificação. O método utilizado foi desenvolvido para determinação dos interferentes endócrinos mais estudados (hormônios, cafeína, estrógenos, plastificantes, etc.). Os resultados destes testes foram tomados como base para adaptação das metodologias já existentes e posterior construção de curvas analíticas com a matriz estudada.

No estudo para otimização da extração foram testadas as misturas de solvente DCM/MeOH na proporção 60:40 e EtOAC/MeOH na mesma proporção 60:40 v/v. Este estudo foi realizado apenas com os compostos cafeína e estrona. Comparando os resultados obtidos nos testes de extração líquido-líquido e SPE com diferentes misturas extratoras, obteve-se uma melhor resposta para os compostos estudados com a mistura extratora DCM/MeOH em SPE, que pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3: Resultados das amostras, obtidos nos diferentes testes de extração realizados.

Tipo de extração	Compostos quantificados ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	
	Cafeína	Estrona
ELL	21,285	1,382
SPE (DCM/MeOH)	79,662	4,261
SPE (EtOAC/MeOH)	55,564	3,376

Devido às características dinâmicas da matriz foram realizados testes com amostras simples e compostas. Foram analisadas triplicatas das amostras simples diárias e triplicatas da amostra composta semanal para os compostos cafeína e estradiol, e os resultados são apresentados na tabela 4. Observa-se que os valores obtidos foram semelhantes, portanto o restante dos estudos foi realizado apenas em amostras compostas.

Tabela 4: Resultado das análises em amostras simples e composta.

Composto	Concentração ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	
	Simplex media semanal	Composta semanal
Cafeína	0,340	0,313
Estradiol	0,058	0,050

Após a etapa de ajuste de metodologia para a análise dos compostos de interesse para a matriz de esgoto bruto, foram avaliados parâmetros capazes de comprovar a eficiência desta metodologia.

O primeiro parâmetro avaliado foi a seletividade do método demonstrado nas figuras 2 e 3 pelos cromatogramas dos compostos estudados.

Na figura 2 é apresentado o cromatograma do método utilizado para avaliar a cafeína e os hormônios androstano, estrona, estradiol, etinilestradiol e progesterona, por GC/MS no modo SIM.

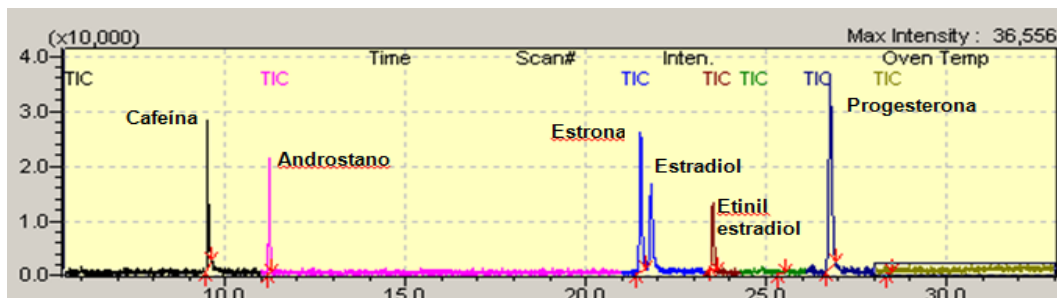


Figura 2: Cromatograma de padrão misto de hormônios obtido em modo SIM

Na figura 3 é apresentado o cromatograma do método utilizado para avaliar os compostos resultantes de atividade industrial, dietilftalato, nonilfenol, pentaclorofenol, dibutilftalato, bisfenol A e benzo[a]pireno, por GC/MS no modo SIM.

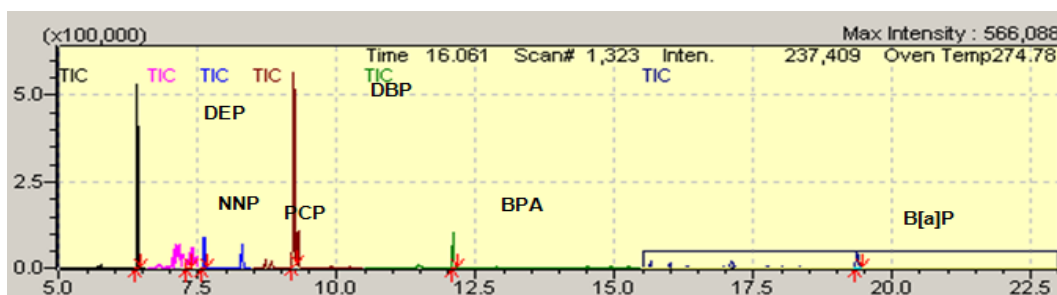


Figura 3: Cromatograma de padrão misto decompostos plastificantes e tensoativos, obtido em modo SIM

O método utilizado apresenta boa linearidade principalmente considerando a complexidade da matriz, pois são observados valores de R^2 acima de 0,97 para as curvas analíticas dos compostos estudados, o que está de acordo com a recomendação do INMETRO, de que este valor seja superior a 0,9. Pelo estudo das curvas analíticas com e sem matriz, foi possível também verificar a interferência da matriz na determinação dos compostos estudados, visto que as retas possuem diferentes inclinações, principalmente para os hormônios.

Foram realizados testes de recuperação para avaliar o quanto de interferência a matriz tem para cada composto analisado. Na tabela 5 são apresentados os resultados do estudo de recuperação e as respectivas concentrações avaliadas. De acordo com a literatura, os valores podem ser considerados dentro da faixa recomendada, de 50% a 120% para amostras complexas [16].

Tabela 5: Resultado dos estudos de recuperação em matriz composta.

Composto	Concentração adicionada ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	% recuperada
Dietilftalato	0,75	71,7
Nonilfenol	1,00	58,4
Dibutilftalato	0,75	66,3
Bisfenol A	1,50	75,1
Benzo[a]pireno	1,50	54,7
Cafeína	5,50	70,6
Androstano	0,50	57,2
Estrona	3,90	92,5
Estradiol	8,00	80,7

6. Resultados

Devido ao fato deste estudo utilizar como matriz o efluente líquido do IPEN, suas características atribuem complexidade a essa matriz. A interferência da amostra sobre os compostos estudados é considerável, afetando a recuperação. A fim de minimizar parte deste efeito a amostra composta foi coletada e extraída na mesma semana para evitar degradação e reações parciais dos componentes da matriz. Os compostos estudados foram quantificados por curva analítica, realizada na própria matriz, tanto para os hormônios quanto para os plastificantes.

Os compostos orgânicos normalmente identificados nas análises qualitativas de amostras de efluente do IPEN por GC/MS no modo SCAN foram: 2-Benzazol1-3 dione; Benzenedicarboxyli; Dibutil-3-hidroxibutil-fosfato; Diisohexy-ftalato; Piperazine; Thanamine e Triazine Ácido fosfórico; Benzenedicarboxyli e Dibutil-3-hidroxibutil fosfato. Porém, não foi possível quantificá-los devido à falta de padrões e metodologia apropriada.

Na tabela 6 são apresentados os resultados obtidos para o monitoramento dos compostos estudados no efluente do IPEN realizado no primeiro semestre de 2011. Os valores apresentados são referentes à média do período e o intervalo de concentração encontrada.

Tabela 3: Compostos monitorados no efluente no período de fevereiro a julho de 2011.

Composto	Concentração média ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Intervalo de concentração do período ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
Cafeína	2,173	0,030 a 7,577
Androstano	0,008	0,012 a 0,018
Estrona	0,180	0,016 a 0,036
Estradiol	0,056	0,044 a 0,064
Dietilfitalato	0,420	0,043 a 1,305
Nonilfenol	0,406	0,006 a 1,656
Dibutifitalato	0,052	0,004 a 0,204
Bisfenol A	0,014	0,009 a 0,022

Os compostos encontrados são todos provenientes de atividades antrópicas, sendo que a cafeína é considerada um marcador antrópico.

7. Considerações Finais

A metodologia já existente foi adaptada para aplicação nos efluentes do IPEN e se mostrou eficaz para quantificação dos compostos orgânicos nestas amostras.

O método é linear, seletivo e apresentou índices de recuperação satisfatórios, dentro do esperado. A maioria dos compostos monitorados não é contemplada pela legislação, porém os compostos avaliados encontram-se em baixas concentrações, principalmente considerando-se uma matriz de efluente bruto.

Foi possível observar a presença de alguns outros compostos orgânicos nas amostras de efluente estudadas, porém ainda não é possível quantificá-los, visto que o laboratório não possui todos os padrões necessários e necessita desenvolver metodologias para todos.

8. Fontes Consultadas

- [1] MARQUES, M.N. ***Avaliação do impacto de agrotóxicos em áreas de proteção ambiental, pertencentes à Bacia Hidrográfica do Rio Ribeira de Iguape, São Paulo. Uma contribuição à análise crítica da legislação sobre o padrão de potabilidade.*** Tese de Doutorado-IPEN/ USP, 2005.
- [2] CETESB. Relatório de Qualidade da águas Interiores do Estado de São Paulo, 2007.
- [3] Katsuóka, L. ***Avaliação do impacto da atividade agropecuária da qualidade da água em áreas de captação superficial nas bacias hidrográficas dos rios Mogi-Guaçu e Pardo.*** Tese de Doutorado-IPEN/ USP, 2001.
- [4] PIRES. M. A F. Análise crítica da legislação sobre potabilidade das águas destinadas ao abastecimento público. **Relatório Técnico Final** FAPESP PP Projeto nº 00.02024-4. 30/06/2004.
- [5] ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – “**Resolução nº 105**, de 19/05/1999”.
- [6] BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portaria nº 518 de 2004**, Brasília, 2005.
- [7] BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução nº 357** de 17/03/2005, Brasília, DF, 2005. Disponível em:
<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 27 abril 2009.
- [8] ANA – Agência Nacional de Águas. “*Legislação Nacional e Internacional.* Disponível em <http://www.ana.gov.br/Institucional/Legislacao/linksLegNacional2.asp>. Acesso em 04/03/2008.
- [9] GHISELLI, G. ***Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP).*** Tese de doutorado, UNICAMP, Campinas, 2006.
- [10] MARTINS, E. A. J., NOGUEIRA, M. M., OTOMO, J. I., COTRIM, M. E. B., BRITO, C. F., BELTRAME Jr., O., PIRES, M. A. F. Avaliação de alguns compostos orgânicos em amostras de água visando à caracterização do descarte de estações de tratamento de águas da Bacia Hidrográfica do Rio Ribeira de Iguape In: ***Proceedings of Environmental and Health World Congress.***Santos: COPEC – Council of researches in education and sciences, 2006. v.1. p.368 - 372
- [11] MARTINS, E. A. J., OTOMO, J. I., MARQUES, M.N., COTRIM, M. E. B., BRITO, C. F., BELTRAME Jr., O., PIRES, M. A. F. ***Estudo de pesticidas no descarte de estações de tratamento de águas da Bacia Hidrográfica do***

Rio Ribeira de Iguape In: Água: tratamentos e políticas públicas. Série Encontro das Águas.01 ed.Recife : UNICAP, 2007, v.04, p. 121-134.

- [12] BRITO, C. F., MARTINS, E. A. J., SOUZA, R. R., OTOMO, J. I., FURUSAWA, H. A., FERNANDES, D., COTRIM, M. E. B., PIRES, M. A. F. Estudo de compostos orgânicos persistentes em águas destinadas ao abastecimento público na região de Santo André, SP. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica. **In: Água: Gestão Integrada de Ambientes Costeiros e Impactos Ambientais**.1ª ed.Recife : UNICAP, 2009, v.5, p. 1-11.
- [13] OTOMO, J. I., MARTINS, E. A. J., SOUZA, R. R., FURUSAWA, H. A., PIRES, M. A. F. Avaliação de estrógenos nas águas destinadas ao abastecimento público na região do rio Paraíba do Sul, SP. **In: Anais do 2º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente-FIEMA**. Porto Alegre-RS: FIEMA, 2010. v.2010. p.1 – 8
- [14] SOUZA, R.R. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de disruptores endócrinos resultantes de atividades antrópicas nas águas da região do Rio Paraíba do Sul, SP**. Dissertação de Mestrado-IPEN/ USP, 2011.
- [15] BILA, D. M.; DEZOTTI, M. *Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências*. **Química Nova**, v. 30, n.3, p. 651-666, 2007.
- [16] RIBANI, M., et.al.. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.