

ANÁLISE DO EFEITO MATRIZ NA DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM EFLUENTE DOMÉSTICO

Daniely Maciel Araújo, Jéssica Beserra Alexandre, Gleiciely Lima Domingos

* Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará.

RESUMO

O desenvolvimento de métodos analíticos mais sensíveis nas últimas décadas possibilitou a análise de substâncias em concentrações traços ($\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1}), com isso os contaminantes emergentes começaram a ser estudados, os quais mesmo em concentrações baixas podem causar efeitos adversos ao ecossistema quando dispostos em matrizes ambientais. As possíveis consequências incluem a desregulação endócrina de animais, a criação de bactérias resistentes e a biocumulação. Se tornando assim uma preocupação crescente, visto que essas substâncias estão presentes na composição de fármacos, produtos de higiene pessoal e hormônios sendo consumidos frequentemente pela população. Nessa problemática esse estudo tem como finalidade desenvolver e validar um método analítico para identificar e quantificar os seguintes contaminantes emergentes: omeprazol, etinilestradiol, cafeína, diclofenaco e metronidazol na Estação de Tratamento de Efluente (ETE) – Pequeno Mondubim II, utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), sistema agilent, com detector de arranjos de diodos (DAD). Para o estudo do efeito matriz foi realizado curvas analíticas no solvente e na amostra de efluente tratado nas seguintes concentrações: 0,5 ppm; 0,75 ppm; 1 ppm; 2,5 ppm; 5 ppm; 7,5; 10 ppm. Todos os fármacos apresentaram boa linearidade com coeficientes de correlação acima de 0,99. A amostra apresentou forte influência sobre os compostos em estudo aumentando a intensidade do sinal, mostrando que para a análise cromatográfica desses ativos há necessidade da utilização da curva de calibração realizada com o efluente doméstico.

PALAVRAS-CHAVE: Efeito Matriz; Fármacos; CLAE-DAD.

INTRODUÇÃO

Há uma preocupação crescente na presença de produtos farmacêuticos e hormônios no meio ambiente já que são contaminantes com risco potencial em induzir efeitos adversos no ecossistema, na saúde dos seres humanos e dos animais. Algumas possíveis consequências são os efeitos negativos de desreguladores em peixes, estímulo para geração de bactérias resistentes pelo contato com antibióticos no meio ambiente, além da biomagnificação a partir do consumo dos animais que foram expostos aos contaminantes (RICHARDSON E THERNE 2018).

Segundo Richardson e Therne 2018: Cerca de 3000 compostos diferentes são usados como ingredientes em produtos farmacêuticos, incluindo analgésicos, antibióticos, esteróides, antidiabéticos, betabloqueadores, contraceptivos, reguladores lipídicos, antidepressivos e drogas ilícitas, impotentes e citostáticas.

Alguns desses compostos derivados de produtos farmacêuticos mencionados acima, incluindo os produtos de higiene pessoal, pesticidas, compostos perfluorados, subprodutos de desinfecção, nanomateriais e microplásticos (DESBROW et al. 1998; MONTAGNER et al. 2019) são conhecidos como contaminantes ou (micro) poluentes emergentes, no qual são substâncias que têm sido detectados nos diferentes compartimentos ambientais, sendo eles tanto de origem antrópica quanto de ocorrência natural, não são comumente monitorados, porém serão candidatos a uma futura regulamentação dependendo dos resultados obtidos em estudos de ecotoxicidade, capacidade de bioacumulação, transporte, destino e concentração presente no ambiente.(MONTAGNER, VIDAL, ACAYABA 2017).

Poluentes emergentes são compostos encontrados em vários produtos comerciais, neste grupo de contaminantes estão incluídos os fármacos de diversas classes, produtos de higiene pessoal, produtos de uso veterinário, embalagem de alimentos e agrotóxicos, no qual são lançados em corpos hídricos ou na rede de esgotos. (DE SOUZA, MARIA E DE SOUZA, GREYCE, 2016).

Os poluentes emergentes não estão presentes nos programas de controle rotineiros, ou seja, não existe legislação que obrigue o tratamento de tais micropoluentes, porém os mesmos podem causar riscos ao ecossistema quando presentes no meio ambiente (MONTAGNER, VIDAL, ACAYABA, 2017). Os poluentes emergentes estão inseridos em amostras ambientais em concentrações traços (partes por bilhão e partes por trilhão) (MOHAMED E PALEOLOGOS, 2018), com isso é necessário utilizar métodos analíticos sensíveis para determinar esses compostos, logo a escolha da pré-concentração e a técnica analítica ideal é importante para obtenção de resultados satisfatórios. (MAGI et al. 2018)

A etapa de pré-concentração se torna necessária, pois apesar da existência de 3 técnicas hifenadas aperfeiçoadas, estes analitos encontram-se em concentrações abaixo dos limites de detecção destas técnicas. (EIROA et al. 2011; JÚNIOR et al., 2018)

Logo, o desenvolvimento de instrumentações analíticas e métodos analíticos mais sensíveis, que permitam identificar e quantificar compostos mesmo em baixas concentrações, os contaminantes emergentes, e dados sobre seus efeitos tem despertado o interesse da comunidade científica (GAFNEY et.al, 2013).

No desenvolvimento de novas metodologias para determinação de poluentes emergentes, o efeito matriz é um parâmetro de validação de suma importância, no qual em química analítica pode ser definido segundo a IUPAC, como: efeito combinado de todos os componentes da amostra, além do analito da medição da quantidade. O efeito matriz pode ser elevado, diminuindo ou aumentando o sinal do analito em amostras complexas como águas superficiais ou esgotos domésticos, principalmente quando é utilizado detectores com alta detectabilidade (DA SILVA E COLLINS, 2011).

O efeito matriz procura detectar possíveis interferências causadas por certas substâncias que compõem o analito ou pelo equipamento usado. Deve ser determinado por uma comparação entre as curvas de calibração feitas por um equipamento avaliando sua possível existência a partir da comparação entre as inclinações das curvas analíticas preparadas no solvente e no extrato da matriz (DA SILVA, 2016).

Para a maioria das análises farmacêuticas, a separação é obtida por partição dos componentes entre a fase móvel (FM) e a fase estacionária (FE), ou seja, utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de fase normal ou fase reversa. (ANVISA, 2010).

OBJETIVO

O presente trabalho tem o objetivo de analisar o efeito matriz na determinação dos seguintes fármacos: etinilestradiol, cafeína, diclofenaco, omeprazol e metranidazol em efluente doméstico utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo diodos (CLAE-DAD).

METODOLOGIA

O experimento em fluxo contínuo foi conduzido no Laboratório de Química Analítica (LQA) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará. A pesquisa foi desenvolvida com o efluente da estação de tratamento de esgoto (ETE) de responsabilidade da CAGECE, localizada no bairro Novo Mondubim II, na cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. A ETE opera em fluxo contínuo recebendo esgoto do tipo doméstico do conjunto habitacional Novo Mondubim II, com população de projeto de 3250 habitantes.

A estação contém tratamento preliminar, composto por gradeamento e Calha *Parshall*; em seguida o efluente é bombeado por uma estação elevatória para o tratamento denominado secundário que constitui um decanto-digestor do tipo *Imhoff* e filtros anaeróbios. O efluente analisado na pesquisa foi coletado logo após o sistema de decanto-digestor e filtro anaeróbio, sendo feita antes da cloração.

Foram utilizados os seguintes padrões: hormônios 17 α -etinilestradiol; Fármacos Diclofenaco - DCF, Metranidazol, Omeprazol e Cafeína obtidos da Sigma-Aldrich. As análises foram realizadas em sistema Agilent 1260, com as seguintes condições cromatográficas, FM: acetonitrila e água ultrapura acidificada (pH 3,0) com ácido acético glacial, FE: Coluna cromatográfica Agilent Zorbax C18, com dimensão de 250 x 4,6 cm de diâmetro interno e porosidade de 5 μ m. Comprimento de onda utilizado: 278 nm, fluxo de 1,2 mL min⁻¹, temperatura do forno mantida à 30 °C e volume de injeção 50 μ L, modo gradiente.

A referência utilizada para realização das curvas de calibração e avaliação do efeito matriz foi RDC nº 166/2017 2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2017) e o Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis do International Union Of Pure And Applied Chemistry (IUPAC, 2002).

determinação do efeito matriz foi realizada através da comparação entre os coeficientes angulares das curvas de calibração construídas com os padrões de cada fármaco rastreáveis as substâncias químicas de referência (SQR), em solvente e com amostra. A curva foi realizada nas seguintes concentrações 0,5 ppm; 0,75 ppm; 1 ppm; 2,5 ppm; 5 ppm; 7,5; 10 ppm. A temperatura utilizada foi a ambiente (28 \pm 2 °C). A equação utilizada para o cálculo do EM foi a seguinte:

$$EM = (bm-bs) \times 100 / bs$$

Onde: b_m = coeficiente angular da curva na matriz, b_s = coeficiente angular da curva no solvente e EM = Efeito Matriz.

RESULTADOS

De acordo com a metodologia utilizada foi realizado as curvas de calibração em Água Milli-Q e no efluente tratado da Estação de Tratamento do Pequeno Mondubim. A figura 1 mostra a curva de calibração no solvente e na matriz com os seus respectivos coeficientes de correlação (r^2) e equação da reta na matriz juntamente com o cálculo do Efeito Matriz (EM)

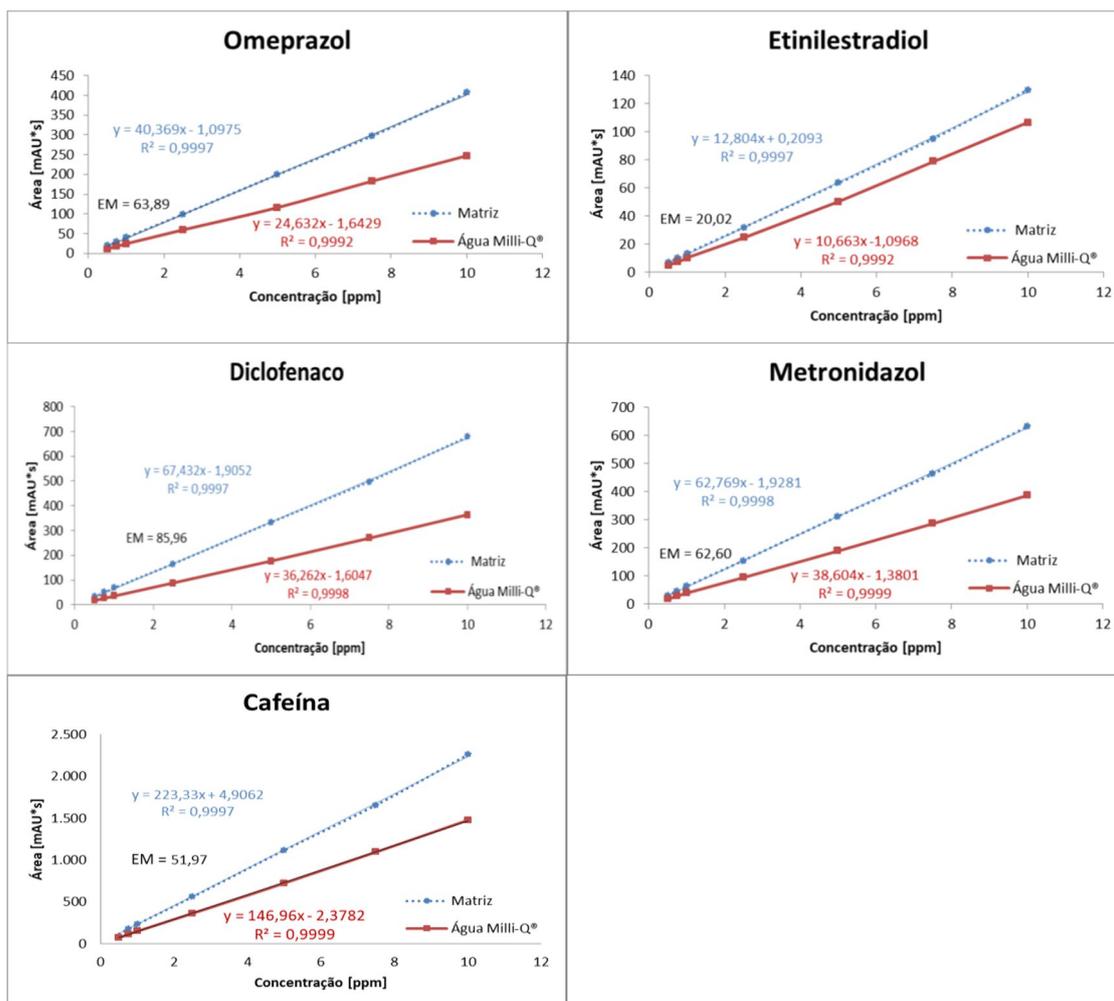


Figura 1: Curvas de calibração no solvente e na matriz com os seus respectivos coeficientes de correlação, equações da reta e cálculo do Efeito Matriz (EM).

De acordo com a Figura 1, observa-se que o valor do coeficiente de correlação (r^2) obtido em todas as curvas analíticas atendeu a RDC 166/17 em que o r^2 deve ser maior que 0,99. De acordo com Dayana dos Santos (2013) para que seja não seja determinado a existência de efeito matriz as relações devem respeitar o seguinte intervalo: $-10\% < EM < 10\%$, caso contrário determina-se que há efeito matriz. Então, podemos perceber pelo cálculo do EM de cada fármaco que a curva na matriz apresentou forte influência para os todos os compostos em estudo, aumentando o valor do sinal em todos os compostos quando é utilizado a amostra como solvente. A matriz apresentou maior influência no fármaco diclofenaco e menor influência no etinilestradiol, porém o cálculo do EM de todos os ativos estão acima de 10% portanto, é necessário utilizar a curva na matriz na determinação desses ativos em amostras ambientais em cada análise realizada visto o aumento da intensidade do sinal do analito quando os fármacos são diluídos com a matriz em estudo.

CONCLUSÃO

Neste trabalho foi comprovado o efeito matriz na amostra em estudo por meio da comparação das curvas analíticas dos ativos no solvente e no efluente tratado da ETE Pequeno Mondubim, as curvas analíticas apresentaram boa linearidade, todos os valores de EM foram maiores que 20, evidenciando a importância do estudo na determinação de substâncias químicas em amostras ambientais devido o aumento ou supressão do sinal do analito, podendo levar a resultados não confiáveis em análises químicas cromatográficas.

A busca por novas metodologias para minimizar ou anular o máximo da ação da amostra sobre as substâncias em estudo deve ser levado em consideração nesse caso, sendo uma alternativa para diminuir o efeito da amostra sobre o método utilizado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DA SILVA, C. G. A; COLLINS, C. H. **Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes.** Quim. Nova, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.
- DAYANA DOS SANTOS M. et al. **Matrix Effect on Butyltin Analysis of Sediments and Fish Tissues by GC-PFPD.** J. Braz. Chem. Soc., v. 24, n. 6, p. 998-1005, 2013.
- DE SOUZA, M. C. D. S. A; DE SOUZA, G. K. A. **Poluentes emergentes: um perigo silencioso par o meio ambiente e um desafio para as novas tecnologias de informação e comunicação.** RDU, Porto Alegre, v. 13, n. 72, p. 76-90, 2016.
- DESBROW, C., ROUTLEDGE, E. J., BRIGHTY, G. C., SUMPTER, J. P., WALDOCK, M., Environ. Sci. Technol. 1998, 32, 1549.
- GAFFNEY, V. D. J; CARDOSO, V. V; RODRIGUES, A; FERREIRA, E.; BENOLIEL, M. J; ALMEIDA, C. M. M. **Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS.** Quim. Nova, v. 37, n. 1, p. 138-149, 2014.
- Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Coordenação Geral de Acreditação. **Documento orientativo DOQ-CGCRE-008-Revisão 7: Orientação sobre a validação de métodos de ensaios químicos.** Rio de Janeiro/RJ: INMETRO, 2017.
- MONTAGNER, C. C., VIDAL, C., ACAYABA, R. D. **Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios.** Quim. Nova 40 (9) (2017) 1094–1110.
- MONTAGNER, C. C; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. **Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios.** Quim. Nova, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017.
- RICHARDSON, S. D., TERNES A. T. **Water Analysis: Emerging Contamians and Current Issues.** Analytical Chemistry 2018 90 (1), 398-428.
- VIDAL, C. B. **Desreguladores endócrinos presentes em matrizes ambientais: análise por spe-hplc e remoção com argila pilarizada.** 2015, 195p. Tese (Doutorado em Engenharia Civil-Saneamento Ambiental) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- MOHAMED, A.-M. O., PALEOLOGOS, E. K. **Emerging Pollutants: Fate, Pathways, and Bioavailability.** Fundamentals of Geoenvironmental Engineering. 2018 327–358.