

CAFEÍNA COMO TRAÇADOR ANTRÓPICO EM AMBIENTES AQUÁTICOS IMPACTADOS POR ÁREA URBANA

João Miguel Mercês Bega¹; Jefferson Nascimento de Oliveira² & William Deodato Isique³

RESUMO – O despejo de esgotos domésticos nos cursos de água representa uma das maiores fontes de poluição no âmbito urbano. Monitoramentos ambientais de qualidade da água, por meio de parâmetros físicos, químicos e biológicos, podem refletir os insumos gerados nas áreas de influência e dar indícios de prováveis fontes de poluição. No entanto, são as substâncias de uso exclusivamente antrópico que comprovam a existência do lançamento de tais cargas poluidoras. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo verificar a eficiência da utilização da cafeína como indicador de poluição pelo lançamento de esgotos domésticos em ambientes aquáticos impactados por área urbana. O método analítico usado para a identificação da cafeína foi a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC). Traços de cafeína foram encontrados em todas as amostras analisadas, nas quais as concentrações variaram de 0,01-7,80 mg.L⁻¹. Os maiores valores foram aferidos nos meses de maior precipitação mensal total, devido ao possível transbordamento e vazamento de esgotos domésticos. Por fim, o estudo inferiu a eficiência da cafeína como indicador desse tipo de poluição.

ABSTRACT– The discharge of domestic sewage into water courses represents one of the biggest sources of pollution in the urban sphere. Environmental monitoring of water quality, through physical, chemical and biological parameters, can reflect the inputs generated in the influence areas and provide evidence of likely sources of pollution. However, it is the substances for exclusively anthropic use that prove the existence of the release of such polluting charges. In this context, the present study aimed to verify the efficiency of the use of caffeine as an indicator of pollution by the release of domestic sewage in aquatic environments impacted by urban areas. The analytical method used to identify caffeine was High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Traces of caffeine were found in all samples analyzed, in which the concentrations varied from 0.01-7.80 mg.L⁻¹. The highest values were measured in the months with the highest total monthly rainfall, referring to the possible overflow and leakage of domestic sewage. Finally, the study inferred the efficiency of caffeine as an indicator of this type of pollution.

Palavras-Chave – HPLC. Compostos emergentes. Poluição da água.

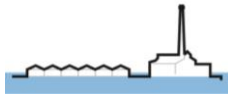
INTRODUÇÃO

O crescimento desordenado das grandes cidades brasileiras corrobora para que os cursos de água recebam elevada quantidade de esgoto, cenário agravado pela existência de ligações clandestinas frequentemente realizadas nas residências. Outros fatores também propiciam a deterioração dos ambientes aquáticos urbanos, a saber: degradação da vegetação ripária, aumento do consumo de água potável, despejo de resíduos sólidos nas margens e dentro dos cursos de água e a ineficiência dos sistemas de tratamento de esgoto (BEGA *et al.*, 2020). Ademais, existe o consumo de novos produtos

1) Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP), joaobega@usp.br

2) Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP), jefferson.nascimento@unesp.br

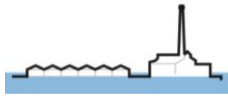
3) FEIS/UNESP, wisique@bol.com.br



lançados no mercado e o aumento da demanda por outros (IDE *et al.*, 2013). Novas substâncias químicas e não regulamentadas, antes não detectadas ou consideradas um risco ambiental, têm sido utilizadas em pesquisas científicas com o intuito de relacionar a sua presença ao despejo de esgotos domésticos nos cursos de água (MIZUKAWA *et al.*, 2019). Tais substâncias são de grande preocupação, pois apresentam ocorrência extensiva, possível risco à saúde humana e potencial de toxicidade para o ambiente aquático (IDE *et al.*, 2013). Embora sejam encontradas em baixas concentrações, os seus efeitos aos organismos humanos não podem ser negligenciados, dado que algumas dessas substâncias exibem características acumulativas nos tecidos humanos (LIN *et al.*, 2010).

Atualmente, a legislação brasileira relativa à qualidade da água não aborda, sistematicamente, poluentes vinculados aos hábitos de consumo humano (e.g., cafeína), presentes nas águas residuárias (MIZUKAWA *et al.*, 2019). Desta forma, a escassez de informações sobre as fontes e o destino dos contaminantes impede avanços na política de proteção da água, uma vez que a identificação das origens da poluição desempenha papel fundamental na concepção e adoção de medidas adequadas (KURISSERY *et al.*, 2012). Por mais que tradicionalmente são utilizados parâmetros biológicos, físicos e químicos para determinar a qualidade das águas, os compostos emergentes (e.g., fármacos, pesticidas e cafeína) podem ser empregados como traçadores de atividades antrópicas. Por sua vez, a cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$) pode ser facilmente eliminada das estações de tratamento de esgoto, como demonstraram Froehner *et al.* (2011), com remoções próximas a 100%. Nos ambientes aquáticos, a principal fonte de cafeína é o esgoto. Assim, quando encontrada, certamente provém de esgoto não tratado (e.g., ligações clandestinas) (FERREIRA, 2005).

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é usada como estimulante, comumente encontrada em café, chás, refrigerantes e chocolates (IDE *et al.*, 2013), produtos consumidos diariamente pela maior parte da população. Ela também está presente em uma variedade de medicamentos e moduladores de apetite. Levando-se em consideração todas as fontes, o consumo médio *per capita* de cafeína é de aproximadamente 200 mg.dia⁻¹ (BARONE e ROBERTS, 1996). Ao ser consumida em diferentes produtos, a sua maior parte é metabolizada em teofilina, teobromina, paraxantina e ácido 1,3,7-trimetilúrico (REGAL *et al.*, 1998). Apenas uma pequena parcela permanece intacta após ser excretada (entre 0,5 e 10%) (BUERGE *et al.*, 2003), principalmente na forma de urina, chegando ao sistema de esgotamento sanitário (HUKKANEN *et al.*, 2005). Esse composto se decompõe sob condições naturais, como a exposição à radiação solar, com a taxa de decaimento podendo ser reduzida pela proteção da luz e pela refrigeração. Por fim, a sua taxa de meia-vida de 30 dias suporta o seu uso como indicador de fonte de poluição (PEELER, 2004).



Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do uso da cafeína como indicador de poluição pelo lançamento de esgotos domésticos em ambientes aquáticos impactados por área urbana.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área de estudo

A pesquisa foi realizada na cidade de Ilha Solteira (SP), localizada entre as coordenadas geográficas 20°38'44"S e 51°06'35"W, tendo a população de 25.144 habitantes, residente, em sua maioria, no perímetro urbano (23.506) (IBGE, 2012). A área territorial do município corresponde a 659,0 km², dos quais 4,3 km² pertencem à área urbana (IBGE, 2012). De acordo com a classificação de Köppen, o clima local caracteriza-se como semiúmido (Aw), marcado por estiagem no inverno e chuvas intensas no verão (ALVARES *et al.*, 2013). O índice pluviométrico da cidade é da ordem de 1.300 mm por ano, predominantemente concentrado no período de novembro a março (80%), e a temperatura média igual a 25,3°C (ALVARES *et al.*, 2013). A região de Ilha Solteira faz parte da Província Geomorfológica do Planalto Ocidental, apresentando relevo colinoso, representado pelas rochas sedimentares do Grupo Bauru, tendo as seguintes características dos solos predominantes: Latossolo Vermelho (rico em sesquióxido), Argiloso Vermelho Eutrífico, Argissolo Vermelho-Amarelo e Neossolo Quartzarênico (LIMA *et al.*, 2004; EMBRAPA, 2018).

A avaliação das concentrações de cafeína foi efetuada em um córrego urbano de primeira ordem (Sem Nome) inserido na sub-bacia do Córrego Sem Nome (3,47 km²), de forma a detectar a ausência ou a presença de esgotos domésticos nesse ambiente. No que lhe concerne, o córrego não se encontra enquadrado no licenciamento ambiental dos corpos de água superficiais (BRASIL, 2005). A Figura 1 apresenta a área de estudo e os pontos de amostragem (P1: 20°25'50"S e 51°20'08"W; P2: 20°25'60"S e 51°20'06"W), os quais foram escolhidos por apresentarem algumas características que indicaram estágio avançado de degradação do córrego (e.g., mau cheiro e falta de vegetação ripária), aferidas por meio de uma visita *in situ* antes do início da pesquisa.

Período e frequência de amostragem

As coletas foram realizadas durante o período de sete meses (dezembro de 2017 - junho de 2018), uma vez ao mês, sempre às 8h00, 14h00 e 19h00, a fim de contemplar a variação das concentrações de cafeína ao longo do dia e verificar os efeitos da sazonalidade. A metodologia adotada na coleta, transporte e armazenamento das amostras seguiu o que está descrito no “Guia nacional de coleta e preservação das amostras – água, sedimentos, comunidades aquáticas e efluentes líquidos” (CETESB, 2011).

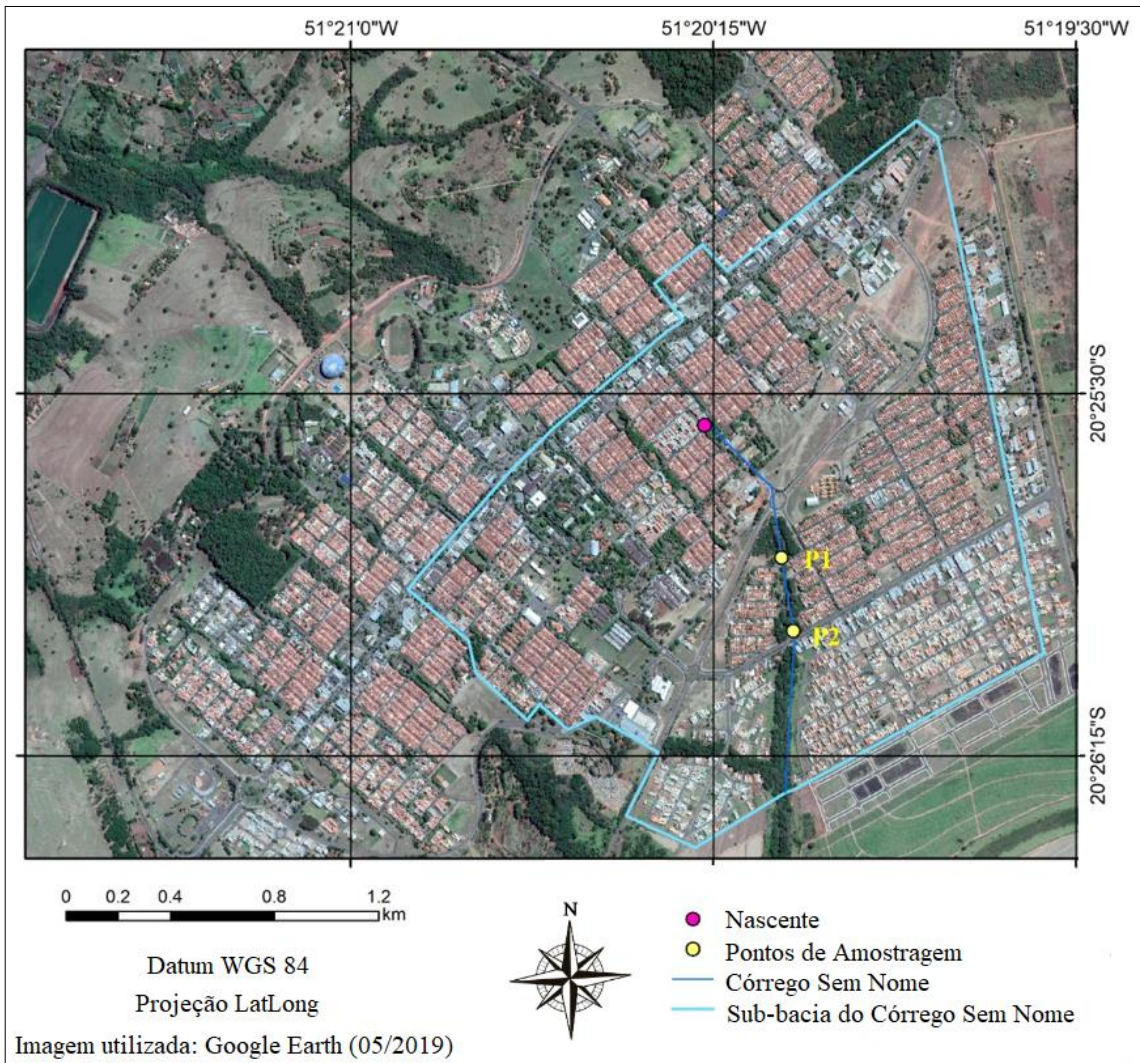
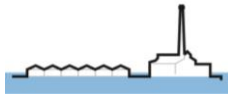
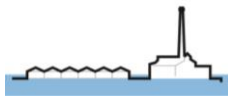


Figura 1 – Sub-bacia do Córrego Sem Nome e localização dos pontos de amostragem

Análise das concentrações de cafeína

O procedimento empregado na preparação das amostras de água do córrego para estimativa da cafeína foi o da microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME). As vantagens da técnica utilizada são: *i*) simplicidade de operação; *ii*) alta eficiência de extração; *iii*) rapidez; e *iv*) baixo custo (MARTINS *et al.*, 2012). Para a sua realização, seguiu-se o método proposto por Martins *et al.* (2012). Em relação à identificação da cafeína, utilizou-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC – Shimadzu), provido de duas bombas (LC-20AT e LC-20AD), um injetor Rheodyne (Rohnert Park, CA, USA) munido de uma válvula do tipo loop de 20 mL, um detector SPD-M20A (Prominence Diode Array Detector) (comprimento de onda: 222 nm) e o software LCsolution. A coluna cromatográfica usada foi: Column Zorbax ODS C18 (150 mm x 4.6 mm ID, partículas de 5,0 µm).

A eluição de gradiente é utilizada na separação cromatográfica com a função de aumentar a força da fase móvel, principalmente quando dois solutos possuem variedade de fatores de retenção.



Os gradientes utilizados para as análises de cafeína (SRDJENOVIC *et al.*, 2008) estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Gradientes de eluição para a cafeína

| Gradiente | Cafeína | |
|--------------------------|----------------|-------------|
| | Tempo (minuto) | Fase móvel |
| MeOH | 0,01 | 10 |
| H ₂ O Milli-Q | 0,01 | 90 |
| MeOH | 8,00 | 90 |
| H ₂ O Milli-Q | 8,00 | 10 |
| MeOH | 9,00 | 90 |
| H ₂ O Milli-Q | 9,00 | 10 |
| MeOH | 10,00 | 10 |
| H ₂ O Milli-Q | 10,00 | 90 |
| MeOH | 11,00 | Finalização |

H₂O Milli-Q acidificada com ácido trifluoracético (0,01% v/v), MeOH: metanol.

O método empregado para elaborar a curva analítica foi o da junção entre os limites de detecção (LD: 0,055 µg. L⁻¹) e de quantificação (LQ: 0,17 µg. L⁻¹). A curva analítica da cafeína foi obtida por meio de uma solução contendo 100 mg. L⁻¹. A partir desta, foi executada a diluição na proporção de 1:1, obtendo-se as concentrações desejadas de 50, 25, 12,5 e 6,5 mg. L⁻¹ (R² = 0.9972).

Os perfis cromatográficos constituem os resultados da análise cromatográfica. Eles permitem fazer a identificação e a quantificação dos picos cromatográficos (e.g., fármacos e outros compostos orgânicos ou não) que estão presentes nas amostras. A confirmação dos compostos orgânicos somente pode ser feita pela análise do seu perfil espectrofotométrico. Os perfis cromatográfico e espectrofotométrico para a cafeína, realizados por meio da cromatografia qualitativa em amostras do córrego Sem Nome, encontram-se apresentados nas Figuras 2A e 2B, respectivamente.

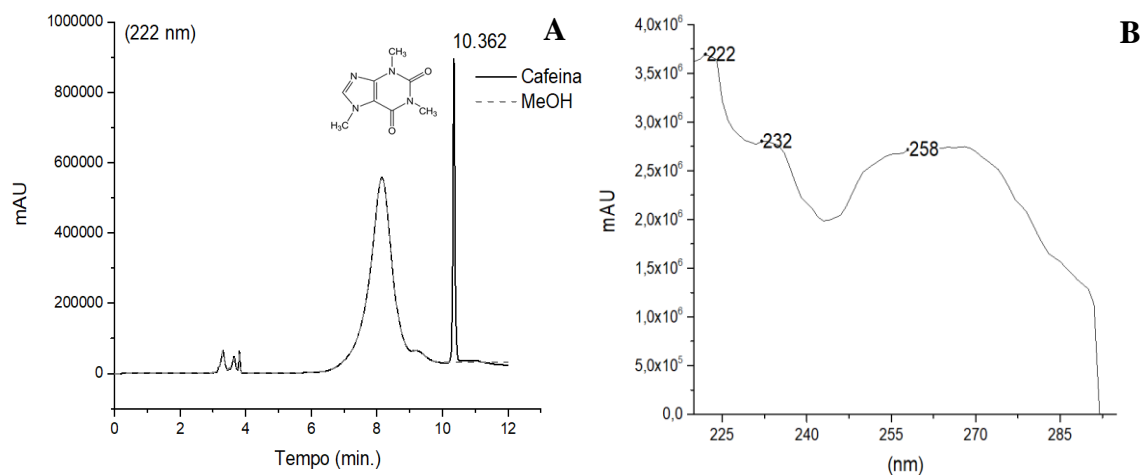
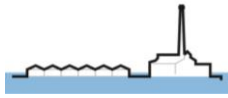


Figura 2 –Perfis (A) cromatográfico e (B) espectrofotométrico da cafeína



RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de cafeína obtidas para os pontos P1 e P2 estão apresentadas na Figura 3. Para uma melhor organização e compreensão dos resultados, foi adotado que A, B e C se referem aos períodos da manhã, tarde e noite, respectivamente. Desta forma, por exemplo, P1A diz respeito ao ponto P1 no período da manhã.

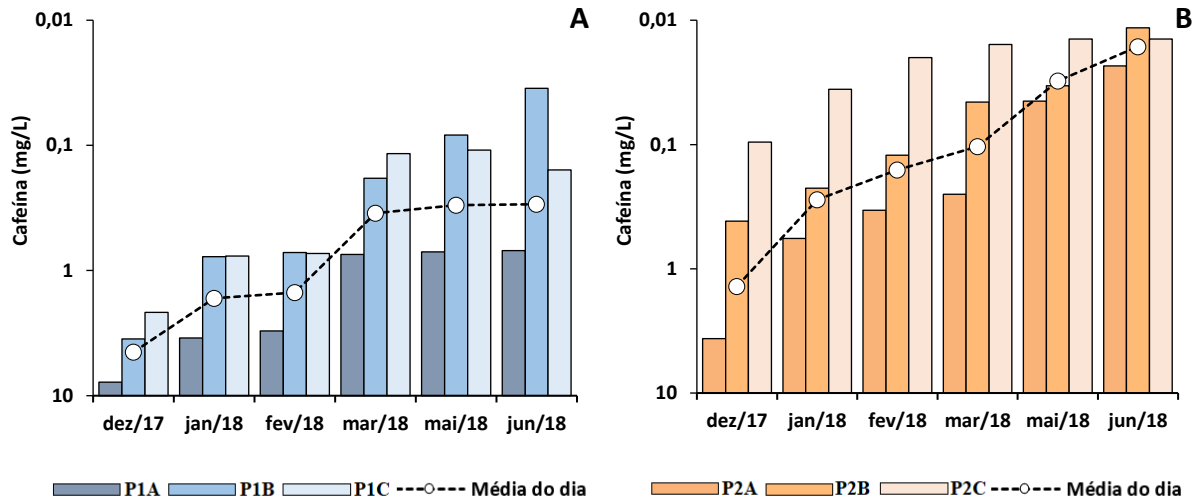
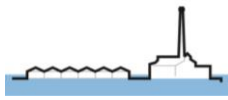


Figura 3 – Variação das concentrações de cafeína no córrego Sem Nome ao longo do dia nos pontos de amostragem P1 (A) e P2 (B)

A cafeína foi identificada em todas as amostras. Os valores entre os períodos da manhã, tarde e noite variaram, respectivamente, de 0,69-7,80 mg.L⁻¹, 0,04-3,51 mg.L⁻¹ e 0,11-2,15 mg.L⁻¹, para o ponto P1, e de 0,02-3,65 mg.L⁻¹, 0,01-0,41 mg.L⁻¹ e 0,01-0,10 mg.L⁻¹, para o ponto P2. As concentrações mais altas foram obtidas no ponto P1, chegando a 7,80 mg.L⁻¹. Nos meses de dezembro (2017), janeiro e fevereiro (2018) foram mensuradas as maiores concentrações no período avaliado, correspondentes às férias escolares e festividades (e.g., natal e carnaval). Por conseguinte, os efluentes domésticos gerados podem ser maiores, dado que a permanência de pessoas em estabelecimentos públicos e empresariais diminui (i.e., locais de trabalho e estudo). Tais localidades possuem fiscalização mais rígida, assim, difícil de contar com ligações clandestinas. Além disso, cinco metros a montante do ponto P1 existe uma galeria de drenagem pluvial, a qual pode estar despejando esgotos domésticos. Portanto, não há tempo suficiente para que ocorra a dispersão desse composto.

Em todos os meses monitorados a parte da manhã sempre apresentou as maiores concentrações. No mês de dezembro, por exemplo, os valores obtidos nos períodos da manhã e noite foram de 3,65 mg.L⁻¹ e 0,10 mg.L⁻¹ (P2), respectivamente. Destaca-se que a diferença pode existir devido ao hábito da população da sub-bacia de consumir café e gerar efluentes em maior quantidade no período da



manhã, resultando na elevação da concentração de cafeína no horário da coleta (i.e., 8h00). No período da noite foram verificadas as menores concentrações e os dados foram mais homogêneos em relação aos outros períodos, principalmente no ponto P2. Em termos sazonais, as maiores concentrações foram aferidas nos meses referentes à estação chuvosa (i.e., dezembro-fevereiro) (Figura 4). Os valores verificados nesse período podem inferir a ocorrência de vazamento e transbordamento de esgotos domésticos. Sankararamakrishnan e Guo (2005) também relataram que as concentrações de cafeína aumentaram na saída de galerias de água pluvial localizadas ao longo de um rio norte-americano durante períodos chuvosos, o que indicou a existência de ligações clandestinas e transbordamento de efluentes domésticos.

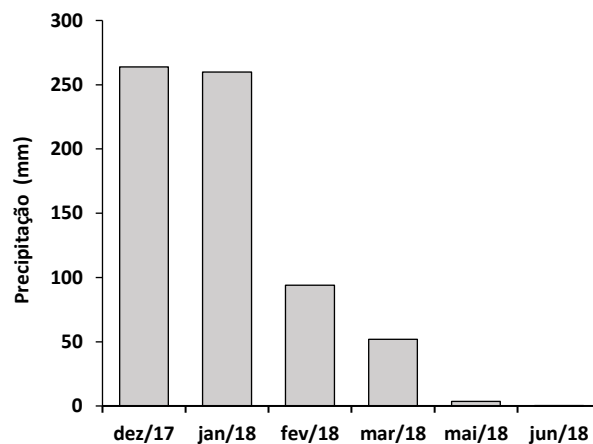
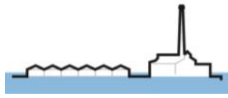


Figura 4 – Precipitação mensal total (mm) no município de Ilha Solteira (SP) entre dezembro de 2017 e junho de 2018 (Elaborada pelos autores com dados retirados do CLIMA FEIS: clima.feis.unesp.br)

Ide *et al.* (2013) encontraram concentrações de cafeína de até $20,13 \mu\text{g.L}^{-1}$ no Rio Palmital, localizado na Bacia do Alto Iguaçu, inferiores às concentrações mensuradas na presente pesquisa (i.e., da ordem de mg.L^{-1}). Os autores destacaram que o local que apresentou os maiores valores se encontra em uma região de moradias irregulares, desprovido de vegetação ripária e com a existência de despejo de efluentes domésticos sem nenhum tipo de pré-tratamento. Para uma região menos povoada da mesma bacia, os valores foram menores, chegando a no máximo $8,90 \mu\text{g.L}^{-1}$. Ferreira (2005) identificou na Baía de Guanabara a presença de cafeína em concentrações de $160\text{-}357 \mu\text{g.L}^{-1}$, ressaltando que os dados inferiram claramente problemas com a qualidade da água. Gonçalves *et al.* (2017) encontraram, para um rio brasileiro de uma cidade de médio porte, concentrações de cafeína na faixa de $0,16\text{-}47,5 \mu\text{g.L}^{-1}$. As menores concentrações foram aferidas em área de preservação ambiental, por outro lado, as maiores em áreas urbanas, com os valores mais altos no local de maior influência antrópica. Foi concluído que no Brasil, a poluição das águas superficiais nas áreas urbanas



envolve, entre outros fatores, a descarga inadequada de efluentes domésticos e o crescimento demográfico.

Os resultados obtidos nessa pesquisa confirmaram a existência de ligações clandestinas em residências do município de Ilha Solteira (SP). Em razão de sua procedência, quando encontrada, a cafeína indica que no meio existe o despejo de esgotos domésticos.

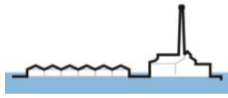
CONCLUSÕES

Em todas as amostras avaliadas a cafeína foi detectada. As maiores concentrações foram obtidas no período chuvoso, referente ao transbordamento e vazamento de esgotos domésticos. O presente trabalho suporta o seu uso como indicador da presença de efluentes domésticos nos cursos de água impactados por área urbana. Para tais ambientes, esse composto pode servir como ferramenta para os gestores em virtude da eficiência nos resultados, uma vez que o seu uso é exclusivamente antrópico. A cafeína comprovou a existência de ligações clandestinas em residências de Ilha Solteira (SP).

AGRADECIMENTOS - Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado do autor João Miguel Merces Bega.

REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A. *et al.* (2013). “Köppen's climate classification map for Brazil”. *Meteorologische Zeitschrift* 22(6), pp. 711 - 728.
- BARONE, J. J.; ROBERTS, H. R. (1996). “Caffeine consumption”. *Food and Chemical Toxicology* 34, pp. 119 - 29.
- BEGA, J. M. M. *et al.* (2020). “Avaliação dos parâmetros químicos de qualidade da água em um ecossistema aquático lótico”. *Fórum Ambiental da Alta Paulista* 16, pp. 73 - 84.
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). (2005) *Resolução n° 357/05*. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional. Brasília, SEMA.
- BUERGE, I. J. *et al.* (2003). “Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface Waters”. *Environmental Science & Technology* 37(4), pp. 691 - 700.
- Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB. (2011). *Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos*. Organizadores: Carlos Jesus Brandão *et al.* São Paulo: CETESB; Brasília, DF: ANA, 326 p.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. (2018). *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. Brasília – DF, 355 p.



- FERREIRA, A. P. (2002). “Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems”. *Caderno de Saúde Pública* 21(6), pp. 1884 - 1892.
- FROEHNER, S. *et al.* (2011). “Removal capacity of caffeine, hormones, and bisphenol by aerobic and anaerobic sewage treatment”. *Water, Air, and Soil Pollution* 216, pp. 463 – 471.
- GONÇALVES, E. S. *et al.* (2017). “The use of caffeine as a chemical marker of domestic wastewater contamination in surface waters: seasonal and spatial variations in Teresópolis, Brazil”. *Ambiente & Água* 12(2), pp. 192 – 202.
- HUKKANEN, J. *et al.* (2005). “Metabolism and disposition kinetics of nicotine”. *Pharmacological Reviews* March 57(1), pp. 79 - 115.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (2012). *Censo demográfico 2010: Resultados gerais da amostra*. Rio de Janeiro - RJ.
- IDE, A. H. *et al.* (2013). “Utilização da cafeína como indicador de contaminação por esgotos domésticos na Baía do Alto Iguaçu”. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos* 18(2), pp. 201-211.
- KURISSERY, S. *et al.* (2012). “Caffeine as an anthropogenic marker of domestic waste: a study from Lake Simcoe watershed”. *Ecological Indicators* 23, pp. 501 - 508.
- LIMA, E. A. C. F. *et al.* (2004). “Uso atual da terra no município de Ilha Solteira, SP, Brasil: riscos ambientais associados”. *Holos Environment* 4, pp. 81 - 96.
- LIN, A. Y. *et al.* (2010). “Potential for biodegradation and sorption of acetaminophen, caffeine, propranolol and acebutolol in lab scale aqueous environments”. *Journal of Hazardous Materials* 183, pp. 242 - 250.
- MARTINS, M. L. *et al.* (2012). “Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações”. *Scientia Chromatographica* 4(1), pp. 35 - 51.
- MIZUKAWA, A. *et al.* (2019). “Caffeine as a chemical tracer for contamination of urban rivers”. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos* 24.
- PEELER, K. A. (2004). “Caffeine as an anthropogenic source indicator in freshwater and marine systems”. (Thesis of Master in Oceanography). The Florida State University, 132 p.
- REGAL, K. A. *et al.* (1998). “Subnanomolar quantification of caffeine's in vitro metabolites by stable isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry”. *Journal of Chromatography* 708, pp. 75 - 85.
- SANKARARAMAKRISHNAN, N.; GUO, Q. (2005). “Chemical tracers as indicator of human fecal coliforms at storm water outfalls”. *Environment International* 31(8), pp. 1133 - 1140.
- SRDJENOVIC, B. *et al.* (2008). “Simultaneous HPLC determination of caffeine, theobromin, and theophylline in food, drinks, and herbal products”. *Journal of Chromatographic Science* 46, pp. 144 - 149.