

XI SIMPÓSIO DE RECURSOS HIDRÍCOS DO NORDESTE

IDENTIFICAÇÃO DE INTERFERENTES ENDÓCRINOS/FTALATOS EM EFLUENTES DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO DE PERNAMBUCO POR LC/MS-MS

Rogério F. Silva¹; Gilson L. Silva¹; Paula T. S. Silva² & Valdinete L. Silva¹

RESUMO – A presença de micropoluentes ainda não legislados, conhecidos como contaminantes emergentes, é uma grande preocupação da comunidade científica no mundo inteiro. Com o advento do desenvolvimento e do crescimento populacional, a disposição destes compostos aumentou significativamente, de modo que, passaram a ser identificados mais facilmente com a sofisticação atual de técnicas analíticas como o acoplamento da espectrometria de massa com a cromatografia. Estes estudos estão indicando que tais contaminantes são capazes de provocar efeitos adversos no sistema endócrino de humanos e de animais. Com base nesta problemática, este trabalho foi desenvolvido para investigar a presença de ftalatos, compostos utilizados como plastificantes e que estão incluídos na classe de interferentes endócrinos. Este estudo pioneiro no estado de Pernambuco foi realizado em quatro estações de tratamento de esgoto da região metropolitana do Recife e identificou-se dibutilftalato e dietilftalato em todas, tanto nos efluentes de entrada como nos de saída em nível de traço, através da técnica da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa.

ABSTRACT– The presence of micro pollutants not yet legislated, known as emerging contaminants, is a major concern of the scientific community worldwide. With the advent of development and population growth, the provision of these compounds has increased significantly, so that came to be identified more easily with the sophistication of current analytical techniques such as mass spectrometry coupled with chromatography. These studies are indicating that such contaminants are able to cause adverse effects on the endocrine system of humans and animals. Based on this problem, this work was to investigate the presence of phthalates, compounds used as plasticizers and are included in the class of endocrine disruptors. This pioneering study in the state of Pernambuco was conducted in four sewage treatment plants in the metropolitan area of Recife and identified diethyl phthalate and dibutyl phthalate in all, both in the effluent input and output in the trace level using the technique of chromatography liquid coupled to mass spectrometry.

Palavras-Chave – ftalatos, interferentes endócrinos, efluentes

INTRODUÇÃO

O estudo de micropoluentes orgânicos presentes em ambientes aquáticos é um dos campos mais proeminentes da área ambiental (Zafra-Gómez *et al.*, 2008). Esse estudo mostra que alterações estão ocorrendo na reprodução de animais e humanos e que compostos como dibutilftalato e

1) Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego s/n; Cidade Universitária - Recife, PE, CEP: 50670901, Brasil, (81) 85362181, glimasilva21@yahoo.com.br

2) Embrapa Semiárido, Br 428, Km 152, Zona Rural- Caixa Postal 23, Petrolina-PE, CEP: 56302970, Brasil

dietilftalato (Figura 1) pertencentes às classes dos plastificantes estão provocando efeitos adversos no sistema endócrino dos seres vivos. Esses micropoluentes muitas vezes são conhecidos como desreguladores endócrinos (DE), perturbadores endócrinos, interferentes endócrinos e, por último, estrogênio ambientais (Bila e Dezotti, 2007; Ghiselli e Jardim, 2007).

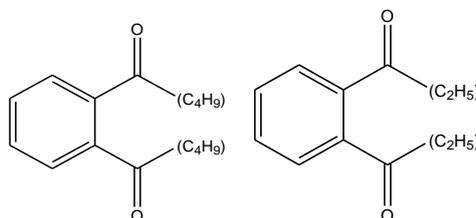


Figura 1 - Fórmulas estruturais do dibutilftalato e dietilftalato, respectivamente.

Os compostos selecionados neste trabalho são justificados pela grande presença de plásticos descartados inadequadamente nos corpos hídricos, que terminam por ação física da irradiação solar chegando às ETE. Foi avaliada a presença desses contaminantes em quatro estações de tratamento de esgoto (ETE) do estado de Pernambuco utilizando a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução com analisadores de massa por tempo de voo e armadilha de íons (LC-MS-MS/IT-TOF). As quatro ETE que foram estudadas são: Cabanga (responsável por grande parte do esgoto da zona sul do Recife), Caçote (responsável pelo Complexo Condominial Ignez Andreazza), Mangueira (responsável pelo bairro da Mangueira, Zona Oeste do Recife) e Jardim Paulista (responsável pelo bairro de Jardim Paulista, pertencente ao município do Paulista, Região Metropolitana de Recife), sendo que cada uma delas apresentam processos de tratamentos de efluentes diferentes, tratamento primário, lodo ativado, reator anaeróbico de fluxo ascendente mais lagoa de estabilização e lagoa aerada, respectivamente.

METODOLOGIA

Amostragem

As amostras de esgoto foram coletadas no período de agosto de 2010 a março de 2011 nos pontos de entrada e saída de quatro Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) da Região Metropolitana do Recife, nos bairros: Cabanga, Caçote, Mangueira e Jardim Paulista. As amostras foram coletadas em garrafas de polietileno, e mantidas a temperatura aproximada de 4°C. Foram coletados dois litros e congeladas a fim de preservá-las até o momento da filtração e extração. Os materiais e vidrarias utilizados na coleta e extração das amostras foram lavados com água, detergente, deixados por 24h em HNO₃(10%) e em seguida água deionizada. Na Tabela 1, encontram-se os pontos de amostragem e os tratamentos das respectivas ETE.

Tabela1: Pontos de amostragem e seus respectivos tratamentos de esgoto

ETE	Tipo de tratamento
ETE Cabanga	Tratamento primário
ETE Mangueira	Reator anaeróbio de fluxo ascendente mais Lagoa de estabilização
ETE Caçote	Lodo ativado
ETE Jardim Paulista	Lagoa Aerada

Extração dos Contaminantes Emergentes por Extração Líquido-Líquido (ELL)

As amostras foram inicialmente filtradas em membranas de 0,45µm para remoção de partículas em suspensão. Em seguida, foram transferidas para funis de separação com volume de 2 L e adicionou-se 60 mL de diclorometano (Merck). A mistura foi agitada vigorosamente por cerca de 2 minutos e deixada em repouso até a separação completa das fases. A fase orgânica foi passada por um funil contendo lã de vidro e sulfato de sódio anidro e recolhida em um balão de fundo chato e boca esmerilhada de 250 mL, adicionaram-se mais 60 mL de diclorometano e o procedimento foi repetido por mais uma vez totalizando um volume de 180 mL de extrato orgânico. O volume final de extrato obtido foi concentrado em rota-evaporador a $40 \pm 1^\circ\text{C}$. O extrato concentrado foi transferido para um balão de 5 mL e o volume foi aferido com metanol.

Análise por LC-MS-MS/IT-TOF

A amostra obtida após extração e concentração foi submetida à análise no LC-MS-MS/IT-TOF (*Shimadzu*). As condições cromatográficas estabelecidas foram: coluna Phenomenex Gemini C18, 3 µm, 50 x 2,1 mm, fase móvel (água e metanol grau HPLC), vazão da fase móvel 0,2 mL/min e volume de injeção 5 µL. Em relação ao espectrômetro de massa, a fonte de ionização utilizada foi ESI, fluxo de gás de nebulização N₂ igual a 1,5L/min, pressão do gás de secagem N₂ igual a 100 kPa, temperatura de interface - *curved dissolution time* (CDL) igual a 200°C, tempo de acumulação dos íons no octopolo de 50 ms, os espectros de massa foram adquiridos no modo negativo e positivo com varredura na faixa de 100-500 m/z. Inicialmente, injetava-se alguns padrões para sabermos o m/z do íon precursor e, com isso, pôde-se identificar a presença do contaminante na amostra.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Tabela 2, encontram-se as razões m/z dos padrões, calculado pelo programa *Formula Predictor* e só através deles pode-se iniciar o processo de identificação e caracterização dos esgotos.

Tabela 2: Resultados do m/z medido dos contaminantes emergentes

Composto	m/z medido	m/z calculado	Diferença (mDa)	Ionização
Dibutilftlato	279,1563	279,1597	3,4	+
Dietilftalato	245,0747	245,0750	0,3	+

As Figuras 2 e 3 apresentam os cromatogramas e os espectros de massa referente aos interferentes endócrinos quantificados das amostras coletadas. Tais cromatogramas e espectros foram obtidos pela injeção dos efluentes coletados nas ETE, logo após tratamento analítico, no equipamento LC-MS-MS/IT-TOF. Inicialmente, injetaram-se os padrões para verificação da massa e dos tempos de retenção dos compostos e, em seguida, as massas encontradas eram utilizadas para identificação.

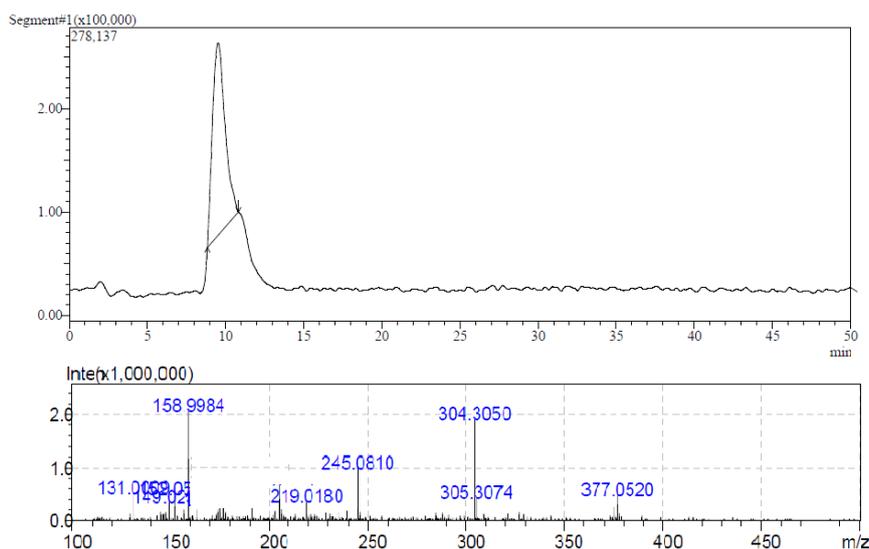


Figura 2: Cromatograma e espectro de massa do dietilftalato

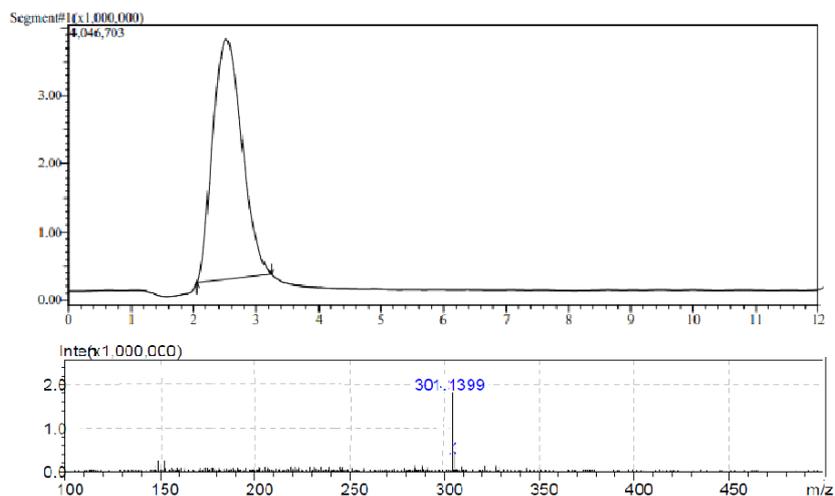


Figura 3: Cromatograma e espectro de massa do dibutilftalato

Dados analíticos e teste de recuperação

Na Tabela 3 encontram-se os dados analíticos das curvas de calibração os interferentes endócrinos quantificados e seus respectivos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), calculados por $LD = 3,3 \times (s/S)$ e $LQ = 10 \times (s/S)$, onde s é o desvio padrão da resposta da menor concentração e S é o coeficiente angular da curva de calibração.

Tabela 3: Dados analíticos para os contaminantes quantificados

Hormônio	Equação da reta	Regressão	LD ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)
Dibutilftalato	$A=1.10^8 C + 2.10^7$	0,96	0,014	0,042
Dietilftalato	$A=1.10^8 C + 2.10^7$	0,95	0,026	0,079

As curvas de calibração para todos os compostos foram preparadas em metanol e os pontos considerados foram: 0,05; 0,08; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8 e 1 mg.L^{-1} . A Figura 4 apresenta todas as curvas de calibração (concentração X área dos picos) dos compostos escolhidos para quantificação.

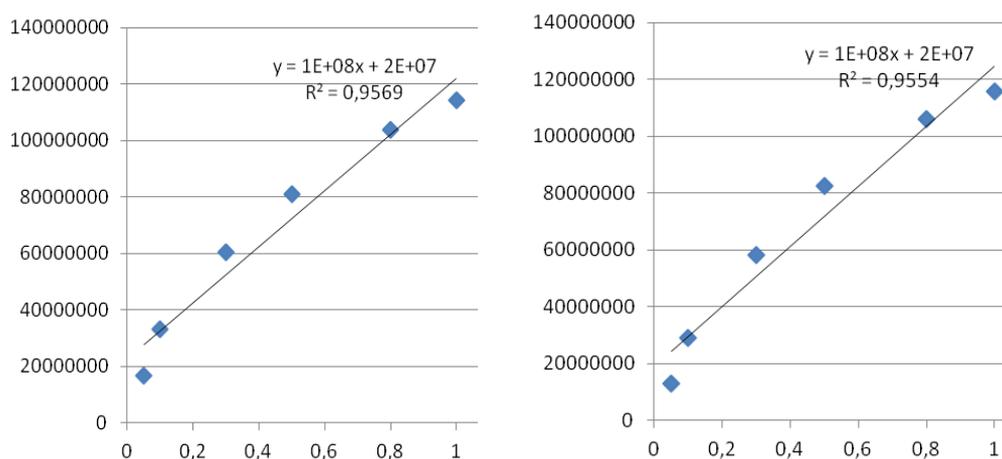


Figura 4: Curvas de calibração do dibutilftalato e dietilftalato, respectivamente.

As curvas apresentam coeficiente de correlação linear de acordo com o recomendado pelo (INMETRO, 2011), o qual indica valores maiores que 0,90.

A Tabela 4 apresenta os valores de quantificação dos interferentes endócrinos obtidos através do LC-MS-MS. As estações de tratamento estão representadas pelas letras “M”- Mangueira, “C” – Cabanga, “J”- Jardim Paulista e “CO” – Caçote, as letras “E” e “S”, representam se o efluente estudado é de entrada ou saída, e as letras “SF” aplicam-se somente a ETE Mangueira, pois se trata da saída final, uma vez que esta ETE possui duas saídas. A análise da tabela mostra que os plastificantes (dibutilftalato e dietilftalato) foram frequentemente encontrados nas diversas campanhas.

Tabela 4: Valores obtidos para quantificação dos contaminantes emergentes ($\mu\text{g.L}^{-1}$)

		Dibutilftalato	Dietilftalato
1ª Campanha	ME	< LQ	< LQ
	MS	< LQ	< LQ
	MSF	< LQ	< LQ
	CE	< LQ	< LQ
	CS	< LQ	< LQ
	JE	< LQ	< LQ
	JS	< LQ	< LQ
	COE	< LQ	< LQ
	COS	< LQ	< LQ
2ª Campanha	ME	< LQ	< LQ
	MS	< LQ	< LQ
	MSF	< LQ	< LQ
	CE	< LQ	< LQ
	CS	< LQ	< LQ
	JE	< LQ	< LQ
	JS	< LQ	< LQ
	COE	< LQ	< LQ
	COS	< LQ	< LQ
3ª Campanha	ME	< LQ	< LQ
	MS	< LQ	< LQ
	MSF	< LQ	< LQ
	CE	< LQ	< LQ
	CS	< LQ	< LQ
	JE	< LQ	< LQ
	JS	< LQ	< LQ
4ª Campanha	ME	< LQ	< LQ
	MS	< LQ	< LQ
	MSF	< LQ	< LQ
	CE	< LQ	< LQ
	CS	< LQ	< LQ
	JE	< LQ	< LQ
	JS	< LQ	< LQ
5ª Campanha	ME	< LQ	< LQ
	MS	< LQ	< LQ
	MSF	< LQ	< LQ
	CE	< LQ	< LQ
	CS	< LQ	< LQ
	JE	< LQ	< LQ
	JS	< LQ	< LQ
6ª Campanha	ME	< LQ	< LQ
	MS	< LQ	< LQ
	MSF	< LQ	< LQ
	CE	< LQ	< LQ
	CS	< LQ	< LQ
	JE	< LQ	< LQ
	JS	< LQ	< LQ

Análise dos Contaminantes Emergentes por Componentes Principais

A Tabela 5 apresenta a legenda do gráfico dos *scores* utilizado para análise por componentes principais (CP). Os símbolos representam a ETE, o ponto de amostragem, e a campanha.

Tabela 5: Legenda dos símbolos utilizados para explicar as ACP.

Símbolos	Significado
ME1, MS1 e MSF1	ETE Mangueira – entrada, saída e saída final – 1ª campanha
CE2 e CS2	ETE Cabanga – entrada e saída – 2ª campanha
JE3 e JS3	ETE Jardim Paulista – entrada e saída – 3ª campanha
COE1 e COS1	ETE Caçote – entrada e saída – 1ª campanha

Utilizou-se a análise por componentes principais (CP) para tratamento dos dados. Analisando as Figuras 5 e 6 dos *scores* e *loadings*, respectivamente, percebe-se que a CP1 e CP2 explica 100% das informações dos dados, sendo 92% da PC1 e 8 % da PC2. Mas, um fato importante pode ser levado em consideração no gráfico dos *scores*, que é a baixa eficiência dos tratamentos de esgoto adotados, constatou-se isto pela proximidade que existe entre entrada e saída das ETE de um modo geral.

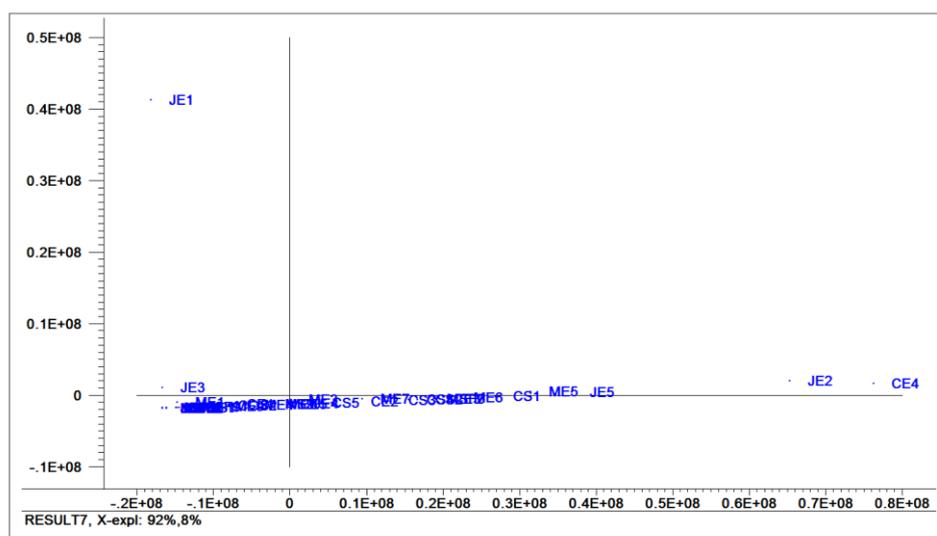


Figura 5: Análise de componentes principais *scores* das ETE estudadas

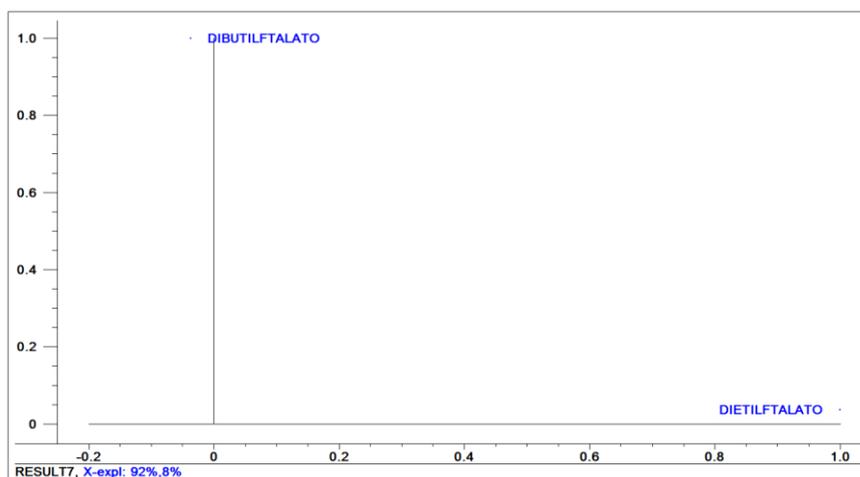


Figura 6: Análise de componentes principais *loadings* das ETE estudadas

Podemos observar, ao comparar o gráfico dos *scores* com o gráfico dos *loadings*, que os plastificantes, dibutilftalato e dietilftalato, apresentam os maiores valores de detecção na entrada da ETE Jardim Paulista e Cabanga nas primeiras campanhas, embora tenham sido detectados e não quantificados por possuírem concentração abaixo do limite de quantificação.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o dibutilftalato e o dietilftalato foram detectados pela técnica utilizada. Vale salientar que todos os contaminantes foram detectados tanto na entrada quanto na saída de cada ETE, a análise por componentes principais (PCA) ajudou a concluir que o tratamento de cada ETE estudada não é eficiente para remover os interferentes endócrinos objetos da pesquisa, pois algum resíduo resiste ao tratamento convencional e é lançado ao meio ambiente. Com a técnica empregada pode-se realizar o primeiro trabalho de identificação e quantificação dessa classe de compostos no estado de Pernambuco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELGIORNO, V.; RIZZO, L.; FATTA, D.; DELLA ROCCA, C.; LOFRANO, G.; NIKOLAOU, A.; NADDEO, V.; MERIC, S. (2007). "Review on endocrine disrupting-emerging compounds in urban wastewater: occurrence and removal by photocatalysis and ultrasonic irradiation for wastewater reuse", *Desalination*, 215, 166-176

BILA, D.M.(2005). *Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17β-Estradiol pelo Processo de Ozonização*, Tese de Doutorado, UFRJ/COPPE

BILA, D; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. *Química Nova*, v.30, n.3, p.656-666, 2007

GHISELLI, G e JARDIM, W. "Interferentes Endócrinos no ambiente", Química Nova, 30, 695-706, 2007

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2011

LEITE, G.S; AFONSO, R.J; AQUINO, S.F. (2010). *Caracterização de contaminantes presentes em sistemas de tratamento de esgotos, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em alta resolução*. Química Nova, v.33, p. 734-738

MONTAGNER, C. C. (2007). *Ocorrência de disruptores endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais na bacia do Rio Atibaia*. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 140

SODRÉ, F.F; MONTAGNER, C.C, LOCATELLI, M.A.F; JARDIM, W.F. (2007). *Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil)*. J. Braz. Soc. Ecotoxicol, v.2, n.2, p. 187-196

ZAFRA-GÓMEZ, A., BALLESTEROS, O., NAVALÓN, A., VÍLCHEZ, J. L. (2008). "Determination of some endocrine disrupter chemicals in urban wastewater samples using liquid chromatography-mass spectrometry." *Microchemical Journal*, 88(1), 87-94

AGRADECIMENTOS

CNPQ/INCTAA/DQF-UFPE