UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

RHANNANDA COPETTI PIVETTA

# CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE: DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS PSICOATIVOS EM EFLUENTE E ÁGUAS SUPERFICIAIS

CAMPINAS
2019

**RHANNANDA COPETTI PIVETTA**

# CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE: DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS PSICOATIVOS EM EFLUENTE E ÁGUAS SUPERFICIAIS

**Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Química na área de Química Analítica**

**Orientadora: Profa. Dra. Susanne Rath**

**O arquivo digital corresponde à versão final da Dissertação defendida pela aluna Rhannanda Copetti Pivetta e orientada pela Profa. Dra. Susanne Rath.**

**CAMPINAS**
**2019**

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Química
Camila Barleta Fullin - CRB 8462

P688c

Pivetta, Rhannanda Copetti, 1992
Contaminantes de preocupação emergente: determinação de fármacos psicoativos em efluente e águas superficiais / Rhannanda Copetti Pivetta. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Susanne Rath.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Antipsicóticos. 2. Águas superficiais. 3. Contaminantes emergentes. 4. Fármacos. 5. On-line SPE-UHPLC-MS/MS. I. Rath, Susanne, 1962-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Contaminants of emerging concern: determination of psychoactive drugs in effluents and surface waters
**Palavras-chave em inglês:**
Antipsychotic agents
Surface waters
Emerging contaminants
Drugs
On-line SPE-UHPLC-MS/MS
**Área de concentração:** Química Analítica
**Titulação:** Mestra em Química na área de Química Analítica
**Banca examinadora:**
Susanne Rath [Orientador]
Davi Gasparini Fernandes Cunha
Anne Helene Fostier
**Data de defesa:** 30-07-2019
**Programa de Pós-Graduação:** Química

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**
- ORCID do autor : 0000-0002-4770-7500
- Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/1332955523103727

**BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Susanne Rath (Orientador)

Prof. Dr. Davi Gasparini Fernandes Cunha (Universidade de São Paulo)

Profa. Dra. Anne Helene Fostier (IQ-Unicamp)

A Ata da defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida pela aluna Rhannanda Copetti Pivetta, aprovada pela Comissão Julgadora em 30 de julho de 2019.

# AGRADECIMENTOS

Agradeço à professora Susanne, pela oportunidade e, principalmente, pela paciência, confiança e orientação.

Agradeço aos meus amigos Caio e Rafael por toda ajuda, discussões e momentos de diversão. Agradeço as minhas amigas Tamires e Ana Clara, por todo apoio.

Agradeço ao Carson, pela paciência e dedicação. Agradeço à Alyne, por todos os momentos no laboratório e fora dele. Agradeço a Andreza por todo apoio técnico. Agradeço a todos do Laboratório de Bioanalítica Paracelsus.

Agradeço a Unicamp.

Agradeço ao INCTAA.

Agradeço ao CNPq (Processo 148534/2017-1) pelo financiamento de minha pesquisa.

Agradeço a FAPESP.

Agradeço a Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento (SANASA) pela disponibilização das amostras.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

# RESUMO

O uso de medicamentos contendo insumos farmacêuticos psicoativos tem crescido a nível mundial nas últimas décadas e, também, no Brasil. Esses fármacos, são de modo geral muito metabolizados e apenas uma pequena fração na forma original é excretada. No entanto, esses compostos são pouco removidos em estações de tratamento de esgoto convencionais e, uma vez lançados em corpos hídricos, podem impactar o ambiente. O objetivo desse trabalho foi avaliar a presença de fármacos psicoativos em águas superficiais e em cinco estações de tratamento de esgoto (ETE) da cidade de Campinas, São Paulo, Brasil. Para tanto, foram priorizados os fármacos psicoativos mais consumidos no Brasil e desenvolvido e validado um método analítico, empregando a extração em fase sólida *on-line* à cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (SPE-UHPLC-MS/MS), para determinar alprazolam, amitriptilina, bupropiona, carbamazepina, clonazepam, escitalopram, fluoxetina, nortriptilina, sertralina e trazodona. A concentração dos analitos foi realizada no sistema SPE *on-line*, utilizando uma coluna Oasis HLB e foram determinados os seguintes parâmetros: vazão da fase de carregamento da amostra (1,0 mL $min^{-1}$), tempo de carregamento da amostra (0,5 min), solvente de carregamento água:acetonitrila (80:20, v/v) e volume de injeção da amostra de 250 µL. A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna UPLC CSH C18, com fase móvel composta de 0,1% ácido fórmico em água:acetonitrila, e eluição em gradiente. O limite de quantificação do método foi de 50 ng $L^{-1}$ para todos os analitos. Para as amostras de água superficial foram detectadas concentrações máximas de 2.530 ng $L^{-1}$, 1.880 ng $L^{-1}$ e 90 ng $L^{-1}$ para carbamazepina, bupropiona e fluoxetina, respectivamente. Para as amostras das ETE foram detectados oito dos dez analitos priorizados, atingindo concentrações máximas no efluente tratado de 3.000 ng $L^{-1}$ para a carbamazepina, 1.136 ng $L^{-1}$ para o escitalopram, 185 ng $L^{-1}$ para a bupropiona e 145 ng $L^{-1}$ para a fluoxetina. Os processos empregados nas cinco estações de tratamento de esgoto não são suficientes para a remoção completa dos fármacos em estudo e técnicas de polimento adicionais são recomendadas.

# ABSTRACT

The use of drugs containing psychoactive pharmaceuticals has been growing worldwide over the last decades, and also in Brazil. These drugs are generally highly metabolized, and only a small fraction is excreted in its original form. Since these drugs are not completely removed in the conventional wastewater treatment plants, they have been spread into the surface water and may impact the environment. The objective of this work was to assess the presence of psychoactive pharmaceuticals in surface waters and five wastewater treatment plants (WWTP) located in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. For this purpose, the most consumed psychoactive drugs in Brazil were prioritized and an analytical method developed and validated employing on-line solid-phase extraction to ultra-high performance liquid chromatography coupled to sequential mass spectrometry (SPE-UHPLC-MS / MS), to determine the prioritized drugs (alprazolam, amitriptyline, bupropion, carbamazepine, clonazepam, escitalopram, fluoxetine, nortriptyline, sertraline and trazodone) in surface waters and five wastewater treatment plants (WWTP) located in the city of Campinas, São Paulo, Brazil. The concentration of the analytes was performed in the on-line SPE system using an Oasis HLB column, and the following parameters were determined: sample loading flow (1.0 mL $min^{-1}$), sample loading time (0.5 min), loading solvent: water:acetonitrile (80:20, v/v) and 250 µL sample injection volume. The chromatographic separation was done using a CSH C18 UPLC column, and a mobile phase consisting of 0.1% formic acid in water: acetonitrile under gradient elution. The limit of quantification of the method was 50 ng $L^{-1}$ for all the analytes. For the surface water samples, maximum concentrations of 2,530 ng $L^{-1}$, 1,880 ng $L^{-1}$ and 90 ng $L^{-1}$ were detected for carbamazepine, bupropion and fluoxetine, respectively. For the samples from the WWTP, eight of the ten prioritized analytes were determined in the treated effluent, reaching maximum concentrations of 3,000 ng $L^{-1}$ for carbamazepine, 1,136 ng $L^{-1}$ for escitalopram, 185 ng $L^{-1}$ for bupropion and 145 ng $L^{-1}$ for fluoxetine. The processes employed in the five WWTP are not sufficient for the complete removal of these drugs, and additional polishing techniques are recommended.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1 -** Estrutura molecular da iproniazida..... 20

**Figura 2 -** Estrutura molecular da imipramina..... 21

**Figura 3 -** Estrutura molecular geral dos benzodiazepínicos..... 22

**Figura 4 -** Resumo da rota dos fármacos no meio ambiente..... 26

**Figura 5 -** Esquema das unidades do sistema de lodo ativado. (Adaptado de SPERLING, 2005)..... 28

**Figura 6 -** Desenho esquemático de um reator UASB.(Adaptado de CAMPOS, 1999)..... 29

**Figura 7 -** Identificação dos pontos de coleta ao longo do Rio Atibaia, Ribeirão Anhumas e ETE..... 50

**Figura 8 -** Cromatogramas extraídos para os analitos em estudo. Coluna Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm) (cromatogramas A) e coluna Waters Acquity UPLC® BEH C18 (cromatogramas B). Solução Mix na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$. Fase móvel**:** $H_2O$ com 0,1% ácido fórmico: $CH_3OH$ (10:90, v/v) na BQ, vazão de 0,3 mL $min^{-1}$. Temperatura da coluna: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min..... 60

**Figura 9 -** Gráfico de área dos picos em função dos aditivos ácido fórmico ou formiato de amônio. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm), aditivo da fase móvel: 0,1% ácido fórmico ou 5 mmol $L^{-1}$ de formiato de amônio. Fase móvel: $H_2O$+aditivo:$CH_3CN$ (10:90 v/v). Vazão da fase móvel: 0,30 mL $min^{-1}$. Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min..... 61

**Figura 10 -** Posição das válvulas no modo SPE *on-line*, para o carregamento (A) e eluição (B) dos analitos. Figura adaptada de TETZNER, et al. (2016)..... 62

**Figura 11 -** Área dos picos em função da coluna de SPE *on-line*. Mix na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm), fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB com eluição isocrática (10:90, v/v). Vazão na BB: 0,3 mL $min^{-1}$. Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$ com eluição isocrática (10:90, v/v). Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min..... 63

**Figura 12 -** Área dos picos em função da proporção de $H_2O$ como solvente de carregamento. Mix na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$. Coluna de SPE *on-line* Waters Oasis HLB (2,1 x 30 mm x 10 µm). Coluna analítica Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm), fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB. Vazão na BB: 0,3 mL $min^{-1}$. Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$ com eluição isocrática (10:90, v/v). Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min..... 64

**Figura 13 -** Gráfico de área dos picos em função do volume de solvente utilizado para carregamento e limpeza da amostra na coluna de SPE *on-line* Waters Oasis

HLB (2,1 x 30 mm x 10 µm). Coluna analítica Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm), fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB. Vazão na BB: 0,3 mL $min^{-1}$. Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$ (80:20, v/v), eluição isocrática Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min..... 65

**Figura 14 -** Gráfico de área dos picos em função dos diferentes volumes de injeção de 10, 50, 100, 150, 200 e 250 µL. Coluna de SPE *on-line* Waters Oasis HLB (2,1 x 30 mm x 10 µm). Coluna analítica Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm), fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB. Vazão na BB: 0,30 mL $min^{-1}$. Gradiente de eluição: Inicial (75:25, v/v), 0,55 min (70:30, v/v), 3,0 min (30:70, v/v), 5,5 min (75:25, v/v). Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$, eluição isocrática (80:20, v/v). Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min..... 66

**Figura 15 -** Cromatogramas SRM característicos obtidos para os analitos em estudo e padrões internos na concentração de 3,0 µg $L^{-1}$. Coluna de SPE *on-line* Waters Oasis HLB. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18, fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB. Vazão na BB: 0,35 mL $min^{-1}$. Gradiente de eluição: Inicial (75:25 v/v), 0,55 min (70:30 v/v), 3,0 min (30:70 v/v), 5,5 min (75:25 v/v). Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$, eluição isocrática (80:20, v/v). Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 200 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 6 min..... 68

**Figura 16 -** Curvas analíticas para os psicoativos de interesse, com seus respectivos gráficos de resíduos..... 70

**Figura 17 -** Resultados em box-plot da concentração dos IFA psicoativos no esgoto bruto e tratado das ETE avaliadas..... 94

# LISTA DE TABELAS

**Tabela 1 –** Parâmetros físico-químicos dos psicoativos em estudo..... 23
**Tabela 2 –** Estruturas químicas dos psicoativos empregados neste trabalho. 24
**Tabela 3 –** Ocorrência de psicoativos avaliados nesse trabalho em matrizes aquosas..... 31
**Tabela 4 –** Limites de quantificação, preparo de amostras e técnica analítica para a determinação de psicoativos em matrizes ambientais..... 38
**Tabela 5 –** Dados sobre as estações de tratamento de efluentes..... 51
**Tabela 6 –** Dados de consumo dos 25 psicoativos mais consumidos no Brasil. 54
**Tabela 7 –** Valores atribuídos para o ranqueamento..... 55
**Tabela 8 –** Dados empregados para a classificação dos psicoativos com os dez primeiros destacados em azul..... 56
**Tabela 9 –** Parâmetros de operação do espectrômetro de massas..... 58
**Tabela 10 –** Parâmetros de validação para cada analito ..... 74
**Tabela 11 –** Parâmetros físico-químicos das águas superficiais dos pontos de coleta do do Rio Atibaia (P1 a P7) e Ribeirão Anhumas (P8)..... 75
**Tabela 12 –** Concentração dos analitos determinados nas amostras de água superficial do Rio Atibaia (P1 a P7) e Ribeirão Anhumas (P8) e apresentação das concentrações mínima, máxima, mediana e frequência de ocorrência..... 76
**Tabela 13 –** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE A, e apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção..... 80
**Tabela 14 –** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE B, e apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção..... 82
**Tabela 15 –** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE C, e apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção..... 85
**Tabela 16 –** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE D, e apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção..... 88

**Tabela 17 –** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE E, e apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção..... 91
**Tabela 18 –** Dados de PEC e MEC para ETE A..... 100
**Tabela 19 –** Dados de PEC e MEC para ETE B..... 101
**Tabela 20 –** Dados de PEC e MEC para ETE C..... 102
**Tabela 21 –** Dados de PEC e MEC para ETE D..... 103
**Tabela 22 –** Dados de PEC e MEC para ETE E..... 104

# LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| **ADT** | Antidepressivos tricíclicos |
| **AMT** | Amitriptilina |
| **ANVISA** | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| **APZ** | Alprazolam |
| **BB** | Bomba binária |
| **BP** | Bupropiona |
| **BQ** | Bomba quaternária |
| **CMZ** | Carbamazepina |
| **CNZ** | Clonazepam |
| **CPE** | Contaminante de preocupação emergente |
| **CV** | Coeficiente de variação |
| **ESC** | Escitalopram |
| **ESI** | Ionização por eletronebulização |
| **ETE** | Estação de tratamento de esgoto |
| **FLX** | Fluoxetina |
| **GC-MS/MS** | Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas sequencial |
| **IFA** | Insumo farmacêutico ativo |
| **IMAO** | Inibidor da enzima monoaminooxidase |
| **IRSA** | Inibidores de recaptura de serotonina e antagonistas ALFA – 2 |
| **ISRD** | Inibidores seletivos de recaptura de dopamina |
| **ISRN** | Inibidores seletivos de recaptura de noradrenalina |
| **ISRS** | Inibidores seletivos de recaptura de serotonina |
| **ISRSN** | Inibidores seletivos de recaptura de serotonina-noradrenalina |
| **Koc** | Constante de sorção normalizada para o teor de carbono orgânico |
| **Kow** | Coeficiente de partição octanol-água |
| **LC** | Cromatografia líquida |
| **LC-MS/MS** | Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial |
| **LOD** | Limite de detecção |
| **LOQ** | Limite de quantificação |

| | |
|---|---|
| **MEC** | Concentração medida no ambiente |
| **MS** | Espectrometria de massas |
| **NT** | Nortriptilina |
| **PEC** | Concentração previsível no ambiente |
| **pKa** | Logaritmo da constante de acidez |
| **SANASA** | Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento |
| **SER** | Sertralina |
| **SPE** | Extração em fase sólida |
| **SEM** | Monitoramento de reações selecionadas |
| **TZ** | Trazodona |
| **UASB** | Reator anaeróbio de fluxo ascendente |
| **UHPLC-MS/MS** | Cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial |
| **WHO** | Organização Mundial de Saúde |

# Sumário

1 – Revisão Bibliográfica ..... 17

1. Introdução ..... 18

1.1. Contaminantes de preocupação emergente ..... 18

1.2. Fármacos psicoativos ..... 19

1.2.1. Antidepressivos ..... 19

1.2.2. Ansiolíticos ..... 22

1.2.3. Estabilizadores de humor e anticonvulsivantes ..... 23

1.3. Propriedades físico-químicas dos psicoativos ..... 23

1.4. Fontes de contaminação para o ambiente ..... 24

1.4.1. Estações de tratamento de esgoto ..... 26

1.5. Ocorrência de antidepressivos no ambiente ..... 29

1.6. Toxicidade de psicoativos no ambiente ..... 32

1.7. Previsão da concentração de psicoativos no ambiente ..... 34

1.8. Métodos empregados para a determinação de fármacos no ambiente ..... 36

1.9. Motivação para o desenvolvimento desta dissertação ..... 39

2 – Objetivos ..... 41

3 – Materiais e métodos ..... 43

3.1. Priorização dos fármacos ..... 44

3.2. Equipamentos e colunas cromatográficas ..... 44

3.3. Reagentes, solventes e padrões analíticos ..... 45

3.4. Determinação das condições do espectrômetro de massas sequencial ..... 46

3.5. Determinação das condições cromatográficas (UHPLC-MS/MS) ..... 46

3.5.1. Avaliação da fase estacionária e fase móvel ..... 46

3.5.2. Determinação dos parâmetros do SPE on-line ..... 47

3.6. Validação do método SPE-UHPLC-MS/MS ..... 47

3.6.1. Faixa linear e linearidade ..... 47

3.6.2. Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) ..... 48
3.6.3. Precisão... ..... 48
3.6.4. Exatidão... ..... 48
3.7. Monitoramento de fármacos psicoativos em águas superficiais ..... 49
3.8. Monitoramento de fármacos psicoativos em estações de tratamento de efluentes ..... 50
4 – Resultados e discussões ..... 52
4.1. Priorização dos fármacos ..... 53
4.2. Determinação das condições do espectrômetro de massas sequencial ..... 57
4.3. Determinação das condições cromatográficas ..... 59
4.4. Determinação dos parâmetros do SPE *on-line* ..... 62
4.4.1. Avaliação da fase sorvente da coluna de SPE *on-line* ..... 63
4.4.2. Avaliação do volume de solvente para o carregamento da amostra ..... 65
4.4.3. Avaliação do volume de injeção da amostra ..... 66
4.5. Validação do método ..... 69
4.5.1. Faixa linear e linearidade ..... 69
4.6. Monitoramento de fármacos psicoativos em águas superficiais ..... 74
4.7. Monitoramento de fármacos psicoativos em estações de tratamento de esgoto ..... 79
4.7.1. Estação de Tratamento de Esgoto A ..... 79
4.7.2. Estação de Tratamento de Esgoto B ..... 81
4.7.3. Estação de Tratamento de Esgoto C ..... 83
4.7.4. Estação de Tratamento de Esgoto D ..... 86
4.7.5. Estação de Tratamento de Esgoto E ..... 89
4.8. Previsão da concentração dos psicoativos no esgoto bruto ..... 99
5 – Conclusões ..... 106
6 – Referências.. ..... 109
7 – ANEXOS..... ..... 125

7.1. Anexo I. Questionário – Uso de medicamentos antidepressivos .....126
7.2. Anexo I. Parâmetros físico-químicos das amostras de efluente coletadas. ...127

# 1 – Revisão Bibliográfica

# 1. Introdução

## 1.1. Contaminantes de preocupação emergente

Contaminantes de preocupação emergente (CPE) são definidos como compostos que não são comumente monitorados, mas que apresentam potencial para causar efeitos adversos na biota. Dentre esses, destacam-se os fármacos de uso humano, visto que, no Brasil, não existe legislação que estabeleça limites específicos para a concentração dos mesmos no ambiente aquático, e poucos são os estudos sobre sua ocorrência nessa matriz. Entretanto, a ocorrência de insumos farmacêuticos ativos (IFA) no ambiente tem sido abordada pela comunidade científica a nível mundial desde a década de 70 e a discussão sobre sua presença e dispersão em matrizes ambientais tem crescido desde então (BOTTONI & CAROLI, 2018; HIGNITE & AZARNOFF, 1977).

A questão da qualidade e potabilidade da água destinada para abastecimento público é discutida desde 1957 pela Organização Mundial da Saúde (WHO, *World Health Organization*), a qual sugere parâmetros de qualidade para potabilidade da água. Em 2011, a WHO incorporou pela primeira vez a questão dos CPE no "*Guidelines for Drinking-Water Quality*" (WHO, 2011). No Brasil, a Portaria de Consolidação 5/2017 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017) estabelece limites máximos para alguns metais, substâncias orgânicas e agrotóxicos em água destinada para o consumo humano, sendo que os fármacos não estão incluídos na legislação brasileira de potabilidade de água. Portanto, no Brasil, não existem programas de monitoramento de rotina, e, tampouco, os órgãos ambientais incluem esses compostos farmacêuticos em legislações que estabeleçam limites específicos para a concentração de fármacos no ambiente aquático (MARTY, MOREIRA & SIM, 2011). A questão da presença de CPE em águas destinadas para abastecimento público também não é abordada pela Agência de Proteção Ambiental Americana (U.S. EPA, *United States Environmental Protection Agency*). A Agência de Medicina da Comunidade Europeia (EMA, *European Medicines Agency*) recentemente propôs a inclusão de diclofenaco, 17$\beta$-estradiol (E2) e 17$\alpha$-etinilestadiol (EE2) para serem monitorados em água. A Suíça é o único país que tem uma política de monitoramento de alguns fármacos de uso humano na água potável. O Departamento Federal do

Meio Ambiente, Transporte, Energia e Comunicações (*Federal Department of the Environment, Transport, Energy and Communications*) da Suíça destaca a importância do monitoramento de amissulprida, carbamazepina, citalopram, claritromicina, diclofenaco, hidroclorotiazida, metoprolol, venlafaxina, benzotriazol, candesartan, irbesartan e mecoprop, no entanto, sem estabelecer um limite máximo tolerável para nenhum desses CPE.

## 1.2. Fármacos psicoativos

Dentre os fármacos de amplo uso, os psicoativos ocupam uma posição de destaque. Esta classe de fármacos atua principalmente no sistema nervoso central, e são empregados no tratamento de diversos transtornos e síndromes associados à saúde mental, tais como, a depressão, a ansiedade e o transtorno bipolar. Como exemplo de insumos farmacêuticos psicoativos destacam-se os inibidores de recaptação de serotonina (fluoxetina, escitalopram, venlafaxina, sertralina, paroxetina,), antidepressivos tricíclicos (nortriptilina, amitriptilina, desipramina), benzodiazepínicos (alprazolam, clonazepam) e inibidores de monoamina oxidase (fenelzina, selegilina) (CLEARE & DUNCKO, 2016).

Segundo a WHO, essas doenças afetam atualmente mais de 360 milhões de pessoas no mundo (WHO, 2018), Os fármacos utilizados no tratamento dessas doenças são classificados como fármacos que modificam seletivamente a função do sistema nervoso central (GILMAN, 2005). Nesta classe estão incluídos os antidepressivos, ansiolíticos e anticonvulsivantes.

### 1.2.1. Antidepressivos

Os antidepressivos foram descobertos na década de 50, durante estudos para o tratamento da tuberculose com iproniazida, um antimicrobiano; nesse estudo foi observado que os pacientes, mesmo sem apresentar a cura para a tuberculose, se apresentavam de melhor humor, mais otimistas e com maior disposição para prática de exercícios físicos (CRANE, 1956). Essa descoberta promoveu um avanço clínico no tratamento de transtornos depressivos. Esses medicamentos possuem a

capacidade de aumentar agudamente a disponibilidade sináptica de um ou mais neurotransmissores, através da sua ação em diversos receptores e enzimas específicos, sendo os efeitos observados, em média, após duas semanas de uso, que é quando observa-se a subsensibilização dos receptores pós-sinápticos (GILMAN, 2005).

O primeiro medicamento antidepressivo que foi desenvolvido foi o Zeller, um medicamento a base de iproniazida (Figura 1), que após a administração atua como inibidor da enzima monoaminooxidase (IMAO), o que resulta no aumento de neurotransmissores como norepinefrina, serotonina e dopamina. Neurotransmissores transmitem sinais nervosos aos seus receptores correspondentes no cérebro, os quais estão diretamente relacionadas ao humor. Dessa forma, os antidepressivos têm como objetivo atuar diretamente na: (i) serotonina, que tem papel principal de regular o apetite, o sono, a memória, o comportamento social, o desejo sexual e o humor; (ii) norepinefrina, que influencia o estado de alerta e a função motora e ajuda a regular a pressão arterial e a frequência cardíaca em resposta ao estresse; (iii) dopamina, que desempenha um papel central na tomada de decisões, motivação, excitação e sinalização de prazer e recompensa.

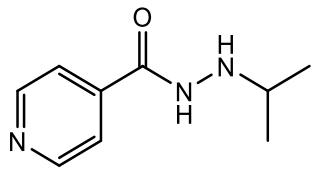



**Figura 1.** Estrutura molecular da iproniazida.

Modificações na estrutura da iproniazida levaram à síntese da imipramina (Figura 2), o primeiro antidepressivo tricíclico, o qual teve efeito direto na preservação dos neurotransmissores dopamina e serotonina, aumentando, assim, sua concentração no cérebro e promovendo o bem-estar aos pacientes submetidos ao tratamento com esse antidepressivo. Quando administrada em pacientes com distúrbios psiquiátricos que apresentavam sintomas como fadiga, desesperança, culpa, desespero, o tratamento resultou na recuperação de 90% dos pacientes (KUHN, 1958; LIEBERMAN, 2003).

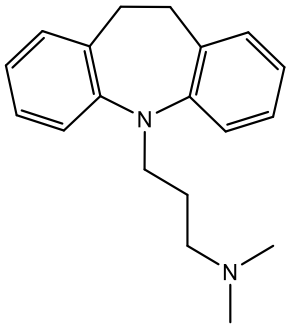



**Figura 2.** Estrutura molecular da imipramina.

A classificação de antidepressivos por estrutura química é relevante, visto que as novas gerações de antidepressivos não possuem estruturas químicas comuns. Dessa forma, os antidepressivos são classificados de acordo com sua função de ação farmacológica, podendo ser divididos conforme o seu mecanismo de ação, sendo as suas classes descritas a seguir (SOARES, MORENO & MORENO, 1999):

- Inibidores da monoaminaoxidase (IMAO): iproniazida, isocarboxazida, tranilcipromina, fenelzina, clorgilina, brofaromina, moclobemina, toloxatona e befloxatona;
- Inibidores não seletivos de recaptura de monoaminas (ADT), que promovem a inibição mista de recaptura de serotonina e noradrenalina: imipramina, desipramina, clomipramina, amitriptilina, nortriptilina, doxepina e maprotilina. Essa classe pode também ser nomeada como antidepressivos tricíclicos;
- Inibidores seletivos de recaptura de serotonina (ISRS): fluoxetina, paroxetina, sertralina, citalopram e fluvoxamina;
- Inibidores seletivos de recaptura de serotonina-noradrenalina (ISRSN): venlafaxina e duloxetina;
- Inibidores de recaptura de serotonina e antagonistas ALFA-2 (IRSA): nefazodona e trazodona;
- Inibidores seletivos de recaptura de noradrenalina (ISRN): reboxetina e viloxazina;
- Inibidores seletivos de recaptura de dopamina (ISRD): amineptina, bupropiona e minaprina.

### 1.2.2. Ansiolíticos

Transtornos de ansiedade podem ocorrer baseado em uma combinação de fatores, incluindo predisposição genética, acúmulo de estresse, preocupação excessivas (expectativa apreensiva) em torno de uma grande diversidade de situações durante um longo período de tempo. Os transtornos de ansiedade são caracterizados pelos sintomas de inquietação, dificuldade de concentração, fadiga, irritabilidade, distúrbios do sono e tensão muscular (MAREK & PARKS, 2016). O transtorno de ansiedade é uma doença crônica, com flutuações ao longo da vida, e esse se intensifica em períodos de estresse. Além de alguns antidepressivos, os medicamentos à base de benzodiazepínicos (Figura 3) são os comumente empregados no tratamento de transtorno de ansiedade. Essa classe de compostos potencializam as ações do neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA) (MAREK & PARKS, 2016). A ativação dos receptores GABA resulta no influxo de cloreto no neurônio, hiperpolariza a membrana celular e diminui a excitabilidade celular, resultando nos seguintes efeitos: sonolência (doses elevadas), amnésia anterógrada (não se recorda de acontecimentos recentes), ansiólise (estado de tranquilidade), diminuição dos reflexos, atividade anticonvulsivante e redução do tônus muscular.

Os principais representantes dos benzodiazepínicos são: alprazolam, bromazepam, clordiazepóxido, clonazepam, cloxazolam, diazepam, flurazepam, lorazepam, midazolam, oxazepam e triazolam.

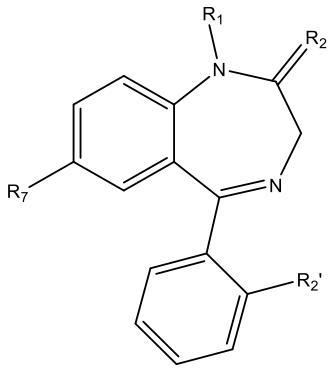



**Figura 3.** Estrutura molecular geral dos benzodiazepínicos. ($R_1$ = Anel triazol ou H ou $CH_3$; $R_2$ = $NHCH_3$ ou O; $R_2'$ = Cl ou F; $R_7$ = Cl ou Br ou $NO_2$ ou $C_2H_5$).

### 1.2.3. Estabilizadores de humor e anticonvulsivantes

Anticonvulsivantes são medicamentos também empregados para estabilização do humor (*i.e.,* transtorno bipolar e ciclotimia). Nos casos clínicos em que os pacientes não toleram ou não respondem ao tratamento com lítio, indica-se a prescrição de carbamazepina. Esse fármaco foi aprovado para uso clínico em 1974, tendo sua eficácia comparada aos tratamentos com lítio em casos agudos de mania (GILMAN, 2005; MAREK & PARKS, 2016). A carbamazepina atua nos receptores benzodiazepínicos centrais, bem como na diminuição da renovação dos receptores GABA.

## 1.3. Propriedades físico-químicas dos psicoativos

Após a administração, os fármacos são metabolizados, podendo ser excretados via urina e/ou fezes na sua forma original e/ou seus metabólitos. De modo geral, os psicoativos são absorvidos rapidamente após administração oral, e menos de 20% da dose original é excretada via urina em conjunto de seus metabolitos ativos. (GILMAN, 2005)

As propriedades físico-químicas dos psicoativos mais relevantes para o presente trabalho estão apresentadas na Tabela 1, incluindo a fração excretada do IFA. As estruturas químicas estão mostradas na Tabela 2.

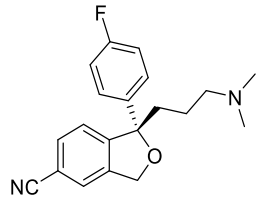
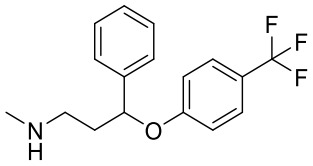
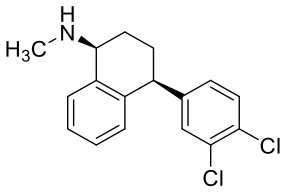
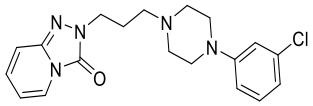
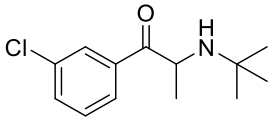
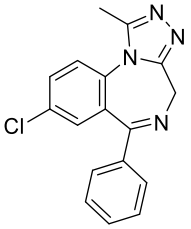
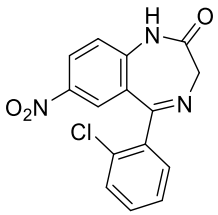
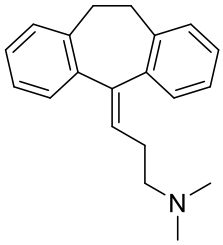
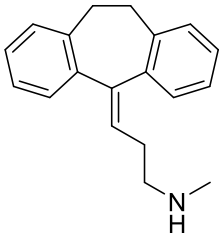
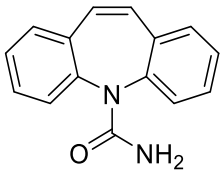
**Tabela 1.** Parâmetros físico-químicos dos psicoativos em estudo.

| Fármaco | Massa molecular (g mol$^{-1}$) | pKa | Log $K_{ow}$ | Solubilidade em $H_2O$ (mg L$^{-1}$)[4] | Fração excretada da molécula (%) | Log $K_{oc}$[9] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Trazodona** | 371,80 | 7,09 [3] | 2,90 [3] | 290 | 1 [8] | 3,9 |
| **Carbamazepina** | 236,09 | 15,96 [2] | 2,45 [2] | 152 | 3 [4] | 3,1 |
| **Bupropiona** | 239,11 | 3,60 [3] | 3,85 [3] | 69,3 | 0,5 [4] | 2,8 |
| **Alprazolam** | 308,08 | 5,01 [3] | 2,12 | 32,4 | 20 [6] | 4,9 |
| **Clonazepam** | 315,04 | 1,89 [3]; 11,7 [2] | 2,41 [2] | 10,6 | 0,5 [5] | 4,0 |
| **Escitalopram** | 324,16 | 9,78 [1] | 3,74 [1] | 5,8 | 8 [4] | 4,4 |
| **Amitriptilina** | 277,18 | 9,76 [1] | 4,92 [2] | 4,5 | 2 [4] | 5,3 |
| **Fluoxetina** | 309,13 | 9,80 [1] | 4,05 [1] | 1,7 | 11 [7] | 4,9 |
| **Nortriptilina** | 263,38 | 10,10 | 4,51[2] | 0,87 | 2 [4] | 4,4 |
| **Sertralina** | 305,07 | 9,56 [1] | 5,10 [1] | 0,145 | 0,2 [4] | 5,2 |

[1](LAJEUNESSE, GAGNON & SAUVÉ, 2008); [2](ALYGIZAKIS *et al*., 2016) [3](ChemSpider, 2019); [4](Drugbank, 2019) [5](NEGRUSZ *et al*., 2003); [6](FRASER, BRYAN & ISNER, 1991) [7]((BERGSTROM *et al*., 1988); [8]((BROGDEN *et al*., 1981); [9](UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2012).

Os fármacos psicoativos que foram estudados nesse trabalho e apresentados na Tabela 2 possuem uma ampla faixa de pKa, caráter levemente básico, baixa solubilidade em água, com coeficiente de partição octanol-água (log $K_{ow}$) que varia de 2,12 a 5,10, indicando elevada lipofilicidade.

**Tabela 2**. Estruturas químicas dos psicoativos estudados neste trabalho.

| **Inibidores seletivos de recaptura de serotonina** | | | |
|---|---|---|---|
| Escitalopram (ESC) | Fluoxetina (FLX) | Sertralina (SER) | Trazodona (TZ) |
|  |  |  |  |
| **Inibidor de recaptura de dopamina** | | **Benzodiazepínicos** | |
| Bupropiona (BP) | | Alprazolam (APZ) | Clonazepam (CNZ) |
|  | |  |  |
| **Tricíclicos** | | **Antiepilético** | |
| Amitriptilina (AMT) | Nortriptilina (NT) | Carbamazepina (CMZ) | |
|  |  |  | |

## 1.4. Fontes de contaminação para o ambiente

Após sua administração, fármacos psicoativos podem ser excretados *in natura* e/ou em forma de metabolitos ativos ou inativos do composto originalmente administrado (TLILI *et al.*, 2016), os quais atingem os sistemas de esgotamento sanitário doméstico (MELVIN, 2017). No Brasil, segundo dados do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento, estima-se que, em 2016, apenas 51,9% da

população possuia acesso aos serviços de tratamento de esgoto. Sendo assim, uma grande quantidade do esgoto bruto é lançado diretamente em rios, podendo impactar diretamente o sistema aquático e dispersando no ambiente resíduos de fármacos de uso humano.

A operadora do serviço de abastecimento de água e tratamento de esgoto de Campinas, SP, a Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento (SANASA), provê água potável a 99,7% da população e provê 95% de tratamento do esgoto gerado (Fonte: SANASA). Desta forma, a cidade de Campinas tem o lançamento de apenas 5% do esgoto gerado pela população diretamente nos rios.

O descarte irregular da indústria farmacêutica, a excreção humana, a disposição de resíduos domésticos de forma irregular (*i.e,* fármacos vencidos e/ou não utilizados) e os efluentes hospitalares são, também, fontes de dispersão de fármacos no ambiente aquático (CARRARA, ROBERTSON & BLOWES, 2008; MOMPELAT, LE BOT & THOMAS, 2009). Em domicílios que não são atendidos por sistema de esgotamento sanitário, os tanques sépticos utilizados são passíveis de infiltrações podendo, assim, contaminar águas subterrâneas com fármacos. Além disso, conforme esquematizado na Figura 4, o resíduo da estação de tratamento de esgoto, o lodo, que pode conter resíduos de CPE, é transferido para aterros sanitários, onde, posteriormente, esses compostos podem lixiviar (desde que não tenha sido bem projetado), atingindo águas subterrâneas e posteriormente águas superficiais.

As estações de tratamento de água e esgoto em operação no Brasil foram, em sua maioria, projetadas no século passado e, portanto, não foram concebidas com o objetivo de remover CPE. Estudos recentes reportados por AFONSO-OLIVARES, SOSA-FERRERA & SANTANA-RODRÍGUEZ (2017), PETRIE *et al*. (2016) e CRUZ *et al.* (2018) demonstram que essas estações são ineficazes para a completa remoção e/ou degradação de fármacos como antimicrobianos, analgésicos e reguladores lipídicos. Esses CPE são resistentes a processos biológicos e/ou oxidativos convencionais, como cloração ou oxidação, que são empregados nas estações de tratamento de água e esgoto, podendo esses compostos serem considerados como recalcitrantes (YAN *et al*., 2014).

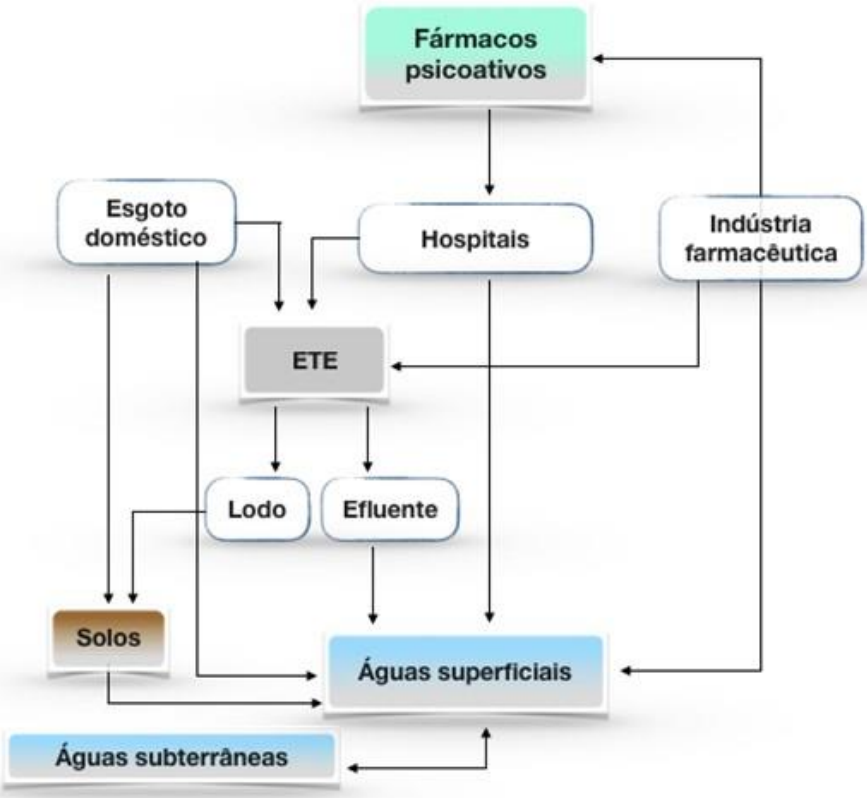



**Figura 4.** Resumo da rota dos fármacos no meio ambiente.

### 1.4.1. Estações de tratamento de esgoto

O tratamento de esgoto é um processo que emprega mecanismos biológicos, reproduzindo os processos naturais que ocorrem nos futuros corpos receptores do efluente. Nesse processo, a matéria orgânica é convertida em produtos mineralizados inertes pelo fenômeno da autodepuração, ou seja, mecanismos puramente naturais. A reprodução do processo de depuração nas estações de tratamento de esgoto visa o estabelecimento de uma tecnologia que possibilite o controle do processo em taxas elevadas, possibilitando, assim, o tratamento de um grande volume de efluentes (SPERLING, 2005). As etapas do processo de tratamento de esgoto podem, basicamente, ser divididas em preliminar, primário e secundário. O tratamento preliminar visa a remoção dos sólidos de maior dimensão, que estão suspensos. A etapa primária também tem o objetivo de remover sólidos sedimentáveis e, em decorrência, parte da matéria orgânica. Na etapa secundária predominam os

mecanismos biológicos, com o propósito da remoção de matéria orgânica e nutrientes (nitrogênio e fósforo).

Diversos estudos têm reportado a presença de CPE nos compartimentos aquáticos, gerando preocupação com o seu possível impacto na biota. As estações de tratamento de esgoto têm sido identificadas como uma das principais portas de entrada desses compostos em águas superficiais (FOCAZIO *et al.*, 2008), uma vez que estações convencionais de tratamento de esgoto não são eficientes na total remoção desses compostos (NARUMIYA *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2017). POMIÈS *et al.* (2013) destacam que a remoção máxima de uma estação de tratamento de esgoto chega a 70% da concentração dos CPE.

VERLICCHI, AL AUKIDY & ZAMBELLO (2012) reportaram que a eficiência na remoção de compostos farmacêuticos por tratamentos biológicos depende das propriedades dos compostos e das condições operacionais. De fato, a eficiência da remoção é influenciada, entre outros, pelas propriedades físico-químicas de cada composto. A eliminação de compostos hidrofóbicos deve ocorrer durante a remoção de sólidos suspensos, nas etapas preliminar e primária do tratamento, enquanto que no tratamento secundário, pode ser promovida a remoção de micropoluentes por sorção no lodo biológico e/ou biodegradação. Além disso, as eficiências de remoção variam conforme a configuração da estação e dependem das condições de operação da estação de tratamento de esgoto, como, por exemplo, o tempo de retenção do lodo, o tempo de retenção hidráulica e a temperatura, mesmo que a influência desses parâmetros nem sempre seja totalmente entendida (POMIÈS *et a*l., 2013).

A biodegradação dos micropoluentes que não são fontes de carbono e energia para a biomassa e/ou apresentam toxicidade para o meio, pode ocorrer simultaneamente à degradação de macropoluentes, em uma etapa denominada cometabolismo (TRAN *et al.,* 2013). Durante a conversão de macropoluentes ocorre a formação de co-substrato e co-enzimas capazes de degradar micropoluentes complexos. A baixa eficiência de degradação de CPE por processos biológicos pode estar relacionada à baixa capacidade dessas enzimas em degradar uma grande diversidade de compostos (POMIÈS *et al.*, 2013).

Dos principais processos biológicos empregados na etapa secundária do tratamento de esgoto destacam-se os lodos ativados e os reatores anaeróbios. O processo de lodo ativado é constituído por duas etapas, um tanque de aeração e uma etapa posterior de decantação. O lodo, a massa de material biológico, é recirculada

por bombeamento da unidade de decantação para o reator de aeração (Figura 5). Esse sistema, apesar de promover um efluente de elevada qualidade, possui uma complexidade operacional para manter o meio oxigenado (SPERLING, 2005).

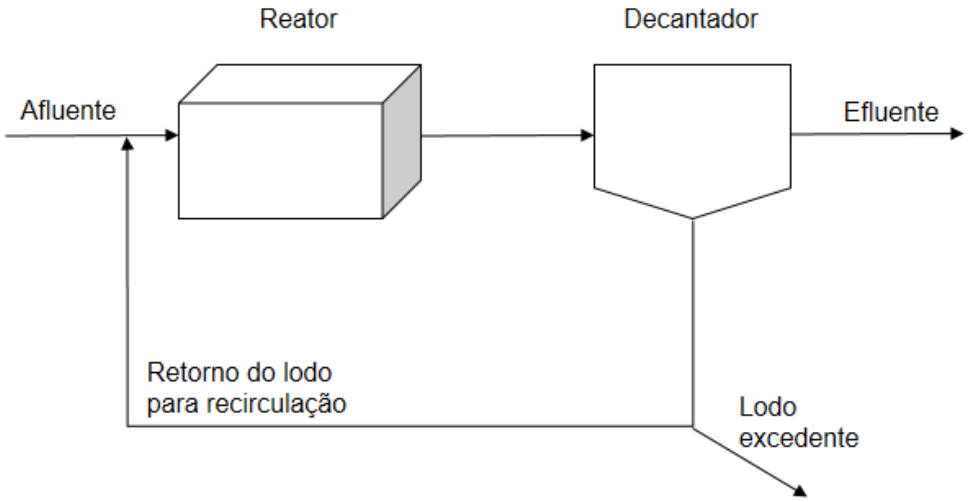



**Figura 5.** Esquema das unidades do sistema de lodo ativado (Adaptado de SPERLING, 2005).

O reator anaeróbio de fluxo ascendente, UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), é um sistema anaeróbio onde a matéria orgânica é convertida por bactérias dispersas no reator, na ausência de oxigênio, em temperaturas entre 30 a 35 ºC. Nesse sistema (Figura 6) o esgoto é bombeado na parte inferior do reator e as bolhas de biogás ($CH_4$ e $CO_2$) com movimento ascendente promovem o carreamento do lodo. Na parte superior do reator, um separador trifásico, que divide sólidos, líquidos e gases, permite a retenção e retorno do lodo ao sistema, e a zona de sedimentação permite a saída do efluente clarificado (CAMPOS, 1999; SPERLING, 2005). O tratamento de esgoto anaeróbio é amplamente utilizado em países tropicais, devido a sua fácil implementação e baixo custo de operação (SÁNCHEZ, BUNTNER & GARRIDO, 2013). Dentre as estações de tratamento de esgoto no Brasil, o reator UASB é a segunda técnica de tratamento mais empregada, correspondendo a 30% das estações de tratamento no país. Segundo a SANASA, em Campinas existem 26 estações de tratamento de esgoto e 30% operam com reator UASB (SANASA, 2015). A desvantagem dos reatores anaeróbios em relação aos aeróbios está relacionada à

qualidade menor do esgoto tratado, sendo recomendado acoplar um processo de tratamento terciário (polimento).

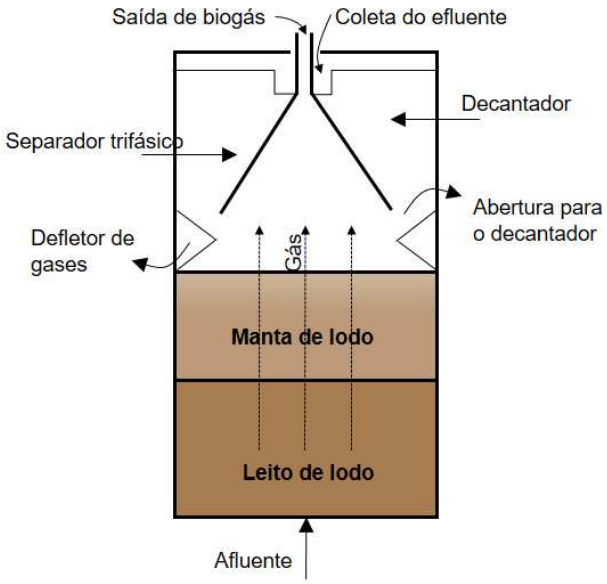



**Figura 6.** Desenho esquemático de um reator UASB (Adaptado de CAMPOS, 1999).

Como reportado previamente, no Brasil não existe uma legislação vigente que referencie a questão dos CPE em estações de tratamento de água e esgoto. Além disso, muitos municípios não dispõem sequer de uma estação de tratamento de esgoto, e nos municípios que as possuem, visam primariamente atender à legislação vigente no que se refere à conversão de matéria orgânica e remoção de nutrientes. Para superar essa problemática, pode-se ainda empregar uma etapa terciária e/ou de polimento que visa a remoção de nutrientes, organismos patogênicos e compostos não biodegradáveis que não foram removidos no tratamento secundário (SCHOLZ & SCHOLZ, 2016; SPERLING, 2005).

## 1.5 Ocorrência de antidepressivos no ambiente

No Brasil são escassos os dados disponíveis sobre a presença de resíduos de fármacos psicoativos no ambiente aquático. Dos trabalhos disponíveis na literatura científica de domínio público, dois trabalhos que reportam a determinação de benzodiazepínicos por voltametria, em águas superficiais no estado do Paraná, se destacam (NUNES *et al.*, 2015; NUNES *et al.*, 2018). Nesses estudos, o alprazolam foi detectado na concentração máxima de 5.900 ng $L^{-1}$. FERREIRA (2014) monitorou

a presença de benzodiazepínicos em amostras de água superficial no Rio de Janeiro, onde o autor reporta concentrações de clonazepam na faixa de 20 a 170 ng $L^{-1}$. A ocorrência de clonazepam também foi reportada por de DE ALMEIDA e*t al.* (2013) em amostras de efluente hospitalar na faixa de 49 a 145 ng $L^{-1}$.

A presença de carbamazepina foi reportada em concentrações de até 215 ng $L^{-1}$ no rio Monjolinho, próximo à área urbana de São Carlos, São Paulo (CAMPANHA *et al.*, 2015). Carbamazepina foi determinada em concentrações na faixa de 4,96 ng $L^{-1}$ a 232 ng $L^{-1}$ no Ribeirão Piraí e Rio Jundiaí, respectivamente, ambos localizados próximo a área urbana de Indaiatuba, São Paulo *(DE SOUSA et al.,* 2018). Efluentes hospitalares, quando não são devidamente tratados, são uma fonte inegável de dispersão de CPE no ambiente. Carbamazepina foi detectada em todas as amostras analisadas do efluente do Hospital Universitário de Santa Maria, no Rio Grande do Sul, em concentrações na faixa de 325 - 595 ng $L^{-1}$ (DE ALMEIDA *et al*., 2015).

De acordo com a base de dados *Pharmaceuticals in the Environment*, publicada pela Agência Ambiental da Alemanha (UBA, *Umweltsbundesamt*) já foram identificados diversos fármacos psicoativos em matrizes aquosas, tais como afluentes e efluentes de estação de tratamento de água e esgoto, água superficial, efluente hospitalar e águas subterrâneas (THE UMWELTBUNDESAMT, 2016). Conforme os dados compilados na Tabela 3 para os fármacos psicoativos selecionados para esse trabalho, observa-se que esses ocorrem em matrizes aquosas na ordem de ng $L^{-1}$ a µg $L^{-1}$. Avaliando os dados de ocorrência disponíveis na literatura, fica evidente que as estações de tratamento de esgoto são um dos principais focos de entrada de psicoativos no ambiente aquático, onde os níveis de concentração desses compostos são encontrados na faixa de µg $L^{-1}$, posicionando-se, desse modo, superior à faixa de concentração em que geralmente ocorrem nas águas superficiais (*i.e.,* ng $L^{-1}$).

**Tabela 3.** Ocorrência de psicoativos analisados nesse trabalho em matrizes aquosas.

| Local | Matriz | Fármacos | Concentração (ng $L^{-1}$) | Referência |
|---|---|---|---|---|
| **Tromso - Noruega** | Esgoto bruto | Fluoxetina | 1,1 - 18,7 | (VASSKOG *et al.,* 2008) |
| | | Sertralina | 8,4 - 19,8 | |
| | Esgoto tratado | Fluoxetina | 0,6 - 8,4 | |
| | | Sertralina | 3,7 - 14,6 | |
| **Verona - Itália** | Esgoto bruto | Fluoxetina | < LOQ | (REPICE *et al.*, 2013) |
| | | Carbamazepina | 81,5 – 288 | |
| | Esgoto tratado | Fluoxetina | < LOQ | |
| | | Carbamazepina | 151 – 348 | |
| **Inglaterra** | Esgoto tratado | Fluoxetina | 26,5 | (PETRIE *et al.*, 2016) |
| | | Carbamazepina | 316 | |
| | | Sertralina | 47 | |
| | Água superficial | Fluoxetina | < LOQ | |
| | | Carbamazepina | 75,8 | |
| | | Sertralina | < LOQ | |
| **Ontário - Canadá** | Esgoto bruto | Fluoxetina | 191 | (METCALFE *et al.*, 2010) |
| | | Sertralina | 34 | |
| | | Bupropiona | 191 | |
| | Esgoto tratado | Fluoxetina | 122 | |
| | | Sertralina | 16 | |
| | | Bupropiona | 104 | |
| | Água superficial | Fluoxetina | 54 - 141 | |
| | | Sertralina | 6 - 17 | |
| | | Bupropiona | 32- 120 | |
| **Sérvia** | Água superficial | Carbamazepina | < LOQ - 35,5 | (PETROVIĆ et al., 2014) |
| **Diversos países da Europa** | Esgoto tratado | Bupropiona | Até 4,9 | (LOOS et al., 2013) |
| | | Carbamazepina | Até 4.609 | |
| | | Clonazepam | Até 43,7 | |
| | | Amitriptilina | Até 14,6 | |
| **Diversos locais dos Estados Unidos** | Água superficial | Bupropiona | 140 | (FERRER & THURMAN, 2012) |
| | | Carbamazepina | 350 | |
| | | Fluoxetina | 65 | |
| **Coimbra - Portugal** | Esgoto bruto | Carbamazepina | 437 - 673 | (SANTOS *et al.,* 2013) |
| | | Alprazolam | 19,1 - 49,1 | |
| | Esgoto tratado | Carbamazepina | 364 - 496 | |
| | | Alprazolam | 11,3 - 33,5 | |
| **Hérault - França** | Esgoto tratado | Amitriptilina | < LOD - 6 | (RABIET *et al.*, 2006) |
| | | Carbamazepina | 157 - 293 | |
| **Inglaterra** | Esgoto bruto | Amitriptilina | Até 1055 | (BAKER & KASPRZYK-HORDERN, 2011) |
| | | Nortriptilina | Até 184 | |
| | | Fluoxetina | Até 175 | |

**Tabela 3**. Continuação. Ocorrência de psicoativos analisados nesse trabalho em matrizes aquosas.

| Local | Matriz | Fármacos | Concentração (ng $L^{-1}$) | Referência |
|---|---|---|---|---|
| | Esgoto tratado | Amitriptilina | Até 222 | |
| | | Nortriptilina | Até 53 | |
| | | Fluoxetina | Até 43 | |
| **Montreal - Canadá** | Esgoto bruto | Escitalopram | 52 | (LAJEUNESSE, GAGNON & SAUVÉ, 2008) |
| | | Amitriptilina | 17 - 20 | |
| | Esgoto tratado | Escitalopram | 46 - 57 | |
| | | Amitriptilina | 15 - 21 | |
| | Água superficial | Escitalopram | 3,4 -11,5 | |
| | | Amitriptilina | 0,87 - 3,7 | |
| **Beijing – China** | Esgoto tratado | Sertralina | 18 - 40 | (SHENG *et al.*, 2014) |
| | | Nortriptilina | 35 - 47 | |
| | | Escitalopram | 18 - 28 | |
| **Warsaw - Polônia** | Água superficial | Escitalopram | Até 17 | (GIEBUŁTOWICZ & NAŁECZ-JAWECKI, 2014) |
| **República da Coreia** | Esgoto bruto | Carbamazepina | Até 21.600 | (SIM *et al.*, 2011) |
| | Esgoto tratado | Carbamazepina | Até 21.000 | |
| **Seixal - Portugal** | Esgoto bruto | Escitalopram | Até 32.228 | (SALGADO *et al.,* 2011) |
| | | Carbamazepina | Até 1.950 | |
| | | Alprazolam | Até 4.705 | |

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) existem mais de 500 produtos farmacêuticos registrados no País que possuem em sua formulação antidepressivos e/ou ansiolíticos em situação de registro válida (ANVISA, 2018). Dentre estes, clonazepam, alprazolam, amitriptilina, fluoxetina, sertralina e bupropiona foram os IFA industrializados e/ou manipulados mais consumidos no estado de São Paulo entre os anos 2009 a 2011 (ANVISA, 2012). Por fim, destaca-se que, no ano de 2018, foram comercializados no Brasil 26.965.289 unidades de caixas de clonazepam, sendo esse o IFA psicoativo mais vendido no País. O alprazolam ocupa a 2ª posição com um total de 13.195.326 unidades de caixas vendidas (IQVIA, 2018)[1].

## 1.6. Toxicidade de psicoativos no ambiente

Dentre os riscos de toxicidade crônica que os resíduos de psicoativos e seus metabolitos representam para a biota pode-se destacar que, mesmo em baixos níveis de concentração (*i.e.* ng $L^{-1}$), esses compostos têm apresentado a capacidade de se

[1] Dados fornecidos pela empresa IQVIA Brasil.

bioacumular em tecidos de vertebrados e provocarem mudanças em seu comportamento habitual (VALENTI *et al*., 2012). Valenti *et al.* (2012) observaram que a presença de 3 µg $L^{-1}$ de sertralina, concentração que é inferior ao limite de segurança na alimentação do *Fathead minnow* (15 µg $L^{-1}$), altera o comportamento dessa espécie de peixe, inibindo sua habilidade em identificar e buscar abrigo. A questão se torna mais agravante quando esses valores de toxicidade são correlacionados à concentração em que esse psicoativo é detectado no ambiente. FICK *et al.* (2017) reportaram a ocorrência de 160 ng $L^{-1}$ de sertralina no esgoto bruto de uma estação de tratamento de esgoto, significando que, caso esse efluente não seja tratado por um processo capaz de remover esse IFA, ocorrerá a dispersão de sertralina em um nível de concentração aproximadamente 1/18 da concentração necessária para impactar peixes-boi de cabeça chata (*Pimephales promelas)*. DAVID *et al*. (2018) demostraram, ainda, que os compostos farmacêuticos da família de psicoativos, como a sertralina, podem se bioacumular em diversas regiões do cérebro de peixes expostos a efluentes que contenham esses fármacos mesmo no nível de ng $L^{-1}$.

Uma vez no ambiente, a presença de fármacos psicoativos, mesmo que em níveis traço (ng $L^{-1}$), podem causar efeitos adversos nos organismos aquáticos, tais como a redução na taxa de reprodução, anormalidades no desenvolvimento de embriões e atraso no desenvolvimento sexual (SILVA *et al.* 2017).

Ensaios de toxicidade aguda com fármacos inibidores seletivos de receptação de serotonina demonstram que a ocorrência desses compostos na faixa de µg $L^{-1}$ afeta espécies de alga como a *Raphidocelis subcapitata* (= *Pseudokirchneriella subcapitata)* (alga de água doce) e o crustáceo *Daphnia magna* (CHRISTENSEN e*t al*., 2007). CHRISTENSEN *et al.* (2007) determinaram uma $EC_{50}$ (concentração que causa efeito em 50% da população) para a *Raphidocelis subcapitata* de 27 µg $L^{-1}$ para a fluoxetina e 43 µg $L^{-1}$ para sertralina, enquanto que para a *Daphinia magna* a $EC_{50}$ foi de 6400 µg $L^{-1}$ e 920 µg $L^{-1}$ para fluoxetina e sertralina, respectivamente.

Além disso, mesmo que as concentrações necessárias para atingir os efeitos crônicos ou agudos sejam em torno de 1000 vezes maior do que as concentrações reportadas na literatura, é necessário levar em consideração que matrizes ambientais são uma mistura complexa de diversos compostos e, portanto, é preciso considerar o efeito sinérgico ou aditivo da mistura dessa classe de compostos quando dispersos no ambiente. Alguns estudos têm evidenciado que as misturas de

fármacos causam efeitos tóxicos maiores do que os compostos individualmente presentes no meio. Por exemplo, a carbamazepina e o ácido clofíbrico (um herbicida) provocam um efeito maior sobre a *Daphnia magna* quando combinados do que os compostos individuais na mesma concentração (CLEUVERS, 2003).

Por fim, é importante destacar que, para que os estudos dos efeitos crônicos e de longo prazo possam ser realizados de forma intensiva, é absolutamente necessário que métodos analíticos sensíveis e específicos sejam desenvolvidos, validados e possam ser aplicados para monitorar a presença de produtos farmacêuticos em águas residuais, águas superficiais e água potável (TARCOMNICU *et al.*, 2011).

## 1.7. Previsão da concentração de psicoativos no ambiente

A previsão do impacto ambiental causado pelo consumo de diversos IFA ou mesmo por sua ocorrência no meio ambiente é onerosa. A ausência de legislação sobre os limites de ocorrência de fármacos, inclusive psicoativos, em matrizes aquosas não promove o investimento na compilação de banco de dados oficiais e tampouco incentiva a estruturação de uma legislação mais restritiva e/ou investigativa quanto à presença desses compostos nos corpos hídricos. A complexidade da compreensão do impacto ambiental se agrava quando verificado que as matrizes aquosas podem conter uma grande diversidade de IFA. Além disso, existe no mercado um grande número de produtos farmacêuticos (JORGENSEN & HALLING-SORENSEN, 2000) e inclusive de fármacos psicoativos registrados no País.

Dados de ocorrência e monitoramento de fármacos podem ser indicadores da presença de CPE nas matrizes aquosas. Contudo, mesmo que existam dados disponíveis da ocorrência de fármacos psicoativos em outros países que não o Brasil, esses valem apenas como indicadores, uma vez que o perfil de comercialização de medicamentos varia de país para país, assim como a qualidade dos seus recursos hídricos. Desse modo, pode-se concluir que o impacto pela presença e ocorrência de fármacos pode variar de região para região.

Existe um consenso de que a exposição a resíduos de fármacos, em geral em concentrações na ordem de ng $L^{-1}$, no consumo de água potável pelo ser humano

não oferece risco preocupante, uma vez que a ingestão desses resíduos deve ficar bem abaixo da ingestão diária aceitável como dose terapêutica (WHO, 2011).

Prever a concentração ambiental (PEC) de produtos farmacêuticos em águas superficiais no Brasil é um trabalho complexo e de difícil execução, uma vez que não existem dados oficiais sobre o volume de consumo de produtos farmacêuticos disponíveis na literatura ou nos bancos de dados governamentais. O valor da PEC pode ser estimado então com base nos dados do volume anual de vendas de medicamentos, correlacionando-os, em seguida, com a sua farmacocinética e sua taxa de excreção e com a estimativa da produção de efluentes residenciais per capita. Esta correlação irá assumir uma distribuição linear ao longo do ano e em toda a população local, permitindo estimar uma previsão da concentração do fármaco na entrada da estação de tratamento de esgoto (Equação 2).

Inicialmente se faz necessário uma estimativa da quantidade do fármaco consumido por habitante, representado por $M_{IFA\ consumido}$ e calculado de acordo com a Equação 1.

$$M_{IFA\ consumido} = \frac{comprimido_{caixa}\ x\ Teor_{IFA}\ x\ caixas\ x\ 10^{-9}}{habitantes\ do\ Brasil}\ x\ Fração\ excretada \quad \text{(Equação1)}$$

Onde:

Consumo: consumo do IFA no Brasil (toneladas);

$Comprimido_{caixa}$: número máximo de comprimidos em uma caixa do medicamento contendo o IFA;

$Teor_{IFA}$: teor do IFA (em mg) por comprimido na sua maior dosagem;

Caixas: número de caixas comercializadas contendo o IFA.

$10^{-9}$: fator de conversão de mg para toneladas.

$$PEC_{ETE} = \frac{(M_{IFA\ consumido}\ x\ hab_{ETE})\ x\ 10^{12}}{365\ x\ hab_{ETE}\ x\ V_{ETE}} \quad \text{(Equação 2)}$$

Onde:

$PEC_{ETE}$: concentração de emissão previsível na planta de tratamento de esgoto (ng $L^{-1}$);

$M_{IFA\ consumido}$: quantidade do IFA consumido no Brasil (kg) anual, para 210.000.000 habitantes;

$hab_{ETEi}$: número de habitantes atendidos pela ETE;
$V_{ETE}$: volume de efluente tratado pela ETE (L/dia/habitante);

A Equação 2 mostra todas as variáveis consideradas para se estimar o valor de PEC para cada psicoativo estudado e previamente priorizado neste trabalho e discutido no capítulo de Resultados e Discussão.

Uma vez estimado o valor da PEC, esse pode ser comparado com valores prévios da concentração ambiental medida ($MEC_{teórico}$) em estudos prévios de ocorrência, construindo indicadores do quão próximo da realidade estaria o modelo proposto para prever a concentração do IFA no ambiente, bem como sugerindo o quão sensível deveria ser o método analítico a ser desenvolvido. Finalmente, uma correlação entre os dados de MEC e PEC pode indicar se o modelo proposto é aceitável (COETSIER *et al.*, 2009).

## 1.8. Métodos empregados para a determinação de fármacos no ambiente

O nível de concentração em que fármacos psicoativos estão presentes nas diversas matrizes ambientais (Tabela 3) torna necessário o emprego de métodos analíticos que sejam seletivos e atinjam limites de quantificação na ordem de ng $L^{-1}$. Para tanto, o método analítico deve incluir a concentração dos analitos de interesse e ao mesmo tempo eliminar os interferentes da matriz alvo anterior a etapa de quantificação. Além disso, a técnica deve permitir, além da quantificação, a confirmação de identidade do analito de interesse na matriz alvo.

Para a concentração dos analitos em amostras aquosas, incluindo os CPE, tem sido empregada a extração em fase sólida (SPE, *solid phase extraction*) (BRIEUDES *et al.*, 2016; GURKE *et al.*, 2015; KLANČAR, TRONTELJ & ROŠKAR, 2018; ROSSMANN *et al.*, 2014; TLILI *et al.*, 2016). Nesse procedimento a amostra é percolada por uma fase sólida que tem o objetivo de sorver os analitos de interesse e eliminar os concomitantes indesejados junto a fase líquida. A SPE pode ser realizada de forma manual (*off-line*) ou mecanizada e acoplada ao equipamento de quantificação (*on-line*). A SPE *off-line* demanda uma fase sorvente (tamanho de partícula > 40 µm), geralmente contida em um cartucho (o qual, é descartável e de uso único), grandes volumes de amostra no caso de amostras ambientais (de 0,1 a 1 L) e longo tempo de preparo de amostras (KOSMA *et al.,* 2019; PAÍGA *et al.*, 2016).

No sistema *on-line* a fase sorvente (tamanho de partículas ≤ 10 µm) está contida em uma coluna a qual posteriormente é acoplada à um sistema cromatográfico. O sistema de SPE *on-line* tem vantagens em relação ao sistema *off-line*, entre esses destacam-se a injeção de até três mil amostras na mesma coluna sem perda da sua eficiência, além de requerer pequenos volumes de amostras (inferior a 1 mL), resultando em um menor tempo de preparo de amostra e análise (DE OLIVEIRA FERREIRA, RODRIGUES-SILVA & RATH, 2016; PORTO *et al.*, 2019; RODRIGUES-SILVA *et al.*, 2019; TETZNER *et al.*, 2016).

A extração líquido-líquido também pode ser empregada na concentração de analitos em amostras ambientais, mas demanda o uso de solventes orgânicos imiscíveis com a fase aquosa e, geralmente, de várias extrações sequenciais. Outros procedimentos de concentração de analitos presentes em amostras aquosas ambientais é a microextração em fase sólida (SPME, *solid phase microextraction*), no entanto, essa é mais vantajosa para compostos voláteis o que não é o caso da maioria do fármacos (ŞENTÜRK, SAKA & TEĞIN, 2011; TERNES & JOSS, 2015).

Como técnica analítica, para separação e quantificação dos analitos de interesse (fármacos), o mais recomendado é a cromatografia líquida (LC, *liquid chromatography* ) (WANG & WANG, 2016) associada a diferentes detectores, como ultravioleta (MOHAMAD HANAPI *et al.*, 2017), fluorescência (RIBEIRO *et al.*, 2014), arranjo de diodos (PAPAGEORGIOU, KOSMA & LAMBROPOULOU, 2016) e espectrometria de massa (MS) (ŞENTÜRK, SAKA & TEĞIN, 2011; WANG & WANG, 2016). Para o monitoramento de CPE em matrizes ambientais a cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS) representa o estado da arte. Além de ser uma técnica confirmatória, permite alcançar limites de quantificação na ordem de ng $L^{-1}$ em diversas matrizes (BIAŁK-BIELIŃSKA *et al.*, 2016). O emprego do monitoramento de reações selecionadas (SRM, *selective reaction monitoring*) permite a confirmação de identidade do analito, mesmo que ocorra a coeluição de concomitantes que possuem a mesma massa, mas transições do íon precursor-íon produto diferentes, e tempo de retenção que o analito de interesse.

Na Tabela 4 são apresentadas as principais técnicas analíticas empregadas em estudos de ocorrência de psicoativos em matrizes ambientais e seus respectivos limites de quantificação. Como procedimento de extração, concentração e *clean-up* a SPE é o procedimento de preparo de amostras mais empregado nos

métodos para determinação de psicoativos em matrizes aquosas. A fase Oasis HLB é a fase sorvente mais comumente empregada. Como técnicas de separação para a quantificação dos psicoativos a mais utilizada é a cromatografia a líquido associada a espectrometria de massas. Nunes *et al.* (2015) empregaram a técnica de voltametria cíclica, porém os limites de quantificação alcançados se demonstraram limitados quando comparados aos limites de quantificação alcançados nos métodos onde se empregou a LC-MS/MS.

**Tabela 4.** Limites de quantificação, preparo de amostras e técnica analítica para a determinação de psicoativos em matrizes ambientais.

| Referência | Matriz | Fármaco | LOQ (ng $L^{-1}$) | Quantidade de amostra | Preparo de amostras | Técnica |
|---|---|---|---|---|---|---|
| (ARCHER *et al.,* 2017) | Água superficial | CMZ | 144 [A] | 100 mL | SPE | UPLC/MS-MS |
| (BAZ-LOMBA, REID & THOMAS, 2016) | Esgoto bruto | CMZ | 140 | 100 mL | SPE | UHPLC-QTOF |
| | | CNZ | 1140 | | | |
| | | APZ | 160 | | | |
| (GURKE *et al*., 2015) | Esgoto bruto e tratado | AMT | 50 | 1000 mL | SPE | LC–MS/MS |
| | | CMZ | | | | |
| | | FLX | | | | |
| | | SER | | | | |
| (PETRIE *et al*., 2016) | ETE e Água superficial | FLX | 50 | 50 e 100 mL | SPE | UPLC/MS-MS |
| | | CMZ | | | | |
| | | ESC | | | | |
| | | SER | | | | |
| (SHENG *et al.,* 2014) | ETE | ESC | 110 | 300 mL | SPE | UHPLC–MS/MS |
| | | SER | 60 | | | |
| | | FLX | 500 | | | |
| | | TZ | 60 | | | |
| | | BP | 130 | | | |
| | | AMT | 100 | | | |
| | | NT | 100 | | | |
| (DE SOUSA *et al*., 2018) | Água superficial | CMZ | 3,75 | 500 mL | SPE | UPLC/MS-MS |
| (NUNES, DOS ANJOS & QUINAIS 2018) | Água superficial | CNZ | 0,65 µg $L^{-1}$ | NI | - | Voltametria |
| (NUNES *et al*., 2015) | Água superficial | APZ | 0,4 µg $L^{-1}$ | NI | - | Voltametria |
| (DE ALMEIDA et al., 2015) | Efluente hospitalar | CMZ | 50 | 100 mL | SPE | LC-QqLIT-MS |
| (DE ALMEIDA et al., 2013) | Efluente hospitalar | CMZ | 50 | 100 mL | SPE | LC–MS/MS-QTrap |
| | | CNZ | 30 | | | |

[A] LOD e LOQ não reportados, apresentada menor concentração detectada. NI: não informado.

Em geral, dos trabalhos reportados na Tabela 4, os volumes de amostra utilizados estão na faixa de 100 a 1000 mL, uma vez que empregam a SPE *off-line* para concentrar os analitos anterior a quantificação.

## 1.9. Motivação para o desenvolvimento desta dissertação

Visto a toxicidade e a periculosidade que a presença de psicoativos representa para o meio aquático, torna-se imprescindível e necessário estudos de ocorrência e monitoramento. A ausência de dados, principalmente no Brasil, mostra uma cegueira quanto ao impacto dessas substâncias em matrizes ambientais. Conforme apresentado no tópico 1.5 (Ocorrência de antidepressivos no ambiente), são escassos os trabalhos que investigam a ocorrência de antidepressivos, ansiolíticos e reguladores de humor em ambientes aquáticos. Além disso, sabe-se que as estações de tratamento de água e esgoto são os principais meios de entrada desses compostos no ambiente, porém, no Brasil, as informações são escassas sobre a real eficiência dos processos aplicados na remoção desses compostos. Os estudos que reportam dados de ocorrência no Brasil, se referem somente à água superficial, sendo assim, a avaliação de eficiência de remoção de psicoativos para estações de tratamento no Brasil ainda são inexistentes.

Métodos multi-resíduos são complexos e trabalhosos, o número de compostos incluídos no método deve ser limitado para se manter a sua sensibilidade e seletividade, para assim, atingir os limites de quantificação desejados. Não é claro na literatura, em estudos de ocorrência a forma que os fármacos são selecionados em estudos de monitoramento. No entanto, visto o grande número de IFA disponíveis em produtos farmacêuticos, torna-se necessário uma priorização prévia dos analitos que serão incluídos nos estudos de ocorrência. Os procedimentos de concentração que empregam SPE *off-line* são custosas, demandam tempo de preparo de amostras e requerem grande volume de amostra para a detecção dos analitos em nível traço (ng $L^{-1}$), o que torna oneroso para ser aplicado em rotina de monitoramento, sendo necessário o aprimoramento das técnicas analíticas visando atingir os limites de quantificação de fármacos em matrizes complexas e diminuir o tempo com preparo de amostras e quantificação dos analitos de interesse.

Com o presente trabalho esperou-se desenvolver uma metodologia para a priorização dos fármacos psicoativos que poderiam causar maior impacto no ambiente aquático. Para a priorização, um levantamento dos principais trabalhos de ocorrência foi correlacionado com uma estimativa do consumo de fármacos psicoativos e taxa de metabolização. Dados de consumo por habitante são inexistentes, fez-se então uma estimativa desse consumo convertendo dados do comércio em farmácias em kg $d^{-1}$. Após definir a priorização dos fármacos psicoativos, um método analítico empregando SPE *on-line* à UHPLC-MS/MS e visando nível traço (ng $L^{-1}$) foi desenvolvido e validado. Com o método validado, campanhas de coleta de amostras no Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas foram realizadas buscando avaliar a ocorrência desses fármacos em água superficial. Por fim, a ocorrência de psicoativos foi investigada na entrada e saída de cinco estações de tratamento de esgoto representativas de Campinas. As cinco estações investigadas possuem forma de operação distintas. Uma vez completo esse estudo espera-se responder o quão impactante é o nível de concentração desses IFA no ambiente aquático da região de Campinas.

# 2 – Objetivos

## 2. Objetivos

O objetivo geral deste trabalho consistiu em avaliar a presença de insumos farmacêuticos psicoativos em estações de tratamento de esgoto e águas superficiais. Para tal, foram propostos cinco objetivos específicos:

1. Priorização dos fármacos psicoativos a serem monitorados;
2. Desenvolvimento de método analítico para determinação dos fármacos psicoativos priorizados, usando a extração em fase sólida *on-line* a cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (SPE-UHPLC-MS/MS);
3. Validação do método desenvolvido;
4. Avaliação da presença dos fármacos psicoativos priorizados em água superficial (Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas);
5. Avaliação da presença de fármacos psicoativos priorizados no esgoto bruto e tratado de cinco estações de tratamento de esgoto da cidade de Campinas, SP, e avaliação da remoção desses compostos pelos processos empregados nestas ETE.
6. Calcular a concentração prevista no ambiente (PEC) e comparar com a concentração medida (MEC)

# 3 – Materiais e métodos

# 3. Materiais e métodos

## 3.1. Priorização dos fármacos

Visto o amplo número de IFA disponíveis no mercado torna-se necessário, para este estudo de monitoramento e ocorrência de fármacos psicoativos em matrizes aquáticas, uma priorização prévia. A priorização tem o objetivo identificar os IFA que possam apresentar maior risco ao ambiente (devido ao seu uso e ocorrência) e, dessa forma, direcionar os ensaios de laboratório e monitoramento ambiental.

A priorização foi feita em base nos dados de ocorrência de psicoativos na literatura especializada (*Pharmaceuticals in the Environment,* publicada pela Agência Ambiental da Alemanha - UBA, *Umweltsbundesamt*), experiência prévia do grupo de pesquisa, dados da comercialização de medicamentos no Brasil obtidos junto a IQVIA e fármacos psicoativos de maior consumo no Hospital das Clínicas da Unicamp, Campinas, SP.

A base de dados *Pharmaceuticals in the Environment,* publicada pela Agência Ambiental da Alemanha (UBA, *Umweltsbundesamt*), compila dados de 1016 artigos publicados em revista de seletiva política editorial e foi utilizada para o levantamento de dados sobre a ocorrência e monitoramento de resíduos de fármacos em águas superficiais, subterrâneas, efluentes de estações de tratamento de água e esgoto, e solo. Destaca-se ainda, que esse banco de dados abrange publicações de 71 países entre os anos de 2000 a 2016.

Os dados obtidos junto a IQVIA são apresentados em unidades de caixas de medicamentos comercializados. Esses dados foram usados para estimar o consumo em toneladas de cada psicoativo utilizando a maior quantidade de comprimidos em uma caixa e a maior dosagem de cada comprimido.

Por fim, os princípios ativos selecionados para este estudo foram selecionados a partir da correlação dos fatores citados acima.

## 3.2. Equipamentos e colunas cromatográficas

- Cromatógrafo a líquido de ultra-alta eficiência (Waters ACQUITY UPLC®) com espectrômetro de massas Waters tipo quadrupolo sequencial Xevo TQD Zspray (UHPLC-MS/MS) constituído de: fonte de eletronebulização (ESI, *electrospray ionization source*), sistema de bomba quaternário H-Class, forno para coluna e injetor automático FTN I-Class. Sistema de SPE *on-line*: sistema de bomba binária I-Class e sistema de gerenciamento de coluna (*Column Manager*). Software MassLynx versão 4.1;

- Balança analítica Sartorius modelo CPA 225D com precisão de ± 0,01 mg (Alemanha);
- Sonda multiparâmetros Horiba Model U-5000G (Japão);
- Coluna cromatográfica Waters Acquity UPLC® BEH C18 (2,1 x 50 mm x 1,7 µm);
- Coluna cromatográfica Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm);
- Coluna para SPE on-line Waters Oasis HLB (2,1 x 30 mm x 10 µm);
- Coluna para SPE on-line Waters Xbridge C8 (2,1 x 30 mm x 10 µm).

### 3.3. Reagentes, solventes e padrões analíticos

- Reagentes: ácido fórmico e formiato de amônio (Merck, Alemanha, >98%);
- Solventes: metanol e acetonitrila (Tedia, EUA), ambos graus HPLC.
- Padrões analíticos: alprazolam 1,0 mg $mL^{-1}$ em metanol (Cerilliant, EUA); clonazepam 1,0 mg $mL^{-1}$ em metanol (Cerilliant, EUA); carbamazepina 1,0 mg $mL^{-1}$ em metanol (Cerilliant, EUA); trazodona (Matrix Scientific, EUA); fluoxetina (TargetMol, EUA); bupropiona hidrocloreto (TargetMol, EUA); amitriptilina hidrocloreto (TargetMol, EUA); sertralina hidrocloreto (TargetMol, EUA); nortriptilina hidrocloreto (TargetMol, EUA); escitalopram (Toronto Research Chemicals, Canadá); fluoxetina-$d_6$ 1,0 mg $mL^{-1}$ em metanol (Cerilliant, EUA); carbamazepina-$d_{10}$ 1,0 mg $mL^{-1}$ em metanol (Cerilliant, EUA); clonazepam-$d_4$ 1,0 mg $mL^{-1}$ em metanol (Cerilliant, EUA) (todos com pureza > 95%).

Os padrões sólidos foram solubilizados em metanol e todas as soluções foram armazenadas sob refrigeração.

Soluções estoque na concentração de 0,10 mg $mL^{-1}$ de alprazolam, clonazepam e carbamazepina foram preparadas pela diluição dos padrões em metanol. Soluções estoque de trazodona, fluoxetina, bupropiona, amitriptilina,

sertralina e nortriptilina foram preparadas na concentração de 1,0 mg $mL^{-1}$ em metanol. As soluções intermediárias foram preparadas na concentração de 100 µg $mL^{-1}$ a partir da diluição da solução estoque, usando água ultrapura como solvente. As soluções de trabalho foram preparadas diariamente, a partir da solução intermediária, preparadas em água purificada em sistema Mill-Q (Millipore, EUA).

## 3.4. Determinação das condições do espectrômetro de massas sequencial

Para se determinar as condições ótimas de ionização dos analitos no espectrômetro de massas sequencial foram feitas infusões individuais, em metanol, dos padrões analíticos de alprazolam, amitriptilina, bupropiona, carbamazepina, clonazepam, escitalopram, fluoxetina, nortriptilina, sertralina,trazodona na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$. As infusões foram realizadas no modo combinado com a fase móvel, uma mistura isocrática de água e metanol (50:50, v/v) contendo 0,1% ácido fórmico em água. A fonte de ionização ESI foi operada no modo positivo. Foram avaliados a energia do capilar (kV), a temperatura de dessolvatação (ºC), a vazão do gás de dessolvatação (L $h^{-1}$), a voltagem do cone (V), a energia de colisão (V) e o *dwell time* (s). A quantificação foi realizada pelo modo de reações selecionadas (SRM), sendo para cada analito selecionado um íon produto para a sua quantificação (*m/z*) e um íon produto para confirmação (*m/z*) de sua identidade.

## 3.5. Determinação das condições cromatográficas (UHPLC-MS/MS)

### 3.5.1. Avaliação da fase estacionária e fase móvel

Para a avaliação da fase estacionária foram testadas duas colunas cromatográficas: Waters Acquity UPLC BEH C18 (2,1 x 50 mm x 1,7 µm) e Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm), com os analitos na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$. No estudo da composição da fase móvel foram testados os aditivos ácido fórmico e formiato de amônio e os solventes água, metanol e acetonitrila, em diferentes proporções. Uma vez estabelecidas as condições relativas a fase estacionária e fase móvel, a vazão da fase móvel foi então avaliada.

### 3.5.2. Determinação dos parâmetros do SPE on-line

Para definição dos parâmetros do sistema SPE *on-line* foram avaliadas as colunas de extração: Oasis HLB (2,1 x 30 mm x 10 µm) (Waters, Irlanda) e Xbridge C8 (2,1 x 30 mm x 10 µm) (Waters, Irlanda). Também foram avaliadas a composição da fase móvel (água, metanol e acetonitrila) para carregamento da amostra, bem como diferentes proporções da fase móvel, de 100-75% de água. Ambos estudos foram realizados com a solução mix dos analitos na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$ e condições de eluição isocrática de uma mistura água:acetonitrila 10:90, v/v.

O volume de carregamento foi estudado mantendo a vazão fixa em 1,0 mL $min^{-1}$ e alterando o tempo de carregamento em 0,5, 0,75 e 1,0 min. Diferentes volumes de injeção da amostra também foram estudados, sendo avaliados 10, 50, 100, 150, 200 e 250 µL. Essas avaliações foram realizadas com os analitos na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$, utilizando uma fase móvel com eluição isocrática de uma mistura água:acetonitrila, 10:90, v/v, e contendo 0,1% de ácido fórmico como aditivo para favorecer a ionização dos analitos.

## 3.6. Validação do método SPE-UHPLC-MS/MS

O método analítico foi validado de acordo com os seguintes parâmetros: faixa linear, linearidade, precisão (intra- e inter-ensaios), exatidão, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ).

### 3.6.1. Faixa linear e linearidade

A faixa linear de trabalho foi estabelecida pelo estudo da linearidade. Para tanto, curvas analíticas no solvente (água), em triplicata de preparo independente, foram feitas em dez níveis de concentração para cada analito (50, 100, 250, 500, 750, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000 ng $L^{-1}$). Para os analitos fluoxetina, trazodona, escitalopram, nortriptilina, amitriptilina e sertralina foi feita a correção com o padrão interno fluoxetina-$d_6$ (1500 ng $L^{-1}$); para carbamazepina e alprazolam foi utilizado o padrão interno carbamazepina-$d_{10}$ (500 ng $L^{-1}$); e para clonazepam e bupropiona foi utilizado como padrão interno clonazepam-$d_4$ (500 ng $L^{-1}$).

A linearidade foi avaliada pela representação gráfica da razão da área do analito pela área do padrão interno em função da concentração; gráfico de resíduos, e a respectiva avaliação estatística; equação da reta de regressão de y em x, previsto pelo método dos mínimos quadrados ordinários. A homocedasticidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Levene. Para a verificação de possíveis *outliers* foi utilizado o teste de resíduos padronizados de Jacknife, respeitando o limite máximo de exclusão de pontos (22,2%).

### 3.6.2. Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

O LOQ foi determinado pela análise das amostras com concentrações decrescentes até que se obtivesse uma relação sinal:ruído no cromatograma igual a 10:1 e para o LOD 3:1. O valor do sinal:ruído foi determinado utilizado o software Masslynks versão 4.1.

### 3.6.3. Precisão

A precisão do método foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV) em dois níveis de concentração (100 e 3000 ng $L^{-1}$). Para a precisão intra-dia, seis amostras (n = 6) em cada nível foram preparadas e analisadas no mesmo dia, no mesmo equipamento e pelo mesmo analista. Para a precisão inter-dia outras 12 amostras foram preparadas e analisadas em dois dias diferentes, no mesmo equipamento e pelo mesmo analista (6 para cada dia, n = 18).

### 3.6.4. Exatidão

A exatidão foi também avaliada em dois níveis de concentração (100 e 3000 ng $L^{-1}$) e obtida por ensaio de recuperação, sendo expressa pela diferença entre a média da concentração de seis amostras preparadas e a concentração teórica no nível avaliado, conforme Equação 3:

$$Recuperação\ \% = \frac{concentração\ média\ experimental}{concentração\ teórica}\ x\ 100 \quad \text{(Equação 3)}$$

## 3.7. Monitoramento de fármacos psicoativos em águas superficiais

O Rio Atibaia foi selecionado como campo amostral visto que este é responsável por suprir aproximadamente 94% do abastecimento de água da cidade de Campinas. O rio Atibaia é formado pela confluência dos rios Atibainha e Cachoeira entre os municípios de Bom Jesus dos Perdões e Atibaia, tem uma extensão de 165 km e uma vazão de 12 $m^3 s^{-1}$. O Rio Atibaia atravessa as cidades de Atibaia, Itatiba, Campinas, Paulínia e Americana. Foram realizadas campanhas de coleta nas datas de 30/08/2018; 30/10/2018; 04/02/2019; 13/03/2019 e 16/04/2019. As amostras de água superficial foram coletadas em sete pontos do Rio Atibaia e em um ponto no tributário Ribeirão Anhumas (Figura 7, item 3.8), cuja bacia abrange um terço do território municipal de Campinas.

Os pontos de coleta foram selecionados de modo que o espaçamento entre eles fosse de 20 a 30 km, priorizando-se locais de fácil acesso. O primeiro ponto de amostragem (Ponto 1) situou-se em uma zona rural próximo a formação do Rio Atibaia e o último ponto (7) na zona urbana da cidade de Paulínia. Ainda, foi coletada água no tributário Ribeirão Anhumas antes do desague no Rio Atibaia. Neste ponto de coleta, o Ribeirão Anhumas já recebeu o aporte do Ribeirão das Pedras, o qual passa pelo distrito de Barão Geraldo.

As amostras de água foram coletadas seguindo recomendações da norma NBR-9.898. Foram feitas 3 coletas, com uma garrafa de Van Dorn de volume de 500 mL para a obtenção de uma amostra composta de 1,5 L. Esta amostra foi homogeneizada e duas alíquotas de 50 mL (*i.e.*, amostragem em duplicata) transferidas para tubos Falcon estéreis. As amostras foram alocadas em uma caixa de gelo e transportadas para o laboratório. Em cada ponto amostral foram medidos, por uso da sonda multiparâmetros, os seguintes parâmetros físico-químicos: pH, temperatura, oxigênio dissolvido, turbidez, condutividade e potencial redox.

No laboratório, volumes de 10 mL das amostras de água coletadas foram adicionadas dos padrões internos fluoxetina-$d_6$, 1500 ng $L^{-1}$; carbamazepina-$d_{10}$, 500 ng $L^{-1}$ e clonazepam-$d_4$, 500 ng $L^{-1}$. Após a homogeneização as amostras foram filtradas (0,22 µm) e estocadas em vial âmbar, sob refrigeração na geladeira até o momento da análise (período inferior a três dias).

## 3.8. Monitoramento de fármacos psicoativos em estações de tratamento de efluentes

Para esse trabalho foram selecionadas cinco estações de tratamento de esgoto representativas da cidade de Campinas, identificadas na Figura 7 e Tabela 5.

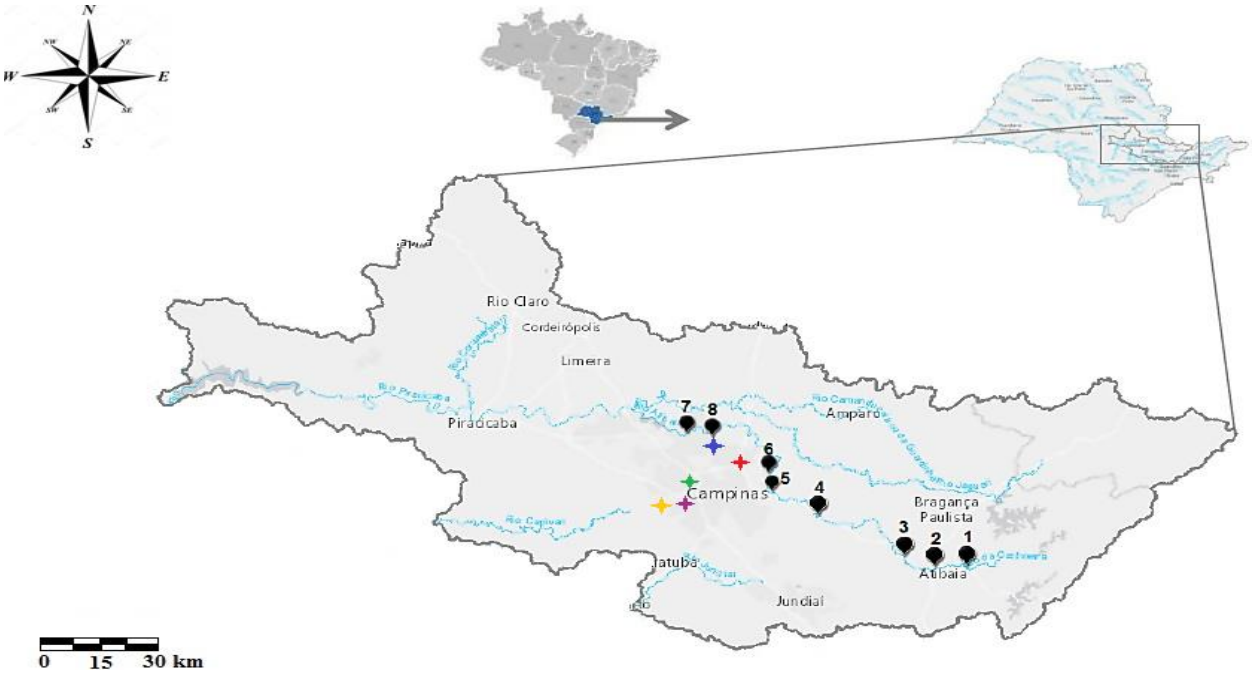



**Figura 7.** Identificação dos pontos de coleta ao longo do Rio Atibaia, Ribeirão Anhumas e as ETE.
**Locais de coleta:** 1 – Ponto 1 Rio Atibaia (23°6'21"S 46°29'35"W); 2 – Ponto 2 Rio Atibaia (23°6'30"S 46°34'11"W); 3 – Ponto 3 Rio Atibaia (23°4'32"S 46°38'32"W); 4 – Ponto 4 Rio Atibaia (22°58'12"S 46°50'50"W); 5 – Ponto 5 Rio Atibaia (22°54'40"S 46°57'22"W); 6 – Ponto 6 Rio Atibaia (22°52'43"S 46°57'57"W); 7 – Ponto 7 Rio Atibaia (22°46'11"S 47°5'43"W); 8 – Ponto 8 Ribeirão Anhumas (22°46'11"S 47°5'43"W). **ETE:** += ETE B; += ETE A; + = ETE D; += ETE C; += ETE E.

Nestas ETE foram coletadas amostras de esgoto bruto e após cada etapa do tratamento. As amostragens foram realizadas a cada 2 h, em um período de 24 h formando uma amostra composta. A amostra composta foi homogeneizada e duas alíquotas de 50 mL transferidas para tubo Falcon e mantidas sob refrigeração. As amostras foram transportadas para o laboratório em caixas de gelo. Para cada ponto de coleta, foi retirada uma alíquota de 10 mL, a qual foi adicionada dos padrões internos fluoxetina-$d_6$, 1500 ng $L^{-1}$; carbamazepina-$d_{10}$, 500 ng $L^{-1}$ e clonazepam-$d_4$, 500 ng $L^{-1}$. As amostras foram homogeneizadas, filtradas (0,22 µm) e estocadas em

vial âmbar sob refrigeração na geladeira até o momento da análise (período inferior a três dias).

Devido a complexidade do processo de amostragem, as amostras nos tanques de filtro biológico aerado submerso da ETE C e tanque de aeração da ETE E foram coletadas de forma instantânea (100 mL). Estas amostras foram processadas do mesmo modo que descrito anteriormente.

**Tabela 5.** Dados sobre as estações de tratamento de efluentes.

| Estação | População atendida[a] | Vazão média[a] ($L\ s^{-1}$) | Processos | Corpo Receptor |
|---|---|---|---|---|
| **A** | 203.000 | 633 | UASB, flotadores | Ribeirão Anhumas |
| **B** | 44.000 | 98 | UASB, filtros biológicos percoladores, decantação secundária | Ribeirão Anhumas |
| **C** | 55.000 | 90 | UASB, câmara anóxica, filtro biológico aerado submerso | Ribeirão do Piçarrão |
| **D** | 288.000 | 491 | UASB, lodos ativados, decantação | Ribeirão do Piçarrão |
| **E** | 182.000 | 286 | Lodo ativado, tanque anaeróbio, tanque anóxico, tanque de aeração e membranas filtrantes | Rio Capivari |

UASB: digestor anaeróbio de fluxo ascendente. [a]: Dados obtidos junto a SANASA (referente a média de janeiro a maio de 2019).

# 4- Resultados e discussões

# 4. Resultados e discussões

## 4.1 Priorização dos fármacos

A priorização dos fármacos a serem monitorados foi o desafio inicial do trabalho e, pela falta de dados oficiais de consumo disponibilizados pelas agências governamentais competentes, foi em um primeiro momento baseada em dados da literatura e um questionário (Anexo I) elaborado e disponibilizado no período de 19/08/2017 a 07/09/2017, pelas redes sociais com grupos de alunos da Unicamp. Foram recebidas 191 respostas, sendo que 75,8% dos entrevistados informaram de terem utilizado algum medicamento psicoativo em sua vida. Foi definido inicialmente que seriam selecionados 10 IFA psicoativos.

No Brasil poucos estudos reportam a ocorrência e monitoramento de psicoativos em águas superficiais, entre esses, alprazolam e clonazepam no Paraná (NUNES *et al.,* 2018; NUNES *et al.,* 2015), clonazepam no Rio de Janeiro (FERREIRA, 2014), carbamazepina e clonazepam no Rio Grande do Sul (DE ALMEIDA *et al*., 2013, 2015) e carbamazepina em São Paulo (CAMPANHA *et al*., 2015; DE SOUSA *et al.,* 2018).

A partir das informações iniciais compiladas foram selecionadas as seguintes substâncias: alprazolam, escitalopram, sertralina, amitriptilina, fluoxetina, carbamazepina, bupropiona, trazodona, nortriptilina e clonazepam.

No entanto, posteriormente, em 2018, foram obtidos dados de consumo de caixas de medicamentos junto a IQVIA, que audita as vendas de medicamentos nas gôndolas farmacêuticas. Esses dados permitiram fazer uma estimativa do consumo (em kg) de cada IFA no Brasil. Em posse a esses dados foi realizada uma estimativa dos 25 IFA psicoativos mais consumidos no Brasil.

Para calcular a quantidade, em kg, consumida desses psicoativos foram levados em consideração a quantidade de comprimidos em uma caixa e o teor do IFA em cada comprimido. Esses valores foram obtidos a partir das bulas dos medicamentos registrados na ANVISA. Para estimar o consumo foi traçado o pior cenário, ou seja, maior quantidade de comprimidos por caixa disponibilizado pela empresa farmacêutica e na maior dosagem (Equação 3). Os valores estimados estão apresentados na Tabela 6.

$$Consumo = comprimido_{caixa} \times Teor_{IFA} \times Caixas \times 10^{-9} \quad \textbf{(Equação 3)}$$

Onde,

Consumo: consumo do IFA no Brasil (toneladas);

$Comprimido_{caixa}$: número máximo de comprimidos em uma caixa do medicamento contendo o IFA;

$Teor_{IFA}$: teor do IFA (em mg) por comprimido na sua maior dosagem;

Caixas: número de caixas comercializadas contendo o IFA.

$10^{-9}$: fator de conversão de mg para toneladas.

**Tabela 6.** Dados de consumo dos 25 psicoativos mais consumidos no Brasil.

| Fármaco | Unidades vendidas no Brasil (caixas)[1] | Maior quantidade de comprimidos por caixa | Maior teor do IFA (mg) | Consumo no Brasil 2018 (toneladas) |
|---|---|---|---|---|
| Clonazepam | 26.965.289 | 30 | 2 | 1,6 |
| Alprazolam | 13.195.326 | 30 | 2 | 0,8 |
| Escitalopram | 10.852.868 | 28 | 20 | 6,1 |
| Sertralina | 9.636.908 | 30 | 50 | 14,5 |
| Amitriptilina | 8.265.629 | 200 | 75 | 123,9 |
| Fluoxetina | 8.054.380 | 60 | 20 | 9,6 |
| Quetiapina | 7.115.193 | 30 | 200 | 43,0 |
| Bromazepam | 6.894.595 | 30 | 6 | 1,2 |
| Carbamazepina | 6.185.991 | 30 | 200 | 37,1 |
| Risperidona | 5.592.575 | 20 | 3 | 0,3 |
| Venlafaxina | 5.361.432 | 30 | 150 | 24,0 |
| Paroxetina | 5.320.964 | 60 | 20 | 6,4 |
| Citalopram | 5.051.155 | 30 | 20 | 3,0 |
| Duloxetina | 4.460.523 | 60 | 60 | 16,0 |
| Diazepam | 4.394.869 | 30 | 10 | 1,3 |
| Lorazepam | 3.354.226 | 20 | 2 | 0,1 |
| Lamotrigina | 3.008.975 | 30 | 100 | 9,0 |
| Bupropiona | 2.734.820 | 60 | 150 | 24,6 |
| Trazodona | 2.639.651 | 60 | 100 | 15,8 |
| Oxcarbazepina | 2.240.308 | 60 | 600 | 81,0 |
| Haloperidol | 2.186.687 | 20 | 5 | 0,2 |
| Clobazam | 2.079.291 | 20 | 20 | 0,8 |
| Valproato semisódio | 1.959.907 | 50 | 500 | 49,0 |
| Nortriptilina | 1.793.719 | 30 | 75 | 4,0 |
| Mirtazapina | 1.767.936 | 10 | 45 | 0,8 |

[1] IQVIA, 2018.

A seleção dos IFA tinha como objetivo prever a ocorrência destes em esgoto bruto e águas superficiais. Selecionar os fármacos apenas pelo consumo não seria apropriado, uma vez que a fonte principal do aporte destes em esgoto é pela fração excretada pelo ser humano. De modo geral, os fármacos antipsicóticos são compostos lipofílicos e muito metabolizados, e apenas uma pequena fração é excretada na forma original. Levar em consideração a taxa de excreção, portanto, é um fator importante a ser considerado na priorização. Por outro lado, trabalhos publicados na literatura e dados de ocorrência podem ser úteis na priorização porque também utilizaram algum critério de seleção dos IFA a serem monitorados.

Considerando todos esses aspectos foi realizado um ranqueamento (atribuição de pontuação) levando em consideração:

1. Dados de consumo;
2. Taxa de excreção da molécula inalterada;
3. Número de artigos que relata a ocorrência do IFA (base de dados, UBA, *Umweltsbundesamt*);
4. Número de países que reportam a ocorrência de um dos 25 IFA em água superficial e/ou esgoto.

Os valores empregados para a classificação estão apresentados na Tabela 7 e os dados completos compilados na Tabela 8. A pontuação final foi calculada pela soma dos quatro valores, no entanto, atribuindo um peso 2 para o valor referente aos dados de consumo, uma vez que esse seria o dado de maior relevância.

**Tabela 7.** Valores atribuídos para o ranqueamento.

| **Dados de consumo** | | **Taxa de excreção** | | **Número de trabalhos** | | **Número de países que apresentam dados de ocorrência** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Toneladas** | **Valor** | **%** | **Valor** | **Número** | **Valor** | **Número** | **Valor** |
| **< 10 ton** | 1 | <10 | 1 | 1 - 9 | 1 | 1 - 9 | 1 |
| **10 – 20 ton** | 2 | >10 | 2 | 10 - 19 | 2 | 10 - 19 | 2 |
| **20 – 50 ton** | 3 | | | 20 - 29 | 3 | 20 - 29 | 3 |
| **50 – 100 ton** | 4 | | | 30 - 39 | 4 | 30 - 39 | 4 |
| **>100 ton** | 5 | | | >40 | 5 | >40 | 5 |

**Tabela 8.** Dados empregados para a classificação dos psicoativos com os dez primeiros destacados em azul.

| Fármaco | Consumo no Brasil 2018 (toneladas[3]) | Nº de trabalhos que apresentam dados de ocorrência | Nº de países que apresentam dados de ocorrência | Pontuação | Classificação |
|---|---|---|---|---|---|
| **Clonazepam** | 1,6 | 3 | 5 | 5 | **19** |
| **Alprazolam** | 0,8 | 11 | 7 | 7 | **12** |
| **Escitalopram** | 6,1 | 1 | 1 | 5 | **20** |
| **Sertralina** | 14,5 | 15 | 23 | 10 | **7** |
| **Amitriptilina** | 123,9 | 20 | 27 | 16 | **1** |
| **Fluoxetina** | 9,6 | 73 | 29 | 12 | **3** |
| **Quetiapina** | 43,0 | 0 | 0 | 7 | **13** |
| **Bromazepam** | 1,2 | 5 | 3 | 9 | **10** |
| **Carbamazepina** | 37,1 | 83 | 50 | 13 | **2** |
| **Risperidona** | 0,3 | 8 | 21 | 8 | **11** |
| **Venlafaxina** | 24,0 | 15 | 22 | 12 | **4** |
| **Paroxetina** | 6,4 | 22 | 9 | 7 | **14** |
| **Citalopram** | 3,0 | 31 | 23 | 11 | **5** |
| **Duloxetina** | 16,0 | 3 | 2 | 7 | **15** |
| **Diazepam** | 1,3 | 52 | 15 | 10 | **8** |
| **Lorazepam** | 0,1 | 25 | 5 | 7 | **16** |
| **Lamotrigina** | 9,0 | 3 | 3 | 5 | **21** |
| **Bupropiona** | 24,6 | 5 | 20 | 10 | **9** |
| **Trazodona** | 15,8 | 2 | 2 | 11 | **6** |
| **Oxcarbazepina** | 81,0 | 2 | 2 | 5 | **22** |
| **Haloperidol** | 0,2 | 5 | 19 | 6 | **18** |
| **Clobazam** | 0,8 | - | - | 3 | **25** |
| **Valproato semissódio** | 49,0 | - | - | 7 | **17** |
| **Nortriptilina** | 4,0 | 3 | 2 | 5 | **23** |
| **Mirtazapina** | 0,8 | 3 | 1 | 5 | **24** |

As dez substâncias classificadas por esse método incluem seis das substâncias selecionadas no início deste trabalho. Não foram incluídas o bromazepam, a venlafaxina, o citalopram e o diazepam que são IFA importantes a serem considerados para o monitoramento em trabalhos futuros. Por outro lado, foram incluídos o alprazolam (classificação 12), o clonazepam (classificação 19), o escitalopram (classificação 20), e a nortriptilina (classificação 23). A nortriptilina é um metabólito da amitriptilina e, portanto, seu monitoramento é justificado. Um documento expedido pela Secretária de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (SVS/MS 344/1998), no ano de 2012, destaca uma lista dos IFA psicoativos mais comercializados no estado de São Paulo no período de 2009 – 2011, sendo esses: alprazolam, sertralina, amitriptilina, fluoxetina e bupropiona (ANVISA, 2012).

De modo geral, o consumo de psicoativos tem sido crescente e preocupante, como exemplo, quando comparado o consumo de fluoxetina (8.054.380 unidades de caixas, com aproximadamente 20 comprimidos por caixa) com o consumo de ibuprofeno (61.794.405 unidades de caixas, com aproximadamente 10 cápsulas por caixa), um analgésico e anti-inflamatório. A fluoxetina representa 1/8 em unidades de caixas vendidas em comparação ao ibuprofeno, sendo que o ibuprofeno pode ser consumido sem prescrição médica.

A administração de medicamentos em hospitais representa uma significativa parcela do consumo de psicoativos. Um levantamento do consumo de psicoativos no Hospital de Clínicas da UNICAMP, no ano de 2012, relata o amplo consumo de antidepressivos, como a amitriptilina (86,9 kg) e o antiepilético carbamazepina (66,3 kg), além de reportar o consumo de clonazepam, sertralina, fluoxetina, diazepam, lorazepam e clobazam (Hospital de Clínicas – UNICAMP[2]).

## 4.2. Determinação das condições do espectrômetro de massas sequencial

A otimização dos parâmetros de ionização no espectrômetro de massas foi realizada pela infusão direta de cada analito selecionado para o presente estudo. O modo de ionização foi realizado por ESI, onde inicialmente, a fase móvel contendo o analito de interesse atravessa um capilar, no qual é aplicado uma diferença de potencial. O solvente é evaporado por um gás de secagem (nitrogênio) aquecido. Na fonte de ESI deve ocorrer a ionização dos analitos e a remoção do solvente. Por fim, os íons formados são direcionados ao analisador de massas através do cone (ARDREY, 2003; CHIARADIA, COLLINS & JARDIM, 2008). Neste trabalho a fonte de ionização foi operada no modo positivo (ESI+).

O analisador utilizado neste trabalho é um triplo quadrupolo, que apesar de receber esse nome é constituído por apenas dois quadrupolos separados por uma câmara de colisão. A análise quantitativa foi realizada no modo de reações selecionadas. Neste modo, o primeiro quadrupolo atua na seleção do íon precursor de interesse que será direcionado para a câmara de colisão, no qual o íon é fragmentado com o auxílio de argônio (Ar). No terceiro quadrupolo, ocorre a seleção

[2] Dados obtidos diretamente do Hospital das Clínicas da UNICAMP, referente a 2012

dos fragmentos de interesse (CHIARADIA, COLLINS & JARDIM, 2008; IGLESIAS, 2018).

Foi selecionado um íon produto para a quantificação e um íon produto para a confirmação de identidade de cada analito. A otimização das condições do MS/MS visa a obtenção da melhor resposta em relação ao sinal-ruído, melhorando assim a detectabilidade do analito e, em consequência, os limites de detecção do método.

Na Tabela 9 são apresentados os íons de quantificação e confirmação de identidade de cada psicoativo selecionado na etapa de priorização, além dos valores estabelecidos para voltagem do cone e energia de colisão para cada analito. Também são apresentadas as condições para os padrões internos deuterados.

A voltagem do capilar, a temperatura da fonte, a temperatura de dessolvatação, vazão do gás de dessolvatação e vazão do gás do cone foram definidos e fixados em 0,9 kV, 150 ºC, 350 ºC, 500 L $h^{-1}$ e 50 L $h^{-1}$, respectivamente, uma vez que estes valores representaram um compromisso satisfatório para promover a ionização de todos os analitos que eram foco do estudo de monitoração.

**Tabela 9.** Parâmetros de operação do espectrômetro de massas.

| Analito | Íon precursor (*m/z*) | Voltagem do cone (V) | Íon de quantificação (*m/z*) / Energia de colisão (V) | Íons de identificação (*m/z*) / Energia de colisão (V) | Dwell Time (s) |
|---|---|---|---|---|---|
| **APZ** | 309,1 | 40 | 281 (27) | 205 (38); 274 (27) | 0,015 |
| **AMT** | 278,1 | 37 | 91 (22) | 233 (17) | 0,015 |
| **BP** | 340,1 | 23 | 184 (13) | 131 (25); 166 (16) | 0,020 |
| **CMZ** | 237,1 | 38 | 194 (20) | 179 (32); 165 (40) | 0,030 |
| **CNZ** | 316,0 | 52 | 270 (25) | 214 (38); 241 (34) | 0,070 |
| **ESC** | 325,2 | 43 | 109 (24) | 262 (19) | 0,007 |
| **FLX** | 310,1 | 20 | 44 (12) | 148 (9) | 0,020 |
| **NT** | 264,4 | 32 | 233 (14) | 191 (21); 218 (23) | 0,015 |
| **SER** | 306,1 | 14 | 159 (26) | 129 (23) | 0,020 |
| **TZ** | 372,8 | 47 | 176 (24) | 148 (33) | 0,010 |
| **CMZ-$d_{10}$** | 247,0 | 38 | 204 (20) | 187 (36); 174 (42) | 0,030 |
| **CNZ-$d_4$** | 320,0 | 52 | 274 (25) | 218 (38); 245 (34) | 0,070 |
| **FLX-$d_6$** | 316,0 | 25 | 44 (12) | 154 (8) | 0,020 |

FLX: fluoxetina; CMZ: carbamazepina; CNZ: clonazepam; BP: bupropiona; TZ: trazodona; ESC: escitalopram; NT: nortriptilina; AMT: amitriptilina; SER: sertralina; APZ: alprazolam.

## 4.3. Determinação das condições cromatográficas

Para estabelecer as condições cromatográficas para a separação dos analitos foram avaliadas duas colunas (BEH C18 e CSH C18) e composição da fase móvel. A definição da fase estacionária foi realizada a partir da comparação da resposta em área de uma solução contendo uma mistura dos analitos na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$, utilizando uma fase móvel com eluição isocrática água:metanol 10:90, v/v, e contendo 0,1% de ácido fórmico como aditivo para favorecer a ionização dos analitos.

Foi observado que, quando utilizada a fase estacionária BEH C18 (Figura 8, cromatogramas B), os picos referentes aos analitos carbamazepina, alprazolam e clonazepam, estavam alargados, sem simetria e com cauda, quando comparados com os obtidos para a fase estacionária CSH C18 (Figura 8, cromatogramas A). Os cromatogramas obtidos com as duas fases estacionárias estão apresentados na Figura 8.

Os analitos bupropiona, trazodona, escitalopram, nortriptilina, amitriptilina, fluoxetina e sertralina apresentaram picos com cauda quando utilizado a coluna BEH C18 (Figura 8, cromatogramas B) para a separação cromatográfica, provavelmente devido a grupos silanóis residuais na fase estacionária capazes de promover uma interação ácido-base, além do processo de partição. Portanto, foi escolhida a coluna Waters Acquity CSH C18 (Figura 8, cromatogramas A) por apresentar melhor eficiência na separação dos analitos e por apresentar picos cromatográficos de melhor simetria. A coluna Waters Acquity CSH C18 possui uma superfície hibrida de cargas e apresenta, segundo o fabricante, melhor performance quando utilizada fase móvel de baixa força iônica.

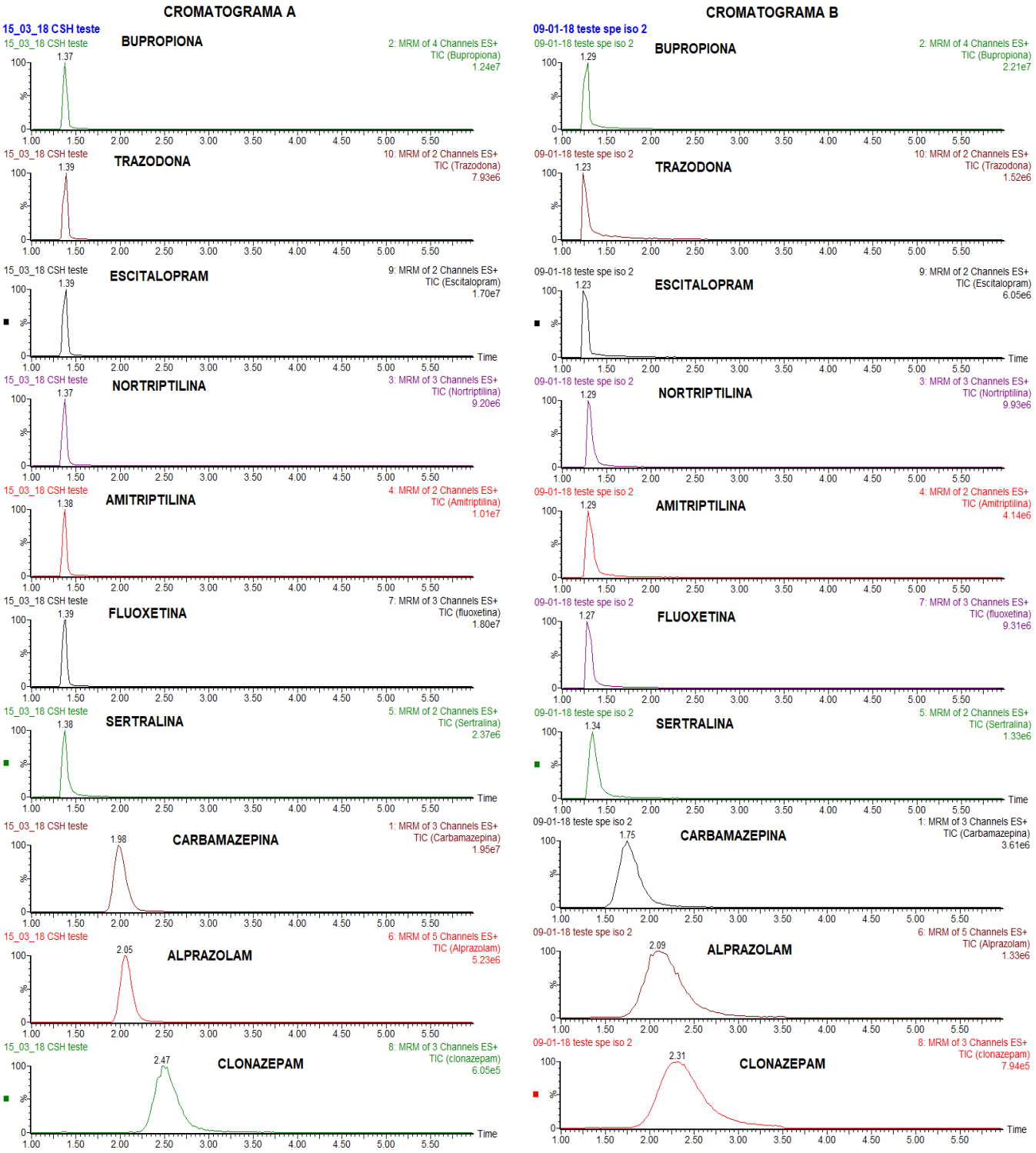



**Figura 8.** Cromatogramas extraídos para os analitos em estudo. Coluna Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm) (cromatogramas A) e coluna Waters Acquity UPLC® BEH C18 (cromatogramas B). Solução Mix na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$. Fase móvel**:** $H_2O$ com 0,1% ácido fórmico: $CH_3OH$ (10:90, v/v) na BQ, vazão de 0,3 mL $min^{-1}$. Temperatura da coluna: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min.

Uma vez que na literatura não há um consenso sobre qual o melhor aditivo a ser usado na fase móvel para promover a ionização dos analitos em estudo na fonte de ESI (CASTRO *et al.*, 2008; FISICHELLA *et al.*, 2014; PICHINI *et al.*, 2016), neste trabalho foi avaliado o uso de formiato de amônio (5 mmol $L^{-1}$) e ácido fórmico (0,1%, v/v). As áreas dos picos cromatográficos obtidas para cada um dos analitos em função dos aditivos testados estão apresentadas na Figura 9.

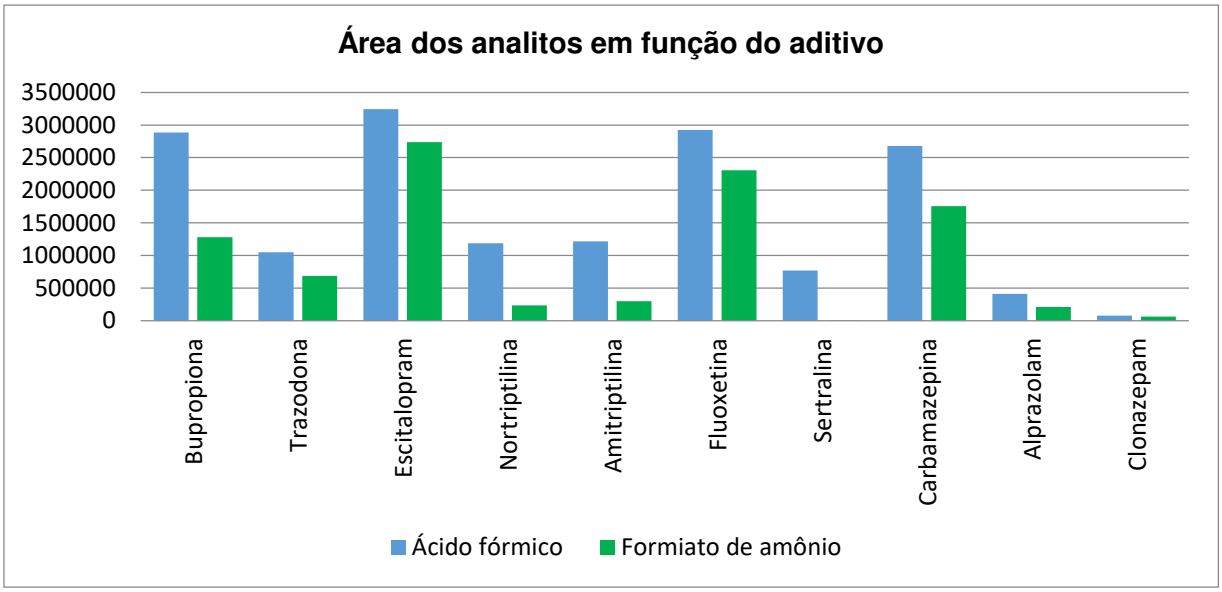



**Figura 9.** Gráfico de área dos picos em função dos aditivos ácido fórmico ou formiato de amônio. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18 (2,1 x 100 mm x 1,7 µm), aditivo da fase móvel: 0,1% ácido fórmico ou 5 mmol $L^{-1}$ de formiato de amônio. Fase móvel: $H_2O$+aditivo:$CH_3CN$ (10:90 v/v). Vazão da fase móvel: 0,30 mL $min^{-1}$. Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min.

Para todos os analitos foi observada uma maior resposta em área empregando o ácido fórmico do que o formiato de amônio. Além disso, o ácido fórmico permitiu a obtenção de picos cromatográficos de simetria adequada.

A melhor proporção entre os solventes aquoso e orgânico (metanol e/ou acetonitrila) foi avaliada na fase móvel eluente. O metanol, um solvente mais fraco em força cromatográfica quando comparado com a acetonitrila, não favoreceu a separação dos analitos e foi observada a presença de cauda nos picos. Sendo assim, foi escolhida a acetonitrila como solvente orgânico para o desenvolvimento das próximas etapas do método.

## 4.4. Determinação dos parâmetros do SPE *on-line*

Com o aditivo e a composição da fase móvel definidos, posteriormente foram avaliados os parâmetros para o sistema SPE *on-line*. O método de SPE *on-line* a UHPLC-MS/MS tem como objetivo fazer uma limpeza da matriz da amostra e promover a concentração dos analitos. Devido a serem consideradas concentrações na ordem de ng $L^{-1}$, a etapa de concentração dos analitos apresenta vantagem no sistema de SPE *on-line* em comparação com o SPE tradicional (*off-line*), devido à automatização do processo, rapidez de análise e menor custo. As colunas de SPE permitem um número elevado de injeções sem perda apreciável de eficiência. Resultados obtidos no grupo indicam mais de 2500 injeções em uma mesma coluna sem perda de eficiência.

O sistema de SPE-UHPLC é operado por duas válvulas (Figura 10) e duas bombas, uma quaternária (BQ) e outra binária (BB). Quando as válvulas operam no modo 1:1 (Figura 10A) ocorre o carregamento da amostra na coluna de SPE pela fase contida na BQ.

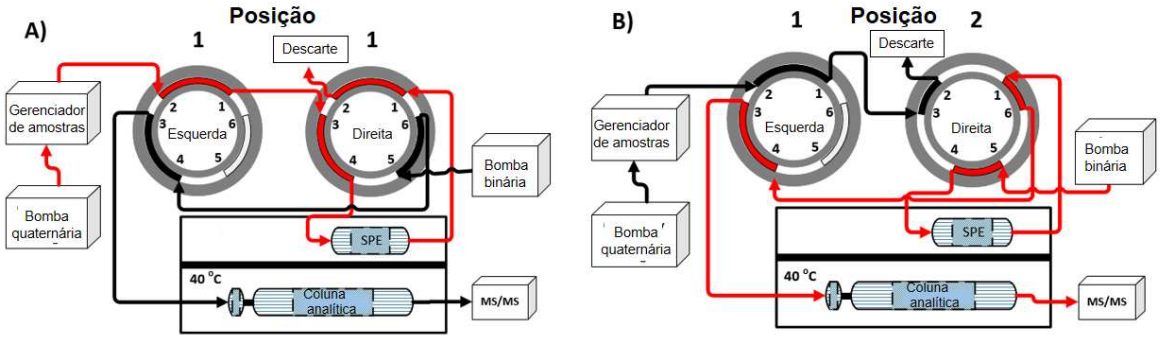



**Figura 10.** Posição das válvulas no modo SPE *on-line*, para o carregamento (A) e eluição (B) dos analitos. Figura adaptada de TETZNER *et al.*, 2016.

Posterior a etapa de carregamento, ocorre a eluição dos analitos. Para tanto, a posição das válvulas é trocada para a posição 1:2 (Figura 10B). O solvente propulsionado pela bomba quaternária (BQ) é direcionado para o descarte e a fase móvel propulsionada pela bomba binária (BB) carrega os compostos retidos na coluna de SPE para a coluna analítica e por fim para o espectrômetro de massas.

### 4.4.1. Avaliação da fase sorvente da coluna de SPE *on-line*

Na etapa de otimização das condições para o SPE *on-line* foram avaliados dois tipos de sorventes: Oasis HLB e Xbridge $C_8$. O sorvente Oasis HLB possui grupos hidrofílicos e lipofílicos que permite a retenção de analitos de diferentes polaridades; já o sorvente Xbridge $C_8$, apresenta menor capacidade de retenção de analitos mais polares. Para a escolha da coluna de SPE foi avaliada a resposta de cada analito em área de pico cromatográfico, nas duas colunas selecionadas. Os valores de área do pico para cada analito em função da fase sorvente da coluna de SPE *on-line* estão apresentados na Figura 11.

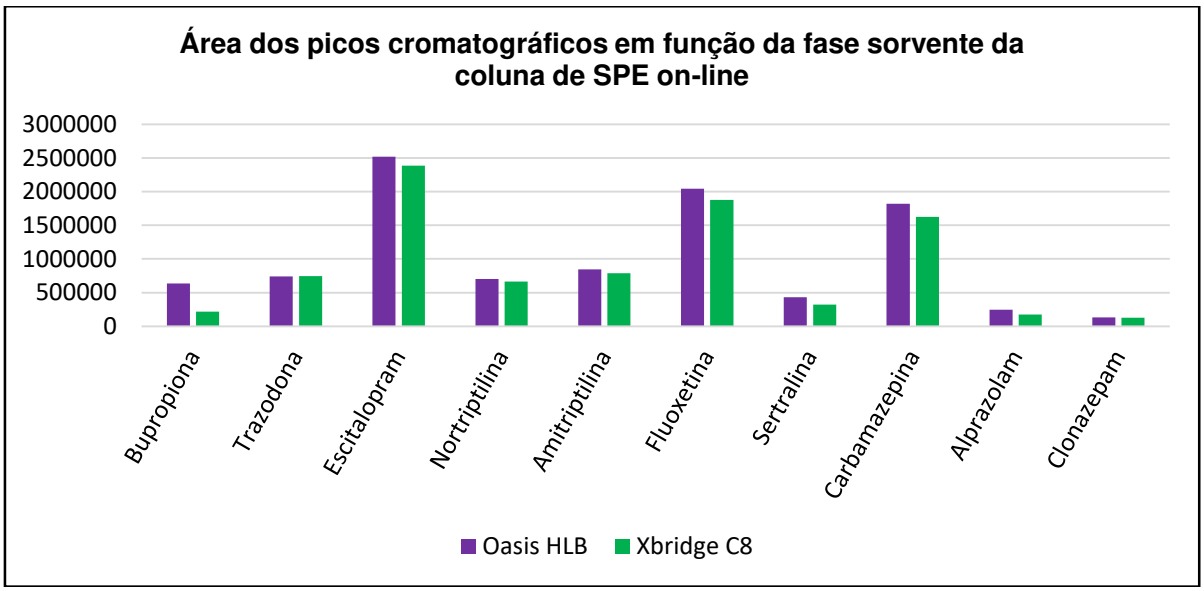



**Figura 11.** Área dos picos cromatográficos em função da coluna de SPE *on-line*. Mix na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18, fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB com eluição isocrática (10:90, v/v). Vazão na BB: 0,3 mL $min^{-1}$. Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$ com eluição isocrática (10:90, v/v). Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min.

Quando comparadas as respostas dos analitos nas duas colunas de SPE, verificou-se que não existe uma diferença significativa na resposta em área do pico cromatográfico, exceto para o primeiro analito de caráter mais polar, a bupropiona. Esse composto apresentou uma resposta em área bem menor na fase Xbridge $C_8$ do que na fase Oasis HLB, indicando que há perda do analito durante o carregamento da

amostra. Sendo assim, foi escolhido a coluna de SPE Oasis HLB para a concentração dos analitos anterior a etapa de quantificação.

A etapa seguinte compreendeu na avaliação da proporção do solvente (acetonitrila) na fase aquosa de carregamento da amostra almejando a utilização de uma maior porcentagem de solvente orgânico, visando uma limpeza (*clean up*) mais efetiva da amostra sem que ocorresse a perda dos analitos na coluna de SPE. A Figura 12 apresenta a área dos picos cromatográficos de cada analito conforme a variação da fase móvel de carregamento.

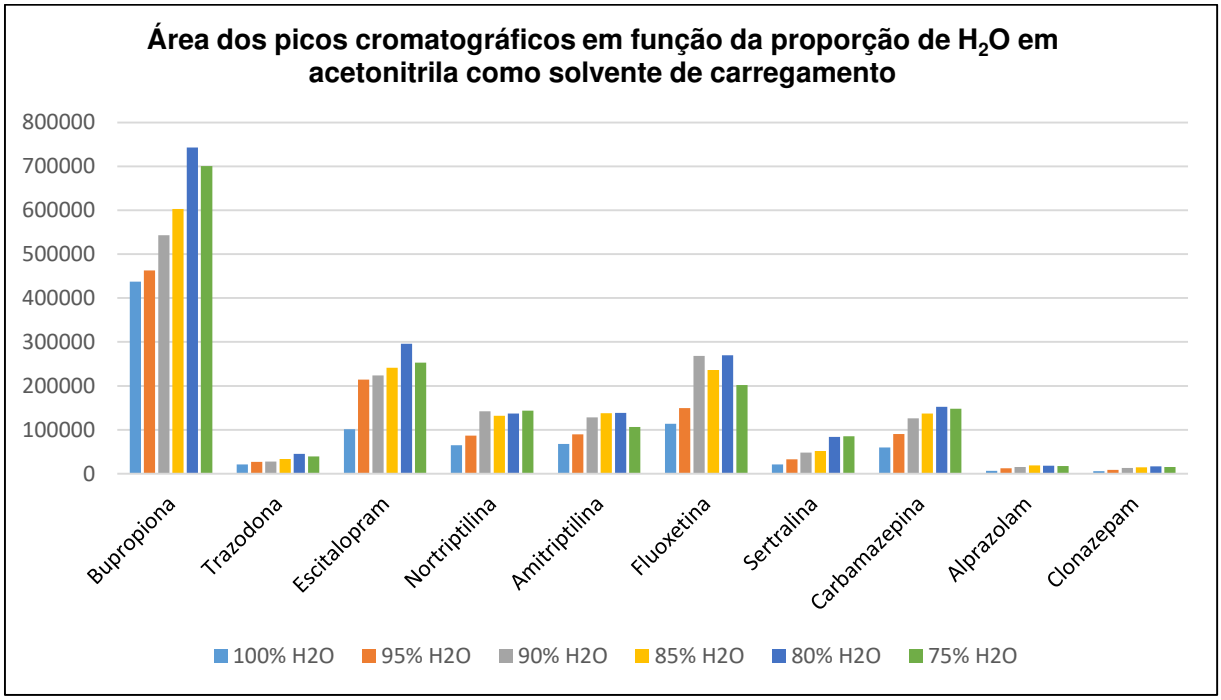



**Figura 12.** Área dos picos cromatográficos em função da proporção de $H_2O$ em acetonitrila no solvente de carregamento da amostra. Mix na concentração de 1,0 µg $mL^{-1}$. Coluna de SPE *on-line* Waters Oasis HLB. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18, fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB. Vazão na BB: 0,3 mL $min^{-1}$. Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$ com eluição isocrática (10:90, v/v). Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min.

A proporção de $H_2O$:$CH_3CN$ 80:20 v/v levou a maior área dos picos cromatográficos para todos os analitos (Figura 12). Proporções maiores de acetonitrila na fase levam a uma perda dos analitos na etapa de carregamento e proporções maiores de água ocasionam, além de uma área menor um alargamento dos picos com perda de simetria. Sendo assim, a fase de carregamento da amostra em $H_2O$:$CH_3CN$ 80:20 v/v foi selecionada para os estudos posteriores.

### 4.4.2. Avaliação do volume de solvente para o carregamento da amostra

Em outra etapa foi estudado o volume de solvente para o carregamento e limpeza da amostra na coluna de SPE. Esse volume é controlado pelo tempo da posição das válvulas e vazão do solvente. A vazão foi fixada em 1,0 mL $min^{-1}$ e a válvula mantida na posição 1-1 durante 0,50, 0,75 ou 1,0 minutos, o que leva a volumes de 0,50; 0,75 e 1,0 mL, respectivamente. Os resultados para essas três condições estão apresentados na Figura 13.

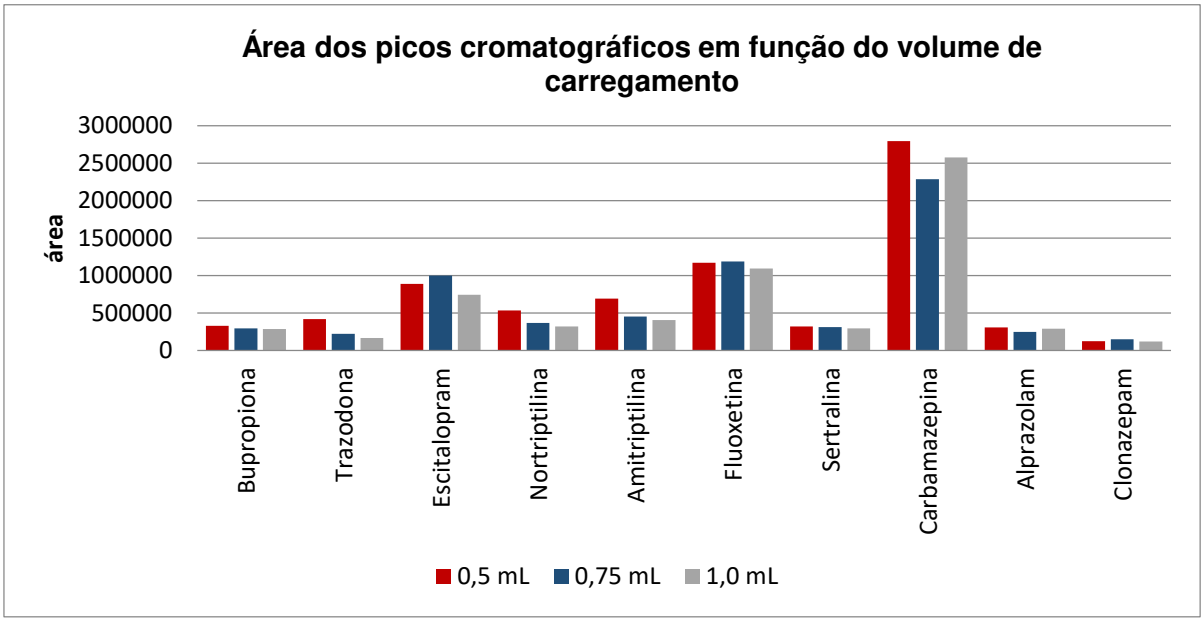



**Figura 13.** Gráfico de área dos picos em função do volume de solvente utilizado para carregamento e limpeza da amostra na coluna de SPE *on-line* Waters Oasis HLB. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18, fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB. Vazão na BB: 0,3 mL $min^{-1}$. Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$ (80:20, v/v), eluição isocrática Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 2 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min.

Com a variação do volume de solvente utilizado para carregar a amostra na coluna de SPE, foi observado que não houve variação significativa na área da bupropiona, fluoxetina, sertralina e clonazepam, quando se aumentou a quantidade de solvente. Para os analitos trazodona, nortriptilina, amitriptilina, carbamazepina e alprazolam observou-se que houve uma diminuição de área quando comparados os volumes de 0,5 e 0,75 mL. Volumes de 1,0 mL levaram a perda da maioria dos analitos na etapa de carregamento. Como compromisso, foi selecionado um volume de 0,50 mL para o carregamento da amostra.

### 4.4.3. Avaliação do volume de injeção da amostra

No sistema de SPE *on-line* utilizado nesse estudo, teoricamente quanto maior o volume de amostra injetada, maior deveria ser a resposta em área do pico cromatográfico (se não houver perda do analito na etapa de carregamento), e logo, maior a sensibilidade do método.

O sistema cromatográfico utilizado nesse trabalho possui um sistema "*flow t needle*" FTN I-Class de injeção automática. Nesse sistema, ao contrário dos sistemas convencionais onde a amostra fica armazenado em uma alça de amostragem, a amostra fica armazenada na própria agulha de injeção (30 µL) a qual delimita o volume máximo que pode ser injetado no sistema. Nesta configuração um extensor da agulha de injeção do sistema cromatográfico de 250 µL foi acoplado no final da agulha para possibilitar um volume de injeção superior a 30 µL (*i.e.,* volume máximo de injeção possível = 280 µL).

Conforme os resultados da avaliação de volume de amostra apresentados na Figura 14, um volume de injeção superior a 200 µL resultou na perda de sinal em área de todos os analitos estudados, indicando que a retenção na fase sorvente do SPE foi prejudicada. Ainda, a construção de curvas analíticas com um volume de injeção de 200 µL levou a uma linearidade maior do que aquela obtida com um volume de 250 µL. Sendo assim, o volume de 200 µL foi selecionado para o desenvolvimento do método analítico.

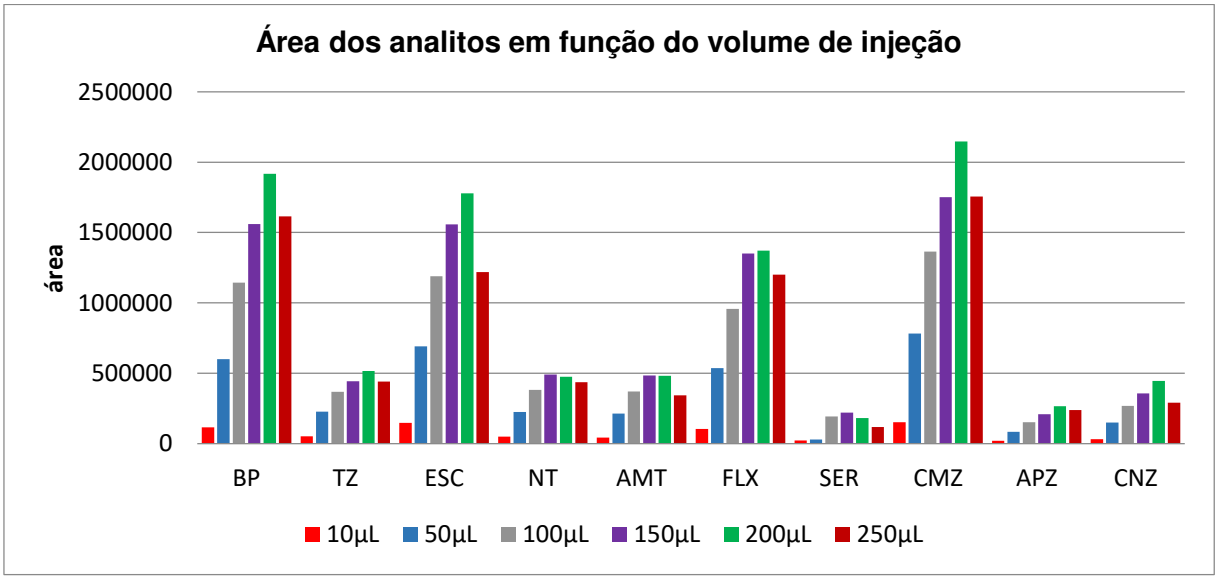



**Figura 14.** Gráfico de área dos picos em função dos diferentes volumes de injeção de 10, 50, 100, 150, 200 e 250 µL. Coluna de SPE *on-line* Waters Oasis HLB. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18, fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB. Vazão na BB: 0,30

mL $min^{-1}$. Gradiente de eluição: Inicial (75:25, v/v), 0,55 min (70:30, v/v), 3,0 min (30:70, v/v), 5,5 min (75:25, v/v). Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$, eluição isocrática (80:20, v/v). Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Tempo da corrida cromatográfica: 7 min. FLX: fluoxetina; CMZ: carbamazepina; CNZ: clonazepam; BP: bupropiona; TZ: trazodona; ESC: escitalopram; NT: nortriptilina; AMT: amitriptilina; SER: sertralina; APZ: alprazolam.

Por fim, foi testada a vazão da fase móvel propulsionada pela bomba binária para a eluição dos analitos na coluna analítica de UHPLC. Foram avaliadas vazões de 0,30; 0,35 e 0,40 mL $min^{-1}$. A vazão de 0,35 mL $min^{-1}$ levou a picos mais estreitos, sem comprometer a separação dos analitos na coluna. No entanto, cabe ressaltar que não é necessário obter separação de todos os analitos, pois no modo de aquisição SRM do espectrômetro de massas é possível que o detector monitore mais de uma transição simultaneamente sem perda apreciável de sensibilidade, visto que a espectrometria de massas operado nestas condições é uma técnica seletiva e confirmatória.

As condições finais definidas para a operação do SPE-UHPLC-MS/MS foram: temperatura da coluna analítica de 40 ºC, volume de injeção de 200 µL, vazão de carregamento da amostra no SPE *on-line* de 1,00 mL $min^{-1}$ (bomba quaternária), vazão para a eluição e separação cromatográfica de 0,35 mL $min^{-1}$ (bomba binária), levando a um tempo de corrida cromatográfica de 6 min. A bomba quaternária é responsável pelo carregamento dos analitos na coluna de SPE *on-line*, este carregamento ocorre por 0,5 min com as válvulas na posição 1:1 (Figura 10A), empregando uma fase móvel em modo isocrático de $H_2O$:$CH_3CN$ 80:20 v/v. Em 0,55 min a válvula é deslocada para a posição 1:2 (Figura 10B) promovendo a eluição dos analitos, empregando 0,1% de ácido fórmico em água e acetonitrila com o seguinte gradiente de eluição pela bomba binária: inicial (75:25 v/v), 0,55 min (70:30 v/v), 3,0 min (30:70 v/v), 5,5 min (75:25 v/v). Em 3,0 min a válvula retorna para a posição 1:1 para limpeza da coluna de SPE *on-line* pela bomba quaternária. Um cromatograma representativo nas condições otimizadas está apresentado na Figura 15.

Uma vez que todas as condições cromatográficas foram estabelecidas para a quantificação dos analitos por SPE-UHPLC-MS/MS, foi realizada a validação do método.

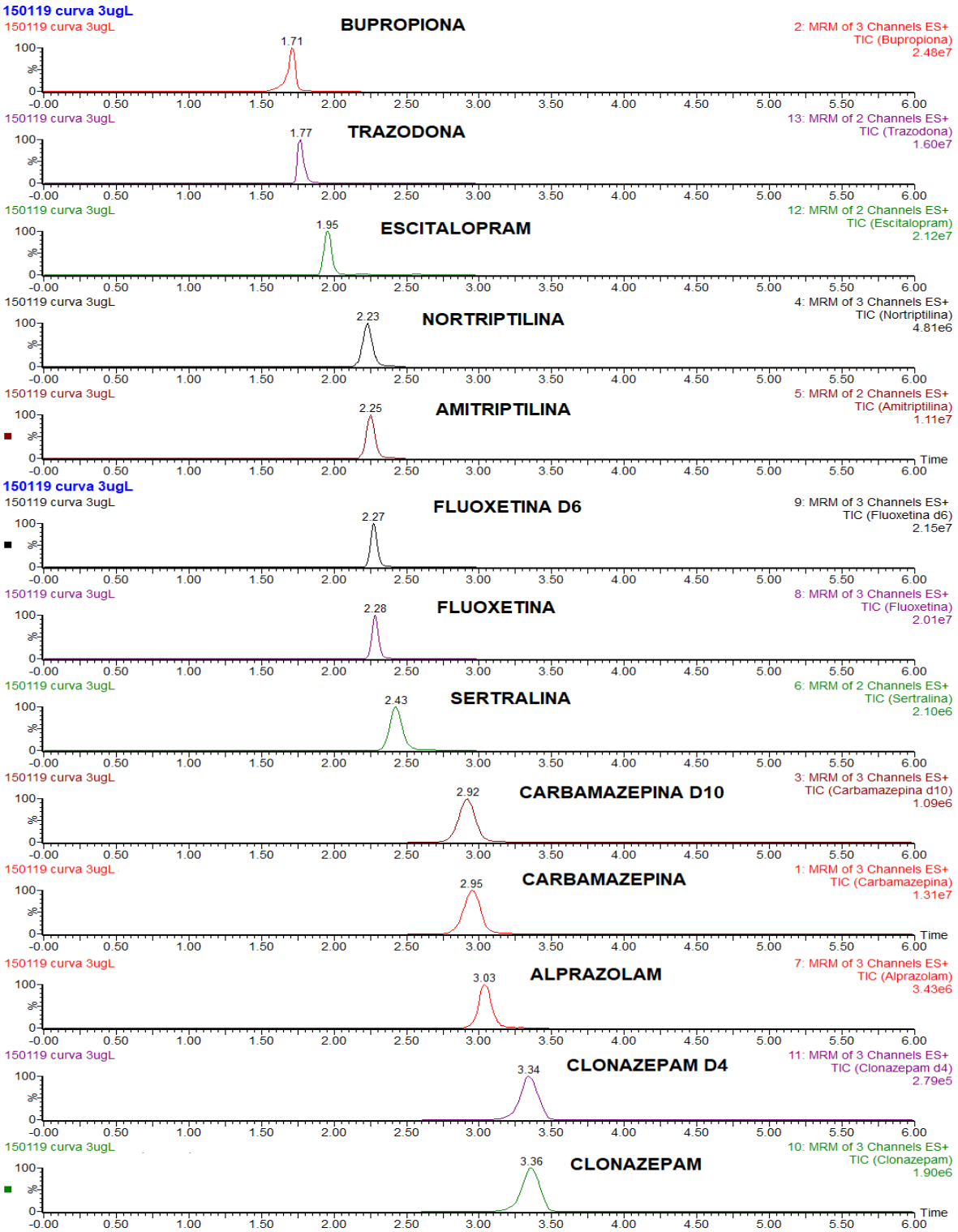



**Figura 15.** Cromatogramas SRM característicos obtidos para os analitos em estudo e padrões internos na concentração de 3,0 µg $L^{-1}$. Coluna de SPE *on-line* Waters Oasis HLB. Coluna analítica Waters Acquity CSH C18, fase móvel: 0,1% ácido fórmico em $H_2O$:$CH_3CN$ na BB. Vazão na BB: 0,35 mL $min^{-1}$. Gradiente de eluição: Inicial (75:25 v/v), 0,55 min (70:30 v/v), 3,0 min (30:70 v/v), 5,5 min (75:25 v/v). Vazão na BQ: 1,0 mL $min^{-1}$. Fase móvel na BQ: $H_2O$:$CH_3CN$, eluição isocrática (80:20, v/v). Temperatura da coluna analítica: 40 ºC. Volume de injeção: 200 µL. Tempo da corrida cromatográfica: 6 min.

## 4.5. Validação do método

O método desenvolvido para a determinação de antipsicóticos por SPE-UHPLC-MS/MS foi validado pela avaliação dos seguintes parâmetros: faixa linear, linearidade, limites de quantificação e de detecção, precisão intra- e inter- dias e exatidão.

### 4.5.1. Faixa linear e linearidade

A faixa linear e linearidade foram avaliadas pelas curvas analíticas construídas no solvente (água). Foram preparados 10 níveis de concentração para cada analito (50, 100, 250, 500, 750, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, 5.000 ng $L^{-1}$), em triplicatas independentes. Para os analitos fluoxetina, trazodona, escitalopram, nortriptilina, amitriptilina e sertralina foi feita a correção com o padrão interno fluoxetina-$d_6$ (1500 ng $L^{-1}$); para carbamazepina e alprazolam foi utilizado o padrão interno carbamazepina-$d_{10}$ (500 ng $L^{-1}$); e para clonazepam e bupropiona foi utilizado como padrão interno o clonazepam-$d_4$ (500 ng $L^{-1}$).

As curvas analíticas foram plotadas por razão da área do analito pela área do padrão interno versus concentração do analito. A Figura 16 apresenta as curvas analíticas para cada analito bem como os respectivos gráficos de resíduos.

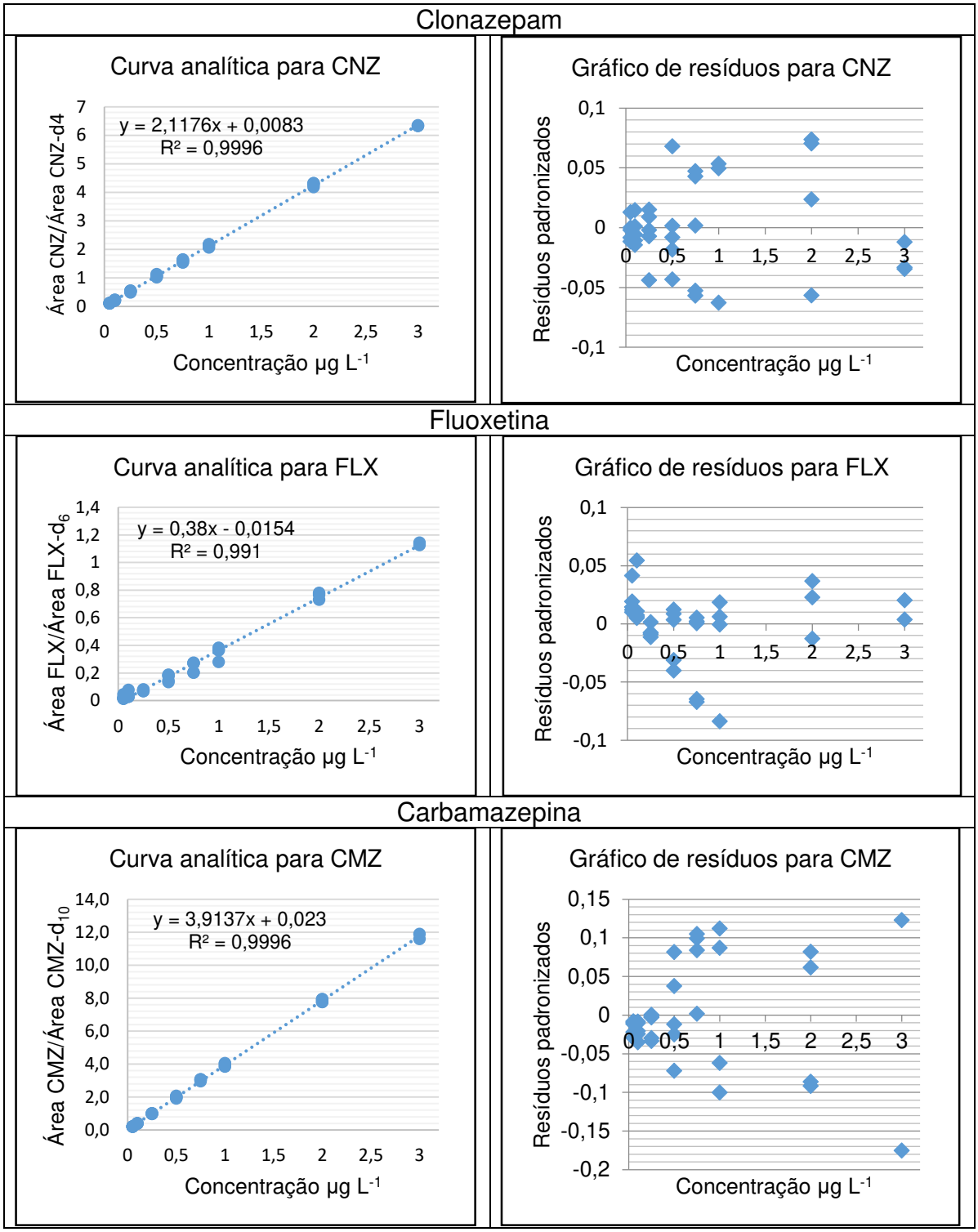



**Figura 16.** Curvas analíticas para os psicoativos de interesse, com seus respectivos gráficos de resíduos.

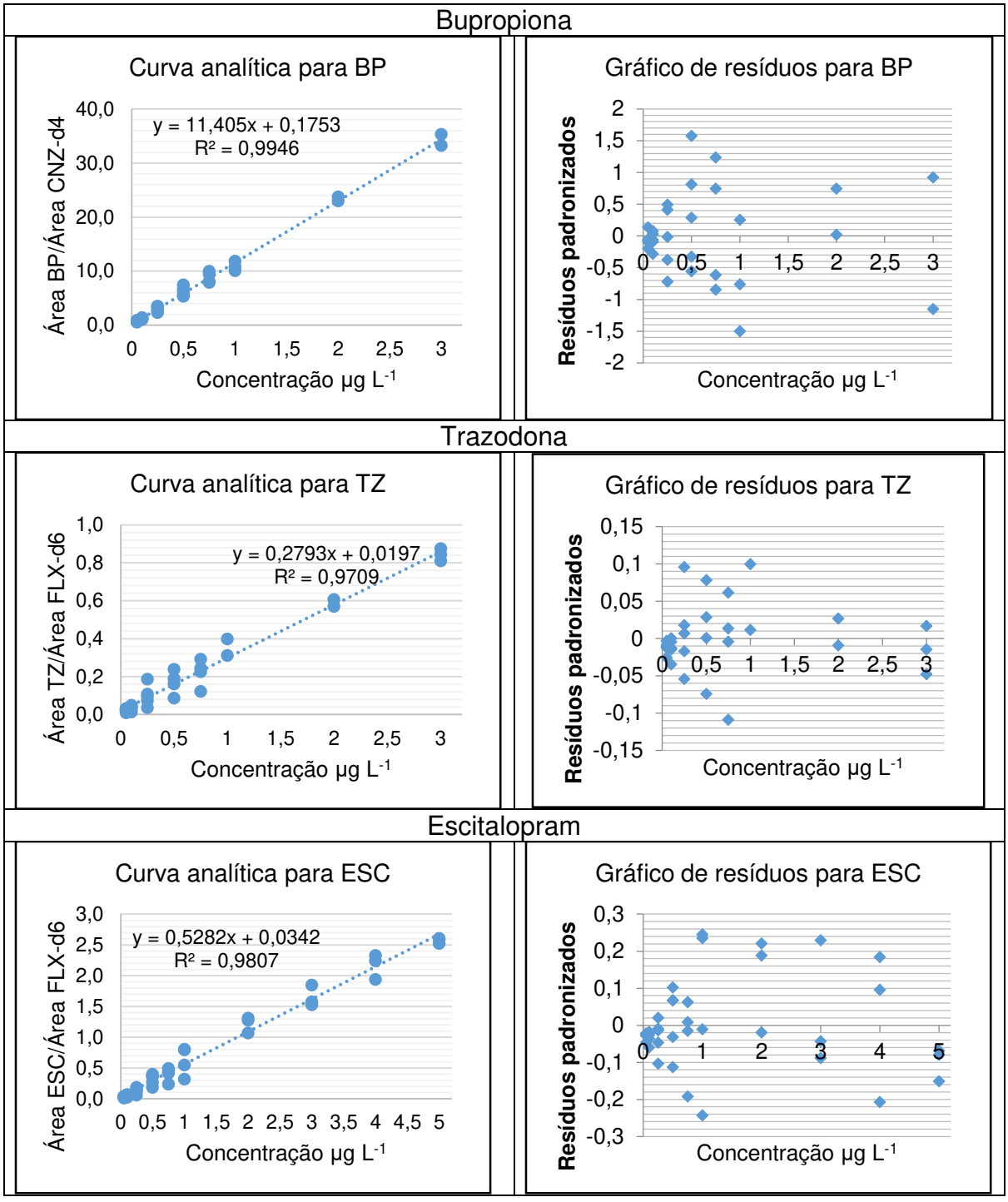



**Figura 16 (continuação).** Curvas analíticas para os psicoativos de interesse, com seus respectivos gráficos de resíduos.

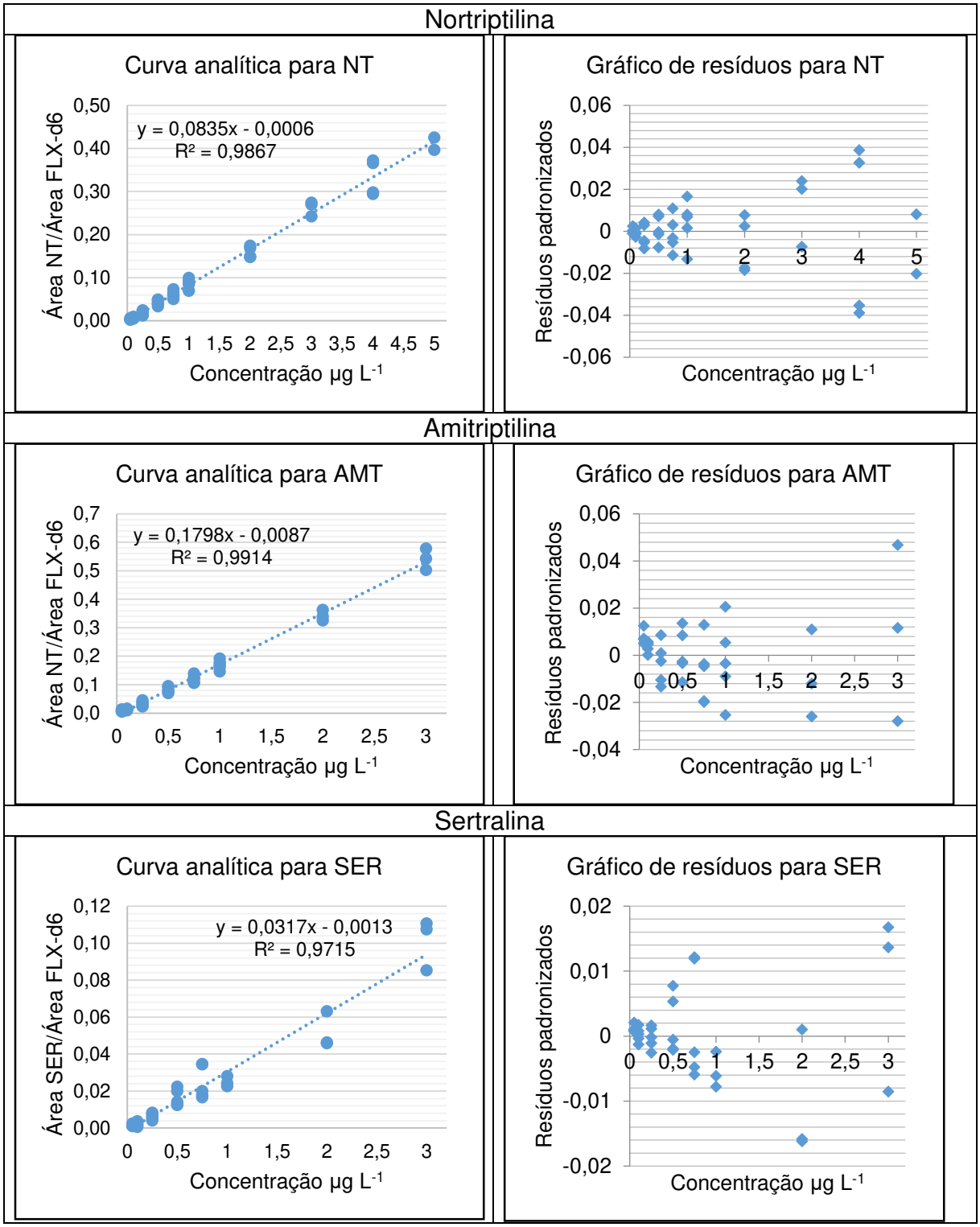



**Figura 16 (continuação).** Curvas analíticas para os psicoativos de interesse, com seus respectivos gráficos de resíduos.

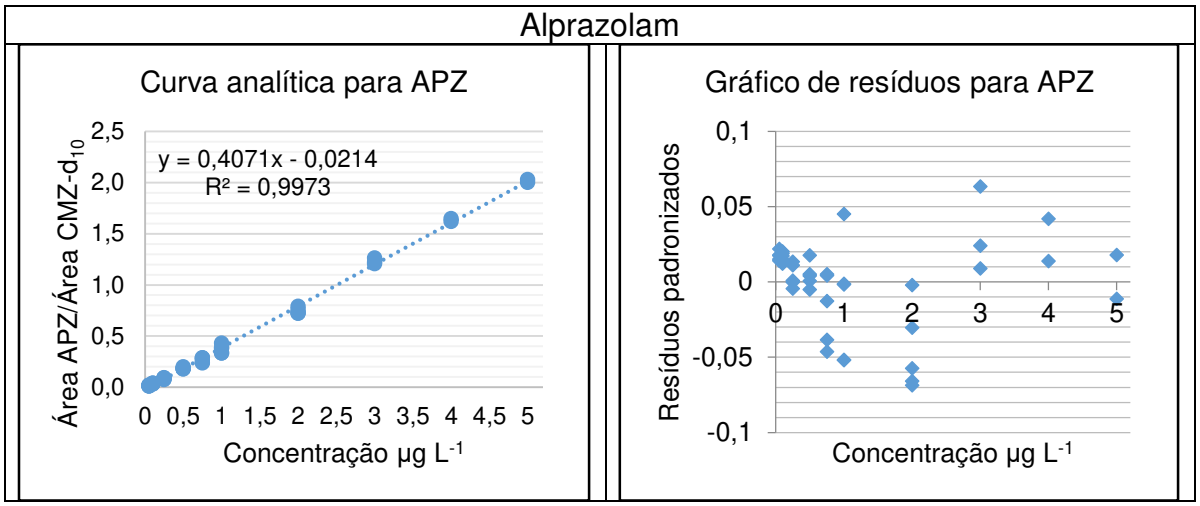



**Figura 16 (continuação).** Curvas analíticas para os psicoativos de interesse, com seus respectivos gráficos de resíduos.

A equação da reta foi obtida pelo método dos mínimos quadrados pois a variância dos resíduos ao longo das curvas foi homocedástica (teste de Levene). Com relação a linearidade, todas as curvas apresentaram coeficiente de correlação linear (r) igual ou superior a 0,97.

O LOQ atingido para todos os analitos foi de 50 ng $L^{-1}$. Os valores do LOQ para a carbamazepina, fluoxetina, sertralina, bupropiona, trazodona, escitalopram, nortriptilina e amitriptilina foram similares aos reportados na literatura (PETRIE *et al.*, 2016; YUAN *et al.*, 2013). Para alprazolam e clonazepam o método desenvolvido nesse trabalho apresenta valores de LOQ menores do que os previamente reportados (RACAMONDE *et al.*, 2014). O LOD atingido para todos os analitos foi de 15 ng $L^{-1}$.

Os parâmetros de validação para cada analito estão apresentados na Tabela 10.

**Tabela 10**. Parâmetros de validação para cada analito.

| Analito | Faixa linear (ng $L^{-1}$) | Precisão (CV %) Níveis: 100 ng $L^{-1}$ / 3000 ng $L^{-1}$ | | Exatidão (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Intra-dia (n = 6) | Inter-dia (n = 18) | 100 ng $L^{-1}$ (n = 6) | 3000 ng $L^{-1}$ (n = 6) |
| Fluoxetina | 50 – 3000 | 8,5 / 10,7 | 16,0 / 11,9 | 96,3 | 107,12 |
| Carbamazepina | 50 – 3000 | 2,8 / 3,9 | 3,6 / 3,5 | 96,7 | 97,8 |
| Clonazepam | 50 – 3000 | 5,3 / 2,6 | 4,0 / 3,1 | 99,1 | 94,2 |
| Bupropiona | 50 – 3000 | 11,2 / 8,9 | 8,2 / 9,7 | 97,5 | 118,9 |
| Trazodona | 50 – 3000 | 17,5 / 40,8 | 17,3 / 38,9 | 92,3 | 103,5 |
| Escitalopram | 50 – 5000 | 12,4 / 41,5 | 28,8 / 26,5 | 89,9 | 106,3 |
| Nortriptilina | 50 – 5000 | 21,5 / 8,6 | 21,7 / 13,4 | 94,0 | 116,0 |
| Amitriptilina | 50 – 3000 | 17,6 / 6,0 | 19,0 / 9,4 | 120,3 | 106,9 |
| Sertralina | 50 – 3000 | 35,3 / 43,6 | 28,0 / 42,2 | 112,9 | 150,0 |
| Alprazolam | 50 – 5000 | 8,9 / 6,1 | 8,3 / 7,9 | 137,1 | 93,4 |

CV: coeficiente de variação.

Exceto para a trazodona, escitalopram e sertralina, os valores de precisão intra-dia e inter-dia para o nível de 100 ng $L^{-1}$ variaram de 2,8% a 21,5%, e para o nível de 3000 ng $L^{-1}$ de 2,6% a 10,7%. Já os valores de exatidão variaram de 94,0% a 137,1% para o nível de 100 ng $L^{-1}$ e 93,4% a 118,9% para o nível de 3000 ng $L^{-1}$. Os altos valores de precisão estimados para a trazodona, escitalopram e sertralina se justificam pela falta do padrão interno deuterado para essas moléculas. No entanto, esses valores podem ser aceitáveis para os objetivos a que se propõe o presente método desenvolvido.

### 4.6. Monitoramento de fármacos psicoativos em águas superficiais

Para a realização do monitoramento de fármacos psicoativos em águas superficiais foram realizadas cinco campanhas de coleta de água superficial do Rio Atibaia (7 pontos de amostragem, P1 a P7) e uma do Ribeirão Anhumas (um ponto de amostragem, P8). As datas de realização das coletas foram 30/08/2018, 30/10/2018, 04/02/2019, 13/03/2019, 16/04/2019. Os parâmetros de qualidade da água foram medidos em cada campanha realizada, através da sonda multiparâmetros. Os dados referentes aos parâmetros físico-químicos medidos estão apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11.** Parâmetros físico-químicos das águas superficiais dos pontos de coleta do do Rio Atibaia (P1 a P7) e Ribeirão Anhumas (P8).

| | | Parâmetros físico-químicos | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Temperatura (ºC) | pH | Potencial redox (mV)[a] | Condutividade (mS $cm^{-1}$) | Turbidez (NTU) | Oxigênio dissolvido (mg $L^{-1}$) | Sólidos totais dissolvidos (g $L^{-1}$) |
| **coleta em 30/08/18** | P1 | 19,91 | 6,8 | 30 | 0,057 | 13,7 | 5,57 | 0,037 |
| | P2 | 20,30 | 7,3 | 12 | 0,059 | 7,8 | 6,74 | 0,038 |
| | P3 | 20,95 | 6,8 | 98 | 0,071 | 7,0 | 8,64 | 0,046 |
| | P4 | 21,27 | 7,6 | 2 | 0,098 | 12,2 | 7,80 | 0,064 |
| | P5 | 21,38 | 7,0 | 101 | 0,091 | 9,2 | 10,24 | 0,059 |
| | P6 | 22,37 | 7,4 | 84 | 0,123 | 13,8 | 9,59 | 0,080 |
| | P7 | 25,14 | 7,8 | 90 | 0,487 | 5,1 | 7,48 | 0,316 |
| | P8 | 25,67 | 7,9 | 58 | 0,101 | 15,3 | 3,01 | 0,067 |
| **coleta em 30/10/18** | P1 | 20,93 | 6,8 | 37 | 0,069 | 15,0 | 6,60 | 0,045 |
| | P2 | 21,12 | 6,7 | -3 | 0,071 | 12,0 | 6,88 | 0,046 |
| | P3 | 22,73 | 7,0 | 67 | 0,095 | 7,8 | 9,89 | 0,062 |
| | P4 | 24,09 | 6,4 | 107 | 0,059 | 75,2 | 10,85 | 0,036 |
| | P5 | 22,78 | 7,5 | 68 | 0,100 | 16,5 | 12,96 | 0,065 |
| | P6 | 23,56 | 7,3 | 84 | 0,123 | 19,1 | 10,45 | 0,080 |
| | P7 | 26,41 | 7,4 | 88 | 0,216 | 17,6 | 8,41 | 0,141 |
| | P8 | 27,62 | 7,6 | 72 | 0,546 | 23,4 | 5,46 | 0,349 |
| **coleta em 04/02/18** | P1 | 24,64 | 6,9 | 40 | 0,067 | 20,7 | 4,17 | 0,043 |
| | P3 | 27,22 | 7,0 | -4 | 0,098 | 8,2 | 6,96 | 0,063 |
| | P4 | 27,43 | 6,9 | 13 | 0,104 | 17,6 | 6,33 | 0,067 |
| | P5 | 27,32 | 6,8 | 74 | 0,099 | 21,2 | 8,80 | 0,064 |
| | P6 | 27,97 | 6,9 | 83 | 0,142 | 19,0 | 6,77 | 0,092 |
| | P7 | 29,82 | 7,5 | 66 | 0,470 | 17,5 | 6,33 | 0,305 |
| | P8 | 28,85 | 7,5 | 51 | 0,478 | 22,5 | 5,10 | 0,311 |
| **coleta em 13/3/18** | P1 | 24,19 | 7,7 | 45 | 0,094 | 18,3 | 5,81 | 0,061 |
| | P3 | 25,91 | 6,4 | 23 | 0,093 | 11,6 | 8,05 | 0,061 |
| | P4 | 26,02 | 5,9 | 92 | 0,053 | 32,5 | 7,57 | 0,033 |
| | P5 | 26,56 | 7,4 | 28 | 0,092 | 25,4 | 9,15 | 0,06 |
| | P6 | 26,81 | 7,3 | 30 | 0,103 | 53 | 8,84 | 0,067 |
| | P7 | 27,66 | 6,1 | 10 | 0,001 | 252 | 9,89 | 0,001 |
| | P8 | 28,87 | 6,0 | 108 | 0,001 | 816 | 9,24 | 0,001 |
| **coleta em 16/4/18** | P1 | 22,91 | 6,7 | -15 | 0,06 | 16,7 | 4,71 | 0,039 |
| | P3 | 23,8 | 7,1 | -24 | 0,087 | 9,6 | 8,57 | 0,057 |
| | P4 | 23,9 | 7,2 | -46 | 0,086 | 21,3 | 8,03 | 0,056 |
| | P5 | 24,51 | 7,4 | -25 | 0,081 | 28,1 | 9,88 | 0,053 |
| | P6 | 24,81 | 7,4 | -6 | 0,094 | 35,3 | 9,03 | 0,061 |
| | P7 | 26,12 | 7,4 | -5 | 0,179 | 63,5 | 8,49 | 0,116 |
| | P8 | 27,63 | 7,2 | 14 | 0,102 | 18,4 | 6,81 | 0,075 |

[a]: eletrodo Ag/AgCl.

De acordo com a Tabela 11, é possível observar que em geral o pH das amostras de água superficial variou de 5,9 a 7,9, os valores de condutividade obtidos se mantiveram na faixa de 0,053 a 0,546 mS $cm^{-1}$, e o oxigênio dissolvido variou de 3,01 a 12,96 mg $L^{-1}$ nas amostras. Todos parâmetros medidos ao estão de acordo para que essa água seja tratada e utilizada para abastecimento público. As maiores condutividades foram medidas no Ribeirão Anhumas o que indicam que este esteja mais impactado.

A partir da terceira campanha de coleta realizada, o P2 foi excluído das coletas pelo impedimento de acesso ao local da coleta. Os resultados das concentrações do psicoativos determinados estão apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12.** Concentração dos analitos determinados nas amostras de água superficial do Rio Atibaia (P1 a P7) e Ribeirão Anhumas (P8) e apresentação das concentrações mínima, máxima, mediana e frequência de ocorrência.

| Data da coleta | Ponto de coleta | Concentrações (ng $L^{-1}$) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **FLX** | **CMZ** | **CNZ** | **BP** | **TZ** | **ESC** | **NT** | **AMT** | **SER** | **APZ** |
| 30/08/18 | P1 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P2 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P3 | ND | 190 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P4 | ND | 290 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P5 | ND | 290 | ND | 60 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P6 | ND | 440 | ND | 140 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P7 | ND | 620 | ND | 410 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P8 | 90 | 3530 | ND | 1880 | 230 | 520 | ND | ND | ND | ND |
| 30/10/18 | P1 | ND | ND | ND | ND | <LOQ | ND | ND | 172 | ND | ND |
| | P2 | ND | ND | ND | ND | <LOQ | ND | ND | 180 | ND | ND |
| | P3 | ND | ND | ND | <LOQ | <LOQ | ND | ND | 168 | ND | ND |
| | P4 | ND | ND | ND | ND | <LOQ | ND | ND | 154 | ND | ND |
| | P5 | ND | ND | ND | 119 | <LOQ | ND | ND | 196 | ND | ND |
| | P6 | ND | ND | ND | <LOQ | <LOQ | ND | ND | 161 | ND | ND |
| | P7 | ND | ND | ND | ND | <LOQ | ND | ND | 168 | ND | ND |
| | P8 | ND | 199 | ND | ND | <LOQ | ND | ND | 170 | ND | ND |
| 04/02/19 | P1 | 60 | ND | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P3 | 60 | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P4 | 60 | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P5 | 60 | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P6 | 60 | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P7 | 60 | 60 | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P8 | 60 | 170 | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 13/03/19 | P1 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P3 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P4 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |

| Data da coleta | Ponto de coleta | Concentrações (ng $L^{-1}$) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **FLX** | **CMZ** | **CNZ** | **BP** | **TZ** | **ESC** | **NT** | **AMT** | **SER** | **APZ** |
| | P5 | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P6 | ND | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P7 | ND | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P8 | <LOQ | 154 | ND | <LOQ | ND | 100 | ND | ND | ND | ND |
| 16/04/19 | P1 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P3 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P4 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P5 | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P6 | ND | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P7 | ND | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| | P8 | ND | 115 | ND | <LOQ | ND | <LOQ | ND | ND | ND | ND |
| **Mediana** | | 60 | 60 | ND | 25 | 25 | 100 | ND | 169 | ND | ND |
| **Mínimo** | | 25 | 25 | ND | 25 | 25 | 25 | ND | 154 | ND | ND |
| **Máximo** | | 90 | 3530 | ND | 1880 | 230 | 520 | ND | 196 | ND | ND |
| **Frequência (%)** | | 24,3 | 56,7 | ND | 54,0 | 24,3 | 8,1 | ND | 21,6 | ND | ND |

LOQ: 50 ng $L^{-1}$. Para o cálculo de mediana, foi considerado para concentrações menores do que o LOQ o valor de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). FLX: fluoxetina; CMZ: carbamazepina; CNZ: clonazepam; BP: bupropiona; TZ: trazodona; ESC: escitalopram; NT: nortriptilina; AMT: amitriptilina; SER: sertralina; APZ: alprazolam. ND: não detectado.

A análise de água superficial apresentou a presença de seis dos dez fármacos psicoativos priorizados. Conforme a Tabela 12, a concentração dos analitos variou do limite de quantificação à 3530 ng $L^{-1}$. Para todas as amostras se observa que não foram detectados clonazepam, nortriptilina, sertralina e alprazolam.

Embora clonazepam seja o fármaco psicoativo mais comercializado nas farmácias brasileiras, este não foi detectado nas amostras de águas superficiais, fato que pode estar relacionado a quantidade do fármaco que é excretado em sua forma inalterada (não metabolizada), ou seja, apenas 0,5%. Além disso, de acordo com HÖRSING *et al.* (2011), clonazepam possui uma constante de sorção ($K_d$) de 570 L $kg^{-1}$ no lodo, o que indica alta afinidade por sólidos. Ainda, este composto possui um valor de $K_{oc}$ (coeficiente partição entre água e solo) de 12000 L $kg^{-1}$, indicando que este composto tem pouca mobilidade entre a fase sólida e a fase líquida, podendo, assim, estar aderido ao sedimento (HÖRSING *et al.*, 2011).

De acordo com trabalhos já reportados na literatura, clonazepam também não foi detectado em amostras de água superficial, quando analisado em três cidades do Paraná, tampouco, quando analisado em amostras de trinta rios europeus (NUNES, ANJOS & QUINAIS, 2018; FICK *et al.*, 2017).

A bupropiona foi detectada nas cinco campanhas de coleta, na faixa de concentração de 60 – 1880 ng $L^{-1}$, apesar de possuir uma porcentagem de excreção da molécula inalterada de apenas 0,5%. Como descrito por Hörsing *et al.* (2011), a bupropiona possui uma constante de sorção ($K_d$) de 85 L $kg^{-1}$, significativamente menor que o valor encontrado para clonazepam. Ainda, o coeficiente de partição entre água e solo ($K_{oc}$) para a bupropiona é de 700 L $kg^{-1}$, ou seja, um valor menor que o encontrado para clonazepam, indicando que a bupropiona possui maior mobilidade entre a fase sólida e líquida. Ademais, a bupropiona possui maior solubilidade em água quando comparada ao clonazepam, dados apresentados na Tabela 1.

De acordo com dados da literatura, a bupropiona tem sido detectada em concentrações de 6 a 227 ng $L^{-1}$ em águas superficiais do Canadá e Estado Unidos (FERRER & THURMAN, 2012; METCALFE *et al.*, 2010; SCHULTZ *et al.*, 2010; SCHULTZ & FURLONG, 2008), sendo de modo geral, essas concentrações menores do que as determinadas neste trabalho.

A fluoxetina foi detectada em três das cinco campanhas realizadas, em concentrações de 60 – 90 ng $L^{-1}$. Na literatura foram reportadas concentrações de fluoxetina na faixa de 54 a 141 ng $L^{-1}$ em amostras de água superficial no Canadá (METCALFE *et al.*, 2010).

No Ponto 8 (Ribeirão Anhumas, Figura 7) foram determinadas as maiores concentrações dos analitos em estudo. Cabe destacar, que o Ribeirão Anhumas pode ser considerado impactado por receber os esgotos tratados da ETE Anhumas e ETE Barão Geraldo, bem como o aporte do Ribeirão das Pedras. Neste ponto, foram determinadas também, de modo geral, as maiores condutividades, o que indica maior impacto por substâncias iônicas, provavelmente decorrente do aporte dos esgotos tratados das estações de tratamento de esgoto (CAMPANHA *et al.*, 2015).

É importante destacar que as campanhas de coleta realizadas em 30/08 e em 30/10 não houve precipitação nas 24 h que antecederam a coleta, segundo dados do CIIAGRO (Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas). Já a campanha realizada em 04/02 foi realizada após a precipitação de 1,5 mm nas últimas 24 h antes da coleta. A maior incidência de precipitações tipicamente observada do final do verão subtropical e o resultante aumento de vazões e da diluição dos corpos hídricos pode justificar as menores concentrações encontradas na terceira campanha quando comparada com a primeira.

## 4.7. Monitoramento de fármacos psicoativos em estações de tratamento de esgoto

Foram selecionadas cinco estações de tratamento de efluentes da região de Campinas operadas pela SANASA. Essas estações operam por processos diferentes (descritos na Tabela 2) e representam aproximadamente 90% do tratamento empregado na cidade de Campinas, SP, para o tratamento de esgoto.

### 4.7.1. Estação de Tratamento de Esgoto A

Para avaliar a ocorrência de psicoativos na ETE A, foram realizadas seis campanhas de coleta nas datas de 07/02/2019; 21/02/2019; 07/03/2019; 21/03/2019; 03/04/2019 e 09/05/2019. Para cada campanha realizada foram coletadas amostras do afluente, durante o processo de tratamento e do efluente (esgoto tratado). A determinação dos psicoativos nas amostras dos efluentes foi realizada com a utilização do método SPE-UHPLC-MS/MS validado para essa finalidade.

A ETE A utiliza, para o tratamento de efluentes, o processo reator UASB seguido de flotadores. Os dados de ocorrência dos IFA psicoativos para a ETE A estão apresentados na Tabela 13.

**Tabela 13.** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE A, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE A | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Bupropiona** | | | **Trazodona** | | | **Fluoxetina** | | | **Carbamazepina** | | | **Escitalopram** | | | **Amitriptilina** | | | **Sertralina** | | |
| | Bruto | UASB | Flotadores | Bruto | UASB | Flotadores | Bruto | UASB | Flotadores | Bruto | UASB | Flotadores | Bruto | UASB | Flotadores | Bruto | UASB | Flotadores | Bruto | UASB | Flotadores |
| C1 | 111 | 152 | 142 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 134 | 64 | 93 | 290 | 305 | 292 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C2 | 137 | 187 | 185 | 56 | 80 | 113 | 103 | 60 | <LOQ | 240 | 313 | 300 | 462 | 192 | 311 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C3 | 50 | 82 | 67 | 129 | 460 | 352 | 57 | 467 | 81 | 302 | 285 | 272 | 221 | 369 | 493 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C4 | 56 | 58 | 55 | ND | ND | ND | 104 | ND | ND | 320 | 300 | 310 | 197 | 102 | 345 | 141 | ND | ND | 417 | ND | ND |
| C5 | 112 | 117 | 118 | 207 | 126 | 84 | 99 | ND | ND | 385 | 359 | 351 | 466 | 96 | 260 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C6 | 115 | 127 | 113 | ND | ND | ND | 83 | <LOQ | ND | 406 | 437 | 492 | 117 | 70 | 101 | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Mediana * | 111,5 | 122 | 115,5 | 92,5 | 103 | 98,5 | 101 | 62 | 81 | 311 | 309 | 305 | 221 | 102 | 311 | 141 | ND | ND | 417 | ND | ND |
| Mín.* | 50 | 58 | 55 | 25 | 25 | 25 | 57 | 25 | 25 | 240 | 285 | 272 | 117 | 70 | 101 | 141 | ND | ND | 417 | ND | ND |
| Máx.* | 137 | 187 | 185 | 207 | 460 | 352 | 134 | 467 | 93 | 406 | 437 | 492 | 466 | 369 | 493 | 141 | ND | ND | 417 | ND | ND |
| Freq. (%) | 100 | 100 | 100 | 66,6 | 66,6 | 66,6 | 100 | 66,6 | 50 | 100 | 100 | 100 | 83,3 | 83,3 | 83,3 | 16,5 | ND | ND | 16,6 | ND | ND |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Flotadores representa o último processo de tratamento biológico.

A análise das amostras coletadas na ETE A indicou a presença de bupropiona, trazodona, fluoxetina, carbamazepina, escitalopram, amitriptilina e sertralina. Quanto a frequência de detecção destes compostos, somente a bupropiona e carbamazepina foram encontrados em todas as amostras da etapa de tratamento. De maneira geral, a bupropiona e a carbamazepina apresentam concentrações constantes durante o processo de tratamento, indicando que os processos aplicados não são eficientes na remoção destes compostos. A bupropiona foi encontrada na faixa de concentração de 50 a 187 ng $L^{-1}$, já carbamazepina foi detectada na faixa de 240 a 492 ng $L^{-1}$.

### 4.7.2. Estação de Tratamento de Esgoto B

Para avaliar a ocorrência de psicoativos na ETE B, foram realizadas quatro campanhas de coleta nas datas de 12/02/2019; 14/03/2019; 10/04/2019; 09/05/2019. Para cada campanha realizada foram coletadas amostras antes, durante e após o processo de tratamento, totalizando quatro amostras em cada campanha.

A ETE B utiliza os processos reator UASB seguido de filtro biológico percolador e por fim decantação secundária. Os dados de ocorrência dos psicoativos para a ETE B estão apresentados na Tabela 14.

**Tabela 14.** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE B, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE B | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Bupropiona** | | | | **Escitalopram** | | | | **Carbamazepina** | | | | **Trazodona** | | | |
| | Bruto | UASB | Filtro biológico | Decantação | Bruto | UASB | Filtro biológico | Decantação | Bruto | UASB | Filtro biológico | Decantação | Bruto | UASB | Filtro biológico | Decantação |
| C1 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 376 | 200 | 403 | 142 | 465 | 338 | 392 | 370 | ND | ND | ND | ND |
| C2 | 50 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 181 | 117 | 121 | 131 | 275 | 229 | 259 | 276 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ |
| C3 | 84 | 91 | 87 | 80 | 467 | 428 | 273 | 155 | 261 | 206 | 252 | 244 | 135 | 432 | 368 | 126 |
| C4 | 85 | 128 | 99 | 89 | 143 | 135 | 136 | 73 | 289 | 316 | 402 | 429 | ND | ND | ND | ND |
| Mediana* | 67 | 58 | 56 | 52,5 | 278,5 | 167,5 | 204,5 | 136,5 | 282 | 272,5 | 325,5 | 323 | 80 | 228,5 | 196,5 | 75,5 |
| Mín.* | 25 | 25 | 25 | 25 | 143 | 117 | 121 | 73 | 261 | 206 | 252 | 244 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Máx.* | 85 | 128 | 99 | 89 | 467 | 428 | 403 | 155 | 465 | 338 | 402 | 429 | 135 | 432 | 368 | 126 |
| Freq. (%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 50 | 50 | 50 | 50 |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Decantação representa o último processo de tratamento biológico.

**Tabela 14 (continuação).** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE B, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE B | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Fluoxetina** | | | |
| | Bruto | UASB | Filtro biológico | Decantação |
| C1 | ND | ND | ND | ND |
| C2 | 62 | <LOQ | <LOQ | <LOQ |
| C3 | ND | ND | ND | ND |
| C4 | 101 | 171 | 59 | 25 |
| Mediana* | 81,5 | 98 | 42 | 25 |
| Mín.* | 62 | 25 | 25 | 25 |
| Máx.* | 101 | 171 | 59 | 25 |
| Freq. (%) | 50 | 50 | 50 | 50 |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Decantação representa o último processo de tratamento biológico.

A análise das amostras coletadas na ETE B indicou a presença de bupropiona, escitalopram, carbamazepina, trazodona e fluoxetina. Quanto a frequência de detecção destes compostos, a bupropiona, o escitalopram e a carbamazepina foram detectados em todas as amostras das etapas de tratamento. Já a trazodona e a fluoxetina foram detectados com uma frequência de 50%.

A bupropiona foi detectada na faixa de concentração de 50 – 128 ng $L^{-1}$ e nenhuma remoção significativa foi observada no tratamento empregado nesta ETE. Para a carbamazepina (concentração na faixa de 206 a 465 ng $L^{-1}$) foi observado que não ocorreu remoção significativa no processo de tratamento do esgoto.

A fluoxetina foi detectada em concentrações de 62 a 171 ng $L^{-1}$ no esgoto bruto, e concentrações menores que o LOQ foram determinados no final do processo de tratamento do esgoto, indicando remoção deste composto na estação.

### 4.7.3. Estação de Tratamento de Esgoto C

Para avaliar a ocorrência de psicoativos na ETE C, foram realizadas cinco campanhas de coleta nas datas de 05/02/2019; 19/02/2019; 12/03/2019; 16/04/2019 e 07/05/2019. Para cada campanha realizada foram coletadas amostras antes,

durante e após o processo de tratamento, totalizando quatro pontos de amostragem em cada campanha.

Os parâmetros físico-químicos da ETE C para o esgoto bruto e tratado estão disponíveis no Anexo I, na Tabela S1. Esta caracterização mostrou que o tratamento utilizado de reator UASB, seguido de uma câmara anóxica e for fim filtro biológico é um tratamento de qualidade para o esgoto urbano; o esgoto tratado atende aos padrões para efluentes de sistema de tratamento de esgotos sanitários (CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, 2011).

Os dados de ocorrência para a ETE C estão apresentados na Tabela 15.

**Tabela 15.** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE C, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Bupropiona** | | | | **Trazodona** | | | | **Fluoxetina** | | | | **Carbamazepina** | | | | **Escitalopram** | | | |
| | Bruto | UASB | Câmara anóxica | Filtro biológico | Bruto | UASB | Câmara anóxica | Filtro biológico | Bruto | UASB | Câmara anóxica | Filtro biológico | Bruto | UASB | Câmara anóxica | Filtro biológico | Bruto | UASB | Câmara anóxica | Filtro biológico |
| C1 | 50 | 50 | 50 | 50 | <LOQ | <LOQ | ND | ND | 140 | 110 | 160 | 100 | 560 | 430 | 480 | 490 | ND | ND | ND | ND |
| C2 | 90 | 90 | 90 | 90 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | ND | 147 | 105 | 90 | 95 | 440 | 440 | 490 | 460 | <LOQ | ND | ND | ND |
| C3 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | ND | ND | ND | ND | 114 | 53 | <LOQ | <LOQ | 514 | 486 | 478 | 486 | 122 | 87 | 100 | 100 |
| C4 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | ND | ND | ND | ND | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 542 | 437 | 443 | 528 | <LOQ | ND | ND | ND |
| C5 | 120 | 67 | 89 | 57 | ND | ND | ND | ND | 108 | 59 | <LOQ | <LOQ | 893 | 551 | 976 | 675 | 54 | ND | ND | ND |
| Mediana | 50 | 50 | 50 | 50 | 25 | 25 | 25 | ND | 114 | 59 | 25 | 25 | 542 | 440 | 480 | 490 | 39,5 | 87 | 100 | 100 |
| Mín. | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | ND | 25 | 25 | 25 | 25 | 440 | 430 | 443 | 460 | 25 | 87 | 100 | 100 |
| Máx. | 120 | 90 | 90 | 90 | 25 | 25 | 25 | ND | 147 | 110 | 160 | 100 | 893 | 551 | 976 | 675 | 122 | 87 | 100 | 100 |
| Freq. | 100 | 100 | 100 | 100 | 40 | 40 | 20 | ND | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 80 | 20 | 20 | 20 |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Filtro biológico representa o último processo de tratamento biológico.

**Tabela 15 (continuação).** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE C, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE C | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Amitriptilina** | | | | **Sertralina** | | | |
| | Bruto | UASB | Câmara anóxica | Filtro biológico | Bruto | UASB | Câmara anóxica | Filtro biológico |
| C1 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C2 | 200 | 70 | 80 | 50 | 336 | ND | ND | ND |
| C3 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C4 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C5 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| Mediana* | 200 | 70 | 80 | 50 | 336 | ND | ND | ND |
| Mín.* | 200 | 70 | 80 | 50 | 336 | ND | ND | ND |
| Máx.* | 200 | 70 | 80 | 50 | 336 | ND | ND | ND |
| Freq. | 20 | 10 | 20 | 20 | 20 | ND | ND | ND |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Filtro biológico representa o último processo de tratamento biológico.

A análise das amostras coletadas na ETE C indicou a presença de bupropiona, trazodona, fluoxetina, carbamazepina, escitalopram, amitriptilina e sertralina. Quanto a frequência de detecção destes compostos, a bupropiona, a fluoxetina e a carbamazepina foram detectadas em todas as amostras das etapas de tratamento.

A bupropiona foi detectada na faixa de concentração de 50 a 120 ng $L^{-1}$ e não foi observada remoção significativa no tratamento empregado nesta estação.

A carbamazepina apresentou concentrações maiores para as amostras da ETE C, de até 976 ng $L^{-1}$, quando comparado com as concentrações detectadas nas ETE A e B, a saber até 492 ng $L^{-1}$.

### 4.7.4. Estação de Tratamento de Esgoto D

Para avaliar a ocorrência de psicoativos na ETE D, foram realizadas quatro campanhas de coleta nas datas de 06/02/2019; 13/03/2019; 05/04/2019; 08/05/2019.

Para cada campanha realizada foram coletadas amostras antes, durante e após o processo de tratamento, totalizando quatro amostras em cada campanha.

A ETE D utiliza os processos reator UASB seguido de lodo ativado e por fim uma decantação secundária. Os dados de ocorrência para a ETE D estão apresentados na Tabela 16.

**Tabela 16.** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE D, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE D | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Bupropiona** | | | | **Fluoxetina** | | | | **Carbamazepina** | | | | **Nortriptilina** | | | |
| | Bruto | UASB | Lodo ativado | Decantação | Bruto | UASB | Lodo ativado | Decantação | Bruto | UASB | Lodo ativado | Decantação | Bruto | UASB | Lodo ativado | Decantação |
| C1 | 71 | 80 | 66 | 65 | 173 | 106 | 451 | 145 | 442 | 402 | 449 | 481 | 159 | ND | 786 | 319 |
| C2 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 85 | 53 | 79 | 80 | 567 | 543 | 556 | 487 | ND | ND | ND | ND |
| C3 | 145 | 142 | 102 | 111 | 99 | 99 | 133 | 90 | 3000 | 1334 | 801 | 3000 | ND | ND | ND | ND |
| C4 | 73 | 88 | 67 | 77 | 139 | 73 | 108 | 71 | 627 | 701 | 713 | 801 | ND | ND | ND | ND |
| Mediana | 72 | 84 | 66,5 | 71 | 119 | 86 | 120,5 | 85 | 597 | 622 | 634,5 | 644 | 159 | ND | 786 | 319 |
| Mín. | 25 | 25 | 25 | 25 | 85 | 53 | 79 | 71 | 442 | 402 | 449 | 481 | 159 | ND | 786 | 319 |
| Máx. | 145 | 142 | 102 | 111 | 173 | 106 | 451 | 145 | 3000 | 1334 | 801 | 3000 | 159 | ND | 786 | 319 |
| Freq. | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 25 | ND | 25 | 25 |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Decantação representa o último processo de tratamento biológico.

**Tabela 16 (continuação).** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE D, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE D | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Escitalopram** | | | | **Trazodona** | | | |
| | Bruto | UASB | Lodo ativado | Decantação | Bruto | UASB | Lodo ativado | Decantação |
| C1 | ND | ND | ND | ND | 25 | 25 | 25 | 25 |
| C2 | 194 | 264 | 375 | 489 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| C3 | 339 | 421 | 264 | 1136 | 60 | 140 | 50 | 50 |
| C4 | 156 | 437 | 369 | 390 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Mediana* | 194 | 421 | 369 | 489 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Mín.* | 156 | 264 | 264 | 390 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Máx.* | 339 | 437 | 375 | 1136 | 60 | 140 | 50 | 50 |
| Freq. | 75 | 75 | 75 | 75 | 100 | 100 | 100 | 100 |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Decantação representa o último processo de tratamento biológico.

A análise das amostras coletadas na ETE D indicou a presença de bupropiona, fluoxetina, carbamazepina, nortriptilina, escitalopram e trazodona. Quanto a frequência de detecção destes compostos, a bupropiona, a fluoxetina, a carbamazepina e a trazodona foram detectadas em todas as amostras das etapas de tratamento.

A bupropiona foi detectada em concentrações de 66 a 145 ng $L^{-1}$. Nas campanhas não foi observada remoção significativa durante o tratamento.

A fluoxetina foi detectada na faixa de concentração de 53 a 451 ng $L^{-1}$ e de modo geral houve uma remoção deste composto de 28%.

A carbamazepina foi detectada na faixa de concentração de 402 a 3000 ng $L^{-1}$, sendo a maior concentração detectada em relação as ETE A, ETE B e ETE C.

### 4.7.5. Estação de Tratamento de Esgoto E

Para avaliar a ocorrência de psicoativos na ETE E, foram realizadas cinco campanhas de coleta nas datas de 05/02/2019; 19/02/2019; 12/03/2019; 16/04/2019 e 07/05/2019. Para cada campanha realizada foram coletadas amostras antes,

durante e após o processo de tratamento, totalizando seis amostras em cada campanha.

Os parâmetros físico-químicos para o esgoto bruto e tratado da ETE E estão apresentados no Anexo I, Tabela S2. Esta caracterização mostrou que o tratamento utilizando lodo ativado, seguido de tanque anaeróbio, tanque anóxico, tanque de aeração e por fim membranas filtrantes é um tratamento de qualidade para o esgoto urbano. O esgoto tratado atende aos padrões para efluentes de sistema de tratamento de esgotos sanitários (CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, 2011).

A estação de tratamento E é uma estação produtora de água de reuso, e que possui o tratamento mais moderno, dentre as estações avaliadas, devido ao processo de membranas filtrantes. Em comparação com o processo de lodo ativado que é amplamente utilizado, o processo MBR mostra vantagens na remoção de matéria orgânica (MELIN *et al.*, 2006; SUI *et al.*, 2011) Os dados de ocorrência para a ETE E estão apresentados na Tabela 17.

**Tabela 17.** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE E, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE E | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Bupropiona** | | | | | | **Fluoxetina** | | | | | | **Carbamazepina** | | | | | |
| | Bruto | Lodo ativado | Tanque anaeróbio | Tanque anóxico | Tanque de aeração | Membranas | Bruto | Lodo ativado | Tanque anaeróbio | Tanque anóxico | Tanque de aeração | Membranas | Bruto | Lodo ativado | Tanque anaeróbio | Tanque anóxico | Tanque de aeração | Membranas |
| C1 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 147 | 101 | 103 | 138 | 97 | 103 | 549 | 571 | 557 | 532 | 586 | 611 |
| C2 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 132 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 480 | 430 | 450 | 450 | 450 | 500 |
| C3 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 106 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 517 | 508 | 473 | 582 | 570 | 502 |
| C4 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 82 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 70 | <LOQ | 467 | 575 | 678 | 568 | 822 | 585 |
| C5 | 53 | 54 | 54 | 56 | 51 | 59 | 97 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 73 | 745 | 747 | 813 | 735 | 699 | 762 |
| Mediana | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 106 | 25 | 25 | 25 | 70 | 73 | 517 | 571 | 557 | 568 | 586 | 585 |
| Mín. | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 82 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 467 | 430 | 450 | 450 | 450 | 500 |
| Máx. | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 147 | 101 | 103 | 138 | 100 | 103 | 745 | 747 | 813 | 735 | 822 | 762 |
| Freq. | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Membranas representa o último processo de tratamento biológico.

**Tabela 17 (continuação).** Dados de ocorrência de psicoativos na ETE E, apresentação da mediana, concentração máxima, concentração mínima e frequência de detecção.

| Coleta | Concentração de cada analito na ETE E | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Amitriptilina** | | | | | | **Sertralina** | | | | | | **Escitalopram** | | | | | |
| | Bruto | Lodo ativado | Tanque anaeróbio | Tanque anóxico | Tanque de aeração | Membranas | Bruto | Lodo ativado | Tanque anaeróbio | Tanque anóxico | Tanque de aeração | Membranas | Bruto | Lodo ativado | Tanque anaeróbio | Tanque anóxico | Tanque de aeração | Membranas |
| C1 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C2 | 160 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 236 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| C3 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 126 | 104 | 104 | 106 | 104 | 116 |
| C4 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 68 | <LOQ | 54 | 52 | <LOQ | <LOQ |
| C5 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | 62 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ | <LOQ |
| Mediana | 160 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 236 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 68 | 25 | 54 | 52 | 25 | 25 |
| Mín. | 160 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 236 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 62 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Máx. | 160 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 236 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 126 | 104 | 104 | 106 | 104 | 116 |
| Freq. | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 | 60 |

*Para os valores determinados < LOQ foram atribuídos valores de LOQ/2 (25 ng $L^{-1}$). Bruto significa a entrada da ETE e Membranas representa o último processo de tratamento biológico.

A análise das amostras coletadas na estação E indicou a presença de bupropiona, fluoxetina, carbamazepina, amitriptilina, sertralina e escitalopram. Quanto a frequência de detecção destes compostos, a bupropiona, a fluoxetina e a carbamazepina foram detectadas em todas as amostras das etapas de tratamento.

A bupropiona foi detectada em concentrações de 50 a 100 ng $L^{-1}$ e não foi observada nenhuma remoção significativa no tratamento do esgoto das campanhas realizadas.

A carbamazepina foi detectada na faixa de concentração de 430 a 822 ng $L^{-1}$. De modo geral foi observado um aumento na concentração do mesmo ao longo do processo de tratamento. De acordo com dados da literatura, a carbamazepina apresenta valores baixos (ou nenhum) para remoção mesmo em sistemas empregando a tecnologia de membranas filtrantes (MBR), e já foi verificado que pode apresentar valores de concentração mais altas no esgoto tratado do que no esgoto bruto (VIENO, TUHKANEN & KRONBERG, 2007).

O sistema de MBR pode ser muito eficiente na remoção de compostos como ibuprofeno e acetaminofeno, chegando em taxas de 99% de remoção. No entanto, tem sido relatado para a carbamazepina um aumento da concentração no esgoto tratado em relação ao esgoto bruto. Esse fato pode estar relacionado a conversão dos metabólitos (glucoronídeos da carbamazepina) para a carbamazepina durante as etapas do tratamento do esgoto (RADJENOVIC, PETROVIC & BARCELÓ, 2007; TERNES, 1998).

A amitriptilina e a sertralina foram detectadas somente na campanha 2, realizada em 19/02/2019, em concentrações de 160 e 236 ng $L^{-1}$, respectivamente. As concentrações no esgoto tratado foram menores que o LOQ do método.

O escitalopram foi detectado no esgoto bruto de 62 a 126 ng $L^{-1}$, nas campanhas 4 e 5. O tratamento permitiu a remoção deste composto para níveis menores do que o LOQ do método. No entanto, na campanha 3 foi verificada uma baixa remoção de escitalopram no tratamento (8%). Similarmente, baixas remoções (11%) foram reportadas em estudos realizados no Canadá (LAJEUNESSE; GAGNON; SAUVÉ, 2008).

A detecção de escitalopram em esgoto não tem sido frequentemente relatada em estudos reportados na literatura. No entanto, foram reportadas concentrações no esgoto bruto de 32 a 326 ng $L^{-1}$, e concentrações do esgoto tratado

de 223 ng $L^{-1}$ com eficiências de remoção de até 41% (LAJEUNESSE *et al.*, 2012; SALGADO *et al.*, 2011).

Um resumo das concentrações dos analitos em estudos no esgoto bruto e tratado de cada ETE avaliada está apresentado na Figura 17. Os valores menores do que o LOQ foram considerados, neste gráfico, como a metade do valor do LOQ, ou seja, 25 ng $L^{-1}$.

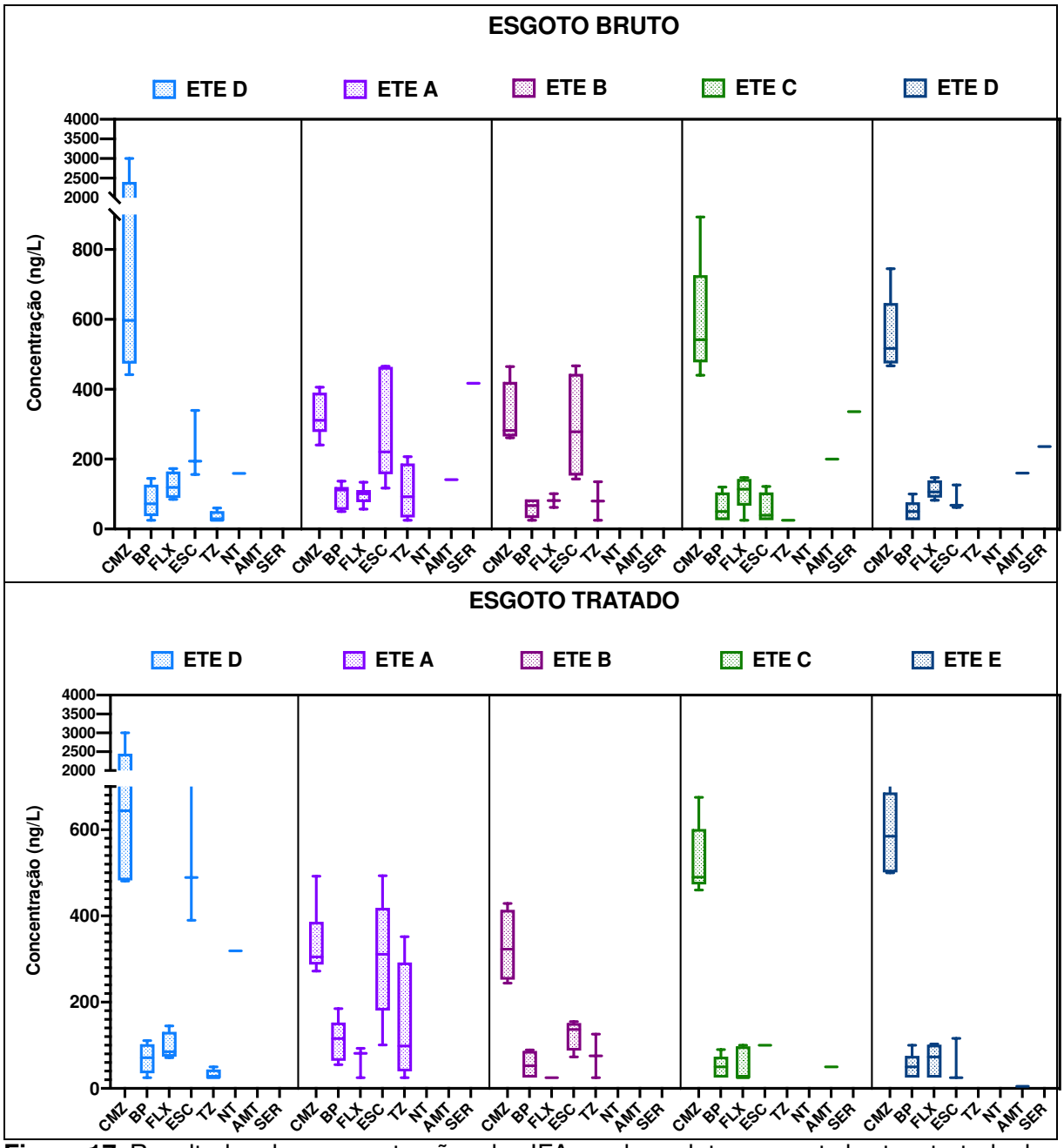



**Figura 17.** Resultados das concentrações dos IFA, em box-plot, no esgoto bruto e tratado das cinco ETE avaliadas.

Quando consideramos as cinco estações de tratamento estudadas neste trabalho, é possível fazer algumas observações acerca das diferenças e semelhanças entre os analitos detectados e os processos empregados em cada uma das estações.

A bupropiona foi detectada em todas as estações avaliadas, tanto no esgoto bruto como no esgoto tratado, independente do processo empregado na ETE. Quanto a remoção deste composto, observou-se que a ETE B promoveu a remoção de até 21%, considerando a mediana das coletas realizadas. Esta estação opera com um sistema de reator UASB, seguido de câmara anóxica e por fim um filtro biológico. Neste sistema são utilizados dois processos com a ausência de oxigênio. Provavelmente a degradação da bupropiona é favorecida em um ambiente com bactérias anaeróbias.

A carbamazepina foi detectada em todas as amostras de esgoto provenientes das ETE avaliadas, em uma faixa de concentração para o esgoto bruto de 206 a 3000 ng $L^{-1}$ e para o esgoto tratado de 244 – 3000 ng $L^{-1}$. De forma geral a carbamazepina não sofre remoção significativa nos processos empregados nas estações de tratamento. Na ETE B, foi observado um incremento da concentração de 48% no esgoto tratado quando comparado com o esgoto bruto. Este aumento na concentração de carbamazepina pode ser explicado pela clivagem de conjugados que são formados no processo de metabolização (JELIC *et al*., 2011; LECLERCQ *et al.*, 2009).

Apesar de carbamazepina ser um composto persistente à biodegradação, taxas de remoção de 20 e 24% foram observadas nas ETE B e ETE C, respectivamente. Esses resultados sugerem que processos aeróbios possam favorecer a degradação de carbamazepina (STAMATELATOU *et al.*, 2003).

A carbamazepina foi estudada em uma estação de produção de água de reuso na Austrália, que utiliza sistemas de osmose reversa, e foram detectadas concentrações de carbamazepina de 900 a 1000 ng $L^{-1}$ antes do tratamento e concentrações menores do que 1,5 ng $L^{-1}$ após o tratamento por osmose reversa. A carbamazepina é um composto com potencial de ser utilizado como marcador para monitoramento do tratamento de água (BUSETTI, LINGE & HEITZ, 2009).

Em uma estação de tratamento de esgoto na Espanha foi observado que não ocorre remoção de carbamazepina no processo de lodo ativado. A remoção somente foi possível pelo emprego de um tratamento terciário de osmose reversa (AFONSO-OLIVARES, SOSA-FERRERA & SANTANA-RODRÍGUEZ, 2017).

Dentre os fármacos avaliados neste trabalho, a carbamazepina é o segundo mais solúvel em água (152 mg $L^{-1}$) com um consumo de 37,1 toneladas/ano estimado para o ano de 2018. No Reino Unido, no ano de 2000, foram estimados um consumo de 40,348 toneladas/ano (JONES, VOULVOULIS & LESTER, 2002).

A fluoxetina foi detectada em todas as estações de tratamento de esgoto. As concentrações de fluoxetina variaram de 57 a 173 ng $L^{-1}$ para o esgoto bruto e 71 a 145 ng $L^{-1}$ para o esgoto tratado. Para esse fármaco foram observadas taxas maiores de remoção quando comparado com a bupropiona e a carbamazepina. Considerando a mediana das concentrações das campanhas realizadas, para a ETE A ocorreu remoção de fluoxetina de 33%, para a ETE B 28%, para a ETE C 78%, para a ETE D 69% e para a ETE E 19%.

A estação D, que apresentou maior taxa de remoção para a fluoxetina, opera com o sistema de reator UASB seguido de um reator de lodo ativado. O processo anaeróbio seguido de processo aeróbio, além da recirculação do lodo pode ter favorecido a degradação da fluoxetina.

Em um estudo realizado na Alemanha, a fluoxetina foi detectada em níveis abaixo do LOQ (50 ng $L^{-1}$) em amostras de esgoto bruto e tratado da ETE *(GURKE et al.*, 2015). Nos Estados Unidos foram reportados concentrações de fluoxetina no esgoto tratado menores do que o LOQ (25,8 ng $L^{-1}$) (BOYD *et al.,* 2003). Já em uma estação de tratamento de esgoto no Canadá, a fluoxetina foi detectada em uma concentração de 122 ng $L^{-1}$ no esgoto tratado, enquanto que uma concentração de 191 ng $L^{-1}$ foi determinada no esgoto bruto, indicando uma baixa taxa de remoção deste no tratamento e corroborando os resultados obtidos no presente trabalho (METCALFE *et al.*, 2010).

O escitalopram foi detectado em todas as amostras das ETE coletadas. As concentrações variaram de 54 a 467 ng $L^{-1}$ para o esgoto bruto e de 73 a 1136 ng $L^{-1}$ para o esgoto tratado. Das cinco estações avaliadas somente duas apresentaram alguma remoção de escitalopram, sendo 63% na ETE E e 51% na ETE B.

A trazodona foi detectada em todas as ETE, com exceção da ETE E. Na ETE C esse composto foi detectado em concentrações abaixo do LOQ. A maior concentração de trazodona no esgoto bruto (207 ng $L^{-1}$) foi determinado em uma amostra proveniente da ETE A. Essa ETE A atende um maior número de habitantes do que as demais.

Na literatura existem poucos dados de ocorrência de trazodona em ETE. Um estudo realizado em três estações de tratamento de esgoto em Beijing reporta concentrações menores do que 0,02 ng $mL^{-1}$ (limite de detecção) (SHENG *et al*., 2014).

A amitriptilina foi detectada somente nas ETE A, ETE C e ETE E. É interessante destacar que esse composto foi detectado somente em uma coleta de cada uma destas estações. Para a ETE A foi determinada uma concentração de 141 ng $L^{-1}$ no esgoto bruto, mas não foi detectada a substância nas amostras coletadas ao longo do processo de tratamento. Para a ETE C foi verificada uma remoção de 75% de amitriptilina, enquanto que na ETE E o tratamento permitiu reduzir a concentração de 160 ng $L^{-1}$ no esgoto bruto para valores menores do que o LOQ no esgoto tratado. Não foi observada transformação de amitriptilina para nortriptilina durante o tratamento dos esgotos.

As concentrações de amitriptilina identificadas neste trabalho são menores que as concentrações descritas para uma ETE do Reino Unido na qual são reportadas concentrações de 298 a 421 ng $L^{-1}$ para o esgoto tratado (DAVID *et al*., 2018).

A sertralina foi detectada no esgoto bruto das ETE A e ETE C, em concentrações de 417 e 336 ng $L^{-1}$, respectivamente. Após o tratamento, a mesma não foi mais detectada, indicando uma alta taxa de remoção. Já na ETE E, a sertralina foi detectada em uma concentração de 236 ng $L^{-1}$ no esgoto bruto e em concentração menor do que o LOQ no esgoto tratado.

A sertralina é pouco solúvel em água (0,145 mg $L^{-1}$) e apresenta um elevado log $K_{ow}$ (5,1) o que faz com que seja a molécula mais apolar em relação as demais em estudo. Embora a sertralina tenha um consumo estimado de 14,5 toneladas/ano no Brasil para o ano de 2018, este IFA apresenta uma elevada metabolização, onde apenas 0,2% da dose administrada é excretada em sua forma inalterada. Por fim, esta molécula apresenta um elevado valor de $K_{oc}$ ($1,7 \times 10^5$) indicando que este fármaco tem pouca mobilidade entre a fase sólida e a fase líquida do meio. Neste sentido, estes parâmetros indicam que a concentração de sertralina em água seja muito baixa e menor do que outros psicoativos mais polares e podem justificar a não detecção da mesma nas amostras analisadas.

O clonazepam não foi detectado em nenhuma das amostras coletadas das ETE. Este IFA é metabolizado de forma intensa e apenas 0,5% é excretado na sua forma original. Em adição, apresenta uma constante de sorção ($K_d$) de 570 L $kg^{-1}$ no

lodo e um valor de $K_{oc}$ (coeficiente partição entre água e solo) de 12000 L $kg^{-1}$, indicando que este composto tem pouca mobilidade entre a fase sólida e a fase líquida, podendo estar aderido ao lodo (HÖRSING *et al.*, 2011).

De modo geral, os dados obtidos neste trabalho apontam para uma baixa remoção dos compostos alvo em todas as ETE, mesmo que estas operem por diferentes processos. Além disso, a persistência destes compostos e não remoção significativa na ETE corrobora com a ocorrência destes em águas superficiais, como foi verificado para as amostras de água superficial coletadas no Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas.

A mobilidade e persistência dos compostos são governados pelas propriedades físico-químicas da substância e do meio em que se encontram. Moléculas de caráter lipofílico (elevado valor de $pK_{ow}$) tendem a interagir com a parte apolar do lodo, podendo desta forma ficar sorvidos neste (AQUINO, BRANDT & CHERNICHARO, 2015, FROEHNER *et al.*, 2011). De modo geral, substâncias com valores de $pK_{ow} \leq 2,5$ são consideradas hidrofílicas e tem baixo potencial em sorver no lodo; substâncias com $2,5 < pK_{ow} < 4, 0$ possuem potencial de sorção médio e, as de $pK_{ow} \geq 4,0$ são altamente hidrofóbicas e, portanto, possuem um alto potencial de sorver no lodo.

Os IFA trazodona, carbamazepina, bupropiona e escitalopram que possuem valores de $pK_{ow}$ de 2,12 a 3,85 foram detectados na maioria das amostras analisadas, ao passo que a sertralina ($pK_{ow}$ de 5,01), amitriptilina ($pK_{ow}$ de 9,92) e nortriptilina ($pK_{ow}$ de 4,51) não foram detectados nas mesmas amostras. Esses resultados corroboram o explicitado acima, indicando que as substâncias mais lipofílicas devem estar sorvidos no lodo das ETE.

Outro parâmetro importante a ser considerado é o pKa das moléculas e o pH do meio. As amostras de água superficial apresentaram um pH em torno de 7. Neste pH, grupos funcionais carboxílicos do lodo tendem a ficar na sua forma desprontonada, levando a um aumento de carga negativa na superfície (CHOI *et al.*, 2018). Nesta situação, moléculas carregadas positivamente serão sorvidas por atração eletrostática, como seria o caso específico para o alprazolam que tem um $pK_a$ de 5,01.

Por fim, podemos destacar que embora as estações utilizem processos similares no tratamento do esgoto, algumas características, como tamanho dos reatores, tempo de retenção hidráulico, manutenção periódica, bem como os modos

de operação são diferentes, o que torna complexo fazer uma comparação direta sobre a eficiência de remoção dos IFA psicoativos nas diferentes ETE.

## 4.8. Previsão da concentração dos psicoativos no esgoto bruto

O valor da PEC para a entrada do IFA pelo esgoto doméstico pode ser estimado levando em consideração dados de consumo de medicamentos (estimado pela venda), o perfil farmacocinético, em particular a taxa de excreção, e o volume de efluente gerado per capita. Esta correlação assume uma distribuição linear ao longo do ano e em toda a população local, permitindo prever a concentração do fármaco na entrada da estação de tratamento de esgoto (esgoto bruto).

Este tipo de abordagem permite prever o impacto que esses compostos podem causar ao ambiente, uma vez que o esgoto bruto ou tratado, de modo geral, é lançado em um corpo hídrico.

Nas Tabelas 18, 19, 20, 21 e 22 são apresentados os dados de PEC para cada ETE, calculados pela Equação 1 (item 1.7) e levando em consideração as vazões e o número de habitantes atendidos para cada ETE.

Os valores de $PEC_{ETE}$ foram comparados com os valores de $MEC_{esgoto\ bruto}$ das ETE. Segundo a literatura, se a razão de PEC/MEC estiver entre 0,2 e 4,0, o modelo empregado para calcular a PEC pode ser considerado aceitável; caso o valor seja superior a 4,0 significa que o modelo aplicado está superestimado (COETSIER *et al.*, 2009).

**Tabela 18.** Dados de PEC e MEC para ETE A

| ETE A | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IFA | Consumo (kg/ano hab) | Descarga estimado no ambiente por habitante (kg) | Volume efluente tratado (L/dia) | Volume de efluente esgoto tratado (L/dia/hab) | População atendida | Descarga estimada no ambiente (kg) | $PEC_{ETE}$ (ng/L) | MEC no esgoto bruto (ng/L)[a] | PEC/MEC |
| Fluoxetina | 4,593E-05 | 5,05E-06 | 54700000 | 269 | 203000 | 1,026 | 51 | 101 | 0,5 |
| Carbamazepina | 1,775E-04 | 5,33E-06 | 54700000 | 269 | 203000 | 1,081 | 54 | 311 | 0,2 |
| Bupropiona | 1,177E-04 | 5,89E-07 | 54700000 | 269 | 203000 | 0,119 | 6 | 112 | 0,1 |
| Amitriptilina | 5,928E-04 | 1,19E-05 | 54700000 | 269 | 203000 | 2,407 | 121 | 141 | 0,8 |
| Sertralina | 6,938E-04 | 1,39E-06 | 54700000 | 269 | 203000 | 0,282 | 14 | 417 | 0,03 |
| Escitalopram | 2,919E-05 | 2,33E-06 | 54700000 | 269 | 203000 | 0,474 | 24 | 221 | 0,1 |
| Alprazolam | 3,828E-06 | 7,66E-07 | 54700000 | 269 | 203000 | 0,155 | 8 | nd | 1* |
| Clonazepam | 7,656E-06 | 3,83E-08 | 54700000 | 269 | 203000 | 0,008 | 0,4 | nd | 0,05* |
| Trazodona | 7,560E-05 | 7,56E-07 | 54700000 | 269 | 203000 | 0,153 | 8 | 93 | 0,1* |
| Nortriptilina | 1,914E-05 | 3,83E-07 | 54700000 | 269 | 203000 | 0,078 | 4 | nd | 0,5* |

* calculado com base no valor do LOD/2 (8 ng $L^{-1}$). [a] Utilizado valor da mediana (n = 6).

**Tabela 19.** Dados de PEC e MEC para ETE B

| ETE B | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IFA | Consumo (kg/ano hab) | Descarga estimado no ambiente por habitante (kg) | Volume efluente tratado (L/dia) | Volume de efluente esgoto tratado (L/dia/hab) | População atendida | Descarga estimada no ambiente (kg) | $PEC_{ETE}$ (ng/L) | MEC no esgoto bruto (ng/L)[a] | PEC/MEC |
| Fluoxetina | 4,593E-05 | 5,05E-06 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,222 | 72 | 82 | 0,9 |
| Carbamazepina | 1,775E-04 | 5,33E-06 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,234 | 76 | 282 | 0,3 |
| Bupropiona | 1,177E-04 | 5,89E-07 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,026 | 8 | 67 | 0,1 |
| Amitriptilina | 5,928E-04 | 1,19E-05 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,522 | 168 | nd | 21,0* |
| Sertralina | 6,938E-04 | 1,39E-06 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,061 | 20 | nd | 2,5* |
| Escitalopram | 2,919E-05 | 2,33E-06 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,103 | 33 | 279 | 0,1 |
| Alprazolam | 3,828E-06 | 7,66E-07 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,034 | 11 | nd | 1,4* |
| Clonazepam | 7,656E-06 | 3,83E-08 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,002 | 1 | nd | 0,1* |
| Trazodona | 7,560E-05 | 7,56E-07 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,033 | 11 | 80 | 0,1 |
| Nortriptilina | 1,914E-05 | 3,83E-07 | 8500000 | 193 | 44000 | 0,017 | 5 | nd | 0,7* |

* calculado com base no valor do LOD/2 (8 ng $L^{-1}$). [a] Utilizado valor da mediana (n = 4)

**Tabela 20.** Dados de PEC e MEC para ETE C

| ETE C | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IFA | Consumo (kg/ano hab) | Descarga estimado no ambiente por habitante (kg) | Volume efluente tratado (L/dia) | Volume de efluente esgoto tratado (L/dia/hab) | População atendida | Descarga estimada no ambiente (kg) | $PEC_{ETE}$ (ng/L) | MEC no esgoto bruto (ng/L)[a] | PEC/MEC |
| Fluoxetina | 4,593E-05 | 5,05E-06 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,278 | 98 | 114 | 0,9 |
| Carbamazepina | 1,775E-04 | 5,33E-06 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,293 | 103 | 542 | 0,2 |
| Bupropiona | 1,177E-04 | 5,89E-07 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,032 | 11 | 50 | 0,2 |
| Amitriptilina | 5,928E-04 | 1,19E-05 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,652 | 229 | 200 | 1,1 |
| Sertralina | 6,938E-04 | 1,39E-06 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,076 | 27 | 336 | 0,1 |
| Escitalopram | 2,919E-05 | 2,33E-06 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,128 | 45 | 40 | 1,1 |
| Alprazolam | 3,828E-06 | 7,66E-07 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,042 | 15 | nd | 1,8* |
| Clonazepam | 7,656E-06 | 3,83E-08 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,002 | 1 | nd | 0,1* |
| Trazodona | 7,560E-05 | 7,56E-07 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,042 | 15 | 25 | 0,6 |
| Nortriptilina | 1,914E-05 | 3,83E-07 | 7800000 | 142 | 55000 | 0,021 | 7 | nd | 0,9* |

* calculado com base no valor do LOD/2 (8 ng $L^{-1}$). [a] Utilizado valor da mediana (n = 5)

**Tabela 21.** Dados de PEC e MEC para ETE D

| ETE D | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IFA | Consumo (kg/ano hab) | Descarga estimado no ambiente por habitante (kg) | Volume efluente tratado (L/dia) | Volume de efluente esgoto tratado (L/dia/hab) | População atendida | Descarga estimada no ambiente (kg) | $PEC_{ETE}$ (ng/L) | MEC no esgoto bruto (ng/L)[a] | PEC/MEC |
| Fluoxetina | 4,593E-05 | 5,05E-06 | 42400000 | 147 | 288000 | 1,455 | 94 | 119 | 0,8 |
| Carbamazepina | 1,775E-04 | 5,33E-06 | 42400000 | 147 | 288000 | 1,534 | 99 | 597 | 0,2 |
| Bupropiona | 1,177E-04 | 5,89E-07 | 42400000 | 147 | 288000 | 0,169 | 11 | 72 | 0,2 |
| Amitriptilina | 5,928E-04 | 1,19E-05 | 42400000 | 147 | 288000 | 3,415 | 221 | nd | 27,6* |
| Sertralina | 6,938E-04 | 1,39E-06 | 42400000 | 147 | 288000 | 0,400 | 26 | nd | 3,2* |
| Escitalopram | 2,919E-05 | 2,33E-06 | 42400000 | 147 | 288000 | 0,672 | 43 | 194 | 0,2 |
| Alprazolam | 3,828E-06 | 7,66E-07 | 42400000 | 147 | 288000 | 0,220 | 14 | nd | 1,75* |
| Clonazepam | 7,656E-06 | 3,83E-08 | 42400000 | 147 | 288000 | 0,011 | 1 | nd | 0,1* |
| Trazodona | 7,560E-05 | 7,56E-07 | 42400000 | 147 | 288000 | 0,218 | 14 | 25 | 0,6 |
| Nortriptilina | 1,914E-05 | 3,83E-07 | 42400000 | 147 | 288000 | 0,110 | 7 | 159 | 0,0 |

* calculado com base no valor do LOD/2 (8 ng $L^{-1}$). [a] Utilizado valor da mediana (n = 4)

**Tabela 22.** Dados de PEC e MEC para ETE E

| ETE E | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IFA | Consumo (kg/ano hab) | Descarga estimada no ambiente por habitante (kg) | Volume efluente tratado (L/dia) | Volume de efluente esgoto tratado (L/dia/hab) | População atendida | Descarga estimada no ambiente (kg) | $PEC_{ETE}$ (ng/L) | MEC no esgoto bruto (ng/L)[a] | PEC/MEC |
| Fluoxetina | 4,593E-05 | 5,05E-06 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,920 | 102 | 106 | 1,0 |
| Carbamazepina | 1,775E-04 | 5,33E-06 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,969 | 108 | 517 | 0,2 |
| Bupropiona | 1,177E-04 | 5,89E-07 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,107 | 12 | 50 | 0,2 |
| Amitriptilina | 5,928E-04 | 1,19E-05 | 24700000 | 136 | 182000 | 2,158 | 239 | 160 | 1,5 |
| Sertralina | 6,938E-04 | 1,39E-06 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,253 | 28 | 236 | 0,1 |
| Escitalopram | 2,919E-05 | 2,33E-06 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,425 | 47 | 68 | 0,7 |
| Alprazolam | 3,828E-06 | 7,66E-07 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,139 | 15 | nd | 1,9* |
| Clonazepam | 7,656E-06 | 3,83E-08 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,007 | 1 | nd | 0,1* |
| Trazodona | 7,560E-05 | 7,56E-07 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,138 | 15 | nd | 1,9* |
| Nortriptilina | 1,914E-05 | 3,83E-07 | 24700000 | 136 | 182000 | 0,070 | 8 | nd | 1,0* |

* calculado com base no valor do LOD/2 (8 ng $L^{-1}$). [a] Utilizado valor da mediana (n = 5)

As razões estimadas de PEC/MEC ficaram na faixa de 0,03 a 27,6. A percentagem de fármacos que apresentaram valores de PEC/MEC dentro da faixa aceitável, ou seja, de 0,2 a 4,0, foram 50% para a ETE A, 50% para a ETE B, 80% para a ETE C, 70% para a ETE D e 80% para a ETE E, o que demonstra que o modelo empregado é promissor, considerando que apenas cinco campanhas foram realizados para calcular as medianas.

Os valores das razões PEC/MEC para a fluoxetina, a carbamazepina e o alprazolam ficaram dentro da faixa aceitável para todas as ETE. Por outro lado, alguns fármacos apresentaram uma razão PEC/MEC < 1, o que indica que o modelo empregado levou a uma subestimação da concentração destes no esgoto bruto. Valores de PEC/MEC maiores do que 1 podem ser justificados pela lipofilicidade dos fármacos o que pode levar a sorção destes na parte sólida do esgoto bruto.

A amitriptilina apresentou o maior valor da razão PEC/MEC nas ETE B (21,0) e na ETE D (27,6), o que indica uma superestimação do consumo. De fato, nestas duas ETE, amitriptilina não foi detectada e o valor de MEC foi considerado com 8 ng $L^{-1}$ (metade do LOD), o que pode ter levado a essa discrepância.

De modo geral, pode-se considerar que o modelo usado é um bom indicador para prever a concentração de fármacos psicoativos no esgoto bruto e que os fatores considerados nos cálculos foram adequados.

# 5– Conclusões

## 5. Conclusões

A priorização dos fármacos a serem monitorados no esgoto foi desafiador pela ausência de dados oficiais de consumo de fármacos, incluindo antipsicóticos no Brasil. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária deveria disponibilizar esses dados e é importante que sejam tomadas providências neste sentido. Os dados de consumo empregados neste trabalho foram obtidos junto a IQVIA, que reportam o montante de medicamentos das gondolas farmacêuticas e fornecem apenas uma estimativa do consumo. A metodologia empregada para a priorização dos fármacos neste trabalho, empregando dados de consumo, metabolização, dados de ocorrência em outros países reportados na literatura cientifica e realizando um ranqueamento, mostrou ser eficiente, uma vez que dos dez compostos priorizados, oito foram detectados no esgoto e seis na água superficial do Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas.

Os dois compostos que não foram detectados no esgoto bruto (clonazepam a alprazolam) são compostos lipofílicos, pouco solúveis em água e com elevada taxa de metabolização. Sendo assim, esses parâmetros também devem ser considerados na etapa de priorização de fármacos de interesse ambiental.

Com relação ao método analítico, a SPE-UHPLC-MS/MS se mostrou eficaz na detecção dos compostos alvo em concentrações de até 50 ng $L^{-1}$ (limite de quantificação) dos psicoativos estudados. O método de SPE *on-line* apresenta grande vantagem quando comparado com o tradicional procedimento de SPE *off-line*, uma vez que é automatizado, diminui o tempo de preparo de amostra, tempo de análise e melhora a precisão dos resultados. Ainda, é de menor custo pois permite longo uso da coluna de SPE (superior a 2000 injeções) e menor consumo de solventes. No entanto, a otimização de todo o procedimento é fundamental, incluindo a fase sorvente, volume e composição do solvente de carregamento e eluição, e volume de injeção. Neste trabalho foi definido como condição ótima o solvente de carregamento água:metanol 80:20 v/v, usando uma vazão de 1,0 mL $min^{-1}$ por um tempo de 0,5 min. Quanto a fase sorvente do SPE, tanto a fase OASIS como a fase C8 podem ser empregadas na concentração dos analitos, o que se deve ao caráter apolar destes com o que faz terem elevada afinidade por sorventes de fase reversa. O volume de injeção

é um dos parâmetros que determina o limite de quantificação do método, e 200 µL foi o volume escolhido por ser o maior volume que pode ser injetado pela configuração do equipamento que foi utilizado neste trabalho.

A separação cromatográfica dos analitos em uma coluna CSH, que contém em sua fase estacionária uma superfície híbrida de cargas, foi vantajosa em relação a uma coluna de fase reversa C18. A presença de cargas na fase sorvente levou a picos cromatográficos com simetria adequada para todos os analitos. O método foi validado e um LOQ de 50 ng $L^{-1}$ foi alcançado para todos os analitos, sendo esse considerado adequado para os objetivos propostos nesta pesquisa.

O método foi empregado na análise de águas superficiais do Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas e cinco ETE operando por diferentes processos. Nestas amostragens, oito dos dez IFA psicoativos priorizados foram determinados, o que indica o elevado consumo destes fármacos pela população e a necessidade do monitoramento destes. De modo geral, os compostos identificados no afluente e efluente das ETE eram os mesmos e com pouca variação na concentração, o que indica que os processos empregados não são eficazes na remoção dos mesmos durante o tratamento e que uma vez lançado no corpo receptor poderão impactar o mesmo.

Os compostos são recalcitrantes e apenas parcialmente removidos na ETE, o que explica a sua detecção nas amostras de água superficial do Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas que recebem os efluentes de diversas ETE. As menores concentrações determinadas em águas superficialis do que nas ETE se justifica pela diluição do efluente descartado no corpo receptor. Importante é destacar que esses compostos nos recursos hídricos podem vir a se tornar um problema nas estações de tratamento de água que captam a água destes corpos hídricos.

O modelo proposto para o cálculo de PEC se mostrou aceitável pela razão PEC/MEC estar dentro da faixa de 0,2 a 4,0 para a maioria dos compostos nas cinco ETE avaliadas. Esses valores são importantes para uma avaliação do risco ambiental.

# 6– Referências

## 6. Referências

AFONSO-OLIVARES, C.; SOSA-FERRERA, Z.; SANTANA-RODRÍGUEZ, J.J. Occurrence and environmental impact of pharmaceutical residues from conventional and natural wastewater treatment plants in Gran Canaria (Spain). **Science of The Total Environment**, v. 599–600, p. 934–943, 2017.

ALYGIZAKIS, N.A.; GAGO-FERRERO, P.; BOROVA, V.L.; PAVLIDOU, A.; HATZIANESTIS, I.; THOMAIDIS, N.S. Occurrence and spatial distribution of 158 pharmaceuticals, drugs of abuse and related metabolites in offshore seawater. **Science of the Total Environment**, v. 541, p. 1097–1105, 2016.

ANVISA (2018). **Consulta a medicamentos registrados**. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/>. Acessado em maio de 2018.

ANVISA (2012). **Os cinco princípios ativos em formulações industrializadas mais consumidos da Portaria SVS/MS nº 344/1998 nas Unidades da Federação (UF) em 2009, 2010 e 2011.** Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33868/3412134/Tabela_SP_6_1_2012_2.pdf/70b85bb2-b344-4fe7-a04b-41a0eed39511>. Acessado em julho de 2018.

AQUINO, S.F. DE; BRANDT, E.M.F.; CHERNICHARO, C.A.L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187–204, 2015.

ARCHER, E.; PETRIE, B.; KASPRZYK-HORDERN, B.; WOLFAARDT, G.M. The fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs), endocrine disrupting contaminants (EDCs), metabolites and illicit drugs in a WWTW and environmental waters. **Chemosphere**, v. 174, p. 437–446, 2017.

ARDREY, R.E. **Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: An Introduction**. Huddersfield: Wiley, 2003. v. 1.

BAKER, D.R.; KASPRZYK-HORDERN, B. Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography-positive electrospray ionisation tandem mass

spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 12, p. 1620–1631, 2011.

BAZ-LOMBA, J.A.; REID, M..; THOMAS, K.V. Target and suspect screening of psychoactive substances in sewage-based samples by UHPLC-QTOF. **Analytica Chimica Acta**, v. 914, n. 0349, p. 81–90, 2016.

BERGSTROM, R.F.; LEMBERGER, I.; FARID, N. .; WOLEN, R.L. Clinical pharmacology and pharmacokinetics of fluoxetine: A Review. **British Journal of Psychiatry**, v. 1532, n. 3, p. 47–50, 1988.

BIAŁK-BIELIŃSKA, A.; KUMIRSKA, J.; BORECKA, M.; CABAN, M.; PASZKIEWICZ, M.; PAZDRO, K.; STEPNOWSKI, P. Selected analytical challenges in the determination of pharmaceuticals in drinking/marine waters and soil/sediment samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 121, p. 271–296, 2016.

BOTTONI, P.; CAROLI, S. Presence of residues and metabolites of pharmaceuticals in environmental compartments, food commodities and workplaces: A review spanning the three-year period 2014–2016. **Microchemical Journal**, v. 136, p. 2–24, 2018.

BOUISSOU-SCHURTZ, C.; HOUETO, P.; GUERBET, M.; BACHELOT, M.; CASELLAS, C.; MAUCLAIRE, A. C.; PANETIER, P.; DELVAL, C.; MASSET, D. Ecological risk assessment of the presence of pharmaceutical residues in a French national water survey. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 69, n. 3, p. 296–303, 2014.

BOYD, G.R.; REEMTSMA, H.; GRIMM, D.A.; MITRA, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. **Science of The Total Environment**, v. 311, n. 1–3, p. 135–149, 2003.

BRASIL. Portaria de Consolidação nº 5 de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. **Ministério da Saúde**, 2017.

BRIEUDES, V.; LARDY-FONTAN, S.; LALERE, B.; VASLIN-REIMANN, S.; BUDZINSKI, H. Validation and uncertainties evaluation of an isotope dilution-SPE-LC-MS/MS for the quantification of drug residues in surface waters. **Talanta**, v. 146, p. 138–147, 2016.

BROGDEN, R.N.; HEEL, R.C.; SPEIGHT, T.M.; AVERY, G.S. Trazodone: A

Review of its pharmacological properties and therapeutic use in depression and anxiety. **Drugs**, v. 21, n. 6, p. 401–429, 1981.

BUSETTI, F.; LINGE, K. L.; HEITZ, A. Analysis of pharmaceuticals in indirect potable reuse systems using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 31, p. 5807–5818, 2009.

CAMPANHA, M.B.; AWAN, A.T.; DE SOUSA, D.N.R.; GROSSELI, G.M.; MOZETO, A.A.; FADINI, P.S. A 3-year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of São Paulo State of Southeast Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 10, p. 7936–7947, 2015.

CAMPOS, J.R. **Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. 1. ed. Rio de Janeiro: ABES, 1999.

CARRARA, C.; ROBERTSON, W D.; BLOWES, D.W. Fate of pharmaceutical and trace organic compounds in three septic system plumes, Ontario, Canadá. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 8, p. 2805–2811, 2008.

CASTRO, A. DE; CONCHEIRO, M.; QUINTELA, O.; CRUZ, A. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis LC – MS / MS method for the determination of nine antidepressants and some of their main metabolites in oral fluid and plasma Study of correlation between venlafaxine concentrations in both matrices. v. 48, p. 183–193, 2008.

CHEMSPIDER, http://www.chemspider.com/. Acessado em junho de 2019.

CHIARADIA, M.C.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Quimica Nova**, v. 31, n. 3, p. 623–636, 2008.

CHOI, J.W.; ZHAO, Y.; BEDIAKO, J.K.; CHO, C. W.; YUN, Y.S. Estimating environmental fate of tricyclic antidepressants in wastewater treatment plant. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 52–58, 2018.

CHRISTENSEN, A.M.; FAABORG-ANDERSEN, S.; INGERSLEV, F.; BAUN, A. Mixture and single-substance toxicity of selective serotonin reuptake inhibitors toward algae and crustaceans. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 1, p. 85–91, 2007.

CLEARE, A.J.; DUNCKO, R. Pharmacological management of depressive

disorders. **Medicine**, v. 44, n. 12, p. 756–760, 2016.

CLEUVERS, M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. **Toxicology Letters**, v. 142, n. 3, p. 185–194, 2003.

COETSIER, C. M.; SPINELLI, S.; LIN, L.; ROIG, B.; TOURAUD, E. Discharge of pharmaceutical products (PPs) through a conventional biological sewage treatment plant: MECs vs PECs? **Environment International**, v. 35, n. 5, p. 787–792, 2009.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA n° 430, de 13 de Maio de 2011. **Diário Oficial da União**, 2011.

CRANE, G. E. The psychiatric side-effects of iproniazid. **American Journal of Psychiatry**, v. 112, n. 7, p. 494–501, 1956.

CRUZ, A.; PARIENTE, M.I.; VASILIADOU, I.; PADRINO, B.; PUYOL, D.; MOLINA, R.; MARTÍNEZ, F. Removal of pharmaceutical compounds from urban wastewater by an advanced bio-oxidation process based on fungi Trametes versicolor immobilized in a continuous RBC system. **Environmental Science and Pollution Research**, n. 35, p. 34884–34892, 2018.

DAVID, A.; LANGE, A.; TYLER, C.R.; HILL, E.M. Concentrating mixtures of neuroactive pharmaceuticals and altered neurotransmitter levels in the brain of fish exposed to a wastewater effluent. **Science of the Total Environment**, v. 621, p. 782–790, 2018.

DE ALMEIDA, C.A.A.; BRENNER, C.G.B.; MINETTO, L.; MALLMANN, C.A.; MARTINS, A.F. Determination of anti-anxiety and anti-epileptic drugs in hospital effluent and a preliminary risk assessment. **Chemosphere**, v. 93, n. 10, p. 2349–2355, 2013.

DE ALMEIDA, C.A.A.; OLIVEIRA, M.S.; MALLMANN, C.A.; MARTINS, A.F. Determination of the psychoactive drugs carbamazepine and diazepam in hospital effluent and identification of their metabolites. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 21, p. 17192–17201, 2015.

DE OLIVEIRA FERREIRA, F.; RODRIGUES-SILVA, C.; RATH, S. On-line solid-phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of avermectins and milbemycin in soils. **Journal of Chromatography A**, v. 1471, p. 118–125, 2016.

DE SOUSA, D.N.R.; MOZETO, A.A.; CARNEIRO, R.L.; FADINI, P.S. Spatio-

temporal evaluation of emerging contaminants and their partitioning along a Brazilian watershed. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 5, p. 4607–4620, 2018.

DESENVOLVIMENTO REGIONAL MINISTÉRIO DO, S. N. DE S. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento**. Disponível em: <http://app4.cidades.gov.br/serieHistorica/>.

DRUGBANK, https://www.drugbank.ca/. Acessado em junho de 2019.

ERA Summary - Clonazepam Environmental Risk Assessment Summary. https://www.roche.com/dam/jcr:8a047e8c-fa29-47a8-ba35-8cbdb0bd34c1/en/clonazepam-ERA-summary-2018.pdf. Acessado em junho 2019.

MANKES, F.R.; SILVER, D.C. Pharmaceutical dispensing and wasting in health care facilities, amounts, costs and evaluation of potential ecologic effects. **SOJ Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 4, p. 1–32, 2018.

FERREIRA, A. Environmental Investigation of Psychiatric Pharmaceuticals: Guandu River, Rio De Janeiro State, Southeast Brazil. **Journal of Chemical Health Risks**, v. 4, p. 25–32, 2014.

FERRER, I.; THURMAN, E.M. Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1259, p. 148–157, 2012.

FICK, J.; BRODIN, T.; HEYNEN, M.; KLAMINDER, J.; JONSSON, M.; GRABICOVA, K.; RANDAK, T.; GRABIC, R.; KODES, V.; SLOBODNIK, J.; SWEETMAN, A.; EARNSHAW, M.; BARRA CARACCIOLO, A.; LETTIERI, T.; LOOS, R. Screening of benzodiazepines in thirty European rivers. **Chemosphere**, v. 176, p. 324–332, 2017.

FISICHELLA, M.; MORINI, L.; SEMPIO, C.; GROPPI, A. Validation of a multi-analyte LC-MS/MS method for screening and quantification of 87 psychoactive drugs and their metabolites in hair. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 14, p. 3497–3506, 2014.

FOCAZIO, M.J.; KOLPIN, D.W.; BARNES, K.K.; FURLONG, E.T.; MEYER, M.T.; ZAUGG, S.D.; BARBER, L.B.; THURMAN, M.E. A national reconnaissance for pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States - II) Untreated drinking water sources. **Science of the Total**

**Environment**, v. 402, n. 2–3, p. 201–216, 2008.

FRASER, A. D.; BRYAN, W.; ISNER, A. F. Urinary screening for alprazolam and its major metabolites by the Abbott ADx and TDx analyzers with confirmation by GC/MS. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 15, n. 1, p. 25–29, 1991.

FROEHNER, S.; PICCIONI, W.; MACHADO, K.S.; AISSE, M.M. Removal capacity of caffeine, hormones, and bisphenol by aerobic and anaerobic sewage treatment. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 216, n. 1–4, p. 463–471, 2011.

GIEBUŁTOWICZ, J.; NAŁECZ-JAWECKI, G. Occurrence of antidepressant residues in the sewage-impacted Vistula and Utrata rivers and in tap water in Warsaw (Poland). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 104, n. 1, p. 103–109, 2014.

GILMAN, G. &. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-hill Interamericana do Brasil Ltda, 2005.

GURKE, R.; ROSSMANN, J.; SCHUBERT, S.; SANDMANN, T.; RÖSSLER, M.; OERTEL, R.; FAULER, J. Development of a SPE-HPLC-MS/MS method for the determination of most prescribed pharmaceuticals and related metabolites in urban sewage samples. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 990, p. 23–30, 2015.

HIGNITE, C.; AZARNOFF, D.L. Drugs and drug metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water effluent. **Life Sciences**, v. 20, n. 2, p. 337–341, 1977.

HÖRSING, M.; LEDIN, A.; GRABIC, R.; FICK, J.; TYSKLIND, M.; JANSEN, J. LA C.; ANDERSEN, H. R. Determination of sorption of seventy-five pharmaceuticals in sewage sludge. **Water Research**, v. 45, n. 15, p. 4470–4482, 2011.

IGLESIAS, A. H. **Introdução ao Acoplamento Cromatografia Líquida – Espectrometria de Massas**. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/met/images/arquivos/17MET/minicursos/introducao ao acoplamento cromatografia liquida - espectrometria de massas.pdf>. Acessado em março de 2018.

JELIC, A.; GROS, M.; GINEBREDA, A.; CESPEDES-SÁNCHEZ, R.; VENTURA,

F.; PETROVIC, M.; BARCELO, D. Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. **Water Research**, v. 45, n. 3, p. 1165–1176, 2011.

JONES, O.A.H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. **Water Research**, v. 36, n. 20, p. 5013–5022, 2002.

JORGENSEN, S.E.; HALLING-SORENSEN, H. Drugs in the environment. **Chemosphere**, v. 40, p. 691–699, 2000.

KLANČAR, A.; TRONTELJ, J.; ROŠKAR, R. Development of a Multi-Residue Method for Monitoring 44 Pharmaceuticals in Slovene Surface Water by SPE-LC-MS/MS. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 229, n. 6, 2018.

KOSMA, C I.; NANNOU, C.I.; BOTI, V.I.; ALBANIS, T.A. Psychiatrics and selected metabolites in hospital and urban wastewaters: Occurrence, removal, mass loading, seasonal influence and risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 659, p. 1473–1483, 2019.

KUHN, R. The treatment of depressive states with C 22355 (Imipramine hydrochloride). **The American Journal of Psychiatry**, v. 115, n. 5, 1958.

LAJEUNESSE, A.; GAGNON, C.; SAUVÉ, S. Determination of basic antidepressants and their N-desmethyl metabolites in raw sewage and wastewater using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 14, p. 5325–5333, 2008.

LAJEUNESSE, A.; SMYTH, S.A.; BARCLAY, K.; SAUVÉ, S.; GAGNON, C. Distribution of antidepressant residues in wastewater and biosolids following different treatment processes by municipal wastewater treatment plants in Canada. **Water Research**, v. 46, n. 17, p. 5600–5612, 2012.

LECLERCQ, M.; MATHIEU, O.; GOMEZ, E.; CASELLAS, C.; FENET, H.; HILLAIRE-BUYS, D. Presence and fate of carbamazepine, oxcarbazepine, and seven of their metabolites at wastewater treatment plants. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 56, n. 3, p. 408–415, 2009.

LIEBERMAN, J. History of the use of antidepressants in primary care. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 5, n. suppl 7, p. 6–10, 2003.

LILIUS, H.; ISOMAA, B.; HOLMSTRÖM, T. A comparison of the toxicity of 50

reference chemicals to freshly isolated rainbow trout hepatocytes and Daphnia magna. **Aquatic Toxicology**, v. 30, n. 1, p. 47–60, 1994.

LOOS, R.; CARVALHO, R.; ANTÓNIO, D.C.; COMERO, S.; LOCORO, G.; TAVAZZI, S.; PARACCHINI, B.; GHIANI, M.; LETTIERI, T.; BLAHA, L.; JAROSOVA, B.; VOORSPOELS, S.; SERVAES, K.; HAGLUND, P.; FICK, J.; LINDBERG, R.H.; SCHWESIG, D.; GAWLIK, B.M. EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. **Water Research**, v. 47, n. 17, p. 6475–6487, 2013.

MAREK, C.L.; PARKS, E.T. **15 - Patients with a psychological disorder**. 3rd Edition, ed. Elsevier Inc., 2016.

MARTY, J.; MOREIRA, J. C.; SIM, E. Contaminantes Emergentes. **Revista de Química Industrial**, v. 733, n. 51, p. 1–13, 2011.

MELIN, T.; JEFFERSON, B.; BIXIO, D.; THOEYE, C.; WILDE, W. DE; KONING, J. DE. Membrane bioreactor technology for wastewater treatment and reuse. v. 187, n. February 2005, p. 271–282, 2006.

MELVIN, S.D. Effect of antidepressants on circadian rhythms in fish : Insights and implications regarding the design of behavioural toxicity tests. **Aquatic Toxicology**, v. 182, p. 20–30, 2017.

METCALFE, C.D.; CHU, S.; JUDT, C.; LI, H.; OAKES, K.D.; SERVOS, M.R.; ANDREWS, D.M. Antidepressants and their metabolites in municipal wastewater, and downstream exposure in an urban watershed. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 79–89, 2010.

MOHAMAD HANAPI, N.S.; SANAGI, M.M.; ISMAIL, A.K.; WAN IBRAHIM, W. A.; SAIM, N.; WAN IBRAHIM, W. N. Ionic liquid-impregnated agarose film two-phase micro-electrodriven membrane extraction (IL-AF-μ-EME) for the analysis of antidepressants in water samples. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1046, p. 73–80, 2017.

MOMPELAT, S.; LE BOT, B.; THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. **Environment International**, v. 35, n. 5, p. 803–814, 2009.

NARUMIYA, M.; NAKADA, N.; YAMASHITA, N.; TANAKA, H. Phase distribution and removal of pharmaceuticals and personal care products during anaerobic sludge digestion. **Journal of Hazardous Materials**, v. 260, n.

2013, p. 305–312, 2013.

NEGRUSZ, A.; BOWEN, A.M.; MOORE, C.M.; DOWD, S.M.; STRONG, M.J.; JANICAK, P.G. Elimination of 7-aminoclonazepam in urine after a single dose of clonazepam. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 376, n. 8, p. 1198–1204, 2003.

NUNES, C.N; ANJOS, V.E.; QUINAIS, S. P. Determination of Diazepam and Clonazepam in Natural Water – a Voltammetric Study. **Electroanalysis**, v. 30, p. 109–118, 2018.

NUNES, C.N.; PAULUK, L.E.; EGÉA, V.; LOPES, M.C.; QUINÁIA, S.P. New approach to the determination of contaminants of emerging concern in natural water : study of alprazolam employing adsorptive cathodic stripping voltammetry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 2015.

PAÍGA, P.; SANTOS, L.H.M.L.M.; RAMOS, S.; JORGE, S.; SILVA, J.G.; DELERUE-MATOS, C. Presence of pharmaceuticals in the Lis river (Portugal): Sources, fate and seasonal variation. **Science of the Total Environment**, v. 573, p. 164–177, 2016.

PAPAGEORGIOU, M.; KOSMA, C.; LAMBROPOULOU, D. Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece. **Science of the Total Environment**, v. 543, p. 547–569, 2016.

PETRIE, B.; YOUDAN, J.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. Multi-residue analysis of 90 emerging contaminants in liquid and solid environmental matrices by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1431, p. 64–78, 2016.

PETROVIĆ, M.; ŠKRBIĆ, B.; ŽIVANČEV, J.; FERRANDO-CLIMENT, L.; BARCELO, D. 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.

PICHINI, S.; CORTES, L.; MARCHEI, E.; SOLIMINI, R.; PACIFICI, R.; GOMEZ-ROIG, M. D.; GARCÍA-ALGAR, O. Ultra-high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of

antidepressant and anxiolytic drugs in neonatal meconium and maternal hair. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 118, p. 9–16, 2016.

POMIÈS, M.; CHOUBERT, J. M.; WISNIEWSKI, C.; COQUERY, M. Modelling of micropollutant removal in biological wastewater treatments: A review. **Science of the Total Environment**, v. 443, p. 733–748, 2013.

PORTO, R.S.; RODRIGUES-SILVA, C.; SCHNEIDER, J.; RATH, S. Benzimidazoles in wastewater: Analytical method development, monitoring and degradation by photolysis and ozonation. **Journal of Environmental Management**, v. 232, n. May 2018, p. 729–737, 2019.

RABIET, M.; TOGOLA, A.; BRISSAUD, F.; SEIDEL, J.L.; BUDZINSKI, H.; ELBAZ-POULICHET, F. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized mediterranean catchment. **Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 17, p. 5282–5288, 2006.

RACAMONDE, I.; RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; VILLAVERDE-DE-SÁA, E.; CELA, R. Determination of benzodiazepines, related pharmaceuticals and metabolites in water by solid-phase extraction and liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1352, p. 69–79, 2014.

RADJENOVIC, J.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1365–1377, 2007.

REPICE, C.; GRANDE, M.D.; MAGGI, R.; PEDRAZZANI, R. Licit and illicit drugs in a wastewater treatment plant in Verona, Italy. **Science of the Total Environment**, v. 463–464, p. 27–34, 2013.

RIBEIRO, A.R.; MAIA, A.S.; MOREIRA, I.S.; AFONSO, C.M.; CASTRO, P.M.L.; TIRITAN, M.E. Enantioselective quantification of fluoxetine and norfluoxetine by HPLC in wastewater effluents. **Chemosphere**, v. 95, p. 589–596, 2014.

RIVM Letter Report 601711003 Assessment of potential risks of 11 pharmaceuticals for the environment: Using environmental information from public databases, 2011.

https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/601711003.pdf. Acessado em junho 2019.

RODRIGUES-SILVA, C.; PORTO, R.; DOS SANTOS, S.; SCHNEIDER, J.; RATH, S. Fluoroquinolones in Hospital Wastewater: Analytical Method, Occurrence, Treatment with Ozone and Residual Antimicrobial Activity Evaluation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2019.

ROSSMANN, J.; SCHUBERT, S.; GURKE, R.; OERTEL, R.; KIRCH, W. Simultaneous determination of most prescribed antibiotics in multiple urban wastewater by SPE-LC – MS / MS. **Journal of Chromatography B**, v. 969, p. 162–170, 2014.

SALGADO, R.; MARQUES, R.; NORONHA, J.P.; MEXIA, J. T.; CARVALHO, G.; OEHMEN, A.; REIS, M.A.M. Assessing the diurnal variability of pharmaceutical and personal care products in a full-scale activated sludge plant. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2359–2367, 2011.

SANASA. **Diagnóstico Sanasa: ABASTECIMENTO DE ÁGUA POTÁVEL**. Disponível em: <https://planodiretor.campinas.sp.gov.br/timeline/timeline/24_materiais_recebidos_leitura_cidade//diagnostico_sanasa.pdf>. Acessado em junho de 2019.

SÁNCHEZ, A.; BUNTNER, D.; GARRIDO, J.M. Impact of methanogenic pre-treatment on the performance of an aerobic MBR system. **Water Research**, v. 47, n. 3, p. 1229–1236, 2013.

SANTOS, L.H.M.L.M.; ARAÚJO, A.N.; FACHINI, A.; PENA, A.; DELERUE-MATOS, C.; MONTENEGRO, M.C.B.S.M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 175, n. 1–3, p. 45–95, 2010.

SANTOS, L.H.M.L.M.; GROS, M.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; DELERUE-MATOS, C.; PENA, A.; BARCELÓ, D.; MONTENEGRO, MC. B.S.M. Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals. **Science of the Total Environment**, v. 461–462, p. 302–316, 2013.

SCHOLZ, M.; SCHOLZ, M. Chapter 26 – Modeling of Constructed Wetland Performance. **Wetlands for Water Pollution Control**, p. 239–257, 2016.

SCHULTZ, M.M.; FURLONG, E.T. Trace Analysis of Antidepressant Pharmaceuticals and Their Select Degradates in Environmental Matrices by LC / ESI / MS / MS a ) b. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 5, p. 1756–1762, 2008.

SCHULTZ, M.M.; FURLONG, E.T.; KOLPIN, D.W.; WERNER, S.L.; SCHOENFUSS, H.L.; BARBER, L.B.; BLAZER, V.S.; NORRIS, D.O.; VAJDA, A.M. Antidepressant pharmaceuticals in two U.S. effluent-impacted streams: Occurrence and fate in water and sediment and selective uptake in fish neural tissue. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 6, p. 1918–1925, 2010.

ŞENTÜRK, Z.; SAKA, C.; TEĞIN, I. Analytical methods for determination of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 87–122, 2011.

SHENG, L.H.; CHEN, H.R.; HUO, Y. BIN; WANG, J.; ZHANG, Y.; YANG, M.; ZHANG, H.X. Simultaneous determination of 24 antidepressant drugs and their metabolites in wastewater by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Molecules**, v. 19, n. 1, p. 1212–1222, 2014.

SILVA, L.J.G.; PEREIRA, A.M.P.T.; RODRIGUES, H.; MEISEL, L.M.; LINO, C.M.; PENA, A. Science of the Total Environment SSRIs antidepressants in marine mussels from Atlantic coastal areas and human risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 603–604, p. 118–125, 2017.

SIM, W.J.; LEE, J.W.; LEE, E.S.; SHIN, S.K.; HWANG, S.R.; OH, J.E. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. **Chemosphere**, v. 82, n. 2, p. 179–186, 2011.

SOARES, M.B.D.M.; MORENO, R.A.; MORENO, D.H. Psicofarmacologia de antidepressivos. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, p. 24–40, 1999.

SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; UFMG, 2005 452 p. (Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias, v.1).

STAMATELATOU, K.; FROUDA, C.; FOUNTOULAKIS, M.S.; DRILLIA, P.; KORNAROS, M.; LYBERATORS, G. Pharmaceuticals and health care

products in wastewater effluents: the example of carbamazepine. Water Supply, v. 3, p. n. July, p. 131–137, 2003.

SUI, Q.; HUANG, J.; DENG, S.; CHEN, W.; YU, G. Seasonal variation in the occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products in different biological wastewater treatment processes. **Environmental Science & Technology,** p. 3341–3348, 2011.

TARCOMNICU, I.; VAN NUIJS, A.L.N.; SIMONS, W.; BERVOETS, L.; BLUST, R.; JORENS, P.G.; NEELS, H.; COVACI, A. Simultaneous determination of 15 top-prescribed pharmaceuticals and their metabolites in influent wastewater by reversed-phase liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 83, n. 3, p. 795–803, 2011.

TERNES, T.A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. **Water Research**, v. 32, n. 11, p. 3245–3260, 1998.

TERNES, T.; JOSS, A. **Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances - The Challenge of Micropollutants in Urban Water Management**. IWA Publisher, Londres, Reino Unido, volume 5, 2006.

TETZNER, N F.; MANIERO, M.G.; RODRIGUES-SILVA, C.; RATH, S. On-line solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a powerful technique for the determination of sulfonamide residues in soils. **Journal of Chromatography A**, v. 1452, n. 2016, p. 89–97, 2016.

THE UMWELTBUNDESAMT. **Database - Pharmaceuticals in the environment**. Disponível em: <https://www.umweltbundesamt.de/en/database-pharmaceuticals-in-the-environment-0>. Acessado em junho de 2018.

TLILI, I.; CARIA, G.; OUDDANE, B.; GHORBEL-ABID, I.; TERNANE, R.; TRABELSI-AYADI, M.; NET, S. Simultaneous detection of antibiotics and other drug residues in the dissolved and particulate phases of water by an off-line SPE combined with on-line SPE-LC-MS/MS: method development and application. **Science of the Total Environment,** v. 563–564, p. 424–433, 2016.

TRAN, N.H.; URASE, T.; NGO, H. H.; HU, J.; ONG, S.L. Insight into metabolic and cometabolic activities of autotrophic and heterotrophic microorganisms in the biodegradation of emerging trace organic contaminants. **Bioresource**

**Technology**, v. 146, p. 721–731, 2013.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPI Suite™-Estimation Program Interface** Washington, DC, USA, 2012. Disponível em: <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/epi-suitetm-estimation-program-interface>. Acessado em junho de 2019.

VALENTI, T.W.; GOULD, G.G.; BERNINGER, J.P.; CONNORS, K. A.; KEELE, N.B.; PROSSER, K.N.; BROOKS, B.W. Human therapeutic plasma levels of the selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) sertraline decrease serotonin reuptake transporter binding and shelter-seeking behavior in adult male fathead minnows. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 4, p. 2427–2435, 21 fev. 2012.

VASSKOG, T.; ANDERSSEN, T.; PEDERSEN-BJERGAARD, S.; KALLENBORN, R.; JENSEN, E. Occurrence of selective serotonin reuptake inhibitors in sewage and receiving waters at Spitsbergen and in Norway. **Journal of Chromatography A**, v. 1185, n. 2, p. 194–205, 2008.

VERLICCHI, P.; AL AUKIDY, M.; ZAMBELLO, E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. **Science of the Total Environment**, v. 429, p. 123–155, 2012.

VIENO, N.; TUHKANEN, T.; KRONBERG, L. Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland. **Water Research**, v. 41, n. 5, p. 1001–1012, 2007.

WANG, J.; WANG, S. Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 182, p. 620–640, 2016.

WEIGEL, S.; BERGER, U.; JENSEN, E.; KALLENBORN, R.; THORESEN, H.; HÜHNERFUSS, H. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. **Chemosphere**, v. 56, n. 6, p. 583–592, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: WHO (2011). **Guidelines for drinking-water quality**. Disponível em: <https://apublica.org/wp-content/uploads/2014/03/Guidelines-OMS-2011.pdf>.Acessado em junho de 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: WHO. **Mental disorders**. Disponível em:

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>. Acessado em junho de 2019.

YAN, Q.; GAO, X.; HUANG, L.; GAN, X.M.; ZHANG, Y.X.; CHEN, Y P.; PENG, X. Y.; GUO, J. S. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the largest municipal wastewater treatment plant in Southwest China: Mass balance analysis and consumption back-calculated model. **Chemosphere**, v. 99, p. 160–170, 2014.

YANG, Y.; OK, Y.S.; KIM, K H.; KWON, E E.; TSANG, Y.F. Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. **Science of the Total Environment**, v. 596–597, p. 303–320, 2017.

YUAN, S.L.; LI, X.F.; JIANG, X.M.; ZHANG, H.X.; ZHENG, S.K. Simultaneous determination of 13 psychiatric pharmaceuticals in sewage by automated solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. **Fenxi Huaxue/ Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 49–56, 2013.

# 7 – ANEXOS

# 7. ANEXOS

## 7.1. Anexo I. Questionário – Uso de medicamentos antidepressivos

O questionário a seguir tem o objetivo de fazer uma investigação a respeito do uso de medicamentos antidepressivos e/ou ansiolíticos, bem como avaliar quais destes medicamentos são os mais consumidos. Os resultados obtidos desta pesquisa serão utilizados no desenvolvimento de uma dissertação de mestrado.

| |
|---|
| - Sexo: |
| - Idade: |
| - Cidade e estado: |
| - Utiliza atualmente algum medicamento antidepressivo ou ansiolítico: |
| - Se sim, qual:<br><br>- Se já utilizou, qual: |
| - Com que frequência faz uso do medicamento:<br><br>○ Uma vez por dia<br>○ Uma vez por semana<br>○ Duas vezes por semana<br>○ Três vezes por semana<br>○ Outro: |
| - Por quanto tempo utiliza o medicamento:<br><br>○ 6 meses<br>○ 1 ano<br>○ 2 anos<br>○ 3 anos<br>○ Outro: |
| - O medicamento foi utilizado com qual finalidade:<br><br>○ Depressão<br>○ Transtorno obsessivo compulsivo<br>○ Ansiedade<br>○ Transtorno bipolar do humor<br>○ Outro: |

## 7.2. Anexo I. Parâmetros físico-químicos das amostras de efluente coletadas.

**Tabela S1**. Parâmetros físico-químicos das amostras coletadas na entrada e saída da ETE C (n=3).

| Parâmetro | Unidade | Entrada ETE | | | Saída ETE | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Mediana | Min | Máx | Mediana | Min | Máx |
| **pH** | - | 7,3 | 7,2 | 7,3 | 7,4 | 7,3 | 7,4 |
| **DQO** | mg $O_2$ $L^{-1}$ | 383 | 307 | 557 | 32 | 28 | 41 |
| **$DBO_5$** | mg $O_2$ $L^{-1}$ | 770 | 558 | 774 | 72 | 66 | 81 |
| **$N\text{-}NH_3^+$** | mg $NH_3$ $L^{-1}$ | 49 | 44 | 64 | 0,4 | 0,22 | 0,6 |
| **$N\text{-}NO_3^-$** | mg $NO_3$ $L^{-1}$ | 0,685 | 0,65 | 0,72 | 4,4 | 3,1 | 5,12 |
| **FT** | mg P $L^{-1}$ | 4,7 | 4,7 | 4,7 | 4,7 | 4,7 | 4,7 |
| **Turbidez** | NTU | | | | 15,5 | 15,2 | 18,3 |
| **SST** | mg $L^{-1}$ | 348 | 320 | 420 | 30 | 8 | 32 |

DQO: demanda química de oxigênio; DBO: demando bioquímica de oxigênio; $N\text{-}NH_3^+$: nitrogênio amoniacal; $N\text{-}NO_3^-$ :concentração de nitratos; FT: fósforo total; SST: sólidos suspensos totais.

**Tabela S2.** Parâmetros físico-químicos das amostras coletadas na entrada e saída da ETE E (n = 4).

| Parâmetro | Unidade | Entrada ETE | | | Saída ETE | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Mediana | Min | Máx | Mediana | Min | Máx |
| **pH** | - | 7,1 | 6,8 | 7,2 | 7,1 | 6,9 | 7,4 |
| **DQO** | mg $O_2$ $L^{-1}$ | 585,5 | 523 | 924 | 33 | 31 | 58 |
| **$DBO_5$** | mg $O_2$ $L^{-1}$ | 310 | 294 | 378 | <1 | <1 | <1 |
| **N-NTK** | mg N $L^{-1}$ | 55,5 | 53 | 58 | 0,6 | 0,5 | 1,3 |
| **$N\text{-}NH_3^+$** | mg $NH_3$ $L^{-1}$ | 49 | 48 | 50 | 0,08 | 0,05 | 0,13 |
| **$N\text{-}NO_3^-$** | mg $NO_3$ $L^{-1}$ | 0,66 | 0,66 | 0,66 | 12,3 | 11,5 | 20,4 |
| **FT** | mg P $L^{-1}$ | 8,1 | 5,3 | 10,9 | 2,45 | 2,4 | 2,5 |
| **Condutividade** | µS $cm^{-1}$ | - | - | - | 637,5 | 601 | 662 |
| **Alcalinidade** | mg $CaCO_3$ $L^{-1}$ | 280 | 280 | 280 | 51 | 51 | 51 |
| **Turbidez** | NTU | - | - | - | 0,135 | 0,11 | 0,24 |
| **SST** | mg $L^{-1}$ | 306 | 252 | 380 | 3 | 3 | 3 |

DQO: demanda química de oxigênio; DBO: demando bioquímica de oxigênio; N-NKT: nitrogênio total pelo método de Kjeldahl; $N\text{-}NH_3^+$: nitrogênio amoniacal; $N\text{-}NO_3^-$ :concentração de nitratos; FT: fósforo total; SST: sólidos suspensos totais.