



VI-039 – AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DO RIO BARIGUI POR ESGOTOS DOMÉSTICOS ATRAVÉS DA CAFEÍNA, UM TRAÇADOR MOLECULAR

Sandro Froehner⁽¹⁾

Químico pela Universidade Federal de Santa Catarina. Mestre em Química Orgânica pela Universidade Federal de Santa Catarina. Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina.

Daniele Botelho⁽¹⁾

Engenheira Ambiental pela Universidade Federal do Paraná. Mestranda em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental pela Universidade Federal do Paraná.

Karina Scurupa Machado⁽¹⁾

Tecnóloga em Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Mestranda em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental pela Universidade Federal do Paraná.

Edson Cordova da Rosa⁽²⁾

Químico pela Universidade Federal de Santa Catarina. Mestre em Química Orgânica pela Universidade Federal de Santa Catarina. Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina.

Endereço⁽¹⁾: Departamento de Engenharia Ambiental – Centro Politécnico – Jardim das Américas – Curitiba – PR – CEP 81531-980 – Brasil Tel: (41) 3361-3146 – froehner@ufpr.br; ksmachado@hotmail.com, dani_botelho@yahoo.com.br

Endereço⁽²⁾: Cetind – Senai - Lauro de Freitas- BA – CEP: 42700-000 Tel: (71) 3285-5331 – edsonvalmir@yahoo.com.br

RESUMO

A bacia do rio Barigui bacia está localizada na região metropolitana de Curitiba, região Sul do Brasil, passando por vários municípios vizinhos. Nos últimos anos, devido ao crescimento e ocupação desordenada ao longo do rio, além da falta de saneamento, o rio Barigui tem sofrido com o grande aporte de esgotos domésticos não tratados. Os programas atuais de monitoramento utilizam de parâmetros físico-químicos tradicionais. Neste trabalho, investigamos a presença de dois marcadores moleculares presentes em esgotos domésticos, a cafeína e o coprostanol. A cafeína é altamente solúvel em água e sua presença nos corpos d'água deve-se à disposição de esgotos não tratados. A cafeína é eliminada na urina (aproximadamente 0,5 a 10% do consumo). As amostras foram coletadas em três campanhas, duas em tempo seco e outra durante uma semana chuvosa. Os resultados mostraram que a concentração da cafeína variou de 0,0 até 735 ug/L. Os maiores valores foram encontrados em dias chuvosos. A cafeína mostrou uma correlação positiva entre DBO e nitratos, que também revelou uma correlação positiva com coprostanol, um biomarcador fecal. Por último, a cafeína tem mostrado ser um bom parâmetro para determinar a contaminação por efluentes domésticos.

PALAVRAS-CHAVE: cafeína, coprostanol, marcadores moleculares, qualidade de águas.

INTRODUÇÃO

Devido ao desequilíbrio entre o crescimento acelerado da população nos grandes centros urbanos e a falta de infra-estrutura sanitária, corpos hídricos próximos à grandes centros urbanos estão sujeitos à contaminação diária por esgotos domésticos e industriais, geralmente lançadas a partir de conexões ilegais. A presença de poluentes, oriundos de esgotos domésticos e industriais, nos sedimentos ou mesmo na água, contribui significativamente para a degradação do corpo hídrico, assim como afeta o ecossistema. O excesso de nutrientes como fósforo, nitrogênio e matéria orgânica, provoca a eutrofização, redução dos níveis de oxigênio dissolvido e, por conseguinte afeta a fauna aquática (Subramanian e col., 2005).

Dadas às dificuldades na rotina isolamento de patógenos a partir de amostras ambientais, microbiologistas utilizam de indicadores microbiológicos para avaliar a presença de material fecal no meio ambiente como um parâmetro para a rotina de indicação de contaminação (Barber e col., 1995). A interpretação dos resultados baseia-se na premissa de que sua presença está diretamente ligada à poluição por esgotos domésticos e, portanto, o risco de contaminação por agentes patogênicos. Todavia, a presença de várias substâncias, por exemplo para fins farmacêuticos, pode afetar o metabolismo dos patógenos utilizados como bioindicadores de



poluição fecal (Ferreira, 2005, Barber e col., 2002). Deste modo buscaram-se outras alternativas para avaliar a presença de esgotos domésticos, sendo que dentro destas alternativas estão alguns compostos químicos utilizados como marcadores da poluição, sendo um deles a cafeína (Fitzsimons e col., 1995).

A cafeína está presente em muitos produtos consumidos diariamente, tais como chocolates, café, chás, refrigerantes, etc. A cafeína é rapidamente metabolizada pelo fígado e geralmente, 0,5 à 10% é eliminado pela urina (Aranaud, 1993). Tem uma baixa taxa de degradação no meio ambiente, o que faz deste composto um ótimo marcador de poluição, além de não ter uma fonte natural.

Além da cafeína, os esteróis fecais têm sido muito utilizados para rastrear fontes de poluição fecal. O coprostanol é uma destas substâncias, eliminada nas fezes em quantidades que superam 1 g/dia/pessoa aproximadamente (Froehner e col., 2008).

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de cafeína em amostras de água do rio Barigüi, assim como avaliar a presença de esteróis fecais em amostras de sedimento que podem revelar a fonte de contaminação e comparar os resultados com análises de parâmetros tradicionais como DBO e nitrato frequentemente utilizados na avaliação da presença ou não de contaminação por esgotos domésticos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O local de estudo, compreende a Bacia do Rio Barigüi, situada na região metropolitana de Curitiba, PR. Esta bacia, situada entre as coordenadas 25°13'24'' sul e 25°38'23'' oeste no Primeiro Planalto Paranaense, apresenta formato estreito e alongado, com largura que varia de 4 a 9 km, está confinada entre as bacias do rio Atuba, Belém e do Ribeirão dos Padilhas a leste e o rio Passaúna a oeste. Tal bacia hidrográfica é afluente da margem direita do rio Iguaçu e faz divisa com os Municípios de Rio Branco do Sul, Almirante Tamandaré, Campo Largo, Araucária, Fazenda Rio Grande e Colombo. Sua área total de drenagem é de 279,11 km², sendo 140,8 km² em Curitiba, aproximadamente 33% da área total do município (Froehner e Martins, 2008).

O rio Barigüi apresenta 60 km de extensão, passando por Curitiba em uma extensão de aproximadamente 45 km. Nasce na Serra da Betara, numa região próxima à divisa dos municípios de Almirante Tamandaré e Rio Branco do Sul. Seus principais afluentes na margem direita, no município de Curitiba, são: rio Pacotuba, rio Tanguá, rio Uvú, ribeirão dos Müller e rio Campo Comprido. Na margem esquerda os principais afluentes são: rio Vila Formosa, rio Passo do França, arroio do Andrada, arroio da Ordem e arroio Pulador.

O trecho do rio Barigüi, com extensão de aproximadamente 25 km, é marcado por uma declividade acentuada, suscetível a erosão e deslizamentos. Rochas metamórficas paragneisses compõem o leito do rio, que está sobre um embasamento cristalino. Sedimentos recentes, de várzeas de inundação constituídas por argilas, areias de aluviões e argilas turfosas caracterizam a região até a foz do rio. Nesta parcela, o terreno é plano, com a presença de um solo hidromórfico, sujeito à inundação. A bacia do Rio Barigüi está sobre uma área fortemente urbanizada, apresentando, portanto, poucas regiões com cobertura vegetal, localizadas geralmente ao norte da bacia, no município de Almirante Tamandaré. A vegetação presente é composta por florestas caducifólia, subtropical com Araucária Angustifólia, Bracatinga, Mata Pluvial Tropical-Subtropical e Campos.

Ao longo do rio Barigüi foram selecionados sete pontos de amostragem, que coincidem com Estações Automáticas de Monitoramento pertencentes à Universidade Federal do Paraná e existentes desde 2001. As duas primeiras estações, definidas como P0 e P1, localizam-se no município de Almirante Tamandaré e a terceira estação (P2) na entrada do Parque Tingüi. Os pontos P3, P4 e P5 estão situados dentro do lago do Parque Barigüi e a última estação de amostragem (P6), encontra-se a montante da Ponte do Bairro Caximba, em Curitiba.

PROCEDIMENTOS DE LABORATÓRIO

Cafeína

A avaliação da presença de cafeína nas amostras foi realizada por extração líquido-líquido, seguindo-se o procedimento descrito por Ferreira e col. (2005). As amostras foram inicialmente filtradas em papel filtro com porosidade de 0,45µm marca Sartorius Stedim Biotech, sendo então, o pH das amostras elevado entre 8 a



9 com a adição de uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Com a elevação do pH a cafeína é desprotonada, tornando-se insolúvel em água. A forma não protonada da cafeína é insolúvel em água, porém altamente solúvel em solventes orgânicos, como o diclorometano. A amostra de 1L com o pH ajustado entre 8-9 foi dividida em duas partes de 500 mL para o procedimento de extração da cafeína com diclorometano. Este procedimento foi adotado por segurança e evitar volumes muito grandes. O volume de 500 mL da amostra de água foi transferido para um funil de separação sendo em seguida adicionado 25 mL de diclorometano, a fase orgânica foi separada e reservada. Este procedimento foi repetido por três vezes, para os dois volumes de água.

Os volumes de diclorometano, contendo a cafeína, foram então combinados e reduzidos até a secura, sendo então reconstituídos com 2 mL de metanol. Finalmente, a cafeína foi quantificada através de cromatografia líquida de alta eficiência, seguindo a metodologia descrita por Ferreira e col. (2005).

A cafeína foi analisada e quantificada num cromatógrafo (HPLC) modelo LC20A Shimadzu equipado com detector UV. A coluna utilizada foi do tipo C18 ODS HiperSil 250 x 4 (mm) com partícula de 5 µm. A fase móvel era constituída de água e metanol numa proporção de 30:70 sem gradiente (isocrática) e a uma taxa de 0,65 mL/min. O tempo total necessário para a análise foi de 10 minutos, com tempo de retenção da cafeína entre 7 e 8 minutos.

Esteróis Fecais

Os esteróis fecais foram extraídos segundo procedimento descrito por Evershed e col. (2002). A extração e quantificação dos esteróis fecais foram realizadas no Laboratório de Oceanografia Química Orgânica Marinha do Instituto de Oceanografia da USP.

A partir de 20 g de sedimento seco e 70 mL de etanol (Merck p.a) em Soxhlet, extraiu-se os esteróis. O padrão utilizado foi *surrogate* 5α-androstanol (Supelco) e como padrão interno 5α-colestano (Supelco). Concentrou-se o extrato resultante em um evaporador rotativo à vácuo, com posterior isolamento da fração de esteróis por cromatografia de adsorção, utilizando-se uma coluna contendo 2 g de alumina (5% desativada) e sulfato de sódio. Eluiu-se a coluna com 10 mL de etanol, recolhendo-se uma única fração.

Análises físico-químicas

As demais análises de parâmetros tradicionais como oxigênio dissolvido (OD), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), nitrato e nitrito foram realizadas no Laboratório de Engenharia Ambiental Prof. Francisco Borsari Netto – Labeam, seguindo-se a metodologia descrita no *Standard Methods for Water and Wastewater Examination* (1998 - APHA).

RESULTADOS

A descarga de esgotos domésticos tratados e não tratados tem sido o principal fator responsável pela contaminação dos recursos hídricos. No Rio Barigui não é exceção e nos últimos anos a poluição agravou-se cada vez mais. Programas de monitoramento têm comprovado esta situação (Froehner e col., 2008; Froehner e Martins, 2008). No entanto, nenhuma avaliação de poluição tinha sido, até então, realizada utilizando marcadores químicos dissolvidos na água, como a cafeína. Geralmente a cafeína está associada à presença de nitrato e nitrito. Os resultados dos parâmetros analisados (nitrato, DBO e cafeína) são apresentados na Tabela 1. Embora, o rio Barigui seja conhecido por ser poluído em alguns trechos, a utilização de diferentes parâmetros para avaliação do nível de poluição trouxe algumas surpresas em relação às áreas consideradas ausentes de poluição por esgotos domésticos.

Independentemente da campanha, parâmetros como o nitrato e DBO seguiram o mesmo perfil. O parâmetro nitrato, que pode ser proveniente de outras fontes não só esgoto doméstico (Sankaramakrishnan e Guo, 2005), variou entre 0,18 e 0,94 mg/L. A DBO também seguiu o mesmo padrão para todas as três campanhas, e os valores variaram de 0,25 a 9,08 mg/L. As estações P0, P1 e P2 estão localizados em áreas consideradas não contaminadas por esgoto doméstico, e estão localizadas em áreas com uma baixa densidade populacional. No entanto, encontramos níveis de nitrato e DBO um pouco elevadas para áreas consideradas como não contaminadas. Os maiores valores de nitrato e DBO em todas as campanhas realizadas foram encontrados nos

pontos P3, P4, P5 e P6. Estes pontos foram previamente classificados como pontos gravemente contaminados por efluentes domésticos e industriais. Com base nestes dois parâmetros (DBO e nitrato) duas situações diferentes de contaminação podem ser destacadas: (i) uma altamente contaminada, (ii) outra aparentemente ausente da contaminação por esgotos domésticos. Este perfil é confirmado quando a avaliação é realizada por cafeína, cuja principal fonte é o esgoto doméstico.

A maior concentração de cafeína foi de 753,5 µg/L na terceira campanha e o menor valor foi de 1,41 µg/L nas estações que sofrem menor impacto pela presença de esgotos domésticos. Os resultados indicam a complexidade das características de qualidade da água, mas apóiam a hipótese de que, independentemente da alta concentração detectada de parâmetros físico-químicos, a cafeína é um excelente indicador de poluição urbana (Ferreira, 2005).

Tabela 1. Concentração de cafeína, esteróis fecais, nitrato e DBO das amostras de água e sedimento.

	PARÂMETRO	ESTAÇÕES AMOSTRAIS						
		P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6
CAMPANHA 1	DBO (mg/L)	0,29	0,37	0,67	1,69	3,56	6,32	8,66
	NO ₃ ⁻ N(mg/L)	0,21	0,22	0,33	0,65	0,70	0,94	0,98
	Cafeína (µg/L)	N.D.	N.D.	1,41	36,45	24,06	133,80	533,50
	Cop (µg/g)	0,08	0,20	9,71	42,60	14,20	2,72	196,05
	Ecop (µg/g)	<0,02	0,020	0,46	2,45	0,83	0,15	9,71
	Col (µg/g)	0,020	<0,03	0,46	1,67	0,53	0,19	5,47
CAMPANHA 2	DBO (mg/L)	0,35	0,42	0,75	2,59	4,88	7,22	9,08
	NO ₃ ⁻ N(mg/L)	0,29	0,28	0,23	0,85	0,92	0,94	1,12
	Cafeína (µg/L)	N.D.	1,91	80,66	100,02	35,71	66,89	538,7
CAMPANHA 3	DBO (mg/L)	0,25	0,32	0,59	1,59	3,85	6,29	8,46
	NO ₃ ⁻ N(mg/L)	0,18	0,28	0,23	0,78	0,81	0,87	0,98
	Cafeína (µg/L)	N.D.	1,41	24,89	67,32	9,45	61,72	753,5

N.D. – não detectado. Cop – coprostanol; Ecop – epicoprostanol; Col – colestanona. SD, cafeína < 2.5 %; NO₃⁻N < 1.9 % e esteróis < 4.1 %.

Como mencionado anteriormente, a proposta inicial deste trabalho foi de avaliar a qualidade da água do rio Barigui, em duas situações diferentes em relação à poluição do rio, uma extremamente poluída e outra com um suposto baixo nível de poluição. Os locais identificados como P0, P1 e P2 eram tidos como locais de baixa poluição em relação aos outros pontos. Estes pontos foram identificados como altamente poluídos em campanhas anteriores (Fernandes e col., 2008; Froehner e col., 2008). Portanto, como esperado, a maior concentração de cafeína foi encontrada nas amostras P4, P5 e P6. A estação amostral P6, localizada em uma área extremamente poluída, teve sua concentração variando de 533,5 à 753,5 µg/L em todas as campanhas.

O perfil da cafeína seguiu o perfil do parâmetro DBO, ou seja, a presença de cafeína foi maior em locais identificados como altamente contaminados por esgotos domésticos. Já o ponto P1, pelo contrário, teve a menor concentração de cafeína entre todos os pontos investigados. Ressalta-se que este ponto está localizado em uma zona menos povoada, e é uma área onde há muita vegetação ciliar. A segunda campanha foi realizada durante uma semana chuvosa, o que pode contribuir para aumentar a concentração de cafeína. Este comportamento já foi observado por Sankaramakrishnan e Guo (2005).

As estações P3 e P4 estão localizadas dentro de um lago, por isso, é possível que a cafeína tenha sido diluída. Por outro lado, os pontos P0, P1 e P2 foram os que apresentaram a menor concentração de cafeína. Esses pontos estão localizados em áreas longe de fontes poluentes. Os valores encontrados para os pontos (P0 e P1), são quase 10 vezes menores do que aqueles encontrados nos pontos P5 e P6. Também as concentrações de nitrito em ambos os locais (P1 e P2) foram baixas.

Embora a cafeína seja encontrada na urina em concentrações de apenas 3 mg/L, mostra-se como um bom marcador molecular. Aufdenkampe e col. (2005) encontraram altas concentrações de cafeína em amostras de



águas de rios dos Estados Unidos (5 a 16 $\mu\text{g/L}$). Comparando os resultados pode-se observar que os valores de cafeína foi maior nas amostras coletadas em dias chuvosos do que nas amostras coletadas em dias secos (primeira e terceira campanha). Segundo a Sankararamakrishnan e Guo (2005) nos períodos com dias de chuvas fortes a concentração pode ser mais elevada.

Segundo Buerge e col. (2006) a remoção de cafeína em sistema de tratamento de esgotos é superior a 99%. Neste trabalho, identificamos que a remoção de cafeína numa estação de tratamento de esgotos mais próxima foi de 90%.

Também foi investigada a presença de coprostanol em amostras de sedimento, assim como outros esteróis fecais. A concentração de coprostanol nos sedimentos é mostrada na Tabela 1. Admite-se como limite para definir um local como poluído ou não, a concentração máxima de 0,1 $\mu\text{g/g}$ (Evershed e col., 2002). A concentração de coprostanol variou de 0,08 a 196,05 $\mu\text{g/g}$, sendo que a maior concentração encontrada foi no ponto P6.

Independentemente do valor limitante utilizado, os resultados corroboram o cenário crítico indicado pela cafeína. Como citado anteriormente, todas as estações amostrais estão próximas de pontos de despejo de esgotos (com exceção dos pontos P0 e P1). Além do coprostanol foi investigado a presença do epicoprostanol. Epicoprostanol é formado durante o tratamento de esgoto doméstico, e pode revelar a idade do esgoto (Evershed e col., 2002). A maior concentração de epicoprostanol foi encontrada no ponto P6, 9,71 $\mu\text{g/g}$. A presença de colestana é o resultado de processos de redução nos sedimentos influenciada por comunidades microbianas.

Finalmente, correlações positivas foram encontradas entre cafeína e coprostanol, embora a presença de coprostanol nos sedimentos se deve a acumulação diferentemente da cafeína na água. A correlação positiva pode ser observada através da Figura 1.

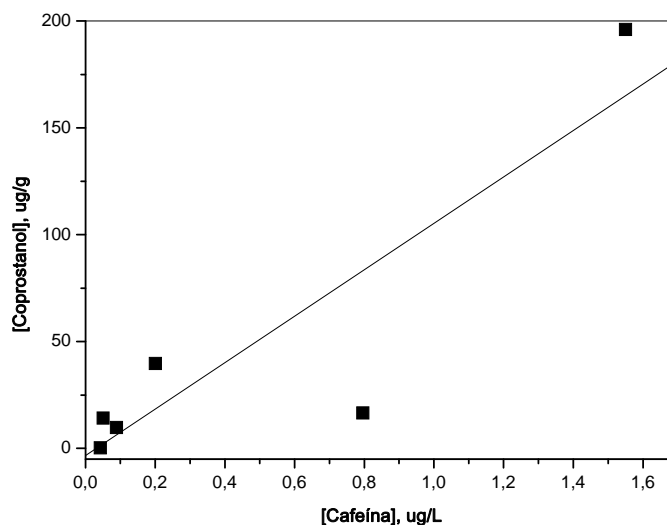


Figura 1. Correlação entre cafeína e coprostanol.

CONCLUSÕES

Pela primeira vez foi usado um marcador molecular para avaliar a presença de esgotos domésticos no rio Barigüi.

Como esperado, os pontos tidos como severamente poluídos apresentaram as maiores concentrações de cafeína. Porém pontos tidos como pouco poluídos, também apresentaram cafeína, porém em concentrações menores. Além disso, a cafeína mostrou uma correlação positiva entre os demais parâmetros investigados, como DBO e nitrato (não mostrado). Um fato interessante foi que as amostras coletadas em dias chuvosos apresentaram maiores concentrações de cafeína em comparação com as amostras coletadas em dias secos. A cafeína também mostrou uma boa correlação com os esteróis fecais. Por último, o cenário de poluição por



esgotos domésticos já era esperado em algumas estações, mas a avaliação através de marcadores moleculares revelou uma situação mais dramática e medidas urgentes são de extrema importância.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. Washington, DC. American Public Health Association. 1998.
2. ARANAUD, M. J., Metabolism of caffeine and other components of coffee. In: Guaratini S, editor. Caffeine, coffee and health. New York: Raven Press, p. 43-95, 1993.
3. AUFDENKAMPE, A. K., ARSCOTT, D. B., DOW, C. L., STANDLEY, L. J. Molecular tracers of soot and sewage contamination in streams supplying New York City drinking water. Journal of the North American Benthological Society, v 25, n 4, p. 928-953, 2005.
4. BUERGE, I. J., POIGER T., MÜLLER M. D., BUSER, H. (2006) Combined Sewer Overflows to Surface Waters Detected by the Anthropogenic Marker Caffeine. Environmental Science and Technology 40(13), 4096-4102
5. BARBER, L.B., KOLPIN, D. W., FURLONG, E. T., MEYER, M. T., THURMAN, E. M., ZAUGG, S. D. Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. streams. 1999-2000: a national reconnaissance. Environmental Science and Technology, v 36, n 6, p. 1202-1211, 2002.
6. BARBER, L. B., LEENHEER, J. A., PEREIRA, W. E., NOYES, T. L., BROWN, G. K., TABOR, C. F., LEENHEER, J.A., WRITER, J. H. Organic compounds in sewage-derived contaminants. In: Meade RH, editor. Contaminants in the Mississippi River, 1987- 1992. USGS Circular, 1133, p.115-135, 1995.
7. EVERSLED, R. J., BULL, I. D., LOCKHEART, M. J., ELHMMALI, M. M., ROBERTS, D. J., The origin of faeces by means of biomarker detection. Environment International, v 27, n 8, p. 647-654, 2002.
8. FERNANDES, C. V. S., RAMOS, F., MARIN, M. C. F. C., PORTO, M. F., Methodology for assessing the economic cost and benefits of river decontamination. Revista de Gestão de Águas da América Latina v 4, n 1, p.39-52, 2008.
9. FERREIRA, A. P., Caffeine as an environmental indicator for assessing urban aquatic ecosystems. Cadernos Saúde Pública, v 21, n 6, p.1884-1892, 2005.
10. FITZSIMONS, M. F., RASHID, M. K. A., RILEY, J. P., WOLFF, G. A. Aminopropanone as a marker for raw sewage in natural waters. Marine Pollution Bulletin, v 30, n 5, p. 306-312, 1995.
11. FROEHNER, S., MARTINS, R. F., ERRERA, M. Assessment of fecal sterols in Barigui River sediments in Curitiba, Brazil. Environmental Assessment and Monitoring, On line, 2008.
12. FROEHNER, S., MARTINS, R. F. Avaliação da composição química de sedimentos do rio Barigui na região metropolitana de Curitiba. Química Nova v 31, n 8, p. 2020-2026.
13. SANKARARAMAKRISHNAN, N., GUO, Q. Chemical tracers as indicator of human fecal coliforms at storm water outfalls. Environment International, v 31, n 8, p.1133-1140, 2005.
14. SUBRAMANIAN, V., MOTURI, O. C. Z., RAWAT, M. Distribution and partitioning of phosphorus in solid waste and sediments from drainage canals in the industrial belt of Delhi, India. Chemosphere v 60, n 2, p. 237-244, 2005.