

**I-107 - VALIDAÇÃO DO SISTEMA DE TRATAMENTO DE ÁGUA PARA USO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA****Alice Sofia do Nascimento Silva⁽¹⁾**

Bacharel em Química Industrial pela Universidade Federal de Pernambuco

Milena Jacira Silva de Moraes⁽¹⁾

Bacharel em Química Industrial pela Universidade Federal de Pernambuco

Ramon Vinícius Santos de Aquino⁽¹⁾

Bacharel em Química Industrial pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestrando em Engenharia Química pela UFPE.

Daniella Carla Napoleão⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em Engenharia Química pela UFPE. Doutora em Engenharia Química pela UFPE. Professora Adjunta do Departamento de Engenharia Química da UFPE.

Endereço⁽¹⁾: Av. Prof. Arthur de Sá, s/n - Recife - Pernambuco - PE - CEP: 50740-521 - Brasil - Tel: (81) 2126-7291 - e-mail: alicesnascimentos@gmail.com**RESUMO**

Em uma indústria farmacêutica, a água deve apresentar o mais alto grau de pureza, atendendo às especificações estabelecidas. O tratamento de água aplicado deve garantir que não haverá diferentes tipos de contaminações por impurezas físico-químicas e microbiológicas. Neste contexto esse trabalho consiste em avaliar o sistema de tratamento de uma estação de tratamento de água, de modo a validar o processo indicando se este é capaz de tratar e armazenar água para a fabricação de fármacos. Para tal, foi realizado um estudo preliminar em toda estação de tratamento, que permitiu estabelecer os oitos pontos de amostragem localizados em etapas fundamentais do processo de purificação da água. As análises físico-químicas aplicadas foram: sólidos dissolvidos totais, dureza da água, cloro livre ativo, condutividade e pH. Já as análises microbiológicas analisaram a presença de microrganismos patógenos e a unidade formadora de colônias (UFC) de bactérias e/ou fungos. Os resultados apresentaram-se satisfatórios uma vez que durante o período avaliativo os resultados obtidos por meio das análises quantitativas, não houve variações em larga escala, ficando sempre aquém dos limites de alerta. Também não houve detecção de contaminação nos resultados microbiológicos, constatando-se que o método de tratamento de água é robusto e capaz de armazenar e distribuir água dentro dos padrões estabelecidos e necessários para a fabricação de produtos farmacêuticos.

PALAVRAS-CHAVE: Análises físico-químicas, Monitoramento, Patógenos, Microrganismos Heterotróficos.**INTRODUÇÃO**

Desde a revolução industrial no século XIX, aumenta-se a cada dia o consumo de água nos mais diversos setores; sendo os principais consumidores: o agrônomo, o industrial e o urbano (EMBRAPA, 2011). Devido a esse consumo em larga escala, tornou-se necessária a criação de uma política de reutilização de água; o que faz com que ao final do processo industrial e ainda nas estações de tratamento de água, o produto deva atender a padrões de potabilidade estabelecidos na portaria nº 2.914 de 2011. Essa portaria dispõe sobre os limites permitidos para que algumas substâncias possam estar presentes na água sem causar prejuízos à saúde de seres vivos (ANVISA, 2011; STEIN, 2012).

Diante do exposto, avaliar a qualidade é fundamental, sobretudo quando seu uso se dá em atividades que exigem um elevado padrão de potabilidade. Na indústria farmacêutica, ela deve apresentar o mais alto grau de pureza e devem atender às especificações estabelecidas pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2017). Nesse ramo industrial são empregados 4 principais tipos de água: 1) água potável, utilizada como matéria-prima para a obtenção de outros tipos de água; 2) água purificada (AP) que passou por algum processo de purificação



atendendo às legislações oficiais; 3) água ultrapura (AUP), tratada por osmose reversa (duplo passo) e 4) água para injetáveis (API), obtida a partir da destilação da AP ou da AUP, sendo utilizada como excipiente na produção de produtos parenterais (PORTO, 2017).

Além disso, o processo de tratamento de água na indústria farmacêutica deve ser capaz de evitar a contaminação por impurezas físico-químicas e microbiológicas no produto. Para isso, é necessária a implantação de um sistema de tratamento de água (STA) com técnicas de separação e sanitização. Para processos mais simples são utilizados tratamentos como pré-filtragem e sanitização com cloro. Já, os processos mais complexos exigem tratamentos como deionização, osmose reversa, ultrafiltração, radiação ultravioleta e destilação (BRASIL, 2017).

De acordo com a portaria nº 2914, de 2011 toda a água para consumo humano deve passar pelo processo de cloração, para evitar possíveis contaminações microbianas (BRASIL, 2011). Portanto, uma das primeiras etapas do tratamento é a desinfecção com agentes químicos, sendo o hipoclorito de sódio a substância mais utilizada (METCALF; EDDY, 2014). A segunda etapa consiste em um tratamento empregando pelo menos 3 filtros: 1) de pedregulhos, para a retirada de sedimentos em suspensão; 2) um filtro abrandado, cuja finalidade é a retirada de íons de Ca^{+2} e Mg^{+2} ; 3) filtro de carvão ativado, que deve retirar o cloro ativo que está presente na água (PORTO, 2017).

Além do processo de purificação, faz-se uso da desinfecção para armazenamento da água tratada, sendo utilizado na maioria dos casos a radiação ultravioleta (UV). Esse tipo de radiação se estende em uma faixa de comprimento de onda de 100 a 400 nm, sendo a faixa de UV-C compreendida entre 200 e 280 nm; e é a mais eficiente para desinfecção de microrganismos patógenos. Uma vantagem do tratamento empregando radiação UV-C é a não formação de subprodutos, como acontece quando a desinfecção ocorre por agentes químicos (METCALF; EDDY, 2014).

Diante do exposto, um sistema de tratamento de água pode ser tido como uma etapa crítica para a qualidade e segurança dos medicamentos. Dessa maneira, faz-se necessária a realização de uma validação do método empregado para prover a qualidade da água. A validação da metodologia irá garantir que os produtos possuem uma confiabilidade (WHO, 2005).

Segundo o Guia de validação de água da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2013), o estudo deve ser realizado em 3 etapas. A primeira delas é responsável por determinar a robustez do método utilizado, devendo ser realizado durante 15 dias consecutivos. Para que esse parâmetro possa ser avaliado, a qualidade da água deve ser determinada considerando variações de temperatura e a capacidade de produzir, armazenar e distribuir a AP de forma confiável. Dessa forma realiza-se um monitoramento intensivo, em que são realizados todos os parâmetros físico-químicos e microbiológicos preconizados nas especificações. (ANVISA, 2013). Na segunda etapa, será realizado um monitoramento intensivo por pelo menos 2 semanas, sendo o plano de amostragem o mesmo que foi utilizado na primeira etapa. Na última etapa, o monitoramento realizado deve se dar na rotina da empresa tendo uma periodicidade de um ano após a conclusão da fase 2. Nessa última fase, será avaliada a confiabilidade do sistema durante um extenso período de produção, assegurando que as variações sazonais não ocasionem uma alteração no sistema (ANVISA, 2013; WHO, 2005).

Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo obter a validação de desempenho de um sistema de tratamento de água através do estudo da primeira e segunda etapa. Para isso, foi determinada a robustez do método de tratamento de água do sistema e a capacidade de produzir, armazenar e distribuir água purificada de forma confiável durante 30 dias consecutivos.

METODOLOGIA

ESTUDO PRELIMINAR

Para que se pudesse avaliar a qualidade da água utilizada na indústria farmacêutica foi realizado um estudo preliminar, ao longo de toda a estação de tratamento buscando as etapas cruciais da estação de tratamento. Durante o processo de tratamento e distribuição a água é classificada em três tipos. Sendo eles: água potável que possui quatro pontos de amostragem, água pré-tratada que possui quatro pontos de amostragem e água purificada que possui cinco pontos de amostragens comumente utilizados para distribuição. Na fase 1 da



validação realizou-se o procedimento de coleta e análises da água, nos oito pontos estabelecidos por um período de 15 dias consecutivos, procedimento se manteve constante da fase 2.

ANÁLISE DA ÁGUA POTÁVEL E PRÉ-TRATADA NA 1º E 2º FASE

Nas amostras de água potável e pré-tratada foram realizadas um conjunto de análises de parâmetros físico-químicos, sendo eles: sólidos dissolvidos totais (SDT), dureza em água, cloro livre ativo e pH. Esses parâmetros foram determinados pelos métodos de gravimetria, volumetria de complexação, colorimétrico e potenciométrico, respectivamente.

O método *pour plate* para quantificação de bactérias, baseia-se em diluir a amostra 1:10 com solução tampão fosfato pH 7,2 e transferir, assepticamente, 1,0 mL da solução 1:10 para placas de Petri de e adicionar cerca de 20 mL do meio de cultura Plate Count Agar (PCA) sobre as amostras. Por fim as placas foram acondicionadas em estufa de $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por um período de 5 dias.

ANÁLISES DA ÁGUA PURIFICADA NA 1º E 2º FASE

Nas amostras de água purificada as análises físico-químicas utilizadas foram as de determinação dos valores de pH, acidez e de substâncias oxidáveis, conforme preconiza a Farmacopeia Brasileira, como também foram determinadas ainda as características físicas de condutividade, através de método potenciométrico.

Para as determinações microbiológicas foram realizadas a quantificação de microrganismos heterotróficos pelo o método da filtração, que consiste em preparar uma diluição 1:10 com tampão fosfato de potássio pH 7,2. Em seguida, a amostra é filtrada a vácuo contendo a membrana de nitrato de celulose 0,45 µm e acondicionadas em meios de ágar Caso e ágar Sabouraud. Por fim as placas são incubadas a $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 5 dias (ágar Caso) e a $22,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 7 dias (ágar Sabouraud).

Para a identificação de patógenos foram coletados 10 mL da diluição 1:10 e transferir para 90 mL do meio de caldo Caseína de Soja (Caso) e em seguida incubar a $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante um período de 24 h. Após esse período, a amostra enriquecida foi utilizada para a pesquisa de patógenos. Para pesquisa de *Pseudomonas aeruginosa*, as amostras foram transferidas após o período de incubação inicial, com auxílio de alça bacteriológica estéril. A amostra também foi semeada por esgotamento, através de uma alçada da mesma enriquecida para uma placa de ágar Cetrimida, que foi incubada a $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por um tempo de 72 h.

Para pesquisa de coliformes totais, agitou o meio enriquecido de ágar caso e transferiu-se 1 mL para o frasco de borossilicato contendo 100 mL de caldo MacConkey. Esse frasco foi incubado a $32,5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. Decorrido o tempo, a amostra enriquecida com caldo MacConkey foi transferida por esgotamento com o auxílio de uma alça bacteriológica para uma placa de ágar MacConkey e em seguida foi incubada a $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ durante 72 h. Por fim, para pesquisa de *Escherichia coli*, agitou o meio enriquecido de ágar caso novamente e transferiu-se 1 mL para o frasco de borossilicato contendo 100 mL de caldo MacConkey. Esse frasco foi incubado a $43 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. Decorrido o tempo, a amostra enriquecida com o caldo mencionado foi transferida por esgotamento com o auxílio de uma alça bacteriológica para uma placa de ágar MacConkey e em seguida foi incubada a $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ por 72 h.

Para ambos os métodos de quantificação a contagem é realizada a olho nu com auxílio de um contador de colônias. Para a identificação de microrganismos patógenos são avaliadas as bactérias *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e Coliformes Totais, o método é realizado através do enriquecimento da amostra com caldo Caso e ágar seletivos como ágar Cetrimida e ágar MacConkey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ESTUDO PRELIMINAR

O estudo preliminar apontou quais os pontos de amostragem seriam utilizados para realização da monitoração dos resultados. Na Tabela 1 estão dispostos os pontos definidos e a classificação da água utilizada.

Tabela 1. Pontos de amostragem e a classificação da água



Ponto de amostragem	Classificação da água
POT – 01	Potável
POT – 04	Potável
PRE – 08	Pré-tratada
PUR – 210	Purificada
PUR – 212	Purificada
PUR – 212	Purificada
PUR – 213	Purificada
PUR – 214	Purificada

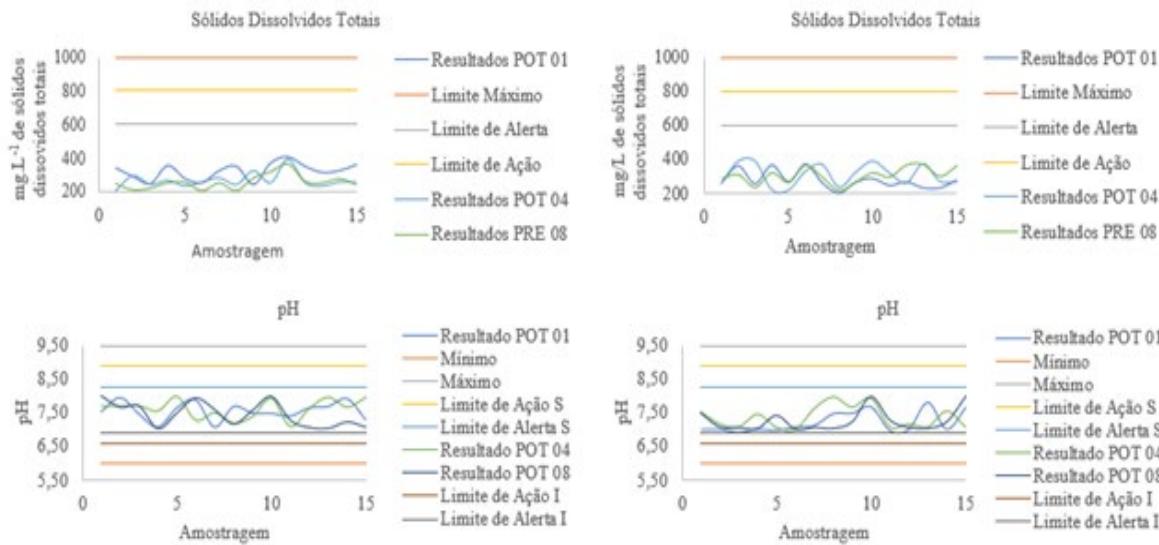
Através da Tabela 1 é possível identificar quais os pontos de monitoramento avaliados, sendo os pontos de água ainda não purificada: POT-01 que é o ponto de entrada de água advindo da companhia de saneamento municipal, o POT-04 que é ponto de entrada da água potável no pré-tratamento, PRE-04 que se refere ao último ponto do pré-tratamento e consequentemente o ponto de entrada de alimentação da osmose reversa. Em sequência tem-se os pontos onde a água já está purificada, são eles: PUR-210 que é a saída da osmose, PUR-211 que saída do tanque de armazenagem, PU-212 que distribui para setor de manipulação de fármacos, o PUR 212 que distribui para o setor de maceração de produtos e por fim, o PUR-214 onde ocorre a distribuição para a sala de lavagem.

AVALIAÇÃO DA ÁGUA POTÁVEL E PRÉ-TRATADA NA 1º E 2º FASE

Após o estudo prévio foi determinado que seriam realizadas todas as análises físico químicas e microbiológicas nos pontos de entradas, da empresa (POT-01), do pré-tratamento (POT-04) e da osmose (PRE-08). Como no pré-tratamento do STA contém um sistema de filtros que retém a dureza da água (filtro abrandador) e o cloro ativo (filtro de carvão ativo) a especificação desses parâmetros foram diferentes dos preconizados da portaria nº 2.914 de 2011.

De acordo com o guia da validação da ANVISA, de 2013 o estudo de robustez do método é determinado caso nenhuma amostra durante os 15 dias apresente valores igual ou maior (\geq) ao limite de ação do método. Dessa forma, as especificações dos parâmetros avaliados foram definidas de acordo com a portaria N° 2.914 de 2011 e os resultados obtidos estão apresentados a seguir. Na Figura 1 é possível analisar os resultados referentes aos sólidos dissolvidos e pH.

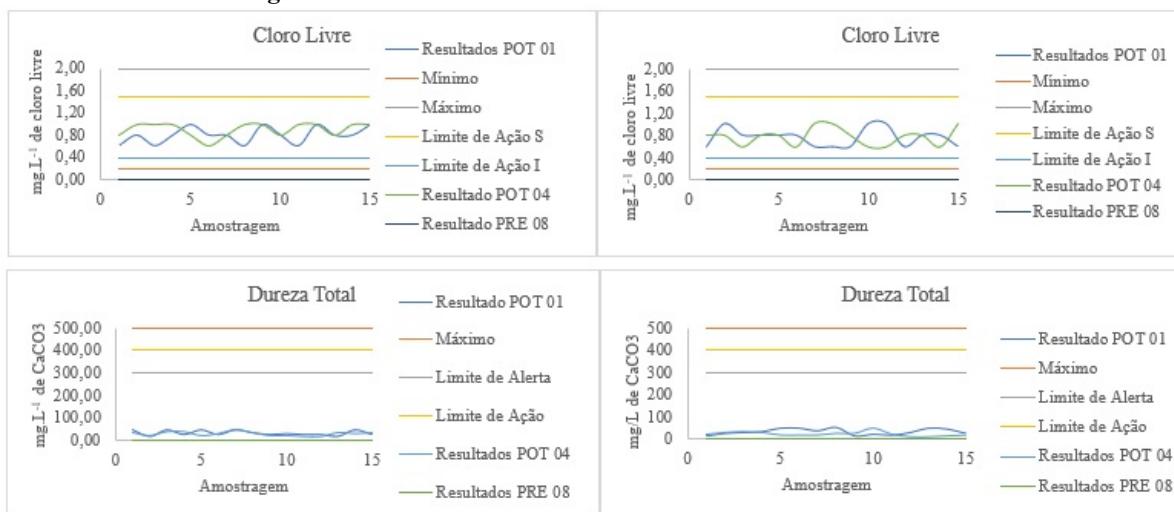
Figura 1 - Gráficos da 1º e 2º fase de sólidos dissolvidos e pH



Analizando a Figura 1 pode-se verificar que para as determinações de pH e sólidos dissolvidos totais nenhum resultado atingiu o limite de alerta. Constatou-se ainda que na determinação de SDT os valores verificados se apresentaram bem abaixo do limite de alerta sendo o maior valor igual a 390 mg.L⁻¹ no segundo e terceiro dia da 1º fase. Em seguida, foram avaliados os parâmetros de cloro livre e dureza total.

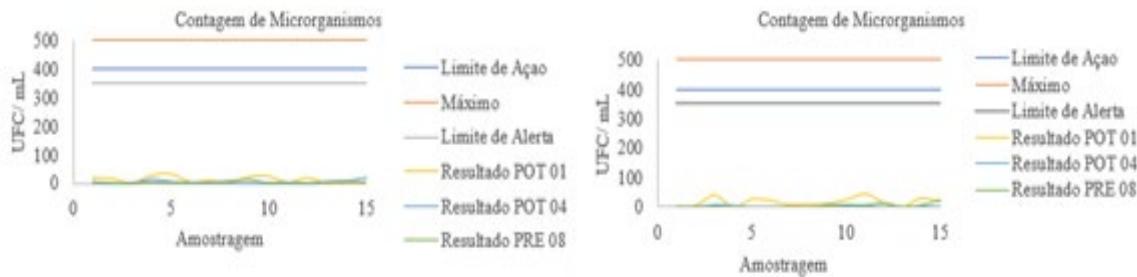


Figura 2- Gráficos da 1º e 2º fase de Cloro livre e dureza total



Conforme pode ser verificado na Figura 2, o ponto PRE-08 apresentou os parâmetros de cloro ativo e dureza total nulos para ambas as análises. Esse resultado estar relacionado a presença de filtros abrandadores, que são responsáveis por retirar os íons de Ca+2 e Mg+2, bem como do filtro de carvão ativado, que retira o cloro ativo presente na amostra. Na sequência foi então avaliada a contagem de microrganismo em água potável e pré-tratada.

Figura 3- Gráficos da 1º e 2º fase de contagem de microrganismos para água potável e pré-tratada



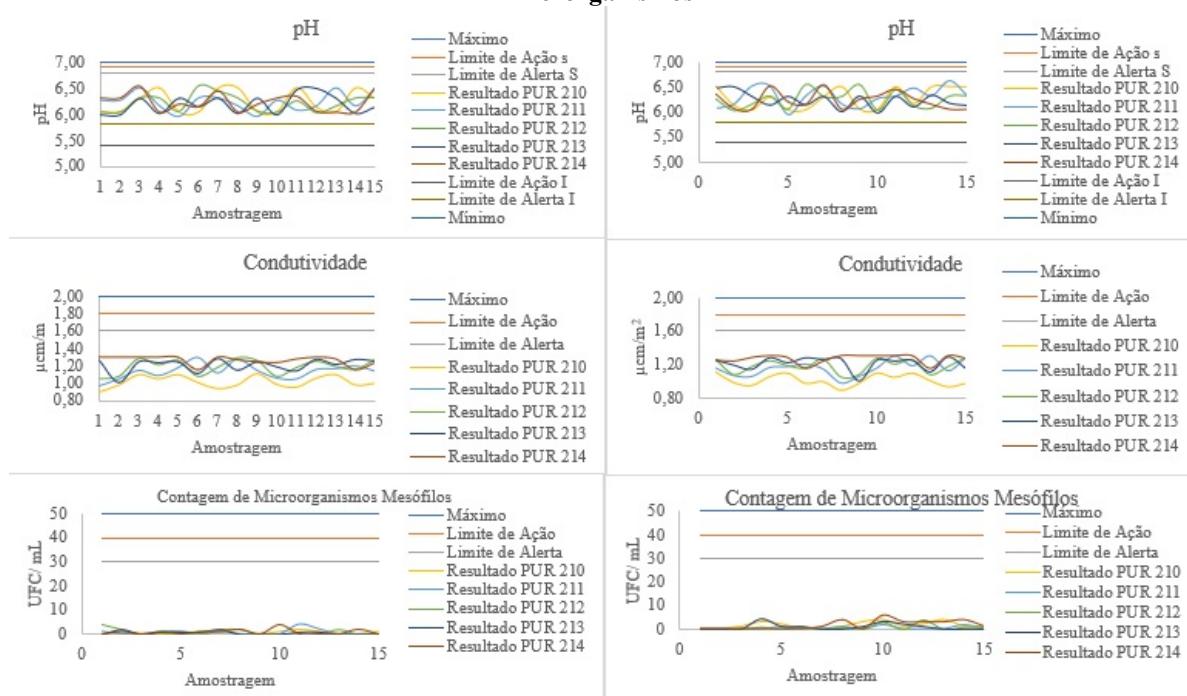
Analizando a Figura 3, percebe-se que todas as amostras apresentaram ausência de microrganismos patogênicos em 100 mL. Desse modo, pode-se afirmar pelas análises apresentadas nas Figuras de 1 a 3 que nenhum parâmetro ultrapassou ou se igualou ao limite de ação do método em nenhuma das fases, dessa forma pode-se afirmar que o método do pré-tratamento é eficiente e robusto para a próxima etapa.

AVALIAÇÃO DA ÁGUA PURIFICADA NA 1º E 2º FASE

Depois de garantir a retirada dos possíveis contaminantes e garantir que o método de tratamento utilizado foi capaz de atender aos requisitos de pureza estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira, foram analisados parâmetros qualitativos e quantitativos para se determinar a qualidade da água produzida (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019). Os parâmetros de características físicas, acidez ou alcalinidade e substâncias oxidáveis foram avaliados de forma qualitativa durante todos os 30 dias de estudo. Já os parâmetros de condutividade, pH e contagem de microrganismos foram determinados de forma quantitativa. Todos os resultados estão dispostos na Figura 4.



Figura 4 - Gráficos da 1º e 2º fase de Condutividade, pH de água purificada e contagem de microrganismos



Analisando a Figura 4, percebe-se que os parâmetros de pH e condutividade oscilaram ao longo do estudo, o que pode estar associado a variação de temperatura das amostras e a agitação a que são submetidas. Além disso, observa-se ainda que os resultados obtidos não apresentam valores acima ou igual ao limite de ação. No que diz respeito, as determinações de contagem de microrganismos mesófilos os resultados apresentados geralmente foram inferiores a 1 UFC.mL⁻¹ (0 no gráfico) sendo o maior valor obtido igual a 10 UFC.mL⁻¹ no décimo dia da 1º fase da validação. Para microrganismos patogênicos todos os resultados apresentaram ausência em 100 mL.

CONCLUSÕES

A análise do sistema de tratamento de água através de estudo de validação permitiu constatar que o mesmo se encontra apto para produzir, armazenar e distribuir água purificada de forma segura durante um curto período.

Constatou-se ainda que durante os 30 dias consecutivos de estudo não foram registrados resultados anômalos dos pontos analisados, podendo-se afirmar que o método de tratamento é robusto, como preconizado no guia da ANVISA, de 2013.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia de Qualidade para Sistemas de Purificação de Água para Uso Farmacêutico. Brasília, 2013.
2. ANVISA. Consulta Pública Nº 312, Brasília, Fev. 2017.
3. ANVISA. Dispõe sobre as Boas Práticas Para Fabricação de Medicamentos. Resolução RDC nº 301. Diário Oficial da União, Ago. 2019.
4. ANVISA. Farmacopéia Brasileira. 6 ed. Brasília: ANVISA, 2019
5. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água. Paraná, 2011.
6. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Procedimentos de Controle e Vigilância da Qualidade da Água Para o Consumo Humano e Seu Padrão de Potabilidade, Portaria nº 2914, Dez. 2011

7. STEIN, R. Caracterização E Avaliação Do Sistema De Tratamento De Efluentes De Uma Industrial Alimentícia Visando o Reuso. Lajeado, 2012. Trabalho de Conclusão de Curso II- Universidade do Vale do Taquari, 2012.
8. *WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO)*. *Good Manufacturing Practices: Water for pharmaceutical use, Technical Report*. Geneva, 2005. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_929_eng.pdf#page=49>. Acesso em 24/09/19.
9. METCALF, L.; EDDY, H. P. Tratamento de Efluentes e Recuperação de Recursos. 5. ed. Brasil: Bookman Companhia, v. 1, p. 828, 2011.
10. PORTO, P.C.C. Requalificação de performance do sistema de água em uma indústria farmacêutica. 2017. Pós-Graduação (Tecnologias Industriais Farmacêuticas) - Instituto de Tecnologia de Fármacos, Rio de Janeiro, 2017.