



I-158 – AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE CEFALEXINA EM FILTROS DE CARVÃO BIOLÓGICOS EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

Alessandro Minillo⁽¹⁾

Oceanólogo e Mestre em Oceanografia Física, Química e Geológica pela Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG) - Doutor em Ciências da Engenharia Ambiental pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP) - Jovem Pesquisador FAPESP vinculado ao Departamento de Engenharia Civil da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS) – UNESP

Fabício Dias Taloni

Acadêmico do curso de Ciências Biológicas da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira FEIS - UNESP, Campus de Ilha Solteira

William Deodato Isique

Biólogo pelo Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - UNESP de São Jose do Rio Preto. Mestre em Ciência dos Alimentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP de Araraquara. Doutor em Química Analítica pelo Instituto de Química de São Carlos – USP de São Carlos.

Edson Pereira Tangerino

Engenheiro Civil pela Escola de Engenharia de Lins (EEL), SP - Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, RS – Doutorado em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP) – Professor do Departamento de Engenharia Civil da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS) – UNESP

Endereço⁽¹⁾: Alameda Bahia, 550 – DEC – FEIS – UNESP - Centro – Ilha Solteira - SP - CEP: 15385-000 - Brasil - Tel: (18) 3743 1137 - e-mail: alminillo@yahoo.com.br

RESUMO

O aumento freqüente na presença compostos farmacológicos nos mananciais de abastecimento e águas tratadas representa um comprometimento a qualidade deste recurso e um sério risco saúde humana. Diante desse cenário, esforços têm sido direcionados na busca de novas tecnologias para remoção destes contaminantes ambientais, resguardando a qualidade destas águas destinadas ao consumo humano. Dentre estas propostas, o uso de filtros de carvão ativados biologicamente (CAB) representa uma medida promissora, visto a capacidade de microrganismos associados no biofilme destes filtros em metabolizarem (biodegradarem) diferentes micropoluentes presentes na água. Considerando estes aspectos, o presente estudo avaliou remoção do fármaco cefalexina em filtros CAB em condições de laboratório. Os resultados encontrados demonstram que os filtros colonizados por microrganismos apresentaram remoção do fármaco. A ação de microrganismos presentes no biofilme pode ter contribuído diretamente na remoção da cefalexina, via processos de biadsorção e biodegradação do fármaco. O uso de filtros biológicos de carvão pode representar uma alternativa promissora na remoção de compostos farmacológicos, possibilitando uma maior eficiência no tratamento de água para o consumo humano.

PALAVRAS-CHAVE: Fármacos, cefalexina; biofiltração; biofilme; tratamento de água.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da indústria farmacêutica, que hoje disponibiliza para o mercado milhões de substâncias com propósito terapêutico, acarretou colateralmente um grave problema ambiental, o qual vem crescendo em atenção e preocupação nas agências controladoras do ambiente de varias nações (Fent, *et al.*, 2006).

Os fármacos representam uma classe emergente de contaminantes ambientais que se encontram em amplo crescimento devido seu intenso uso médico em seres humanos e em animais. Este no cenário global reflete um grau de atenção aos operadores das estações de tratamento de água, em razão a difícil remoção destes compostos, podendo ser encontrados em níveis próximos de µg/L e ng/L na água bruta (Ponezi *et al.*, 2006).

Estudos recentes apontam para presença de diferentes compostos xenobióticos, derivados de fármacos, hormônios sexuais e produtos industriais em águas superficiais em regiões próximas aos grandes centros



urbanos do país (Ghiselli, 2006). Parte desses estudos evidencia a presença em níveis próximos destes compostos entre as águas brutas e tratadas, o que demonstra a ineficiência durante este tratamento na ETA.

Diante desse cenário tornam-se necessárias avaliações criteriosas da presença de fármacos em águas superficiais, por meio de programas de monitoramento destas águas, assim como a melhora na adequação nos processos de tratamento de água para remoção dessas substâncias quando detectadas (Ghiselli, 2006). Os processos utilizados em sistemas convencionais de tratamento de água não garantem a remoção de uma série de micropoluentes, especialmente os fármacos (Jones *et al.*, 2005). Contudo, novos estudos são cada vez freqüentes para implementação e disposição de novas tecnologias que possibilitem a remoção destes micropoluentes na água, assegurando seu consumo segundo as normas de qualidade recomendadas (Huber *et al.*, 2005).

Dentre os métodos de tratamento de água, um grande destaque tem sido dado ao uso de filtros de carvão ativado biologicamente (biofiltração), o qual pode representar uma técnica para a remoção de um número expressivo de micropoluentes (Servais *et al.*, 1994). Um filtro de carvão ativado biologicamente (CAB) funciona como um bioreator onde ocorrem processos de adsorção no carvão ativado e biodegradação. Durante o processo de biodegradação compostos orgânicos são metabolizados por microrganismos (Servais *et al.*, 1994; Sobecka *et al.*, 2006). Com este método, após o processo de biofiltração uma simples desinfecção final é necessária para assegurar que o sistema de distribuição esteja livre de microorganismos (Sobecka *et al.*, 2006).

A junção do processo de adsorção e biodegradação minimizam a flutuação da qualidade da água tratada, pois uma grande concentração de poluentes na água causa um crescimento na taxa de adsorção mas quando a concentração decai, a bioregeneração toma lugar (Sobecka *et al.*, 2006; Simpson, 2008). O processo de biodegradação aumenta a capacidade adsorptiva do carvão ativado e, como consequência, a remoção de compostos não biodegradáveis da água é aumentada (Speitel *et al.*, 1989; Sobecka *et al.*, 2006). Alguns autores sugerem que a biosorção pode ser outro mecanismo adicional de remoção da matéria orgânica natural (MON) pelos microrganismos aderidos no biofilme dos filtros CAB (Simpson, 2008).

OBJETIVO

O presente trabalho avaliou a remoção da cefalexina utilizando filtros de carvão biologicamente ativados em condições de laboratório

MATERIAS E MÉTODOS

PREPARO DOS FILTROS DE CARVÃO

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP, Campus de Ilha Solteira - SP. Para o experimento, foram utilizados 4 filtros de carvão com atividade biológica (CAB), colonizados em condições de laboratório. Esses filtros constituem-se de colunas de policarbonato com 5 cm, com diâmetro interno de 1,2 cm, preenchidos por 3 cm de uma camada de carvão, com aproximadamente 3,5 gramas (peso úmido). Foi utilizado o carvão de origem vegetal obtido da casca de coco, com grânulos de tamanho de 0,35 a 0,50 mm. Para a colonização efetiva, estes filtros receberam água bruta de um reservatório próximo da cidade, por pelo menos 5 meses. Como controle foram utilizados 4 filtros semelhantes não colonizados (CAG), os quais foram alimentados com a mesma água bruta do reservatório, acrescida de uma solução de azida sódica (6 mM) para inibir a atividade biológica. A atividade biológica dos filtros CAB foi estimada pela determinação da taxa do consumo do oxigênio, em comparação com o controle.

DESENVOLVIMENTO DO ENSAIO

Para o ensaio, os 4 filtros colonizados (CAB) e 4 filtros não colonizados (CAG) por microrganismos, foram expostos a mesma água de estudo utilizada durante a ativação biológica destes. Esta água de estudo utilizada foi coletada em um reservatório próximo, filtrada (1,0 µm) e esterilizada (120 °C - 15 minutos), e suplementada com uma solução contendo cefalexina, com concentração final de 20 µg/L, durante um período de 90 dias. Para prevenir a colonização por microorganismos dos filtros CAG, foi adicionada à água de alimentação uma solução de azida de sódio (6 mM). Estes ensaios foram realizados a 25 ± 2 °C, sendo a água

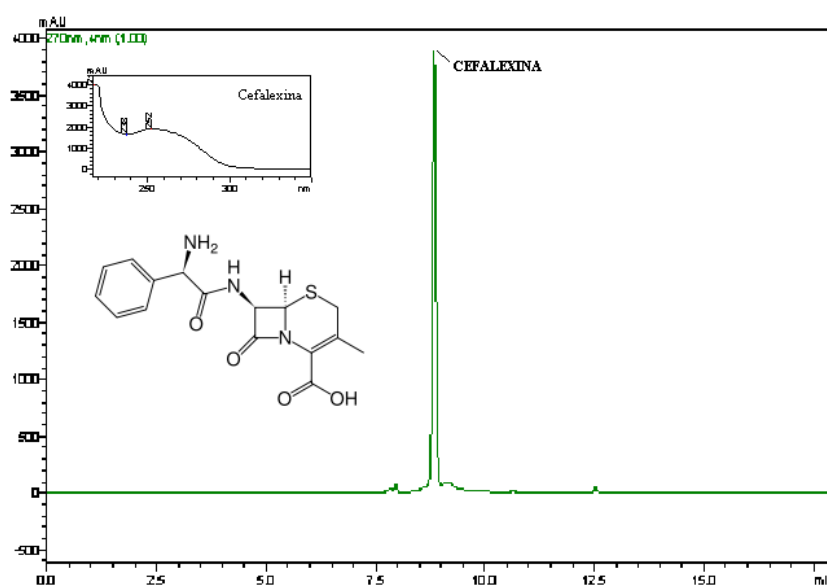


de estudo bombeada para os filtros com fluxo contínuo, com vazão de 0,3 mL/min e um tempo de contato da água de estudo no leito dos filtros de 08 minutos. Foram recolhidas amostras (200 mL) afluentes e efluentes destes filtros semanalmente para medição do pH e quantificação de cefalexina.

DETERMINAÇÃO DO CEFALEXINA DURANTE OS ENSAIOS

A cefalexina utilizada nesse estudo foi separado e quantificado (Figura 1) em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu), equipado com detector "Photodiode Array" (SPD-M20A), duas bombas de alta pressão (LC-20AT e LC 20AD), em coluna de fase reversa C-18 (modelo Shim-pack) com 4,6 x 150 mm e diâmetro de partícula de 5 µm segundo Nebot *et al.* (2007), com adaptações. A fase móvel foi constituída por metanol e água acidificada com 0,1% (v/v) de TFA. Foi utilizado um fluxo de 1 mL/min e um tempo de corrida de 18 minutos para cada amostra analisada, em triplicata.

Figura 01. Perfil cromatográfico e espectro de absorção da cefalexina utilizada no estudo.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na figura 2, pode-se verificar que os filtros colonizados (CAB) e não colonizados por microrganismos (CAG) apresentaram remoção de cefalexina, sendo esta compatível entre os tratamentos.

Uma análise em relação a capacidade de remoção da cefalexina entre o conjunto de filtros testados, demonstrou que ambos apresentaram valores elevados na remoção e equivalentes, com 96% para os filtros CAG e 95% nos filtros CAB (Figura 3).

Os valores de pH das amostras efluentes dos filtros testados mantiveram valores próximos na neutralidade durante o experimento, com níveis variando de 7,18 nos filtros CAG e 7,22 nos filtros CAB.



Figura 2. Valores quantificados de cefalexina nas amostras afluentes e efluentes dos filtros testados.

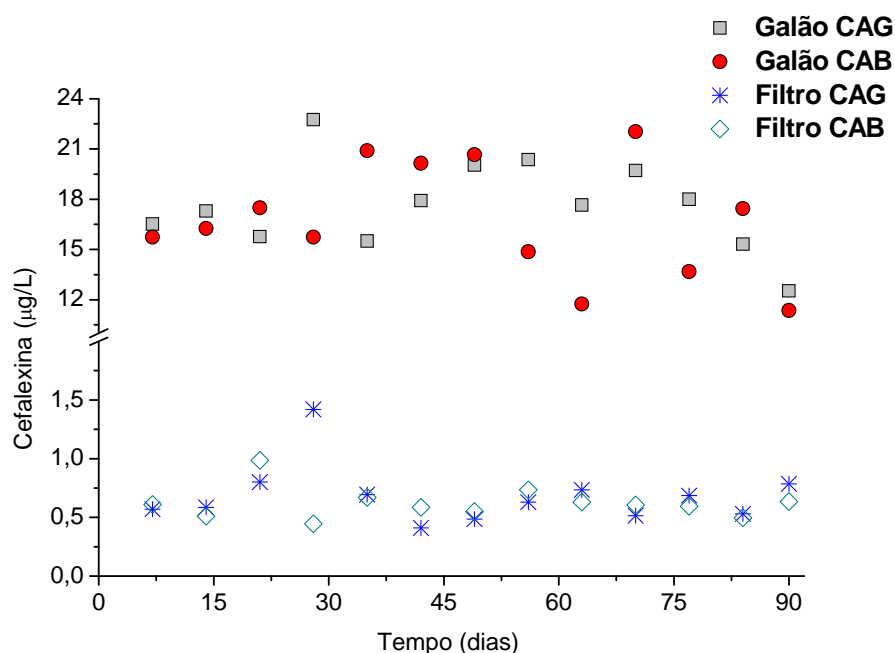
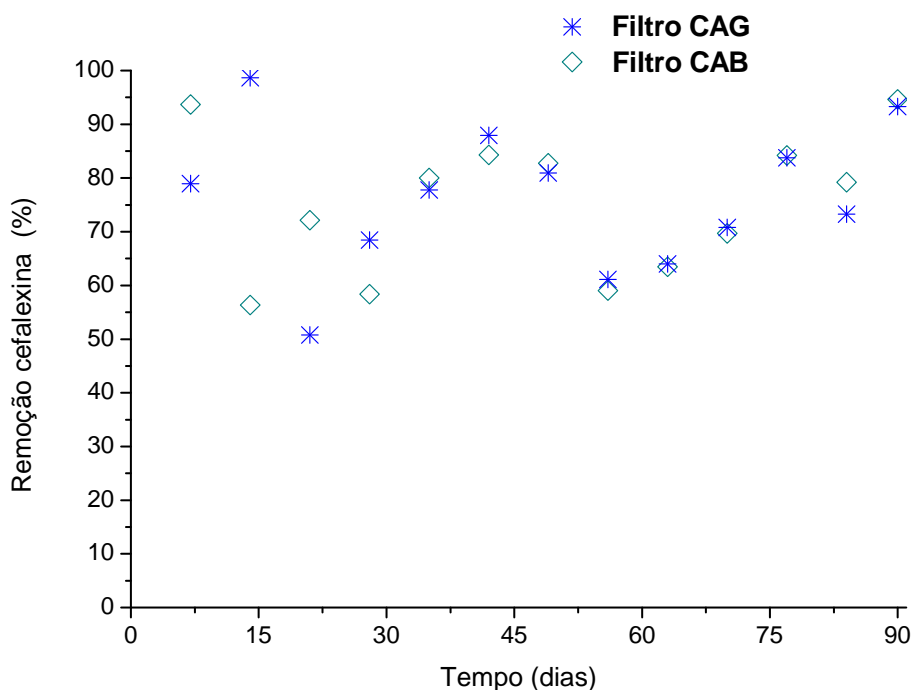
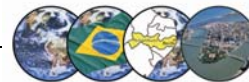


Figura 3. Percentual de remoção da cefalexina entre os filtros CAB e CAG testados durante o ensaio.



A retenção da cefalexina nos filtros CAB pode ter sido diretamente influenciada devido a presença de microrganismos aderidos no biofilme formado. A presença de microrganismos no leito filtrantes representa um importante fator, o qual pode ter favorecido a ação de processos de biodegradação e bioadsorção do fármaco. De acordo estudos realizados por Sobecka *et al.*, (2006) os filtros colonizados por microrganismos funcionam como bioreatores, em que estes processos (a adsorção, bioadsorção e biodegradação) interagem conjuntamente durante a remoção de compostos orgânicos presentes na água. Embora a adsorção do fármaco



nos filtros CAG tenha sido demonstrada tão eficiente durante o estudo, é notável considerar a interatividade de processos como a adsorção e biodegradação no biofilme formando nos filtros CAB na remoção do fármaco.

O padrão observado de remoção da cefalexina nos filtros CAB esteve diretamente associada a capacidade dos microrganismos presentes nos filtros em metabolizar este composto, o que corrobora a trabalhos realizados na remoção de micropoluentes presentes na água utilizando filtros de carvão biológico (Feakin *et al.*, 1995; Jones *et al.*, 1998; Mesquita *et al.*, 2006; Sobecka *et al.*, 2006).

Pode-se constatar a presença de bactérias aderidas nos filtros CAB, após análises microbiológicas, sendo estas representadas por formações cocoídes (cocos), gram-negativa. Para uma segunda etapa posterior deste estudo, serão realizadas identificações filogenéticas, que permitiram estabelecer quais possíveis linhagens ou consórcios destes microrganismos atuam diretamente na biodegradação deste fármaco testado.

A presença de fármacos no meio ambiente representa um risco, cada vez mais pesquisado no país, contudo associada a esta questão encontra-se uma normatização sanitária incipiente que regula a sua presença em águas destinadas ao consumo humano. No que tange ao tratamento da água, a possibilidade de uso de isolar microrganismos específicos ou consórcios microbianos adaptados em remover os compostos farmacêuticos, a partir de águas residuais ou água potável, pode representar uma medida considerável para o controle e remoção destas substâncias, possibilitando aumento na qualidade do tratamento da água.

A possibilidade de seleção de linhagens específicas de bactérias capazes de metabolizar uma série de compostos farmacológicos presentes na água, e o uso destes microorganismos como inóculos em filtros biológicos de carvão pode representa uma medida operacional a ser utilizada em Estações de Tratamento de Águas que venham aduzir águas com resíduos por tais substâncias.

A eficiência de remoção do paracetamol utilizando os biofiltros de carvão pode representar uma proposta promissora no processo de tratamento de água, principalmente quando houver uma compreensão aprofundada da ecologia microbiana “in situ” sobre o fármaco em degradação e as condições adequadas para a biodegradação puderem ser identificadas e impostas sobre os filtros biológicos de carvão.

CONCLUSÕES

Foi constatada a remoção da cefalexina entre os filtros testados;

A remoção da cefalexina nos filtros CAB apresentou valores próximos aos observado nos filtros CAG, o que comprova o potencial dos microorganismos no efeito de retenção deste fármaco;

A presença de microorganismos com potencial de metabolização deste fármaco pode representar uma alternativa para prolongar o tempo de uso dos filtros CAG;

O uso de filtros biológicos de carvão pode representar uma medida alternativa no tratamento de água para remoção de fármacos e outros compostos orgânicos que contaminem os mananciais de abastecimento público;

Novos estudos são necessários nesta proposta, principalmente na caracterização das bactérias associadas aos filtros de carvão com atividade biológica, de modo a utilizá-las como inóculos nestes biofiltros, aumentando assim a eficiência de remoção de fármacos presentes em águas destinados ao abastecimento público.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (*Processo nº: 06/53502-0*) pela bolsa concedida e o financiamento do projeto de pesquisa.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- BILA, D.M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. *Quim. Nova*, 26 (4), 523-530, 2003.
- 2- FEAKIN, S.J.GUBBINS, B McGHEE, ISHAW, L.J.; BURNS, R.G. Inoculation of granular activated carbon with s-triazine-degrading bacteria for water treatment at pilot-scale. *Wat. Res.* 29 (7):1681-1688, 1995.
- 3- FENT, K, WESTON, A.A., CAMINADA, D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, 76, 122–159, 2006.
- 4- GHISELLI, G., Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP). Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP., 190p., 2006.
- 5- HUBER, M.M., KORHONEN, S., TERNES, T.A.; VON GUNTEN, U. Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide, *Water Research*, 39, 3607–3617, 2005.
- 6- JONES, L.R; OWEN, S.A; HORREL, P.; BURN, R.G.. Bacterial inoculation of granular activated carbon filters for the removal of atrazine from surface water. *Water Research*, 32 (8): 2542-2549, 1998.
- 7- JONES, O.A.; LESTER, J.N.; VOULVOULIS, N. Pharmaceuticals: a treat to drinking water? *Trends in Biotechnology*, 23 (4), 163 – 167, 2005.
- 8- MESQUITA, E.; MENAIA J.; ROSA M. J.; COSTA V. Microcystin-LR removal by bench scale biologically-activated-carbon filters. Proc. 4th Intern. Slow Sand and Alternative Biological Filtration Conf., 3-5 May 2006, Mülheim.
- 9- NEBOT, C; GIBB, S.W; BOYD, K.G. Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 598, 87–94, 2007.
- 10- PONEZI, A.N., DUARTE, M.C.T., CLAUDINO, M.C., Fármacos em matrizes ambientais – revisão, Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBAUNICAMP), 2006.
- 11- SANDERSON, H., JOHNSON, D.J., REITSMA, T., BRAIN, R.A., WILSON, C.J., SOLOMON, K.R., Ranking and prioritization of environmental risks of pharmaceuticals in surfacewaters. *Regul.Toxicol. Pharm.* 39 (2), 158–183, 2004.
- 12- SERVAIS, P.; BILLEN, G., BOUILLOT, P. Biological colonization of granular activated carbon filters in drinking-water treatment, *J. Environ. Eng.* 120(4): 888–899, 1994.
- 13- SIMPSON, D., Biofilm processes in biologically active carbon water purification. *Water Res.*, 42, 2839 – 2848, 2008.
- 14- SOBECKA, B. S., TOMASZEWSKA, M., JANUS, M., MORAWSKI, A.W. Biological activation of carbon filters, *Water Research*, 40, 355-363, 2006.
- 15- SPEITEL Jr., G.E., TURAKHIA, M.H., LU, C.-J., Initiation of micropollutant biodegradation in virgin GAC columns. *J. Am. Water Works Assoc.* 81 (4), 168–176, 1989.
- 16- TERNES, T., MEISENHEIMER, M., MCDOWELL, D., SACHER, F., BRAUCH, H.-J., HAIST-GLUDE, B., PREUSS, G., WILME, U., ZULEI-SEIBERT, N., Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3855–3863, 2002.