



ISSN = 1980-993X – doi:10.4136/1980-993X

www.ambi-agua.net

E-mail: ambi-agua@agro.unitau.br

Tel.: (12) 3631-8004



Ecotoxicidade de efluentes brutos e tratados gerados por uma fábrica de medicamentos veterinários

doi: [10.4136/ambi-agua.1121](https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1121)

Bianca de S. Maselli;¹ Luis A. V. Luna²; Joice de O. Palmeira¹; Sandro Barbosa¹; Luiz A. Beijo¹; Gisela de A. Umbuzeiro²; Fábio Kummrow*³

¹Universidade Federal de Alfenas - Alfenas, MG, Brasil,
Instituto de Ciências da Natureza

²Universidade Estadual de Campinas - Limeira, SP, Brasil,
Laboratório de Ecotoxicologia Aquática e Limnologia "Prof. Dr. Abílio Lopes"

³Universidade Federal de São Paulo - Diadema, SP, Brasil,
Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas

*Autor correspondente: e-mail: fkummrow@unifesp.br,
bsmaselli@gmail.com, luisvisani@gmail.com, joiced_12@hotmail.com, sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br, luizbeijo@yahoo.com.br, giselau@ft.unicamp.br

RESUMO

Efluentes de indústrias farmacêuticas veterinárias, que formulam medicamentos, são gerados principalmente durante a lavagem dos equipamentos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a toxicidade aguda para *Daphnia similis* e crônica para *Ceriodaphnia dubia*, dos efluentes brutos e tratados gerados por uma indústria farmacêutica veterinária. O sistema de tratamento de efluentes usado é composto por uma etapa de tratamento químico (coagulação-sedimentação forçada) seguida do tratamento biológico aeróbio (processo de lodos ativados). Foram realizadas 5 campanhas de amostragens entre outubro de 2011 e julho de 2012. As amostras de efluentes brutos apresentaram elevada toxicidade aguda e crônica (aguda: quarta campanha com CE₅₀ - 48-h de <0,001% e crônica: terceira campanha com CI₅₀ - 7-d <0,0001%). As amostras de efluentes tratados quimicamente foram as mais tóxicas com CE₅₀ - 48-h entre <0,001 e 0,1% e CI₅₀ - 7-d entre 0,00001 e 0,0001%, provavelmente relacionada ao uso de sulfato de alumínio como agente floculante. O tratamento biológico levou a uma pequena diminuição da toxicidade dos efluentes. Os testes ecotoxicológicos foram adequados para detectar a toxicidade dos efluentes e úteis para avaliar a eficiência das etapas do tratamento. Melhorias no sistema de tratamento de efluentes da indústria estudada deveriam ser implementadas visando à redução da toxicidade observada nos efluentes finais.

Palavras-chave: Fármacos veterinários, efluentes industriais, avaliação ecotoxicológica.

Ecotoxicity of raw and treated effluents generated by a veterinary medicine industry

ABSTRACT

Effluents from veterinary pharmaceutical industries that formulate medicines are mainly generated during the washing of equipment. The aim of this work was to evaluate the acute toxicity to *Daphnia similis* and chronic toxicity to *Ceriodaphnia dubia* of raw and treated effluents generated by a veterinary pharmaceutical industry. The industrial effluent treatment system comprises a step of chemical treatment (coagulation-sedimentation forced) followed by aerobic biological treatment (activated sludge process). Five samplings campaigns were performed from October 2011 to July 2012. The raw effluent samples showed high acute and

chronic toxicity (acute: fourth sampling with EC_{50} - 48-h of $<0.001\%$ and chronic: third sampling with IC_{50} - 7-d of $<0.0001\%$). The chemically treated effluent samples were the most toxic with EC_{50} - 48-h between <0.001 and 0.1% and IC_{50} - 7-d between 0.00001 and 0.0001% . This increase in toxicity is probably related to the use of aluminum sulfate as flocculating agent. The biological treatment led to a small reduction in toxicity of the effluents. The selected ecotoxicological tests were adequate for detecting the effluent toxicity and useful for evaluating the efficiency of the steps of the effluent treatment. Improvements in the industrial wastewater treatment system should be implemented in order to reduce the observed toxicity of the final effluent.

Keywords: Veterinary pharmaceuticals, industrial effluents, ecotoxicological assessment.

1. INTRODUÇÃO

Fármacos de uso veterinários foram detectados em diferentes países no solo, em sedimento, no lodo do tratamento de esgoto, nas águas superficiais e subterrâneas e em efluente industrial (Boxall et al., 2003; Akintonwa et al., 2009; Watanabe et al., 2010). Estes produtos compõem uma classe especial de poluentes, pois necessariamente apresentam elevada atividade fisiológica. Os fármacos são utilizados na agroindústria para combater parasitas, na prevenção e tratamento de doenças bacterianas e como promotores de crescimento. Além disso, possuem maior resistência à biodegradação, por serem desenvolvidos com certa resistência à biotransformação, o que aumenta os efeitos terapêuticos (Boxall et al., 2003; Fatta-Kassinos et al., 2011), porém contribui para a sua recalcitrância (Fatta-Kassinos et al., 2011).

As fontes de contaminação ambiental por fármacos veterinários são geralmente difusas. O lançamento direto, o descarte inadequado, a aplicação de excretas como fertilizantes (considerada a principal fonte) e a dissolução direta em corpos d'água onde há aquicultura são consideradas potenciais vias de introdução de fármacos no ambiente (Jones et al., 2004; Fatta-Kassinos et al., 2011).

Indústrias farmacêuticas geram efluentes líquidos, emissões atmosféricas e resíduos sólidos, e seu desafio atual é o controle e prevenção da poluição ambiental (Berry e Rondinelli, 2000; Akintonwa et al., 2009). Até recentemente a produção de medicamentos não era considerada como uma importante fonte de poluição, contudo estudos conduzidos principalmente em indústrias localizadas em países asiáticos demonstraram elevadas concentrações de fármacos nos efluentes tratados e lançados nos corpos d'água receptores (Fick et al., 2009; Larsson e Fick, 2009).

O setor farmacêutico inclui quatro processos de fabricação (fermentação, extração, síntese química e formulação). Esses podem gerar efluentes recalcitrantes dependendo dos medicamentos produzidos e dos processos de fabricação (Balcioglu e Ötker, 2003). Os efluentes líquidos são resultantes da limpeza do maquinário, sendo essa etapa a principal responsável pela presença dos fármacos nos efluentes industriais brutos além de outros compostos inorgânicos e orgânicos, que incluem reagentes diversos, solventes, catalisadores e intermediários de síntese (Balcioglu e Ötker, 2003; Akintonwa et al., 2009; Chen et al., 2011). Assim, as demandas químicas e bioquímicas de oxigênio (DQO e DBO), o teor de sólidos suspensos, o pH e as quantidades de fenol e amônia são variáveis (Akintonwa et al., 2009). Além disso, a toxicidade para bactérias e recalcitrância de muitos fármacos (como os antibióticos) pode desempenhar um papel importante na redução da remoção de DQO em sistemas biológicos de tratamento de efluentes (Chen et al., 2011).

Determinar quimicamente todos os toxicantes presentes em efluentes é impraticável. Além disso, a complexidade das relações entre os compostos e a biota, e o desconhecimento

de parte dos constituintes dos efluentes, associados a possíveis efeitos sinérgicos ou antagônicos, resultantes das interações entre seus constituintes, demonstram que os dados obtidos por métodos embasados somente em análises químicas são inadequados para uma correta avaliação do potencial tóxico desses resíduos, sendo recomendável uma caracterização complementar com testes ecotoxicológicos (Kapanen e Itävaara, 2001; Wilke et al., 2008).

A ocorrência de fármacos no ambiente ainda está cercada de muitas dúvidas, por exemplo, qual o seu real potencial de causar efeitos tóxicos relevantes para a flora, fauna e seres humanos (Fatta-Kassinos et al., 2011). Embora os testes ecotoxicológicos sejam recomendados para a caracterização do perigo de fármacos e de amostras ambientais, poucos estudos focados em resíduos da produção de medicamentos veterinários estão disponíveis. No Brasil existem apenas estudos direcionados à determinação química de fármacos de uso humano em corpos d'água (Sodré et al., 2010; Locatteli et al., 2011), porém, não foram encontrados na literatura revisada, estudos nacionais sobre a contaminação ambiental por fármacos veterinários. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a toxicidade aguda, para *Daphnia similis*, e crônica, para *Ceriodaphnia dubia*, dos efluentes brutos e tratados de uma indústria farmacêutica veterinária instalada no Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados os efeitos tóxicos agudos e crônicos de amostras de efluentes brutos e tratados, gerados na fabricação de medicamentos veterinários de uma indústria farmacêutica localizada na região sudeste do Brasil. Nessa indústria são preparadas formulações e o sistema de produção usado é em batelada. Durante as campanhas de coleta estavam sendo fabricados antibióticos, antiparasitários e hormônios.

O sistema de tratamento implantado na ETE da indústria (Figura 1), onde as amostras foram coletadas, é composto por tratamento químico realizado por meio de coagulação-sedimentação forçada e tratamento biológico aeróbio do tipo lodo ativado. No tratamento químico são usados o hidróxido de sódio (NaOH) para ajuste de pH, o sulfato de alumínio ($Al_2(SO_4)_3$) como floculante e polímeros orgânicos para a flotação e redução de sólidos suspensos. Os efluentes resultantes do tratamento químico são encaminhados para o tratamento biológico aeróbio convencional.

Foram realizadas 5 campanhas de amostragem bimestralmente entre outubro de 2011 e julho de 2012. As amostras de efluentes foram coletadas na ETE da indústria farmacêutica antes da entrada no tratamento químico (efluentes brutos - EB), logo após sua saída do tratamento químico (efluente tratado quimicamente - EQ) e no final do processo de tratamento, logo após o tratamento biológico (efluente tratado biologicamente - EF), com recipientes de polietileno lavados, de acordo com o protocolo de limpeza básica de frascaria da CETESB (2011). As amostras foram mantidas congeladas (-20 °C), em frascos plásticos, até a realização dos testes ecotoxicológicos, por no máximo 60 dias (CETESB, 2011).

Todas as amostras coletadas foram submetidas à determinação dos parâmetros físico-químicos: pH (usando medidor de pH portátil - PHTEK- modelo PH100); oxigênio dissolvido (OD) e temperatura (usando um oxímetro - OAKTLON modelo 600); condutividade (usando condutivímetro - W120 - BEL) (CETESB, 2011) e teor de amônia (usando eletrodo de íon de amônia - High Performance Ammonia Ion Selective Electrode - Thermo Scientific).

Os cultivos dos organismos teste foram realizados de acordo com as normas brasileiras NBR 12.713 (ABNT, 2009), para *D. similis*, e NBR 13.373 (ABNT, 2010), para *C. dubia*. Todos os organismos foram cultivados em recipiente de 2 L sob fotoperíodo com 16-h de luz e temperatura entre 18 e 22 °C, em câmara do tipo D.B.O. (ABNT, 2009; 2010). Trocas totais da água de cultivo, com limpeza dos recipientes e contagem dos organismos adultos, foram realizadas a cada 48-h. Nesse momento as *D. similis* foram alimentadas com a alga

Pseudokirchneriella subcapitata, e as *C. dubia* com *P. subcapitata* e vitohormônio (ração fermentada adicionada de leveduras). As sensibilidades das *D. similis* e das *C. dubia* foram avaliadas mensalmente utilizando como controle positivo o cloreto de sódio (NaCl) (ABNT, 2009; Liguoro et al., 2009; ABNT, 2010; Kim et al., 2010).

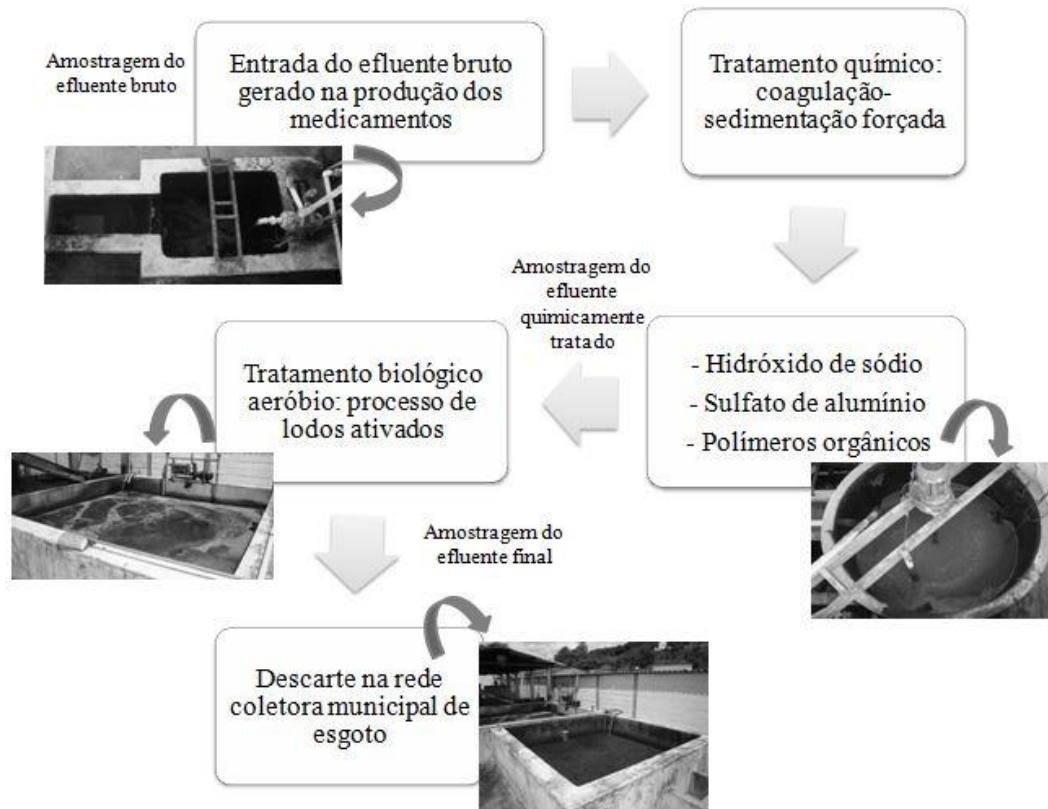


Figura 1. Processo de tratamento de efluentes empregado na indústria farmacêutica veterinária e pontos de amostragem dos efluentes avaliados.

Para os testes com *D. similis* foram utilizadas neonatas com 2 a 24-h de idade (ABNT, 2009). Cinco organismos foram expostos a cada concentração (0; 0,001; 0,01; 0,1; 1; 10; 25; 50 e 100% v/v) das diferentes amostras de efluentes, em quatro réplicas, por um período 48-h de exposição, com ausência de luz e alimento. O controle negativo empregado foi água de cultivo. Após o período de exposição foi contabilizado o número de indivíduos imóveis em cada concentração testada e os resultados foram expressos em concentração efetiva 50% (CE₅₀) (Liguoro et al., 2009).

Os testes crônicos com *C. dubia* seguiram a norma NBR 13.373 (ABNT, 2010), com período de exposição dos organismos de 7 dias com fluxo semiestático. As ceriodaphnias foram mantidas em frascos coletores universais com meio líquido, em câmaras tipo D.B.O. à 25 °C com fotoperíodo de 16-h de luz. Os organismos foram alimentados a cada 2 dias durante os testes (ABNT, 2010). No delineamento experimental desses testes as concentrações de efluentes foram definidas a partir dos resultados dos testes de toxicidade aguda com *D. similis*. A menor concentração que causou 100% de letalidade foi dividida por 100, estabelecendo a maior concentração dos testes com *C. dubia*. As amostras foram testadas em elevadas diluições, variando de 0,01 a 0,0000001% (v/v). O controle negativo usado foi água reconstituída. A reprodução dos organismos foi o parâmetro avaliado para a determinação da concentração inibitória 50% (CI₅₀). Foram utilizados organismos neonatos, e para cada concentração foi exposto um indivíduo por réplica, totalizando dez réplicas.

Os dados obtidos nos testes agudos e crônicos foram submetidos a análises estatísticas para obtenção das concentrações médias de imobilização (CE_{50} - 48-h), e concentrações médias inibitórias da reprodução (CI_{50} - 7-d) calculadas pelos métodos “Trimmed Spearman-Kraber” e de Interpolação Linear, disponível nos programas JSPEAR e ICPIN (Hamilton et al., 1977; Norbert-King, 1993).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de efluentes brutos e tratadas avaliadas apresentaram elevada toxicidade aguda e crônica. Parte dessa toxicidade poderia ser atribuída a fármacos, reconhecidamente tóxicos (Reis Filho et al., 2007; Santos et al., 2010), usados na fabricação dos medicamentos veterinários e incorporados aos efluentes brutos. A toxicidade dos efluentes tratados pode estar relacionada a produtos químicos usados na etapa de tratamento químico ou aos próprios fármacos e os seus produtos de degradação, pois é amplamente aceito que sistemas convencionais de tratamento de efluentes apresentam baixa remoção de fármacos (Fatta-Kassinos et al., 2011).

Características físico-químicas dos efluentes podem interferir nos resultados dos testes ecotoxicológicos e assim é de grande importância que se faça as suas determinações e ajustes, sempre que necessário, antes da realização dos testes. Nesse trabalho foram determinados os parâmetros: pH, OD, temperatura, condutividade e concentração de amônia. Os resultados destas determinações e os fármacos que estavam sendo utilizados durante o período de cada amostragem são apresentados na Tabela 1. O pH, temperatura e OD apresentaram variação relativamente pequena entre as campanhas, porém, a condutividade e a concentração de amônia apresentaram maiores variações.

Os níveis de OD têm forte influência na manutenção de processos de autodepuração em sistemas aquáticos naturais e nas ETE. Considera-se como condição ideal para a execução de testes ecotoxicológicos que sua concentração seja maior que 2 mg L^{-1} (Morales, 2004). Efluentes com elevados valores de DBO e/ou DQO ou que contenham populações bacterianas podem apresentar concentrações de OD menores do que as encontradas nas águas naturais, o que pode provocar estresse ou mortalidade dos organismos, fazendo com que a toxicidade seja superestimada (Costa et al., 2008). A maioria das amostras de efluentes avaliadas apresentaram valores de OD $>2 \text{ mg L}^{-1}$. Nas amostras de EB, os níveis de OD não devem ter contribuído para a sua toxicidade. Porém para as amostras de EQ, que em geral foram as mais tóxicas, foram observados os menores valores de OD, fato que pode ter contribuído para sua alta toxicidade. Porém, tanto nos testes agudos quanto nos crônicos as CE_{50} - 48-h e CI_{50} - 7-d, respectivamente, foram determinadas em concentrações bastante diluídas das amostras e assim os meios dos testes podem ter compensado os baixos níveis de OD dos efluentes.

O pH é um dos fatores limitantes à sobrevivência de organismos aquáticos e tem forte influência na toxicidade de metais e de muitos compostos orgânicos normalmente presentes em efluentes. Em todas as amostras coletadas o pH estava de acordo com a faixa tolerada por organismos aquáticos (pH entre 6 e 9) (Morales, 2004), exceto nas amostras de EQ (pH 5,0) da terceira campanha e de EB (pH 5,5) da quarta campanha, em que o pH foi corrigido com solução 0,1 M de NaOH. Não foi observada variação de pH durante os testes e assim este fator não influenciou na toxicidade das amostras analisadas.

Parâmetros de integração como condutividade, sólidos dissolvidos totais, ou salinidade são usados como medida das concentrações de íons em amostras líquidas. Embora em certos casos haja correlação entre o aumento de condutividade ou de sólidos dissolvidos totais e aumento da toxicidade, esses parâmetros não são preditores robustos de toxicidade. Em estudos com águas de drenagem de irrigação, foram encontradas, para *C. dubia*, valores de CL_{50} correspondentes a valores de condutividades entre 3500 e 4000 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Efluentes

industriais apresentaram toxicidade para *C. dubia* com condutividade de apenas 1800 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Em geral amostras líquidas com elevados níveis de sólidos dissolvidos totais tem alta toxicidade para *D. magna* (Mount et al., 1997). Assim podemos inferir que condutividade não interferiu nos testes ecotoxicológicos, pois embora algumas amostras apresentaram valores elevados, sugerindo presença de íons em solução e de alguns nutrientes, os valores de condutividade estão abaixo daqueles que normalmente elevam ou causam toxicidade.

Tabela 1. Fármacos que estavam sendo empregados na fabricação de medicamentos veterinários durante os períodos das cinco campanhas de amostragem e parâmetros físicos e químicos determinados nas amostras de efluentes coletadas em diferentes estágios do processo de tratamento da ETE industrial.

Coleta	Fármacos	pH			T(°C)			**OD(mg L ⁻¹)			Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)			Amônia (mg L ⁻¹ NH ₃)		
		*EB	&EQ	#EF	EB	EQ	EF	EB	EQ	EF	EB	EQ	EF	EB	EQ	EF
1	Sulfadiazina Sulfaguanidina Penicilina G procaína potássica Penicilina G procaína benzitina Norfloxacin	7,0	6,5	6,4	24,3	20,6	23,7	6,2	0,2	1,2	99,7	313,0	276,0	0,9	13,9	3,0
2	Norfloxacin Oxitetraciclina Medroxiprogesterona	7,1	6,1	6,3	26,7	24,6	26,7	5,3	1,4	1,0	94,7	96,1	97,5	0,9	12,9	11,9
3	Estreptomocina Enrofloxacin Norfloxacin Penicilina G procaína potássica	7,0	5,0	6,5	23,1	21,4	27,6	4,9	2,4	3,7	470,0	389,0	324,0	14,3	8,7	0,9
4	Sulfadiazina Sulfaguanidina Oxitetraciclina Penicilina G procaína potássica Norfloxacin	5,5	6,6	6,2	20,4	19,6	21,7	2,4	2,7	2,3	550,0	553,0	405,0	17,9	19,8	17,7
5	Penicilina G procaína potássica Norfloxacin Enrofloxacin Ivermectina	7,1	7,6	6,3	15,8	15,0	19,2	8,1	1,4	2,7	1041,0	716,0	411,0	58,8	30,8	5,8

Notas: *EB - Efluente bruto; &EQ - efluente pós-tratamento químico; #EF - efluente pós-tratamento biológico; **OD - Oxigênio dissolvido.

A presença de amônia foi constatada em todas as amostras, porém em quantidades em que não se espera influência na toxicidade. Exceto na última campanha, onde as amostras de EB e EQ apresentaram concentrações relativamente elevadas de amônia, com valores de 58,84 e 30,80 mg L⁻¹ NH₃, respectivamente. Porém, essas amostras apresentaram toxicidades agudas e crônicas nas mesmas faixas das demais amostras que continham concentrações relativamente baixas de amônia.

Os resultados dos testes de toxicidade aguda para *D. similis* e crônica para *C. dubia* são apresentados na Tabela 2. Essas espécies foram escolhidas por a sua elevada sensibilidade e por apresentarem protocolos padronizados e validados, sendo amplamente usadas para avaliação de efluentes (Costa et al., 2008; Fatta-Kassionos et al., 2011).

Tabela 2. Toxicidade aguda para *D. similis*, expressa em CE₅₀ - 48-h, e toxicidade crônica para *C. dubia*, expressa em CI₅₀ - 7-d, das amostras de efluentes brutos e tratados gerados na produção de medicamentos veterinários.

Coleta	Toxicidade aguda CE ₅₀ - 48-h (%)			Toxicidade crônica CI ₅₀ - 7-d (%)		
	EB*	EQ ^{&}	EF [#]	EB*	EQ ^{&}	EF [#]
1	<0,1 (n.d.)	<0,1 (n.d.)	<0,1 (n.d.)	0,0005 (0,0004-0,0005)	0,0003 (0,0001-0,0005)	0,0006 (n.d.)
2	0,56 (0,32-0,98)***	<0,001 (n.d.)	0,02 (0,01-0,03)	0,0019 (0,0001-0,0039)	0,00001 (0,00001-0,0001)	0,0009 (n.d.)
3	0,03 (0,02-0,05)	<0,001 (n.d.)	0,03 (0,02-0,04)	<0,0001 (n.d.)	0,0001 (0,00001-0,0001)	-
4	<0,001 (n.d.)	<0,001 (n.d.)	0,02 (0,01-0,03)	-**	0,00001 (0,00001-0,0001)	-
5	0,02 (0,01-0,03)	0,03 (0,02-0,04)	0,08 (0,03-0,17)	-	0,00001 (0,00001-0,0001)	-

Nota: *EB - Efluente bruto; [&]EQ - efluente pós-tratamento químico; [#]EF - efluente pós-tratamento biológico; ** - CI₅₀ - 7-d não pode ser determinada, pois estão acima das maiores concentrações testadas; *** Intervalo de confiança de 95%; n.d. - intervalo de confiança não determinado.

As amostras de EB apresentaram a maior variação nos níveis de toxicidade aguda, com CE₅₀ - 48-h que variaram entre <0,001 e 0,56% (Tabela 2). Essa variação e elevada toxicidade observada podem ser parcialmente explicadas pelo tipo de fármacos e adjuvantes que estavam sendo empregados, durante os diferentes períodos de coleta, e por diferenças no ritmo de produção, mas como não foram determinadas suas concentrações não é possível confirmar essa hipótese. Durante todos os períodos de amostragem os antibióticos foram os fármacos mais usados na produção dos medicamentos veterinários (Tabela 1). Sanderson et al. (2004) mostraram que 16% dos antibióticos avaliados foram considerados extremamente tóxicos para os dafnídeos com CE₅₀ - 48-h <0,1 mg L⁻¹.

Mesmo aumentando a diluição dos efluentes para a realização dos testes crônicos foi possível observar toxicidade em várias amostras (Tabela 2). As amostras de EB da quarta e quinta campanhas não foram tóxicas, mesmo nas maiores concentrações testadas. Na primeira, segunda e terceira campanhas foi observada toxicidade crônica relativamente alta com CI₅₀ - 7-d de 0,0005; 0,0019 e <0,0001%, respectivamente.

Efluentes gerados na formulação de antibióticos tem baixa degradabilidade, uma vez que contém elevada carga de princípios ativos recalcitrantes (Balcioglu e Ötker, 2003), desperdiçados durante a fabricação dos medicamentos, para os EB, que são produzidos principalmente durante a lavagem do maquinário. Antibióticos são especialmente prejudiciais a organismos aquáticos como algas, cladoceras e artêmias (Jones et al., 2004). Foram encontrados na literatura dados de toxicidade para cladoceras de alguns dos antibióticos usados na indústria durante os períodos de amostragem. Para *D. magna* a enrofloxacin apresenta CE₅₀ - 48-h de 58,7 mg L⁻¹ e em testes crônicos a concentração de efeito não observado (CENO - 21-d) foi de 5 mg L⁻¹. Em testes agudos e crônicos com *D. magna* a sulfadiazina apresenta CE₅₀ - 48-h de 221,0 mg L⁻¹ e CI₅₀ - 21-d (para reprodução) de 13,7 mg L⁻¹. A oxitetraciclina apresenta CE₅₀ - 48-h para *D. magna* de 621,2 mg L⁻¹ e CI₅₀ - 7-d (inibição do crescimento populacional) para *C. dubia* de 0,18 mg L⁻¹ (Santos et al., 2010).

Além dos antibióticos, o hormônio e o antiparasitário usados na indústria, durante os períodos de amostragem, podem ter contribuído para a toxicidade das amostras. Os hormônios pertencem ao grupo dos interferentes endócrinos, considerados muito tóxicos, pois atuam no sistema endócrino dos organismos mesmo em concentrações extremamente baixas (Reis Filho et al., 2007). Os antiparasitários são muito usados para combater ectoparasitas e endoparasitas e estão entre os fármacos com maior risco ambiental, principalmente para a biota aquática. A

ivermectina, usada durante o período da quinta campanha de coleta, apresenta elevada toxicidade aguda para daphnídeos com CE_{50} - 48-h de $0,00045 \text{ mg L}^{-1}$ (Boxall et al., 2003).

As amostras de EQ apresentaram, em sua maioria, as maiores toxicidades agudas com CE_{50} - 48-h que variaram entre $<0,001$ e $0,003\%$ (Tabela 2). Somente na quinta campanha de amostragem o EB foi mais tóxico (CE_{50} - 48-h $0,02\%$) que o EQ (CE_{50} - 48-h $0,03\%$), porém a diferença entre as toxicidades foi pequena. Nos testes crônicos as amostras de EQ também foram as mais tóxicas com valores de CI_{50} - 7-d entre $0,00001$ e $0,003\%$ (Tabela 2).

Embora o pré-tratamento químico seja necessário para melhorar a tratabilidade de efluentes gerados na produção de antibióticos (Balcioglu e Ötker, 2003), o processo empregado na ETE onde foram coletadas as amostras elevou toxicidade dos EB. O aumento na toxicidade dos EQ poderia estar relacionado à adição de reagentes tóxicos para organismos aquáticos, como o sulfato de alumínio ($Al_2(SO_4)_3$), usado como agente floculante. Os tratamentos de águas e de efluentes estão entre as principais fontes antropogênicas de contaminação ambiental por Al (Wren e Stephenson, 1991), demonstrando que parte desse sal esta presente nos efluentes finais.

A toxicidade do Al para invertebrados de águas doces é espécie específica e variável. Em amostras com pH maior que 6, é normalmente baixa variando entre 320 a $832 \mu\text{g L}^{-1}$. Os organismos mais sensíveis ao Al são os cladóceros (Wren e Stephenson, 1991), como os daphnídeos empregados nos testes ecotoxicológicos desse trabalho. A toxicidade observada, principalmente nos testes agudos, que avaliaram as amostras em concentrações menos diluídas, parece estar relacionada ao $Al_2(SO_4)_3$. Porém outro fator que pode ter influenciado no aumento da toxicidade dessas amostras é a formação de produtos intermediários de degradação com toxicidade igual ou maior que a dos compostos vindos diretamente da produção dos medicamentos (Tambosi et al., 2010; Fatta-Kassinos et al., 2011).

As amostras de EF das três primeiras campanhas apresentaram toxicidade aguda igual (campanhas 1 e 3) ou superior (campanha 2) àquelas das amostras de EB (Tabela 2). Porém, nas amostras de EF das duas últimas campanhas houve redução na toxicidade (mais pronunciada na quarta campanha). As amostras de EF das últimas três campanhas não apresentaram toxicidade crônica nas doses testadas. Os valores de CI_{50} - 7-d das amostras das duas primeiras campanhas foram altas com valores de $0,0006$ e $0,0009\%$ (Tabela 2).

Larsson et al. (2007) determinaram as concentrações de 59 fármacos e avaliaram a toxicidade de efluentes finais de um complexo de indústrias fabricantes de medicamentos genéricos. Dentre os 11 fármacos encontrados em maior abundância 5 eram antibióticos (ciprofloxacina, norfloxacina, lomefloxacina, enoxacina e ofloxacina), presentes em concentrações que variaram entre 150 e $31.000 \mu\text{g L}^{-1}$. Nos testes de toxicidade aguda com *D. magna*, dos mesmos efluentes, os valores de EC_{50} - 48-h variaram entre $6,7$ e $7,2\%$. Mesmo sendo espécies diferentes de daphnias, a toxicidade das amostras de EF das cinco campanhas de amostragem apresentaram toxicidade aguda muito superior àquelas observadas por Larsson et al. (2007) para amostras com elevadas concentrações de fármacos.

Nos ambientes aquáticos, devido ao alto fator de diluição, geralmente os organismos estão expostos a concentrações subletais dos poluentes e essa exposição a concentrações baixas pode levar a distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais em longo prazo. Os efluentes avaliados nesse trabalho, mesmo em elevadas diluições, apresentaram toxicidade crônica para *C. dubia* e, portanto poderiam representar riscos aos organismos aquáticos. Porém, os EF da indústria farmacêutica avaliada são lançados na rede municipal coletora de esgotos e, além de sofrer grande diluição no esgoto doméstico, são levados à ETE municipal onde passam novamente por um tratamento biológico.

Caso não sejam naturalmente biodegradados, fotodegradados ou eficientemente removidos nas ETE os fármacos podem atingir os ambientes aquáticos (Melo et al., 2009). Nos sistemas de tratamento de efluentes, dois processos de eliminação de fármacos são

geralmente importantes: a adsorção aos sólidos suspensos e a biodegradação. A adsorção é dependente de interações hidrofóbicas e eletrostáticas dos fármacos com partículas e bactérias em suspensão. Porém, quando os fármacos estão presentes preferencialmente na fase solúvel, o processo de eliminação mais importante é a biodegradação (Tambosi et al., 2010). A degradação pode ocorrer em zonas aeróbias (e em alguns casos anaeróbias) nos tratamentos por lodos ativados, e no geral a decomposição biológica de fármacos aumenta com o aumento do tempo de retenção hidráulica e com a idade do lodo (Tambosi et al., 2010). Como a etapa de tratamento biológico da ETE, onde foram coletadas as amostras, trata conjuntamente efluentes sanitários e industriais esperava-se maior remoção da toxicidade atribuída aos fármacos por ambos os processos citados.

O tratamento de efluentes é considerado a etapa chave para proteção dos ambientes aquáticos em relação à introdução de fármacos. Existem quatro abordagens para melhorar a remoção desses compostos dos efluentes: otimização de tecnologias de tratamento existentes, modernização de equipamentos de tratamento existentes com novas tecnologias, métodos de segregação e medidas de controle na fonte. Melhorar as ETE e aplicação de medidas de controle na fonte são as abordagens tradicionais para a melhoria da qualidade dos efluentes. Segregação na fonte é uma abordagem recente com crescente aceitação (Tambosi et al., 2010). Diferentes processos oxidativos avançados aplicados à degradação de fármacos de diferentes classes terapêuticas apresentam alta eficiência de degradação dos fármacos em efluentes (Melo et al., 2009). Essas alternativas parecem eficazes para a redução da toxicidade aguda e crônica dos efluentes da indústria farmacêutica avaliada e, se implantadas poderão reduzir seus possíveis impactos ambientais.

4. CONCLUSÃO

Os efluentes brutos e tratados da indústria de medicamentos veterinários estudada apresentam elevada toxicidade aguda para *D. simillis* e crônica para *C. dubia*. Os testes de toxicidade, aguda e crônica, realizados se mostraram sensíveis e adequados para a avaliação dos efluentes brutos e tratados gerados na produção de medicamentos veterinários e também para avaliação da eficiência das diferentes etapas do processo de tratamento de efluentes sob o parâmetro toxicidade.

Em geral as amostras de efluentes tratados quimicamente apresentaram maior toxicidade quando comparadas às amostras dos efluentes brutos. O tratamento químico, portanto, não melhora a qualidade dos efluentes em relação aos parâmetros toxicidade aguda e crônica e, a elevada toxicidade observada nas amostras desses efluentes pode estar relacionada ao $Al_2(SO_4)_3$ empregado como agente floculante. Melhorias no processo de tratamento de efluentes da ETE são necessárias para reduzir a toxicidade dos efluentes e prevenir impactos ambientais decorrente desses despejos.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o financiamento dado ao projeto pelo CNPq (processo n° 475243/2011-0) e ao apoio de Anjaina F. Albuquerque na realização dos testes ecotoxicológicos. Bianca de S. Maselli agradece a FAPEMIG pela bolsa de mestrado concedida.

6. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.713**: ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2009. 21 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13373**: ecotoxicologia aquática – toxicidade crônica – método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2010. 15 p.

AKINTONWA, A.; AWODELE, O.; OLOFINNADE, A. T.; ANYAKORA, C.; AFOLAYAN, G. O.; COKER, H. A. B. Assessment of the mutagenicity of some pharmaceutical effluents. **American Journal of Pharmacology and Toxicology**, Vails Gate, v. 4, p. 144-150, 2009. <http://dx.doi.org/10.3844/ajptsp.2009.144.150>

BALCIOĞLU, I. A.; ÖTKER, M. Treatment of pharmaceutical wastewater containing antibiotics by O₃ and O₃/H₂O₂ processes. **Chemosphere**, Oxford, v. 50, p. 85-95, 2003. [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00534-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00534-9)

BERRY, M. A.; RONDINELLI, D. A. Environmental management in the pharmaceutical industry: Integrating corporate responsibility and business strategy. **Environmental Quality Management**, Wheaton, v. 9, p. 21-35, 2000. [http://dx.doi.org/10.1002/1520-6483\(200021\)9:3<21::AID-TQEM3>3.0.CO;2-4](http://dx.doi.org/10.1002/1520-6483(200021)9:3<21::AID-TQEM3>3.0.CO;2-4)

BOXALL, A. B. A.; KOLPIN, D. W.; HALLING-SØRENSEN, B.; TOLLS, J. Are veterinary medicines causing environmental risks? **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 37, p. 286A-294A, 2003.

CHEN, Z.; WANG, H.; CHEN, Z.; REN, N.; WANG, A.; SHI, Y.; LI, X. Performance and model of a full-scale up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) to treat the pharmaceutical wastewater containing 6-APA and amoxicillin. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 185, p. 905-913, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.09.106>

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras**: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. 1. ed. São Paulo, 2011. 325 p.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>

FATTA-KASSINOS, D.; MERIC, S.; NIKOLAOU, A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 399, p. 251-275, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-010-4300-9>

FICK, J.; SÖDERSTRÖM, H.; LINDBERG, R. H.; PHAN, C.; TYSKLIND, M.; LARSSON, D. G. J. Contamination of surface, ground, and drinking water from pharmaceutical production. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Pensacola, v. 28, p. 2522-2527, 2009. <http://dx.doi.org/10.1897/09-073.1>

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURFTON, R. B. Trimmed Spearman–Karber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 11, p. 714-719, 1977. <http://dx.doi.org/10.1021/es60130a004>

MASELLI, B. S.; LUNA, L. A. V.; PALMEIRA, J. O.; BARBOSA, S.; BEIJO, L. A.; UMBUZEIRO, G. A.; KUMMROW, F. Ecotoxicidade de efluentes brutos e tratados gerados por uma fábrica de medicamentos veterinários. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 8, n. 2, p. 168-179, 2013. (<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1121>)

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Potential ecological and human health risks associated with the presence of pharmaceutically active compounds in the aquatic environment. **Critical Reviews in Toxicology**, Boca Raton, v. 34, p. 335-350, 2004. <http://dx.doi.org/10.1080/10408440490464697>

KAPANEN, A.; ITÄVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 49, p. 1-16, 2001. <http://dx.doi.org/10.1006/eesa.2000.1927>

KIM, J.; PARK, J.; KIM, P. G.; LEE, C.; CHOI, K. Implication of global environmental changes on chemical toxicity effect of water temperature, pH, and ultraviolet B irradiation on acute toxicity of several pharmaceuticals in *Daphnia magna*. **Ecotoxicology**, London, v. 19, p. 662-669, 2010. <http://dx.doi.org/10.1007/s10646-009-0440-0>

LARSSON, D. G. J.; PEDRO, C.; PAXEUS, N. Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 148, p. 751-755, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.008>

LARSSON, D. G. J.; FICK, J. Transparency throughout the production chain-a way to reduce pollution from the manufacturing of pharmaceuticals? **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, New York, v. 53, p. 161-163, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.01.008>

LIGUORO, M. D.; FIORETTO, B.; POLTRONIERI, C.; GALLINA, G. The toxicity of sulfamethazine to *Daphnia magna* and its additivity to other veterinary sulfonamides and trimethoprim. **Chemosphere**, Oxford, v. 75, p. 1519-1524, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.002>

LOCATELLI, M. A. F.; SODRÉ, F. F.; JARDIM, W. F. Determination of Antibiotics in Brazilian Surface Waters Using Liquid Chromatography–Electrospray Tandem Mass Spectrometry. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 60, p. 385-393, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s00244-010-9550-1>

MELO, S. A. S.; TROVÓ, A. G.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 188-197, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000100034>

MORALES, G. C. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**. 1. ed. México: IMTA, 2004. 189 p.

MOUNT, D. R.; GULLEY, D. D.; HOCKETT, J. R.; GARRISON, T. D.; EVANS, J. M. Statistical models to predict the toxicity of major ions to *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* and *Pimephales promelas* (fathead minnows). **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 16, p. 2009-2019, 1997. <http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620161005>

NORBERT-KING, T. J. **A linear interpolation method for sublethal toxicity: the inhibition concentration (ICp) approach (Version 2.0)**. Dulunth: USEPA, 1993. Tech. Rept. 03-93. 25 p.

MASELLI, B. S.; LUNA, L. A. V.; PALMEIRA, J. O.; BARBOSA, S.; BEIJO, L. A.; UMBUZEIRO, G. A.; KUMMROW, F. Ecotoxicidade de efluentes brutos e tratados gerados por uma fábrica de medicamentos veterinários. **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 8, n. 2, p. 168-179, 2013. (<http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.1121>)

REIS FILHO, R. W.; BARREIRO, J. C.; VIEIRA, E. M.; CASS, Q. B. Fármacos, ETES e corpos hídricos. **Revista Ambiente e Água**, Taubaté, v. 2, p. 54-61, 2007. <http://dx.doi.org/10.4136/ambi-agua.33>

SANDERSON, H.; BRAIN, R. A.; JOHNSON, D. J.; WILSON, C. J.; SOLOMON, R. K. Toxicity classification and evaluation of four pharmaceuticals classes: antibiotics, antineoplastics, cardiovascular, and sex hormones. **Toxicology**, Amsterdam, v. 203, p. 27-40, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2004.05.015>

SANTOS, L. H. M. L. M.; ARAÚJO, A. N.; FRACHINI, A.; PENNA, A.; DELERUEMATOS, C.; MONTENEGRO, M. C. B. S. M. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environments. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 175, p. 45-95, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.100>

SODRÉ, F. F.; PESCARA, I. C.; MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**, Amsterdam, v. 96, p. 92-98, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2010.02.012>

TAMBOSI, J. L.; YAMANAKA, L. Y.; JOSÉ, H. J.; MOREIRA, R. F. P. M.; SCHRÖDER, H. F. Recent research data on the removal of pharmaceuticals from sewage treatment plants (STP). **Química Nova**, São Paulo, v. 33, p. 411-420, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-404220100000200032>

WATANABE, N.; BERGAMASCHI, B.; LOFIN, K.; MEYER, T. M.; HARTER, T. Use and environmental occurrence of antibiotics in freestall dairy farms with manured forage fields. **Environmental Science and Technology**, Easton, v. 44, p. 6591-6600, 2010. <http://dx.doi.org/10.1021/es100834s>

WILKE, B. M.; RIEPERT, F.; KOCH, C.; KÜHNE, T. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 70, p. 283-293, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.10.003>

WREN, C. D.; STEPHENSON, G. L. The effect of acidification on the accumulation and toxicity of metals to freshwater invertebrates. **Environmental Pollution**, Amsterdam, v. 71, p. 205-241, 1991. [http://dx.doi.org/10.1016/0269-7491\(91\)90033-S](http://dx.doi.org/10.1016/0269-7491(91)90033-S)