



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS**

**DIAGNÓSTICO DA PRESENÇA DE INTERFERENTES ENDÓCRINOS NO RIO
SAPUCAÍ E EM ÁGUA TRATADA EM ITAJUBÁ (MG), E ESTUDO DA REMOÇÃO
DOS MESMOS POR POA**

LAÍS MARQUES AUGUSTO DA COSTA

Itajubá (MG)

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS**

LAÍS MARQUES AUGUSTO DA COSTA

**DIAGNÓSTICO DA PRESENÇA DE INTERFERENTES ENDÓCRINOS NO RIO
SAPUCAÍ E EM ÁGUA TRATADA EM ITAJUBÁ (MG), E ESTUDO DA REMOÇÃO
DOS MESMOS POR POA**

Dissertação submetida ao programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências em Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Matiko Kondo.

Co-orientador: Prof. Dr. Sandro José de Andrade.

Itajubá (MG)

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS**

LAÍS MARQUES AUGUSTO DA COSTA

FICHA CATALOGRÁFICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ

**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEIO AMBIENTE E RECURSOS
HÍDRICOS**

LAÍS MARQUES AUGUSTO DA COSTA

**DIAGNÓSTICO DA PRESENÇA DE INTERFERENTES ENDÓCRINOS NO RIO
SAPUCAÍ E EM ÁGUA TRATADA EM ITAJUBÁ (MG), E ESTUDO DA REMOÇÃO
DOS MESMOS POR POA**

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Márcia Matiko Kondo (UNIFEI)

Prof. Dr. Sandro José de Andrade. (UNIFEI)

Prof^a. Dr^a. Milady Renata Silva (UNIFEI)

Prof^a. Dr^a. Raquel Fernandes Pupo Nogueira (UNESP)

Itajubá (MG)

2015

“Eu não sou o que eu deveria ser. Eu não sou o que eu poderia ser. Eu não sou o que quero ser. Eu não sou o que eu espero ser. Eu não sou o que em breve serei. No entanto, eu não sou o que eu fui uma vez. E eu posso realmente dizer junto com o apóstolo: ”Pela graça de Deus - Eu sou o que sou”. ”.

John Newton

Dedico este trabalho a Deus, por ter confiado em mim como filha amada; aos meus pais e família pela paciência, amor, carinho e incentivo; ao meu namorado que com amor e conselhos cuidou para que se tornasse possível a conclusão desta importante etapa da minha vida; e a todos os amigos que me apoiaram e acreditaram na conclusão deste projeto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço sobretudo a Deus, que me mostra a cada dia o seu poder e a sua soberania e que sei que sem a sua vontade, nada acontece.

A minha mãe, Mônica, pelo companheirismo, apoio, e por me incentivar e me dar forças nos momentos mais difíceis.

Ao meu pai, Rubens, pelo conhecimento que me passa mesmo quando em silêncio.

Aos meus irmãos, Cássio e Lara, pelo amor distante, mas intenso.

A minha vó, Beatriz, pela lição de vida.

Ao meu namorado, Hérique, pela paciência, dedicação, amor, carinho, e felicidade. Por tornar cada momento da minha vida mais especial.

A toda minha família e amigos, pelas risadas nas horas em que mais precisava.

À minha orientadora e co-orientador, pela atenção dedicada.

Agradeço também a UNIFEI, ao IRN e a CAPES por permitirem que fosse possível a conclusão deste projeto.

RESUMO

Interferentes endócrinos são definidos como substâncias exógenas capazes de causar efeitos adversos à saúde, interferindo no sistema endócrino. Neste trabalho foi avaliada a qualidade das águas superficiais do Rio Sapucaí – MG, bem como aquelas destinadas ao abastecimento público da cidade de Itajubá (MG). Foram realizadas as determinações do Índice de Qualidade da Água (IQA) e das concentrações dos interferentes endócrinos estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) e 17 α -etinilestradiol (EE2). Os métodos analíticos empregados mostraram-se eficientes para extração, concentração e quantificação dos hormônios em questão. Dentre os compostos estudados, aquele que foi detectado em maior concentração foi o estriol, atingindo 0,09 mg.L⁻¹. A amostra de água de torneira apresentou concentrações muito próximas dos hormônios sexuais encontrados nas amostras de água do Rio Sapucaí, indicando a ineficiência do tratamento empregado nas Estações de Tratamento de Água (ETA) e de Efluentes (ETE) para remoção dos mesmos. O estudo da degradação do estriol foi realizado empregando-se os seguintes Processos Oxidativos Avançados (POA): reação de Fenton, foto-Fenton (radiação UV artificial e solar) e utilizando-se o semicondutor dióxido de titânio sob irradiação UV artificial e solar. Os resultados indicaram que todos os POAs estudados foram efetivos na remoção do estriol, atingindo 100% de remoção do hormônio, e, as análises de carbono orgânico total (COT) mostraram que a mineralização foi alta (90%) para a degradação por foto-Fenton radiação UV solar. Os estudos de toxicidade utilizando *Daphnia similis* indicaram que o estriol e os possíveis subprodutos da degradação do mesmo não são tóxicos.

Palavras-chave: Interferentes endócrinos. Índice de Qualidade de Água. POA, hormônio.

ABSTRACT

Endocrine disruptors are defined as exogenous substances capable of causing adverse health effects, interfering with the endocrine system. In this study, it was evaluated the quality of surface waters of the Sapucaí River – MG, as well as those for public supply of the city of Itajubá (MG). The Water Quality Index (WQI) and the concentrations of endocrine disruptors, namely estrone (E1), 17- β -estradiol (E2), estriol (E3) and 17- α -etinylestradiol (EE2) were analysed. The analytical methods employed were efficient for extraction, concentration and quantification of the studied hormones. Among the compounds investigated, the one that was found in highest concentration was estriol, reaching up to 0,09 mg.L⁻¹. The tap water sample showed very similar concentrations of the hormones found in the surface water samples from the Sapucaí River, indicating that the treatment used in the drinking and wastewater treatment plants to remove these compounds are inefficient. The estriol degradation was studied using the following Advanced Oxidation Processes (AOPs): Fentons reaction, photo-Fenton system (irradiation with artificial and solar UV light) and the semiconductor titanium dioxide under artificial and solar irradiation. The results indicate that all AOPs studied were effective to remove estriol, reaching up to 100% removal of the hormone, and the analysis of total organic carbon (TOC) showed that the mineralization was high (90%) to degradation by ooto-Fenton solar UV radiation. The toxicity studies using *Daphnia similis* showed that estriol and the possible intermediates generated during estriol degradation were not toxics.

Keywords: Endocrine disruptors. Water Quality Index. AOP, hormone.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Curvas médias de avaliação dos parâmetros de qualidade das águas para o cálculo do Índice de Qualidade da Água.....	Página 27
Figura 2 – (a) Esquema de sistemas de tratamento de água, desde a captação até a rede de distribuição e (b) etapa de floculação, decantação e filtração.....	Página 29
Figura 3 – Esquema de sistema de tratamento de efluentes.....	Página 30
Figura 4 – Sistema endócrino.....	Página 32
Figura 5 – Especificidade, a molécula sinal se encaixa no sítio de ligação do seu receptor complementar, outros sinais não se encaixam.....	Página 38
Figura 6 – Ampliação, quando enzimas ativam enzimas, o número de moléculas envolvidas aumenta geometricamente em uma cascata enzimática.....	Página 38
Figura 7 – Integração, quando dois sinais possuem efeito sobre a molécula, resultando em uma única resposta.....	Página 38
Figura 8 – Mecanismo de funcionamento do sistema endócrino.....	Página 39
Figura 9 – Disfunções endócrinas: (a) Resposta natural, (b) Efeito agonista, (c) Efeito antagonista.....	Página 39
Figura 10 – Estrutura básica de um esteroide.....	Página 42
Figura 11 – Fórmula estrutural do hormônio sintético 17- α -etinilestradiol.....	Página 43
Figura 12 – Fórmula estrutural do hormônio natural 17- β -estradiol.....	Página 44
Figura 13 – Fórmula estrutural do hormônio natural estriol.....	Página 44
Figura 14 – Fórmula estrutural do hormônio natural estrona.....	Página 45
Figura 15 – Etapas envolvidas na SPE: 1) condicionamento da coluna com solvente adequado; 2) Introdução da amostra; 3) Limpeza da coluna, ou clean-up; 4) Eluição do analito.....	Página 47
Figura 16 – <i>Daphnia smilis</i>	Página 57
Figura 17 – Mapa de ilustração da cidade de Itajubá.....	Página 60
Figura 18 – Divisão hidrográfica nacional.....	Página 61
Figura 19 – Divisão hidrográfica de Minas Gerais.....	Página 61
Figura 20 – Extensão do Rio Sapucaí.....	Página 63
Figura 21 – Pontos estudados no trabalho distribuídos no mapa de Itajubá.....	Página 64
Figura 22 – Ponto de coleta 1.....	Página 64

Figura 23 – Ponto de coleta 2.....	Página 64
Figura 24 – Ponto de coleta 3.....	Página 65
Figura 25 – Ponto de coleta 4.....	Página 65
Figura 26 – Esquema do sistema de extração SPE.....	Página 70
Figura 27 – Cartelas de <i>colilert</i> utilizadas na análise de coliformes termotolerantes.....	Página 72
Figura 28 – Reator utilizado para reação de degradação foto-Fenton.....	Página 81
Figura 29 – Curva de calibração do estriol.....	Página 84
Figura 30 – Sobreposição dos cromatogramas da matriz isenta das substâncias de interesse, branco (em verde), e matriz adicionada com os padrões à 1 ppm (em azul) para o método com detecção FLU para as substâncias estriol, 17- β -estradiol, 17- α -etinilestradiol e estrona.....	Página 87
Figura 31 – Sobreposição dos cromatogramas da matriz isenta das substâncias de interesse, branco (em amarelo), e matriz adicionada com os padrões à 1 ppm (em verde) para o método com detecção DAD para as substâncias estriol, 17- β -estradiol, 17- α -etinilestradiol e estrona.....	Página 88
Figura 32 – Curva analítica da substância estriol para o método com detecção FLU.....	Página 88
Figura 33 – Curva analítica da substância estriol para o método com detecção DAD.....	Página 89
Figura 34 – Curva analítica da substância 17- β -estradiol para o método com detecção FLU.....	Página 89
Figura 35 – Curva analítica da substância 17- β -estradiol para o método com detecção DAD.....	Página 89
Figura 36 – Curva analítica da substância 17- α -etinilestradiol para o método com detecção FLU.....	Página 90
Figura 37 – Curva analítica da substância 17- α -etinilestradiol para o método com detecção DAD.....	Página 90
Figura 38 – Curva analítica da substância estrona para o método com detecção DAD.....	Página 90
Figura 39 – Cromatograma da fortificação de 50 ng.L ⁻¹ para o volume de 1L – detector de FLU.....	Página 95

Figura 40 – Cromatograma da fortificação de 50 ng.L ⁻¹ para o volume de 3L – detector de FLU.....	Página 96
Figura 41 – Curvas de variação de oxigênio dissolvido e temperatura nos pontos de coleta.....	Página 97
Figura 42 – Curva de calibração de Demanda Química de Oxigênio (DQO) x absorbância.....	Página 101
Figura 43 – Curva de calibração de fósforo total x absorbância.....	Página 104
Figura 44 – Curva de otimização do Fe(II) para a degradação por reação de Fenton, mantendo concentração de H ₂ O ₂ constante.....	Página 110
Figura 45 – Curva de otimização do H ₂ O ₂ para a degradação por reação de Fenton, mantendo concentração de Fe(II) constante.....	Página 111
Figura 46 – Curvas de degradação por reação de Fenton e dos controles dessa degradação para o composto estriol.....	Página 112
Figura 47 – Curvas de degradação por reação foto-Fenton luz UV artificial e luz UV solar e dos controles dessas degradações para o composto estriol.....	Página 112
Figura 48 – Curvas de otimização do TiO ₂ para a degradação do estriol.....	Página 114
Figura 49 – Curvas de degradação por reação TiO ₂ /UV artificial e solar e dos controles dessas degradações para o composto estriol.....	Página 115
Figura 50 – Decaimento da carga orgânica (TOC) para as degradações realizadas no presente trabalho.....	Página 116
Figura 51 – Curva de degradação do estriol por reação utilizando semicondutor TiO ₂ radiação UV (água de mina).....	Página 118
Figura 52 – Decaimento da carga orgânica (TOC) para degradação do estriol por reação utilizando semicondutor TiO ₂ radiação UV (água de mina).....	Página 118

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros utilizados no Índice de Qualidade da Água (IQA) e respectivos pesos.....	Página 20
Tabela 2 – Classificação da qualidade da água nos diferentes estados brasileiros.	Página 21
Tabela 3 – Parâmetros utilizados no Índice de Qualidade da Água (IQA), respectivos pesos e importância para o sistema.....	Página 26
Tabela 4 – Principais glândulas do sistema endócrino.....	Página 33
Tabela 5 – Levantamento dos estudos relatando as concentrações de interferentes endócrinos em águas superficiais no Brasil.....	Página 36
Tabela 6 – Interferentes endócrinos – esteroides hormonais, colesterol e derivados e fitoesteróides.....	Página 40
Tabela 7 – Interferentes endócrinos – classificação e características.....	Página 41
Tabela 8 – Exemplos de interferentes endócrinos e seus efeitos.....	Página 42
Tabela 9 – Interferentes endócrinos de estudo e suas propriedades físico-químicas.....	Página 45
Tabela 10 – Excreção diária (μg) per capita de estrogênio por humanos.....	Página 46
Tabela 11 – Exemplo de condições cromatográficas e detectores utilizados em HPLC para detecção de alguns interferentes endócrinos.....	Página 50
Tabela 12 – Potencial de redução de alguns redutores.....	Página 51
Tabela 13 – Sistemas típicos de processos oxidativos avançados.....	Página 52
Tabela 14 – Levantamento dos trabalhos envolvendo degradação de interferentes endócrinos por processos oxidativos avançados.....	Página 54
Tabela 15 – Pontos de coleta das águas superficiais do Rio Sapucaí (pontos 1, 2 e 3) e água de abastecimento público (ponto 4).....	Página 63
Tabela 16 – Parâmetros determinados a partir da otimização do método cromatográfico (HPLC) utilizando os detectores DAD e FLU para detecção das substâncias 17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, estriol e estrona.....	Página 67
Tabela 17 – Condições experimentais para determinação da robustez do método analítico.....	Página 69
Tabela 18 – Procedimento de extração utilizado no estudo.....	Página 70

Tabela 19 – Soluções preparadas para realização da análise de DBO nas amostras.....	Página 74
Tabela 20 – Soluções preparadas para realização da análise de fósforo total nas amostras.....	Página 75
Tabela 21 – Concentrações de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e de H_2O_2 utilizadas para preparação dos testes de otimização de Fe(II)	Página 78
Tabela 22 – Concentrações de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e de H_2O_2 utilizadas para preparação dos testes de otimização de H_2O_2	Página 79
Tabela 23 – Concentrações de TiO_2 utilizadas para preparação dos testes de otimização de TiO_2	Página 82
Tabela 24 – Parâmetros determinados para o método cromatográfico utilizado na avaliação da degradação do interferente endócrino estriol.....	Página 84
Tabela 25 – Precisão intracorrida Dia 1 e Analista 1 pra o método de detecção utilizando FLU.....	Página 91
Tabela 26 – Precisão intracorrida Dia 1 e Analista 1 pra o método de detecção utilizando DAD.....	Página 91
Tabela 27 – Precisão intracorrida Dia 2 e Analista 2 pra o método de detecção utilizando FLU.....	Página 91
Tabela 28 – Precisão intracorrida Dia 2 e Analista 2 pra o método de detecção utilizando DAD.....	Página 91
Tabela 29 – Precisão intercorrida para o método de detecção utilizando FLU.....	Página 92
Tabela 30 – Precisão intercorrida para o método de detecção utilizando DAD.....	Página 92
Tabela 31 – Exatidão para o método de detecção utilizando FLU.....	Página 93
Tabela 32 – Exatidão para o método de detecção utilizando DAD.....	Página 93
Tabela 33 – Resultados de recuperação para as análises de robustez para o método de detecção utilizando FLU.....	Página 94
Tabela 34 – Resultados de recuperação para as análises de robustez para o método de detecção utilizando DAD.....	Página 94
Tabela 35 – Análises de coliformes termotolerantes para cada ponto de coleta.....	Página 98
Tabela 36 – Tabela de padrão microbiológico da água para consumo humano.....	Página 99
Tabela 37 – Limites de turbidez segundo as classes dos rios.....	Página 100
Tabela 38 – Resultados de turbidez para os pontos analisados.....	Página 100
Tabela 39 – Resultados de DQO para os pontos analisados.....	Página 101

Tabela 40 – Resultados de DBO para os pontos analisados.....	Página 102
Tabela 41 – Relação entre os resultados de DQO e DBO encontrados nos pontos analisados.....	Página 103
Tabela 42 – Resultados de fósforo total para os pontos analisados.....	Página 104
Tabela 43 – Estados tróficos de lagos temperados e tropicais (fósforo total em $\mu\text{g.L}^{-1}$)	Página 105
Tabela 44 – Resultados de resíduos totais para os pontos analisados.....	Página 106
Tabela 45 – Média dos parâmetros do Índice de Qualidade da Água para cada ponto de coleta, considerando as duas campanhas de coletas realizadas.....	Página 107
Tabela 46 – Classificação da qualidade da água para o estado de Minas Gerais....	Página 107
Tabela 47 – Concentrações dos analitos através da detecção por HPLC-FLU utilizando a média dos resultados.....	Página 108
Tabela 48 – Excreção diária (μg) per capita de estrogênios por humanos.....	Página 109
Tabela 49 – Parâmetros físico-químicos (oxigênio dissolvido, temperatura, pH e condutividade) para as soluções testes no início do teste e após 48 h.....	Página 119
Tabela 50 – Resultados de imobilidade dos organismos testes em 24 e 48 horas de exposição com o estriol e sua degradação por reação utilizando semicondutor TiO_2 radiação UV.....	Página 120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS – Ácido acetilsalicílico

AL – Alagoas

BA – Bahia

BPA – Bisfenol A

CBH – Sapucaí – Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio Sapucaí

CE – Ceará

CE₅₀ – Dose efetiva em que uma quantidade de substância, em determinadas condições, produz efeito na metade dos organismos teste

CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do estado de São Paulo

CL₅₀ – Dose letal calculada (mg/Kg) de um agente necessária para matar 50% dos organismos vivos de uma população

CNRH – Conselho Nacional de Recursos Hídricos

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

COPASA – Companhia de Saneamento do Estado de São Paulo

DAD – Arranjo de diodos

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DDT – Diclorodifeniltricloroetano

DF – Distrito Federal

DQO – Demanda Química de Oxigênio

E1 – Estrona

E2 – 17-β-estradiol

E3 – Estriol

EE2 – 17-α-etinilestradiol

ES – Espírito Santo

ETA – Estações de Tratamento de Água

ETE – Estações de Tratamento de Efluentes

FLU – Fluorometria

GC – Cromatografia gasosa

GO – Goiás

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IE – Interferentes endócrinos

IQA – Índice de Qualidade da Água

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

MG – Minas Gerais

MS – Mato Grosso do Sul

MS – Espectrometria de massas

MT – Mato Grosso

OD – Oxigênio dissolvido

OMS – Organização Mundial da Saúde ou WHO – World Health Organization

PB – Paraíba

PCB – Bifenilpoliclorado

PE – Pernambuco

pH – Potencial hidrogeniônico

POA – Processo oxidativo avançado

PR – Paraná

Redox – reações de oxirredução

RJ – Rio de Janeiro

RN – Rio Grande do Norte

RNA – Ácido ribonucleico

RS – Rio Grande do Sul

SABESP – Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo

SP – São Paulo

SPE – Extração por fase sólida

ST – Sólidos totais

STF – Sólidos totais fixos

STV – Sólidos totais voláteis

T3 – Triiodotironina

T4 – tiroxina

TOC – Composto orgânico total

UNESCO – Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura

UV – ultravioleta

UV-vis – Ultravioleta visível

SUMÁRIO

1. Introdução.....	Página 20
2. Objetivos.....	Página 23
2.1. Objetivo geral.....	Página 23
2.2. Objetivos específicos.....	Página 23
3. Justificativa.....	Página 24
4. Fundamentação teórica.....	Página 25
4.1. Índice de Qualidade da Água (IQA)	Página 25
4.2. Saneamento ambiental.....	Página 28
4.3. Sistema endócrino.....	Página 31
4.4. Interferentes endócrinos – contaminantes emergentes.....	Página 34
4.5. Mecanismo de ação dos interferentes endócrinos.....	Página 37
4.6. Compostos classificados como interferentes endócrinos.....	Página 40
4.7. 17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, estriol e estrona.....	Página 43
4.8. Procedimento analítico para concentração dos interferentes endócrinos – extração por fase sólida.....	Página 46
4.9. Procedimento analítico para determinação dos interferentes endócrinos – cromatografia líquida de alta eficiência.....	Página 48
4.10. Processos Oxidativos Avançados.....	Página 50
4.11. Testes ecotoxicológicos.....	Página 55
5. Metodologia.....	Página 59
5.1. A região de estudo – Itajubá (MG)	Página 59
5.2. A bacia hidrográfica.....	Página 60
5.3. Rio Sapucaí.....	Página 62
5.4. Locais de coleta das amostras.....	Página 63
5.5. Reagentes e soluções.....	Página 65
5.6. Otimização e validação do método cromatográfico para detecção das substâncias 17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, estriol e estrona.....	Página 66
5.7. Otimização da extração em fase sólida (SPE).....	Página 69
5.8. Análise do Índice de Qualidade da Água.....	Página 71
5.8.1. Análise de oxigênio dissolvido e temperatura.....	Página 71

5.8.2. Análise de potencial hidrogeniônico – pH.....	Página 71
5.8.3. Análise de coliformes termotolerantes.....	Página 71
5.8.4. Análise de turbidez.....	Página 72
5.8.5. Análise de Demanda Química de Oxigênio – DQO.....	Página 73
5.8.6. Análise de Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO.....	Página 74
5.8.7. Análise de fósforo total.....	Página 75
5.8.8. Análise de nitrogênio total – método de Kjeldahl.....	Página 76
5.8.9. Análise de resíduos ou sólidos totais.....	Página 76
5.9. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à DAD e FLU das amostras coletadas de água do Rio Sapucaí e para abastecimento público.....	Página 78
5.10. Degradação por Processos Oxidativos Avançados.....	Página 78
5.10.1. Estudo da degradação por reação de Fenton.....	Página 78
5.10.2. Estudo da degradação por reação de foto-Fenton.....	Página 80
5.10.3. Estudo da degradação empregando TiO ₂ /UV.....	Página 82
5.11. Avaliação da degradação por Processos Oxidativos Avançados em HPLC	Página 83
5.12. Avaliação TOC das degradações do interferente detectado em maior concentração.....	Página 85
5.13. Teste ecotoxicológico para determinação da dose letal do interferente detectado em maior concentração.....	Página 85
6. Resultados e discussões.....	Página 87
6.1. Otimização e validação do método cromatográfico.....	Página 87
6.2. Otimização da extração em fase sólida (SPE).....	Página 95
6.3. Índice de Qualidade da Água.....	Página 96
6.3.1. Análise de oxigênio dissolvido e temperatura.....	Página 96
6.3.2. Análise de potencial hidrogeniônico – pH.....	Página 98
6.3.3. Análise de coliformes termotolerantes.....	Página 98
6.3.4. Análise de turbidez.....	Página 99
6.3.5. Análise de Demanda Química de Oxigênio – DQO.....	Página 101
6.3.6. Análise de Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO.....	Página 102
6.3.7. Análise de fósforo total.....	Página 103
6.3.8. Análise de nitrogênio total – método de Kjeldahl.....	Página 105
6.3.9. Análise de resíduos ou sólidos totais.....	Página 106

6.3.10. Análise do Índice de Qualidade da Água.....	Página 106
6.4. Determinação da concentração dos interferentes endócrinos.....	Página 108
6.5. Degradação por Processos Oxidativos Avançados.....	Página 110
6.5.1. Estudo da degradação do estriol por reação de Fenton.....	Página 110
6.5.2. Estudo da degradação do estriol por reação de foto-Fenton.....	Página 112
6.5.3. Estudo da degradação do estriol por TiO ₂ /UV.....	Página 113
6.5.4. Estudo da degradação do estriol por POAs.....	Página 115
6.6. Avaliação de TOC.....	Página 115
6.7. Teste ecotoxicológico.....	Página 117
7. Conclusões.....	Página 122
8. Considerações finais.....	Página 124
9. Referências.....	Página 125

1. Introdução

Em 1965, o Índice de Qualidade da Água (IQA) foi criado pelo alemão R. Horton, sendo este uma das primeiras ferramentas importantes utilizadas para mensurar a poluição ambiental e aumentar a informação pública (VERÍSSIMO; FERREIRA, 2013). A criação deste índice serviu para elaboração e aprimoramento de outros índices (HARKINS, 1974) até serem selecionados, pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, os parâmetros considerados mais importantes para avaliação da qualidade da água, sugerindo, então, em 1975 o Índice de Qualidade da Água (IQA), cada vez mais difundido no Brasil, e contando com nove parâmetros, dentre os quais estão: oxigênio dissolvido, temperatura, nitrogênio total, fósforo total, coliformes termotolerantes, pH, turbidez e sólidos totais, cada qual com seus respectivos pesos e curvas de qualidade (SÃO PAULO, 2008).

Por fim, os valores de IQA são calculados por meio do produto ponderado dos valores de qualidade da água para cada parâmetro considerando os pesos, conforme Tabela 1, e dispostos em categorias que variam com os estados brasileiros, conforme Tabela 2 (SÃO PAULO, 2008).

Tabela 1 – Parâmetros utilizados no Índice de Qualidade da Água (IQA) e respectivos pesos.

Parâmetro de qualidade da água	Peso
Oxigênio dissolvido – OD	0,17
Coliformes termotolerantes	0,15
Potencial hidrogeniônico - pH	0,12
Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO _{5,20}	0,10
Temperatura da água	0,10
Nitrogênio total	0,10
Fósforo total	0,10
Turbidez	0,08
Resíduo total	0,08

Fonte: BRASIL, 2004.

Tabela 2 – Classificação da qualidade da água nos diferentes estados brasileiros.

Faixas de IQA utilizadas nos seguintes Estados: AL, MG, MT, PR, RJ, RN, RS	Faixas de IQA utilizadas nos seguintes estados: BA, CE, ES, GO, MS, PB, PE, SP	Avaliação da Qualidade da Água
91-100	80-100	Ótima
71-90	52-79	Boa
51-70	37-51	Razoável
26-50	20-36	Ruim
0-25	0-19	Péssima

Fonte: BRASIL, 2004.

A água é o recurso natural de maior importância para manutenção da vida, sendo assim, os estudos correlacionados à qualidade da água e presença de substâncias que podem alterar a qualidade de vida na mesma, ou dependente dela, são frequentemente abordados. Atualmente tem-se tomado grande proporção a investigação sobre substâncias que em pequenas concentrações, da ordem de ng.L^{-1} , são capazes de alterar o sistema endócrino dos seres vivos, inclusive dos seres humanos, afetando a saúde, o crescimento e a reprodução dos mesmos (VERBINNEN; NUNES; VIEIRA, 2010. FRISCHE et al., 2013. NASSOURI; ARCHAMBEAUD; DESAILLOUD, 2012).

Substâncias que possuem essa propriedade, chamados de interferentes endócrinos (IE), compreendem um diverso grupo de substâncias químicas incluindo substâncias sintéticas como alquifenóis, pesticidas, ftalatos, policlorados de bifenilas (PCD), substâncias farmacêuticas, entre outras, e substâncias naturais como os estrogênios naturais e os fitoestrogênios (BILA; DEZOTTI, 2007). Este grupo tem sido alvo de muitos estudos em química analítica ambiental devido a sua ocorrência em ambientes aquáticos, tais como águas superficiais e subterrâneas, esgotos, efluentes e em águas utilizadas para consumo humano (FEITOSA; SODRÉ; MALDANER, 2013).

Apesar da hipótese de que substâncias químicas presentes no ambiente podem causar uma alteração biológica nos organismos expostos não ser nova, os efeitos causados ao sistema endócrino de animais por substâncias estrogênicas foram primeiramente evidenciados nos anos 1900, despertando cada vez mais o interesse dos cientistas de diversas áreas do conhecimento quanto ao estudo entre as anomalias na saúde animal relacionado à ação dessas substâncias (BILA; DEZOTTI, 2007).

Os estrogênios estrona, 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol estão entre os micropoluentes mais estudados já que são diariamente excretados no esgoto e não são

completamente removidos nas Estações de Tratamento de Efluentes (ETE), sendo encontrados constantemente nas águas superficiais oferecendo risco à saúde (FRISCHE et al., 2013).

Assim, este trabalho tem por objetivo avaliar a qualidade da água através dos índices estabelecidos pelo IQA, propor um método de extração e detecção dos interferentes endócrinos estrona (E1), 17- β -estradiol (E2), estriol (E3) e 17- α -etinilestradiol (EE2) aplicado à água superficial do rio Sapucaí e em água de abastecimento público na cidade de Itajubá (MG), remover o composto encontrado em maior concentração por processos oxidativos avançados, e, após o tratamento realizar estudo ecotoxicológico.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Identificar a presença de interferentes endócrinos (Estrona, 17 β -Estradiol, Estriol, 17 α -Etinilestradiol) nas águas superficiais do Rio Sapucaí (antes do tratamento) e destinadas ao abastecimento público (após tratamento convencional), remover esses compostos para avaliar ecotoxicologicamente os produtos da reação de degradação por POA.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar os locais para coleta das águas superficiais e após tratamento.
- Aplicar metodologia de extração por fase sólida para extração dos interferentes endócrinos pré-definidos.
- Aplicar metodologia de detecção por HPLC-FLU e HPLC-DAD para detecção dos interferentes endócrinos pré-definidos.
- Aplicar metodologia de processos oxidativos avançados (Fenton, foto-Fenton e fotocatalise heterogênea com TiO₂) para destruição do interferente endócrino encontrado em maior concentração.
- Aplicar metodologia de TOC para verificação do decaimento da carga orgânica após destruição do interferente endócrino encontrado em maior concentração.
- Realizar testes ecotoxicológicos do interferente endócrino encontrado em maior concentração, após degradação por POA.

3. Justificativa

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Educação, Ciência e Cultura (2005), a principal tarefa que a comunidade internacional enfrenta no campo dos recursos hídricos é a transformação de obrigações assumidas em ações concretas que devem ser implementadas para benefício das pessoas, dos ecossistemas e da biosfera de maneira geral. Assim, pode-se avaliar que a água retém papel importante para um desenvolvimento sustentável socioeconômico, cultural e ambiental (LUCENA et al., 2013). Neste contexto, os estudos relacionados aos interferentes endócrinos ganhou espaço dentro da comunidade acadêmica.

Os considerados compostos emergentes é um grupo diverso cada vez mais lançados no meio ambiente, expondo tanto a biota quanto os animais, incluindo os seres humanos, dependentes destes recursos (PORTE et al., 2006). Hipóteses sobre os efeitos dos interferentes endócrinos na vida aquática e nos seres humanos existem há algum tempo (LEGAULT et al., 1978; MOL; SUNARTO; STEIJGER, 2000; LAREBEKE et al., 2001). Em 1999, pesquisadores do Centro de Estudos de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, escreveram um artigo questionando sobre a exposição de alguns grupos populacionais brasileiros à ação de interferentes endócrinos, o que já demonstrava preocupação quanto a este fato há duas décadas (MEYER; SARCINELLI; MOREIRA, 1999).

Embora estas hipóteses fossem levantadas, apenas recentemente esta importante questão tem recebido atenção por parte da comunidade científica, principalmente devido ao aumento de publicações que relatam o crescimento de incidências de disfunções no sistema endócrino de seres humanos devido à presença destes micropoluentes, encontrados na ordem de $\mu\text{g.L}^{-1}$ e ng.L^{-1} no meio ambiente (BILA; DEZOTTI, 2007).

A parte mineira da bacia do Rio Sapucaí abrange um total de 40 municípios, possui uma população estimada de 530 mil habitantes e uma área drenada de aproximadamente 9 mil quilômetros quadrados. Neste contexto, um estudo sobre compostos emergentes nas águas do Rio Sapucaí, em Itajubá, torna-se necessário e de extrema importância socioambiental, tendo-se em vista a contribuição científica sobre o monitoramento de micropoluentes emergentes nacionalmente, e seus possíveis efeitos sobre a saúde humana, visando alertar a população em geral; as autoridades sanitárias, e as empresas responsáveis pelo gerenciamento dos recursos hídricos e tratamento da água destinada ao consumo humano, sobre este assunto tão relevante.

4. Fundamentação teórica

4.1. Índice de Qualidade da Água (IQA)

O conceito de qualidade de vida se consolidou, especialmente, a partir da década de 1960, quando passou a ser incluso na avaliação do desenvolvimento do país. Assim, ao final da década de 80, começaram a ser estudados e utilizados indicadores sobre o meio ambiente nos primeiros relatórios ambientais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1946).

Ao analisarmos a qualidade da água, não necessariamente, estamos avaliando o estado de pureza da água, e sim suas características, físico-químicas e biológicas. Assim, o Índice de Qualidade das Águas foi desenvolvido para que, através do emprego de variáveis simples, diretas e interpretáveis, estas se correlacionem com as alterações ocorridas na microbacias, sejam elas antrópicas ou naturais, e possam ser avaliadas objetivamente, sendo possível interpretar as alterações (FERREIRA et al., 2015).

Seguindo este conceito, o Índice de Qualidade das Águas foi desenvolvido, em 1965 pelo alemão R. Horton, sendo uma das primeiras ferramentas importantes utilizadas para redução da poluição ambiental e informação pública (VERÍSSIMO; FERREIRA, 2013). A criação deste índice serviu para a elaboração e aprimoramento de outros índices até que, em 1970, foram selecionados nove parâmetros considerados mais representativos para a caracterização da qualidade das águas, pela *National Sanitation Foundation*, nos Estados Unidos, através de um consenso entre diversos especialistas da área ambiental. Através desta pesquisa, os nove parâmetros definidos foram: oxigênio dissolvido, coliformes termotolerantes, pH, demanda bioquímica de oxigênio, nitrogênio total, fósforo total, variação da temperatura da água, turbidez e sólidos totais. A cada parâmetro foi atribuído um peso, estes variam de acordo com sua importância no que diz respeito à qualidade da água, conforme Tabela 3 (SÃO PAULO, 2008).

Tabela 3 – Parâmetros utilizados no Índice de Qualidade da Água (IQA), respectivos pesos e importância para o sistema.

Parâmetro de qualidade da água	Peso	Importância
Oxigênio dissolvido	0,17	Vital para a preservação da vida aquática. Em baixas concentrações (abaixo de 5mg.L^{-1}), pode significar águas poluídas (consumido na decomposição da matéria orgânica); em altas concentrações (acima de 10mg.L^{-1}), pode significar águas eutrofizadas, Pode ser introduzido na água pela fotossíntese e por processos físicos do sistema.
Coliformes termotolerantes	0,15	São indicadores de poluição por esgotos domésticos. Caso esteja presente em grande número, pode indicar a existência de microrganismos patogênicos.
Potencial hidrogeniônico - pH	0,12	Afeta o metabolismo de várias espécies aquáticas e pode aumentar o efeito de substâncias tóxicas. Deve estar entre 6 e 9, segundo resolução CONAMA 357.
Demanda Bioquímica de Oxigênio - $\text{DBO}_{5,20}$	0,10	Representa a quantidade de oxigênio (consumidos durante 5 dias em temperatura de 20°C) necessária para oxidar a matéria orgânica presente na água através da decomposição microbiana aeróbica. Valores altos deste parâmetro fazem com que haja uma diminuição no valor de oxigênio dissolvido, causando morte de organismos aquáticos.
Temperatura da água	0,10	Além de influenciar parâmetros físico-químicos da água, a variação de temperatura também pode causar impactos sobre o crescimento e reprodução de organismos aquáticos.
Nitrogênio total	0,10	O nitrogênio pode estar na forma de nitrogênio orgânico, amoniacal, nitrito e nitrato. Os nitratos são tóxicos aos seres humanos. Pelo fato dos compostos de nitrogênio serem nutrientes nos processos biológicos, seu lançamento em grandes quantidades, junto com outros nutrientes tais como o fósforo, pode causar crescimento excessivo das algas (eutrofização).
Fósforo total	0,10	Do mesmo modo que o nitrogênio, o fósforo é um importante nutriente para os processos biológicos e seu excesso pode causar a eutrofização das águas.
Turbidez	0,08	Indica o grau de atenuação, devido à absorção e espalhamento causada por sólidos em suspensão, que um feixe de luz sofre ao atravessar a água. Um resultado de alta turbidez faz com que uma quantidade maior de produtos químicos sejam utilizados nas estações de tratamento de águas e afeta a preservação dos organismos aquáticos.
Sólido total	0,08	O resíduo total é a matéria que permanece após a evaporação, secagem ou calcinação da amostra de água durante um determinado tempo e temperatura. Quando os resíduos sólidos se depositam nos leitos dos corpos d'água podem causar seu assoreamento, além disso, podem causar danos à vida aquática, pois, ao se depositarem no leito, eles destroem os organismos que vivem nos sedimentos e servem de alimento para outros organismos e danificam os locais de desova de peixes.

Fonte: BRASIL, 2004.

Além de seu peso, cada parâmetro possui um valor de qualidade, obtido do respectivo gráfico de qualidade em função de sua concentração ou medida, conforme Figura 1 (BRASIL, 2004).

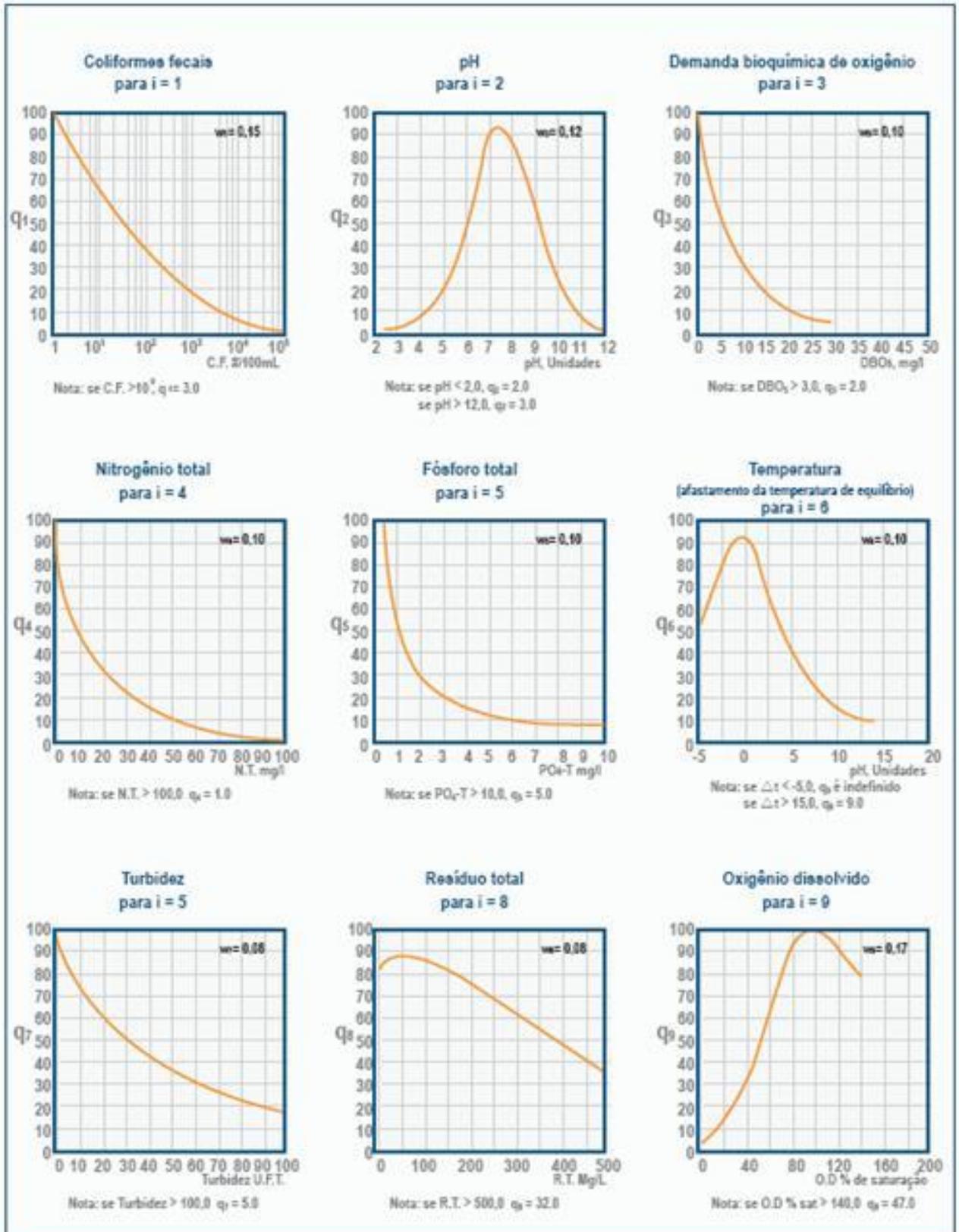


Figura 1 – Curvas médias de variação dos parâmetros de qualidade das águas para o cálculo do Índice de Qualidade da Água.

Fonte: BRASIL, 2004.

Após as definições dos parâmetros, pesos e qualidade de cada produto, o cálculo do Índice de Qualidade das Águas, número que varia de 0 a 100, é realizado por meio do produto ponderado (BRASIL, 2004), segundo a fórmula (1) que se segue:

$$IQA = \prod_{i=1}^n q_i^{w_i} \quad [1]$$

onde:

IQA é o Índice de Qualidade da Água

q_i é a qualidade do i -ésimo parâmetro, obtido através do respectivo gráfico de qualidade em função de sua concentração ou medida. Varia entre 0 e 100

w_i é o peso correspondente ao i -ésimo parâmetro fixado em função da sua importância para a conformação global da qualidade. Varia entre 0 e 1, de forma que (2):

$$\sum_{i=1}^n w_i = 1 \quad [2]$$

sendo n o número de parâmetros que compõe o cálculo do IQA.

A CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do estado de São Paulo) começou a utilizar este Índice de Qualidade da Água a partir de 1975, influenciando a utilização do mesmo por outros estados brasileiros, sendo, atualmente, este o principal índice de qualidade da água utilizado no país. Os valores de IQA são dispostos em categorias que variam com os estados brasileiros (VERÍSSIMO; FERREIRA, 2013).

4.2. Saneamento ambiental

Segundo a Organização Mundial de Saúde (2013), quando exercemos controle sobre os fatores ambientais que podem exercer efeitos nocivos aos indivíduos (poluição do ar, do solo e das águas), considerando seu bem-estar físico, mental e social, existe, então, saneamento.

O serviço de abastecimento de água através de rede geral caracteriza-se, de maneira simples, pela retirada da água bruta da natureza, onde é necessário selecionar uma fonte abastecedora, considerando-se a capacidade de abastecimento da fonte para toda a população e sua localização (topografia e possíveis focos de contaminação); adequação de sua qualidade, transporte e fornecimento à população através de rede geral de distribuição (BRASIL, 2008).

Após ser captada, a água deve passar por tratamento, onde o convencional é composto por oxidação, para retirada de metais, principalmente o ferro e o manganês; sistema de coagulação, onde ocorre a adição de coagulante (sulfato de alumínio ou cloreto férrico) e remoção das partículas sólidas, por meio da floculação e decantação. As impurezas que não foram retiradas no processo de decantação são removidas por filtros e, por fim, a água é clorada e fluoretada (BITTENCOURT; PAULA, 2008). Para a bacia do Rio Sapucaí, a forma de tratamento de água mais aplicada é a convencional, utilizada em 70% da bacia, e a captação é a superficial, na maioria dos casos (MINAS GERAIS, 2010). Após o tratamento, a água é armazenada em reservatórios, e, para chegar às casas, passa pela rede de distribuição até chegar ao local em que a água será utilizada (SÃO PAULO, 2015).

As estações de tratamento de água caracterizam-se por um conjunto de instalações e equipamentos destinados a realizar o tratamento da água bruta. (SÃO PAULO, 2015). A Figura 2 demonstra o esquema de um sistema de tratamento de água, desde a captação até a distribuição da mesma.

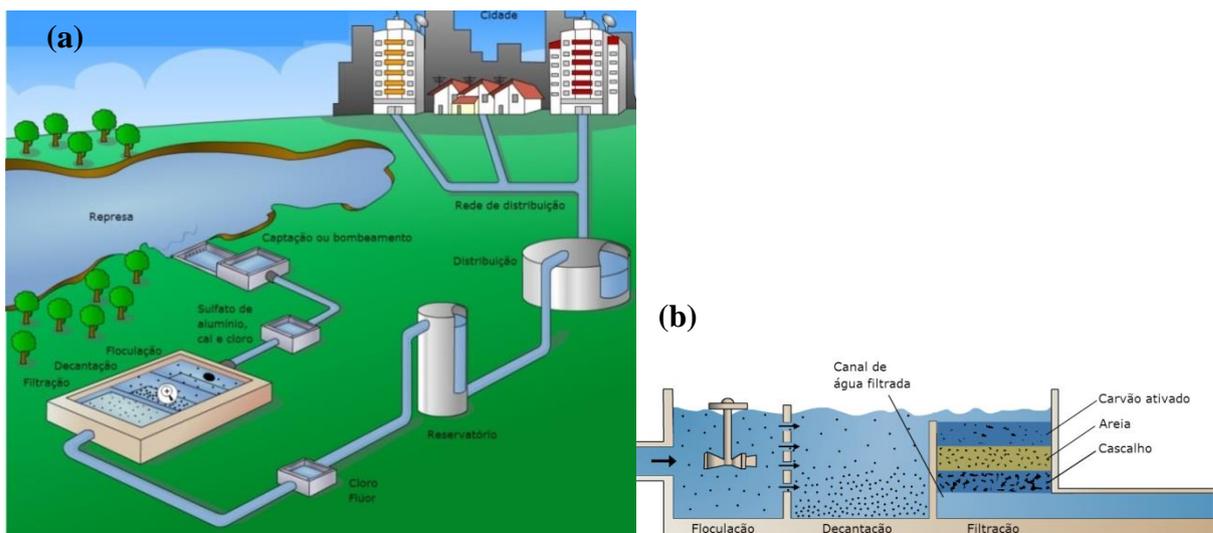


Figura 2 – (a) Esquema de sistema de tratamento de água, desde a captação até a rede de distribuição e (b) etapa de floculação, decantação e filtração.

Fonte: SÃO PAULO, 2015.

Após a utilização da água nos diversos fins ao qual é empregada, esta deve passar por novo tratamento, para que sejam removidas as substâncias indesejáveis ou estas sejam transformadas em formas aceitáveis seguindo a legislação pertinente presente na Portaria 2914 (BRASIL, 2011). A Figura 3 é a representação das etapas do sistema de tratamento de efluentes.

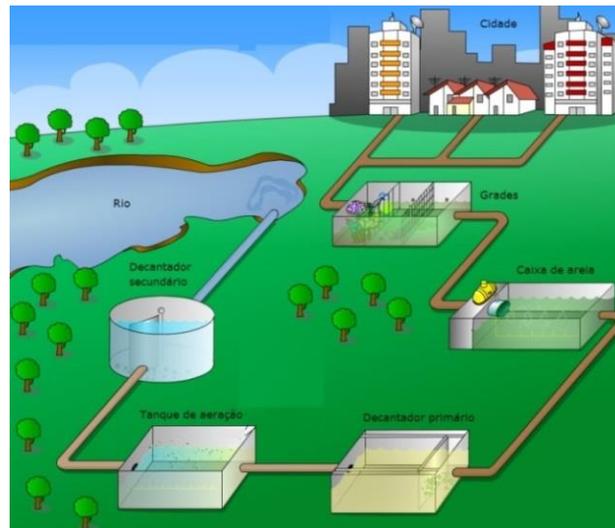


Figura 3 – Esquema de sistema de tratamento de efluente.

Fonte: SÃO PAULO, 2015.

O tratamento dos efluentes é classificado através dos níveis de tratamento. O pré-tratamento é o nível onde são removidos, principalmente, os sólidos maiores (gradeamento), e a areia (desarenação) por meio da sedimentação. O tratamento primário é a etapa em que, em um tanque de equalização, as cargas do efluente são neutralizadas; ocorre à adição de produtos químicos e, por meio de mecanismos físicos, ocorre à remoção de sólidos sedimentáveis, denominado lodo primário, no decantador primário (VON SPERLING, 2005).

No tratamento secundário, predominam os mecanismos biológicos, pois é uma das alternativas mais econômicas, já que permite o tratamento de grandes volumes de efluentes a custos relativamente baixos, e eficientes. Nesta etapa, a remoção da matéria orgânica ocorre através de microrganismos que utilizam a mesma como fonte de crescimento e manutenção, podendo se dar na presença e/ou ausência de oxigênio molecular, denominado tratamento aeróbio e/ou anaeróbio respectivamente, onde, para o primeiro caso, o oxigênio molecular é o elemento que recebe os elétrons e tem-se como subproduto CO_2 e H_2O e, para o segundo caso, algumas formas de carbono, enxofre e nitrogênio recebem os elétrons (FREIRE et al., 2000).

Para o tratamento industrial, as lagoas aeradas e os sistemas de lodos ativados (sistemas aeróbios) são os mais utilizados. Nesses casos, o efluente deve ser mantido em condições controladas e é necessária uma área extensa para implementação e funcionamento (FREIRE et al., 2000).

A degradação sob condições anaeróbias tem sido muito estudada nos últimos anos já que há um grande número de bactérias que, nessas condições, são capazes de transformar um grande número de compostos tóxicos em espécies menos tóxicas e degradáveis (FREIRE et al., 2000). Para este tipo de tratamento, os sistemas mais utilizados são os reatores de altas taxas, como os reatores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), onde há a conversão de parte da matéria orgânica em gás carbônico e metano, sendo muitas vezes, o gás metano queimado. O uso desse sistema tem como grande vantagem a minimização da produção de lodo (PONTES, 2003).

Porém, além da falta de sistema de tratamento de efluentes em todos os municípios brasileiros, sendo que, em 2013, 82,5% da população brasileira, ou seja, aproximadamente 35 milhões de pessoas, não possuíam acesso a este serviço (BRASIL, 2013), os tratamentos acima citados (tanto de águas quanto de efluentes), utilizados no sistema de saneamento brasileiro, não eliminam os micropoluentes que estão cada vez mais emergindo nas águas (AHERNE; ENGLISH; MARKS, 1985; BUSER; PIGER; MÜLLER, 1998; ANDREOZZI; RAFFAELE; MICKLAS, 2003; BILA; DEZOTTI, 2007).

4.3. Sistema endócrino

O corpo humano é formado por células, tecidos, órgãos e sistemas. São onze sistemas que gerenciam nossas funções, sendo eles: reprodutor, digestivo, respiratório, circulatório, linfático, excretor, sensorial, nervoso, esquelético, muscular e endócrino; cada um envolvendo órgãos que atuam para a realização das funções vitais do organismo (TORTORA; DERRICKSON, 2012).

O sistema endócrino (Figura 4) é um dos sistemas mais complexos, constituído por um conjunto de glândulas e tecidos localizadas em diferentes áreas do corpo; estas sintetizam substâncias químicas responsáveis pela maioria das funções biológicas (STARLING; ZORZI, 2010).

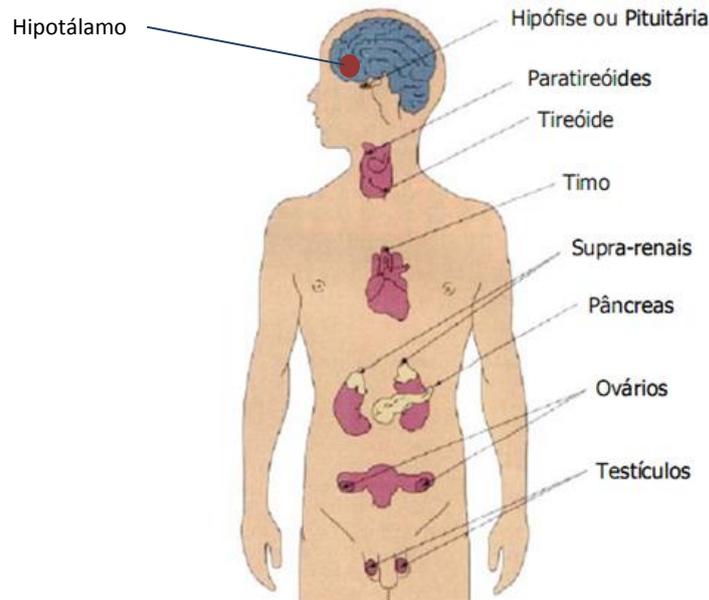


Figura 4 – Sistema endócrino.

Fonte: GHISELLI; JARDIM, 2007, modificada.

As substâncias sintetizadas são chamadas hormônios, que atuam como mensageiros e comandam as funções. As glândulas que sintetizam os hormônios são chamadas glândulas endócrinas e seus produtos sintetizados, os hormônios, são transportados pela corrente sanguínea no estado livre ou ligados a proteínas, desempenhando papel fundamental no crescimento e desenvolvimento, na reprodução e na diferenciação sexual, na formação dos sistemas imunológico e nervoso e na regulação de vários órgãos, atuando, inclusive, no comportamento de indivíduos e agindo em locais específicos, regulando ou alterando determinados órgãos ou funções, e criando um modo de comunicação entre diferentes partes do corpo (AMABIS; MARTHO, 1997).

Assim, os hormônios são responsáveis pela manutenção da homeostase, isto é, do equilíbrio e perfeito funcionamento do organismo. Algumas das glândulas mais importantes do corpo bem como os hormônios e ações que exercem sob o mesmo estão sintetizadas na Tabela 4 (TORTORA; DERRICKSON, 2012).

Tabela 4 – Principais glândulas do sistema endócrino.

Glândula	Hormônio sintetizado e ação
Hipófise ou pituitária	Encontra-se na base do encéfalo e possui tamanho pequeno. (comparado a um grão de ervilha). Possui dois lobos, denominados adeno-hipófise (anterior) e neuro-hipófise (posterior). Exerce efeito sobre os órgãos não endócrinos e alguns hormônios produzidos são chamados tróficos, ou seja, atuam comandando as secreções de outros hormônios em outras glândulas endócrinas.
Hipotálamo	Localiza-se acima da hipófise e exerce controle sobre ela através de conexões neurais e de fatores desencadeadores, estimulando-a, por exemplo, a liberar hormônios gonadotróficos que desencadeiam hormônios gonadais, atingindo os ovários, na mulher, e os testículos, no homem.
Tireoide	Encontra-se no pescoço e excreta hormônios cujas funções são importantes ao crescimento e desenvolvimento, como, por exemplo, a triiodotironina (T3) e a tiroxina (T4), que aumentam a velocidade dos processos de oxidação e de liberação de energia e estimulam a produção de RNA e a síntese de proteínas; e a calcitonina, que participa do controle da concentração sanguínea de cálcio.
Paratireoide	Pequenas glândulas localizadas na região posterior à tireoide que secreta o paratormônio, o que faz com que a concentração de cálcio no sangue aumente devido aos estímulos para remoção de cálcio dos ossos; aumento de absorção de cálcio dos alimentos pelo intestino; e da reabsorção de cálcio pelos túbulos renais.
Adrenais ou suprarrenais	Duas glândulas localizadas sobre os rins, denominadas medula e córtex. Por serem glândulas independentes, também secretam hormônios distintos de forma independente.
Pâncreas	Glândula mista, apresentando regiões endócrinas, como as ilhotas de Langerhans, que secretam os hormônios (insulina e glucagon) que atuam no metabolismo da glicose; e exócrinas ao mesmo tempo.
Ovário	Órgão reprodutor feminino, que influencia no crescimento e desenvolvimento. É responsável pela produção dos hormônios sexuais que regulam a ovulação e a menstruação e garantem a manutenção da gravidez através do desenvolvimento do embrião e das mudanças nas glândulas mamárias da mulher.
Testículo	Órgão reprodutor masculino, que influencia no crescimento e desenvolvimento. É responsável pela produção dos espermatozoides e androgênios.

Fonte: GHISELLI; JARDIM, 2007, modificada.

Os estudos ecotoxicológicos atuais, relacionados aos compostos emergentes, mostram que os sistemas reprodutivos masculinos e femininos são os mais afetados por estes interferentes. Ainda de acordo com os estudos, tem-se que os estrógenos são os mais encontrados em abastecimento de água, o que causa grande preocupação, já que isso pode afetar grandemente o desenvolvimento e manutenção da reprodução e fertilidade nos indivíduos (GHISELLI; JARDIM, 2007).

4.4. Interferentes endócrinos - contaminantes emergentes

A hipótese de que substâncias químicas poderiam causar alterações no funcionamento do sistema endócrino não é nova, tendo relatos desde o início do século XX (BILA; DEZOTTI, 2007), porém apenas recentemente esta questão emergiu com maior interesse por parte da comunidade científica devido as crescentes publicações acerca dos efeitos destes micropoluentes nos seres humanos e, mais significativamente, em espécies animais, onde a relação causa/efeito é mais evidente, por isso, são também chamados de contaminantes emergentes, já que, estes compostos não eram considerados ou detectados no meio ambiente e, atualmente, são amplamente encontrados em matrizes aquáticas, no solo ou no ar, o que causa preocupação por estarem correlacionados a efeitos adversos a biota, mesmo presentes em baixas concentrações (GHISELLI; JARDIM, 2007).

Os considerados compostos emergentes são um grupo estruturalmente diverso de compostos (PORTE et al., 2006), podendo ser de origem antrópica ou de origem natural (FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006). Assim, substâncias químicas diversas, com potencial para atuarem como interferentes endócrinos são frequentemente lançadas no ambiente aquático através das atividades industriais, práticas agrícolas, utilização pela população em geral, entre outras, prejudicando a biota e o equilíbrio ambiental (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013).

Ao serem lançados nos corpos de água, estes compostos podem seguir por rotas distintas, sofrendo transformações químicas, interagindo com materiais particulados, sedimentos ou com a biota, podendo precipitar e se acumular na gordura animal. Por muitos dos interferentes endócrinos serem persistentes, lipofílicos, bioacumulativos e possuírem baixa pressão de vapor, tem-se uma facilidade quanto à dispersão e difusão no meio ambiente (BILA; DEZOTTI, 2007) e, mesmo em concentrações pequenas, são inseridas diariamente nos corpos de água, proporcionando condições crônicas (FILHO; ARAÚJO; VIERIA, 2006).

Um dos campos mais proeminentes da química ambiental é o estudo de micropoluentes, estes podem ser definidos como poluentes presentes no meio ambiente em concentrações extremamente baixas, da ordem de $\mu\text{g.L}^{-1}$ e ng.L^{-1} , que desencadeiam efeitos sobre os sistemas que são introduzidos (BILA; DEZOTTI, 2007; FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006), adentrando a este contexto os chamados interferentes endócrinos.

Em 1996, a primeira definição mais precisa, foi proposta pela Comunidade Europeia, durante a Conferência de Weybridge, porém, em 1997, a agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (*Environmental Protection Agency* – USEPA), através do seu comitê consultivo, propôs uma definição mais detalhada, considerando também a diversidade dos mecanismos envolvidos nas alterações do sistema endócrino. Muitas definições são propostas para os chamados interferentes endócrinos, porém, todas convergem para um ponto: trata-se de uma substância química, que mesmo em concentrações extremamente baixas, é capaz de interferir no funcionamento natural do sistema endócrino de espécies animais, causando efeitos adversos (GHISELLI; JARDIM, 2007; VERBINNEN; NUNES; VIEIRA, 2010).

Assim, como são lançados continuamente e diariamente nos esgotos e, por não serem removidos nos tratamentos convencionais, estes contaminantes atingem o sistema aquático e podem ser encontrados nas águas superficiais, que são captadas nos tratamentos de água e utilizadas como fonte de água potável (ZHANG; GEIBEN; GAL, 2008). É possível verificar que, atualmente, o Brasil apresenta altos valores destes compostos, considerados interferentes endócrinos, em suas águas superficiais, conforme trabalhos sobre este tema expostos na Tabela 5.

Tabela 5 – Levantamento dos estudos relatando as concentrações de interferentes endócrinos em águas superficiais no Brasil.

Local de estudo	Interferente estudado	Maior concentração do interferente encontrada no estudo	Referência
Bacia do Rio Atibaia (6 amostras ao longo do rio Atibaia, 1 no Rio Anhumas e 1 no Rio Pinheiros).	Acetoaminofenol	280 ng.L ⁻¹	MONTAGNER; JARDIM, 2011.
	Ácido salicílico	828 ng.L ⁻¹	
	Diclofenaco	106 ng.L ⁻¹	
	Ibuprofeno	< 51 ng.L ⁻¹	
	Cafeína	25,775 ng.L ⁻¹ /	
	17β-estradiol	523 ng.L ⁻¹	
	Estrona	< 16 ng.L ⁻¹	
	Progesterona	195 ng.L ⁻¹	
	17α-etinilestradiol	981 ng.L ⁻¹	
	Levonorgestrel	663 ng.L ⁻¹	
	Dietilftalato	< 33 ng.L ⁻¹	
	Dibutilftalato	6,425 ng.L ⁻¹	
	4-octilfenol	< 21 ng.L ⁻¹	
	4-nonilfenol	< 18 ng.L ⁻¹	
Bisfenol A	520 ng.L ⁻¹		
Campinas, SP (6 pontos de coleta em diferentes campanhas amostrais)	Paracetamol	0,84 µg.L ⁻¹	SODRÉ et al., 2007.
	Cafeína	15,50 µg.L ⁻¹	
	AAS	4,15 µg.L ⁻¹	
	Estrona	Nd	
	Dietilftalato	Nd	
	Levonorgestrel	Nd	
	Diclofenaco	Nd	
	Ibuprofeno	Nd	
	Progesterona	Nd	
	Di-n-butilftalato	6,59 µg.L ⁻¹	
	4-octilfenol	Nd	
	4-nonilfenol	Nd	
	Bisfenol A	1,76 µg.L ⁻¹	
17β-estradiol	2,51 µg.L ⁻¹		
17α-etinilestradiol	0,31 µg.L ⁻¹		
Córrego Rico – Jaboticabal, SP	7β-estradiol	18 ng.L ⁻¹	LOPES et al., 2010.
	Estrona	400 ng.L ⁻¹	

Fonte: Autora, 2015.

Já existem evidências dos danos causados à fauna aquática por estes interferentes, porém, ainda não se sabe que tipo de problema a exposição crônica a esses contaminantes pode causar aos seres humanos (MONTAGNER; JARDIM, 2011). Assim, é necessário que essa variedade de substâncias que atualmente não são cobertas por regulamentos existentes sobre a água, mas que são consideradas ameaças potenciais no meio ambiente, aos ecossistemas e a saúde humana, sejam estudadas desde a fonte geradora, rota e os receptores finais para que possam ser tomadas medidas cabíveis relacionadas ao tratamento das águas que são utilizadas (MONTAGNER; JARDIM, 2011).

4.5. Mecanismo de ação dos interferentes endócrinos

As células possuem a capacidade de receber e reagir a sinais vindos de diversas partes do corpo, o que faz com que exista manutenção da vida. Estes sinais podem agir na mesma célula produzida, sendo chamados autócrinos; podem, também, agir em um local próximo, sendo chamados parácrinos; ou podem ainda ser transportados através da corrente sanguínea até uma célula-alvo, sendo chamados, então, de endócrinos. Porém, em qualquer um dos casos, para que ocorra a resposta celular deste sinal, o mesmo deve ser detectado por um receptor específico (NELSON; COX, 2002).

As traduções de sinais são específicas e sensíveis. Essa característica é alcançada graças à complementaridade entre o sinal emitido e a molécula receptora, ligação que ocorre através de forças não covalentes. Para os organismos multicelulares, existem tipos celulares específicos para a recepção dos sinais, o que os tornam mais desenvolvidos quanto a especificidade (NELSON; COX, 2002).

Existem fatores responsáveis pela sensibilidade da transdução dos sinais, como a alta afinidade dos receptores para as moléculas do sinal, ligando-se aos mesmos mesmo a baixas concentrações (da ordem de 10^{-10} mg.L⁻¹), denominada como especificidade e demonstrada através da Figura 5; a cooperação entre o ligante e o receptor; o efeito denominado “cascata” que amplia o sinal pelas enzimas, através da recepção do sinal e ativação das moléculas de uma segunda enzima que continua o ciclo, ampliando o sinal em várias ordens de grandeza em um tempo curto (milissegundos), demonstrado na Figura 6; e, por fim, a capacidade da célula-alvo de receber diversos sinais e produzir uma única resposta, de acordo com as necessidades do organismo, chamada de integração de sinais, efeito demonstrado na Figura 7 (NELSON; COX, 2002).

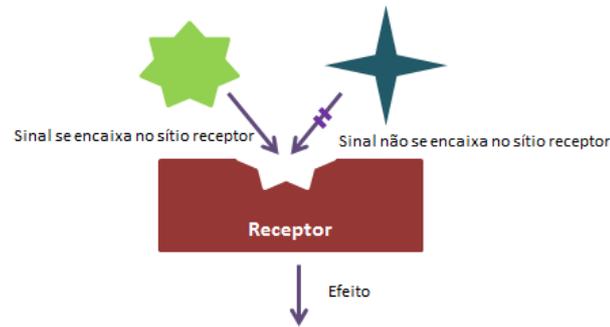


Figura 5 – Especificidade, a molécula sinal se encaixa no sítio de ligação do seu receptor complementar; outros sinais não se encaixam.

Fonte: NELSON; COX, 2002, modificada.

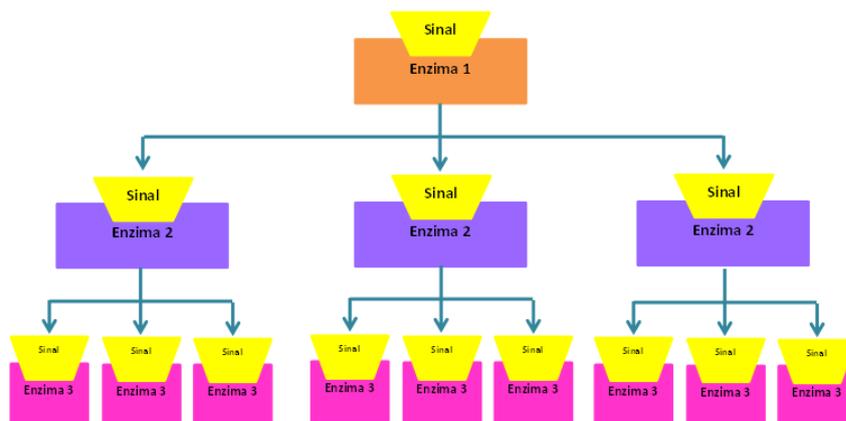


Figura 6 – Ampliação, quando enzimas ativam enzimas, o número de moléculas envolvidas aumenta geometricamente em uma cascata enzimática.

Fonte: NELSON; COX, 2002, modificada.

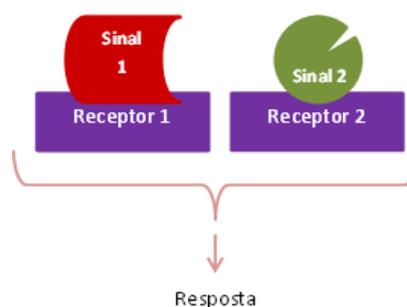


Figura 7 – Integração, quando dois sinais possuem efeito sobre as moléculas, resultando em uma única resposta.

Fonte: NELSON; COX, 2002, modificada.

Portanto, a ação hormonal inicia-se através da sua ligação, mesmo a pequenas concentrações, a um receptor específico, no interior de uma célula, resultado em uma resposta àquele estímulo, esta ação pode ser verificada através da Figura 8 (GHISELLI; JARDIM, 2007).

A ação dos interferentes endócrinos pode ocorrer nos receptores dessas células, modificando sua resposta natural (Figura 9a); estes compostos podem atuar imitando a ação do hormônio, ou seja, se ligando ao receptor hormonal e produzindo uma resposta, atuando como mimetizador e, sendo este efeito, chamado agonista (Figura 9b); podem estimular um receptor com menor potencial que o original, gerando o efeito agonista parcial; e também é possível que exista a ligação entre o composto interferente e o receptor, mas não haja resposta, ocorrendo um bloqueio do receptor para a ação do hormônio, sendo este efeito chamado antagonista (Figura 14c) (GHISELLI; JARDIM, 2007).

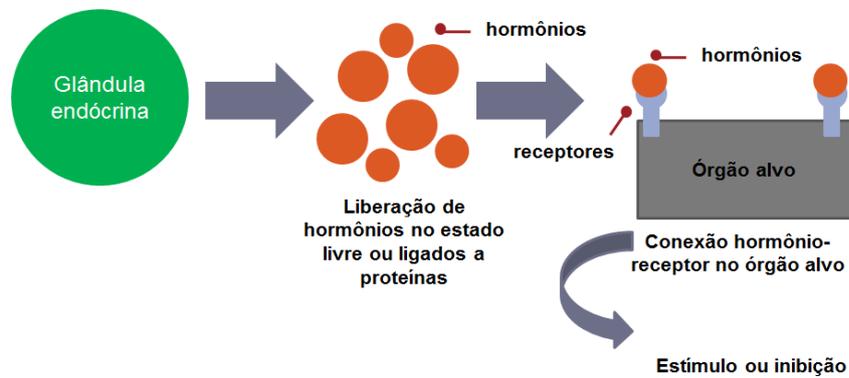


Figura 8 – Mecanismo de funcionamento do sistema endócrino.

Fonte: Autora, 2015.

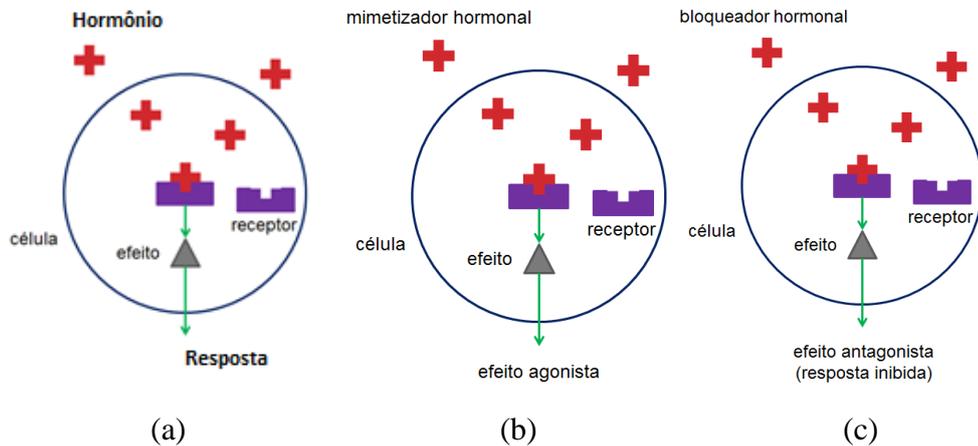


Figura 9 – Disfunções endócrinas: (a) Resposta natural, (b) Efeito agonista, (c) Efeito antagonista.

Fonte: GHISELLI; JARDIM, 2007.

4.6. Compostos classificados como interferentes endócrinos

Os interferentes endócrinos podem ser classificados como substâncias orgânicas ou inorgânicas, ou a mistura dessas substâncias, que altera uma ou mais funções do sistema endócrino, causando efeitos não naturais à saúde do indivíduo (VERBINNEN; NUNES; VIEIRA, 2010); tais substâncias com propriedades interferentes estão presentes em diversas situações do cotidiano da sociedade moderna, nas áreas urbanas ou rurais, podendo ser gerados, inclusive, como resíduos ou subprodutos industriais (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013).

A classificação para os compostos interferentes endócrinos segue diversas linhas, sendo que muitos destes compostos são classificados também como potencialmente tóxicos, entretanto, podemos distribuí-los em duas classes: os hormônios naturais, que estão presentes no corpo humano, animais e plantas (fitoestrogênios) e as substâncias sintéticas ou fabricadas pelo homem (antrópica), estas são utilizadas nas mais diversas finalidades, como fármacos, aditivos, produtos agrícolas, entre outros, são incluídos nesta categoria os xenoestrógenos, substâncias produzidas para utilização industrial, na agricultura e para os bens de consumo (COSTA, 2009).

Os interferentes endócrinos mais comuns são os pesticidas e os esteroides sexuais, devido a sua alta utilização e, conseqüentemente, alta incidência na natureza. Os esteroides compreendem um grande grupo de compostos, como os hormônios, e podem ser divididos em basicamente três grupos, de acordo com suas funções: esteroides hormonais; colesterol e derivados; e fitoesteróides, conforme Tabela 6 (GHISELLI; JARDIM, 2007).

Tabela 6 – Interferentes endócrinos – esteroides hormonais, colesterol e derivados e fitoesteróides.

Classificação	Características
Androgênios	Possui 19 átomos de carbono em sua cadeia cíclica (C ₁₉) e a testosterona é uma das substâncias mais conhecida desse grupo
Esteróides hormonais	São responsáveis pelo desenvolvimento e reprodução dos animais, incluindo os humanos e, por isso, são comumente utilizados como contraceptivos, remédios para os sintomas da menopausa, distúrbios fisiológicos e para o tratamento de câncer de próstata e mama.
Estrogênios	
Colesterol	Principal esteroide de origem animal e precursor dos hormônios sexuais.
Fitoestrogênios	São produzidos pelas plantas com a função de constituírem as membranas celulares, auxiliar no crescimento e como controle de pragas (antioxidantes, fungicidas, herbicidas). Assemelham-se ao colesterol.

Fonte: SODRÉ et al., 2007.

Genericamente, os interferentes endócrinos podem ser classificados em agonistas ou antagonistas, dependendo de sua ação biológica, ou ainda por sua classe de composto, conforme Tabela 7.

Tabela 7 – Interferentes endócrinos – classificação e características.

Classe de composto	Exemplo	Características
Plastificantes	Bisfenol A	Substância adicionada a um material para aumentar algumas das características do mesmo, como a flexibilidade, resistência e maleabilidade.
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	Naftaleno	Possuem dois ou mais anéis aromáticos em sua estrutura, podendo ser formados através da poluição causada pelo homem.
Bifenilas policloradas	Alocoloro 124	Possuem em sua estrutura átomos de cloro. São lançadas no meio ambiente através da poluição causada pelo homem, sendo extremamente tóxicas e estáveis à temperatura e pressão elevadas. Por suas propriedades de não inflamabilidade e alta resistência elétrica, possuem um grande número de aplicações.
Retardantes de chama bromados	Tetrabromobisfenol A	São substâncias utilizadas em diferentes materiais a fim de minimizar o risco de incêndio ou os danos causados por ele.
Pesticidas	Diclorodifeniltricloroetano (DDT)	Grupo diversificado de interferentes endócrinos e o mais utilizado. São empregados na agricultura e pecuária para evitar os agentes patogênicos que apresentem efeitos nocivos a plantas e animais.
Estrogênios naturais e sintéticos	17- β -estradiol	São lipossolúveis e originam-se a partir do colesterol, podendo ser naturais, como os hormônios, ou sintéticos, na forma de fármacos que possuem em sua estrutura esteroides produzidos artificialmente e são empregados como contraceptivos e para reposição hormonal.

Fonte: SODRÉ et al., 2007.

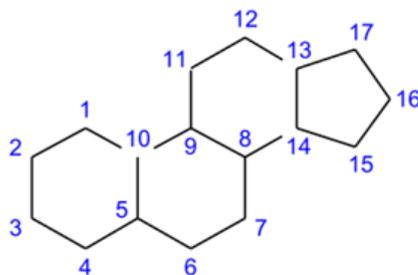
Dentre essas classes, alguns interferentes endócrinos mais estudados e seus efeitos podem ser entendidos conforme Tabela 8.

Tabela 8 – Exemplos de interferentes endócrinos e seus efeitos.

Interferente endócrino	Efeitos	Fonte
Atrazina	Redução na qualidade do esperma.	SWAN et al., 2003.
Bifenilos Policlorados (PCBs)	Hiperpigmentação, problemas oculares, elevação do índice de mortalidade por câncer no fígado e vesícula biliar. Doença isquêmica do coração, conjuntivite, aumento nos casos de câncer. Endometriose.	PENTEADO; VAZ, 2001. LAREBEKE et al., 2001. SANTAMARTA, 2001.
Bisfenol A	Substitui a recepção do estrogênio, diminui a ovulação e aumenta a secreção da prolactina.	WOZNIAK; BULAYEVA; WATSON, 2005.
Bifenilos Polibrominados	Desenvolvimento pubertário precoce.	CASTRO-CORREIA; FONTOURA, 2015.
Bisfenol A (BPA)	Manifestações clínicas da síndrome do ovário poliquístico, adrenaquia tardia e diminuição dos níveis de testosterona na puberdade.	CASTRO-CORREIA; FONTOURA, 2015.
Dietilestilbestrol	Câncer de mama.	CASTRO-CORREIA; FONTOURA, 2015.
Diazinon	Redução na qualidade do esperma.	SWAN et al., 2003.
Dioxinas	Desenvolvimento pubertário precoce nos descendentes de animais expostos a substância.	CASTRO-CORREIA; FONTOURA, 2015.
Genisteína	Desenvolvimento pubertário precoce nos descendentes de animais expostos a substância.	CASTRO-CORREIA; FONTOURA, 2015.
Metilbrometo	Câncer de próstata.	CASTRO-CORREIA; FONTOURA, 2015.
Metoxicloro	Desenvolvimento pubertário precoce nos descendentes de animais expostos a substância.	CASTRO-CORREIA; FONTOURA, 2015.

Fonte: Autora, 2015.

Os hormônios esteroidais são formados por 17 átomos de carbono distribuídos em quatro anéis ligados entre si. Sua estrutura básica está demonstrada na Figura 10. Nos seres humanos, a molécula de colesterol é a precursora de todos os hormônios esteroidais (DALLEGRAVE, 2012).

**Figura 10** – Estrutura básica de um esteróide.

Fonte: DALLEGRAVE, 2012.

Entre os interferentes endócrinos, os esteroides hormonais vêm recebendo maior atenção por se tratarem de compostos extremamente ativos, sendo cerca de mil vezes mais potentes do que outros compostos também interferentes endócrinos, além disso, são compostos que acumulam-se nos diferentes níveis ambientais e ao longo da cadeia, por serem persistentes, o que representa um sério risco às diferentes formas de vida (PINHEIRO, 2013).

Os estrogênios naturais 17- β -estradiol, Estriol, Estrona e o sintético 17- α -etinilestradiol, despertam a maior preocupação por possuírem uma conformação favorável a recepção, o que aumenta potencialmente os danos causados ao sistema endócrino, sendo ativos em quantidades abaixo de ng.L^{-1} , quanto pela quantidade contínua introduzida no ambiente (PINHEIRO, 2013).

4.7. 17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, estriol e estrona

Nas últimas décadas houve um aumento significativo de estudos relacionados aos quatro hormônios destacados neste tópico. Eles são selecionados como tema de pesquisa, pois a sua presença no ambiente é preocupante. Assim, é importante conhecer as características desses hormônios.

O estrogênio 17- α -etinilestradiol (Figura 11) é um hormônio sintético extremamente potente, testes demonstram que $0,5 \text{ ng.L}^{-1}$ diminuem pela metade a viabilidade de ovos do peixe zebra. É utilizado em anticoncepcionais, variando de 15 a 50 μg por comprimido, por atuar na inibição do hormônio folículo estimulante (FSH) o que faz com que não haja desenvolvimento do folículo ovariano. Uma de suas aplicações é também como composto para engorda ilícita de gado (DALLEGRAVE, 2012).

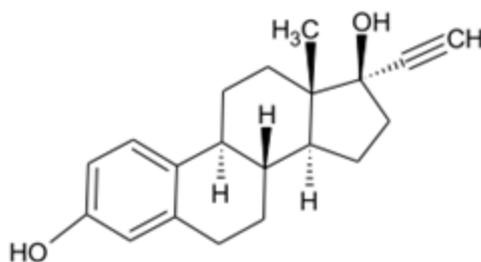


Figura 11 – Fórmula estrutural do hormônio sintético 17- α -etinilestradiol.

Fonte: DALLEGRAVE, 2012.

O 17- β -estradiol (Figura 12), estrogênio natural, é eliminado através da urina nos recursos hídricos. Sua atividade estrogênica é alta, comparada à do etinilestradiol, uma das maiores, o que significa que concentrações da ordem de 1 a 10 ng.L⁻¹ podem provocar efeitos nocivos a biota, como feminilização de algumas espécies de peixes. O 17- β -estradiol é largamente utilizado nos tratamentos de reposição hormonal, tendo fórmula molecular C₁₈H₂₄O₂ e massa molecular de 272,4 g.mol⁻¹ (PINHEIRO, 2013).

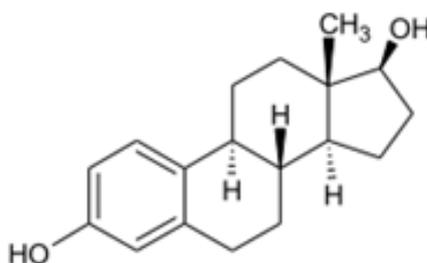


Figura 12 – Fórmula estrutural do hormônio natural 17- β -estradiol.

Fonte: PINHEIRO, 2013.

O estriol (Figura 13) também é um estrogênio natural presente na circulação sanguínea das mulheres, aumentando suas concentrações plasmáticas durante a gravidez. Possui fórmula molecular C₁₈H₂₄O₃ e massa molecular de 288,4 g.mol⁻¹ (PINHEIRO, 2013).

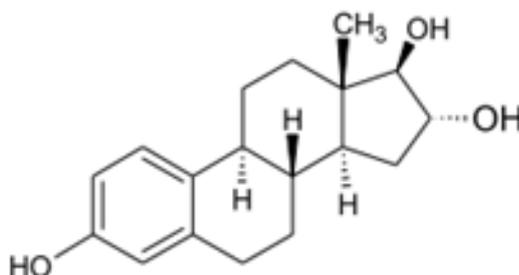


Figura 13 – Fórmula estrutural do hormônio natural estriol.

Fonte: PINHEIRO, 2013.

Assim como os dois hormônios anteriores, a estrona (Figura 14) é um estrogênio natural e também encontra-se na corrente sanguínea das mulheres, aumentando as concentrações plasmáticas no período da menopausa. É uma substância bioacumulativa, apresentando uma atividade estrogênica menor que o β -estradiol e o etinilestradiol. É um metabólito do 17- β -estradiol, possuindo massa molecular de 270,36 g.mol⁻¹ e fórmula C₁₈H₂₂O₂ (DALLEGRAVE, 2012).

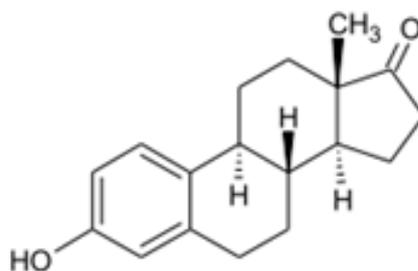


Figura 14 – Fórmula estrutural do hormônio natural estrona.

Fonte: DALLEGRAVE, 2012.

A síntese de todas as fórmulas moleculares, peso molecular e solubilidade em água das quatro substâncias de estudo podem ser visualizadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Interferentes endócrinos de estudo e suas propriedades físico-químicas.

Interferente endócrino	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol ⁻¹)	Solubilidade em água (mg.L ⁻¹)
17- α -etinilestradiol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,41	4,83
17- β -estradiol	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272,39	12,96
Estriol	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	288,39	13,25
Estrona	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270,37	12,42

Fonte: GHISELLI; JARDIM, 2007.

Os estrogênios estrona, 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol estão entre os micropoluentes mais estudados já que são diariamente excretados no esgoto, devido a excreção natural diária das mulheres ou pelo escoamento superficial do solo onde estão presentes resíduos dos mesmos (LOPES et al., 2010) e não são completamente removidos nas Estações de Tratamento de Efluentes, sendo encontrados constantemente nas águas superficiais e subterrâneas, esgotos, efluentes e em águas utilizadas para consumo humano, oferecendo risco à saúde (FRISCHE et al., 2013). Os valores de excreção diária em μ g dos estrogênios que são excretados per capita podem ser observados na Tabela 10.

Tabela 10 – Excreção diária (μg) per capita de estrogênios por humanos.

Categoria	Estrona	17-β-estradiol	Estriol	17-α-etinilestradiol
Homens	3,9	1,6	1,5	-
Mulheres menstruando	8	3,5	4,8	-
Mulheres na menopausa	4	2,3	1	-
Mulheres grávidas	600	259	6000	-
Mulheres	-	-	-	35

Fonte: GHISELLI; JARDIM, 2007.

4.8. Procedimento analítico para concentração dos interferentes endócrinos – extração por fase sólida

A análise em nível de traços de compostos em matrizes ambientais complexas, tais como águas naturais, solo, sedimentos, entre outros, são um dos maiores desafios da química analítica (FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006), assim, a baixa concentração destes poluentes encontrados no meio ambiente, comumente na faixa de $\mu\text{g.L}^{-1}$ ou mesmo ng.L^{-1} associadas a matrizes complexas demandam estudos de igual complexidade. A possibilidade de detecção dos micropoluentes em águas naturais à níveis traço se deve aos avanços das técnicas analíticas (FATTA et al., 2007).

Para determinação de interferentes endócrinos em amostras aquosas, os métodos analíticos publicados são frequentemente baseados no enriquecimento do analito; extração por fase sólida (SPE), derivação e detecção por cromatografia líquida ou gasosa acoplada à outra tecnologia, geralmente à espectrometria de massas (HPLC ou GC-MS) (FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006; BILA; DEZOTTI, 2007).

Além da escolha do detector adequado, é de extrema importância a etapa do preparo da amostra, por isso, discussões acerca das técnicas de preparo de amostras a nível traços vem sendo cada vez mais frequentes. A extração por fase sólida, do inglês SPE (*Solid Phase Extraction*) é atualmente uma das técnicas mais utilizadas para extração e/ou concentração de amostras complexas, pois tem o objetivo de remover os efeitos da matriz, isolar e concentrar os analitos, o que viabiliza a análise e quantificação dos mesmos (SANSON et al., 2014).

A extração por fase sólida foi introduzida em 1976 para suprir as desvantagens apresentadas pela extração líquido-líquido, pois, além de possuir um vasto campo de aplicação, possui vantagens em comparação com a extração líquido-líquido no que diz

respeito ao menor consumo de solvente orgânico, não formação de emulsões, facilidade de automação, altas porcentagens de recuperação do analito e disponibilidade comercial dos equipamentos e solventes utilizados nessa técnica. Porém, apresentam desvantagens relacionadas ao tempo elevado de análise e, principalmente, aos altos custos dos cartuchos e dos dispositivos comerciais multivias (manifolds), que são utilizados uma única vez, comprometendo a reprodutibilidade da análise (JARDIM, 2010).

Os principais mecanismos de separação são a adsorção, partição (fase normal e reversa), troca iônica e exclusão, associados a processos químicos, físicos, como as ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido, dipolo induzido-dipolo induzido e interações iônicas; e mecânicos, que atuam durante a separação. Os dispositivos mais empregados são os cartuchos nas formas de seringa ou barril, no entanto, outros formatos têm surgido recentemente com o intuito de melhorar o desempenho da técnica, principalmente facilitando a automação e diminuindo o tempo de análise, o que permite redução de custos com reagentes, solventes, quantidade de amostra e tempo de análise, além de maior flexibilidade (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

Em geral, os procedimentos de extração em fase sólida contêm quatro etapas (Figura 15): 1) condicionamento da coluna com solvente adequado; 2) introdução da amostra, ocorrendo a retenção do analito e de alguns interferentes; 3) limpeza da coluna com solvente para retirar os interferentes, etapa conhecida como clean-up; e 4) eluição do analito (CALDAS et al., 2011).

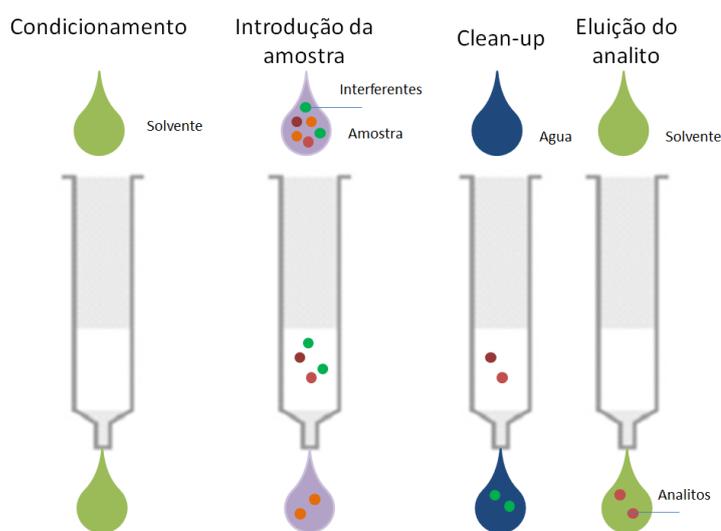


Figura 15 – Etapas envolvidas na SPE: 1) Condicionamento da coluna com solvente adequado; 2) Introdução da amostra; 3) Limpeza da coluna, ou clean-up; 4) Eluição do analito.

Fonte: CALDAS et al., 2011.

O solvente empregado no condicionamento dependerá do solvente a ser ativado e da matriz a ser processada, é recomendado utilizar um solvente que possua propriedades e características similares ao solvente no qual a amostra está dissolvida. O volume e a vazão da amostra são parâmetros críticos, que devem variar de alguns μL a mL para o volume e vazão menor que $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Na etapa de clean-up, o solvente deve ter força de eluição para remover os interferentes sem, no entanto, arrastar os analitos. Por fim, ao eluir o analito de interesse, o volume de solvente utilizado deve ser pequeno para que seja possível a realização da análise; caso seja necessário maior volume, o solvente deve ser evaporado e o extrato deve ser novamente suspenso com o volume adequado da fase móvel (JARDIM, 2010).

4.9. Procedimento analítico para determinação dos interferentes endócrinos – cromatografia líquida de alta eficiência

Na química analítica, uma das técnicas mais utilizadas e que tem maior destaque é a cromatografia, que vem do grego *chroma*, que significa cor, e *grafein*, grafia, tendo destaque a cromatografia gasosa, por detectar limites baixos das substâncias químicas de interesse. Esta técnica tem por objetivo segregar os compostos de uma mistura de substâncias, através da migração da amostra da fase estacionária para a fase móvel, o que permite a aplicação em diferentes áreas já que é possível identificar, quantificar e/ou obter a substância de forma pura (SILVA; COLLINS, 2011).

Segundo os historiadores, a invenção da cromatografia é creditada ao botânico russo Tswett, em 1903, apesar de alguns registros demonstrarem o uso da técnica anteriores a esta data. Sua técnica, fácil e confiável, é muito difundida, e se dá através da introdução da amostra no sistema cromatográfico, ocorrendo o equilíbrio e a distribuição dos componentes da amostra entre as duas fases (móvel e estacionária); este equilíbrio é determinante na velocidade de migração de cada componente (SILVA; COLLINS, 2011).

Para a análise dos contaminantes emergentes, primeiramente foi utilizada a técnica de cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*), o que demandava uma etapa de derivatização, pois em grande parte estes contaminantes eram polares e hidrofílicos. Por outro lado, a cromatografia líquida, por quase sempre não necessitar da etapa de derivatização,

tornou-se a mais utilizada em análises ambientais voltadas à investigação de contaminantes emergentes (SANTANA, 2013).

As vantagens relacionadas a utilização da cromatografia líquida para análise de compostos orgânicos em água são diversas, sendo a principal relacionada a pequena fração dos compostos orgânicos em água serem voláteis, ou seja, a maior parte do carbono presente encontra-se na forma de compostos não voláteis, podendo ser diretamente analisados pela cromatografia líquida (FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006).

Na cromatografia líquida, a fase móvel é um solvente líquido, o qual contém a amostra na forma de uma mistura de solutos, sendo que o processo cromatográfico acontece na fase líquida. Um cromatógrafo líquido de alta eficiência consiste basicamente de um injetor, para introduzir a amostra na fase móvel a coluna; a coluna cromatográfica, que deverá separar os componentes da amostra, embalada com uma fase estacionária apropriada através da qual passa uma fase móvel; e, por fim, o detector, cuja função é a de detectar os componentes eluídos da coluna cromatográfica. A coluna é normalmente localizada em um forno (SANTANA, 2013).

Antes da coluna cromatográfica, é comum utilizar a pré-coluna, que tem por objetivo reter sólidos e em muitos casos reter materiais que podem prejudicar a coluna cromatográfica. A fase estacionária mais utilizada é composta de partículas microporosas de sílica, permeáveis ao solvente, onde ocorre o equilíbrio entre o soluto nas duas fases, móvel e estacionária, por interações de Van Der Waals, ligações de hidrogênio, interações dipolo-dipolo e atração eletrostática (MALDANER; COLLINS; JARDIM, 2010).

Normalmente, a técnica de cromatografia líquida, responsável pela separação analítica das substâncias de interesse, é acoplada a outras técnicas de identificação. O detector é o responsável pela geração de um sinal diretamente proporcional à concentração do analito, existindo diversos tipos de detectores disponíveis, como arranjo de diodos (DAD), ultravioleta (UV), fluorometria (FLU) e espectrometria de massas (MS) (FATTA et al., 2007).

As condições cromatográficas variam de acordo com método de detecção, coluna cromatográfica, matriz a ser analisada, composto a ser detectado entre outros fatores. Na Tabela 11 está representado um levantamento realizado a cerca das condições cromatográficas e detectores utilizados para a análise em HPLC de interferentes endócrinos.

Tabela 11 – Exemplo de condições cromatográficas e detectores utilizados em HPLC para detecção de alguns interferentes endócrinos.

Condições cromatográficas						Autor
Vazão (mL.min ⁻¹)	Volume de injeção	Comprimento de onda (nm)	Detector	Composição da fase móvel	Coluna	
1	20 µL	280	DAD	acetonitrila:água	C ₁₈	1
1	20 µL	230	FLU	acetonitrila:água	C ₁₈	2
1	5 µL	--	MS/MS	água+ácido acético:acetonitrila	C ₁₈	3
1	20 µL	200, 240, 280	UV-vis-DAD	acetonitrila:água (β-ciclodextrina)	C ₁₈	4
0,8	20 µL	200	DAD	acetonitrila:água	C ₁₈	5
1	20 µL	230 (exci) / 310 (emi)	FLU			

Fonte: (1) VERBINNEN; NUNES; VIEIRA., 2010, (2) LOPES et al., 2010, (3) PEDROUZO et al., 2009, (4) ZARZYCKI et al., 2009, (5) RAIMUNDO, 2007.

Ultimamente, técnicas de cromatografia acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MS, HPLC-MS/MS, GC-MS e GC-MS/MS) tem sido as mais utilizadas por oferecerem baixos limites de quantificação e alta seletividade e sensibilidade (FATTA et al., 2007), porém, a cromatografia líquida de alta eficiência, acoplada à outros detectores, ainda continua sendo muito utilizada e difundida, o que pode ser observado através dos estudos realizados nessa área (FERRÉ et al., 2001; TERNES; BONERZ; SCHMIDT, 2001; PETROVIC et al., 2002; LI; ZHANG, 2014; RIGOBELLO et al., 2015).

4.10. Processos Oxidativos Avançados

Os esgotos domésticos não tratados são os principais meios de inserção dos contaminantes emergentes nas águas superficiais (JIANG et al., 2015). No Brasil, não há infraestrutura de saneamento em todas as regiões e, mesmo nas localidades onde ela existe, as substâncias são resistentes aos processos de tratamento utilizados. Assim, existe a preocupação cada vez maior quanto à qualidade da água e o abastecimento público, o que faz com que alternativas sejam estudadas para a remoção desses contaminantes (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013).

No caso de tratamentos de efluentes convencionais, os processos biológicos, permitem parte da remoção de contaminantes emergentes por sistemas de lodo ativado, garantindo o tratamento de grandes volumes com custos relativamente baixos (AQUINO; BRANDT;

CHERNICHARO, 2013); após, nos processos físicos, ocorre a remoção de muitos compostos lipofílicos, como os estrógenos; os processos químicos baseiam-se na oxidação dos contaminantes pela reação com oxidantes fortes, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), cloro (Cl_2), dióxido de cloro (ClO_2) e permanganato (MnO_4^-), o que pode ocasionar a formação de subprodutos mais tóxicos que o produto inicial, já que, na maioria dos casos, não ocorre a transformação completa dos contaminantes a CO_2 (MELO et. al., 2009).

A eficiência de remoção dos contaminantes endócrinos das águas depende de suas propriedades físico-químicas. Diversos estudos relatam que a remoção destes contaminantes é incompleta nos processos de tratamento convencionais, o que faz com que pesquisas acerca de alternativas ou complementação para o tratamento das águas seja cada vez mais realizada, como a utilização de processos oxidativos avançados (POA) (MELO et. al., 2009; AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013).

Os processos oxidativos avançados (POAs) são determinados por reações químicas de oxidação que ocorrem através do radical oxidante hidroxila (HO^\bullet), espécie reativa e pouco seletiva, que é gerada a partir de oxidantes fortes, como o ozônio (O_3) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2); ou através de semicondutores, como dióxido de titânio (TiO_2). Essas reações podem ser potencializadas através da utilização de radiação (ultravioleta ou visível) (RUEDA-MÁRQUEZ et al., 2015).

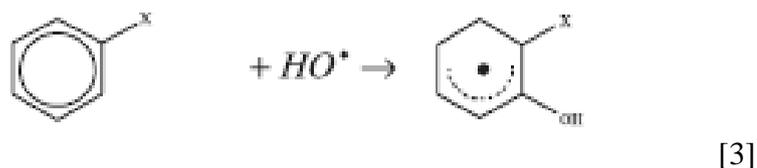
Nessas reações, geralmente os compostos orgânicos são transformados em carbono (CO_2) e água através da reação de oxidação provocada pelo radical hidroxila, que possui alto potencial padrão de redução (MELO et al., 2009). Na Tabela 12 estão demonstrados os potenciais padrão de alguns redutores importantes.

Tabela 12 – Potencial de redução de alguns redutores.

Espécie	Potencial de redução (V)
Flúor	3,03
Radical hidroxila	2,80
Oxigênio atômico	2,42
Ozônio	2,07
Peróxido de hidrogênio	1,78
Permanganato	1,68
Dióxido de cloro	1,57
Iodo	0,54

Fonte: TEIXEIRA; JARDIM, 2004.

A reação com os contaminantes orgânicos e os radicais hidroxila depende da estrutura destes primeiros, considerados compostos-alvo. Assim, caso os compostos sejam aromáticos, existe a preferência da reação por adição eletrofílica, formando radicais orgânicos, conforme equação (3) (MELO et al., 2009).



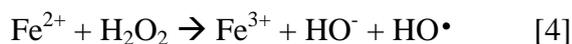
Os sistemas de POAs são classificados em homogêneo e heterogêneo (Tabela 13). Os sistemas homogêneos ocorrem em apenas uma fase, já os heterogêneos ocorrem em sistemas com mais de uma fase e utilizando catalisadores sólidos (LOURES et al., 2013). Estes são subdivididos em processos com irradiação e sem irradiação, sendo a radiação proveniente de fontes naturais (solar) ou artificiais. Geralmente, a degradação na presença de radiação é mais eficaz (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

Tabela 13 – Sistemas típicos de processos oxidativos avançados.

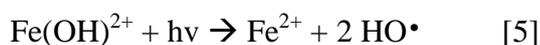
Sistemas homogêneos	Com irradiação
	O ₃ /UV
	H ₂ O ₂ /UV
	Feixe de elétrons
	US
Sistemas heterogêneos	H ₂ O ₂ /US
	UV/US
	Sem irradiação
	O ₃ /H ₂ O ₂
	O ₃ /HO [•]
Sistemas heterogêneos	H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ (Fenton)
	Com irradiação
	TiO ₂ /O ₂ /UV
	TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV
	Sem irradiação
Sistemas heterogêneos	Eletro-Fenton

Fonte: TEIXEIRA; JARDIM, 2004.

Um dos processos homogêneo bastante utilizado é o da reação de Fenton, onde ocorre a decomposição do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em radical hidroxila HO[•] na presença de íons Fe(II) em meio ácido, oxidando este último à Fe(III), equação (4) (LOURES et al., 2013).



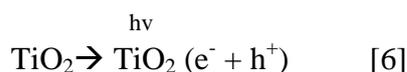
O equilíbrio entre os íons Fe(III) e Fe(II) está correlacionado com o pH e, a irradiação destes complexos com luz UV-Vis pode induzir a redução do Fe(III) para Fe(II) pela excitação de elétron do orbital mais externo, fazendo com que a eficiência do processo de degradação seja mais efetiva quando consideramos o processo foto-Fenton, gerando dois radicais hidroxila, equação (5). Além disso, o processo foto-Fenton possui a vantagem de utilizar reagentes viáveis (de baixo custo) e não causar impacto ambiental nas concentrações empregadas (NOGUEIRA et al., 2007).



O pH é fator importante para os processos Fenton e foto-Fenton, sendo estas reações dependentes deste parâmetro, e, por isso, sendo esta a maior limitação dos mesmos, já que, o Fe(III) precipita na forma de hidróxido de ferro para valores de pH acima de 3,0; enquanto que em valores mais baixos, de 2,5, há formação de íons H^+ de maneira elevada, podendo estes capturarem o radical hidroxila, que, assim, não participaria da reação de oxirredução. Além disso, a reação produz a formação de precipitado de $\text{Fe}(\text{OH})_2$ como resultado da oxidação do Fe(II) para Fe(III), fazendo com que se faça necessária a separação do sobrenadante e precipitado para finalização do processo (JUNG et al., 2009).

A fotocatalise heterogênea é baseada na degradação por irradiação de um semicondutor, como o dióxido de titânio (TiO_2), estes aumentam a velocidade da reação atingindo o equilíbrio químico, sem sofrer alteração química, e possuem duas regiões energéticas, a de energia mais baixa denominada banda de valência, e a de energia mais alta, denominada banda de condução; nesta última, os elétrons possuem liberdade para se movimentar, produzindo condutividade elétrica (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

Nas reações de fotocatalise heterogênea, os semicondutores absorvem a energia para elevar os elétrons da banda de valência para a banda de condução, gerando, então, par de elétrons (chamado elétron-lacuna), equação (6). Os radicais hidroxila são gerados a partir da oxidação das moléculas de água que encontram-se adsorvidas na superfície do semicondutor, equação (7) (IBHADON; FITZPATRICK, 2013).



É possível identificar que a degradação por fotocatalise é eficiente para vários compostos; o desafio consiste em fazer com que a irradiação atinja todo o meio reacional e na remoção dos catalisadores deste meio, por serem utilizadas suspensões finas para exercer este papel (MELO et al., 2009).

Na Tabela 14 estão relacionados alguns trabalhos envolvendo degradação de interferentes endócrinos por processos oxidativos avançados.

Tabela 14 – Levantamento dos trabalhos envolvendo degradação de interferentes endócrinos por processos oxidativos avançados.

Estudo	Autor
Aplicação do processo Fenton para degradação do antibiótico norfloxacina	ALMEIDA, 2014
Degradação por Fenton, foto-Fenton e fotólise de peróxido de hidrogênio, da cafeína	MAFIOLETI, 2014
Remoção de norfloxacina utilizando ozonização	TEIXEIRA, 2014
Degradação por fotólise e peroxidação fotoassistida do acetaminofeno, atenolol, bezafibrato, diclofenaco, e ibuprofeno	KATSUMATA, 2014
Degradação do ibuprofeno por fotocatalise com TiO ₂	BRAZ, 2014

Fonte: Autora, 2015.

Após os processos de degradação, pode-se utilizar o parâmetro TOC (Total Organic Compound). O TOC é a quantidade total de carbono em termos orgânicos, cujo valor demonstra se o processo de degradação foi eficiente na mineralização do composto estudado (MELO et al., 2009).

A utilização de processos oxidativos avançados vem sendo cada vez mais estudadas devido a grande vantagem de garantir que contaminações de águas superficiais por contaminantes emergentes possam ser evitadas, tendo-se em vista a possibilidade de evitar os efeitos prejudiciais à saúde humana e ecológica destes compostos (FIOREZEL; SANTOS; SCHMACHTEMBERG, 2014).

4.11. Testes ecotoxicológicos

A qualidade da água deve ser entendida, além dos parâmetros físico-químicos, como a forma em que os organismos vivos, frente aos diferentes tipos de estímulo, conseguem responder a isso. Em 1969, a ecotoxicologia foi determinada como uma ciência que estuda os efeitos das substâncias sejam elas naturais ou sintéticas, sobre os organismos que vivem no meio (biosfera) ao qual as tais são inseridas, considerando-se também as populações e comunidades, verificando assim um contexto mais amplo (MAGALHÃES; FILHO, 2008).

No laboratório são realizados ensaios, denominados testes ecotoxicológicos, onde organismos, chamados de organismos-testes, são expostos a diferentes concentrações determinadas da substância ao qual se quer conhecer, observando e quantificando quais os efeitos produzidos sobre os organismos, tem-se então, o efeito tóxico dessa substância sobre determinado organismo. Apesar de ser um forte indicador do risco e da qualidade daquele ambiente, os testes de toxicidade não apresentam respostas absolutas, sendo complementados também pelas análises químicas (COSTA et al., 2008).

A variedade de poluentes despejados nos ambientes aquáticos podem sofrer algumas alterações do ambiente e atingir os níveis tróficos mais elevados devido à acumulação de alguns elementos. Para que o impacto ambiental desses poluentes nos ambientes aquáticos possa ser avaliado, no Brasil, são realizados os testes de toxicidade, inicialmente realizado pela CETESB (década de 70) através da avaliação das águas por organismos de água doce. Após uma década, organismos marinhos e estuarinos passaram a ser utilizados nos testes ecotoxicológicos. Entretanto, ainda são necessários estudos para que sejam determinados quais são os organismos indicados para utilização, que irá depender da sua sensibilidade aos diferentes tipos de contaminantes (RESGALLA; LAITANO, 2002).

Para que exista confiabilidade nos resultados obtidos através dos testes de toxicidades, ou seja, para que possa existir correlação entre os resultados obtidos e o meio ambiente aquático ao qual a substância está inserida, segundo a ABNT, o cultivo e a manutenção dos organismos-testes devem seguir padrões (MAGALHÃES; FILHO, 2008). O entendimento de que qualquer espécie aquática pode ser utilizada nos testes ecotoxicológicos é errado, uma vez que as mesmas devem apresentar características específicas, como representatividade de seu nível trófico, seletividade constante e elevada aos contaminantes estudados, elevadas

disponibilidade e abundância, entre outras, para que os testes sejam representativos e confiáveis (COSTA et al., 2008).

De acordo com os autores Magalhães e Filho (2008) os bioensaios para avaliação da qualidade da água tem se difundindo com muita frequência no Brasil sempre com a finalidade de reduzir processos de produção e poluição causadas pela população humana. Assim, antes que toda uma comunidade ou população possa ser atingida pelos efeitos nocivos dos contaminantes, os organismos individuais podem oferecer uma avaliação do local através de suas respostas.

Segundo os autores Costa et al. (2008) os testes exotoxicológicos podem ser subdivididos de acordo com o tempo de duração e das respostas medidas, sendo eles agudos, ou seja, testes que visam uma avaliação rápida (de 24 a 96 h) dos organismos que foram expostos aos contaminantes químicos, considerando para a avaliação a imobilidade ou mortalidade dos organismos; ou crônicos, cujo tempo de avaliação é maior, podendo compreender todo o ciclo de vida do organismo-teste e verifica as respostas desenvolvidas por este organismo ao longo do tempo.

Os testes de toxicidade aguda apresentam fácil execução e baixo custo, permitindo que valores de CE_{50} e CL_{50} sejam determinados por vários métodos estatísticos computacionais. Os efeitos agudos no ambiente aquático são geralmente percebidos quando ocorrem acidentes ambientais, próximos a campos de agricultura com utilização de agrotóxicos de maneira indevida ou em corpos d'água receptores de efluentes industriais não tratados (COSTA et al., 2008).

Dentre os organismos recomendados para o estudo de toxicidade, as *Daphnias magna* são as mais utilizadas por serem facilmente mantidas em laboratório e apresentarem sensibilidade a diferentes contaminantes químicos. Esses organismos estão inseridos no zooplâncton como consumidores primários e secundários, sendo os ligantes entre os níveis inferiores e superiores da cadeia alimentar (ZAGATTO; GOLDSTEIN, 1991).

Embora a *Daphnias similis* não ocorra naturalmente no Brasil são ideais para testes de toxicidade e bem sensíveis aos inúmeros poluentes. As *Daphnias similis* apresentam cerca de 0,5 a 5,0 mm de comprimento com carapaça bivalve, ou seja, duas valvas calcárias (o organismo pode ser observado na Figura 16). Além disso, as *Daphnias* são organismos filtradores que se alimentam de algas, bactérias e pequenas partículas na água o qual é transferido pela boca, moído e, após, direcionado para trato digestivo. Outro fato interessante é que o seu crescimento é bem rápido após a ecdise (muda), em geral os dafnídeos tornam-se

maduros para reproduzir do 3º ao 6º estágio e em condições favoráveis se reproduzem de 4 a 65 jovens imediatamente. Esses organismos vivem de três a cinco semanas e se reproduzem assexuadamente, por partenogênese (BRASIL, 1993).



Figura 16 – *Daphnia similis*.

Fonte: ARTAL et al., 2001.

No Brasil muitos estudos para determinação da toxicidade dos contaminantes em ambientes aquáticos vêm sendo realizado com a *Daphnia similis* como organismo-teste ou através de ensaios com organismos representativos da coluna d'água e do sedimento. Os organismos submetidos ao composto contaminante sofre o chamado “estresse ambiental”, o que compromete processos biológicos. Para que os testes sejam ainda mais realísticos, ensaios de multi-espécies (comunidade ou mesocosmos) estão frequentemente sendo realizados (MAGALHÃES; FILHO, 2008).

Os autores Buss, Baptista e Nessimian (2003) salientam que embora os lançamentos de efluentes estejam dentro dos padrões estabelecidos por lei, a utilização de organismos como sensor da biota aquática é uma ferramenta essencial na avaliação da qualidade de água principalmente ao processo natural conhecido como biomagnificação, que pode acarretar a contaminação de níveis superiores da cadeia trófica.

Devido aos diferentes mecanismos de ação biológica de cada composto presente na amostra, e da exposição simultânea do organismo a estes compostos diferentes, os efeitos de toxicidade podem ser observados devido a combinação dos compostos, potencializando o efeito (sinérgico), minimizando o mesmo (antagônico) ou ainda somando-os (aditivo). Assim, ensaios biológicos são fundamentais para verificar a eficiência da degradação de contaminantes (RODRIGUES-SILVA et al., 2014).

Os ensaios relacionados a toxicidade geralmente enfatizam os efeitos agudos dos contaminantes, que costumam aparecer em concentrações acima de $1 \mu\text{g.L}^{-1}$, no entanto, os organismos estão expostos por longos períodos de tempo a baixas concentrações destes compostos, sendo, portanto, mais provável a ocorrência de efeitos crônicos, o qual não é muito estudado por ser demandar muito tempo para avaliação (MELO et.al., 2009).

Sabe-se que os compostos emergentes são detectados no ambiente em baixas concentrações, porém, apesar disso, estes geram grandes preocupações, pois são substâncias biologicamente ativas que podem desencadear efeitos em todo o ambiente ao qual é inserido, alterando a biodiversidade e o equilíbrio de ecossistemas aquáticos. Apesar de os processos oxidativos avançados estarem sendo largamente estudados para o tratamento e remoção de contaminantes emergentes das águas, sua aplicação pode formar compostos mais potencialmente tóxicos que o original, sendo, por esse motivo, os ensaios de toxicidade agudos desejáveis a fim de que as técnicas de degradação possam ser avaliadas quanto ao impacto ambiental (RODRIGUES-SILVA et al., 2014).

5. Metodologia

5.1. A região de estudo – Itajubá (MG)

Entre 1703 e 1705 Miguel Garcia de Almeida Cunha alcançou o planalto do Capivari em busca de ouro, descobrindo ali local de interesse, chamando-o de Caxambú. Próximo a este local, descobriu as Minas Novas de Itagybá, que em indígena significa “rio das pedras que do alto cai”, lugar proeminente, decidindo se fixar com sua família na região. O garimpo nas minas de Itagybá teve curta duração e não correspondia às expectativas de Miguel Garcia e seus companheiros; estes, então, se retiraram e o povoado ali existente passou a sobreviver da agricultura e pecuária, porém, a localização do povoado era desfavorável e os recursos escassos, fazendo com que não houvesse prosperidade no local. (GUIMARÃES, 1987).

Ao final de 1818, D. João VI nomeia Padre Lourenço da Costa Moreira como vigário da freguesia, que, ao perceber a precária situação do povoado e tendo em vista que a região era de difícil prosperidade, resolve transferir a comunidade para a margem direita do Sapucaí, em terrenos mais férteis e clima mais ameno. Em 19 de março de 1819, é fundado o novo povoado, chamado de novo arraial de Boa Vista do Itajubá, abrangendo, inicialmente: Piranguçu, Cristina, Pedralva, Brasópolis e Delfim Moreira, o qual prosperou rapidamente, sendo elevado à freguesia em 1832. Em 27 de setembro de 1848, a lei nº 355 foi determinada a fundação da Vila Boa Vista de Itajubá, tornando-se esta uma das cidades mais prósperas e comerciais do Sul de Minas (GUIMARÃES, 1987).

A Figura 17 ilustra a cidade de Itajubá, demonstrando sua área geográfica.



Figura 17 – Mapa de ilustração da cidade de Itajubá.

Fonte: www.google.com.br/maps/.

Itajubá, atualmente, possui área de 294,835 km² e 96.020 habitantes, o equivalente a 307,49 habitantes/km². Situa-se ao sul do estado de Minas Gerais numa altitude de 1746 metros no seu ponto mais alto e 830 metros no ponto mais baixo, acima do nível do mar, tendo como bioma a Mata Atlântica. Devido a sua posição geográfica privilegiada, não só por estar próximo à prósperas cidades de porte médio como também por ser o centro entre as grandes capitais São Paulo (261 Km), Belo Horizonte (445 Km) e Rio de Janeiro (318 Km), Itajubá constitui um importante centro econômico para o Sul de Minas. A agricultura, comércio e serviços têm uma participação expressiva no quadro econômico do município, e o setor industrial é bastante ativo e diversificado (GUIMARÃES, 1987).

5.2. A bacia hidrográfica

As regiões hidrográficas são um espaço territorial compreendido por uma ou mais bacias ou sub-bacias hidrográficas, que podem ser descritas como um local onde ocorre a drenagem de água para um rio principal e seus afluentes, sempre das áreas mais altas para as mais baixas, devido às características geográficas e topográficas dessa área (BRASIL, 2003). Segundo a Resolução n.º32 de 15 de outubro de 2003, o Brasil está dividido em regiões hidrográficas, conforme Figura 18.



Figura 18 – Divisão hidrográfica nacional.

Fonte: BRASIL, 2003.

O estado de Minas Gerais possui área total de aproximadamente 587 Km², ou seja, 7% da área total do país, concentrando em seu território as nascentes e formadores de importantes rios, estando inserido em quatro regiões hidrográficas (conforme demonstrado na Figura 19), o que lhe confere posição estratégica na gestão de recursos hídricos do país (MINAS GERAIS, 2010).

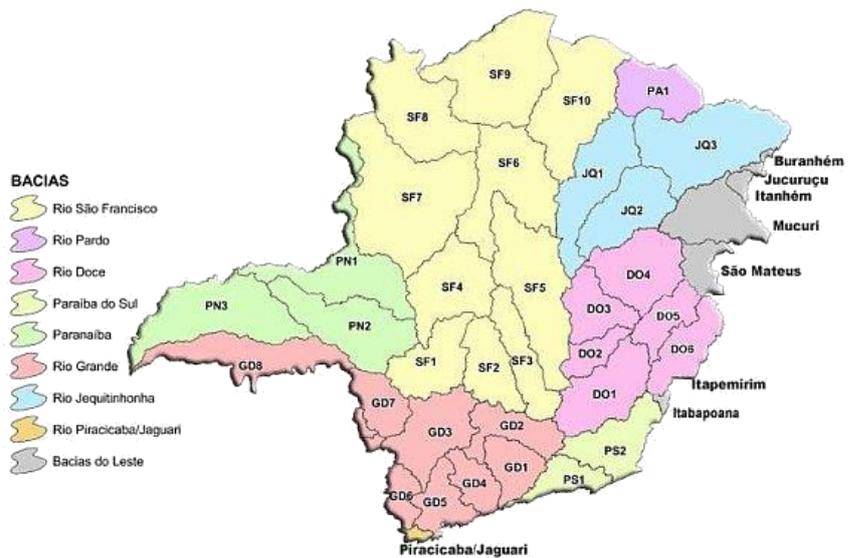


Figura 19 – Divisão hidrográfica de Minas Gerais.

Fonte: COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SAPUCAÍ, 2010

A bacia hidrográfica do Rio Sapucaí passa por dois estados, São Paulo e Minas Gerais. O Rio Sapucaí nasce a uma altitude de 1.650m, na Serra da Mantiqueira, cidade de Campos do Jordão (SP) e deságua a uma altitude de 780m, no Lago de Furnas; atravessa, 34 km no Estado de São Paulo (abrangendo 3 municípios) e 309 km em Minas Gerais (48 municípios), beneficiando aproximadamente 620.000 pessoas (COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SAPUCAÍ, 2010).

5.3. Rio Sapucaí

O Rio Sapucaí, dividido em Alto Sapucaí, 50 Km, Campos do Jordão / Ribeirão Bicas (Wenceslau Braz); Médio Sapucaí, 90 Km, Ribeirão Bicas / Rio Sapucaí Mirim (Município Pouso Alegre) e Baixo Sapucaí, 143 Km, Rio Sapucaí Mirim / Represa de Furnas, possui grande extensão, conforme demonstrado na Figura 20, e é de grande importância para as regiões que percorre. tem seu nome originário da língua indígena, que significa, rio das sapucaias, ou rio de canta / grita, lembrando as plantas da região que, quando golpeadas pelos ventos, produzem gemidos. Esse Rio percorre Minas Gerais, passando por Itajubá, atravessando a cidade até alcançar o limite com o Rio Lourenço velho, também de grande importância para a região (COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SAPUCAÍ, 2010).

Atualmente, com a construção da represa de Furnas, onde o Rio Sapucaí é contribuinte, e, com o crescimento das cidades que o cercam, o rio sofre com o assoreamento de suas águas, poluição por esgotos domésticos e industriais não tratados, dragagem indiscriminada, entre outros tantos problemas. Por ter grande importância e por apresentar esses diversos problemas supracitados, o Rio Sapucaí é objeto de muitos estudos na região, sendo existente o Conselho da Bacia Hidrográfica do Rio Sapucaí que cuida pela qualidade da mesma (COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SAPUCAÍ, 2010).



Figura 20 – Extensão do Rio Sapucaí.

Fonte: COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO SAPUCAÍ, 2010

5.4. Locais de coleta das amostras

Foram estudados três pontos de coleta do Rio Sapucaí e um de água para consumo doméstico na cidade de Itajubá, cujas latitudes e longitudes estão descritas na Tabela 15. O ponto 1 está situado na entrada da cidade sentido Pouso Alegre-Itajubá, o ponto 2 situava-se na região central da cidade de Itajubá, e, por fim, o ponto 3 indicava o final da cidade de Itajubá, situando-se entre Itajubá e Delfim Moreira. O ponto 4 analisado corresponde a uma amostra de água após tratamento, coletada da Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI). Todos os pontos estão dispostos no mapa (Figura 21) e foram representados por fotos (Figuras 22, 23, 24 e 25).

Tabela 15 – Pontos de coleta das águas superficiais do Rio Sapucaí (pontos 1, 2 e 3) e água de abastecimento público (ponto 4).

Ponto	Latitude	Longitude
1	7513496	460303
2	7519807	453327
3	7520601	450518
4	222440	45278

Fonte: www.google.com.br/maps/.



Figura 21 – Pontos estudados no presente trabalho distribuídos no mapa de Itajubá.

Fonte: www.google.com.br/maps/.



Figura 22 – Ponto de coleta 1.

Fonte: www.google.com.br/maps/.



Figura 23 – Ponto de coleta 2.

Fonte: www.google.com.br/maps/.



Figura 24 – Ponto de coleta 3.

Fonte: www.google.com.br/maps/.



Figura 25 – Ponto de coleta 4.

Fonte: www.google.com.br/maps/.

Foram coletados 15 L de água de cada um dos pontos definidos no estudo para que as análises de IQA e dos estrógenos pudessem ser realizadas em triplicata. Foram realizadas duas campanhas em período de estiagem. Para coleta e armazenamento das amostras seguiu-se procedimento determinado no protocolo para extração de contaminantes emergentes em água, elaborado pelo Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (JARDIM, 2013)

5.5. Reagentes e soluções

Todos os padrões de estrógenos, com pureza mínima de 97%, foram obtidos da Sigma-Aldrich. Os solventes orgânicos de grau cromatográfico (HPLC), metanol (MeOH) e acetonitrila (ACN), foram obtidos da Sigma-Aldrich. A água deionizada foi obtida a partir de sistema Mili-Q, da Milipore.

Para filtração dos solventes foram utilizadas membrana Milipore HA em éster de celulose 0,45 μm de poro e 47 mm de diâmetro para água deionizada; já para a acetonitrila,

foi utilizada membrana de fibra de vidro, 47 mm; filtrados em sistema a vácuo (ORISMATEC, bombas de vácuo, modelo 131, tipo 2VC, no de série 10901, 05112). Os solventes foram desaerados em banho ultrassônico digital Sanders Medical, Soni Clear 2, por 5 minutos.

As soluções-padrão estoque dos hormônios estrógenos (estriol, 17- β -estradiol, estrona e 17- α -etinilestradiol) foram preparadas em MeOH em uma concentração de 100 mg.L⁻¹ (100 ppm). A partir destas, foram obtidas as soluções de trabalho, mediante diluição com 70% acetonitrila:30% água deionizada. Todas as soluções preparadas foram armazenadas em refrigerador a 4°C.

Todas as vidrarias utilizadas foram lavadas com água e detergente comum, deixadas em solução 50% acetonitrila:50% água, enxaguadas com água comum, 5 alíquotas de água deionizada e 5 alíquotas de solução 50% acetonitrila:50% água deionizada antes do uso.

5.6. Otimização e validação do método cromatográfico para detecção das substâncias 17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, estriol e estrona

Primeiramente foi feita a otimização do método cromatográfico (HPLC-DAD e HPLC-FLU), utilizando coluna de guarda Zorbax eclipse plus C-8 Pack Narrow Bore Guard Column 2,1 x 12,5 mm, 5 micron (Agilent) e coluna cromatográfica Zorbax SB-C8 Rapid Resolution HT 3,0 x 150 mm, 1,8 micron, 600 bar (Agilent). Os parâmetros determinados foram os que seguem demonstrados na Tabela 16.

Tabela 16 – Parâmetros determinados a partir da otimização do método cromatográfico (HPLC) utilizando os detectores DAD e FLU para detecção das substâncias 17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, estriol e estrona

Temperatura da coluna (°C)	50 \pm 1		
Vazão da fase móvel (mL.min ⁻¹)	0,5		
Comprimento de onda (nm)			
DAD	220		
FLU	Excitação	230	
	Emissão	310	
Tempo de corrida (min)	8		
Volume de injeção (μ L)	5		
Pressão da coluna (bar)	450		
Composição da fase móvel			
	Tempo (min)	Porcentagem de água deionizada (%)	Porcentagem de acetonitrila (%)
	0	-	100
	8	50	50

Fonte: Autora, 2015.

O procedimento e os critérios para validação do método analítico proposto neste estudo seguiu as orientações de Ribani et al. (2004). Assim, foram determinadas a seletividade, linearidade, precisão (repetitividade ou precisão intracorrída, e precisão intermediária, ou precisão intercorrída), exatidão, robustez e limites de detecção e quantificação.

O método analítico é definido como seletivo quando é capaz de detectar as substâncias separadamente, não havendo influência na determinação pela matriz ou outras substâncias (BRASIL, 2005). Para isso, foi realizada a análise da matriz livre dos compostos de interesse, e, após, foram analisadas, em triplicata, cada solução padrão. Os cromatogramas obtidos foram comparados quanto ao tempo de retenção para cada substância e quanto a separação entre elas.

O método deve ainda, considerando-se o *range* de aplicação, fornecer resultados que possuam correlação de proporcionalidade direta com às concentrações da substância estudada, estabelecendo-se assim a linearidade (RIBANI et al., 2004). Para tanto, a linearidade foi determinada a partir da construção da curva analítica dos interferentes de estudo na faixa de

0,00625 ppm à 1,0 ppm, analisando a área do pico obtido para cada concentração em triplicata (considerando a média das análises) e correlacionando concentração e área do pico.

O método foi avaliado quanto sua precisão, ou seja, foi realizada a avaliação da distribuição dos resultados para análises independentes da mesma amostra (RIBANI et al., 2004). Assim, inicialmente foi analisada a repetitividade, ou seja, a precisão intracorrída, onde, 6 amostras contendo 0,5 ppm de cada interferente de estudo foram preparadas em triplicata e analisadas em HPLC, marca *Agilent Technologies* modelo 1260 *infinity*, para os dois detectores (DAD e FLU) observando-se o desvio padrão absoluto entre as amostras.

A precisão intermediária, ou seja, a precisão intercorrída, foi feita posteriormente, onde, em um dia diferente daquele em que foi realizada a primeira corrida, foram preparadas soluções de 0,5 ppm de cada interferente de estudo em triplicata e analisadas, assim, pode-se verificar, além do desvio entre as amostras da mesma corrida, o desvio relacionado à análise de amostras preparadas em dias diferentes.

Ainda relacionado à validação do método, foi realizado o estudo de exatidão, que corresponde à convergência entre os resultados de uma determinada análise comparando-se com um valor de referência, dito verdadeiro (BRASIL, 2005). Assim, o método de avaliação utilizado foi o denominado de recuperação (R), cuja aplicação se dá através da determinação da proporção entre a quantidade de substância adicionada e capaz de ser quantificada pelo método após análise (BRITO et al., 2003).

Para tanto, foram preparadas 3 soluções em 3 níveis de cada uma das substâncias de estudo (17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, estriol e estrona), em triplicata, sendo eles: 0,3 ppm, 0,5 ppm e 0,7 ppm. Essas soluções foram analisadas em HPLC, utilizando os dois detectores (DAD e FLU) e determinada a recuperação comparando-se a concentração nominal (0,3ppm, 0,5 ppm, 0,7 ppm) com aquela determinada pelo método. É importante ressaltar que as recuperações para análise de compostos traços variam de 70 à 120% \pm 20%, porém, essa faixa pode aumentar caso a amostra ou o método para detecção sejam complexos, variando de 50 à 120% \pm 15% (RIBANI et al., 2004).

Para que o método pudesse ser dito robusto, ou seja, método que não sofre grandes alterações quando há mudanças sutis de seus parâmetros (RIBANI et al, 2004), os parâmetros do método analítico foram alterados de acordo com a Tabela 17.

A coluna denominada “condições experimentais” representa cada teste realizado, em triplicata, totalizando onze experimentações, assim, a primeira coluna dessa categoria (1) representa os parâmetros pré-definidos para o HPLC, descritos como “condições normais”;

estes representam as letras maiúsculas nos testes realizados (A para vazão da fase móvel, B para temperatura, C para composição da fase móvel, D e E para os comprimentos de onda DAD e FLU, respectivamente), por fim, para cada “condição alternativa” (descritos nas colunas 2 à 11 da categoria “condições experimentais) foram alterados de $\pm 5\%$ os parâmetros do HPLC (como vazão da fase móvel – a e b, temperatura – c e d, composição da fase móvel – e e f, comprimento de onda – DAD – g e h, ou FLU – i e j), estes representam as letras minúsculas nos testes realizados.

Tabela 17 – Condições experimentais para determinação da robustez do método analítico.

Variável	Condições normais	Condições alternativas	Condições experimentais											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Vazão da fase móvel	(A) 0,5 mL.min ⁻¹	(a) 0,475 mL.min ⁻¹ (b) 0,525 mL.min ⁻¹	A	a	b	A	A	A	A	A	A	A	A	A
Temperatura	(B) 50 °C \pm 1	(c) 47,5 °C (d) 52,5 °C	B	B	B	c	d	B	B	B	B	B	B	B
Composição da fase móvel	(C) 50% H ₂ O ^(*) :50% ACN	(e) 47,5% H ₂ O ^(*) :52,5% ACN (f) 52,5% H ₂ O ^(*) :47,5% ACN	C	C	C	C	C	e	f	C	C	C	C	C
Comprimento de onda (DAD)	(D) 220 nm	(g) 209 nm (h) 231 nm	D	D	D	D	D	D	D	G	h	D	D	D
Comprimento de onda (FLU)	(E) 230 nm - 310 nm	(i) 219 nm - 295 nm (j) 242 nm - 326 nm	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	i	j

^(*) sempre considerar água deionizada.

Fonte: Autora, 2015.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) representam a menor concentração em que a substância de interesse pode ser detectada e quantificada, respectivamente. Esses parâmetros podem ser calculados utilizando métodos visuais; relação sinal-ruído; ou de acordo com os dados da curva analítica (RIBANI et al., 2004). Para o estudo em questão ambos os limites foram estimados através da relação sinal-ruído, onde o limite de detecção é igual a três vezes a relação sinal-ruído e o limite de quantificação igual a dez vezes a relação sinal-ruído.

5.7. Otimização da extração em fase sólida (SPE)

Foi testado o procedimento de SPE segundo descrito por Verbinnen, Nunes e Vieira (2010) como sendo àquele que apresentava melhor resultado para os estrógenos em estudo.

Para a extração dos quatro estrógenos aqui investigados empregou-se cartuchos preenchidos com C-18. O procedimento utilizado está descrito na Tabela 18. O esquema de um sistema de SPE, conforme o que foi utilizado para a análise, pode ser visualizado na Figura 26.

Tabela 18 – Procedimento de extração utilizado no estudo.

Etapas	Vazão (mL.min ⁻¹)	Solvente
Condicionamento	3	5 mL MeOH, 7 mL ACN, 5 mL H ₂ O ^(*)
Adição de amostra	2	500 mL, 1 L e 3L
Lavagem	2	5 mL H ₂ O ^(*)
Eluição	1	6 mL ACN
Secagem do extrato	-	Banho-Maria
Reconstituição	-	0,5 mL ACN

^(*) sempre considerar água deionizada.

Fonte: Autora, 2015.

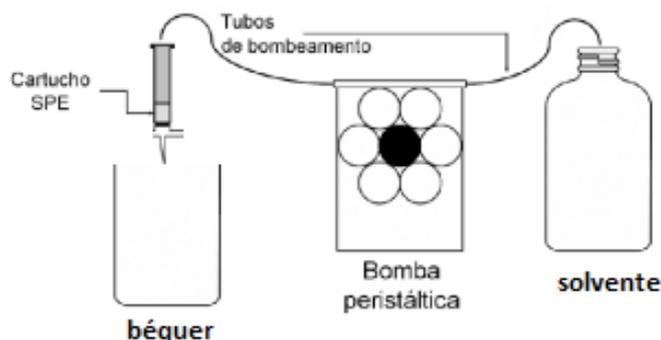


Figura 26 – Esquema do sistema de extração SPE.

Fonte: SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010, modificada.

A eficiência do procedimento de extração foi medida através do percentual de recuperação de água deionizada fortificada com mistura de estrogênios em diferentes concentrações e diferentes volumes (500 mL, 1L e 3L). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Após determinação dos parâmetros e condições otimizadas do método, as amostras coletadas foram filtradas, primeiramente em filtros de membrana de vidro, e, após, em filtros de éster de celulose, para que o material particulado fosse retirado das amostras.

As mesmas foram então submetidas ao método de SPE, e, em seguida, analisadas em HPLC aplicando-se o método pré-definido para identificação e quantificação dos analitos em questão. Para as amostras, também foi realizada a SPE e detecção em HPLC utilizando detector FLU em triplicata para cada ponto coletado.

5.8. Análise do Índice de Qualidade da Água

Para todas as amostras de água de cada ponto coletado foram realizadas as análises para se determinar o Índice de Qualidade da Água

5.8.1. Análise de oxigênio dissolvido e temperatura

As análises de oxigênio dissolvido e temperatura foram realizadas em tempo real no ponto de coleta através de um medidor multiuso marca *SCHOTT Handylab OXI/Set*, onde o mesmo foi inserido no rio, ou, para o ponto quatro, em um béquer, e através da leitura por eletrodos sensíveis a oxigênio dissolvido e termopar, os parâmetros supracitados foram, então, determinados.

O oxigênio dissolvido foi determinado seguindo metodologia 4500-O *Oxygen (Dissolved)* (70) (*G. Membrane Electrode*) do *Methods for the Examination of Water and Wastewaters* (WASHINGTON, 1998); e a temperatura foi determinada a partir da metodologia 2550 *Temperature* (49).

5.8.2. Análise de potencial hidrogeniônico – pH

A análise de pH foi feita *in situ* seguindo metodologia 4500-H+ *pH value* (42) (*B. Electrometric Method*). Para isso, foi utilizado pHmetro Digimed DM-20 previamente calibrado, e foram realizadas três leituras de cada uma das amostras; a médias das três análises foi considerada como o pH da amostra.

5.8.3. Análise de coliformes termotolerantes

Para análises de coliformes termotolerantes, seguiu-se metodologia descrita ainda no *Methods for the Examination of Water and Wastewaters* (WASHINGTON, 1998), método

9225 *Enzyme substrate coliform test* (43) (B. *Enzyme substrate test*). Assim, a água retirada do rio em cada ponto foi propriamente armazenada em recipientes higienizados específicos para o armazenamento das amostras e mantidos à baixa temperatura em caixa térmica de isopor com gelo. No laboratório de microbiologia as amostras dos pontos foram então diluídas por duas vezes (1:100 e 1:1000) resultando em sete amostras de 50 mL, sendo duas para cada um dos três pontos do rio e uma amostra sem diluição para água da torneira. A cada uma das amostras foi adicionado um sachê de reagente *Colilert*, substrato cromogênico utilizado para confirmação de presença de Coliformes Totais e termotolerantes em 24 horas através do desenvolvimento de coloração amarela e observação de fluorescência, sendo a mistura homogeneizada.

As amostras foram, então, transferidas para cartelas (Figura 27) e, posteriormente, seladas. As cartelas foram levadas à incubadora onde permaneceram por 24 horas. Após este período as cartelas foram retiradas e o número de positivos (células que adquiriram coloração amarela) grandes e pequenos foram contados. Com o auxílio da tabela de resultados, onde estão correlacionados a quantidade resultante de números positivos grandes e pequenos, o número mais provável (NMP) de coliformes totais foi determinado. Para determinação de coliformes fecais foi utilizada luz negra.

Por fim, o maior valor de concentração entre as duas diluições foi considerado como o valor mais correto.



Figura 27 – Cartelas de *colilert* utilizadas na análise de coliformes termotolerantes.

Fonte: Autora, 2015.

5.8.4. Análise de turbidez

A turbidez foi determinada a partir do método 2130 *Turbidity* (15) (B. *Nephelometric Method*). Para isso, foram utilizadas duas amostras padrão, sendo uma de 0 e outra de 40

NTU, onde, inicialmente, uma das amostras padrão foi inserida no turbidímetro marca *Orbeco-Horiba Model 966* para calibração. O valor medido foi ajustado até que o *display* do aparelho mostrasse 40 NTU. O mesmo foi feito para o padrão de 0 NTU.

As amostras foram então inseridas, uma a uma, no aparelho para que a turbidez de cada ponto fosse medida em triplicata.

5.8.5. Análise de Demanda Química de Oxigênio – DQO

A análise de Demanda Química de Oxigênio (DQO) foi realizada seguindo-se o procedimento descrito no método 5210 – *Biochemical oxygen demand* (BOD) (97) (B. *5-Day BOD Test*), utilizando digestor *SOLAB DryBlock SL 25/16* e espectrofotômetro Biospectro SP-22.

Primeiramente preparou-se a solução de digestão, para isso, dissolveu-se 1,0216g de $K_2Cr_2O_7$ em 50 mL de água destilada em balão volumétrico de 100 mL; adicionou-se 16,7 mL de H_2SO_4 concentrado e 3,33 g de $HgSO_4$, e completou o volume do balão.

Foram preparados também: o reagente de ácido sulfúrico, pesando-se 5,5g de Ag_2SO_4 por Kg de H_2SO_4 ; e o padrão biftalato de potássio, onde, foram dissolvidos 0,085 g de biftalato de potássio em 100 mL de água destilada.

Por fim, foram preparados os padrões para construção da curva analítica adicionando aos tubos de digestão 1,2mL da solução de digestão e 2,8 mL da solução reagente de H_2SO_4 . Adicionou-se, então, 2,0 mL dos padrões aos tubos previamente preparados com os reagentes e transferiu-os para o digestor. Efetuou-se a digestão a $150^\circ C$ por 2 horas e aguardou-se esfriar para efetuar a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 620 nm. Com estes resultados, foi construído o gráfico de absorvância em função da DQO e determinada a correlação linear existente entre DQO e absorvância.

Repetiu-se o procedimento realizado com os padrões para as amostras em triplicata, determinando-se os valores de DQO a partir da função dada pelo gráfico da curva analítica de DQO.

5.8.6. Análise de Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO

A análise de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) foi realizada seguindo-se o procedimento descrito no método 5210 – *Biochemical oxygen demand (BOD) (97) (B. 5-Day BOD Test)*.

Primeiramente, foram preparadas as soluções abaixo, conforme Tabela 19.

Tabela 19 – Soluções preparadas para realização da análise de DBO nas amostras.

Soluções	Descrição da preparação										
Tampão fosfato	Foram solubilizados os seguintes reagentes em 1 L de água ^(*) : <table border="1" data-bbox="734 779 1468 1012"> <thead> <tr> <th>Substância</th> <th>Quantidade (g)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>KH₂PO₄</td> <td>8,5</td> </tr> <tr> <td>K₂HPO₄</td> <td>21,75</td> </tr> <tr> <td>Na₂HPO₄.7H₂O</td> <td>33,4</td> </tr> <tr> <td>NH₄Cl</td> <td>1,7</td> </tr> </tbody> </table>	Substância	Quantidade (g)	KH ₂ PO ₄	8,5	K ₂ HPO ₄	21,75	Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	33,4	NH ₄ Cl	1,7
Substância	Quantidade (g)										
KH ₂ PO ₄	8,5										
K ₂ HPO ₄	21,75										
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	33,4										
NH ₄ Cl	1,7										
Sulfato de magnésio	Solubilizou-se 22,5g de MgSO ₄ .7H ₂ O em 1L de água ^(*) .										
Cloreto de cálcio	Solubilizou-se 27,5g de CaCl ₂ em 1L de água ^(*) .										
Cloreto férrico	Solubilizou-se 0,25g de FeCl ₃ .6H ₂ O em 1L de água ^(*) .										

^(*) sempre considerar água deionizada.

Fonte: Autora, 2015.

Para a preparação da água de diluição foi adicionado 1 mL de cada uma das soluções descritas na Tabela 19 em 1 L de água, sendo a solução final aerada por duas horas.

O branco foi preparado adicionando-se 2 mL de semente, que consiste de esgoto doméstico fresco, e completando-se o frasco com água de diluição. Foram adicionadas às amostras 2 mL de semente e água de diluição até o gargalo do frasco. Mediu-se a quantidade de oxigênio dissolvido, utilizando oxímetro *SCHOTT Handylab OXI/Set*, considerando este como o valor de oxigênio inicial. Colocou-se as amostras em uma incubadora Eletrolab, a temperatura de 20°C e, ao fim de cinco dias, o oxigênio dissolvido foi medido novamente em cada frasco. Por fim, a DBO foi então calculada (Equação 8) (LIMA; FILHO; CHAVES, 2006).

$$DBO = \frac{((OD_{inicial} - OD_{final}) - (OD_{branco\ inicial} - OD_{branco\ final})) * V_{frasco}}{V_{amostra}} \quad [8]$$

A análise de DBO para as amostras foi realizada em triplicata.

5.8.7. Análise de fósforo total

O fósforo total foi determinado segundo método 4500 – *P Phosphorus* (73) (B. *Sample preparation* e E. *Ascorbic acid method*). Primeiramente, foram preparadas as soluções abaixo, conforme Tabela 20.

Tabela 20 – Soluções preparadas para realização da análise de fósforo total nas amostras.

Soluções	Descrição da preparação
Padrão de fosfato de 2500 mg/L (Hidrogenofosfato de potássio, KH_2PO_4)	Foram solubilizados 219,5 mg em 1L de água ^(*) , por fim, uma alíquota de 50 mL dessa solução foi novamente solubilizada em 1L de água ^(*) , obtendo assim uma concentração de 2,5 mg P/1mL
Tartarato de potássio antimônio, $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$	Solubilizou-se 1,3715g em 500 mL de água ^(*) .
Molibdato de amônio $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	Solubilizou-se 20g em 500 mL de água ^(*) .
Ácido ascórbico $0,1\text{mol.L}^{-1}$	Solubilizou-se 1,76g em 100 ml de água ^(*) .
Reagente combinado (deve-se seguir a ordem)	50 mL de solução 5N de fosfato H_2SO_4 , 5 mL de tartarato de potássio antimônio, 15 mL de molibdato de amônio e 30 mL de ácido ascórbico

^(*) sempre considerar água deionizada.

Fonte: Autora, 2015.

Para a obtenção da curva de calibração, na faixa de 50 ppm à 450 ppm, foram preparados padrões de fósforo (fosfato). Após, as amostras foram transferidas para béqueres e, em cada um deles, foram adicionados 8 mL do reagente combinado.

Após cerca de 15 minutos, uma alíquota de cada amostra foi transferida para cubetas, e realizou-se a análise de absorvância a 880 nm, em triplicata, em espectrofotômetro *Biospectro SP-22*.

Por fim, 50 mL de cada uma das amostras da água do rio e da torneira foram transferidas para um béquer limpo e seco. Foi feita a verificação do pH das amostras com fenolftaleína, realizando a correção, quando necessário, com ácido sulfúrico (5N). Adicionou-se 8 mL do reagente combinado em cada um dos béqueres, e as misturas foram homogeneizadas.

Por fim, uma alíquota de cada uma das misturas foi transferida para as cubetas do espectrofotômetro e foi realizada, em triplicata, a análise de absorvância de cada uma das

amostras a 880 nm, em espectrofotômetro *Biospectro SP-22* cujo resultado foi correlacionado com a quantidade de fósforo através da equação da reta obtida pela curva de calibração (concentração de fósforo x absorvância).

5.8.8. Análise de nitrogênio total – método de Kjeldahl

Para análise de nitrogênio total, utilizou-se o método de Kjeldahl, de acordo com *Methods for the Examination of Water and Wastewaters* (WASHINGTON, 1998), método 4500 – *Norg Nitrogen (organic)* (66) (B. *Macro Kjeldahl Method*).

Primeiramente realizou-se a digestão das amostras, para isso, foram transferidos 25 mL das amostras para tubos de digestão. Em um dos tubos adicionou-se apenas 25 mL de água destilada, utilizado como controle (branco). Em cada um dos tubos, foram adicionados 15 mL de ácido sulfúrico concentrado, 2,5g de K_2SO_4 e 0,7g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. Todo este conjunto foi transferido para a unidade de digestão e destilação *Buchi K-424* onde permaneceu por 120 minutos.

Após resfriamento da amostra, foi realizada a destilação. Para isso, foram transferidos para um béquer com capacidade de 600 mL, 0,12 g de ácido bórico e 50 mL de água destilada. Este béquer foi colocado na saída do sistema de destilação *Buchi K-314*, enquanto a amostra foi inserida na unidade de destilação, adicionando-se à mesma hidróxido de sódio 36%, até a solução se tornar escura. A amostra foi destilada por 4 min, coletando em torno de 150 mL de destilado. Por fim, a amostra foi titulada com solução de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ até pH 4,65, utilizando um eletrodo de pH *Digimed DM-20*, previamente calibrado, determinando-se assim a quantidade de nitrogênio total em cada uma das amostras.

A análise de nitrogênio total foi realizada em triplicata para cada uma das amostras.

5.8.9. Análise de resíduos ou sólidos totais

Para a análise de sólidos totais, o método 2540 *Solids* (43) (E. *Fixed and volatile solids ignited at 550°C*), de acordo com *Methods for the Examination of Water and Wastewaters* (WASHINGTON, 1998), foi utilizado. Assim, 12 cadinhos foram colocados em mufla a 550°C , por duas horas. Passado esse período, os cadinhos foram transferidos para o

dessecador. Após, com o auxílio de uma pinça, os cadinhos foram pesados em balança analítica Marte AY220, considerando este valor como P_0 .

Em seguida, 10 mL da amostra foram transferidos para o cadinho, sendo realizadas as análises em triplicata para cada um dos quatro pontos. Os cadinhos foram colocados em estufa Marconi MA035 a 105° , onde permaneceram por 24 horas.

Após este período, os cadinhos foram novamente pesados (P_1), e alocados na mufla a 550° , por duas horas. Ao fim desse tempo, foram novamente pesados (P_2), e os sólidos totais, os sólidos totais fixos e os sólidos totais voláteis foram calculados, conforme Equações 9, 10 e 11.

$$ST = \frac{(P_1 - P_0) \times 1000}{\text{Volume da amostra}} \quad [9]$$

onde

ST: sólidos totais em mg.L^{-1} .

P_1 : peso final dos cadinhos e amostra após período em estufa.

P_0 : peso inicial dos cadinhos.

Volume da amostra: volume da alíquota da amostra transferida para os cadinhos, L.

$$STF = \frac{(P_2 - P_0) \times 1000}{\text{Volume da amostra}} \quad [10]$$

onde

STF: sólidos totais fixos em mg.L^{-1} .

P_2 : peso final dos cadinhos e amostra após período em mufla.

P_0 : peso inicial dos cadinhos.

Volume da amostra: volume da alíquota da amostra transferida para os cadinhos, L.

$$STV = ST - STF \quad [11]$$

onde

STV: sólidos totais voláteis em mg.L^{-1} .

ST: sólidos totais em mg.L^{-1} .

STF: sólidos totais fixos em mg.L^{-1} .

5.9. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à DAD e FLU das amostras coletadas de água do Rio Sapucaí e para abastecimento público

Após otimização e validação do método cromatográfico, os parâmetros foram estabelecidos no HPLC acoplado ao visível (DAD) e à fluorescência (FLU) e as amostras resultantes da extração por fase sólida (SPE) foram analisadas em triplicata.

5.10. Degradação por Processos Oxidativos Avançados

5.10.1. Estudo da degradação por reação de Fenton

Para a degradação por reação de Fenton, primeiramente foi realizada a otimização do processo de Fenton, variando-se a concentração de ferro – Fe(II) (composto $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e mantendo-se fixo o valor da concentração de peróxido de hidrogênio 30% (H_2O_2). Para isso, foram preparadas cinco soluções testes utilizando solução de 1,0 ppm de estriol.

As concentrações testadas para determinação da melhor concentração de Fe(II) foram então preparadas segundo Tabela 21.

Tabela 21 – Concentrações de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e de H_2O_2 utilizadas para preparação dos testes de otimização de Fe(II).

Teste	Concentração de Fe(II) a ser testada (mol.L^{-1})	Concentração de H_2O_2 mantida fixa (mol.L^{-1})
1	0,00625	0,045
2	0,01125	0,045
3	0,0125	0,045
4	0,01375	0,045
5	0,01875	0,045

Fonte: Autora, 2015.

Primeiramente, retirou-se alíquota de 100 mL da solução preparada de estriol e colocou-a em um béquer. Retirou-se, então, 2 mL da solução de estriol, indicando esta parcela como tempo inicial, ou t_0 , sendo este transferido para um *vial*. O pH da solução foi ajustado para 3, com soluções de NaOH e HCl, ambas de concentração 1 mol.L^{-1} , no caso da degradação por reação de Fenton, o pH deve ser constante neste valor. Foi acrescentado o ferro, e iniciou-se a reação ao adicionar o peróxido de hidrogênio 30%. Este sistema permaneceu sob constante agitação, utilizando para isso, agitador magnético.

A cada 15 minutos (até 2 horas de reação), foram retiradas alíquotas da solução (5 mL), sendo estas inseridas em tubo de centrífuga contendo gotas de NaOH 1 mol.L^{-1} (até pH 9,0) para que a reação fosse cessada. Os tubos foram centrifugados por 10 minutos a fim de que se separasse o precipitado formado (Fe(OH)_3) e a solução contendo o analito. Cada solução foi transferida para um béquer e seu pH foi ajustado para 7,0. Após, as soluções foram filtradas em filtros de membranas de vidro e transferidas para *vials* de 2 mL.

Repetiu-se o procedimento acima descrito para todos os testes e tempos, realizando cada um deles em triplicata. Por fim, a análise da concentração do estrógeno se fez por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC).

Após a determinação da melhor concentração de Fe(II) necessária para destruição, foi analisada a concentração de peróxido 30% ótima. Portanto, as concentrações testadas para determinação da melhor concentração de H_2O_2 30% foram então preparadas segundo Tabela 22.

Tabela 22 – Concentrações de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e de H_2O_2 utilizadas para preparação dos testes de otimização de H_2O_2 .

Teste	Concentração de Fe(II) (mol.L^{-1}) pré determinada	Concentração de H_2O_2 a ser testada (mol.L^{-1})
1	0,0125	0,025
2	0,0125	0,0405
3	0,0125	0,04995
4	0,0125	0,0675

Fonte: Autora, 2015.

O mesmo procedimento realizado para os testes da concentração de Fe(II) também foi realizado, em triplicata, para os testes da concentração de H_2O_2 , sendo as análises realizadas também em HPLC.

Após identificar quais as melhores concentrações a serem utilizadas para Fe(II) e H_2O_2 , foram executadas as análises controle, em triplicata, onde, a reação de Fenton foi

realizada considerando fatores da reação de maneira individual, ou seja, foram realizadas as degradações, de acordo com o que foi descrito anteriormente, considerando apenas a influência do Fe(II) com concentração otimizada e a degradação apenas com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com concentração otimizada. A análise de concentração do interferente para cada tempo foi realizada em HPLC.

Por fim, a degradação por reação de Fenton, considerando concentração de Fe(II) e H_2O_2 otimizados, foi realizada em triplicata seguindo o mesmo procedimento descrito e as concentrações do contaminante emergente, ao longo da degradação, foram determinadas em HPLC.

5.10.2. Estudo da degradação por reação de foto-Fenton

Após identificar quais as melhores concentrações a serem utilizadas para Fe(II) e H_2O_2 , e realizada a destruição do composto encontrado em maior concentração por reação de Fenton, também foi realizada a degradação por reação foto-Fenton, considerando a radiação UV artificial (comprimento de onda UVA até 55000 J.cm^2 e UVB até 40000 J.cm^2) e solar (comprimento de onda UVA até 15000 J.cm^2 e UVB até 50000 J.cm^2).

O procedimento para degradação por reação de foto-Fenton, tanto para a radiação UV artificial quanto para a solar, foi o mesmo utilizado para a degradação por reação de Fenton. Assim, utilizou-se as concentrações de Fe(II) e H_2O_2 anteriormente otimizadas. Porém, foram montados dois sistemas distintos, de acordo com a fonte de energia utilizada para a degradação.

Considerando a degradação por foto-Fenton em presença da radiação UV artificial, foi utilizado sistema previamente montado, em ambiente escuro e protegido (capela), com a luz UV protegida em cuba de vidro com circulação de água, para não permitir o aquecimento. A solução foi preparada em recipiente de vidro e o pH e a radiação de (UVA e UVB) foram constantemente monitorados com pHmetro marca Metrohm e medidor de radiação *Solar Light*. O reator utilizado está demonstrado na Figura 28.



Figura 28 – Reator utilizado para reação de degradação foto-Fenton.

Fonte: Autora, 2015.

Considerando a degradação por foto-Fenton em presença da radiação solar, foi montado sistema em ambiente externo, com incidência natural de luz solar. O pH e a radiação de luz (UVA e UVB) foram constantemente monitorados com pHmetro marca Metrohm e medidor *Solar Light*.

Após montado os sistemas, primeiramente foram realizadas as análises controle em triplicata, considerando a degradação do composto com: apenas com a radiação UV artificial; sistema contendo radiação UV artificial e H_2O_2 (concentração previamente otimizada); apenas com a radiação UV solar; e sistema contendo radiação UV solar e H_2O_2 (concentração previamente otimizada). Para isso, a cada 15 minutos (até 2 horas de reação), alíquotas de 5 mL das soluções em pH 3 foram retiradas, inseridas em tubo de centrifuga contendo gotas de NaOH, centrifugadas por 10 minutos, tendo o pH ajustado para 7,0, filtradas em filtros de membranas de vidro e transferidas para *vials* de 2 mL. A análise de concentração do interferente para cada tempo foi realizada em HPLC.

Após, a análise considerando a degradação completa por foto-Fenton foi realizada em triplicata, retirando-se alíquota de 100 mL da solução preparada de estriol e colocou-a em um béquer. Retirou-se, então, 2 mL da solução de estriol, indicando esta parcela como tempo inicial, ou t_0 , sendo este transferido para um vial. O pH da solução foi ajustado para 3, com soluções de NaOH e HCl, ambas de concentração 1 mol.L^{-1} , no caso da degradação por reação de foto-Fenton, o pH deve ser constante neste valor; foi acrescentado o ferro e iniciou-se a reação ao adicionar o peróxido de hidrogênio 30%. Este sistema permaneceu sob constante agitação, utilizando para isso, agitador magnético.

A cada 15 minutos (até 2 horas de reação), foram retiradas alíquotas da solução (5 mL), sendo estas inseridas em tubo de centrífuga contendo gotas de NaOH 1 mol.L⁻¹ (até pH 9,0) para que a reação fosse cessada. Os tubos foram centrifugados por 10 minutos a fim de que se separasse o precipitado formado (Fe(OH)₃) e a solução contendo o analito. Cada solução foi transferida para um béquer e seu pH foi ajustado para 7,0. Após, as soluções foram filtradas em filtros de membranas de vidro e transferidas para *vials* de 2 mL.

A análise de concentração do interferente para cada tempo foi realizada em HPLC.

5.10.3. Estudo da degradação empregando TiO₂/UV

Para realização da degradação utilizando semicondutor titânio, foi utilizada tanto a radiação UV artificial quanto a solar empregando o mesmo reator descrito para as degradações por reação foto-Fenton. Assim, primeiramente, foi realizada a otimização de titânio. Para isso, as concentrações testadas foram então preparadas segundo Tabela 23.

Tabela 23 – Concentrações de TiO₂ utilizadas para preparação dos testes de otimização de TiO₂.

Teste	Concentração de TiO ₂ a ser testada (g.L ⁻¹)
1	0,3
2	0,5
3	1,0

Fonte: Autora, 2015.

Para a otimização foi utilizado o sistema com a radiação UV, semelhante ao utilizado para a degradação por reação de foto-Fenton irradiado por luz UV artificial; porém, acrescentou-se ao sistema uma bomba de ar, que insuflava ar ao sistema constantemente, auxiliando na agitação do TiO₂. Este sistema permaneceu sob constante agitação, utilizando para isso, agitador magnético. O pH e a radiação de (UVA e UVB) foram constantemente monitorados com pHmetro marca Metrohm e medidor *Solar Light*. O pH, no caso da degradação com titânio, deve ser mantido em 8,0 (KONDO; JARDIM, 1991).

A cada 15 minutos (até 2 horas de reação), foram retiradas alíquotas da solução (5 mL), sendo estas filtradas em membranas de éster de celulose, e transferidas para *vials* de 2 mL. A análise de concentração do interferente para cada tempo foi realizada em triplicata e detectada em HPLC.

Após identificar a melhor concentração a ser utilizada para TiO_2 , foram executadas as análises controle em triplicata, onde, a reação utilizando semicondutor titânio foi realizada considerando fatores da reação de maneira individual, ou seja, foram realizadas as degradações, de acordo com o que foi descrito anteriormente, considerando apenas a influência do TiO_2 com concentração otimizada e a degradação considerando apenas a influência do O_2 . A análise de concentração do interferente para cada tempo foi realizada em HPLC.

Por fim, foi realizada a degradação utilizando o semicondutor titânio em triplicata, considerando concentração otimizada, seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente, e a análise de concentração do interferente para cada tempo foi realizada em HPLC.

O mesmo sistema foi montado para a degradação de titânio considerando a presença da radiação solar, porém, no lugar da luz UV, o sistema foi exposto em ambiente externo à incidência natural de luz solar. O pH e a radiação de luz (UVA e UVB) foram constantemente monitorados com pHmetro marca Metrohm e medidor *Solar Light*. A mesma metodologia foi utilizada e a análise de concentração do interferente para cada tempo foi realizada em HPLC.

5.11. Avaliação da degradação por Processos Oxidativos Avançados em HPLC

Para avaliação da degradação por processos oxidativos avançados em HPLC foi utilizada coluna Zorbax SB-CN de $5\mu\text{m}$, $4,6 \times 150\text{mm}$ da Agilent e coluna de guarda Zorbax *Eclipse Plus-C18* de $5\mu\text{m}$, $2,1 \times 12,5\mu\text{m}$ da Agilent.

Após testes relacionados ao tempo, vazão de fluxo, composição da fase móvel e volume de injeção, os parâmetros obtidos para determinação do estriol em HPLC utilizando a coluna cromatográfica supracitada foram os descritos na Tabela 24.

Tabela 24 – Parâmetros determinados para o método cromatográfico utilizado na avaliação da degradação do interferente endócrino estriol.

Temperatura da coluna (°C)	50 ± 1	
Vazão da fase móvel (mL.min ⁻¹)	0,5	
Comprimento de onda (nm)	220	
Tempo de corrida (min)	10	
Volume de injeção (µL)	20	
Pressão da coluna (bar)	450	
Composição da fase móvel		
Tempo (min)	Porcentagem de água deionizada (%)	Porcentagem de acetonitrila (%)
0	-	100
10	50	50

Fonte: Autora, 2015.

Assim, fez-se a curva analítica para o estriol utilizando a coluna as condições definidas com os pontos de 0,1 a 1,0 ppm e, por fim, a concentração de estriol em cada uma das amostras, após degradação, foi determinada, observando o comportamento de cada processo

A curva (Figura 29) demonstra que o método cromatográfico utilizado para a avaliação da degradação por Processos Oxidativos Avançados é eficiente já que a correlação linear (R^2) da curva em questão é boa (próximo de 1), demonstrando que existe correlação entre a área do pico e a concentração do estriol.

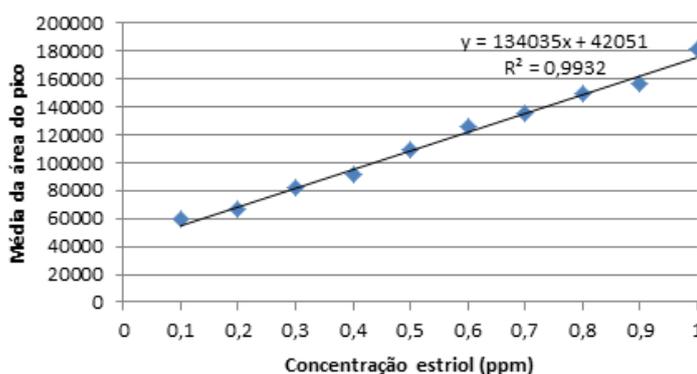


Figura 29 – Curva de calibração do estriol.

Fonte: Autora, 2015.

Para preparação da solução de 1,0 ppm de estriol, utilizou-se o remédio Ovestrion® (marca *Schering-Plough*), que contém 1mg de estriol em cada comprimido. O comprimido foi solubilizado em solução 50% acetonitrila e 50% água deionizada (previamente filtradas e

desaeradas) em balão volumétrico de 1L. A solução foi agitada em agitador magnético marca IKA e aquecido à temperatura de 40°C (temperatura interna do corpo humano) por 4 horas e meia. Por fim, a solução foi filtrada em sistema de filtração a vácuo marca Tecnal, utilizando-se filtro de membrana de vidro.

No caso da análise de TOC, a solução de 1,0 ppm de estriol foi preparada utilizando apenas água deionizada previamente filtrada em balão volumétrico de 1L; enquanto para a análise de ecotoxicologia aquática, a solução de 1,0 ppm de estriol foi preparada utilizando água de cultivo, ou seja, água da Comunidade do Sol Itajubá MG – livre de contaminação, em balão volumétrico de 1L.

5.12. Avaliação TOC das degradações do interferente detectado em maior concentração

Para análise do decaimento da carga orgânica dos testes de degradação, foram realizadas as degradações descritas anteriormente em triplicata, utilizando para isso a solução de estriol 1,0 ppm preparada em solução aquosa. Durante a degradação, foram retiradas, para cada tempo, alíquotas de 10 mL e acondicionadas em cubetas de vidro. Para análise de TOC foi utilizado o equipamento multiWin®.

5.13. Teste ecotoxicológico para determinação da dose letal do interferente detectado em maior concentração

A metodologia utilizada para a realização do teste está em conformidade com a NBR 12713 (BRASIL, 1993) (norma que especifica o método para avaliação da toxicidade aguda de amostras de efluentes líquidos, águas continentais superficiais ou subterrâneas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água, para *Daphnia similis* e *Daphnia magna*).

Nos testes agudos são utilizados organismos-testes como peixes, *Daphnia similis* e *Hyalella*, os quais precisam de algumas condições especiais. O teste utilizado no estudo foi com *Daphnia similis*, conhecida popularmente como pulga-d'água considerada importantes na cadeia alimentar.

As culturas dos organismos adultos de *D. similis* foram mantidas em incubadora à 22°C, e fotoperíodo controlado (12/12 claro e escuro).

Um dia antes do início do teste foram separadas as fêmeas ovadas para um béquer de 1 L de água de cultivo, com alimento (clorofíceo) *Selenastrum capricornutum*, sendo as mesmas transferidas novamente para a incubadora. A água de cultivo trata-se de água limpa, sem contaminantes, com dureza adequada para que se forme a carapaça da *Daphnia*, proveniente da comunidade do Sol. No dia seguinte, foram separadas as neonatas recém-nascidas e transferidas para um béquer contendo somente água de diluição, esperando 6 horas para o início do teste. Esse período deve ser respeitado para garantir que as *Daphnias* pudessem atingir uma fase que atendesse ao teste de sensibilidade.

Foi realizada a degradação utilizando semicondutor TiO₂ irradiado por luz UV utilizando estriol 1,0 ppm preparado em água de cultivo. Escolheu-se realizar o estudo toxicológico dessa degradação, pois as degradações das reações de Fenton e foto-Fenton possuem Fe(II), substância tóxica para os organismos, inviabilizando o estudo de toxicidade aguda do composto de interesse. Para cada tempo, foram retiradas alíquotas de 50 mL, onde, em béquer, foram transferidos 10 mL e 10 organismos para cada béquer, em triplicata para cada tempo; em outros 10 mL das alíquotas de cada tempo de degradação, foram realizadas as análises físico químicas. Por fim, em três béqueres, foram transferidas apenas as soluções de água de cultivo e microrganismos, considerada como grupo controle.

No primeiro dia, foram realizadas as medidas dos parâmetros físico-químicos das soluções teste sem *Daphnia similis*: oxigênio dissolvido, temperatura, pH e condutividade. As soluções teste foram, então, armazenadas em incubadora de fotoperíodo a 23°C cobertas por tecido preto, por 24 horas, mantendo-se, 12 horas com luz e 12 horas sem. Após este período, foram retiradas as soluções teste do local armazenado e realizou-se a contagem dos organismos que possuíam mobilidade. Depois de realizada a contagem, as soluções teste foram novamente levadas à incubação nas mesmas condições.

Ao final de 48 horas, as soluções teste foram novamente retiradas do local armazenado, e realizou-se nova contagem dos organismos com mobilidade. Nesta etapa, repetiram-se também as medições dos parâmetros físico-químicos, sendo eles: oxigênio dissolvido, temperatura, pH e condutividade.

Com o valor total de organismos imobilizados após 24 e 48 horas, foi utilizado o software JSPEAR, para verificar a possibilidade de calcular os valores de CE₅₀ para os dois períodos de tempo.

6. Resultados e discussões

6.1. Otimização e validação do método cromatográfico

Como primeira avaliação, foi analisada a seletividade do método comparando-se a matriz isenta da substância de interesse, chamada branco (50% acetonitrila, 50% água deionizada) com a matriz adicionada com os padrões à 1 ppm, observando-se que não ocorre eluição de nenhum interferente nos tempos de retenção das substâncias de interesse (Figuras 30 e 31), concluindo-se que o método era seletivo.

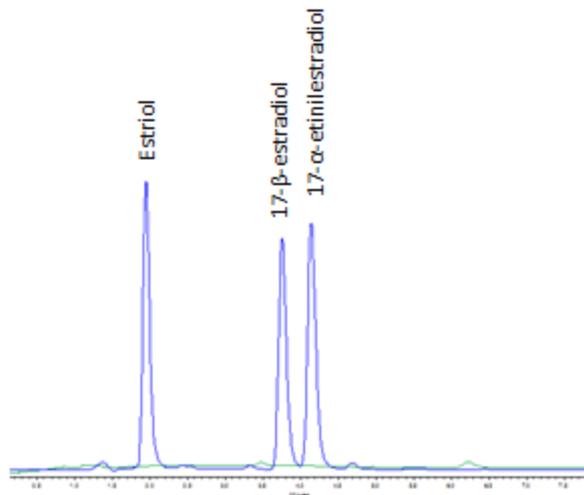


Figura 30 – Sobreposição dos cromatogramas da matriz isenta das substâncias de interesse, branco (em verde), e matriz adicionada com os padrões à 1 ppm (em azul) para o método com detecção FLU para as substâncias estriol, 17- β -estradiol, 17- α -etinilestradiol e estrona.

Fonte: Autora, 2015.

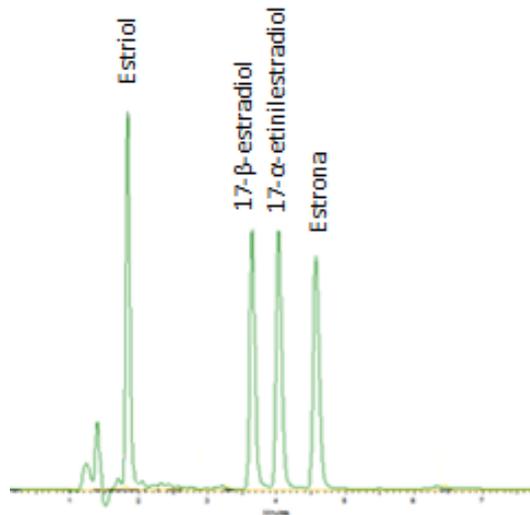


Figura 31 – Sobreposição dos cromatogramas da matriz isenta das substâncias de interesse, branco (em amarelo), e matriz adicionada com os padrões à 1 ppm (em verde) para o método com detecção DAD para as substâncias estriol, 17-β-estradiol, 17-α-etinilestradiol e estrona.

Fonte: Autora, 2015.

A linearidade foi determinada a partir da curva analítica para cada substância. As equações das retas foram determinadas pela regressão linear e os coeficientes de correlação (R^2) foram próximos ao valor um, mostrando que existe uma forte relação linear entre as áreas dos picos e as concentrações na faixa delimitada pela curva, conforme observado nas Figuras de 32 à 38. Para o método de detecção utilizando FLU não foi verificada detecção para a substância estrona.

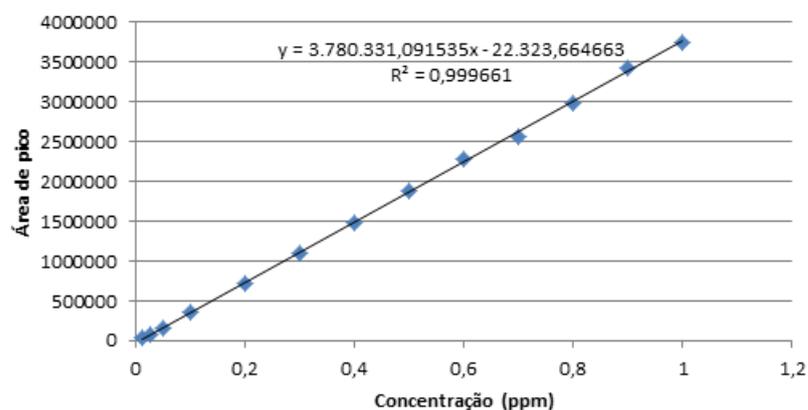


Figura 32 – Curva analítica da substância estriol para o método com detecção FLU.

Fonte: Autora, 2015.

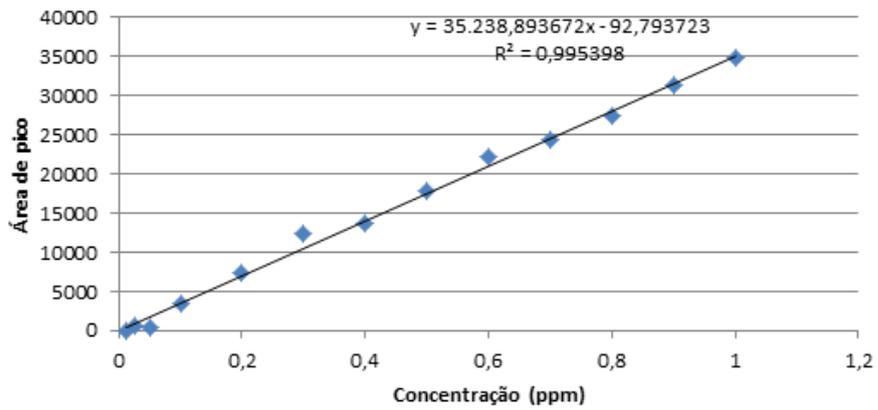


Figura 33 – Curva analítica da substância estriol para o método com detecção DAD.

Fonte: Autora, 2015.

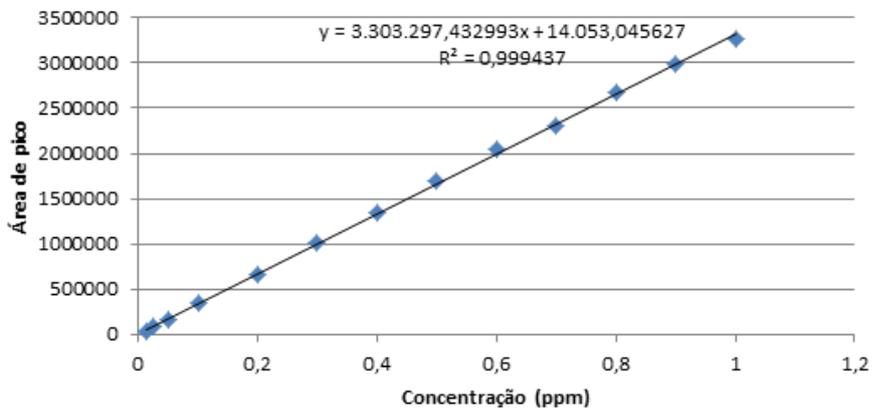


Figura 34 – Curva analítica da substância 17-β-estradiol para o método com detecção FLU.

Fonte: Autora, 2015.

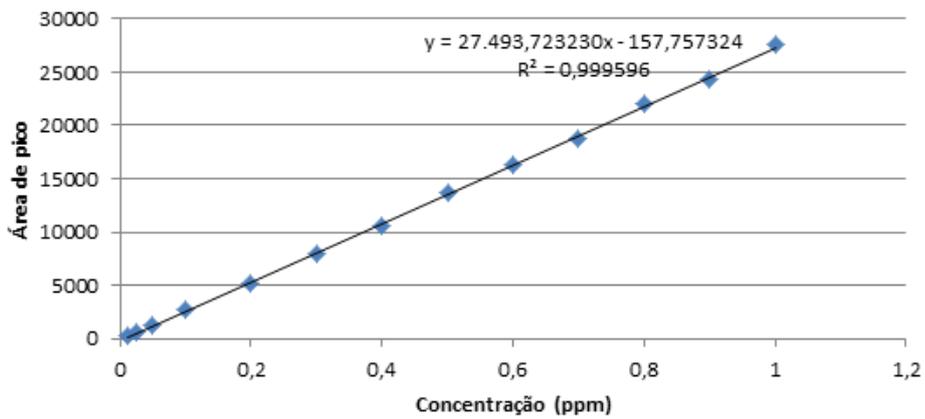


Figura 35 – Curva analítica da substância 17-β-estradiol para o método com detecção DAD.

Fonte: Autora, 2015.

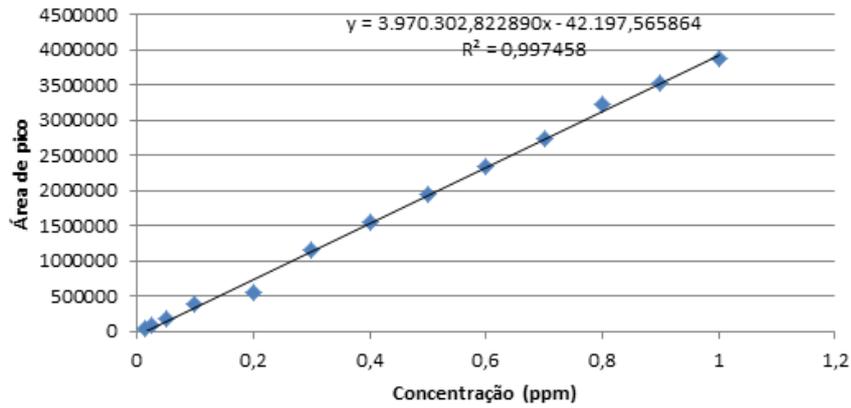


Figura 36 – Curva analítica da substância 17- α -etinilestradiol para o método com detecção FLU.

Fonte: Autora, 2015.

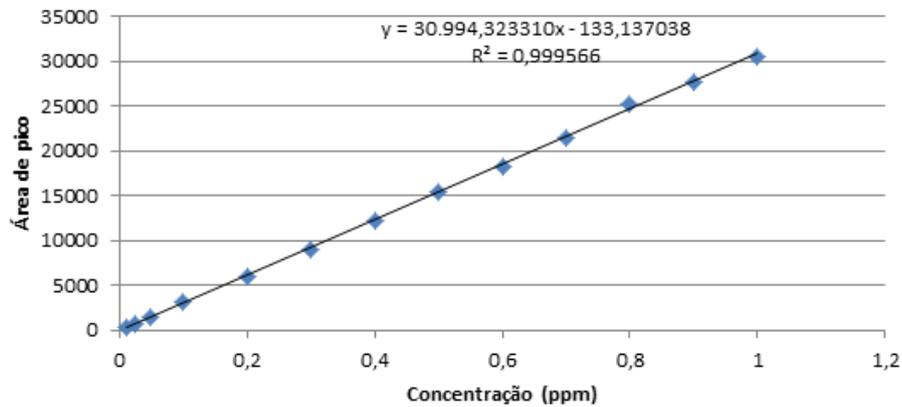


Figura 37 – Curva analítica da substância 17- α -etinilestradiol para o método com detecção DAD.

Fonte: Autora, 2015.

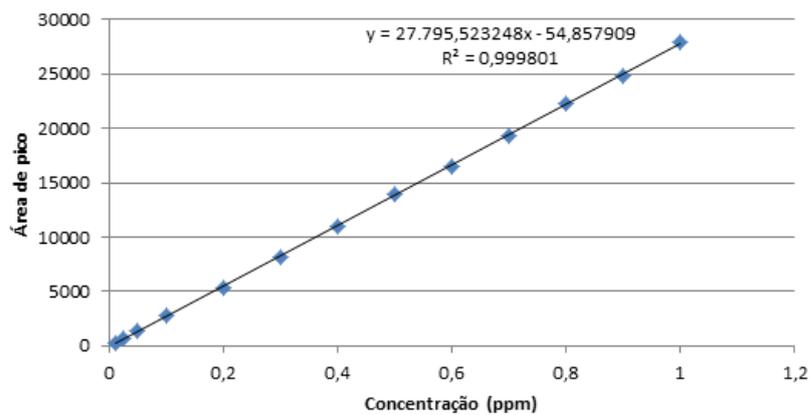


Figura 38 – Curva analítica da substância estrona para o método com detecção DAD.

Fonte: Autora, 2015.

A precisão intracorrída foi analisada para dois dias onde diferentes analistas realizaram a diluição dos padrões. Para o primeiro dia, e primeiro analista, o menor desvio

padrão relativo obtido foi para a substância estriol (0,95%), e, maior para o 17- α -etinilestradiol (8,3%) em análise utilizando o detector FLU; e, menor desvio padrão relativo para substância 17- α -etinilestradiol (1,9%) e, maior desvio padrão relativo para substância estrona (7,3%) em análise utilizando o detector DAD, conforme demonstrado nas Tabelas 25 e 26.

Tabela 25 – Precisão intracorrida Dia 1 e Analista 1 para o método de detecção utilizando FLU.

Amostras	Área de pico – estriol	Área de pico - 17- β -estradiol	Área de pico - 17- α -etinilestradiol
Média	1767580,8	1622174,5	1818505,5
Desvio padrão	16847,4	25686,2	151212,0
Desvio padrão relativo	0,95	1,6	8,3

Fonte: Autora, 2015.

Tabela 26 – Precisão intracorrida Dia 1 e Analista 1 para o método de detecção utilizando DAD.

Amostras	Área de pico Estriol	Área de pico 17- β -estradiol	Área de pico 17- α -etinilestradiol	Área de pico Estrona
Média	15050,7	13327	14981,7	13428,2
Desvio padrão	309,3	295,2	283,7	977,5
Desvio padrão relativo	2,1	2,2	1,9	7,3

Fonte: Autora, 2015.

Já para o segundo dia, e segundo analista, o menor desvio padrão relativo obtido foi para a substância 17- β -estradiol (1,2%), e, maior para o estriol (2,6%) em análise utilizando o detector FLU; e, menor desvio padrão relativo para substância 17- α -etinilestradiol (1,4%), e, maior desvio padrão relativo para as substâncias estriol e estrona (6,7% para ambas) em análise utilizando o detector DAD conforme demonstrado nas Tabelas 27 e 28.

Tabela 27 – Precisão intracorrida Dia 2 e Analista 2 para o método de detecção utilizando FLU.

Amostras	Área de pico – estriol	Área de pico - 17- β -estradiol	Área de pico - 17- α -etinilestradiol
Média	1779124,7	1643700,2	1934866,5
Desvio padrão	47106,3	19680,0	33893,4
Desvio padrão relativo	2,6	1,2	1,8

Fonte: Autora, 2015.

Tabela 28 – Precisão intracorrida Dia 2 e Analista 2 para o método de detecção utilizando DAD.

Amostras	Área de pico Estriol	Área de pico 17- β -estradiol	Área de pico 17- α -etinilestradiol	Área de pico Estrona
Média	17046,8	13923,33	15647,33	13428
Desvio padrão	1142,4	446,5	222,7	900,0
Desvio padrão relativo	6,7	3,2	1,4	6,7

Fonte: Autora, 2015.

Segundo Resolução 899 de 29 de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2003), que determina parâmetros acerca da validação de métodos analíticos e bioanalíticos, para a precisão intracorrida não se devem admitir valores superiores a 15% de desvio padrão relativo, o que demonstra que, para ambos os analistas, dias de análise e detectores, existe precisão intracorrida, apresentando desvios relativos não superiores a 8,3%.

A análise da precisão intercorrida foi feita posteriormente comparando-se os resultados obtidos para os diferentes dias e analistas. Assim, para o detector FLU, foi obtido o maior desvio padrão relativo para a substância 17- α -etinilestradiol (5,0%), e, menor para a substância estriol (0,95%); enquanto para o detector DAD o menor desvio padrão relativo foi obtido para substância 17- α -etinilestradiol (1,7%), e, maior para estrona (7,0%), conforme Tabelas 29 e 30.

Tabela 29 – Precisão intercorrida para o método de detecção utilizando FLU.

Amostras	Média	Desvio padrão	Desvio padrão relativo	Teste de Fischer (F calculado)
Estriol	1773352,7	31976,8	0,95	7,8
17- β -estradiol	1632937,3	22683,1	1,39	0,59
17- α -etinilestradiol	1876686	92552,7	5,0	0,05

Fonte: Autora, 2015.

Tabela 30 – Precisão intercorrida para o método de detecção utilizando DAD.

Amostras	Média	Desvio padrão	Desvio padrão relativo	Teste de Fischer (F calculado)
Estriol	16048,7	725,8	4,4	13,6
17- β -estradiol	13625,2	370,9	2,7	2,3
17- α -etinilestradiol	15314,5	253,2	1,7	0,62
Estrona	13428,1	938,8	7,0	0,85

Fonte: Autora, 2015.

Através do Teste de Fischer (BUSSAB; MORETTIN, 2013), foi possível verificar que mesmo para as substâncias que apresentaram maior desvio padrão, em ambos os métodos temos forte evidência analítica de que as médias das populações são iguais através das amostras realizadas para os dias 1 e 2 pelos diferentes analistas, não havendo dispersão de resultados entre ensaios independentes.

Para a exatidão, os resultados obtidos para as recuperações dos ensaios variaram de 94,6% à 105,2%, mostrando que existe concordância entre resultados individuais encontrados

nos ensaios e estão dentro dos intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos (70 à 120% com precisão de até $\pm 20\%$), estando esses resultados representados nas Tabelas 31 e 32.

Tabela 31 – Exatidão para o método de detecção utilizando FLU.

Concentração	Área de pico	Área de pico	Área de pico
	Estriol	17- β -estradiol	17- α -etinilestradiol
0,3 ppm	1113192,3	989590	1156940
Desvio padrão relativo	4,2	3,1	2,3
Concentração (ppm)	0,30	0,29	0,30
Recuperação (%)	100,1	98,4	100,7
0,5 ppm	1841607,3	1653709,3	1840760,3
Desvio padrão relativo	1,9	1,6	1,1
Concentração (ppm)	0,49	0,49	0,47
Recuperação (%)	98,6	99,3	94,8
0,7 ppm	2578035	2313253	2586588
Desvio padrão relativo	0,84	0,97	1,4
Concentração (ppm)	0,69	0,70	0,66
Recuperação (%)	98,3	99,4	94,6

Fonte: Autora, 2015.

Tabela 32 – Exatidão para o método de detecção utilizando DAD.

Concentração	Área de pico	Área de pico	Área de pico	Área de pico
	Estriol	17- β -estradiol	17- α -etinilestradiol	Estrona
0,3 ppm	11527	8348	9320,333	8716,667
Desvio padrão relativo	6,02	2,1	1,5	3,0
Concentração (ppm)	0,3	0,3	0,3	0,3
Recuperação (%)	109,8	103,1	101,7	105,2
0,5 ppm	17289,7	14025,7	14964,3	14378,7
Desvio padrão relativo	0,3	2,04	0,8	3,4
Concentração (ppm)	0,5	0,5	0,5	0,5
Recuperação (%)	98,5	103,2	97,4	103,8
0,7 ppm	22940,3	19744,3	21259	20283
Desvio padrão relativo	0,7	1,07	1,0	8,8
Concentração (ppm)	0,6	0,7	0,7	0,7
Recuperação (%)	93,2	103,4	98,6	104,5

Fonte: Autora, 2015.

Por fim, o método é considerado robusto, pois, frente a variações da ordem de 5% para parâmetros como vazão e composição da fase móvel, temperatura e comprimento de onda, o método apresentou altas recuperações, sofrendo interferências significativas apenas quando alterado o comprimento de onda, conforme demonstrado nas Tabelas 33 e 34.

Tabela 33 – Resultados de recuperação para as análises de robustez para o método de detecção utilizando FLU.

Analito	Recuperação (%) para a variação dos parâmetros								
	Parâmetros normais	Comprimento de onda (242nm – 326nm)	Comprimento de onda (219nm – 295nm)	Temperatura (52,5°C)	Temperatura (47,5°C)	Fase móvel (52,5% ACN:47,5% H ₂ O)	Fase móvel (47,5% ACN:52,5% H ₂ O)	Vazão (0,525mL.min ⁻¹)	Vazão (0,475mL.min ⁻¹)
Estriol	101,7	45,0	21,7	99,1	99,5	102,2	95,5	93,6	103,1
17-β-estradiol	107,6	44,8	20,8	99,6	100,4	91,4	98,2	94,5	105,3
17-α-etinilestradiol	100,1	44,0	22,6	98,0	97,8	92,7	97,6	93,9	102,6

Fonte: Autora, 2015.

Tabela 34 – Resultados de recuperação para as análises de robustez para o método de detecção utilizando DAD.

Analito	Recuperação (%) para a variação dos parâmetros								
	Parâmetros normais	Comprimento de onda (231nm)	Comprimento de onda (209nm)	Temperatura (52,5°C)	Temperatura (47,5°C)	Fase móvel (52,5% ACN:47,5% H ₂ O)	Fase móvel (47,5% ACN:52,5% H ₂ O)	Vazão (0,525mL.min ⁻¹)	Vazão (0,475mL.min ⁻¹)
Estriol	99,2	63,4	214,2	105,1	105,3	107,2	101,1	99,7	110,5
17-β-estradiol	96,3	56,2	224,2	104,4	105,2	103,7	103,5	100,1	110,6
17-α-etinilestradiol	114,5	56,1	218,2	102,4	101,5	101,0	101,4	98,2	107,6
Estrona	97,3	58,7	221,0	104,7	104,8	108,2	105,0	100,6	111,1

Fonte: Autora, 2015.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) determinados para as substâncias foram de LD = 0,013 ppm para estriol, 17-β-estradiol e 17-α-etinilestradiol e LQ = 0,043 ppm

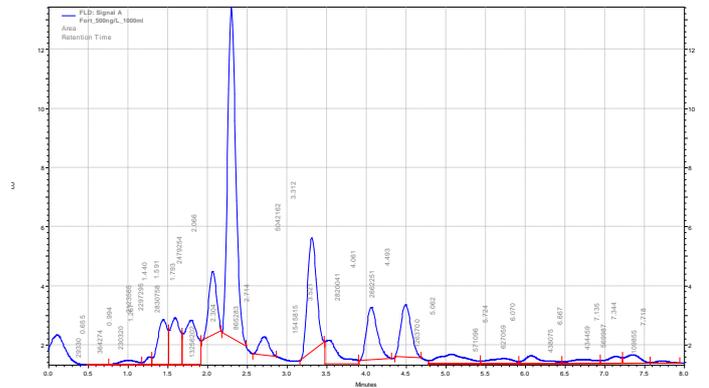
para as mesmas substâncias utilizando método de detecção FLU. Já para o método de detecção DAD, o LD foi de 0,025 ppm para estriol e 17- β -estradiol e 0,083 ppm para 17- α -etinilestradiol e estrona, e LQ de 0,096 ppm para todas as substâncias.

Após os estudos de otimização do método cromatográfico, foi definida a utilização do detector FLU para a análise das amostras de água do Rio Sapucaí e de abastecimento público por apresentar melhor resolução dos picos na matriz de estudo.

6.2. Otimização da extração em fase sólida (SPE)

Para as amostras de volume 500 mL, não houve quantificação efetiva para que fosse possível considerar a recuperação, o mesmo pode-se dizer para as amostras com concentrações de 5 ng.L⁻¹ e 15 ng.L⁻¹.

O volume que melhor apresentou resultados quanto à recuperação foi o de 3L, conforme é possível verificar nos cromatogramas (Figuras 39 e 4-) tendo, para a detecção FLU, 84,0 % de recuperação para o estriol, 41,0 % para o 17- β -estradiol e 63,0 % para o 17- α -etinilestradiol.



substância; bem como a alta concentração de oxigênio dissolvido (superior à 10 mg.L^{-1}) à eutrofização (BRASIL, 2004).

O valor de oxigênio dissolvido variou de 6,8 à $6,9 \text{ mg.L}^{-1}$ (Figura 41) nos pontos coletados do Rio Sapucaí, sendo estes superiores a 5 mg.L^{-1} e abaixo de 10 mg.L^{-1} , o que indica uma água dentro do limite de oxigenação esperado.

A temperatura também tem grande influência na vida aquática, pois, além de influenciar as atividades biológicas e crescimento da biota, também interfere na dissolução de substâncias importantes para manutenção dos seres aquáticos. Este parâmetro varia normalmente ao longo do dia e das estações do ano, porém, pode ser afetado devido a alta carga de efluentes que são lançadas nos corpos hídricos (BRASIL, 2004).

As temperaturas encontradas nos pontos de coleta são adequadas para a manutenção da vida aquática, variando de $18,8^\circ\text{C}$ (ponto 2) à $21,2^\circ\text{C}$ (ponto 3) para os pontos coletados do Rio Sapucaí. No centro da cidade (ponto 2), a temperatura determinada foi mais baixa ($18,8^\circ\text{C}$), já que a cobertura (construções civis) nessa área é maior do que nos demais pontos (1 e 3).

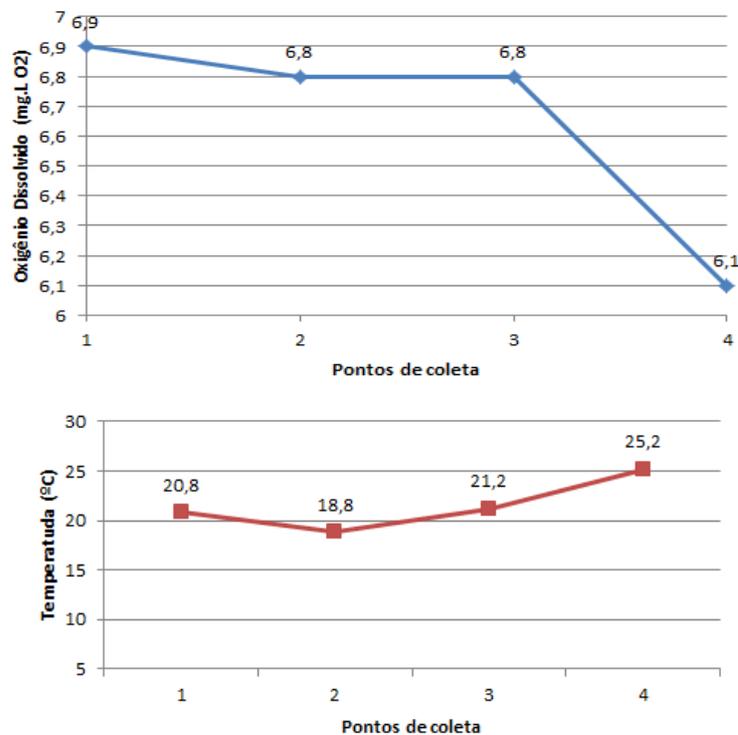


Figura 41 – Curvas de variação de oxigênio dissolvido e temperatura nos pontos de coleta.

Fonte: Autora, 2015.

6.3.2. Análise de potencial hidrogeniônico – pH

O pH afeta o metabolismo de várias espécies aquáticas. A Resolução CONAMA nº 357 de 2005 (BRASIL, 2005) estabelece que para a proteção da vida aquática o pH deve estar entre 6 e 9. Alterações nos valores de pH também podem aumentar o efeito de substâncias químicas que são tóxicas para os organismos aquáticos, tais como os metais pesados. Para os pontos de coleta, os valores de pH encontrados variaram entre 7,0 e 7,2, demonstrando que estão adequados para a biota aquática.

6.3.3. Análise de coliformes termotolerantes

Para as análises de coliformes termotolerantes, foram obtidos os resultados descritos na Tabela 35.

Tabela 35 – Análises de coliformes termotolerantes para cada ponto de coleta.

Ponto	Análise	Concentração (NMP/100mL)
1	Coliformes totais	22300
	Coliformes fecais	1500
2	Coliformes totais	53800
	Coliformes fecais	34400
3	Coliformes totais	46110
	Coliformes fecais	7820
4	Coliformes totais	0
	Coliformes fecais	0

Fonte: Autora, 2015.

Segundo Portaria 2914 (BRASIL, 2011), o padrão microbiológico da água para consumo humano (Tabela 36), na saída do tratamento e no sistema de distribuição (reservatórios e rede) deve ser ausente para análises de coliformes totais, o que é possível observar no ponto 4, o qual representa água após tratamento de água.

Tabela 36 – Tabela de padrão microbiológico da água para consumo humano.

Tipo de água		Parâmetro	VMP ^(*)
Consumo humano		Escherichia coli	Ausência em 100 mL
Na saída do tratamento		Coliformes totais	Ausência em 100 mL
Tratada	Escherichia coli		Ausência em 100 mL
	No sistema de distribuição (reservatório e rede)	Coliformes totais	Sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem menos de 20.000 habitantes
			Sistemas ou soluções alternativas coletivas que abastecem a partir de 20.000 habitantes
			Apenas uma amostra, entre as amostras examinadas no mês, poderá apresentar resultado positivo
		Ausência em 100 mL em 95% das amostras examinadas no mês.	

Fonte: BRASIL, 2011.

Para os demais pontos temos que os resultados de coliformes totais variam entre 22300 a 53800 NMP/100 mL e fecais entre 1500 a 46110 NMP/100 mL. O ponto 2 apresentou maiores valores de coliformes totais e coliformes fecais, 53800 NMP/100 mL e 34400 NMP/100 mL, respectivamente.

Para o ponto 2, situado no centro da cidade, há maior contaminação por descarga de efluentes domésticos e ação antrópica, o que faz com que a carga microbiológica aumente. Já o Ponto 1 é o que apresenta menor valor de coliformes fecais e totais, situa-se na entrada da cidade (sentido Pouso Alegre – Itajubá), recebendo lançamento de efluentes tratados, o que faz com que a carga microbiológica deste ponto seja baixa.

6.3.4. Análise de turbidez

A turbidez está relacionada com a quantidade de sólidos em suspensão no corpo hídrico, que fazem com que a luz sofra dispersões, sendo, então, medida. Este parâmetro pode indicar erosão nos solos e atividades mineradoras próximas ao efluente, e poluição por esgotos e efluentes industriais. A turbidez pode ser provocada também pela presença de algas, plâncton, matéria orgânica e muitas outras substâncias como o zinco, ferro, manganês e areia, resultantes do processo natural de erosão do solo. Os altos resultados de turbidez são prejudiciais aos organismos aquáticos, e impacta no uso industrial, atividades recreativas e no

tratamento das águas, elevando seus custos, pois, é necessário utilizar maior quantidade de produtos químicos (BRASIL, 2004).

Segundo Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), que dispõe sobre as metodologias de controle da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, dispõe que a água deve ter valores máximos de 1,0 uT para 95% das amostras, para garantia da qualidade microbiológica da água, o que corresponde ao valor encontrado para o ponto 3, água que passou pelo tratamento.

Para as águas de rios, a turbidez é determinada conforme classificação do rio; seus valores estão descritos na Tabela 37.

Tabela 37 – Limites de turbidez segundo as classes dos rios.

Classe	Limite de turbidez (NTU)
1	40
2	100
3	100

Fonte: BRASIL, 2005.

O Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, diante da Resolução nº 357, de 17 de março de 2005 (BRASIL, 2005), estabeleceu critérios sobre a classificação dos corpos de água superficiais e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como as condições e padrões de lançamento de efluentes, sendo, portanto, o Rio Sapucaí enquadrado como rio de classe 2 segundo essa mesma resolução, e tendo, portanto, o limite de turbidez de 100 NTU. Assim, todos os valores encontrados nos pontos de estudo (Tabela 38) encontram-se em conformidade com o limite estabelecido, estando bem abaixo do determinado, o que indica uma pequena quantidade de sólidos em suspensão nas águas do Rio Sapucaí.

Tabela 38 – Resultados de turbidez para os pontos analisados.

Ponto	Turbidez (NTU)
1	17,3
2	14,6
3	12,4
4	0,6

Fonte: Autora, 2015.

6.3.5. Análise de Demanda Química de Oxigênio – DQO

A curva de calibração de Demanda Química de Oxigênio (DQO) x absorvância foi determinada, obtendo-se ótima correlação linear (R^2 próximo à 1) (Figura 42).

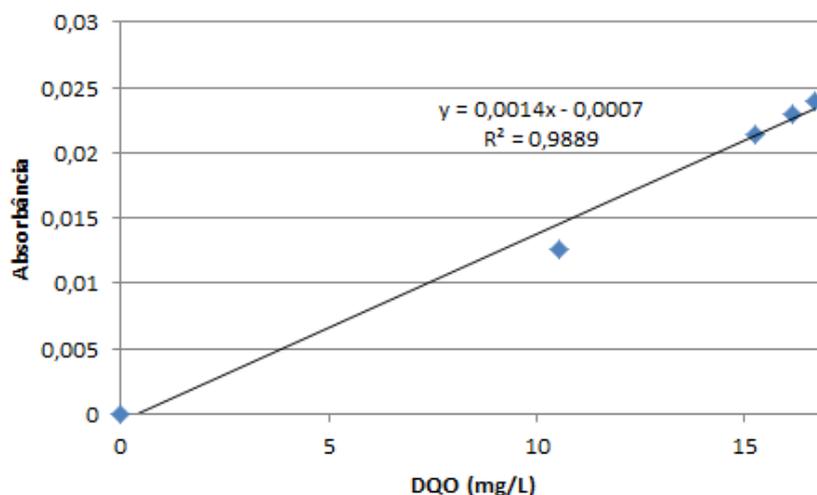


Figura 42 – Curva de calibração de Demanda Química de Oxigênio (DQO) x absorvância.

Fonte: Autora, 2015.

Assim, a partir dos resultados de absorvância dos pontos amostrados, tem-se que os resultados de DQO para os quatro pontos analisados foram calculados e dispostos na Tabela 39.

Tabela 39 – Resultados de DQO para os pontos analisados.

Pontos	DQO média (mg.L ⁻¹)
1	19,6
2	13,8
3	16,7
4	4,1

Fonte: Autora, 2015.

O parâmetro de DQO é um indicador da concentração da matéria orgânica presente nos corpos hídricos. Não há referências nas Resoluções CONAMA 357 (BRASIL, 2005) e 430 (BRASIL, 2011), bem como na Portaria 2914 (BRASIL, 2011) a respeito do parâmetro de DQO na classificação dos corpos d'água e nos padrões de lançamento de efluentes líquidos, estabelecendo apenas limites para o parâmetro de DBO, porém, apesar disso, a DQO

é um parâmetro muito utilizado no monitoramento das águas para a avaliação da contaminação dos efluentes industriais (BADO; PERCIO; LINDINO, 2013).

Para os pontos amostrados, os resultados obtidos de DQO foram próximos, tendo-se uma variação de $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$ entre o ponto de menor (ponto 2) e o ponto de maior DQO (ponto 1). É importante, para os estudos de qualidade da água, correlacionar os resultados obtidos de DQO com aqueles resultantes das análises de DBO. Como a DBO mede apenas a fração biodegradável enquanto a DQO mede toda a degradação de carga orgânica, os valores do segundo parâmetro são sempre maiores, sendo que, quanto mais a DBO se aproxima dos valores de DQO, mais biodegradável é o efluente (SÃO PAULO, 2009).

6.3.6. Análise de Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO

Os resultados de Demanda Bioquímica de Oxigênio para cada um dos pontos analisados estão descritos na Tabela 40.

Tabela 40 – Resultados de DBO para os pontos analisados.

Pontos	OD inicial ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	OD final ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	DBO média ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)
Branco	6,2	6,1	0,1
1	6,2	3	18,36
	6,4	3,5	
	6,4	4,1	
2	6,5	3,4	12,67
	6,5	3,4	
	6,4	3,2	
3	6,2	3,7	15,22
	6,3	3,4	
	6,2	4,2	
4	7,6	4,5	3,2
	7,4	4,7	
	7,4	4,0	

Fonte: Autora, 2015.

O parâmetro de DBO refere-se a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica, medida através do índice $\text{DBO}_{5,20}$ que determina a quantidade de oxigênio consumido durante 5 dias à temperatura de 20°C . O valor de DBO, caso apresente-se acima do permitido pela legislação CONAMA 430 (BRASIL, 2011), pode caracterizar o lançamento

de carga orgânica no corpo receptor, e geralmente estão relacionados com a diminuição dos valores de oxigênio dissolvido na água.

Segundo a Resolução CONAMA 20 (BRASIL, 1986) e resolução 430 (BRASIL,2011), a DBO_{5,20} para a classe 2, a qual se enquadra o Rio Sapucaí, deve ser de, no máximo, 5 mg O₂.L⁻¹. Verificando os resultados encontrados para os pontos de coleta, nenhum deles atende a resolução, indicando altos valores de carga orgânica (Tabela 40).

Para água de abastecimento público na cidade de Itajubá, o valor encontrado é baixa, abaixo de 5 mg O₂.L⁻¹, o que demonstra eficiência de remoção da carga orgânica no tratamento de efluente ao qual o Rio Sapucaí é submetido.

Verificando a relação existente entre DQO e DBO, tem-se que a relação entre elas é próxima de 1 (conforme demonstrado na Tabela 41), o que significa que o efluente, apesar de apresentar altas concentrações de DBO, é biodegradável (SÃO PAULO, 2009).

Tabela 41 – Relação entre os resultados de DQO e DBO encontradas nos pontos analisados.

Pontos	DQO/DBO _{5,20}
1	1,24
2	1,13
3	1,10
4	1,28

Fonte: Autora, 2015.

6.3.7. Análise de fósforo total

A curva de calibração de fósforo total x absorvância foi determinada, obtendo-se boa correlação linear (R^2) (Figura 43).

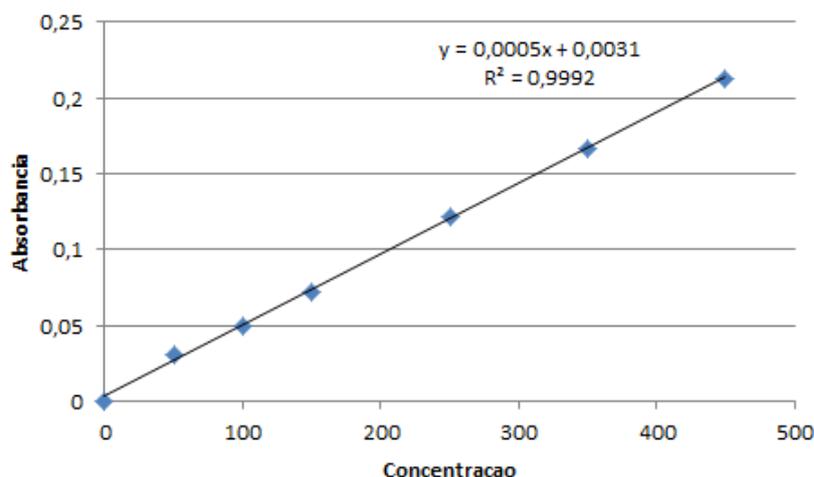


Figura 43 – Curva de calibração de fósforo total x absorvância.

Fonte: Autora, 2015.

Assim, a partir dos resultados de absorvância das amostras dos diferentes pontos amostrados, tem-se que os resultados de concentração de fósforo total para os quatro pontos analisados foram calculados e dispostos na Tabela 42.

Tabela 42 – Resultados de fósforo total para os pontos analisados.

Ponto	Concentração média (mg.L ⁻¹)
1	28,5
2	21,1
3	27,8
4	7,1

Fonte: Autora, 2015.

O desenvolvimento da biota aquática depende dos nutrientes (fósforo, nitrogênio, carbono, entre outros), porém, em excesso, eles podem causar a eutrofização das águas (VON SPERLING, 2005). O fósforo é inserido nas águas geralmente por uso de fertilizantes e na forma de fosfato particulado, fosfato orgânico dissolvido e/ou fosfato inorgânico dissolvido, este último sendo a principal forma de fósforo assimilada pelos vegetais aquáticos (BRASIL, 2011).

A Resolução CONAMA 430 (BRASIL, 2011) estabelece que os padrões para o parâmetro fósforo pode ser definido por cada órgão ambiental competente, como por exemplo, 1 mg.L⁻¹ para o estado do Rio de Janeiro (RIO DE JANEIRO, 1986) e 0,1 mg.L⁻¹ para o estado de Minas Gerais (MINAS GERAIS, 2008).

Os limites de concentração deste elemento, para cada estado trófico também variam (Tabela 43).

Tabela 43 – Estados tróficos de lagos temperados e tropicais (fósforo total em $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Estado trófico	Concentração de fósforo ($\mu\text{g.L}^{-1}$) em lagos	Concentração de fósforo ($\mu\text{g.L}^{-1}$) em lagos
	temperados	tropicais
Ultra-oligotrófico	<5	<10
Oligotrófico	5 – 10	>10
Mesotrófico	10 – 30	>20
Eutrófico	10 – 100	>50
Hipertrófico	>100	>200

Fonte: ESTEVES, 1998.

Os resultados encontrados nas águas do Rio Sapucaí enquadrariam o mesmo em um nível mesotrófico, isso significa que estão em um estado trófico intermediário, entre as situações de baixo teor em nutrientes (oligotróficos) e de grande enriquecimento de nutrientes (eutróficos).

6.3.8. Análise de nitrogênio total – método de Kjeldahl

Os resultados de nitrogênio total para os quatro pontos analisados foi abaixo do limite de quantificação do método de titulação. O nitrogênio é encontrado nos corpos hídricos na forma de nitrogênio orgânico, amoniacal, nitrito e/ou nitrato, sendo este último tóxico aos seres humanos, causando a metahemoglobinemia infantil (letal) quando em altas concentrações (BRASIL, 2004). Assim como o fósforo, o nitrogênio é um nutriente que pode causar a eutrofização, tendo como fonte de lançamento os fertilizantes agrícolas, esgotos e efluentes industriais (BRASIL, 2004).

Segundo Resolução CONAMA nº 357 (BRASIL, 2005), para as águas de Classe 2 é estabelecido o limite de $3,7 \text{ mg N.L}^{-1}$ para nitrogênio amoniacal, considerando pH menor que 7,5 (resultado encontrado nas análises deste parâmetro); isso significa que os resultados de nitrogênio nos pontos de coleta do Rio Sapucaí apresentam-se abaixo do limite determinado pela resolução.

Os resultados de fósforo e nitrogênio nos pontos de coleta demonstram que o Rio Sapucaí encontra-se em um estado não eutrofizado, ou seja, suas concentrações de fósforo e nitrogênio estão em equilíbrio com a necessidade da biota aquática.

6.3.9. Análise de resíduos ou sólidos totais

A análise de sólidos totais determina a matéria que permanece após procedimentos de evaporação da água ou secagem em determinado tempo e temperatura. Estes resíduos, ao se depositarem no fundo dos corpos hídricos, podem causar assoreamento e danos à vida aquática (BRASIL, 2004).

Segundo Resolução CONAMA 430 (BRASIL, 2011), o limite de sólidos dissolvidos totais nas águas de classe 2 deve ser de 500 mg.L^{-1} , estando, portanto, todos os pontos coletados abaixo dos limites pré estabelecidos, conforme demonstrado na Tabela 44, o que define que esses pontos do Rio Sapucaí não apresentam assoreamento.

Tabela 44 – Resultados de resíduos totais para os pontos analisados.

Ponto	Sólidos totais (mg.L^{-1})
1	90,0
2	106,7
3	96,7
4	6,7

Fonte: Autora, 2015.

A Resolução CONAMA 20 (BRASIL, 1986) determina que o valor máximo de sólidos totais dissolvidos nas águas de abastecimento público também é de 500 mg.L^{-1} , já que, excesso de sólidos pode ocasionar problemas de salinização no solo, bem como alterar o parâmetro de condutividade de águas; assim, o ponto 4, que representa água de abastecimento, possui valor de sólidos totais abaixo do limite estabelecido.

6.3.10. Análise do Índice de Qualidade da Água

Os resultados dos parâmetros relacionados ao Índice de Qualidade de Água, bem como o valor deste índice, estão dispostos na Tabela 45, para as duas campanhas de coletas realizadas.

Tabela 45 – Média dos parâmetros do Índice de Qualidade da Água para cada ponto de coleta, considerando as duas campanhas de coletas realizadas.

Parâmetro	Primeira coleta				Segunda coleta			
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4
Oxigênio Dissolvido (mg.L ⁻¹)	6,9	6,8	6,8	6,1	6,8	6,6	6,1	6,1
Temperatura (°C)	20,8	18,8	21,2	25,2	32,2	27,9	27,8	24,5
Nitrogênio total (mg.L ⁻¹)	0	0	0	0	0	0	0	0
Fósforo total (mg.L ⁻¹)	28,5	21,1	27,8	7,1	9,8	17,1	15,1	6,5
Coliformes termotolerantes (nmp/100mL)	1500	7820	3440	0	6400	11100	12400	0
pH	7,1	7,1	7,0	7,2	7,5	7,1	7,2	7,4
Turbidez (NTU)	17,3	14,6	12,4	0,6	11,9	6	6,4	0,5
Sólidos totais (g.L ⁻¹)	90,0	106,7	96,7	6,7	60	70	83,3	16,7
Demanda Bioquímica de Oxigênio (mg.L ⁻¹)	18,4	12,7	15,2	3,2	20,5	11,6	16,0	2,0
Classificação segundo parâmetros IQA	43	44	43	68	46	36	37	70

Fonte: Autora, 2015.

Considerando a classificação do Índice de Qualidade da Água para o estado de Minas Gerais, conforme Tabela 46, tem-se que, nas duas coletas realizadas, para os pontos 1, 2 e 3, representando os diferentes pontos do Rio Sapucaí, foi ruim, e para o ponto 4, água da rede de distribuição de Itajubá, razoável.

Tabela 46 – Classificação da qualidade da água para o estado de Minas Gerais.

Faixas de IQA	Avaliação da Qualidade da Água
91-100	Ótima
71-90	Boa
51-70	Razoável
26-50	Ruim
0-25	Péssima

Fonte: BRASIL, 2004.

Segundo trabalho de Andrade e colaboradores (2014), os índices de qualidade da água foram determinados em cinco pontos da cidade de Itajubá, sendo um a montante, três no perímetro urbano e um a jusante, em períodos de estiagem e períodos chuvosos, tendo, para o período de estiagem, os seguintes resultados de IQA para a montante, perímetro urbano e jusante, respectivamente: 59, 57 e 53, considerados razoáveis pela classificação da qualidade da água para o estado de Minas Gerais. Assim, é possível verificar que, após um ano

decorrido das análises dos autores supracitados, o índice de qualidade da água do Rio Sapucaí na extensão considerada decaiu, evidenciando a degradação da qualidade da água que pode ser agravada pelo período de estiagem intensa que se estabeleceu na região durante este período.

6.4. Determinação da concentração dos interferentes endócrinos

Foram determinadas as concentrações dos interferentes endócrinos em estudo (estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) e 17 α -etinilestradiol (EE2)). As concentrações dos analitos, considerando a detecção por HPLC utilizando a média dos resultados do detector FLU, que apresentou melhor detecção para os analitos, estão dispostos na Tabela 47.

Tabela 47 – Concentrações dos analitos através da detecção por HPLC-FLU utilizando a média dos resultados.

Analitos	Concentração - Ponto 1 (mg.L ⁻¹)	Concentração - Ponto 2 (mg.L ⁻¹)	Concentração - Ponto 3 (mg.L ⁻¹)	Concentração - Ponto 4 (mg.L ⁻¹)
Estriol	ND	0,09	0,01	0,03
17- β -estradiol	0,03	0,06	0,04	0,03
17- α -etinilestradiol	ND	ND	ND	ND
Estrona	ND	ND	ND	ND

Fonte: Autora, 2015.

Os analitos 17- α -etinilestradiol e estrona apresentaram baixas concentrações em todos os pontos, já o ponto 2 apresentou maiores concentrações dos analitos estriol e 17- β -estradiol. Os resultados estão coerentes já que, a localização do ponto 2, mais ao centro da cidade, permite a recepção de maior carga destes analitos quando comparado aos demais pontos. O interferente estriol apresentou-se em maior concentração na maioria dos pontos (2, 3 e 4); este é um estrogênio natural, que tem como excreção diária (μ g) per capita alta para mulheres grávidas, conforme demonstrado pela Tabela 48. O estriol é encontrado em fármacos como o Ovestrion, remédio indicado para mulheres que sofrem com a deficiência de estrogênio, hiperplasia escamosa vulvar, sintomas vasomotores da menopausa, e para terapia pré e pós operatórias em mulheres pós-menopausa submetidas à cirurgia vaginal e vaginite atrófica.

Tabela 48 – Excreção diária (μg) per capita de estrogênios por humanos.

Categoria	Estrona	17-β-estradiol	Estriol	17-α-etinilestradiol
Homens	3,9	1,6	1,5	-
Mulheres menstruando	8	3,5	4,8	-
Mulheres na menopausa	4	2,3	1	-
Mulheres grávidas	600	259	6000	-
Mulheres	-	-	-	35

Fonte: GHISELLI; JARDIM, 2007

Segundo dados do IBGE (BRASIL, 2010), a porcentagem de mulheres em idade fértil, considerado de 15 a 44 anos, é de 23,3%, e de mulheres idosas que estão na idade da menopausa, considerado de 60 a 99 anos, de 7,0% em Itajubá (MG). Segundo DATASUS (BRASIL, 2013), nasceram 1279 crianças em 2013, em Itajubá (MG). Considerando essas informações, é possível verificar que a excreção do interferente estriol é alta nessa região.

Segundo trabalho de Daniel e Lima (2014), que detectaram a presença de estriol, β -estradiol, 17- α -etinilestradiol e estrona nas águas do córrego Tubarão (Santo André, SP), foram as concentrações encontradas de estriol e estrona as maiores, apresentando valores de $0,4 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,32 \text{ g.L}^{-1}$ respectivamente.

Para Dallegrave (2012), dentre os cinco compostos emergentes detectados no Rio Gravataí e Arroio Dilúvio, o estriol apresentou maiores concentrações, $715,8 \text{ ng.L}^{-1}$. Dias (2014) também apresenta resultados de determinação de compostos interferentes endócrinos na entrada e saída de estações de tratamento de água, verificando valores de $0,035 \text{ mg.L}^{-1}$ de estrona, $0,34 \text{ mg.L}^{-1}$ de 17- β -estradiol e $0,00007 \text{ mg.L}^{-1}$ de estriol nas águas brutas.

Trabalhos como os de Baronti et al. (2000) demonstram a presença desses interferentes em águas de países como a Europa, onde os quatro estrógenos (estriol, estrona, estradiol e etinilestradiol) foram monitorados em águas do Rio Tibre e detectados em concentrações entre $0,04 \text{ ng.L}^{-1}$ (estradiol) e $1,5 \text{ ng.L}^{-1}$ (estrona). Bradley et al. (2014) detectaram ainda os mesmos compostos em águas naturais dos Estados Unidos, tendo encontrado concentrações de $0,073 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ do interferente 17- α -etinilestradiol, 9 ng.L^{-1} do interferente 17- β -estradiol, $0,027 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ do interferente estrona, e $0,019 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$ do interferente estriol.

Assim, é possível verificar que diversos trabalhos demonstram quantificação dos hormônios estudados, sendo o estriol detectado em diversos estudos e em concentrações similares ou maiores do que as detectadas no presente trabalho. Dentre os compostos

estudados, o estriol foi escolhido para os estudos de Processos Oxidativos Avançados, por este estar presente em maior concentração na maior parte das amostras avaliadas.

6.5. Degradação por Processos Oxidativos Avançados

6.5.1. Estudo da degradação do estriol por reação de Fenton

Para a otimização do processo de Fenton, variando-se a concentração de ferro - Fe(II) (composto $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e mantendo-se fixo o valor de concentração de peróxido de hidrogênio 30% (H_2O_2), foram obtidos os resultados que se seguem na Figura 44.

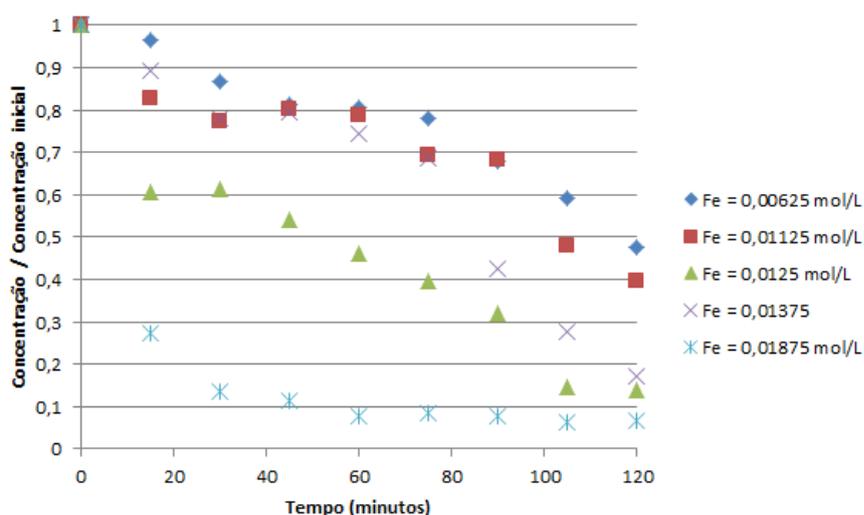


Figura 44 – Curvas de otimização do Fe(II) para a degradação por reação de Fenton, mantendo concentração de H_2O_2 constante.

Fonte: Autora, 2015.

Conforme pode ser analisado através dos resultados obtidos, foi possível verificar que a concentração ótima do Fe(II) foi estabelecida em $0,0125 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, com degradação de 86%. Após a determinação da melhor concentração de Fe(II) necessária para destruição, foi analisada a concentração ótima de peróxido 30%. Para isso, a concentração de H_2O_2 a 30% foi variada enquanto a concentração de ferro - Fe(II) (composto $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) foi mantida fixa, obtendo-se os resultados que se seguem na Figura 45.

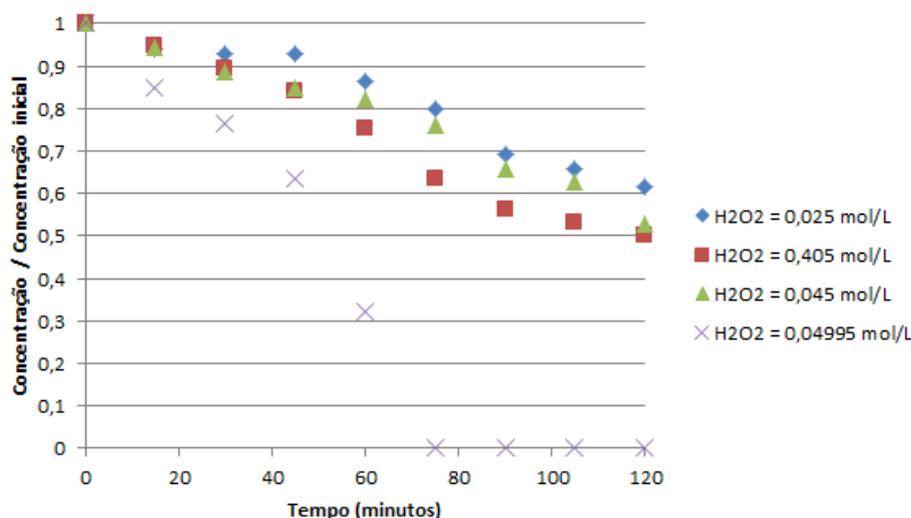


Figura 45 – Curvas de otimização do H_2O_2 para a degradação por reação de Fenton mantendo concentração de $Fe(II)$ constante.

Fonte: Autora, 2015.

A concentração ótima do H_2O_2 foi estabelecida em $0,04995 mol.L^{-1}$, utilizando a menor quantidade de reagentes ($Fe(II)$ e H_2O_2) e com remoção de 100%. Após a determinação da otimização de H_2O_2 e de $Fe(II)$ necessária para destruição, tais concentrações foram utilizadas para os experimentos posteriores, uma vez que os valores encontrados resultaram na maior eficiência de degradação (Figura 46).

Foram também realizadas as análises controle (Figura 46), sendo possível verificar que não ocorre remoção completa do estriol utilizando apenas um dos fatores ($Fe(II)$ ou H_2O_2), onde, para cada um dos casos, a degradação foi de 22% e 32% em 120 minutos, respectivamente, sendo necessário que ambos atuem em conjunto para que a degradação do estriol possa ocorrer.

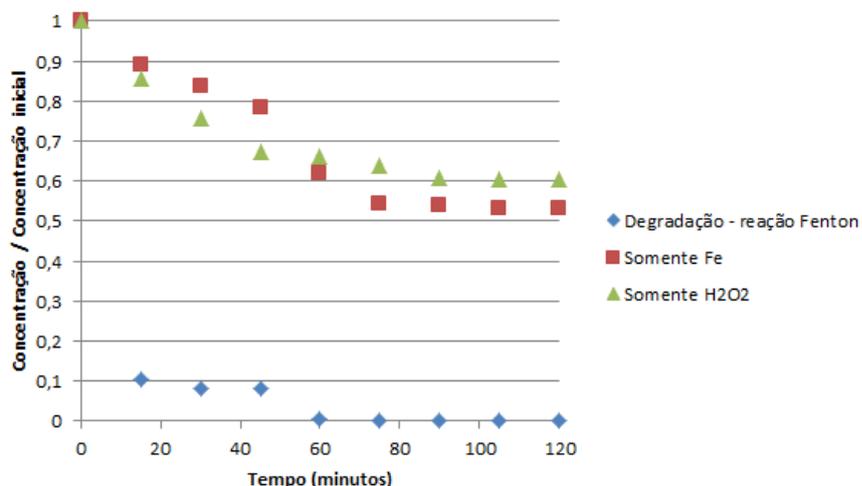


Figura 46 – Curvas de degradação por reação de Fenton e dos controle dessa degradação para o composto estriol.

Fonte: Autora, 2015.

6.5.2. Estudo da degradação do estriol por reação de foto-Fenton

Após identificar quais as melhores concentrações a serem utilizadas para Fe(II) e H₂O₂, e realizado o estudo da degradação de estriol pelo processo Fenton, também foi realizado o estudo da degradação pela reação de foto-Fenton considerando, primeiramente, a luz UV artificial e, em seguida, a radiação solar. Foram também realizadas as análises controle (Figura 47).

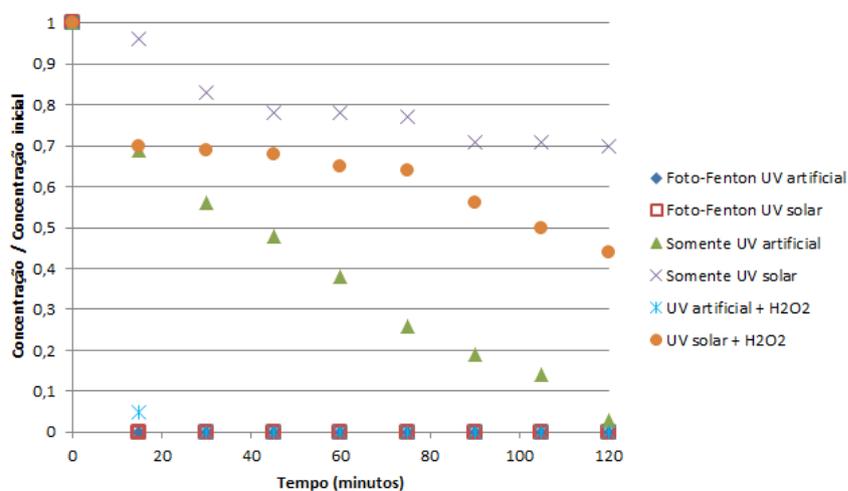


Figura 47 – Curvas de degradação por reação foto-Fenton luz UV artificial e luz UV solar e dos controles dessas degradações para o composto estriol.

Fonte: Autora, 2015.

Foi possível verificar que, no caso da degradação apenas com luz UV artificial e a soma dessa com H_2O_2 a degradação é completa, o que demonstra o forte poder de degradação destes compostos e a suscetibilidade do composto estriol a estes fatores. No caso da degradação utilizando apenas radiação solar e radiação solar/ H_2O_2 , não ocorre degradação completa, sendo necessário que ambos atuem em conjunto para que a degradação do estriol possa ocorrer. Tanto a degradação por foto-Fenton UV artificial e foto-Fenton UV solar foram de 100%, sendo que para a radiação artificial, a degradação completa ocorre em 15 minutos de reação, enquanto a degradação com radiação UV solar chega a mais de 95% em 120 minutos.

Não foi possível encontrar dados na literatura a respeito da degradação do composto estriol, porém, para trabalhos, como os de Durigan, Vaz e Peralta-Zamora (2012), que realizaram a degradação por Fenton e foto-Fenton de interferentes endócrinos, como 17- β -estradiol, tem-se que os resultados encontrados foram de que ocorre degradação do composto no processo Fenton (como no caso do 17- β -estradiol, em 10 minutos de reação), e maior efetividade na degradação por processos foto-Fenton (no mesmo caso do exemplo acima, em 10 minutos de tratamento, com importante mineralização em tempos da ordem de 20 minutos).

Trabalhos como os dos autores Romero e colaboradores (2016) também confirmam o fato da degradação foto-Fenton ser mais efetiva, tendo como resultado uma degradação de mais de 90% dentro de 20 à 50 minutos para o processo Fenton e de mais de 95% de degradação em 3 minutos para o processo foto-Fenton para o metoprolol, uma droga beta-bloqueadora utilizada para tratar angina (dor no peito) e hipertensão arterial, bem como utilizado para tratar ou prevenir ataques cardíacos.

Assim, é possível verificar que os resultados obtidos no presente estudo corroboram com os encontrados por diversos autores para outros contaminantes emergentes.

6.5.3. Estudo da degradação do estriol por TiO_2 /UV

Para realização do estudo da degradação utilizando o semicondutor dióxido de titânio, foi utilizada radiação UV artificial e também solar. Primeiramente, foi realizada a otimização

da quantidade de dióxido de titânio necessária para a degradação do estrogênio estriol, obtendo-se os resultados conforme Figura 48.

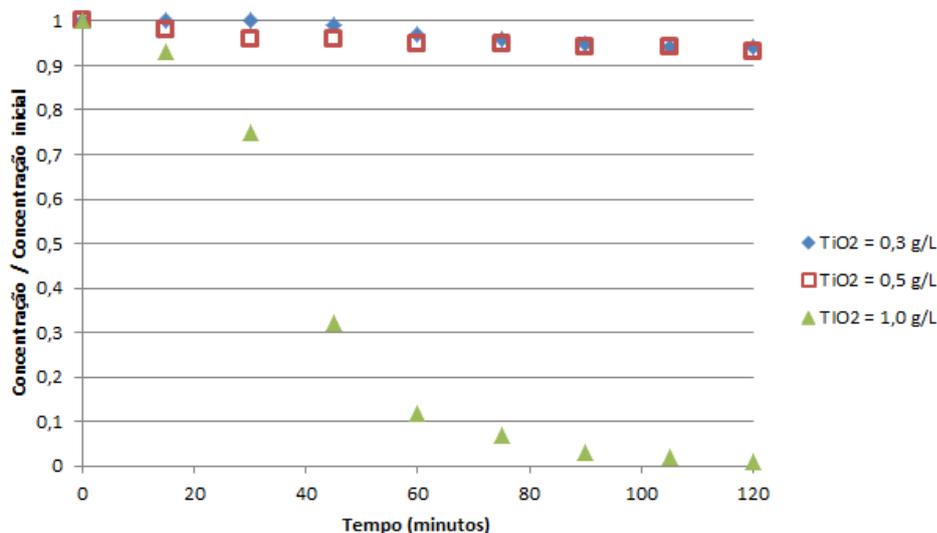


Figura 48 – Curvas de otimização do TiO₂ para a degradação do estriol.

Fonte: Autora, 2015.

Assim, a concentração ótima do TiO₂ foi estabelecida em 1,0 g.L⁻¹. Autores como Mallak e colaboradores (2015) estudaram a degradação do fenol por fotocatalise heterogênea com TiO₂, obtendo-se a mesma concentração ótima de 1,0 g.L⁻¹ do dióxido de titânio em sua metodologia. Já para o estudo de Andrade e Lopes (2015), cuja degradação por processos de fotocatalise heterogênea com TiO₂ foi para os compostos amoxicilina, atenolol e cafeína, a concentração do catalisador foi de 0,3 g.L⁻¹.

Após a determinação da otimização da quantidade de TiO₂ necessária para degradação, foi realizada a degradação por reação utilizando semicondutor TiO₂/UV artificial, e UV solar. Foram também realizadas as análises controle (Figura 49).

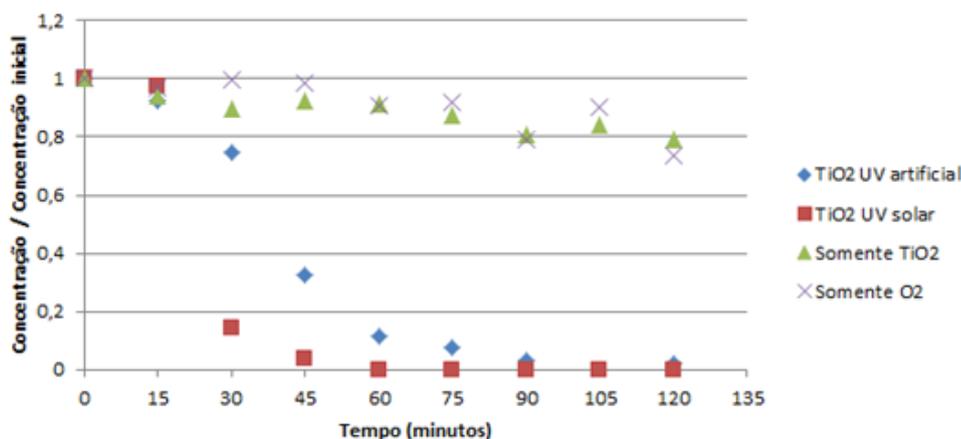


Figura 49 – Curvas de degradação por reação TiO_2 / UV artificial e solar e dos controles dessas degradações para o composto estriol.

Fonte: Autora, 2015.

Pode-se induzir, através da análise dos resultados obtidos, que o estriol sofre degradação completa entre 60 e 90 minutos quando realizada degradação utilizando dióxido de titânio radiação solar e artificial, respectivamente.

6.5.4. Estudo de degradação do estriol por POAs

É possível verificar que, dentre os processos estudados de degradação do estriol, o que apresentou melhor eficiência, do ponto de vista cinético, foi o processo utilizando reação foto-Fenton UV artificial, atingindo degradação completa em 15 minutos de reação. Todas as demais degradações ocorreram de forma completa, porém em tempos que variavam de 60 (degradação por reação Fenton e processo TiO_2 /UV solar), 90 (processo TiO_2 /UV artificial) e 120 (reação foto-Fenton UV solar) minutos de reação.

Diversos estudos de degradação dos interferentes endócrinos através de processos oxidativos avançados vêm sendo realizados (TIBURTIUS et al., 2005; GAMA, 2012), porém, na literatura, não são frequentes relatos acerca da degradação do composto estriol.

6.6. Avaliação de TOC

A molécula de estriol possui fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$, sendo esperado, portanto, uma massa de 75 mg de carbono em 100 mg de estriol.

Foram feitas as análises de TOC para todas as degradações realizadas (degradação por reação Fenton, reação por degradação por foto-Fenton luz UV artificial e solar e reação utilizando semicondutor dióxido de titânio em conjunto com radiação UV artificial e solar), conforme Figura 50.

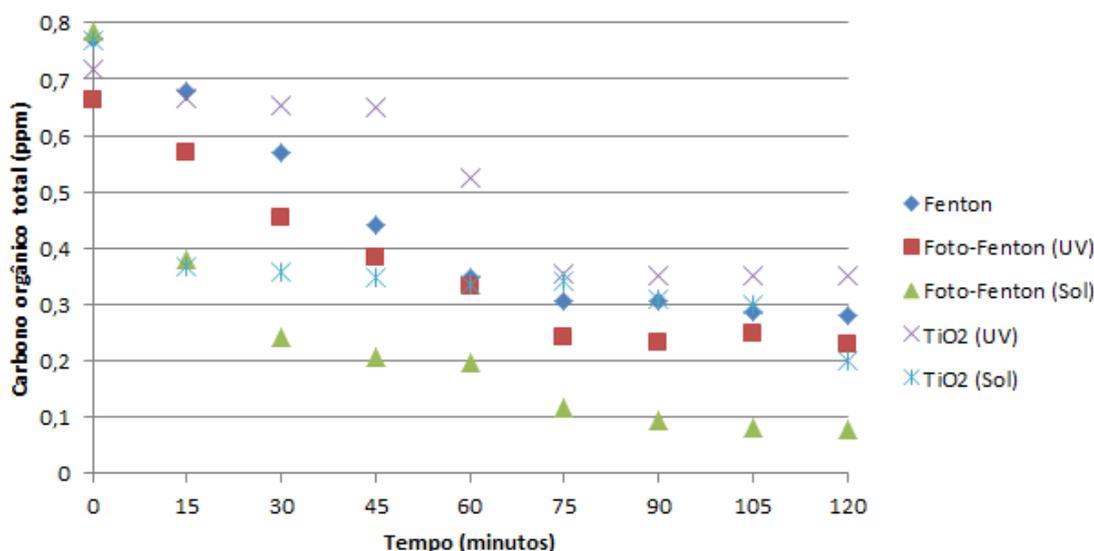


Figura 50 – Decaimento da carga orgânica (TOC) para as degradações realizadas no presente trabalho.

Fonte: Autora, 2015.

Com base na análise de carbono orgânico total pode-se inferir que as degradações apresentaram decaimento de carga orgânica de 31% para degradação por reação Fenton, 58% para degradação por reação foto-Fenton radiação UV artificial, 90% para degradação por foto-Fenton radiação solar, 51% para degradação por reação utilizando semicondutor TiO₂ radiação UV artificial, e 68% para degradação por reação utilizando semicondutor TiO₂ radiação solar. Assim, a degradação por foto-Fenton radiação solar foi mais eficiente, já que o sol apresenta as radiações UV, VIS e IV, o que pode acelerar a mineralização do composto. Apesar do resultado atingido, 90% de decaimento, ser muito efetivo e demonstrar degradações eficientes, é possível inferir que ainda existe carga orgânica presente, o que pode corresponder a formação de subproduto.

Diversos autores abordaram a utilização de Processos Oxidativos Avançados para degradação de interferentes endócrinos, observando o decaimento do teor de carbono orgânico total como resposta para a eficiência da degradação. Estudos como os de Cruz et al. (2010) relatam a respeito da degradação fotocatalítica de três fármacos (sulfametoxazol, trimetoprima e diclofenaco) e demonstram que processos de fotocatalise heterogênea são

eficientes para os fármacos bem como quando é utilizado o semicondutor dióxido de titânio, porém, os autores descrevem as diferenças observadas nos resultados obtidos pela degradação mediada por TiO_2 ou ZnO , o que sugere diferenças entre os processos. Pereira (2011) também demonstra que a degradação dos compostos estrona e 17- β -estradiol utilizando cloro e ozônio, apesar de eficiente, faz com que haja formação de subprodutos.

Assim, apesar das degradações dos compostos em sua maioria serem eficientes, isso não garante a redução de toxicidade, nem mineralização completa, indicando a formação de compostos intermediários, já que a degradação dos compostos envolve diferentes etapas e reações (MELO et al., 2009). Portanto, conhecer e identificar as etapas e seus processos nos faz entender quanto a toxicidade, atividade funcional e destino no ambiente destes compostos. Para o estudo em questão os possíveis intermediários não foram determinados nem quantificados, porém, estudos demonstram que intermediários de degradação podem ser mais tóxicos que o composto inicial (MELO et al., 2009), o que faz com que um estudo toxicológico seja importante e necessário para a avaliação.

6.7. Teste ecotoxicológico

Para o teste ecotoxicológico foi utilizada água de uma mina, pois são propícias para o desenvolvimento das *Daphnias*. Foram avaliados os resultados de degradação do estriol e de TOC para definir qual degradação seria utilizada no teste ecotoxicológico.

Determinou-se a utilização da degradação por processo TiO_2 para estudo ecotoxicológico, já que a degradação por Fenton e/ou foto-Fenton possui peróxido de hidrogênio, que interfere no desenvolvimento dos organismos teste (*Daphnia*), não sendo, no laboratório de estudo, possível sua remoção. A degradação (Figura 51) foi de aproximadamente 60% bem como o decaimento da carga orgânica (Figura 52).

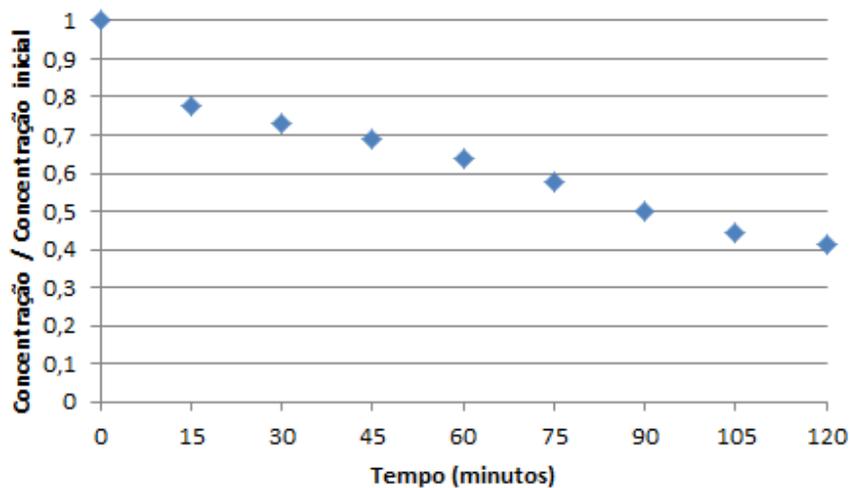


Figura 51 – Curva de degradação do estriol por reação utilizando semicondutor TiO_2 radiação UV (água de mina).

Fonte: Autora, 2015.

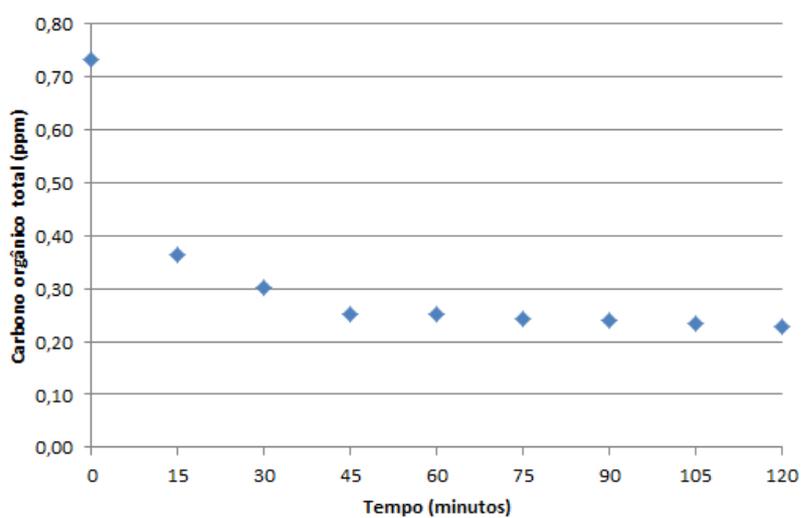


Figura 52 – Decaimento de carga orgânica (TOC) para degradação do estriol por reação utilizando semicondutor TiO_2 radiação UV (água de mina).

Fonte: Autora, 2015.

Na Tabela 49 estão dispostos os resultados das análises físico-químicas para o período de início do teste agudo e após 48 horas.

Tabela 49 – Parâmetros físico-químicos (oxigênio dissolvido, temperatura, pH, e condutividade) para as soluções testes no início do teste e após 48 h.

Soluções teste	0 horas				48 horas			
	OD (mg.L ⁻¹)	T - °C	pH	Λ (mS.cm ⁻¹)	OD (mg.L ⁻¹)	T - °C	pH	Λ (mS.cm ⁻¹)
Grupo controle	6,95	23,3	7,65	111,7	7,06	23,5	8,26	130,6
Degradação – t₀	7,46	23,2	7,6	112,3	6,94	23,3	8,09	128,4
Degradação – t₁	7,73	23,2	7,67	111,8	7,09	23,4	8,06	129,7
Degradação – t₂	7,83	23,1	7,71	114,1	7,1	23,4	8,01	130,6
Degradação – t₃	7,92	23,2	7,7	112,3	6,99	23,5	7,99	130,8
Degradação – t₄	7,84	23,2	7,69	113,1	6,65	23,5	8,31	115,8
Degradação – t₅	7,91	23,2	7,7	110,5	7,31	23,3	8,04	125,5
Degradação – t₆	7,96	23,2	7,73	113,8	7,36	23,4	8,02	128,1
Degradação – t₇	7,87	23,3	7,73	114,4	7,36	23,4	7,99	129
Degradação – t₈	8,01	23,2	7,73	113,8	7,9	23,3	7,94	127,5

Fonte: Autora, 2015.

A concentração de oxigênio dissolvido em água é um parâmetro de grande importância para se analisar as características químicas e biológicas das águas, sendo o oxigênio um dos gases mais importante na dinâmica e na caracterização de ecossistemas e considerado como a principal variável para a caracterização dos efeitos da poluição das águas por elementos orgânicos. Além de afetar a vida aquática, este parâmetro afeta também os processos biogeoquímicos (BAIRD, 2002).

Considerando o início do teste, podemos observar que os valores de oxigênio dissolvido são altos (média de 7,75 mg.L⁻¹), o que indica que a qualidade da água, considerando apenas esse parâmetro, é boa para o desenvolvimento dos microrganismos presentes. Além disso, segundo Costa et al. (2008), a água de cultivo utilizada na preparação dos testes deve apresentar teor de oxigênio dissolvido maior do que 2 mg.L⁻¹. Após o período de 48 horas, foi possível verificar que a média de oxigênio dissolvido teve uma leve queda (7,18 mg.L⁻¹), isso se deve ao fato de que os microrganismos presentes no início do teste permanecem vivos, o que proporciona uma manutenção no consumo de oxigênio dissolvido.

Dos vários parâmetros analisados, a temperatura é um fator de grande relevância nos sistemas aquáticos, pois exerce grande influência sobre as propriedades físicas e químicas da água. Elevações da temperatura aumentam a taxa das reações físicas, químicas e biológicas, diminuem a solubilidade dos gases (como o oxigênio dissolvido) e aumentam a taxa de transferência de gases. Variações de temperatura também podem interferir em fatores como a tensão superficial e a viscosidade do efluente. Este parâmetro também interfere nos processos

fisiológicos do organismo teste afetando sua taxa de sobrevivência (GUIMARÃES; LACAVA; MAGALHÃES, 2004).

Ao analisarmos a variação de temperatura do início e final do experimento, podemos inferir que esta foi pequena (sendo de 0,4 °C a variação máxima). Assim, tendo que esta temperatura se manteve praticamente constante ao longo de todo o período de teste e estando esta em uma faixa de temperatura ambiente (próxima aos 25 °C), podemos dizer que houve a manutenção do equilíbrio do funcionamento do sistema, sem alteração da qualidade da água que pudesse interferir no resultado dos testes realizados.

O pH é uma variável ambiental importante, já que suas variações pode inibir ou paralisar o metabolismo de um organismo (MORALES, 2004). Assim, observando a variação de pH ao longo do experimento, temos que os mesmos mantiveram-se próximos entre si, sendo que no início do teste houve uma média de pH de 7,69, e no final do teste a média de pH foi de 8,07, e da neutralidade, o que garante que o teste de toxicidade (imobilidade das *Daphnias similis*) não sofreu forte influência deste fator físico-químico.

A condutividade é a capacidade que a água possui de conduzir a corrente elétrica. Ela é estabelecida pela existência de íons dissolvidos que se dissociam em cátions e ânions. Os dados do teste demonstram que não houve variações acentuadas de condutividade entre as etapas inicial e final do teste de toxicidade.

Os dados dispostos na Tabela 50 se referem aos resultados de imobilidade dos organismos testes em 24 e 48 horas de exposição com o estriol e sua degradação com TiO₂.

Tabela 50 – Resultados de imobilidade dos organismos testes em 24 e 48 horas de exposição com o estriol e sua degradação por reação utilizando semicondutor TiO₂ radiação UV.

Soluções teste	0 horas		48 horas	
	Total de <i>Daphnias</i> vivas	Total de <i>Daphnias</i> mortas	Total de <i>Daphnias</i> vivas	Total de <i>Daphnias</i> mortas
Grupo controle	30	0	23	3
Degradação – t ₀	30	0	23	7
Degradação – t ₁	30	0	22	8
Degradação – t ₂	29	1	25	5
Degradação – t ₃	28	2	24	6
Degradação – t ₄	25	5	23	7
Degradação – t ₅	25	5	24	6
Degradação – t ₆	28	2	24	6
Degradação – t ₇	26	4	25	5
Degradação – t ₈	28	2	26	5

Fonte: Autora, 2015.

Para avaliar os efeitos agudos dos agentes tóxicos em testes de toxicidade, usa-se geralmente a concentração efetiva (CE_{50}) que causa mortalidade ou imobilidade a 50% dos organismos-teste (COSTA et al., 2008). Não é esperado para os compostos interferentes endócrinos a detecção de toxicidade aguda, já que os mesmos apresentam-se em pequenas concentrações no ambiente, sendo estas capazes de causar efeitos adversos à saúde dos organismos que ficam expostos a estes contaminantes por grande período de tempo, ocasionando, então, efeitos tóxicos crônicos.

O lote de água de diluição é aceitável para uso se a taxa de imobilidade e/ou mortalidade não for superior a 10%, durante um período de 48h (CESAR; SILVA; SANTOS, 1997). No tempo de 0 minutos, após 24 horas, não houve imobilidade de indivíduos, enquanto que, para o tempo de 48 horas, foi possível observar imobilidade de 3 indivíduos para o mesmo tempo, o que não ultrapassa os 10% determinados para o teste. É possível observar, para o teste em questão, que houve imobilidade de indivíduos nas leituras após 24 horas do início dos testes, a partir do tempo de 30 minutos. Após 48 horas do início dos testes, a porcentagem de imobilidade dos indivíduos aumenta, mantendo-se, porém, constantes para os períodos de 0 à 120 minutos. Assim, não foi possível utilizar o software JSPEAR, para verificar os valores de CE_{50} , pois os resultados de imobilidade demonstram que não houve taxa significativa de mortes das *Daphnias* no período de tempo estipulado para o teste, demonstrando que a substância de estudo (estriol) não apresenta toxicidade aguda bem como os prováveis subprodutos formados.

7. Conclusões

O estudo de otimização do método cromatográfico mostrou-se eficiente, apresentando seletividade (sem interferência da matriz), linearidade (coeficientes de, no mínimo 0,99), precisão intra e intercorrida (possuindo baixos desvios padrões, menores que 10%, para todas as substâncias), exatidão (maiores para o detector DAD), e robustez (apresentando altas recuperações frente as variações experimentadas, sofrendo interferências significativas quando alterado o comprimento de onda).

Os limites de detecção (LD) e quantificação determinados para as substâncias foram de LD = 0,0125 ppm para estriol, 17- β -estradiol e 17- α -etinilestradiol e LQ = 0,025 ppm para as mesmas substâncias utilizando método de detecção FLU. Já para o método de detecção DAD, o LD foi de 0,025 ppm para estriol e 17- β -estradiol e 0,05 ppm para 17- α -etinilestradiol e estrona, e LQ de 0,1 ppm para todas as substâncias.

Após os estudos de otimização do método cromatográfico, foi definida a utilização do detector FLU para a análise das amostras de água do Rio Sapucaí e de abastecimento público por apresentar melhor resolução dos picos na matriz estudada.

Com relação à otimização da extração em fase sólida (SPE), o volume que melhor apresentou resultados quanto à recuperação foi o de 3L, tendo, para a detecção FLU, 84% de recuperação para o estriol, 41% para o 17- β -estradiol e 63% para o 17- α -etinilestradiol.

Os resultados dos parâmetros relacionados ao Índice de Qualidade de Água para as duas coletas realizadas classificam as águas analisadas para os pontos 1, 2 e 3, representando os diferentes pontos do Rio Sapucaí, como ruim e para o ponto 4, de abastecimento público, como razoável.

Foram determinadas as concentrações dos interferentes endócrinos em estudo (estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) e 17 α -etinilestradiol (EE2)). O composto que apresentou maior concentração foi o estriol, estando presente nos pontos 2, 3 e 4, variando a concentração de não detectável (ponto 1) à 0,09 ppm (ponto 2, mais ao centro da cidade).

Para destruição por Processos Oxidativos Avançados foi utilizado, para acompanhamento da degradação, método cromatográfico diferente do utilizado para a detecção dos interferentes endócrinos nas águas do Rio Sapucaí e água após tratamento, pois houve problemas com a coluna anteriormente utilizada, sendo este seletivo e linear. As

remoções das reações Fenton, foto-Fenton radiação UV artificial, foto-Fenton radiação UV solar e TiO_2 / Uv artificial e solar foram efetivas para o estriol, sendo completa para todas.

Foram realizadas as análises de TOC para todas as degradações realizadas, tendo decaimento de carbono orgânico maior para reação de foto-Fenton radiação solar (90%). Não houve decaimento completo da carga orgânica para nenhuma degradação, significando que, apesar das degradações serem eficientes, ainda existe carga orgânica presente, o que pode corresponder a formação de subproduto.

Para os testes ecotoxicológicos, não se observou alterações significativas em nenhum dos parâmetros físico-químicos analisados (oxigênio dissolvido, temperatura, pH e condutividade), o que demonstra que há manutenção do equilíbrio do funcionamento do sistema, sem alteração da qualidade da água que pudesse interferir no resultado dos testes realizados. Também foi possível inferir que não há, para o período estipulado para o teste, toxicidade aguda para a substância estriol bem para os subprodutos formados.

8. Considerações finais

Os contaminantes emergentes envolvem mais de mil substâncias novas e os interferentes endócrinos fazem parte desta lista. Atualmente, essas substâncias vêm causando grande preocupação pois, entre muitos motivos, existe aumento do consumo por substâncias cada vez mais persistentes no meio ambiente. Assim, nossa exposição a estes compostos aumentou muito.

Nosso conhecimento acerca da toxicidade desses compostos e sobre o seu mecanismo de ação no corpo humano e nos organismos aquáticos é muito pequeno; assim, a pesquisa realizada é uma contribuição científica para este tema tão importante, na região de Minas Gerais e espero que a pesquisa seja importante não só no âmbito acadêmico, incentivando com que outras pessoas investiguem estes e os demais interferentes na região; mas que sirva também para que exista maior discussão a respeito deste tema tão importante, que envolve não só uma cultura socioambiental mais efetiva como também uma política social mais participativa.

9. Referências

AHERNE, G.W.; ENGLISH, J.; MARKS, V. The role of immunoassay in the analysis of microcontaminants in water samples. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York, v. 9, n. 79-83, p. 79-83, 1985.

ALMEIDA, F. S. C. de. Investigação do uso do processo Fenton no tratamento terciário de efluente agroindustrial e na degradação do antibiótico norfloxacin. 2014. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de pós graduação de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2014.

AMABIS, J. M.; MARTHO, G. R. Fundamentos da biologia moderna. 4ª edição. São Paulo: Editora Moderna, 1997.

ANDRADE, S. J. de; GODOY, J. L.; TAROZO, G.; SILVESTRE, M. A.; VELOSO, G. G.; BRAGA, L. R.; FARIA, E. D. P. Avaliação do índice de qualidade das águas (IQA) do Rio Sapucaí na cidade de Itajubá (MG). IN: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 37, 2014. Natal.

ANDRADE, F. V. de; LOPES, E. Degradação de contaminantes emergentes em meio aquoso por fotocatalise heterogênea. **Revista brasileira de ciências da vida**, Minas Gerais v. 3, p. 1-4, 2015.

ANDREOZZI, R.; RAFFAELE, M.; NICKLAS, P. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. **Chemosphere**, Oxford, v. 50, n. 10, p. 1319-1330, 2003.

AQUINO, S. F. de; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. de L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitária**, Rio de Janeiro, v. 18, n.3, p. 187-204, 2013.

ARTAL, M. C.; HOLTZ, R. D.; KUMMROW, F.; ALVES, O. L.; UMBUZEIRO, G. A. The role of silver and vanadium release in the toxicity of silver vanadate nanowires toward

Daphnia similis. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Salt Lake City, v. 32, n. 4, p. 908-912, 2013.

BADO, C.; PERCIO, J. E.; LINDINO, C. A. A Demanda Química de Oxigênio: questionamentos. **Revista Analytica**, São Paulo, n. 62, p. 44-51, 2012.

BAIRD, C. Química ambiental. 2ª edição. Porto Alegre: Bookman, 2002. 844 p.

BARONTI, C.; CURINI, R.; DÁSCENZO, G. D.; CORCIA, A.; GENTILIA, A.; SAMPERI, R. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. **Environment Science Technology**, United States, v. 32, n. 24, p. 5059-5066, 2000.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007.

BITTENCOURT, C.; PAULA, M. A. S. Tratamento de água e efluentes – Fundamentos de saneamento ambiental e gestão de recursos hídricos. Edição digital. São Paulo: Editora Érica, 2014. 184 p.

BRADLEY, P. M.; BASRDER, L. B.; DURIS, J. W.; FOREMAN, W. T.; FURLONGI, E. T.; HUBBARD, L. E.; HUTCHINSON, K. J.; KEEFE, S. H.; KOLPIN, D. W. Surface-water ground water transport of pharmaceuticals in a wastewater – Impacted stream in the US. **American Geophysical Union**, Washington, v. 6, n. 193, p. 173-180, 2014.

BRASIL. Agência Nacional das Águas – ANA. Indicadores de qualidade – Índice de Qualidade das Águas (IQA). Disponível em: <<http://portalpnqa.ana.gov.br/indicadores-indice-aguas.aspx>>. Acesso em: 20 jun. 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Guia para qualidade em química analítica. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/series/laboratorios.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RE nº 899, de 2003. Estabelece a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e biolanalíticos”, Brasília, DF, 29 mai. 2003. Seção 1, pags. 1-15.

BRASIL. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12713: Ecotoxicologia aquática: Toxicidade aguda: Método de ensaio com *Daphnia spp* (Cladocera, Crustacea), Rio de Janeiro, 1993.

BRASIL. Conselho Nacional de Recursos Hídricos – CNRH. Resolução nº 32, de 2003. Estabelece uma base organizacional que contempla bacias hidrográficas como unidade de gerenciamento de recursos hídricos com a implementação da Política Nacional de Recursos Hídricos e do Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, Brasília, DF, 15 out. 2003. Seção 1, Anexo I e II.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Resolução nº 20, de 1986. Estabelece a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 jun. 1986.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Resolução nº 357, de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Seção 1, págs. 58-63.

BRASIL. Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Resolução nº 430, de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 maio. 2011. Seção 1, pág. 89.

BRASIL. Departamento de Informática do SUS/MS – DATASUS. Informações de saúde (TABNET) – Estatísticas vitais. Disponível em: <

<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205&id=6936>>. Acesso em: 20 abr. 2015.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água, Brasília, 2011. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/921050/1/Doc232ultimaversao.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2015.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Censo Demográfico 2010: Resultados Gerais da Amostra por áreas de ponderação. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/resultados_gerais_amostra_areas_ponderacao/default.shtm>. Acesso em: 20 abr. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 20 mar. 2014.

BRASIL. Sistema Nacional de Saneamento Básico. Plano Nacional de Saneamento Básico – PLANASB. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/AECBF8E2/Plansab_Versao_Conselhos_Nacionais_020520131.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2015.

BRAZ, F. S. Degradação do ibuprofeno por fotocatalise com TiO₂ e solução dos efeitos agudos dos subprodutos. 2014. Dissertação (Mestrado em Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Programa de pós graduação em Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Itajubá, 2014.

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. de A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129-146, 2003.

BUSS, D. F.; BAPTISTA, D. F.; NESSIMAN, J. L. Bases conceituais para a aplicação de biomonitoramento em programas de avaliação da qualidade da água dos rios. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 465-473, 2003.

BUSSAB, W. de O.; MORETTIN, P. A. Estatística básica. 8ª edição. São Paulo: Editora Saraiva, 2014. 500 p.

BUSER, H.; POIGER, T.; MÜLLER, M.D. Pharmaceutical Drug Diclofenac in Surface Waters: Rapid Photodegradation in a Lake. **Environmental Science & Technology**, Salt Lake City, v. 32, n. 22, p. 3449–3456, 1998.

CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo e diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011.

CASTRO-CORREIA, C.; FONTOURA, M. A influência da exposição ambiental a disruptores endócrinos no crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes. **Elsevier – Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, Portugal, v. 10, n. 2, p. 186-192, 2015.

CESAR, A.; SILVA, S. L. R. da; SANTOS, A. R. Testes de toxicidade aquática no controle da poluição. 4ª edição. São Paulo: Universidade Santa Cecília – UNISANTA, 1997. 37 p.

COSTA, A. C. de O. Metodologias pra determinação de fármacos, seus metabólitos e desreguladores endócrinos em águas brutas voltadas ao abastecimento público utilizando técnicas de separação em meio líquido (CE/UV, CE-MS, LC-MS/MS). 2009. Dissertação (Doutorado em Química) – Programa de pós graduação em Química, Universidade de São Paulo, 2009.

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.

CRUZ, L. H. da; HENNING, F. G.; SANTOS, A. B. dos; PERALTA-ZAMORA, P. Degradação fotocatalítica de sulfametoxazol, trimetoprima e diclofenaco em solução aquosa. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 6, p. 1270-1274, 2010.

DALLEGRAVE, A. Determinação de hormônios estrógenos e progestágenos em amostras ambientais por GC-MS. 2012. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de pós graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012.

DANIEL, M. da S.; LIMA, E. C. de. Determinação simultânea de estriol, β -estradiol, 17- α -etinilestradiol e estrona empregando-se extração em fase sólida (SPE) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). **Ambiente e Água**, Taubaté, v. 9, n. 4, p. 688-695, 2014.

DIAS, R. V. A. Avaliação da ocorrência de microcontaminantes emergentes em sistemas de abastecimento de água e da atividade estrogênica do etinilestradiol. 2014. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos). Programa de pós graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

DURIGAN, M. A. B.; VAZ, S. R.; PERALTA-ZAMORA, P. Degradação de poluentes emergentes por processos Fenton e foto-Fenton. **Química Nova**, São Paulo, v. 35, n. 7, p. 1381-1387, 2012.

ESTEVES, F. de A. Fundamentos de Limnologia. 2ª edição. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 826 p.

FATTA, D.; NIKOLAU, A.; ACHILLEOS, A.; MERIC, S. Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. **Trends in Analytical Chemistry - Elsevier**, New York, v. 26, n. 6, 2007.

FEITOSA, R. S.; SODRÉ, F. F.; MALDANER, A. O. Drogas de abuso em águas naturais e residuárias urbanas: ocorrência, determinação e aplicações forenses. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 291 – 305, 2013.

FERREIRA, K. C. D.; LOPES, F. B.; ANDRADE, E. M. de; MEIRELES, A. C. M.; SILVA, G. S. da. Adaptação do índice de qualidade de água do National Sanitation Foundation ao seminário brasileiro. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 46, n. 2, p. 277-286, 2015.

FERRÉ, M. L.; FERRER, I.; GINEBRED, A.; FIGUERAS, M.; OLIVELLA, L.; TIRAPU, L.; VILANOVA, M.; BARCELÓ, D. Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography-mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. **Journal of Chromatography A – Elsevier**, New York, v. 938, n. 1-2, p. 187-197, 2001.

FILHO, R. W. R.; ARAÚJO, J. C. de; VIEIRA, E. M. Hormônios sexuais estrógenos contaminantes bioativos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 817-822, 2006.

FIGUEROA, M.; SANTOS, E. P. dos; SCHMACHTEMBERG, N. Processos oxidativos avançados: fundamentos e aplicação ambiental. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas – UFSM**, Santa Maria, v. 18, n. 1, p. 79-91, 2014.

FREIRE, R. S.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L. T.; DURÁN, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 504 – 511, 2000.

FRISCHE, T.; BACHMANN, J.; FREIN, D.; JUFFERNHOLZ, T.; KEHRER, A.; KLEIN, A.; MAACK, G.; STOCK, F.; STOLZENBERG, H-C.; THIERBACH, C.; WALTER-ROHDE, S. Identification, assessment and management of “endocrine disruptors” in wildlife in the EU substance legislation – Discussion paper from the German Federal Environment Agency (UBA). **Elsevier – Toxicology Letters**, New York, v. 3, n. 223, p. 306-309, 2013.

GAMA, M. R. Processos Fenton como alternativa na remoção de interferentes endócrinos e outros micropoluentes ambientais. **Virtual de Química**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 6, p. 777-787, 2012.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 695-706, 2007.

GUIMARÃES, A. História de Itajubá. Belo Horizonte, 1987. 97 p.

GUIMARÃES, E. S.; LACAVA, P. M.; MAGALHÃES, N. P. Avaliação da toxicidade aguda com *Daphnia similis* na água captada no Rio Paraíba do Sul e processada na estação de tratamento de água do município de Jacareí – SP – Brasil. **Engenharia sanitária e ambiental**, Rio de Janeiro, v. 9, n.2, p. 124-130, 2004.

HARKINS, R. D. An objective water quality index. **Journal Water Pollution Control Federation**, Washington, v. 46, n. 3, p. 588-591, 1974.

IBHADON, A. O.; FITZPATRICK, P. Heterogeneous photocatalysis: recent advances and applications. **Catalysts**, United States, n. 3, p. 189-218, 2013.

JARDIM, J. C. S. F. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica**, São Carlos, v. 2, n. 1, p. 13-25, 2010.

JARDIM, W. F. Protocolo para extração de contaminantes emergentes em água. Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas – INCTAA. Campinas, 2013. 7 p.

JIANG, J. J.; LEE, C. L.; FANG, M. D.; BOYD, K. G.; GIBB, S. W. Source apportionment and risk assessment of emerging contaminants: an approach of pharmaco – signature in water systems. **PlosOne**, California, v. 10, n. 4, p. 1-21, 2015.

JUNG, Y. S.; LIM, W. T.; PARK, J. Y.; KIM, Y. H. Effect of pH on Fenton and Fenton-like oxidation. **Environmental Technology**, Korea, v. 30, n. 2, p. 183-190, 2009.

KATSUMATA, C. P. Degradação de fármacos em meio aquoso por meio de fotólise e peroxidação fotoassistida. 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia) – Programa de pós graduação em Engenharia, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2014.

KONDO, M. M.; JARDIM, W. F. Photodegradation of chloroform and urea using Ag-loaded titanium dioxide as catalyst. **Water Research – Elsevier**, New York, n. 25, p. 823-827, 1991.

LAREBEKE, N. V.; HENS, L.; SCHEPENS, P.; COVACI, A.; BAEVENS, J.; EVERAERT, K.; BERNHERIM, J. L.; VLIETINCK, R.; POORTER, G. D. The Belgian PCB and Dioxin Incident of January – June 1999: Exposure Data and Potential Impact on Health. **Environmental Health Perspectives**, United States, v. 109, n. 3, p. 265-273, 2001.

LEGAULT, Y.; VANDENHEUVEL, W. J. A.; ARISEN, B. H.; BLEAU, G.; CHAPDELAIN, A.; ROBERTS, K. D. 5- α -cholesta-7,24-dien-3 β -ol as a major sterol of the male hamster reproductive tract. **Steroids**, New York, v. 38, n.5, p. 649-658, 1978.

LI, Y.; ZHANG, A. Removal of steroid estrogens from waste activated sludge using Fenton oxidation: Influencing factors and degradation intermediates. **Chemosphere**, Oxford, v. 105, p. 24-30, 2014.

LIMA, L. da S. e; FILHO, H. J. I.; CHAVES, F. J. M. Determinação de demanda bioquímica de oxigênio para teores $\leq 5 \text{ mg.L}^{-1} \text{ O}_2$. **Revista Analytica**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 52-57, 2006.

LOPES, L. G.; MARCHI, M. R. R.; SOUZA, J. B. G.; MOURA, J. A.; LORENZON, C. S.; CRUZ, C.; AMARAL, L. A. Estrogênios em águas naturais e tratadas da região de Jaboticabal – São Paulo. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 639-643, 2010.

LOURES, C. A. C.; ALCÂNTARA, M. A. K.; FILHO, H. J. I.; TEIXEIRA, A. C. S. C.; SILVA, F. T.; PAIXA, T. C. B.; SAMANAMUD, G. R. L. Advanced oxidative degradation processes: fundamentals and applications. **International Review of Chemical Engineering**, London, v. 5, n. 2, p. 102-108, 2013.

LUCENA, R. G. R. de; RAZZOLINI, M. T. P.; MENEZES, L. M. B. de; MARQUES, R. A. de A.; NARVAI, P. C. Significados da água na visão de lideranças de saúde. **Saúde e Sociedade – Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 1193-1204, 2013.

MAGALHÃES, D. de P.; FILHO A. da S. F. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

MALLAK, R. S. C.; SILVA, R. C. L. da; JUNIOR, C. A.; VITORIANO, J. de O.; MENEZES, F. L. G. de. Estudo da degradação do fenol por processos oxidativos avançados utilizando fotocatalise heterogênea com TiO₂. 5º Encontro Regional de Química e 4º Encontro Nacional de Química, **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, n. 1, p. 804-814, 2015, ISSN 2318-4043. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/chenpro-5erq-am24>>.

MALDANER, L.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Fases estacionárias modernas para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, p. 1559-1568, 2010.

Mapas. Disponível em: <www.google.com.br/maps/>. Acesso em: 20 nov. 2015.

MAFIOLETI, J. P. Avaliação da degradação da cafeína em amostras de água usando espectrometria após tratamento com processos oxidativos avançados. 2014. Trabalho de graduação (Graduação em Ciências Exatas e Tecnológicas) – Programa de graduação em Ciências Exatas e Tecnológicas, Centro Universitário UNIVATES, 2014.

MELO, S. A. S.; TROVO, A. G.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. P. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, São Paulo, 2009, vol. 32, n. 1, p. 188-197, 2009.

MEYER, A.; SARCINELLI, P. N.; MOREIRA, J. C. Estarão alguns grupos populacionais brasileiros sujeitos à ação de disruptores endócrinos? **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 4, p. 845-850, 1999.

MINAS GERAIS (Estado). Plano Diretor de Recursos Hídricos da Bacia do Rio Sapucaí – Resumo Executivo, 2010. Disponível em: <http://igam.mg.gov.br/images/stories/planos_diretores_BH/sapucaí.pdf>. Acesso em: 20 mai. 2015.

MINAS GERAIS (Estado). Conselho Estadual de Política Ambiental – COPAM e Conselho Estadual de Recursos Hídricos do Estado de Minas Gerais – CERH-MG. Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG, de 2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, Minas Gerais, 05 mai. 2008. Disponível em: <<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=8151>>. Acesso em: 07 ago. 2015.

MOL, H. G. J.; SUNARTO, S.; STEIJGER, O. M. Determination of endocrine disruptors in water after derivatization with N-methyl-N-(tert.-butyldimethyltrifluoroacetamide) using gas chromatography with mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A – Elsevier**, New York, n. 879, p. 97-112, 2000.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo (Brazil). **Journal of the Brazilian chemical society**, Brasil, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.

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

NASSOURI, A. S.; ARCHAMBEAUD, F.; DESAILLOUD, R. Endocrine disruptors: echoes of congress of Endocrinology. **Elsevier Masson**, New York, v. 12, n. 73, p. 36-44, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica. 3ª edição. São Paulo: Editora Sarvier, 2002. 1009 p.

NOGUEIRA, R. F. P.; TROVÓ, A. G.; SILVA, M. R. A. da; VILLA, R. D.; OLIVEIRA, M. C. de. Fundamentos e aplicações ambientais dos processos fenton e foto-fenton. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 400-408, 2007.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E CULTURA – UNESCO. Década da educação das Nações Unidas para um desenvolvimento

sustentável, 2005 – 2014: documento final do esquema internacional de implementação. Brasília, 2005.

PEDROUZO, M.; BORRULL, F.; POCURULL, E.; MARCÉ, R. M. Estrogens and their conjugates: Determination in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography – tandem mass spectrometry. **Elsevier**, New York, v. 78, n. 4-5, p. 1327-1331, 2009.

PENTEADO, J. C. P.; VAZ, J. M. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 390-398, 2001.

PEREIRA, R. de O. Formação de subprodutos do estrona e 17- β -estradiol na oxidação utilizando cloro e o ozônio em água. Dissertação (Doutorado em Ciências) – Programa de pós graduação em Ciências, Universidade de São Paulo, 2011.

PETROVIC, M.; LACORTE, S.; VIANA, P.; BARCELÓ, D. Pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography–mass spectrometry for the determination of alkylphenolic compounds in river sediment. **Journal of Chromatography A – Elsevier**, New York, v. 959, n. 1-2, p. 15-23, 2002.

PINHEIRO, F. V. Verificação da presença de estrona nas margens do lago Paranoá. 2013. Trabalho de graduação (Graduação em Engenharia Civil) – Programa de graduação em Engenharia Civil, Centro Universitário de Brasília, 2013.

PONTES, P. P. Reatores UASB aplicados ao tratamento combinado de esgotos sanitários e lodo excedente de filtro biológico percolador. 2003. Dissertação (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Programa de pós graduação em Saneamento, Meio Ambiente e recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, 2003.

PORTE, C.; JANER, G.; LORUSSO, L. C.; ORTIZ-ZARAGOITIA, M.; CAJARAVILLE, M. P.; FOSSI, M. C.; CANESI, L. Endocrine disruptors in marine organisms: Approaches and perspectives. **Elsevier**, St. Louis, 2006.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, São Paulo, v; 24, n, 1, p. 68-76, 2001.

RAIMUNDO, C. C. M. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia. 2007. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Programa de pós graduação em Química, Universidade Estadual de Campinas, 2007.

RESGALLA, C. JR.; LAITANO, K. S. Sensibilidade dos organismos marinhos utilizados em testes de toxicidade no Brasil. **Notas técnicas Facimar**, Itajaí, v. 6, p. 153-163, 2002.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em método cromatográfico e eletroforético. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIGOBELLO, E. S.; SCANDELAI, A. P. J.; CORSO, B. L. C.; TAVARES, C. R. G. Identificação de compostos orgânicos em lixiviado de aterro sanitário municipal por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 6, p. 794-800, 2015.

RIO DE JANEIRO (Estado). Comissão Estadual de Controle Ambiental - CECA. NT-202.R-10 – Critérios e padrões para lançamento de efluentes. Estabelece critérios e padrões para o lançamento de efluentes líquidos, como parte integrante do Sistema de Licenciamento de Atividades Poluidoras – SLAP, Rio de Janeiro, 04 dez. 1986. Disponível em: <<http://www.inea.rj.gov.br/cs/groups/public/documents/document/zwew/mde0/~edisp/inea0014058.pdf>>. Acesso em: 07 ago. 2015.

RODRIGUES-SILVA, C.; MANIERO, M. G.; PERES, M. S.; GUIMARÃES, J. R. Ocorrência e degradação de quinolonas por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 5, p. 868-885, 2014.

ROMERO, V.; ACEVEDO, S.; MARCO, P.; GIMÉNEZ, J.; ESPLUGAS, S. Enhancement of Fenton and photo-Fenton processes at initial circumneutral pH for the degradation of the β -blocker metropolol. **Elsevier**, New York, v. 88, p. 449-457, 2016.

RUEDA-MÁRQUES, J. J.; SILANPÄÄ, M.; POCOSTALES, P.; ACEVEDO, A.; MANZANO, M. A. Post-treatment of biologically treated wastewater containing organic contaminants using a sequence of H₂O₂ based advanced oxidation processes: photolysis and catalytic wet oxidation. **Elsevier**, New York, v. 71, n. 15, p. 85-96, 2015.

SANTAMARTA, J. A ameaça dos disruptores endócrinos. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v.2, n.3, p. 18-20, 2001.

SANSON, A., L.; BAETA, B. E. L.; RODRIGUES, K. L. T.; AFONSO, R. J. C. F. Equipamento de baixo custo para extração em fase sólida em amostras aquosas de grande volume utilizando pressão positiva de N₂. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n.1, p. 150-152, 2014.

SÃO PAULO (Estado). Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do estado de São Paulo. São Paulo – CESTESB, 2008. Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo. Disponível em: <<http://aguasinteriores.cetesb.sp.gov.br/publicacoes-e-relatorios/>>. Acesso em: 18 mai. 2015.

SÃO PAULO (Estado). Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do estado de São Paulo. São Paulo – CESTESB, 2009. Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo – Série relatórios. Disponível em: <<http://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/32/2013/11/variaveis.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2015.

SÃO PAULO. Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – SABESP. Tratamento de água. Disponível em: <<http://site.sabesp.com.br/site/interna/Default.aspx?secaoId=47>>. Acesso em: 27 mai. 2015.

SILVA, C. G. A. da; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.

STARLING, I. G.; ZORZI, R. L. de A. *Corpo Humano: órgãos, sistemas e funcionamento*. 1ª edição. Rio de Janeiro, 2010. 232 p.

SODRÉ, F. F.; MONTAGNER, C. C.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). **Journal of the brazilian society of ecotoxicology**, Brasil, v. 2, n. 2, p. 187-196, 2007.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Sistema limpo em linha para extração em fase sólida de contaminantes emergentes em águas naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 216 – 219, 2010.

SANTANA, J. da S. Determinação de contaminantes emergentes em mananciais de água bruta e na água para consumo humano do Distrito Federal. 2013. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de pós graduação em Química, Universidade de Brasília, 2013.

SWAN, S. H.; KRUSE, R. L.; LIU, F.; BARR, D. B.; DROBNIS, E. Z.; REDMON, J. B.; WANG, C.; BRAZIL, C.; OVERSTREET, J. W. Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. **Environmental Health Perspectives**, United States, v. 111, n. 12, p. 1478-1484, 2003.

TEIXEIRA, C. P. de A. B.; JARDIM, W. de F. Caderno temático – Processos Oxidativos Avançados: conceitos teóricos, Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2004, 83 p.

TEIXEIRA, D. C. Avaliação da remoção de norfloxacino em solução aquosa utilizando ozonização. 2014. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Programa de pós graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, Universidade Federal de Minas Gerais, 2014.

TERNES, T.; BONERZ, M.; SCHMIDT, T. Determination of natural pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography – electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A – Elsevier**, New York, v. 938, n 1-2, p. 175- 185, 2001.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P.; EMMEL, A.; LEAL, E. S. Degradação de BTXs via processos oxidativos avançados. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 61-64, 2005.

VERBINNEN, R. T.; NUNES, G. S.; VIEIRA, E. M. Determinação de hormônios estrógenos em água potável usando CLAE-DAD. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 9, p. 1837-1842, 2010.

VERÍSSIMO, F. A. dos R.; FERREIRA, M. I. P. Aplicação do Índice de Qualidade da Água (IQA) para caracterização do baixo curso do Rio São João. **Boletim do observatório ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 2, p. 181-197, 2013.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos (princípios do tratamento biológico de águas residuárias). 1ª edição. Belo Horizonte, 2005. p. 452.

WOZNIAK, A. L.; BULAYEVA, N. N.; WATSON, C. S. Xenoestrogens at picomolar to nanomolar concentrations trigger membrane estrogen receptor – α – mediated Ca^{2+} fluxes and prolactin release in GH31B6 pituitary tumor cells. **Environmental Health Perspectives**, United States, v. 113, n. 4, p. 431-439, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Constitution of the world health organization. Geneva, 1946.

WASHINGTON. Standard Methods: Methods for the examination of water and wastewater, Washington, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Improving Health and Wellbeing. Canada, 2013. Disponível em: <<http://www.canadainternational.gc.ca/prmny->

mponu/canada_uncanada_onu/statements-declarations/human_rights-droits_personne/2013-05-20_Roy.aspx>. Acesso em: 1 mar. 2014.

ZAGATTO, P. A.; GOLDSTEIN, E. Toxicidade em águas do Estado de São Paulo. **Ambiente: Revista CETESB de Tecnologia**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 13 – 20, 1991.

ZARZYCKI, P. K.; WLODARCZYK, E.; ZARZYCKA, M. B.; GLÓD, B. K. Optimization of a solid-phase extraction protocol for fractionation of selected steroids using retention data from micro thin-layers chromatography. **Analytical Sciences**, Japan, v. 25, p. 935-939, 2009.

ZHANG, Y.; GEIBEN, S.U.; GAL, C. Carbamazepine and diclofenaco: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. **Chemosphere**, Oxford, v. 73, p. 1151-1161, 2008.