

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**JAQUELINE KLEM BOHRER**

**QUANTIFICAÇÃO DE HORMÔNIOS ESTRÓGENOS EM ESGOTO  
SANITÁRIO POR HPLC-UV E AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO POR  
PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS**

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2021**

**JAQUELINE KLEM BOHRER**

**QUANTIFICAÇÃO DE HORMÔNIOS ESTRÓGENOS EM ESGOTO  
SANITÁRIO POR HPLC-UV E AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO POR  
PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS**

**QUANTIFICATION OF ESTROGEN HORMONES IN SANITARY SEWAGE BY  
HPLC-UV AND ASSESSMENT OF DEGRADATION BY ADVANCED  
OXIDATIVE PROCESSES**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental: Análise e Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ticiane Sauer Pokrywiecki

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisângela Düsman

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2021**



Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Francisco Beltrão**



JAQUELINE KLEM BOHRER

**QUANTIFICAÇÃO DE HORMÔNIOS ESTRÓGENOS EM ESGOTO SANITÁRIO POR HPLC-UV E AVALIAÇÃO DA DEGRADAÇÃO POR PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Meio Ambiente.

Data de aprovação: 30 de Setembro de 2021

Prof.a Ticiane Sauer Pokrywiecki, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof.a Gean Delise Leal Pasquali, Doutorado - Universidade Federal da Fronteira Sul (Uffs)  
Prof.a Marina Celant De Pra, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 30/09/2021.

Dedico este trabalho à minha mãe Helena Klem Bohrer, sua coragem, força e determinação foram inspirações para todos que estiveram ao seu lado durante este momento delicado, e hoje, com muita alegria, podemos dizer que você venceu.

À minha sobrinha Angelina (*in memoriam*) que se tornou uma estrelinha antes mesmo de vir ao mundo, você foi muito esperada por todos e continuará sendo muito amada.

Ao meu sogro Josiel Tadeu Teles (*in memoriam*), obrigada por ter me recebido com tanto amor e carinho em sua família, você faz muita falta, continue cuidando de nós aí de cima.

A todos que também tiveram suas vidas interrompidas pela COVID-19.

## AGRADECIMENTOS

À Deus e Nossa Senhora Aparecida, pela oportunidade de vivenciar essa caminhada com saúde física e mental em tempos tão difíceis.

À minha família, especialmente aos meus pais Helena e Joranyl, que sempre acreditaram em mim, incentivaram e apoiaram. Obrigada por tudo. Amo vocês eternamente.

Ao meu amor, companheiro e melhor amigo, Telmo Josiel Teles, por toda sua paciência, palavras de amor, tranquilidade e de incentivo quando tudo parecia não dar certo. Você sempre me faz acreditar em minha capacidade de realizar meus sonhos, obrigada por sonhá-los comigo. Te amo muito.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ticiane Sauer Pokrywiecki, pela valiosa orientação, paciência, amizade e carinho desde a iniciação científica, sendo de imensa contribuição para minha formação profissional e amadurecimento pessoal.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisângela Düsman, pela paciência, amizade, confiança e por todo o conhecimento transmitido ao longo desses anos.

Aos meus amigos, obrigada pela amizade, pelos momentos de alegria e descontração.

À SANEPAR pelo fornecimento do efluente e por sempre estarem dispostos a ajudar.

Ao Laboratório de Análises (LabAna) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Campus Francisco Beltrão, pelas análises de HPLC-UV. Em especial, agradeço ao técnico João por todo auxílio prestado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Francisco Beltrão, pela oportunidade.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pela concessão da bolsa de estudos.

## RESUMO

A presença cada vez mais constante de compostos desreguladores endócrinos (DEs) no meio ambiente, apresenta um sério risco para as espécies aquáticas e à saúde pública. Dentro dessa classe de contaminantes destacam-se os hormônios estrógenos naturais estrona (E1), 17[ $\beta$ ]-estradiol (E2) e estriol (E3), e sintético 17[ $\alpha$ ]-etinilestradiol (EE2), os quais podem interferir no funcionamento do sistema endócrino dos seres vivos. O esgoto sanitário é uma das fontes primárias desses compostos no ambiente aquático, uma vez que o tratamento convencional empregado pelas estações de tratamento de esgoto – ETEs é projetado para remoção de matéria orgânica e nutrientes, não sendo capazes de remover completamente esses micropoluentes, tornando urgente a necessidade de tratamentos mais eficientes. Neste cenário, os processos oxidativos avançados (POAs) mostram-se como alternativas interessantes, pois são capazes de promover a degradação total ou parcial desses micropoluentes. Assim, este trabalho objetivou avaliar a presença e quantificar os hormônios estrógenos E1, E2, E3 e EE2 presentes no efluente tratado pela ETE do município de Marmeleiro/PR, assim como, avaliou diferentes POAs, em especial a fotólise (UV), a fotólise com peróxido de hidrogênio (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), a fotocatalise heterogênea (UV/TiO<sub>2</sub>) e a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>) na degradação destes estrogênios. Para isso, foram coletadas amostras do efluente tratado pelos processos convencionais da ETE, os quais foram caracterizados em termos físico-químicos e microbiológicos antes e após cada POAs. A determinação dos hormônios foi realizada através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção UV. Nas reações fotoquímicas, utilizou-se um fotoreator descontínuo, com lâmpada UV-C ( $\lambda = 254$  nm) e tempo de reação igual a 60 minutos. A avaliação da degradação dos hormônios estrógenos pelos diferentes POAs, foi realizada em uma concentração inicial de 8 mg L<sup>-1</sup> de E1, E2, EE2 e E3. Com intuito de verificar a possível formação de subprodutos tóxicos durante as reações, avaliou-se a toxicidade das amostras a partir de bioensaios com *Artemia salina* L. e *Eisenia fétida*. Os resultados indicaram que todos os POAs proporcionaram uma melhor qualidade nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Foi identificado a presença de E1, E3 e EE2 no efluente tratado pela ETE em uma concentração superior a normalmente relatada na literatura para este tipo de efluente. Os dados da cinética de degradação dos hormônios se ajustaram ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem, indicando a seguinte ordem de eficiência dos POAs na degradação UV/O<sub>3</sub>>UV/TiO<sub>2</sub>>UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>>UV, já em relação a degradação de cada hormônio as constantes cinéticas foram  $k_{E1} > k_{EE2} > k_{E2} > k_{E3}$ . Na avaliação da toxicidade, foi observado que o efluente tratado pela ETE se mostrou tóxico aos bioindicadores avaliados (*A. salina* e *E. fétida*), entretanto, os POAs reduziram essa toxicidade, indicando que não houve a formação de subprodutos tóxicos quando comparados com a amostra inicial. Esses resultados sugerem que os POAs, principalmente a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>), são capazes de aumentar a qualidade dos resíduos líquidos das ETEs municipais, os quais pode ser empregado como um tratamento terciário, melhorando suas características físico-químicas, microbiologias e removendo micropoluentes, como os hormônios estrógenos estudados.

**Palavras-chave:** desreguladores endócrinos; degradação fotoquímica; tratamento terciário; saúde pública.

## ABSTRACT

The increasingly constant presence of endocrine disrupting compounds (EDs) in the environment poses a serious risk to aquatic species and public health. Within this class of contaminants stand out the natural estrogen hormones estrone (E1), 17[ $\beta$ ]-estradiol (E2) and estriol (E3), and synthetic 17[ $\alpha$ ]-ethinylestradiol (EE2), which can interfere with the functioning of the endocrine system of living beings. Sanitary sewage is one of the primary sources of these compounds in the aquatic environment, since the conventional treatment used by sewage treatment plants - STPs is designed to remove organic matter and nutrients, not being able to completely remove these micropollutants, making it urgent the need for more efficient treatments. In this scenario, advanced oxidative processes (AOPs) are shown to be interesting alternatives, as they can promote the total or partial degradation of these micropollutants. Thus, this study aimed to evaluate the presence and quantify the estrogen hormones E1, E2, E3 and EE2 present in the effluent treated by the STP in the city of Marmeleiro/PR, as well as evaluating different AOPs, especially photolysis (UV), photolysis with hydrogen peroxide (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), heterogeneous photocatalysis (UV/TiO<sub>2</sub>) and photo-ozonization (UV/O<sub>3</sub>) in the degradation of these estrogens. For this purpose, samples were collected from the effluent treated by conventional STP processes, which were characterized in physicochemical and microbiological terms before and after each AOPs. Hormones were determined using high performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection. In the photochemical reactions, a discontinuous photoreactor was used, with a UV-C lamp ( $\lambda = 254$  nm) and a reaction time equal to 60 minutes. The evaluation of the degradation of estrogen hormones by the different AOPs was carried out at an initial concentration of 8 mg L<sup>-1</sup> of E1, E2, EE2 and E3. To verify the possible formation of toxic by-products during the reactions, the toxicity of the samples was evaluated from bioassays with *Artemia salina* L. and *Eisenia fétida*. The results indicated that all AOPs provided a better quality in the physicochemical and microbiological parameters. The presence of E1, E3 and EE2 was identified in the effluent treated by the STP in a concentration higher than that normally reported in the literature for this type of effluent. The data on the kinetics of hormone degradation fitted the pseudo-first order kinetic model, indicating the following order of efficiency of AOPs in the degradation of UV/O<sub>3</sub>>UV/TiO<sub>2</sub>>UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>>UV, in relation to the degradation of each hormone the kinetic constants were  $k_{E1} > k_{EE2} > k_{E2} > k_{E3}$ . In the toxicity evaluation, it was observed that the effluent treated by the STP proved to be toxic to the evaluated bioindicators (*A. salina* and *E. fétida*), however, the AOPs reduced this toxicity, indicating that there was no formation of toxic by-products when compared with the initial sample. These results suggest that AOPs, mainly photo-ozonization (UV/O<sub>3</sub>), can increase the quality of liquid waste from municipal STPs, which can be used as a tertiary treatment, improving their physicochemical, microbiology and removing micropollutants such as the estrogen hormones studied.

**Keywords:** endocrine disruptors; photochemical degradation; tertiary treatment; public health.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Estrutura química dos hormônios estrógenos naturais e sintético..	20
<b>Figura 2</b> – Rotas de entrada dos hormônios no meio ambiente (TRH: terapia de reposição hormonal).....	21
<b>Figura 3</b> – Etapas da extração em fase sólida (SPE).....	24
<b>Figura 4</b> – Esquema da fotoativação do semicondutor (hv: energia; P: produto; P+: produto oxidado).....	30
<b>Figura 5</b> – Localização do município de Marmeleiro no estado do Paraná. ....	33
<b>Figura 6</b> – Sistema de tratamento empregado pela ETE Marmeleiro/PR.....	34
<b>Figura 7</b> – Ponto de coleta do efluente tratado pela ETE (E). ....	35
<b>Figura 8</b> – Localização do ponto de coleta na ETE. ....	35
<b>Figura 9</b> – Esquema utilizado para SPE.....	38
<b>Figura 10</b> – Cromatógrafo a líquido de alta eficiência (HPLC) com detector UV. ....	39
<b>Figura 11</b> – Procedimento para quantificação dos hormônios em HPLC -UV. ....	40
<b>Figura 12</b> – Esquema do Fotoreator.....	42
<b>Figura 13</b> – Fotoreator utilizado nos processos oxidativos avançados (POAs). ....	43
<b>Figura 14</b> – Minhocas <i>Eisenia fétida</i> em solo artificial. ....	45
<b>Figura 15</b> – Disposição dos experimentos com <i>Eisenia fétida</i> .....	46
<b>Figura 16</b> – Amostras do efluente da ETE (E) inicial e após o tratamento com os diferentes POAs. ....	50
<b>Figura 17</b> – Cromatograma dos hormônios estrógenos E1, E2, E3 e EE2 na concentração de 8 mg L <sup>-1</sup> .....	54
<b>Figura 18</b> – Degradação dos hormônios estrógenos E1 (a) e E2 (b) pelas reações fotoquímicas UV, UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , UV/TiO <sub>2</sub> , UV/O <sub>3</sub> . Condições: matriz esgoto tratado pela ETE; concentração inicial de 8 mg L <sup>-1</sup> para E1, E2, E3 e EE2 (C <sub>0</sub> ); pH 7,00; temperatura 20±2 °C; irradiação UV-C (λ= 254 nm).....	57

**Figura 19** – Degradação dos hormônios estrógenos E3 (c) e EE2 (d) pelas reações fotoquímicas UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub>, UV/O<sub>3</sub>. Condições: Matriz esgoto tratado pela ETE; concentração inicial de 8 mg L<sup>-1</sup> para E1, E2, E3 e EE2 (C<sub>0</sub>); pH 7,00; temperatura 20±2 °C; irradiação UV-C (λ= 254 nm). ..... 58

**Figura 20** – Percentual de imobilidade/mortalidade do bioindicador *A. salina* exposto aos grupos controle salino, controle doce, efluente e os diferentes POAs avaliados. .... 65

**Figura 21** – Número médio e desvio-padrão dos organismos *E. fétida* distribuídas no solo controle (água filtrada) e no solo teste (solução de ácido bórico ou efluente e os diferentes POAs avaliados). .... 66

**Figura 22** – Taxa de fuga dos organismos *E. fétida* expostos ao controle negativo (água filtrada), controle positivo (solução de ácido bórico) ou ao efluente e os diferentes POAs avaliados. .... 67

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Propriedades físico-químicas dos hormônios estrógenos.....	20
<b>Tabela 2</b> – Excreção diária dos hormônios estrógenos ( $\mu\text{g dia}^{-1}$ ).....	22
<b>Tabela 3</b> – Resultados das caracterizações físico-químicas do efluente antes e após os POAs avaliados. ....	48
<b>Tabela 4</b> – Resultado da caracterização microbiológica do efluente (E) e os diferentes POAs avaliados. ....	52
<b>Tabela 5</b> – Concentração dos hormônios no efluente tratado pela ETE.....	54
<b>Tabela 6</b> – Valores obtidos no ajuste cinético para o modelo de pseudo-primeira ordem na reação UV. ....	59
<b>Tabela 7</b> – Valores obtidos no ajuste cinético para o modelo de pseudo-primeira ordem na reação UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	59
<b>Tabela 8</b> – Valores obtidos no ajuste cinético para o modelo de pseudo-primeira ordem na reação UV/TiO <sub>2</sub> .....	60
<b>Tabela 9</b> – Valores obtidos no ajuste cinético para o modelo de pseudo-primeira ordem na reação UV/O <sub>3</sub> . ....	60
<b>Tabela 10</b> – Número médio e desvio padrão de organismos <i>A. salina</i> imóveis/mortos durante a exposição ao controle salino, controle doce, efluente e aos diferentes POAs avaliados. ....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABNT</b>	Associação Brasileira de Normas Técnicas
<b>APHA</b>	American Public Health Agency
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demanda Bioquímica de Oxigênio
<b>DEs</b>	Desreguladores Endócrinos
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxigênio
<b>E</b>	Efluente tratado pela ETE
<b>E1</b>	Estrona
<b>E2</b>	17 $\beta$ -estradiol
<b>E3</b>	Estriol
<b>EE2</b>	17 $\alpha$ -etinilestradiol
<b>ETE</b>	Estação de Tratamento de Esgoto
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de Hidrogênio
<b>HPLC</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IPARDES</b>	Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social
<b>Kow</b>	Coeficiente de Partição Octanol-água
<b>NBR</b>	Norma Brasileira Regulamentadora
<b>NTU</b>	Unidade Nefelométrica de Turbidez
<b>O<sub>3</sub></b>	Ozônio
<b>OD</b>	Oxigênio Dissolvido
<b>•OH</b>	Radical Hidroxila
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>pK<sub>a</sub></b>	Constante de Dissociação Ácida
<b>POAs</b>	Processos Oxidativos Avançados
<b>SEMA</b>	Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos
<b>SPE</b>	Extração em Fase Sólida
<b>TiO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Titânio
<b>UFC</b>	Unidades Formadoras de Colônias
<b>UV</b>	Fotólise
<b>UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Fotólise com Peróxido de Hidrogênio
<b>UV/O<sub>3</sub></b>	Foto-ozonização
<b>UV/TiO<sub>2</sub></b>	Fotocatálise Heterogênea

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>16</b>
2.1	Objetivo geral .....	16
2.2	Objetivos específicos .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
3.1	Desreguladores endócrinos (DES) .....	17
3.2	Hormônios estrógenos .....	19
3.2.1	Presença de estrogênios no meio ambiente.....	21
3.3	Métodos analíticos para determinação de estrogênios.....	23
3.4	Tratamento convencional de esgoto .....	24
3.6	Processos oxidativos avançados .....	26
3.6.1	Fotólise (UV).....	27
3.6.2	Fotólise com peróxido de hidrogênio (UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	28
3.6.3	Fotocatálise heterogênea (UV/TiO <sub>2</sub> ).....	28
3.6.4	Foto-ozonização (UV/O <sub>3</sub> ).....	30
3.7	Avaliação da toxicidade.....	31
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
4.1	Área de estudo .....	33
4.2	Coleta das amostras .....	34
4.3	Caracterização dos efluentes.....	36
4.4	Reagentes, materiais e soluções.....	36
4.5	Lavagem de vidrarias e materiais.....	37
4.6	Método de quantificação dos hormônios estrógenos .....	37
4.6.1	Extração em Fase Sólida – SPE .....	37
4.6.2	Análise cromatográfica .....	39
4.6.3	Curvas de calibração .....	40
4.7	Sistemas de tratamento.....	41
4.8	Cinética de degradação dos hormônios estrógenos .....	43
4.9	Avaliação da toxicidade.....	44
4.9.1	Teste de imobilidade/mortalidade <i>Artemia salina</i> L. ....	44
4.9.2	Teste de fuga com <i>Eisenia fétida</i> .....	44
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>48</b>
5.1	Caracterização dos efluentes.....	48
5.1.1	Parâmetros físico-químicos .....	48
5.1.2	Parâmetro microbiológico .....	52

<b>5.2</b>	<b>Quantificação dos hormônios estrógenos no efluente .....</b>	<b>53</b>
<b>5.3</b>	<b>Cinética de degradação dos hormônios estrógenos .....</b>	<b>56</b>
<b>5.4</b>	<b>Avaliação da toxicidade.....</b>	<b>62</b>
5.4.1	<i>Artemia salina</i> L.....	62
5.4.2	<i>Eisenia fétida</i> .....	65
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>71</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>90</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>95</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A água é o composto químico mais abundante no planeta Terra, sendo este um recurso de extrema importância para a existência da vida, essencial para o abastecimento público, agrícola, industrial, geração de energia, assim como para a dessedentação de animais. O constante crescimento populacional provoca uma grande pressão nos recursos hídricos, o que vem resultando na escassez de fontes de água de boa qualidade (GORGA et al., 2015; HUANG et al., 2015).

A atividade antrópica representa uma das principais fontes de alteração da qualidade e disponibilidade das águas superficiais. A geração de esgoto doméstico e industriais vem sendo mencionado como o principal fator na formação desse cenário de degradação, em razão da deficiência e até mesmo inexistência de um tratamento adequado desses efluentes (LIBÂNIO, 2008; TERNUS et al., 2011; WILLIAMS et al., 2019).

Diversos compostos naturais e sintéticos não são completamente removidos pelos sistemas de tratamento convencionais empregados atualmente. Assim, alguns poluentes se mantêm inalterados ou podem ser transformados em outros produtos, permanecendo biologicamente ativos nos corpos receptores onde esses efluentes são lançados (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; LUO et al., 2014; LUST et al., 2015; ARCHER et al., 2020), o que tem acometido as funções fisiológicas e endócrinas dos organismos expostos (GOKSØYR, 2006; BENOTTI et al., 2009; JIA et al., 2019).

Esses compostos com alto potencial tóxico dos quais seus efeitos são pouco conhecidos foram denominados de contaminantes emergentes. A crescente preocupação com esses compostos deve-se ao fato de que estão cada vez mais presentes nos ecossistemas aquáticos ao passo que não existem legislações vigentes que deem diretrizes para identificação e remoção nas estações de tratamento, o que oferece risco a saúde de todos os organismos vivos expostos (GAVRILESCU et al., 2015).

Os desreguladores endócrinos (DEs) são uma das categorias de compostos mais importantes entre os contaminantes emergentes, os quais apresentam preocupação não apenas aos organismos aquáticos, mas também a saúde humana (SABIR; AKHTAR; SALEEM, 2019; XIE et al., 2019). Os DEs atingem os recursos hídricos de diferentes maneiras, como o despejo de esgotos tratados ou não,

escoamentos agrícolas, excreções de animais e outras vias de contaminação (ESPERANZA et al., 2007; YU et al., 2019).

Entre esses compostos estão os hormônios sexuais, dos quais os mais estudados e investigados atualmente são os estrógenos, pelo fato de serem muito ativos biologicamente e estarem relacionados às causas de vários tipos de cânceres. Estes podem ser naturais, como a estrona (E1), o  $17\beta$ -estradiol (E2) e o estriol (E3), ou sintético como o  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2), que é amplamente empregado em pílulas anticoncepcionais e nas terapias de reposição hormonal (RACZ; GOEL, 2010; HAMID; ESKICIOGLU, 2012; MACHADO et al., 2014; MANICKUM; JOHN, 2014; WANG; ZHU, 2017).

Esses estrógenos são encontrados em baixas concentrações no meio ambiente ( $\mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{ng L}^{-1}$ ), mesmo assim, podem interferir negativamente nos organismos expostos (BILA; DEZOTTI, 2007; VILELA; BASSIN; PEIXOTO, 2018; SACDAL; MADRIAGA; ESPINO, 2020). Efeitos endócrinos foram observados em peixes e mexilhões em rios a jusante de estações de tratamento de esgoto (ETEs), como por exemplo, feminização de espécies machos, hermafroditismo e distúrbios reprodutivos, sendo atribuído a presença de DEs, como os estrógenos (TYLER; JOBLING, 2008; GAGNÉ et al., 2011; TETREAULT et al., 2011).

Muitas vezes esses recursos hídricos são usados para o abastecimento urbano de água potável, desta maneira, esses micropoluentes podem, portanto, serem encontrados na água da torneira em concentrações muito baixas, mesmo após o seu tratamento (MOMPELAT; LE BOT; THOMAS, 2009; HUERTA-FONTELA; GALCERAN; VENTURA, 2011; RIZZO, 2011). Apesar de não serem reportados na literatura efeitos agudos desta exposição, os efeitos a longo prazo ainda não são bem conhecidos.

Neste cenário, torna-se necessário o emprego de tecnologias adequadas para conseguir eliminar definitivamente esses contaminantes. Entre elas temos a adsorção, nano-filtração, membranas de osmose reversa, entre outras. Contudo, essas tecnologias se baseiam apenas na transferência de fase do poluente e não são capazes de promover sua degradação (BONVIN et al., 2016; TAHERAN et al., 2016; AROLA et al., 2017). Assim, os processos oxidativos avançados (POAs) se mostram como tecnologias promissoras neste ramo, devido à sua versatilidade e capacidade de aumentar a biodegradabilidade dos efluentes (NAKADA et al., 2007; WERT; ROSARIO-ORTIZ; SNYDER, 2009; ROSAL et al., 2010; YAO et al., 2016).

Desta maneira, o objetivo desse trabalho foi o de quantificar e degradar os hormônios estrógenos (E1, E2, E3 e EE2) em amostras do efluente tratado pela estação de tratamento de esgoto (ETE) do município de Marmeleiro – PR. Além disso, tem-se por objetivo, avaliar a cinética de diferentes POAs na degradação fotoquímica desses hormônios e comparar a toxicidade dos efluentes antes e após os tratamentos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a presença e a degradação dos hormônios estrógenos a partir de tratamentos empregando diferentes processos oxidativos avançados (POAs) com amostras oriundas do efluente tratado pela estação de tratamento de esgoto (ETE) do município de Marmeleiro – PR.

### 2.2 Objetivos específicos

- Quantificar os hormônios naturais estrona (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2) e estriol (E3), e sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) presentes no efluente tratado pela estação de tratamento de esgoto (ETE);
- Estudar a fotólise (UV), a fotólise com peróxido de hidrogênio (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), a fotocatalise heterogênea (UV/TiO<sub>2</sub>) e a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>) na degradação desses hormônios;
- Estudar a cinética de degradação fotoquímica dos hormônios por meio dos POAs;
- Avaliar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos do efluente antes e após cada reação fotoquímica;
- Analisar e comparar a toxicidade dos efluentes antes e após os POAs utilizando como bioindicadores *Artemia salina* L. e *Eisenia fétida*.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Desreguladores endócrinos (DES)

O corpo humano é regulado por dois grandes sistemas, o sistema nervoso e o sistema endócrino (VIVIANI; GARCIA JR, 2006). O sistema endócrino é constituído por glândulas localizadas em diferentes áreas do corpo e pelos hormônios por elas sintetizados, como os estrogênios, progesterona, testosterona e a adrenalina, os quais são responsáveis por atividades biológicas normais, como o crescimento, reprodução, desenvolvimento embrionário e metabolismo (STARLING; ZORZI, 2010; TORTORA; DERRICKSON, 2018).

Os hormônios funcionam como mensageiros produzidos e secretados pelas glândulas endócrinas, são responsáveis pela comunicação entre as células, as quais possuem estruturas proteicas (receptores) que identificam os hormônios, ocorrendo em seguida uma série de reações bioquímicas, que resultam em respostas biológicas específicas (SHIMADA; MITAMURA; HIGASHI, 2001; BIRKETT; LESTER, 2002; LINTELMANN et al., 2003). E as quantidades de hormônios necessárias para regular a maioria das funções endócrinas são muito pequenas, na ordem de  $1 \text{ pg mL}^{-1}$  (ALVES; GOMES, 2016).

De acordo a Agência Americana de Proteção Ambiental um desregulador endócrino (DE) pode ser definido como um “agente exógeno que interfere na síntese, na secreção, no transporte, na ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais no corpo, os quais são responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento dos organismos” (USEPA, 1997). Esses compostos são capazes de alterar a atividade hormonal, pois se ligam aos receptores, alterando as suas respostas normais, podendo agir por meio de bloqueio, estimulação, mimetização ou inibição da produção dos hormônios naturais (GOMES; LESTER, 2003; LINTELMANN et al., 2003; VILELA; BASSIN; PEIXOTO, 2018; HERMAN et al., 2020).

Os DEs podem causar impactos em qualquer fase do ciclo de vida, porém, durante o período de gestação há maior susceptibilidade pois os mesmos podem atravessar a barreira placentária e interferir no desenvolvimento embrionário, fetal e neonatal, provocando alterações metabólicas na infância ou na capacidade reprodutiva dos organismos, entretanto, algumas vezes podem ser somente percebidas na fase

adulta (BERGMAN et al., 2013). Além disso, tem sido reportado na literatura que os efeitos podem ser propagados para as próximas gerações, por mecanismos epigenéticos (BERNAL; JIRTLE, 2010; SINGH; LI, 2012).

Os compostos classificados como DEs incluem substâncias produzidas naturalmente, como os fitoestrogênios, os andrógenos naturais e os estrógenos naturais como estrona, estriol e  $17\beta$ -estradiol. Além destes inclui-se ainda uma vasta quantidade de produtos químicos industriais, como o hormônio estrógeno sintético  $17\alpha$ -etinilestradiol, os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), bifenilos policlorados (PCB), dioxinas, furanos, nanofenóis, metais pesados, compostos farmacêuticos e agroquímicos (GALLUBA; OEHLMANN, 2012; , NASUHOGLU et al., 2012; PESSOA, 2012; ROCHA et al., 2013; RICHARDSON; TERNES, 2018).

A sua origem no meio ambiente, está associada diretamente as águas residuárias, seja através do descarte de produtos ou pela excreção de substâncias metabolizadas ou inalteradas. Os resíduos dessas substâncias podem ser encontrados em diversas matrizes ambientais tais como esgotos, sedimentos e até mesmo, em águas destinadas ao abastecimento urbano (SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010; SANTANA, 2013; SILVA; MARQUES; GARCIA, 2019).

Esses compostos estão presentes no meio ambiente em pequenas concentrações, na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$  ou  $\text{ng L}^{-1}$ , e mesmo assim possuem grande potencial em causar efeitos deletérios aos organismos expostos, pois qualquer interferência no sistema endócrino, por mínima que seja, pode provar danos significativos em muitos processos (BILA; DEZOTTI, 2007; BRICIU, KOT-WASIK E NAMIESNIK, 2009; ROBINSON; HELLOU, 2009; TORTORA; DERRICKSON, 2018). Apesar de não ser reportado na literatura efeitos agudos decorrentes da exposição a esses micropoluentes, pouco se sabe ainda sobre os efeitos da exposição à baixas concentrações em longo prazo (HUERTA; RODRÍGUEZ-MOZAZ; BARCELÓ, 2012).

A primeira suposição de que os DEs poderiam ocasionar efeitos adversos foi levantada em 1980, na região dos Grandes Lagos nos Estados Unidos e Canadá, onde as aves coloniais expostas a agroquímicos começaram a apresentar características femininas (FILHO; ARAÚJO; VIEIRA, 2006). Os primeiros relatos em humanos aconteceram entres as décadas de 1940 a 1970, para evitar o aborto espontâneo o diethylstilbestrol (DES) era prescrito a mulheres no período gestacional, e aparentemente a utilização desse hormônio sintético não causava efeitos nas mulheres,

entretanto, as crianças nasceram com anomalias no aparelho reprodutor, como cânceres, esterilidade e endometriose (BILA; DEZOTTI, 2007).

A exposição a essas substâncias está sendo relacionada ao desenvolvimento de algumas doenças como câncer de testículo, de mama e de próstata, queda da taxa e qualidade de espermatozoides, deformidade dos órgãos reprodutivos, disfunção da tireoide e alterações relacionadas com o sistema neurológico (GHISELLI; JARDIM, 2007).

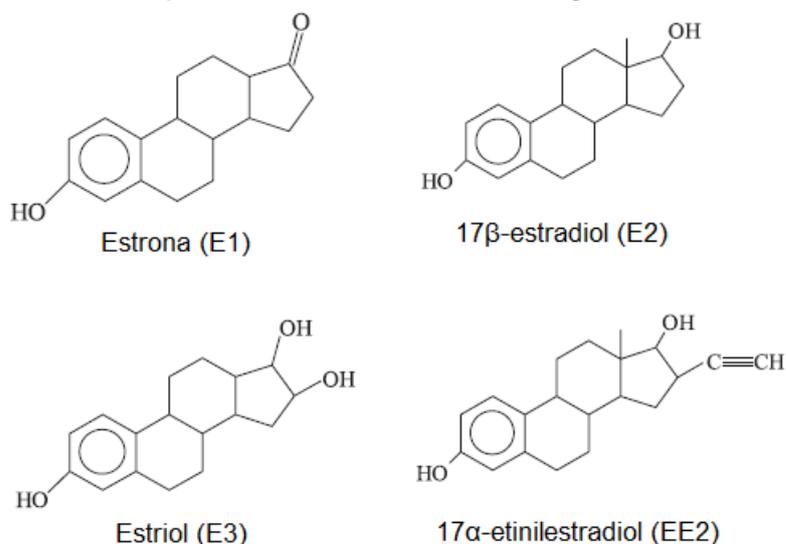
### **3.2 Hormônios estrógenos**

Os estrógenos são hormônios biologicamente ativos originários do colesterol e liberados pelo córtex adrenal, testículos, ovário e placenta em humanos e animais (ADEEL et al., 2017), os quais podem ser classificados como naturais ou sintéticos.

Os estrogênios naturais estrona (E1),  $17\beta$ -estradiol (E2) e estriol (E3) são hormônios predominantemente femininos, importantes para a manutenção da saúde dos tecidos reprodutivos, seios, pele e do cérebro. O E2 é responsável pelo desenvolvimento das características secundárias sexuais femininas e a reprodução. O E1 e o E3, são metabólitos naturais do E2. O E1 é um ingrediente ativo de um estrogênio usado no tratamento de reposição hormonal e o E3 é o principal estrogênio encontrado na urina de gestantes. O  $17\alpha$ -etinilestradiol (EE2) é um estrogênio sintético, amplamente utilizado em contraceptivos e terapias de reposição hormonal (IKEHATA; NAGHASHKAR; EL-DIN, 2006; BILA e DEZOTTI, 2007).

Entretanto, estes hormônios não são restritos à regulação da reprodução, eles atuam na formação dos ossos, tecido adiposo, sistema digestivo, cardiovascular e imunológico em mulheres e homens (DAMSTRA et al., 2002; HALL, 2012). Os quais despertam muita preocupação pela sua introdução contínua no meio ambiente e os efeitos negativos no ambiente aquático e na saúde humana (BEAUSSE, 2004; EPA, 2015).

Quando dispostos no meio ambiente, o destino desses compostos dependerá de suas características estruturais (Figura 1) e propriedades físico-químicas (Tabela 1), como a lipofilicidade, fotossensibilidade e biodegradabilidade (MELO et al., 2009; LUO et al., 2014).

**Figura 1** – Estrutura química dos hormônios estrógenos naturais e sintético.

Fonte: Adaptado de Bila e Dezotti (2007).

**Tabela 1** – Propriedades físico-químicas dos hormônios estrógenos.

Hormônio	Fórmula molecular	Massa molar (g mol <sup>-1</sup> )	Solubilidade em água (mg L <sup>-1</sup> )	Log K <sub>ow</sub> <sup>a</sup>	pK <sub>a</sub> <sup>b</sup>
E1	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	270,4	30	3,13	10,50
E2	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	272,4	3,6	4,01	10,71
E3	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	288,4	441	2,45	10,40
EE2	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	296,4	116	3,67	10,40

<sup>a</sup>Coefficiente de partição octanol/água; <sup>b</sup>Constante de dissociação ácida.

Fonte: LIU; KANJO; MIZUTANI (2009a).

Suas características físico-químicas demonstram que estes são compostos orgânicos ligeiramente hidrofóbicos, com baixa solubilidade, apresentando coeficiente de partição octanol-água (Log K<sub>ow</sub>) maiores que 2,81 e elevados valores de pK<sub>a</sub> indicando uma baixa dissociação em meios aquosos (YING; KOOKANA; RU, 2002; DOLAR et al., 2012; SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012).

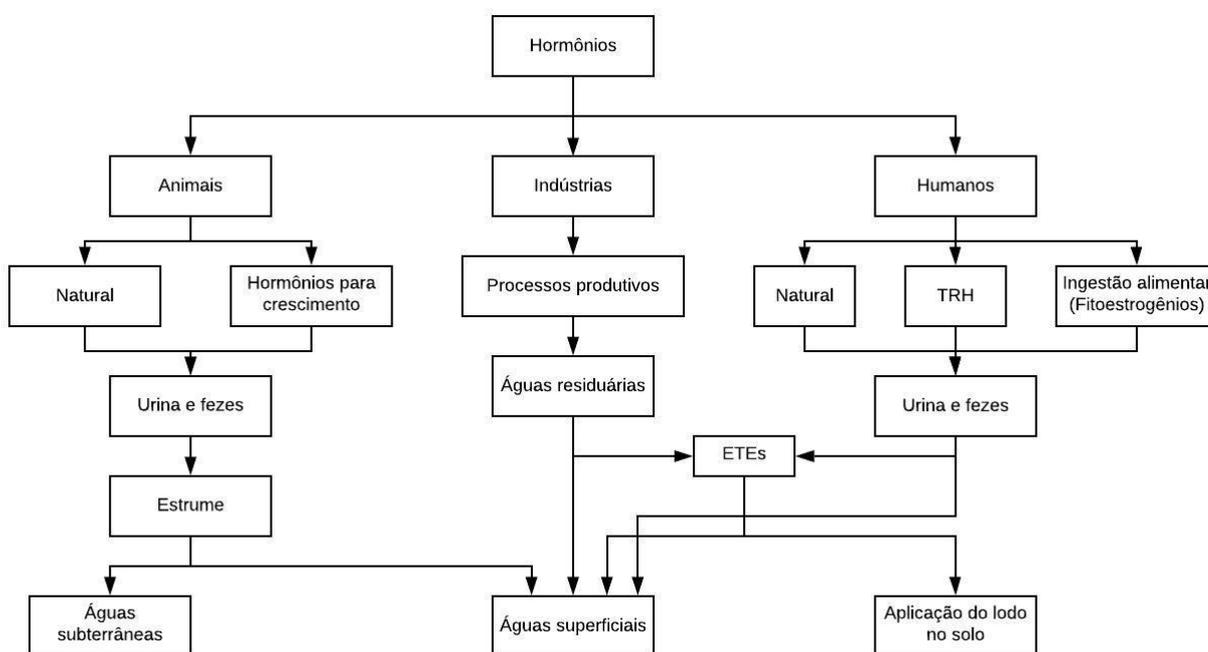
Alguns estudos mostram que o estrogênio sintético 17α-etinilestradiol é muito mais resistente a biodegradação em estações de tratamento de esgoto do que os estrogênios naturais, em razão da presença do grupo etinil (CARGOUËT et al., 2004; SERVOS et al., 2005; COMBALBERT; HERNANDEZ-RAQUET, 2010).

### 3.2.1 Presença de estrogênios no meio ambiente

A ocorrência dos hormônios estrógenos no meio ambiente pode provir de diversas fontes sejam pontuais e/ou difusas (GAVRILESCU et al., 2015). As fontes pontuais são mais facilmente identificadas, pois apresentam pontos de entrada bem definidos. Como exemplo temos as descargas diretas de águas residuárias industriais, domésticas e agrícolas e o lançamento de efluentes das estações de tratamento de esgoto – ETEs (SODRÉ et al., 2007; GORGA et al., 2015).

Em contrapartida as fontes difusas são mais difíceis de serem controladas pelo fato de que não apresentam pontos definidos de entrada no ambiente, como por exemplo o escoamento superficial do solo em regiões agrícolas (GHISELLI; JARDIM, 2007; HAMID; ESKICIOGLU, 2012). Na Figura 2 apresentam-se as possíveis vias de entrada dos hormônios no meio ambiente.

**Figura 2** – Rotas de entrada dos hormônios no meio ambiente (TRH: terapia de reposição hormonal).



Fonte: Adaptado de Hamid e Eskicioglu (2012).

Contudo, as excreções humanas e de animais são mencionadas como as principais fontes de entrada de hormônios no ambiente aquático (DE MES; ZEEMAN; LETTINGA, 2005; JOBLING et al., 2006). Estes são excretados por meio da urina e

fezes por mulheres e animais fêmeas e, em menor quantidade por homens, na forma de conjugados polares inativos (BILA; DEZOTTI, 2007; LIU; KANJO; MIZUTANI, 2009b). De acordo com a idade, dieta, saúde ou estado de gestação os organismos excretam quantidades variadas de hormônios (JOHNSON; BELFROID; DI CORCIA, 2000). Na Tabela 2 apresenta-se uma estimativa da quantidade de hormônios excretados diariamente por humanos.

**Tabela 2** – Excreção diária dos hormônios estrógenos ( $\mu\text{g dia}^{-1}$ ).

<b>Indivíduo</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>	<b>EE2</b>
Homens	3,9	1,6	1,5	-
Mulheres menstruadas	8,0	3,5	4,8	-
Mulheres na menopausa	4,0	2,3	1,0	-
Mulheres grávidas	3.000	259	6.000	-
Mulheres sob contracepção	-	-	-	35

Fonte: Johnson; Belfroid; Di Corcia (2000).

Estudos revelaram que os hormônios estrógenos não são completamente removidos durante o tratamento convencional nas estações de tratamento de efluentes – ETEs (CUI; JI; REN 2006; CHANG et al., 2011; VYMAZAL; BŘEZINOVÁ; KOŽELUH al., 2015; MSIGALA et al., 2017). Desta maneira, esses compostos e seus metabolitos permanecem nos efluentes após o tratamento e são frequentemente encontrados em águas superficiais, sedimentos e até mesmo nas águas destinadas ao abastecimento urbano (ESTEBAN et al., 2014; SOLANO et al., 2015; PERONDI, 2019).

A presença e persistência desses compostos em águas superficiais está diretamente relacionada com suas propriedades físico-químicas e as condições de saneamento (GAVRILESCU et al., 2015). Em virtude da sua contínua entrada no meio ambiente e seu potencial deletério à saúde humana e à biota aquática, o monitoramento da presença e remoção desses estrógenos é de grande interesse para a comunidade científica (VALCÁRCEL et al., 2018), e a sua entrada a partir do esgoto doméstico tratado ou não, pode apresentar um enorme risco para o meio ambiente e a saúde pública.

### 3.3 Métodos analíticos para determinação de estrogênios

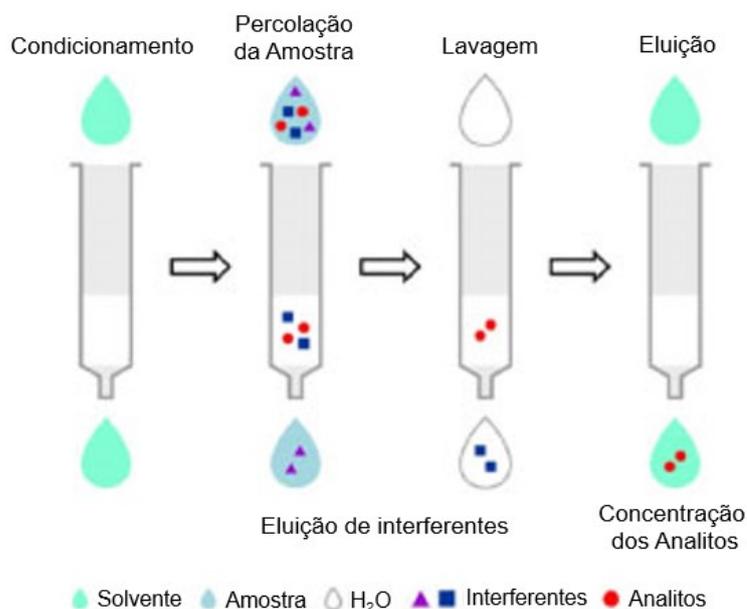
Os métodos empregados para identificar e quantificar baixas concentração de estrógenos consiste em técnicas cromatográficas associadas a um detector, como a cromatografia gasosa (CG) ou a cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography – HPLC*), associadas a uma detecção por UV, espectrometria de massa ou fluorescência (GOU et al., 2016; LOCATELLI et al., 2016). Contudo, diversos estudos que identificaram e propuseram tratamentos para os hormônios estrógenos, utilizaram a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV (STAFIEJ; PYRZYNSKA; REGAN, 2007; FERNANDES et al., 2011; PATROLECCO et al., 2013; CÉDAT et al., 2016; SHISHOV et al., 2017).

Em razão da complexidade das matrizes ambientais, a exatidão dos resultados pode ser afetada por diversos interferentes (PANDOPULOS et al., 2020). Tonando-se necessário realizar um pré-tratamento da amostra antes dos métodos instrumentais, como por exemplo, extração líquido-líquido e extração em fase sólida (do inglês *solid phase extraction - SPE*) (CHAMAS et al., 2017).

A extração em fase sólida (SPE) é uma técnica amplamente empregada para extrair e concentrar hormônios estrógenos de amostras ambientais, devido à simplicidade, baixo custo e possibilidade de automação (CABAN et al., 2019) sendo realizada em discos ou cartuchos formados por uma fase estacionária com um material adsorvente específico para reter o analito de interesse (SUR; SINGH; CHIMCHIRIAN, 2012; GUNATILAKE et al., 2014). Normalmente é requerido uma etapa de filtração das amostras que contenham material particulado, como os efluentes, com intuito de reduzir o entupimento do cartucho de extração (LOCATELLI et al., 2016).

O procedimento de SPE consiste basicamente em quatro etapas (Figura 3), sendo elas: 1) condicionamento do cartucho com solvente adequado para ativar os sítios de retenção; 2) percolação da amostra para retenção dos analitos de interesse; 3) lavagem do cartucho para eliminar possíveis interferentes; e 4) eluição dos analitos com solvente específico (CALDAS; GONÇALVES; PRIMEL, 2011).

**Figura 3** – Etapas da extração em fase sólida (SPE).



Fonte: Adaptado de Caldas, Gonçalves e Primel (2011).

### 3.4 Tratamento convencional de esgoto

As estações de tratamento de esgoto (ETEs) recebem os efluentes oriundos de sistemas coletivos de uma região, tendo como principal objetivo reduzir problemas de natureza ambiental e riscos à saúde pública provocados pelo seu despejo indevido nos corpos receptores (JORDÃO; PESSÔA, 2011).

Essas unidades são hoje, a alternativa de tratamento mais adequado para esses efluentes, onde, através de processos físicos, químicos e biológicos o efluente resultante é devolvido aos corpos hídricos. Os quais devem atender aos padrões impostos pelas Resoluções nº 357 de 17 de março de 2005 do CONAMA, que 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 (BRASIL, 2005) e a Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011 do CONAMA, a qual dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução CONAMA nº 357/05 (BRASIL, 2011). Quando houver, devem estar também em concordância com as legislações estaduais. No estado do Paraná, a Lei que dispõe sobre licenciamento ambiental, estabelece condições e padrões ambientais e dá outras providências, para empreendimentos de

saneamento é a Resolução nº 021 de 22 de abril de 2009 da Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos – SEMA (PARANÁ, 2009).

Os processos físicos aplicados no tratamento convencional do esgoto doméstico promovem a remoção dos sólidos grosseiros, sedimentáveis e flutuantes. Os processos químicos utilizam produtos químicos para maximizar a eficiência da remoção de uma substância, modificar seu estado ou estrutura, ou simplesmente alterar suas características químicas, sendo na maioria das vezes empregados em conjunto aos processos físicos e as vezes a processos biológicos. Já os processos biológicos são assim denominados por dependerem da ação de microrganismos e são fenômenos inerentes à respiração e à alimentação desses para a transformação de compostos complexos em compostos simples (SANTOS, 2007).

Esse tratamento normalmente é classificado em preliminar, primário, secundário e eventualmente terciário (VON SPERLING, 2005; LUO et al., 2014), visto que geralmente as ETEs chegam apenas até o nível secundário de tratamento. O tratamento preliminar consiste apenas na remoção dos sólidos grosseiros, gorduras e areias, enquanto o tratamento primário objetiva a remoção de sólidos em suspensão e parte da matéria orgânica, predominando em ambos, mecanismos físicos de remoção de poluentes. No tratamento secundário, há predominância de mecanismos biológicos, o foco principal é a remoção da matéria orgânica e eventualmente nutrientes como nitrogênio e fósforo. Os tipos mais comuns de tratamento secundário são as lagoas de estabilização e suas variantes, lodos ativados e suas variantes e biofilmes ou filtros biológicos. O tratamento terciário, quando empregado, objetiva a remoção de poluentes tóxicos persistentes e compostos não biodegradáveis (JORDÃO; PESSÔA, 2011).

O Brasil ainda apresenta inexistência de parâmetros legislativos que disponham de informações acerca da identificação e remoção mínima de hormônios estrógenos em efluentes. Entretanto, o conhecimento desses compostos em diversos compartimentos ambientais é algo relativamente novo no âmbito científico, assim como seus efeitos negativos provocado aos seres vivos.

Eventualmente alguns micropoluentes podem ser removidos durante o tratamento de esgoto por degradação química, biodegradação e sorção à fase sólida, sendo essa remoção fortemente influenciada pelas propriedades físico-químicas dos poluentes e pelas condições de tratamento do esgoto tais como tecnologias de tratamento e idade do lodo (BEHERA et al., 2011). Contudo, cabe salientar que apesar da sorção à fase sólida contar como uma forma de remoção, neste processo acontece

apenas uma transferência de fase do poluente, ocorrendo a geração de um subproduto sólido (lodo) que requer um tratamento e disposição final ambientalmente adequadas, e quando dispostos no solo sem tratamento prévio podem caracterizar uma importante fonte de poluição (CARBALLA et al., 2004).

Estudos apontam que os hormônios estrógenos são pouco removidos pelas ETEs que empregam tecnologias convencionais, e que as águas superficiais podem apresentar atividade estrogênica proveniente dos esgotos domésticos tratados ou não (DA CUNHA et al., 2017). Foi identificado em amostras de águas superficiais as mesmas concentrações de  $17\beta$ -estradiol encontrados em amostras de esgoto bruto (BISTAN et al., 2012). Os hormônios naturais e/ou sintéticos contribuem com 80% da estrogenicidade dos esgotos (GAVRILESCU et al., 2015; GORGA et al., 2014).

Demonstra-se assim a necessidade urgente de melhoria nas condições de tratamento destes efluentes e investimento na área de saneamento ambiental com intuito de atingir um tratamento mais eficiente e conseqüentemente um controle significativo da poluição causada por esse micropoluente. Neste contexto, sistemas de tratamento alternativos ou complementares que sejam mais eficientes devem ser avaliados (AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013; TIJANI; FATOBA; PETRIK, 2013).

### **3.6 Processos oxidativos avançados**

Os processos oxidativos avançados (POAs) são reações químicas de oxidação que ocorrem através de espécies altamente oxidantes, em especial o radical hidroxila ( $\text{OH}^\bullet$ ), espécie altamente reativa e pouco seletiva, podendo degradar uma ampla gama de poluentes, transformando-os em espécies menos prejudiciais ao meio ambiente (LIU; KANJO; MIZUTANI, 2009a; WANG; WANG, 2018).

Esse radical pode ser gerado a partir de fortes oxidantes como o ozônio ( $\text{O}_3$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ou por meio de semicondutores, sendo o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) o mais empregado, essas reações são potencializadas através da utilização de radiação ultravioleta (UV) (RUEDA-MÁRQUEZ et al., 2015).

O potencial de oxidação do radical hidroxila ( $E^\circ = 2,80 \text{ V}$ ) é superior ao dos oxidantes convencionais e menor apenas que o potencial de oxidação do flúor ( $E^\circ = 3,03 \text{ V}$ ), desta maneira, o radical hidroxila é capaz de mineralizar diversos contaminantes em dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), água ( $\text{H}_2\text{O}$ ) e íons inorgânicos

(KANAKARAJU; GLASS; OELGEMÖLLER, 2014; WANG; WANG, 2017; MALAKOOTIAN et al., 2020). Assim, esses processos possuem a capacidade de oxidar poluentes orgânicos persistentes e de difícil biodegradação, os quais não são removidos pelas técnicas convencionais de tratamento, além disso, esses processos não promovem apenas a transferência de fase do contaminante, reduzindo significativamente o volume de lodo gerado (TEIXEIRA; JARDIM, 2004; WANG; ZHUAN, 2020).

Entretanto, a formação de subprodutos de oxidação é uma grande desvantagem dos POAs, pois estes podem ter um potencial estrogênico semelhante ou maior em relação aos compostos originais, assim, a avaliação da toxicidade das amostras submetidas a esses processos é de suma importância (BILA et al., 2007; UTZIG et al., 2019; MALAKOOTIAN et al., 2020).

### 3.6.1 Fotólise (UV)

A fotólise é uma das tecnologias fotoquímicas mais simples disponível para a degradação de contaminantes orgânicos (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017). Para isso, as moléculas devem absorver a radiação emitida por uma fonte luminosa, as quais podem ser naturais ou artificiais (MAHMOUD; KÜMMERER, 2012). Contudo, a fonte artificial de radiação ultravioleta (UV-C) no comprimento de onda igual a 254 nm, obtidas por lâmpadas, é mais empregada devido a sua maior eficiência (LIU; LIU; 2004).

Esse processo pode ocorrer de maneira direta ou indireta. A fotólise direta acontece quando a radiação incidente é absorvida pela molécula promovendo a clivagem de ligações químicas entre os átomos. Já a fotólise indireta acontece quando espécies fotossensíveis absorvem os fótons e geram radicais reativos, como o oxigênio ou o radical hidroxila, os quais completam a etapa de degradação do poluente (SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012; VIONE et al., 2015).

Alguns estudos avaliaram a degradação dos hormônios estrógenos submetidos a fotólise, com tempo de reação variado de 40 a 480 minutos, onde foi verificada remoções inferiores a 60% para E2, E3 e EE2. Porém, foi observada remoção de E1 superior a 70% em todos os trabalhos (LIU; WU; DENG, 2003; ROLOFF, 2007; MAZELLIER; MÉITÉ; DE LAAT, 2008; SARKAR et al. 2014). Os estrógenos são suscetíveis a fotólise, devido a absorção dos fótons pelos grupos fenólicos e carbonilas,

os quais apresentam elevada fotossensibilidade (MAZELLIER; MÉITÉ; DE LAAT, 2008).

Um fator muito importante nesse processo é o comprimento de onda empregado, pois em um estudo realizado por Puma et al. (2010) fazendo uso de radiação UV-A, não observaram remoção dos hormônios estrógenos, enquanto verificou-se rápida degradação de EE2 empregando radiação UV-C com comprimento de onda igual a 254 nm.

### 3.6.2 Fotólise com peróxido de hidrogênio (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Esse processo combina dois oxidantes potentes, a radiação ultravioleta (UV) e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (LEGRINI et al., 2003). Essa combinação resulta na formação de dois radicais hidroxila a partir de uma molécula de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Equação 1) (TEIXEIRA, JARDIM, 2004).



A degradação do poluente pode ocorrer via fotólise direta, causando quebra de ligações químicas, porém, algumas espécies orgânicas não são eficientemente degradadas por UV direta, e a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> promove a degradação pela reação com OH• (KIM; YAMASHITA; TANAKA, 2009). No entanto, um fator que deve ser levado em consideração é a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tendo em vista que em altas concentrações este atua como sequestrante dos radicais hidroxila já formados, desta forma acabam por competir com os poluentes orgânicos, levando a menores taxas de degradação (KOWALSKA et al., 2004; CÉDAT et al., 2016).

Alguns estudos demonstram uma boa eficiência do processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na degradação estrógenos em esgoto doméstico, obtendo cerca de 90% de degradação para E1, E2, E3 e EE2 (ROSENFELDT; LINDE, 2004; HANSEN; ANDERSEN, 2012; SARKAR et al. 2014).

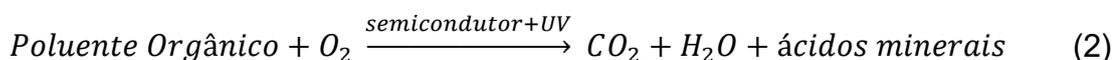
### 3.6.3 Fotocatálise heterogênea (UV/TiO<sub>2</sub>)

Entre os vários processos oxidativos avançados, a fotocatálise heterogênea apresenta um grande potencial de aplicação no tratamento de amostras ambientais

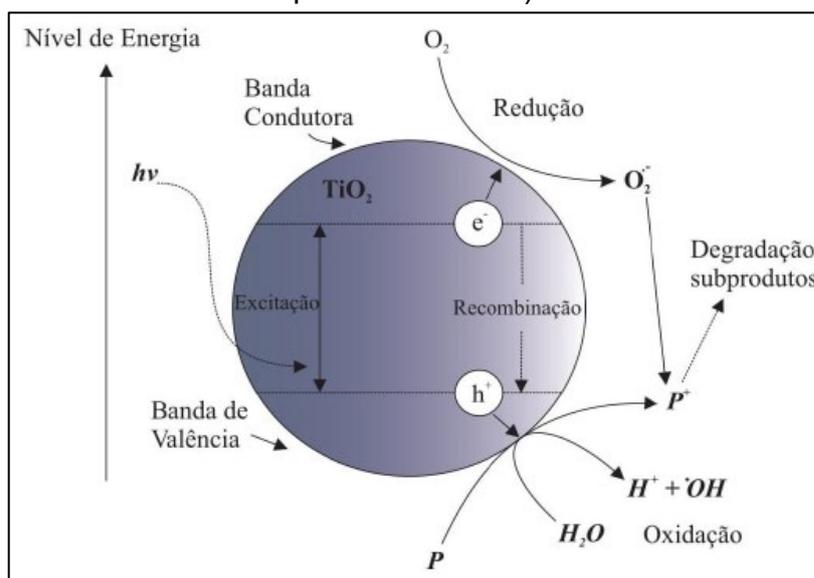
contaminadas, sendo capaz de provocar a degradação de vários contaminantes (ZHANG et al., 2012). A fotocatalise heterogênea tem sido utilizada na degradação de diversos compostos orgânicos, tais como, corantes (CERVANTES; ZAIA; SANTANA, 2009), fármacos (BAGAL; COGATE, 2014), agroquímicos (DAVEZZA et al., 2012) entre diversos outros poluentes.

Essas reações são caracterizadas pela presença de catalisadores semicondutores. Esses fotocatalisadores devem ser quimicamente e biologicamente inertes, fotoestáveis, possuir uma elevada área superficial, de baixo custo e não tóxico, os quais são ativados a partir da radiação visível ou ultravioleta (UV) (KANAKARAJU; GLASS; OELGEMÖLLER, 2014). Existem vários materiais semicondutores (ZnO, ZnS, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e CdS), entretanto o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) é o mais empregado, devido as suas propriedades, como a possibilidade de ativação por luz solar, baixo custo, insolubilidade em água, estabilidade química em diferentes valores de pH e pouca toxicidade (BASHA et al., 2010; MARCONE et al., 2012).

Esses catalisadores possuem duas regiões energéticas, a banda de valência (BV) e uma banda de condução (BC). Quando os fótons atingem a superfície do semicondutor com energia igual ou maior que a energia de “band-gap” os elétrons (e<sup>-</sup>) migram da BV para a BC, gerando uma lacuna (h<sup>+</sup>) na banda de valência. Essas espécies (e<sup>-</sup> e h<sup>+</sup>) podem se recombinar ou então migrarem para a superfície do catalisador, participando de reações de oxirredução com espécies adsorvidas como H<sub>2</sub>O, H<sup>+</sup>, O<sub>2</sub> e compostos orgânicos (Figura 4) (TEIXEIRA; JARDIM, 2004; CHONG et al., 2010). Esse processo é resumido pela Equação 2.



**Figura 4** – Esquema da fotoativação do semicondutor ( $h\nu$ : energia; P: produto; P+: produto oxidado).



Fonte: Chong et al. (2010).

A degradação do poluente ocorre na superfície do catalisador após reações químicas promovidas por espécies oxidantes, as quais são produzidas no processo de fotoativação do catalisador (MALAKOOTIAN et al., 2020). Diversos estudos reportados na literatura apresentam uma boa remoção dos hormônios estrógenos pelo processo de fotocatalise heterogênea (PUMA et al., 2010; FRONTISTIS et al., 2012; LARCHER et al., 2012; SARKAR et al., 2014; SORNALINGAM et al., 2018).

Entre as vantagens desse processo ressalta-se a sua elevada velocidade de reação, devido a presença de catalisadores, geralmente não requerem outros reagentes, podem ser ativados por luz solar e apresentam capacidade de degradar os compostos em temperatura ambiente (LIANG; LI; JIN, 2012).

#### 3.6.4 Foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>)

O ozônio (O<sub>3</sub>) é um oxidante extremamente forte ( $E^\circ = 2,07$  V). Entretanto a degradação dos hormônios estrógenos podem ser limitadas pela adesão de compostos às partículas orgânicas presentes na amostra e pelo curto tempo de vida do O<sub>3</sub> (KANAKARAJU; GLASS; OELGEMÖLLER, 2018).

Por outro lado, a combinação com a radiação ultravioleta UV-C proporciona a fotólise do O<sub>3</sub> produzindo o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), que por sua vez, decompõe o ozônio residual em radicais hidroxila (OH<sup>•</sup>), neste processo ocorre também a hemólise

do  $H_2O_2$  pela radiação UV, gerando também radicais hidroxila, potencializando a degradação dos poluentes (HOMEM; SANTOS, 2011; GOMES et al. 2017; MARTINI et al., 2018).

Essa associação torna-se muito interessante, pois diminui o consumo de ozônio e potencializa a degradação dos contaminantes aumentando a taxa de oxidação, convertendo-os em espécies menos tóxicas, melhorando a biodegradabilidade dos subprodutos (MALAKOOTIAN et al., 2020; WANG; ZHUAN, 2020). E sua aplicação em águas residuárias, como o esgoto sanitário, é muito promissora tendo em vista a capacidade de reduzir significativamente a carga de micropoluentes, tais como os hormônios estrógenos (PEŠOUTOVÁ; STRŽÍTESKÝ; HLAVÍNEK, 2014).

A dose de ozônio necessária é dependente do poluente a ser degradado, assim como das características do efluente (GOMES et al. 2017). Contudo, mesmo em baixas concentrações de  $O_3$  e tempos de contato relativamente curtos, a eficiência de degradação de estrógenos é bastante elevada (ALUM et al., 2004; KIM; YAMADA; TSUNO, 2004; ROSENFELDT et al., 2007; LIN; PENG; ZHANG, 2009). Um estudo realizado por PEŠOUTOVÁ, STRŽÍTESKÝ e HLAVÍNEK (2014), apresentou uma degradação dos hormônios E1, E2, E3 e EE2 de 99,8%, 99,7%, 99,9% e 99,7% respectivamente.

### **3.7 Avaliação da toxicidade**

A combinação de diferentes processos oxidativos avançados (POAs) é indicada para aumentar a eficiência das reações pela formação de agentes oxidantes fortes (MARTINI et al., 2018). Entretanto, esses processos podem gerar subprodutos tóxicos durante a reação (AFONSO-OLIVARES et al., 2016; ALHARBI et al., 2017).

A toxicidade de uma amostra está relacionada com sua capacidade em provocar efeitos adversos aos organismos expostos, incluindo alterações comportamentais, no crescimento ou na reprodução, podendo ocasionar até mesmo a sua morte (AREZON; NETO; GERBER, 2011). Assim, torna-se difícil prever os efeitos biológicos de efluentes tratados devido a mistura de diversos poluentes, e a mensuração da magnitude desses efeitos por meio apenas das análises físico-químicas são insuficientes, podendo apresentar intensidade em diferentes níveis, desde moléculas, células, órgão, indivíduos e comunidades (XU et al., 2020).

Embora a ampla aplicabilidade dos POAs no tratamento de águas e efluentes com intuito de remoção de micropoluentes emergentes, durante o processo de oxidação podem ser produzidos metabolitos, cuja toxicidade poderá ser menor, maior ou equivalente a dos compostos originais (AZUMA et al., 2016; GIANNAKIS et al., 2017). Assim, os ensaios toxicológicos são imprescindíveis para avaliar o impacto ambiental desses efluentes após o tratamento (RODRIGUES-SILVA et al., 2014).

Como uma complementação as análises físico-químicas, ferramentas bioanalíticas, como os bioensaios estão sendo propostas, visto que possuem capacidade em identificar os efeitos da mistura de todos os compostos ativos em uma amostra, abrangendo seus produtos de transformação (ALTENBURGER et al., 2015; NEALE et al., 2020). Quando comparados com os métodos analíticos, os bioensaios são normalmente menos onerosos e permitem uma boa avaliação da exposição e dos seus efeitos biológicos (CONLEY et al., 2017).

A avaliação da toxicidade utilizando como bioindicador o microcrustáceo *Artemia salina* L. possuem ampla aplicabilidade em diversas linhas de pesquisa, pois permite a avaliação da toxicidade aguda geral de uma amostra, proporcionando informações úteis, rápidas, econômica e com facilidade de reprodução (HIROTA et al., 2012).

Outros testes que avaliam parâmetros subletais, como por exemplo, a taxa de crescimento e disfunções comportamentais, também são capazes de fornecerem informações precisas e relevantes quanto a toxicidade de uma amostra (BARCELÓ; ŽONJA; GINEBREDÁ, 2020). As minhocas constituem cerca de 60 a 80% da biomassa na macrofauna do solo e modificam benéficamente esses ambientes, ajudando na decomposição e mineralização da matéria orgânica, bem como na ciclagem dos nutrientes (DATTA et al., 2016).

Dentre as diversas espécies de minhocas, a *Eisenia fétida* foi recomendada pela OCDE – Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (1984), como espécies sentinelas em testes toxicológicos, devido a sua facilidade de criação, disponibilidade e alta sensibilidade a compostos tóxicos (WANG et al., 2012).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

As análises bem como os ensaios fotoquímicos foram realizados no Laboratório de Águas e Efluentes, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Francisco Beltrão, exceto as análises de coliformes termotolerantes, as quais foram encaminhadas ao Laboratório Garantia de Qualidade (LGQ), localizado em Francisco Beltrão/PR.

### 4.1 Área de estudo

O município de Marmeleiro está localizado na porção sudoeste do estado do Paraná (Figura 5), seu território abrange uma área de 388,046 km<sup>2</sup> e fica a 479,7 km da capital Curitiba, a uma altitude de 660 metros acima do nível do mar, sua economia é estritamente voltada para a agricultura e a pecuária e mesmo as indústrias e empresas são direcionadas, em sua maioria, ao agronegócio (IBGE, 2010). A população estimada em 2021 foi de 14.407 habitantes (IPARDES, 2021).

**Figura 5** – Localização do município de Marmeleiro no estado do Paraná.



Fonte: Marmeleiro (2019).

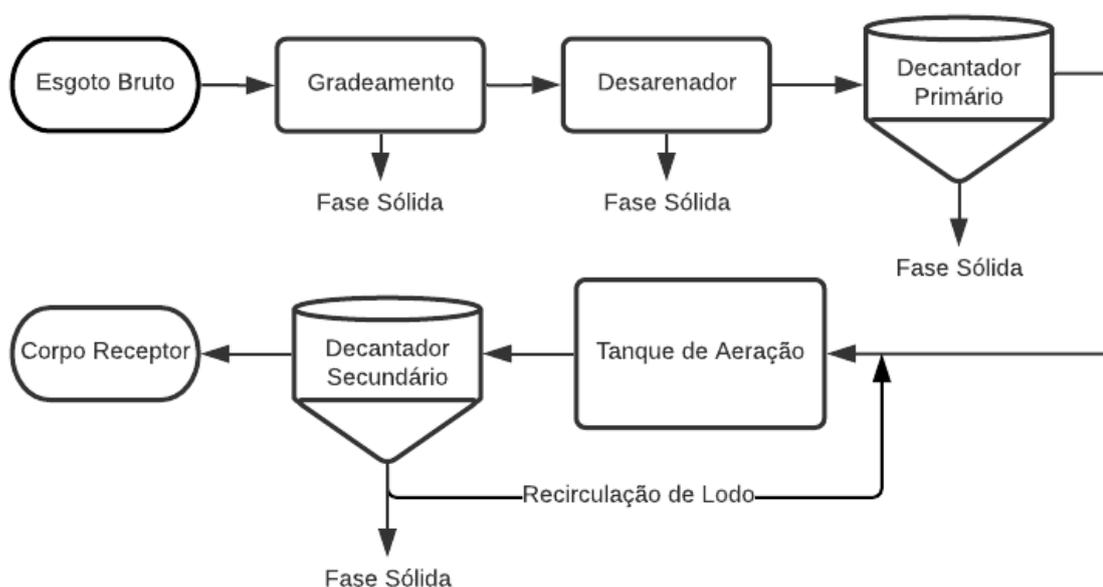
O município de Marmeleiro abriga dois rios que abrangem boa parte das suas divisas municipais longitudinalmente, o Rio Marmeleiro a leste e o Rio Marrecas a oeste. Ambos desaguam no Rio Santana que segue para o norte e desagua no Rio Chopim, sendo um importante afluente do Rio Iguaçu (MARMELEIRO, 2019).

A bacia hidrográfica do Rio Marmeleiro possui uma extensão de aproximadamente 47 Km, compreendendo cerca de 14 afluentes, distribuídos em sua maior parte na zona rural do município, sendo de grande importância para a população, tendo em vista que é o único manancial de captação de água para abastecimento urbano, e recebe ao longo de seu percurso os efluentes da estação de tratamento de esgoto – ETE (THIEL et al., 2016).

## 4.2 Coleta das amostras

O estudo foi realizado com amostras fornecidas pela Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), em sua unidade de tratamento no município de Marmeleiro, localizado no Sudoeste do estado do Paraná, projetada para tratar uma vazão de  $2.160 \text{ m}^3 \text{ d}^{-1}$ . O sistema de tratamento empregado pela ETE deste estudo pode ser visualizado na Figura 6, o qual vai até o nível secundário de tratamento, sendo empregado o sistema de lodos ativados.

**Figura 6** – Sistema de tratamento empregado pela ETE Marmeleiro/PR.



Fonte: Autoria própria (2021).

Coletou-se amostras do efluente tratado (Figura 7), após passar por todo o processo convencional empregado pela ETE, antes de serem lançados no Rio Marmeleiro. A coleta e transporte das amostras seguiu as metodologias descritas no *Standard Methods* (APHA, 1998). O ponto definido para coleta pode ser visualizado nas Figura 7 e 8.

**Figura 7** – Ponto de coleta do efluente tratado pela ETE (E).



Fonte: Autoria própria (2021).

**Figura 8** – Localização do ponto de coleta na ETE.



Fonte: Autoria própria (2021).

### 4.3 Caracterização dos efluentes

O efluente foi caracterizado em termos físico-químicos e microbiológicos antes e após cada reação fotoquímica, seguindo metodologias descritas no *Standard Methods* (APHA, 1998; APHA 2017). Os parâmetros avaliados foram: temperatura, pH, turbidez, cor, oxigênio dissolvido (OD), demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio após incubação por 5 dias à 20°C (DBO<sub>5</sub>), fósforo total, nitrogênio total, e coliformes termotolerantes.

### 4.4 Reagentes, materiais e soluções

Para a realização deste trabalho foram adquiridos da Sigma Aldrich os padrões dos hormônios estrona (E1, 97%), 17 $\beta$ -estradiol (E2, 98%), estriol (E3, 99%) e 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2, 98%), assim como os solventes metanol (99,9%) e acetonitrila (99,9%), com grau HPLC, o peróxido de hidrogênio (30% v/v) e o ácido clorídrico (99%). O dióxido de titânio (P25) foi obtido da Evonik Degussa. A água ultrapura foi obtida a partir de um sistema milli-Q da Millipore.

As amostras foram filtradas em papel filtro quantitativo com diâmetro de poro variando de 25  $\mu$ m a 40  $\mu$ m (Unifil) e em membrana de PVDF com diâmetro de poro igual a 0,22  $\mu$ m (Filtrilo).

Foram obtidos da Applied Separations, os cartuchos empregados na extração em fase sólida (SPE) do tipo seringa, com fase estacionária octadecilsilano (C18) e quantidade adsorvente de 500 mg com volume de 6 mL.

A coluna empregada no cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) para análise dos hormônios foi a coluna Khromosil C18 de 5  $\mu$ m, 100 Å, 250 mm de comprimento e 4,6 mm de espessura. Essa coluna foi acoplada a um Holder Security Guard Universal utilizando cartucho pré-coluna C18 de 4 mm por 3 mm.

As soluções estoques de cada hormônio foram preparadas na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup>, separadamente, sendo pesados 0,01 g do analito e dissolvido em 10 mL de álcool metílico, armazenadas a -22 °C por no máximo 10 dias. A partir da diluição das soluções estoques foram preparadas as soluções de trabalho nas concentrações desejadas.

#### 4.5 Lavagem de vidrarias e materiais

Todo o material utilizado durante a realização do estudo foi mantido separado e submetido por cerca de 12 horas a uma solução de Extran (5%) em água, em seguida foram enxaguados em água corrente abundantemente, água destilada e água ultrapura (Milli-Q).

#### 4.6 Método de quantificação dos hormônios estrógenos

Tendo em vista a baixa concentração desses hormônios encontrados em amostras ambientais, foi requerido que essas amostras fossem extraídas em fase sólida e eluídas em solventes para leitura em HPLC (VERBINNEN; NUNES; VIEIRA, 2010; PETRIE; BARDEN; KASPRZYK-HORDERN, 2015).

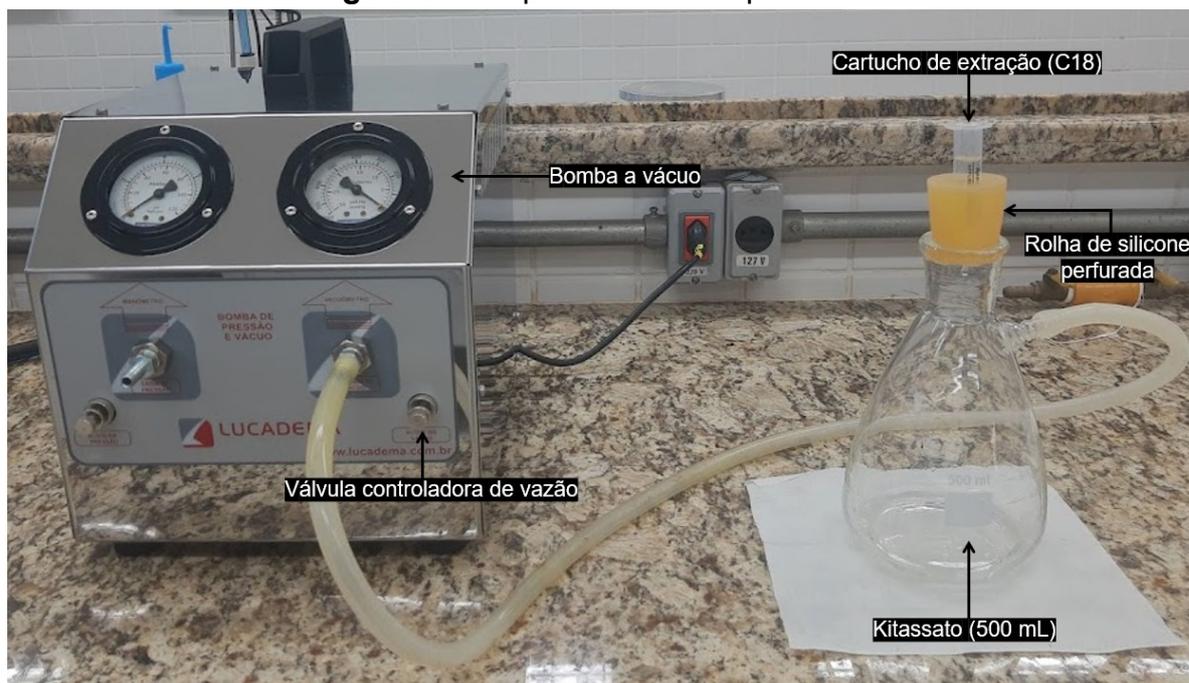
##### 4.6.1 Extração em Fase Sólida – SPE

Primeiramente as amostras foram filtradas em papel filtro quantitativo comum e em seguida em membrana de PVDF (0,22  $\mu\text{m}$ ), a fim de se eliminar as partículas sólidas em suspensão. As amostras filtradas foram extraídas imediatamente após as coletas e tratamentos, não havendo nenhum tipo de estocagem. Antes da realização da SPE o pH das amostras foi ajustado para 3 com HCl. Esse ajuste de pH foi realizado a fim de diminuir a dissociação dos analitos e assim aumentar a eficiência nesta etapa (LIU; ZHOU; WILDING, 2004).

A extração em fase sólida (SPE) foi realizada empregando o cartucho octadecilsilano (C18), com uma fase estacionária adequada para reter o analito de interesse. Esse procedimento foi realizado análogo ao proposto por Verbinnen, Nunes e Vieira (2010), onde estudou-se as melhores condições de SPE para os mesmos hormônios deste estudo.

Foi adaptado um sistema para SPE, utilizando-se uma bomba a vácuo, com uma válvula controladora de vazão, para ajuste do fluxo, um frasco Kitassato com volume de 500 mL e uma rolha de silicone perfurada para suporte do cartucho de extração. Esse sistema pode ser visualizado na Figura 9.

**Figura 9** – Esquema utilizado para SPE.



Fonte: Autoria própria (2021).

O condicionamento do cartucho foi realizado com 5 mL de álcool metílico, 7 mL de acetonitrila e 5 mL de água ultrapura (Milli-Q) com fluxo de  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . Em seguida, foi percolado 200 mL da amostra a  $2 \text{ mL min}^{-1}$ . A lavagem do cartucho foi realizada com 5 mL de água ultrapura (Milli-Q) a  $2 \text{ mL min}^{-1}$ , e seco sob vácuo por cerca de 5 min, para que pequenas quantidades de água fossem eliminadas. Os hormônios foram eluídos com 6 mL de acetonitrila com fluxo de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ , para análise em HPLC-UV. O fluxo foi ajustado com o auxílio da válvula controladora de vazão.

A eficiência do procedimento de extração foi estimada por meio do percentual de recuperação (Equação 3), obtido relacionando-se as áreas dos resultados analíticos da solução aquosa extraída ( $A_{ex}$ ) com solução aquosa não extraída ( $A_{nex}$ ). Para isso, utilizou-se água ultrapura (Milli-Q) enriquecida com solução padrão mista dos estrógenos (E1, E2, E3 e EE2) em uma concentração inicial de  $3 \text{ mg L}^{-1}$ .

$$\%Rec = \left( \frac{A_{ex}}{A_{nex}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Onde:

- $\%Rec$  = Percentual de recuperação;
- $A_{ex}$  = Área dos resultados analíticos das amostras extraídas;

- $A_{nex}$  = Área dos resultados analíticos das amostras não extraídas.

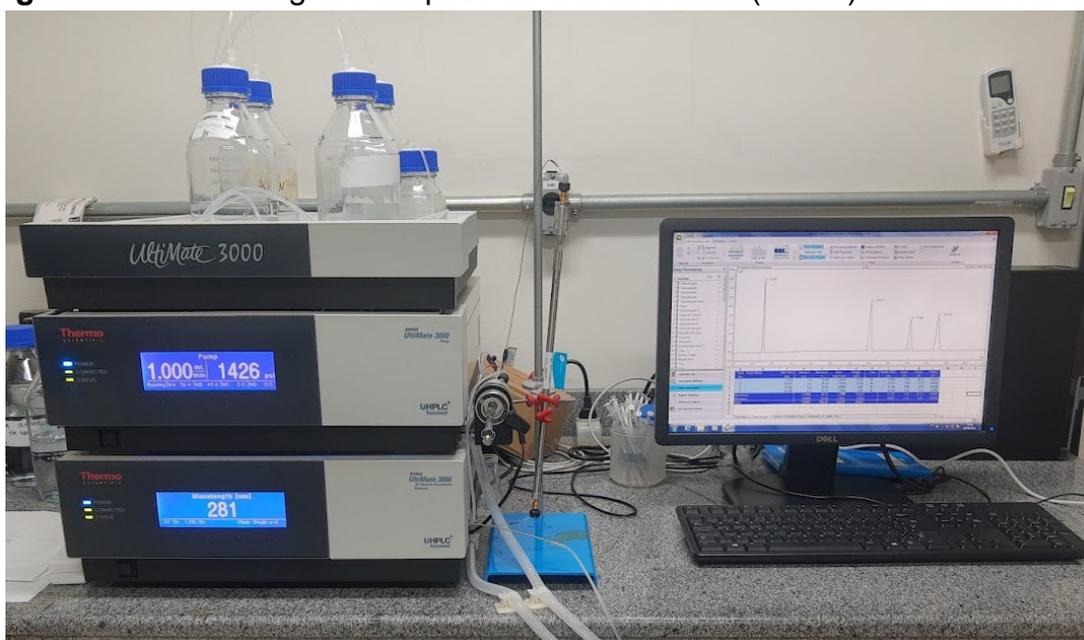
#### 4.6.2 Análise cromatográfica

Para a determinação e quantificação dos hormônios estrona (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2), estriol (E3) e 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) nas amostras de efluentes da ETE, foi adaptada a metodologia proposta e validada por Verbinnen, Nunes e Vieira (2010).

O procedimento foi realizado utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção UV (modelo *UltiMate 3000*, Thermo Scientific), em coluna C18, utilizando o *software* de cromatografia Chromeleon™ (Figura 10).

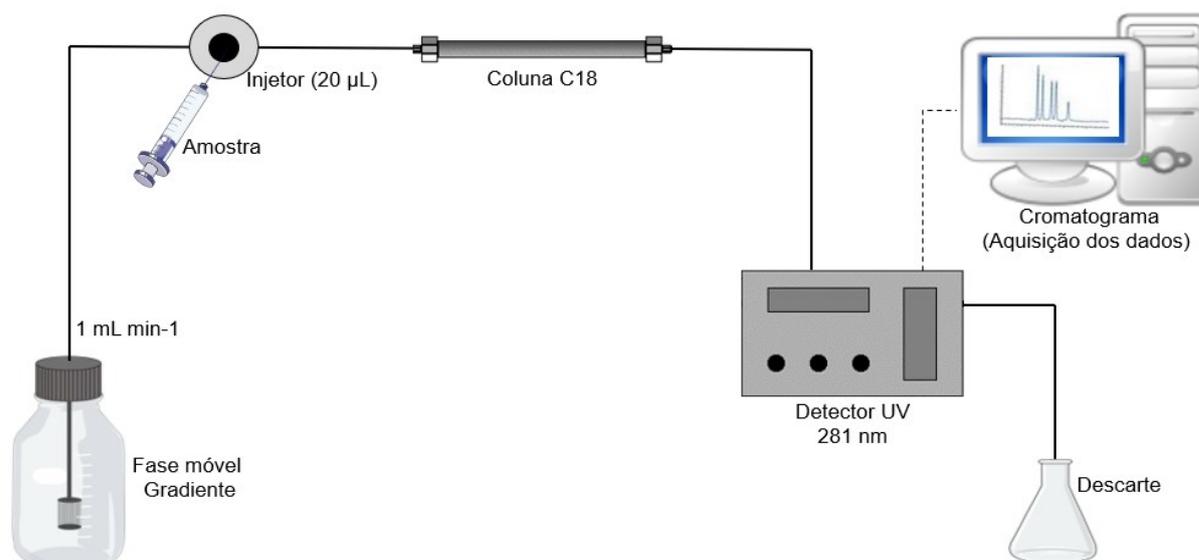
As análises foram realizadas depois da injeção manual da amostra com *loop* de 20  $\mu$ L, sob uma vazão de 1 mL min<sup>-1</sup>. A fase móvel utilizada constituiu de uma proporção de acetonitrila (ACN) e água ultrapura (Milli-Q) em modo gradiente, começando em 20:80 (ACN:H<sub>2</sub>O), alterando-se para 50:50 em 5 min e, posteriormente, para 54:46 no decorrer dos 10 min subsequentes, sendo esta última proporção mantida até o fim da corrida, com duração total de 20 min. A detecção foi realizada em um comprimento de onda igual a 281 nm. Um esquema do procedimento pode ser visualizado na Figura 11.

**Figura 10** – Cromatógrafo a líquido de alta eficiência (HPLC) com detector UV.



Fonte: Autoria própria (2021).

**Figura 11** – Procedimento para quantificação dos hormônios em HPLC -UV.



Fonte: Autora própria (2021).

#### 4.6.3 Curvas de calibração

A concentração de cada estrógeno foi calculada com base na integração das áreas de pico do cromatograma correspondentes a cada analito, sendo convertida em concentração a partir da equação da curva de calibração. Foram preparadas soluções dos quatro hormônios nas concentrações de 1 a 11 mg L<sup>-1</sup>, partindo das soluções padrões estoques de 1000 mg L<sup>-1</sup> em metanol e água ultrapura (Milli-Q), cada ponto foi injetado em triplicata no HPLC-UV, calculando-se as médias e desvios padrões relativos.

Utilizou-se o *software* Microsoft Office Excel para a construção das curvas de calibração, cálculo da equação da reta e  $r^2$ . A partir da equação da reta obtiveram-se os coeficientes angular e linear. A linearidade do método foi avaliada em função do coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ). A concentração mínima detectável ou limite de detecção (LD) e o limite inferior de quantificação (LQ) do instrumento foram calculados com as Equações 4 e 5.

$$LD = \frac{3 \times s}{c} \quad (4)$$

$$LQ = \frac{10 \times s}{c} \quad (5)$$

Onde:

- $LD$  = Limite de detecção;
- $LQ$  = Limite de quantificação;
- $s$  = Desvio padrão das medições;
- $c$  = Coeficiente angular da curva de calibração.

#### 4.7 Sistemas de tratamento

Os testes foram conduzidos isotermicamente a  $20 \pm 2$  °C em um fotoreator descontínuo, com volume útil de 2 litros. Os processos avaliados na degradação fotoquímica dos hormônios estrógenos no efluente foram: fotólise (UV), fotólise com peróxido de hidrogênio (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), fotocatalise heterogênea (UV/TiO<sub>2</sub>) e a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>).

Nos processos envolvendo a fotocatalise heterogênea foi utilizado o TiO<sub>2</sub>(P25), em suspensão como catalisador, em uma concentração de 1 g L<sup>-1</sup> de amostra (BOHRER, 2018), ao final do processo realizou-se um processo de centrifugação para recuperação do catalisador. No sistema UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi empregado o peróxido de hidrogênio (30% v/v) em uma concentração de 1,8 g L<sup>-1</sup> de amostra (BOHRER, 2018). O pH do efluente não foi alterado, pois objetivou avaliar a degradação em condições reais, onde frequentemente encontra-se um valor de pH 7. O ozônio empregado no tratamento de foto-ozonização foi gerado a partir do oxigênio atmosférico em um ozonizador modelo OZONIC OP, sendo continuamente introduzido no fotoreator através de um difusor de pedra porosa no fundo do Fotoreator com fluxo de 800 mg h<sup>-1</sup>.

Com a adição de ozônio no tratamento de foto-ozonização, verificou-se a formação de espuma durante a reação, devido aos poluentes orgânicos e possíveis surfactantes presentes neste tipo de matriz, o que acabou dificultando a realização da reação. Com o objetivo de eliminar a espuma, sem descaracterizar o processo e influenciar a cinética de degradação optou-se por introduzir ar atmosférico, através de uma bomba centrífuga, o qual foi borbulhado de forma contínua no Fotoreator por meio de um difusor de ar, com a função de romper a tensão superficial da espuma e assim

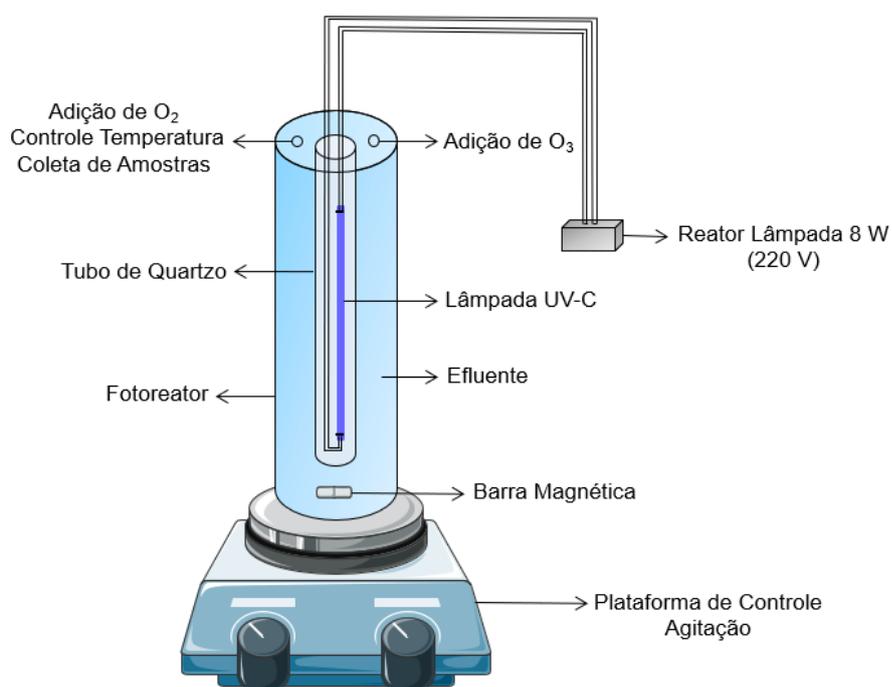
realizar as reações de foto-ozonização sem interferentes. Situação semelhante a essa foi encontrada por Messias (2015) e ajustada por Teles (2021) no sistema utilizado pelo Grupo de Pesquisa Meio Ambiente e Tecnologia - GMATEC.

O Fotoreator (Figura 12 e 13) era composto por um tubo de vidro transparente (diâmetro interno de 11 cm e altura de 37 cm) com dois acessos na tampa um para adição de  $O_2$  e outro para adição do  $O_3$ , quando empregados. O controle de temperatura durante as reações era realizado a partir da introdução de um termômetro no mesmo orifício da adição de  $O_2$ , assim como a coleta de amostras.

A fonte de radiação ultravioleta UV-C ( $\lambda=254$  nm) foi a mesma para todos os processos, sendo ela de vapor de mercúrio (Osram) de 8 watts de potência, fixada no centro do reator com um tubo de quartzo (3 cm de diâmetro por 30 cm de altura) para sua proteção.

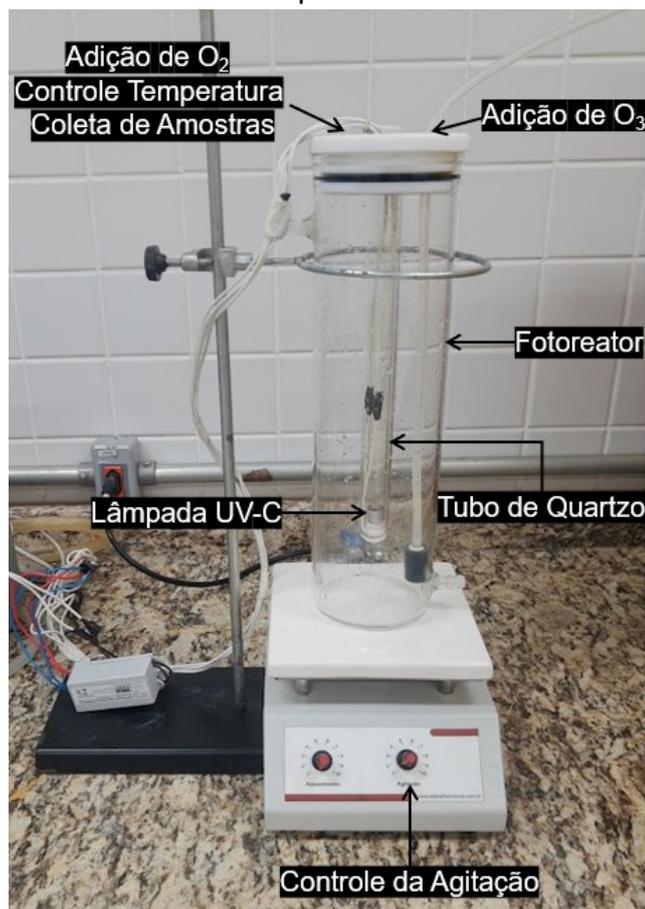
O tempo de retenção das amostras no Fotoreator para cada tratamento foi de 60 minutos. Com intuito de promover a homogeneização das amostras, foi utilizado um agitador magnético. A parte externa do reator foi revestida com papel alumínio com o objetivo de os raios ultravioletas refletirem para dentro do reator e evitar o contato externo, tendo em vista que os mesmos são prejudiciais à saúde.

**Figura 12** – Esquema do Fotoreator.



Fonte: Autoria própria (2021).

**Figura 13** – Fotoreator utilizado nos processos oxidativos avançados (POAs).



Fonte: Autoria própria (2021).

#### 4.8 Cinética de degradação dos hormônios estrógenos

Para avaliar a cinética de degradação dos hormônios naturais (E1, E2 e E3) e sintético (EE2) submetidos as reações fotoquímicas (UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub> e UV/O<sub>3</sub>), realizou-se ensaios separados com amostras do efluente enriquecido com uma solução padrão mista dos estrógenos (E1, E2, E3 e EE2) em uma concentração inicial de 8 mg L<sup>-1</sup> de cada hormônio. Foram retiradas alíquotas de 5 mL nos intervalos de 0, 5, 10, 20, 40 e 60 min de reação. Em seguida as amostras foram filtradas em papel filtro quantitativo comum e em membrana PVDF com diâmetro de poro igual a 0,22 µm e encaminhadas para análises.

Para a obtenção dos parâmetros cinéticos, os quais permitem avaliar a velocidade de degradação dos hormônios E1, E2, E3 e EE2 pelos processos oxidativos avançados, foi aplicado o modelo cinético de pseudo-primeira ordem (Equação 6).

$$-\ln \frac{C}{C_0} = k \cdot t \quad (6)$$

Onde:

- $C_0$  = Concentração inicial dos hormônios estrógenos (mg L<sup>-1</sup>)
- $C$  = Concentração dos hormônios estrógenos após os POAs (mg L<sup>-1</sup>);
- $k$  = Constante cinética de pseudo-primeira ordem (min<sup>-1</sup>);
- $t$  = Tempo de reação (min).

## 4.9 Avaliação da toxicidade

### 4.9.1 Teste de imobilidade/mortalidade *Artemia salina* L.

Os testes de imobilidade/mortalidade com *A. salina* foram conduzidos pelo método proposto por Guerra (2001), com modificações baseadas na ABNT NBR 13373. Inicialmente cistos de *A. salina* foram incubados em solução de sal marinho sintético (30 g L<sup>-1</sup>), aerados, com luminosidade e temperatura de 25 °C, para induzir sua eclosão.

Após a eclosão dos cistos, 10 náuplios do microcrustáceo foram transferidos para poços de placas de cultivo, contendo: 2 mL da solução salina (controle negativo salino), 2 mL de água mineral (controle negativo doce) e 2 mL das amostras nas seguintes concentrações de 100%, 50%, 25%, 12%, 6,2%, 3,1%.

Após 24 horas de incubação, a 25 °C, foi realizada a contagem do número de náuplios mortos, considerados como tal aqueles que permanecerem imóveis durante 20 segundos de observação. Com os valores médios e desvios-padrões de mortalidade foi realizada a análise estatística através do Teste de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5% (n=4).

### 4.9.2 Teste de fuga com *Eisenia fétida*

O ensaio de fuga foi desenvolvido com as minhocas *Eisenia fétida* segundo a norma NBR ISO 17512-1 (ABNT, 2011) e protocolo ISO (2008). As minhocas da espécie *E. fétida* (Figura 14) foram adquiridas na fase adulta de fonte comercial e para o experimento utilizou-se organismos com clitelo bem desenvolvido e massa corporal

individual de 300 a 600 mg. Foi utilizado uma adaptação de solo artificial tropical (SAT) proposto pela OECD (1984), sendo composto por uma mistura de área fina seca e peneirada (70%), caulim em pó (20%) e fibra de coco formato chips (10%).

A umidade do solo foi ajustada para 60% da capacidade máxima de retenção de água, para isso, adicionou-se água filtrada (solo controle negativo – CO-), efluente (solo teste) ou uma solução de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) em uma concentração de  $750\text{ mg Kg}^{-1}$  de solo (solo controle positivo – CO+).

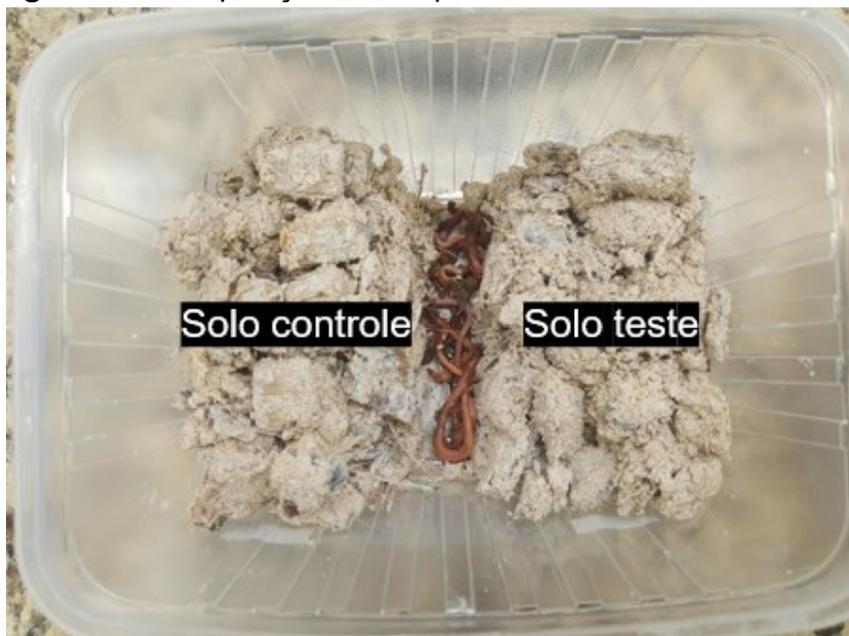
Para realização dos experimentos utilizou-se recipientes retangulares de polipropileno, com dimensões de 115 x 175 x 132 mm. A tampa dos recipientes foi perfurada e seu volume interior dividido ao meio pela inserção de um divisor plástico removível. Uma das laterais dos recipientes foi preenchida com 600 g de solo controle negativo (SAT + água filtrada), ao passo que na outra lateral foi adicionada a mesma quantidade de solo teste (SAT + efluente) ou solo controle positivo (SAT + ácido bórico). Em seguida, foi removido o divisor de plástico e colocou-se 10 minhocas na linha divisória entre os dois solos que se encontram no mesmo recipiente, lado a lado, conforme Figura 15.

**Figura 14** – Minhocas *Eisenia fétida* em solo artificial.



Fonte Autoria própria (2021).

**Figura 15** – Disposição dos experimentos com *Eisenia fétida*.



Fonte: Autoria própria (2021).

Foram realizadas duas repetições biológicas de cada experimento. Os recipientes foram mantidos no escuro durante 48 h. Após este período, reposicionou-se o divisor plástico em todos os recipientes, separando os solos controle e teste, em seguida realizou-se a contagem dos organismos em cada seção. Tendo em vista a possibilidade de algum organismo sofrer corte em seu corpo durante o procedimento de inserção do divisor nos recipientes, considerou-se a presença desse organismo na seção contendo a parte anterior do corpo (CANDELLO, 2014).

Para validação deste ensaio é necessário o atendimento ao critério de distribuição homogênea (40-60%) dos organismos nos recipientes-teste na ausência de contaminantes, para tal, realizou-se o teste de controle dual, onde o solo controle negativo foi disposto nas duas seções do recipiente. Assim como, verificou-se o número de minhocas mortas durante o tempo do ensaio, sendo o teste considerado válido para valores inferiores a 10% em cada recipiente.

A análise dos dados foi realizada em termos de porcentagem de fuga por amostra avaliada, de acordo com a Equação 7. O solo é considerado tóxico quando apresenta uma taxa de fuga superior a 60% dos organismos expostos. Respostas negativas (ou seja, as minhocas preferem o solo-teste) são consideradas como 0% de fuga. Para verificar a significância da resposta de fuga foi utilizado o teste estatístico de Fisher unicaudal, utilizando os dados da média mais ou menos o desvio padrão do

número de organismos encontrados em cada seção do recipiente de cada tratamento e do controle dual.

$$\% = \left( \frac{nC - nT}{N} \right) \times 100 \quad (7)$$

Onde:

- % = porcentagem de fuga;
- $nC$  = número de minhocas encontradas na seção B (solo-controle);
- $nT$  = número de minhocas encontradas na seção A (solo-teste);
- $N$  = número total de minhocas (soma das replicatas por amostra).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Caracterização dos efluentes

#### 5.1.1 Parâmetros físico-químicos

Os resultados da caracterização físico-química (Tabela 3) mostram que os tratamentos empregando os diferentes POAs foram eficientes na redução dos parâmetros avaliados.

**Tabela 3** – Resultados das caracterizações físico-químicas do efluente antes e após os POAs avaliados.

Parâmetros	Inicial		Final		
	E	UV	UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	UV/TiO <sub>2</sub>	UV/O <sub>3</sub>
Temperatura (°C)	20,50	20,40	20,60	20,40	20,50
pH	7,00	7,20	7,35	7,50	7,80
Turbidez (NTU)	20,66	19,92	15,25	10,82	8,61
Cor (mgPtCo L <sup>-1</sup> )	352,35	332,23	279,91	255,76	183,32
OD (mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	5,80	7,20	8,10	7,02	8,69
DQO (mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	225,70	133,79	122,85	113,01	75,80
DBO (mgO <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	153,89	78,54	65,16	60,09	45,72
Fósforo Total (mg L <sup>-1</sup> )	1,96	1,06	0,84	0,75	0,23
Nitrogênio Total (mg L <sup>-1</sup> )	27,07	15,82	10,36	9,24	7,89

E: efluente tratado pela ETE; UV: fotólise; UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: fotólise com peróxido de hidrogênio; UV/TiO<sub>2</sub>: fotocatalise heterogênea; UV/O<sub>3</sub>: foto-ozonização.

Fonte: Autoria própria (2021).

Os dados da Tabela 3, demonstram que a temperatura se manteve constante durante todos os tratamentos, indicando que os POAs não apresentaram elevação significativa deste parâmetro ao longo das reações. O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), em sua Resolução n° 430 de 2011, a qual dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n° 357/2005 do CONAMA, em sua Seção III, onde é abordado as Condições e Padrões para Efluentes de Sistemas de Tratamento de Esgotos Sanitários, estabelece que a temperatura do efluente para lançamento no corpo receptor deve ser inferior a

40 °C (BRASIL, 2011). Assim, observa-se que todas as amostras se apresentaram dentro deste limite, não gerando riscos de causar distúrbios no corpo receptor.

Os valores de pH das amostras permaneceram estáveis durante todos os tratamentos, os quais foram conduzidos sem ajuste inicial. A Resolução do CONAMA nº 430/11 estabelece que para critérios de proteção à vida aquática o pH do efluente deve estar entre 5 e 9 (BRASIL, 2011). Desta maneira, a amostra do efluente tratado pela ETE submetido aos POAs, encontram-se dentro da faixa estabelecida pela legislação vigente.

Em relação a análise de turbidez, foi verificado reduções significativas de 58,33% e 47,63% para os tratamentos empregando UV/O<sub>3</sub> e UV/TiO<sub>2</sub> respectivamente. Já as menores reduções foram verificadas para os processos UV e UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, cerca de 3,60% e 26,19%, respectivamente. O acompanhamento deste parâmetro durante os POAs, especialmente aqueles que empregam radiação, como neste estudo, torna-se importante pois os sólidos em suspensão podem formar uma barreira física entre os compostos alvos e os fótons, levando a uma diminuição na eficiência do tratamento (GIANNAKIS et al., 2015).

O corpo receptor dos efluentes da ETE deste estudo, é o Rio Marmeleiro, e de acordo com a Resolução do CONAMA nº 357/05, a qual 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, este manancial enquadra-se nas águas doces de Classe 2. Sendo assim, a turbidez no efluente destinado a esses corpos hídricos não poderá exceder o valor de 100 NTU (BRASIL, 2005), verifica-se que todas as amostras se encontram dentro do estabelecido.

Para o parâmetro cor, foi observado uma redução de 47,97% na remoção de sólidos dissolvidos no tratamento UV/O<sub>3</sub>, já para os outros processos, essa eficiência foi relativamente menor, variando de 5,71%, 20,56% e 27,41% para UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub>, respectivamente. Assim como para turbidez, a quantidade de sólidos dissolvidos na amostra pode acabar resultando em menores taxas de degradações dos poluentes pelos POAs. Na Figura 16, é possível notar a diferença visual na redução desses parâmetros.

**Figura 16** – Amostras do efluente da ETE (E) inicial e após o tratamento com os diferentes POAs.



E: efluente tratado pela ETE; UV: fotólise; UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: fotólise com peróxido de hidrogênio; UV/TiO<sub>2</sub>: fotocatalise heterogênea; UV/O<sub>3</sub>: foto-ozonização.

Fonte: Autoria própria (2021).

Os valores encontrados para o oxigênio dissolvido (OD), estavam todos dentro do estipulado pela Resolução do CONAMA n° 357/05, sendo o valor mínimo de 5 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>, para lançamento de efluentes em corpo receptor de água doce Classe 2 (BRASIL, 2005). O tratamento empregando a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>), apresentou um aumento considerável na concentração de oxigênio dissolvido na amostra (8,69 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>), sendo considerado um dos benefícios proporcionados por este processo (FAST et al., 2017).

Na avaliação da demanda química de oxigênio (DQO), todos os tratamentos avaliados apresentaram uma redução expressiva neste parâmetro, no entanto, novamente a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>) se sobressaiu em comparação aos outros, apresentando cerca de 66,42%, enquanto, UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub> apresentaram 40,72%, 45,75% e 49,9%, respectivamente.

As Resoluções do CONAMA n° 357/05 e n° 430/11, não abordam o parâmetro de DQO. Entretanto, no estado do Paraná, a SEMA – Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos em sua Resolução n° 021/09, a qual dispõe sobre licenciamento ambiental, estabelece condições e padrões ambientais e dá outras providências, para empreendimentos de saneamento no estado do Paraná, em seu Artigo 11, estabelece que o valor de DQO no efluente não poderá ultrapassar o valor de 225 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (PARANÁ, 2009). Assim, todas as amostras encontram-se dentro do estabelecido pela legislação estadual, porém, todos os POAs avaliados foram capazes de reduzir ainda mais esse parâmetro, proporcionando um efluente de melhor qualidade a ser devolvido para o corpo receptor.

A demanda bioquímica de oxigênio, mesurada após 5 dias de incubação à 20 °C (DBO<sub>5</sub>), indica a fração biodegradável presente na amostra. Neste parâmetro os

processos UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub> e UV/O<sub>3</sub>, proporcionaram reduções de 48,96%, 57,66%, 60,95% e 70,28%, respectivamente. Esses resultados demonstram que, novamente, o efluente apresentou uma melhor qualidade ao ser submetido aos POAs, pois um menor valor de DBO<sub>5</sub> no efluente, reduz as chances de distúrbios no ecossistema, a partir do consumo de oxigênio dissolvido. A Resolução n° 430/11 do CONAMA estabelece limite máximo de 120 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (BRASIL, 2011), enquanto a Resolução n° 021/09 da SEMA estipula um limite mais restritivo de no máximo 90 mgO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> (PARANÁ, 2009). Logo, observa-se na Tabela 3, que após todos os POAs, o efluente se encontrava dentro do estabelecido pela legislação mais restritiva.

O parâmetro fósforo total apresentou uma diminuição de 45,92%, 57,14%, 61,73% e 88,27%, quando tratados com UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub> e UV/O<sub>3</sub>, respectivamente. Apesar de todos os tratamentos se mostrarem eficientes na remoção deste parâmetro, os valores finais encontram-se acima do estabelecido pela Resolução n° 357/05 do CONAMA, a qual estabelece que para corpos de água enquadrados como Classe 2, um limite de 0,030 mg L<sup>-1</sup> para lançamento em ambientes lênticos (BRASIL, 2005).

Na avaliação do nitrogênio total, verificou-se reduções significativas na faixa de 41,56%, 61,72%, 65,87% e 70,85%, para os processos oxidativos UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub> e UV/O<sub>3</sub>, respectivamente. Nenhuma legislação consultada neste estudo faz referência ao parâmetro nitrogênio total. Contudo, a Diretiva 91/271 da Comunidade Europeia, estabelece um limite de 15 mg L<sup>-1</sup> de nitrogênio total em efluentes de ETE municipais (ECC, 1991). Apesar da fotólise (UV) apresentar boa eficiente na redução deste parâmetro, o efluente final não atende ao imposto pela Diretiva 91/271, apenas os tratamentos empregando a fotólise com peróxido de hidrogênio (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), fotocatalise heterogênea (UV/TiO<sub>2</sub>) e a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>), proporcionaram reduções na faixa estabelecida pela legislação.

As ETEs municipais são projetadas para tratar uma grande quantidade de poluentes, como por exemplo, partículas sólidas, compostos orgânicos, nutrientes e patógenos, entretanto, a remoção de micropoluentes como os hormônios estrógenos, não são removidos com eficiência e, por consequência, muito desses compostos atingem as águas superficiais (LUO et al., 2014; ZHAO; LUNG, 2017).

A eficiência dos POAs na melhoria dos parâmetros físico-químicos avaliados seguiu a ordem UV/O<sub>3</sub>>UV/TiO<sub>2</sub>>UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>>UV. Desta maneira, a utilização de processos oxidativos avançados (POAs) como um tratamento terciário nas ETEs

municipais, poderia contribuir significativamente na redução da carga poluidora, proporcionando um efluente de melhor qualidade a ser lançado no corpo receptor.

### 5.1.2 Parâmetro microbiológico

Na Tabela 4 apresenta-se os resultados obtidos na análise de coliformes termotolerantes tanto no efluente (E) quanto após os tratamentos com os POAs avaliados. Os laudos referentes a essas análises podem ser observados nos Anexos 1 ao 5. Uma desinfecção eficiente dos efluentes das ETEs torna-se necessária quando há contato primário de balneabilidade ou coleta de água para abastecimento público em ponto jusante ao lançamento (PARANÁ, 2009). Quando não há contato primário, a Resolução do CONAMA n° 357/05 define para corpos de água doce Classe 2 um limite máximo de 1000 UFC em 100mL<sup>-1</sup> (BRASIL, 2005).

**Tabela 4** – Resultado da caracterização microbiológica do efluente (E) e os diferentes POAs avaliados.

Amostra	Coliformes termotolerantes UFC 100mL <sup>-1</sup>
E	1,7 × 10 <sup>4</sup>
UV	2,0 × 10 <sup>1</sup>
UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,0 × 10 <sup>1</sup>
UV/TiO <sub>2</sub>	2,0 × 10 <sup>1</sup>
UV/O <sub>3</sub>	4,0 × 10 <sup>1</sup>

E: efluente tratado pela ETE; UV: fotólise; UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: fotólise com peróxido de hidrogênio; UV/TiO<sub>2</sub>: fotocatalise heterogênea; UV/O<sub>3</sub>: foto-ozonização.

Fonte: Aatoria própria (2021).

Analisando os resultados obtidos para este parâmetro, podemos constatar que como a ETE em questão não emprega nenhum processo de desinfecção no efluente (E), o valor encontrado está muito acima ao que estabelece a Resolução do CONAMA n° 357/05, apresentando um valor igual a 17000 UFC em 100mL<sup>-1</sup>. Entretanto, ao submeter o efluente (E) aos POAs, observou-se uma redução significativa neste parâmetro, obtendo inativações de cerca de 99,88%, 99,88%, 99,94% e 99,76% para UV, UV/TiO<sub>2</sub>, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e UV/O<sub>3</sub>, respectivamente.

Ao comparar o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à cloração em termos de inativação e posteriormente a rebrota de uma cepa de *E. coli* em um efluente proveniente da ETE, Fiorentino et al. (2015), observaram que, apesar da cloração apresentar um melhor desempenho quando comparado ao POA na inativação total, esta foi menos eficaz no controle do novo crescimento do microrganismo avaliado.

Quando a desinfecção é necessária em efluentes, o método mais empregado é a cloração, pela sua alta eficiência bactericida e menor custo operacional, contudo, este processo resulta na formação de subprodutos tóxicos, como por exemplo os trihalometanos, assim, a utilização de agentes alternativos que proporcionem a desinfecção sem gerar compostos mais tóxicos como a radiação UV-C, tem ganhado atenção (LI et al., 2017; DI CESARE et al., 2020). Como demonstrado neste estudo, os POAs se mostram boas alternativas ao uso da cloração na inativação desses microrganismos.

## 5.2 Quantificação dos hormônios estrógenos no efluente

A partir do percentual de recuperação (%Rec) pode-se observar que a metodologia utilizada para extração e concentração dos analitos mostrou-se satisfatória, com recuperações variando de 104,24% para E1, 97,88% para E2, 101,04% para E3 e 92,91% para EE2. De acordo com a ANVISA (2003) é desejável que os valores de recuperação sejam próximos de 100%, principalmente na validação dos métodos voltados para análises de traços, o que não foi objetivo deste estudo. Entretanto Ribani et al. (2004), alegam que recuperações dentro do intervalo de 70 a 120% são aceitáveis para métodos cromatográficos, informação corroborada por Yuan et al. (2019) e Wang, Chen e Sun (2020).

Resultados semelhantes foram reportados por Chimchirian, Rominder e Hongxiang (2007) ao utilizaram o cartucho C18 para extração dos hormônios estrógenos de águas residuais, os valores variaram de 86 a 101%. Daniel e Lima (2014), obtiveram 84%, 86,6%, 78,4% e 88,6% de recuperação para os hormônios E1, E2, EE2 e E3, respectivamente, seguindo a mesma metodologia proposta por Verbinnen, Nunes e Vieira (2010) com o cartucho de extração C18.

Para conhecimento da concentração de E1, E2, E3 e EE2 nas amostras, utilizou-se a equação da reta de cada hormônio (Apêndice A). O limite de detecção (LD) do método ficou na faixa de 6,181 mg L<sup>-1</sup> para E1, 6,431 mg L<sup>-1</sup> para E2, 6,448

mg L<sup>-1</sup> para E3 e 6,263 mg L<sup>-1</sup> para EE2, levando isso em consideração e o fato do efluente tratado pela ETE apresentar concentrações inferiores às do LD, realizou-se o procedimento de SPE conforme descrito no item 4.6.1, e ao final da eluição do analito, enriqueceu-se a amostra extraída com 8 mg L<sup>-1</sup> de cada hormônio.

Para conhecimento da concentração real no efluente, descontou-se as áreas de picos dos cromatogramas da amostra enriquecida após SPE com o padrão de 8 mg L<sup>-1</sup>. Na Tabela 5, estão apresentadas as concentrações encontradas de cada hormônio na amostra estudada.

**Tabela 5** – Concentração dos hormônios no efluente tratado pela ETE.

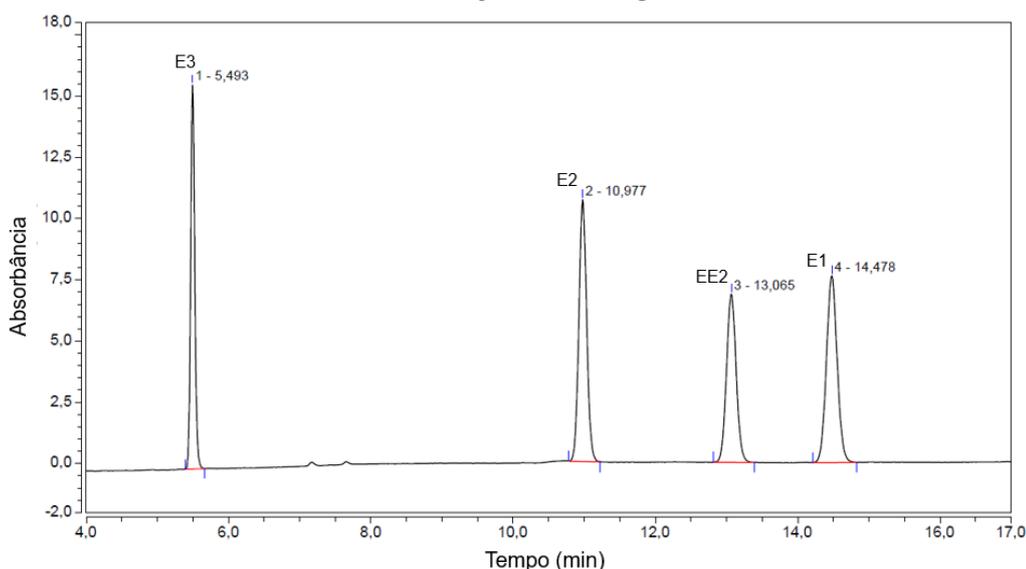
	E1 (µg L <sup>-1</sup> )	E2 (µg L <sup>-1</sup> )	E3 (µg L <sup>-1</sup> )	EE2 (µg L <sup>-1</sup> )
<b>Efluente</b>	4,120	ND	2,250	1,215

ND: não detectado

Fonte: Autoria própria (2021).

Na Figura 17, observa-se o cromatograma dos quatro compostos alvos deste estudo a uma concentração de 8 mg L<sup>-1</sup>, demonstrando que estes estavam todos sendo bem separados pela metodologia utilizada.

**Figura 17** – Cromatograma dos hormônios estrógenos E1, E2, E3 e EE2 na concentração de 8 mg L<sup>-1</sup>.



Fonte: Autoria própria (2021).

Analisando os resultados apresentados na Tabela 5, podemos notar que três dos quatro hormônios estudados foram detectados em altas concentrações nas

amostras do efluente tratado pela ETE do município de Marmeleiro/PR. Neste trabalho, foi verificado uma maior concentração dos hormônios estrógenos em efluente de ETE quando comparados a outros estudos, os quais identificaram concentrações na ordem de  $\text{ng L}^{-1}$  (GABET-GIRAUD et al., 2010; BELHAJ et al., 2015; WU et al., 2017; ĆELIĆ et al., 2020).

Cabe salientar que, as concentrações desses compostos apresentam uma variação temporal, e que as amostras foram coletadas durante a estação seca do ano, onde é comum menores taxas pluviométricas, fato este que pode ter contribuído para uma menor diluição dos estrogênios na amostra investigada, resultando em maiores concentrações.

Entretanto, esses resultados corroboram com os achados de Pessoa et al. (2014), onde foi avaliada a ocorrência e remoção de hormônios estrógenos em cinco ETEs brasileiras. Os autores encontraram maiores concentrações para E1 e EE2, variando na faixa de 3,050 e 3,180  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, enquanto E2 apresentou uma concentração máxima de 0,776  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Ghiselli (2006) ao avaliar o efluente tratado por uma ETE localizada em São Paulo, também identificou uma alta concentração de hormônios estrógenos, obtendo valor de 4,130  $\mu\text{g L}^{-1}$  para E1 e 5,040  $\mu\text{g L}^{-1}$  para EE2.

A baixa concentração de compostos estradiol (E2 e EE2), pode ser explicado pela sua rápida degradação em estrona (E1) (SERVOS et al., 2005; CZAJKA; LONDRY, 2006; ZHANG et al., 2014). Ratificando os resultados encontrados, onde maiores concentração foram verificadas para E1 e menores para compostos à base de estradiol (E2 e EE2).

As ETEs apresentam remoções médias de 37,8%, 75,9% e 74,8% para E1, E2 e E3, respectivamente, evidenciando um baixo desempenho na remoção destes compostos (LIU et al., 2015). Dentre os hormônios naturais estudados, a estrona (E1), tem demonstrado uma menor eficiência de remoção nas ETEs, possivelmente, devido ao relatado anteriormente, onde outros hormônios conjugados ou livres são biodegradados a E1 durante o processo de tratamento (ZHENG et al., 2013; ALVARINO et al., 2014; KUMAR et al., 2012).

De fato, os hormônios estrógenos presentes em efluentes de ETEs municipais são uma das principais fontes de contaminação das águas superficiais em todo o mundo, desta maneira, torna-se urgente a necessidade de melhorar a eficiência destas unidades na remoção destes compostos, com intuito de reduzir a ocorrência

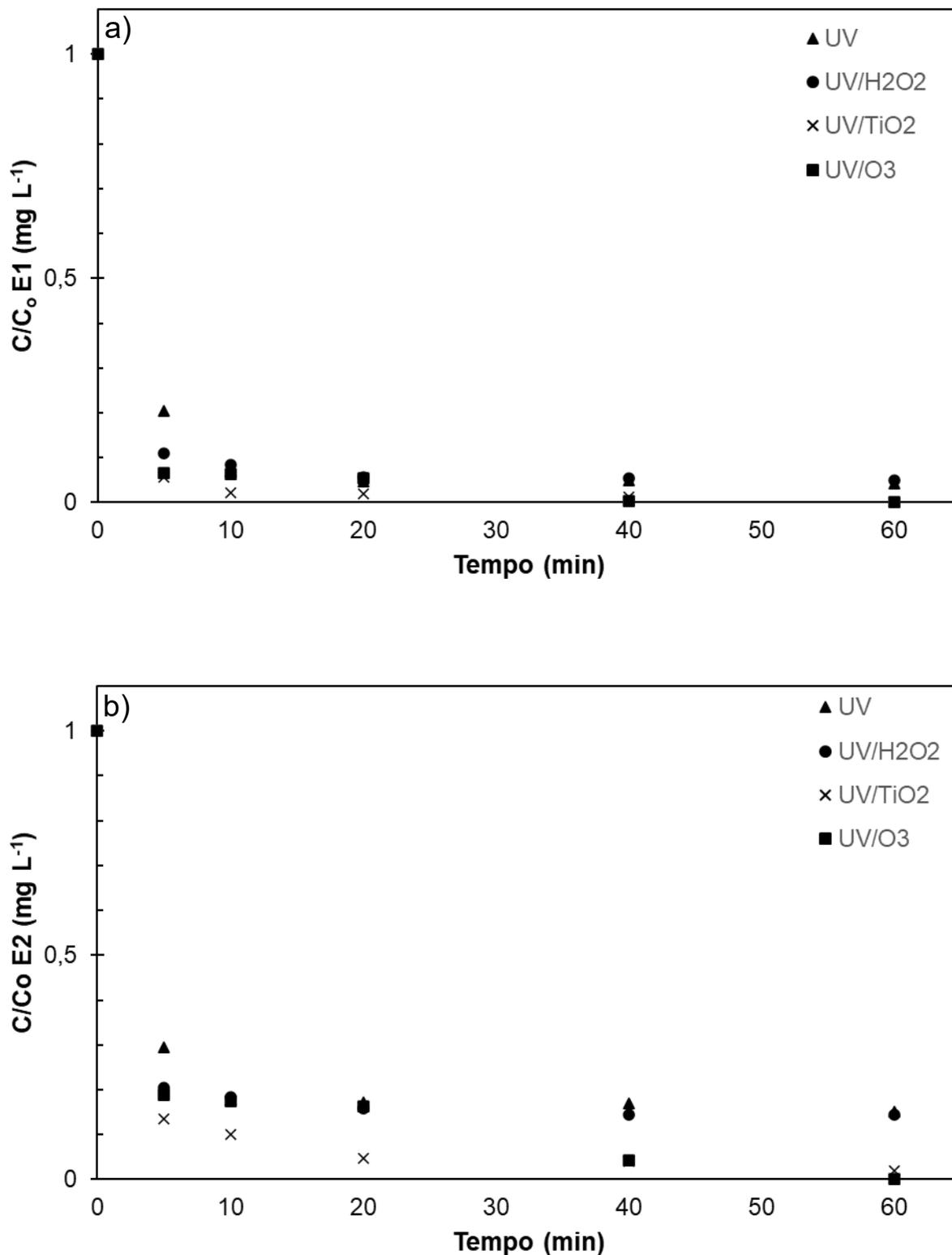
de estrogênios no meio ambiente, e assim, proteger toda a sua biodiversidade dos impactos causados pelos mesmos (TANG et al., 2020).

### **5.3 Cinética de degradação dos hormônios estrógenos**

A cinética de degradação dos hormônios adicionados no efluente tratado pela ETE em uma concentração de  $8 \text{ mg L}^{-1}$ , demonstram que E1, E2, E3 e EE2 foram degradados rapidamente nos primeiros 5 minutos de reação por todos os POAs avaliados, como ilustrado nas Figuras 18 e 19, resultando em um decréscimo nas concentrações ao longo do tempo.

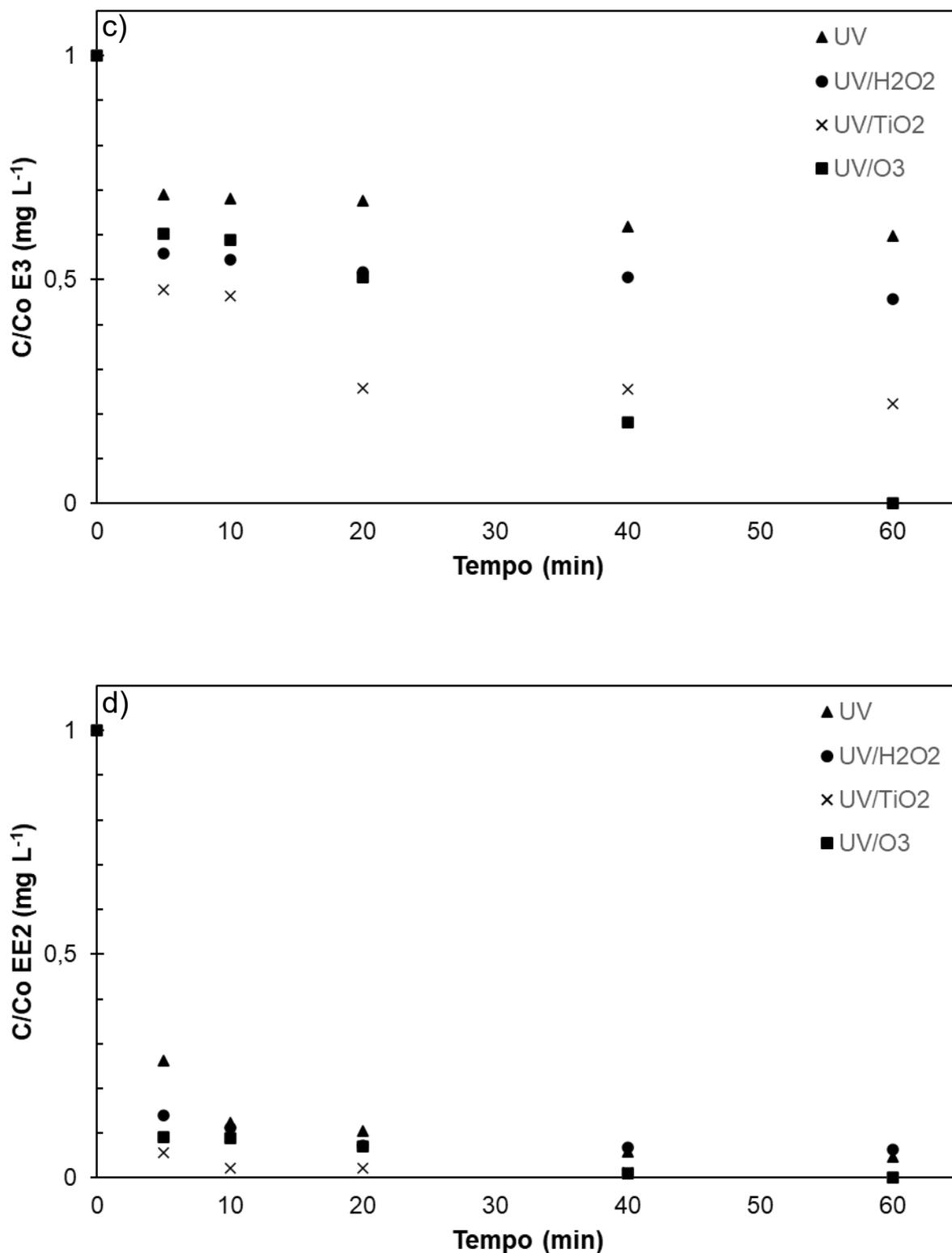
Como pode ser observado, o único processo capaz de degradar completamente todos os hormônios em 60 min de reação, foi o de foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>). Resultados semelhantes foram reportados por Pešoutová, Stříteský e Hlavínek (2014) ao avaliarem diferentes processos oxidativos avançados (POAs) na degradação de hormônios estrógenos, verificando que todos os tratamentos alcançaram altas taxas de degradação, mas quando comparados, os que utilizavam a ozonização apresentaram uma maior eficiência.

**Figura 18** – Degradação dos hormônios estrógenos E1 (a) e E2 (b) pelas reações fotoquímicas UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub>, UV/O<sub>3</sub>. Condições: matriz esgoto tratado pela ETE; concentração inicial de 8 mg L<sup>-1</sup> para E1, E2, E3 e EE2 (C<sub>0</sub>); pH 7,00; temperatura 20±2 °C; irradiação UV-C (λ= 254 nm).



Fonte: Autoria própria (2021).

**Figura 19** – Degradação dos hormônios estrógenos E3 (c) e EE2 (d) pelas reações fotoquímicas UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub>, UV/O<sub>3</sub>. Condições: Matriz esgoto tratado pela ETE; concentração inicial de 8 mg L<sup>-1</sup> para E1, E2, E3 e EE2 (C<sub>0</sub>); pH 7,00; temperatura 20±2 °C; irradiação UV-C (λ= 254 nm).



Fonte: Autoria própria (2021).

Nas Tabelas 6 a 9 são apresentados os resultados obtidos nos ajustes dos dados ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem, para todos os hormônios estudados submetidos aos diferentes POAs. Os ajustes foram avaliados por meio dos coeficientes de correlação ( $r^2$ ), os quais indicaram uma boa adequação dos dados ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem, como pode ser constatado nas Figuras 18 e 19, onde a diminuição da concentração dos hormônios presentes na amostra, diminuiu exponencialmente ao longo do tempo. Kanakaraju, Glass e Oelgemöller (2018) sugerem que de uma maneira geral, a degradação dos hormônios estrógenos normalmente seguem uma cinética de pseudo-primeira ordem.

A partir destes ajustes foi observada a seguinte ordem de degradação entre os POAs  $UV/O_3 > UV/TiO_2 > UV/H_2O_2 > UV$ . Comparando os valores das constantes cinéticas ( $k$ ) obtidas para cada hormônio, pode-se perceber maiores degradação de E1 e menores para E3, sugerindo uma degradação na ordem de  $k_{E1} > k_{EE2} > k_{E2} > k_{E3}$  para os diferentes sistemas de tratamento. Esses resultados estão de acordo aos encontrados por Cédât et al. (2016) e Sornalingam, Mcdonagh e Zhou (2016).

**Tabela 6** – Valores obtidos no ajuste cinético para o modelo de pseudo-primeira ordem na reação UV.

Hormônio	$k$ ( $\text{min}^{-1}$ )	Erro	$r^2$
E1	0,3582	0,0033	0,9999
E2	0,3730	0,0152	0,9993
E3	0,3440	0,1151	0,9464
EE2	0,3100	0,0244	0,9964

$k$ : constante cinética de pseudo-primeira ordem;  $r^2$ : coeficiente de correlação dos dados ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem.

Fonte: Autoria própria (2021).

**Tabela 7** – Valores obtidos no ajuste cinético para o modelo de pseudo-primeira ordem na reação UV/ $H_2O_2$

Hormônio	$k$ ( $\text{min}^{-1}$ )	Erro	$r^2$
E1	0,5733	0,0551	0,9988
E2	0,5640	0,0681	0,9980
E3	0,4010	0,0999	0,9780
EE2	0,5320	0,0597	0,9970

$k$ : constante cinética de pseudo-primeira ordem;  $r^2$ : coeficiente de correlação dos dados ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem.

Fonte: Autoria própria (2021).

**Tabela 8** – Valores obtidos no ajuste cinético para o modelo de pseudo-primeira ordem na reação UV/TiO<sub>2</sub>.

Hormônio	k (min <sup>-1</sup> )	Erro	r <sup>2</sup>
E1	0,6262	0,0390	0,9997
E2	0,4540	0,0600	0,9954
E3	0,1840	0,0393	0,9558
EE2	0,6280	0,0461	0,9995

k: constante cinética de pseudo-primeira ordem; r<sup>2</sup>: coeficiente de correlação dos dados ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem.

Fonte: Autoria própria (2021).

**Tabela 9** – Valores obtidos no ajuste cinético para o modelo de pseudo-primeira ordem na reação UV/O<sub>3</sub>.

Hormônio	k (min <sup>-1</sup> )	Erro	r <sup>2</sup>
E1	0,6367	0,1581	0,9949
E2	0,4020	0,1326	0,9620
E3	0,0460	0,0182	0,8900
EE2	0,5670	0,1487	0,9900

k: constante cinética de pseudo-primeira ordem; r<sup>2</sup>: coeficiente de correlação dos dados ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem.

Fonte: Autoria própria (2021).

De acordo com esses resultados, pode-se observar que o tratamento empregando apenas a fotólise (UV), apresentou uma boa degradação dos hormônios estudados, principalmente para E1 (95,67%), E2 (95,33%) e EE2 (84,79%) e menor para E3 (40,15%). Esse processo de degradação acontece a partir da absorção dos fótons pelas moléculas, atingindo o estado excitado desencadeando diferentes reações químicas de decomposição (VIEIRA et al., 2021). A fotólise pode ser direta, quando ocorre a interação da radiação com as moléculas, levando a sua degradação (CUERDA-CORREA; ALEXANDRE-FRANCO; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, 2020). Ou então, indireta, em que a oxidação dos compostos é promovida por radicais gerados a partir de fotoestabilizadores (SANCHES et al., 2016; DHAKA et al., 2017).

Os hormônios estrógenos apresentam em sua estrutura química grupos fenólicos, os quais são fotoativos (MAZELLIER; MÉITÉ; DE LAAT, 2008). Ratificando os resultados obtidos neste estudo, onde verificou-se boa eficiência na degradação desses compostos por fotólise (UV). Contudo, um fator de extrema importância na eficiência dos processos que envolvem a fotólise é o espectro de emissão das

lâmpadas utilizadas nas reações, uma vez que estas devem emitir um comprimento de onda no mesmo espectro de absorbância dos compostos alvos (NEAMȚU; FRIMMEL, 2006). A maior parte dos estudos realizados em escala laboratorial, indicaram um aumento na eficiência da fotólise empregando radiação solar, UV-A, UV-B e UV-C (SORNALINGAM; MCDONAGH; ZHOU, 2016).

Os estrogênios E1, E2 e EE2 apresentam absorbância em um comprimento de onda próximos ao empregado na reação de fotólise (UV) ( $\lambda=254$  nm), porém, o estrogênio E3 apresenta absorbância em um espectro superior ( $\lambda=260-300$  nm) (ZHENG; YATES; BRADFORD, 2008; CHEN; ZHANG; ZUO, 2013). De fato, as maiores remoções no processo UV foram encontradas para E1, E2 e EE2.

No tratamento empregando o fotólise com peróxido de hidrogênio (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), foi observado remoções na faixa de 95% para E1, 85,46% para E2, 95,53% para EE2 e 54,34% para E3. A irradiação UV-C empregada nas reações ( $\lambda=254$  nm), decompõe o peróxido de hidrogênio em radicais hidroxila (KRYSTYNIK et al., 2014). Favorecendo a degradação dos hormônios estrógenos neste processo (FRONTISTIS et al., 2015).

Em relação a fotocatalise heterogênea (UV/TiO<sub>2</sub>), verificou-se uma degradação de 99,79% para E1, 98,07% para E2, 99,97% para EE2 e 77,77% para E3. Este aumento na eficiência da degradação dos compostos pode estar relacionado com a presença do fotocatalisador, o qual é ativado pela irradiação UV, participando da reação, por meio do aumento da taxa de degradação, mas permanece inalterado durante a reação (MACWAN; DAVE; CHATURVEDI, 2011). O catalisador TiO<sub>2</sub> segue sendo o mais indicado, em razão da sua estabilidade química, disponibilidade comercial, capacidade de degradar uma grande quantidade de poluentes e baixa toxicidade (XU et al., 2014).

No processo de foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>), constatou-se 100% de degradação de E1, E2, EE2 e E3 em 60 min de reação. Estudos apontam que, a combinação do ozônio com a radiação UV, apresenta grandes vantagens, dado que essa associação acelera a decomposição do ozônio em espécies altamente reativas, ocorrendo desta maneira uma maior taxa de degradação (VON GUNTEN, 2003; BOURGIN et al., 2017). Justificando a maior eficiência deste processo comparado aos outros, visto que, foi o único capaz de degradar completamente as 8 mg L<sup>-1</sup> de E1, E2, EE2 e E3 presentes no efluente. Ainda que os processos baseados em ozônio apresentam a capacidade de formar subprodutos de reação, geralmente a qualidade dos efluentes

são melhoradas (BOURGIN et al., 2017). Demonstrando assim, a necessidade do monitoramento da toxicidade das amostras submetidas não só a processo que utilizam o ozônio, mas em todos os POAs.

Os processos híbridos, ou seja, aqueles que empregam agentes oxidantes em conjunto com a radiação UV, apresentam um maior desempenho na remoção de poluentes (KANAKARAJU; GLASS; OELGEMÖLLER, 2018). De fato, os diferentes processos (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub> e UV/O<sub>3</sub>), comparados com a fotólise (UV), apresentaram constantes cinéticas superiores, como mencionado anteriormente, seguindo a ordem de degradação  $k_{UV/O_3} > k_{UV/TiO_2} > k_{UV/H_2O_2} > k_{UV}$  (Tabela 6 a 9).

Os fatores que podem influenciar nessas constantes durante a degradação, incluem a concentração inicial do composto alvo, o pH, as características da matriz de estudo bem como as condições de radiação e temperatura reacional (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017). Como este trabalho objetivou avaliar a degradação dos hormônios estrógenos em efluente tratado por uma ETE, buscou-se avaliar os processos com as condições próximas aquelas encontradas nestas matrizes, assim não houve ajuste do pH antes das reações fotoquímicas, desta maneira, o pH se manteve neutro, com valores próximos de 7. A constante de dissociação ácida (pK<sub>a</sub>) dos hormônios estudados, encontram-se próximos de 10,5, indicando melhores degradação em uma faixa de pH 10, ou seja, acima dos seus valores de pK<sub>a</sub>, (CHEN; ZHANG; ZUO, 2013). Contudo, alguns estudos apontam maiores taxas de degradações dos estrogênios em pH próximos de 7 (LIU et al., 2017; GONZÁLEZ et al., 2020).

## 5.4 Avaliação da toxicidade

### 5.4.1 *Artemia salina* L.

Os processos oxidativos avançados (POAs) apresentam como principal objetivo a degradação de poluentes orgânicos, entretanto, o desaparecimento dos compostos alvos, não significa sua mineralização completa a substâncias de menor toxicidade (WANG; WANG, 2021). Como é difícil identificar os compostos intermediários formados durante as reações, os testes de toxicidade nos fornecem informações acerca dos riscos potenciais ao ecossistema (WANG; CHU, 2016).

A avaliação da imobilidade/mortalidade utilizando o microcrustáceo *A. salina* (Tabela 10), indicou que o efluente tratado pela ETE (E) em todas as concentrações, exceto na menor (3,1%), apresentou número médio de organismos mortos/imóveis estatisticamente diferente dos controles negativos (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ), e estatisticamente igual aos diferentes processos avaliados (UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub> e UV/O<sub>3</sub>) nas concentrações de 100% (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ).

Entretanto, observa-se que, apesar de todos os tratamentos empregados ao E, apresentarem toxicidade ao bioindicador *A. salina* na maior concentração de exposição, ao passo que diminui-se a concentração e aumenta-se a diluição da amostra, esse efeito tóxico dos tratamentos tende a diminuir, tendência esta não observada para E, onde mesmo em baixas concentrações a amostra se mostrou tóxica ao bioindicador estudado. Fazendo uma analogia ao que aconteceria no corpo hídrico, onde naturalmente acontece a diluição da amostra, esse comportamento observado no estudo poderia se repetir quando o efluente tratado pela ETE fosse lançado no corpo receptor, causando toxicidade aos organismos ali presente, e ao receber um pós-tratamento com os POAs essa toxicidade poderia ser reduzida, evitando desequilíbrios ao ecossistema.

Na Figura 20 apresenta-se o percentual de imobilidade/mortalidade para o bioindicador *A. salina* exposto aos controles negativos (salino e doce), bem como as amostras avaliadas, em diferentes concentrações. Embora os POAs se revelarem tóxicos na concentração de 100%, pode ser verificado uma ligeira redução no percentual de organismos imóveis/mortos em todos os tratamentos (UV, UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV/TiO<sub>2</sub> e UV/O<sub>3</sub>), e considerando que estes foram estatisticamente iguais ao E na concentração de 100% (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ), podemos aferir que esses processos não criaram subprodutos ainda mais tóxicos ao organismo avaliado.

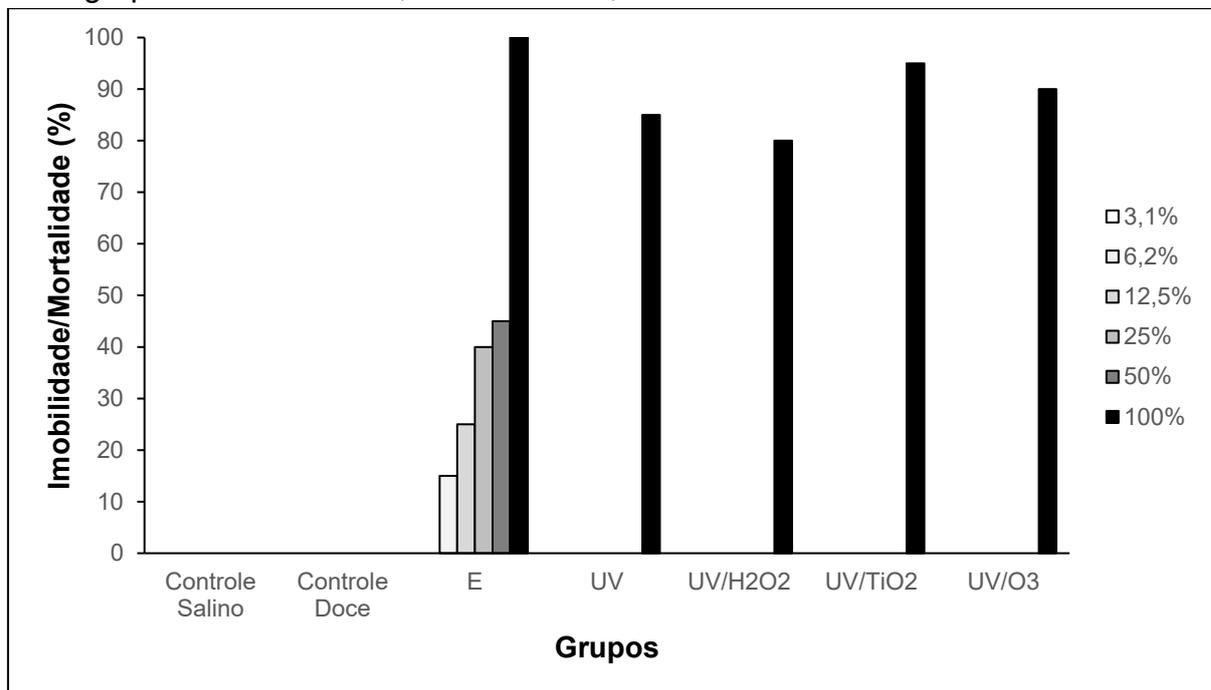
**Tabela 10** – Número médio e desvio padrão de organismos *A. salina* imóveis/mortos durante a exposição ao controle salino, controle doce, efluente e aos diferentes POAs avaliados.

<b>Grupos</b>	<b>Concentrações</b>	<b>Média ± Desvio padrão</b>
Controle Salino	100%	0,00 ± 0,00 e
Controle Doce	3,1%	0,00 ± 0,00 e
	6,2%	0,00 ± 0,00 e
	12,5%	0,00 ± 0,00 e
	25%	0,00 ± 0,00 e
	50%	0,00 ± 0,00 e
	100%	0,00 ± 0,58 e
Efluente	3,1%	0,00 ± 0,00 e
	6,2%	1,50 ± 0,58 d
	12,5%	2,50 ± 0,58 cd
	25%	4,00 ± 0,82 bcd
	50%	4,50 ± 0,96 abcd
	100%	10,00 ± 0,00 a
UV	3,1%	0,00 ± 0,00 e
	6,2%	0,00 ± 0,00 e
	12,5%	0,00 ± 0,00 e
	25%	0,00 ± 0,00 e
	50%	0,00 ± 0,00 e
	100%	8,50 ± 1,29 abc
UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3,1%	0,00 ± 0,00 e
	6,2%	0,00 ± 0,00 e
	12,5%	0,00 ± 0,00 e
	25%	0,00 ± 0,00 e
	50%	0,00 ± 0,00 e
	100%	8,00 ± 2,63 abc
UV/TiO <sub>2</sub>	3,1%	0,00 ± 0,00 e
	6,2%	0,00 ± 0,00 e
	12,5%	0,00 ± 0,00 e
	25%	0,00 ± 0,00 e
	50%	0,00 ± 0,00 e
	100%	9,50 ± 0,96 ab
UV/O <sub>3</sub>	3,1%	0,00 ± 0,00 e
	6,2%	0,00 ± 0,00 e
	12,5%	0,00 ± 0,00 e
	25%	0,00 ± 0,00 e
	50%	0,00 ± 0,00 e
	100%	9,00 ± 0,50 abc

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).  
 E: efluente tratado pela ETE; UV: fotólise; UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: fotólise com peróxido de hidrogênio; UV/TiO<sub>2</sub>:  
 fotocatalise heterogênea; UV/O<sub>3</sub>: foto-ozonização.

Fonte: Autoria própria (2021).

**Figura 20** – Percentual de imobilidade/mortalidade do bioindicador *A. salina* exposto aos grupos controle salino, controle doce, efluente e os diferentes POAs avaliados.



E: efluente tratado pela ETE; UV: fotólise; UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: fotólise com peróxido de hidrogênio; UV/TiO<sub>2</sub>: fotocatalise heterogênea; UV/O<sub>3</sub>: foto-ozonização.

Fonte: Autoria própria (2021).

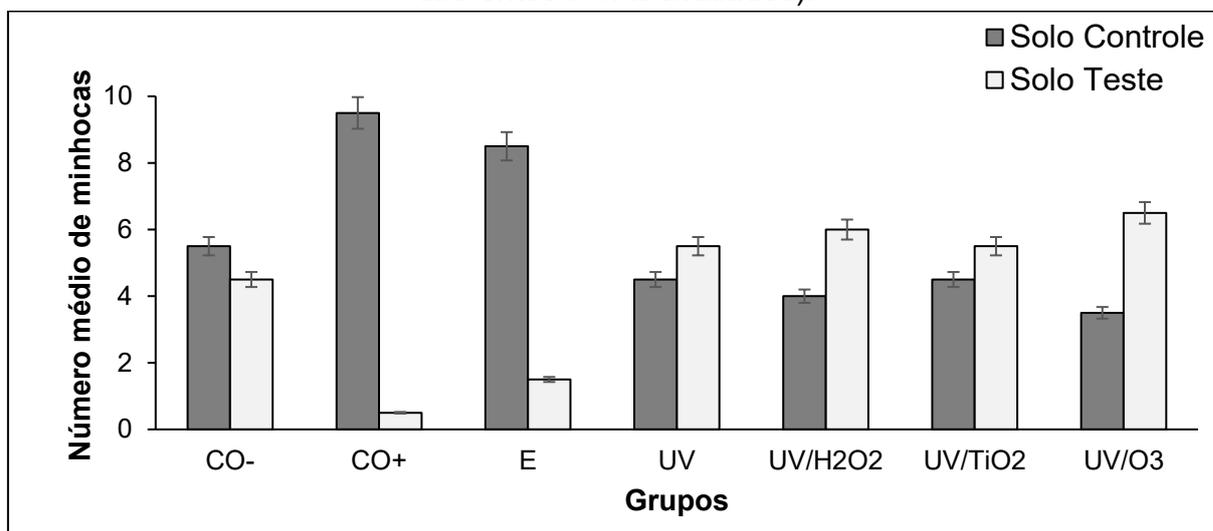
A utilização do microcrustáceo *A. salina* como bioindicador se mostra muito útil na avaliação da toxicidade preliminar de uma amostra, entretanto, podem apresentar equívocos quanto a toxicidade real de algumas substâncias, já que o mesmo fornece informações de uma exposição aguda, sendo assim, recomenda-se o emprego de testes complementares para determinar com clareza a presença de compostos tóxicos (SILVEIRA et al., 2020). Desta maneira, é aconselhável a realização de testes toxicológicos com mais de uma espécie, de preferência, pertencentes a diferentes níveis tróficos (LUÍZ et al., 2012).

#### 5.4.2 *Eisenia fétida*

Os resultados de distribuições dos organismos *E. fétida* no solo controle com água filtrada e nos solos testes com solução de ácido bórico ou o efluente tratado pela ETE (E) e os diferentes POAs avaliados, podem ser visualizados na Figura 21. Observa-se que as minhocas se distribuíram de forma homogênea no controle negativo, realizado apenas com água filtrada, em uma faixa de 55 a 45%, estando de

acordo ao estabelecido pela ISO 17512-1 (2011), a qual estipula para o controle negativo uma taxa de distribuição dentro da faixa 40 a 60%.

**Figura 21** – Número médio e desvio-padrão dos organismos *E. fétida* distribuídas no solo controle (água filtrada) e no solo teste (solução de ácido bórico ou efluente e os diferentes POAs avaliados).



E: efluente tratado pela ETE; UV: fotólise; UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: fotólise com peróxido de hidrogênio; UV/TiO<sub>2</sub>: fotocatalise heterogênea; UV/O<sub>3</sub>: foto-ozonização

Fonte: Autoria própria (2021).

Como esperado, o controle positivo (solução de ácido bórico) apresentou uma distribuição de 5% dos organismos, demonstrando fuga deste bioindicador quando exposto a um composto tóxico, conforme determinado pela ISO 17512-1 (2011), onde o solo contendo a substância tóxica de referência deve apresentar um valor inferior a 20% na distribuição das minhocas.

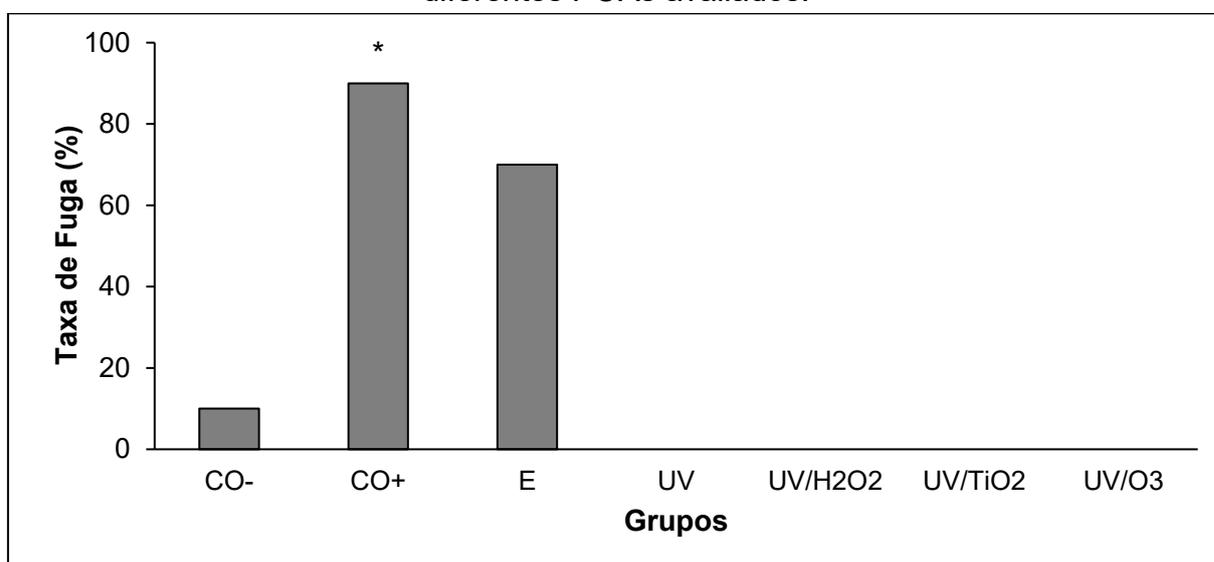
Analisando a taxa de fuga dos organismos *E. fétida* expostos aos diferentes grupos (Figura 22), nota-se que, o efluente da ETE (E) apresentou um comportamento de fuga dos organismos expostos (70%), assim como evitaram o controle positivo, o qual apresentou resultado estatisticamente significativo em relação ao controle negativo, segundo a prova exata de Fisher. De acordo com norma ISO 17512-1 (2011), uma taxa de fuga acima de 60% indica toxicidade do solo teste ao bioindicador, desta maneira, o Efluente (E) se apresentou tóxico a *E. fétida* uma vez que apresentou uma taxa de fuga de 70%.

Entretanto a norma ISO 17512-1 (2011), apresenta que uma taxa de fuga acima de 80% dos organismos, pode indicar a possibilidade de um distúrbio na função do *habitat*. Desta maneira, apesar da toxicidade e do alto índice de fuga dos

organismos *E. fétida* expostos ao E (70%), não é possível afirmar que o mesmo causaria um desequilíbrio no *habitat* deste bioindicador.

No entanto, ao aplicar os diferentes processos oxidativos avançados (POAs), verificou-se uma maior preferência destes organismos nos solos testes, assim, conforme recomendações da ISO 17512-1 (2011) as taxas de fugas são consideradas zero. Evidenciando a diminuição da toxicidade do E após os POAs.

**Figura 22** – Taxa de fuga dos organismos *E. fétida* expostos ao controle negativo (água filtrada), controle positivo (solução de ácido bórico) ou ao efluente e os diferentes POAs avaliados.



\* Resposta estatisticamente significativa, segundo a prova exata de Fisher.

E: efluente tratado pela ETE; UV: fotólise; UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: fotólise com peróxido de hidrogênio; UV/TiO<sub>2</sub>: fotocatalise heterogênea; UV/O<sub>3</sub>: foto-ozonização

Fonte: Autoria própria (2021).

Os resultados encontrados nesse trabalho corroboram com o estudo realizado por Väilitalo et al. (2017), onde na avaliação da toxicidade dos efluentes de sete ETEs na Finlândia em oito bioensaios, incluindo citotoxicidade, genotoxicidade, desregulação endócrina e testes de toxicidade embrionária em peixes zebra, identificaram que os efluentes submetidos ao tratamento empregado pelas ETEs apresentaram toxicidade aos bioindicadores avaliados e concluiu que, os organismos presentes nas águas superficiais receptoras desses efluentes podem estar sendo ameaçados.

Ma et al. (2019), analisaram a aplicabilidade de bioensaios com *Vibrio fischeri* e teste de algas combinadas com *Chlorella vulgarise*, na avaliação de processos avançados de tratamento de efluentes, as amostras avaliadas continham uma ampla

gama de poluentes, desde agroquímicos a produtos farmacêuticos. Os resultados encontrados pelos autores, indicam que a adsorção e o tratamento utilizando a ozonização apresentaram-se como os processos mais promissores para redução da citotoxicidade, genotoxicidade e inibição da fotossíntese nos organismos avaliados. Em contrapartida, a fotólise e a fotocatalise também se mostram eficientes na redução da genotoxicidade e inibição da fotossíntese. Estando de acordo com o presente estudo, onde os POAs avaliados apesar de serem considerados tóxicos ao bioindicador *Artemia salina*, não elevaram significativamente a toxicidade do efluente, sugerindo que não houve a formação de subprodutos mais tóxicos quando comparados a amostra inicial durante as reações fotoquímicas.

Sabe-se que a exposição prolongada a pequenas quantidades de micropoluentes pode reduzir a biodiversidade dos organismos aquáticos, levando a perda de funções e serviços naturais importantes para a manutenção desses ambientes (PENG et al., 2018). Portanto, o emprego de bioindicadores no diagnóstico da qualidade de efluentes submetidos a processos avançados de tratamento, podem ser considerados ferramentas importantes e valiosas na avaliação e monitoramento desses processos (DANZEI; VERCELLINO, 2018).

## 6 CONCLUSÕES

Os hormônios estrógenos são essenciais para a fisiologia humana, sendo produzidos e excretados diariamente por seres humanos e animais. Esses compostos são classificados como desreguladores endócrinos (DEs), pois quando dispostos no meio ambiente podem ocasionar efeitos adversos aos organismos expostos. Visando a preservação dos recursos naturais, a sua biodiversidade, e a saúde pública, este trabalho buscou avaliar tratamentos complementares aos utilizados pelas ETEs, uma vez que verificou-se ineficiência na remoção desses micropoluentes emergentes, sendo detectado três dos quatro hormônios estudados em concentrações consideradas elevadas, evidenciando que o tratamento convencional empregado nessas unidades não foi capaz de degradar completamente esses compostos.

Para isso, amostras do efluente tratado pela ETE foram submetidos a diferentes processos oxidativos avançados (POAs). Os resultados dos ensaios cinéticos indicaram que apesar da fotólise (UV), fotólise com o peróxido de hidrogênio (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e a fotocatalise heterogênea (UV/TiO<sub>2</sub>) apresentarem uma redução significativa na concentração dos hormônios estudados nos primeiro 5 minutos de reação, apenas a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>) foi capaz de promover a completa degradação de todos os estrogênios em 60 minutos de reação na concentração estudada. Os dados apresentaram um bom ajuste ao modelo cinético de pseudo-primeira ordem na degradação dos compostos alvos e, as constantes cinéticas indicaram a seguinte ordem de eficiência dos tratamentos  $k_{UV/O_3} > k_{UV/TiO_2} > k_{UV/H_2O_2} > k_{UV}$ . A estrona (E1) se mostrou mais suscetível a degradação pelos POAs, enquanto o estriol (E3) mais persistente, o que foi confirmado pelas constantes cinéticas obtidas para cada hormônio estudado, sugerindo a seguinte ordem na degradação  $k_{E1} > k_{E2} > k_{E3}$ .

A partir das caracterizações, tanto físico-químicas quanto microbiológica do efluente antes e após cada POA, pode-se notar que, os tratamentos avaliados conseguiram melhorar significativamente sua qualidade, reduzindo os parâmetros físico-químicos mais críticos para esse tipo de efluente, assim como, foi capaz de promover uma desinfecção eficiente de coliformes termotolerantes, se mostrando como uma alternativa interessante ao uso do cloro. Desta maneira, além de proporcionar a degradação dos compostos alvos esses tratamentos são capazes de melhorar a qualidade do efluente a ser lançado no corpo receptor.

Na avaliação da toxicidade para conhecimento da formação de subprodutos intermediários durante as reações fotoquímicas, foi constatado uma redução na intensidade dos efeitos tóxicos das amostras após os tratamentos, não sendo verificado um aumento significativo sobre a toxicidade após os POAs. Quando a sensibilidade dos bioindicadores utilizados foi comparada, o microcrustáceo *Artemia salina* foi considerado o organismo mais sensível, enquanto *Eisenia fétida* apresentou uma menor sensibilidade.

Os resultados encontrados sugerem que os POAs, especialmente a foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>), apresentam um grande potencial no aumento da qualidade dos resíduos líquidos proveniente de ETEs municipais, podendo ser incorporados nessas unidades como um tratamento terciário, ou seja, um pós-tratamento aos já existentes, visto que, além de melhorar os parâmetros físico-químicos, foram eficientes na degradação dos micropoluentes estudados. Os efluentes das ETEs municipais são uma importante fonte de hormônios estrógenos no meio ambiente, como pode ser constando nesta pesquisa, assim reduzir as concentrações desses compostos nesta fonte, pode ser uma alternativa interessante na redução de estrogênios em corpos d'águas naturais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 13373**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia ssp* (*Crusutacea, Cladocera*). 3ª ed. 18 p. 2010.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 17512-1**. Qualidade do solo - ensaio de fuga para avaliar a qualidade de solos e efeitos de substâncias químicas no comportamento - Parte 1: Ensaio com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). Rio de Janeiro, 2011.
- ADEEL, M. et al. Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: a critical review. **Environment International**, v. 99, p. 107-119, 2017.
- AFONSO-OLIVARES, C. et al. Estimation of kinetic parameters and UV doses necessary to remove twenty-three pharmaceuticals from pre-treated urban wastewater by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 329, p. 130-138, 2016.
- ALHARBI, S. K. et al. Photolysis and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of diclofenac, sulfamethoxazole, carbamazepine, and trimethoprim: Identification of their major degradation products by ESI–LC–MS and assessment of the toxicity of reaction mixtures. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 112, p. 222-234, 2017.
- ALTENBURGER, R. et al. Future water quality monitoring—adapting tools to deal with mixtures of pollutants in water resource management. **Science of the total environment**, v. 512, p. 540-551, 2015.
- ALUM, A. et al. Oxidation of bisphenol A, 17β-estradiol, and 17α-ethynyl estradiol and byproduct estrogenicity. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 19, n. 3, p. 257-264, 2004.
- ALVARINO, T. et al. Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. **Journal of Hazardous materials**, v. 278, p. 506-513, 2014.
- ALVES, A. G.; GOMES, L. B. B. **Comparação da eficiência dos processos oxidativos avançados na remoção do hormônio 17α-Etinilestradiol**. Trabalho de Conclusão de Curso – Engenharia Ambiental e Sanitária. Universidade Federal de Goiás. 2016.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"; fica revogada a Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2 jun. 2003.
- APHA, AWWA, WEF. **Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington. 19th ed. 1998.
- APHA, AWWA, WEF. **Standart Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington. 23th ed. 2017.

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

ARCHER, E. et al. Investigating (anti) estrogenic activities within South African wastewater and receiving surface waters: Implication for reliable monitoring. **Environmental Pollution**, v. 263, p. 114424, 2020.

ARENZON, A.; NETO, T. J. P.; GERBER, W. **Manual sobre a toxicidade em efluentes industriais**. CEP SENAI de Artes Gráficas Henrique d'Ávila Bertaso. Porto Alegre, 40 p., 2011.

AROLA, K. et al. Novel process concept alternatives for improved removal of micropollutants in wastewater treatment. **Separation and Purification Technology**, v. 186, p. 333-341, 2017.

AZUMA, T. et al. Detection of pharmaceuticals and phytochemicals together with their metabolites in hospital effluents in Japan, and their contribution to sewage treatment plant influents. **Science of the Total Environment**, v. 548, p. 189-197, 2016.

BAGAL, M. V.; GOGATE, P. R. Degradation of diclofenac sodium using combined processes based on hydrodynamic cavitation and heterogeneous photocatalysis. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 21, n. 3, p. 1035-1043, 2014.

BARCELÓ, D.; ŽONJA, B.; GINEBREDA, A. Toxicity tests in wastewater and drinking water treatment processes: A complementary assessment tool to be on your radar. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 5, p. 104262, 2020.

BASHA, S. et al. Studies on the adsorption and kinetics of photodegradation of pharmaceutical compound, indomethacin using novel photocatalytic adsorbents (IPCAs). **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 22, p. 11302-11309, 2010.

BEAUSSE, J. Selected drugs in solid matrices: a review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. **Trends in Analytical Chemistry**, v.23, p.753-761, 2004.

BEHERA, S. K. et al. Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 20, p. 4351-4360, 2011.

BELHAJ, D. et al. Fate of selected estrogenic hormones in an urban sewage treatment plant in Tunisia (North Africa). **Science of the total Environment**, v. 505, p. 154-160, 2015.

BENOTTI, M. J. et al. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U. S. drinking water. **Environmental Science Technology**, v. 43, n. 3, p. 597-603, 2009.

BERGMAN, Å. et al. **State of the science of endocrine disrupting chemicals**. World Health Organization, 2013.

BERNAL, A. J.; JIRTLE, R. L. Epigenomic disruption: the effects of early developmental exposures. **Birth defects research Part A: Clinical and molecular teratology**, v. 88, n. 10, p. 938-944, 2010.

BILA, D. et al. Estrogenic activity removal of 17 $\beta$ -estradiol by ozonation and identification of by-products. **Chemosphere**, v. 69, n. 5, p. 736-746, 2007.

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

BIRKETT, L. W.; LESTER, J. N. Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes. **IWA Publishing**, 2002.

BISTAN, M. et al. Yeast estrogen screen assay as a tool for detecting estrogenic activity in water bodies. **Food Technology and Biotechnology**, v. 50, n. 4, p. 427-433, 2012.

BOHRER, J. K. **Uso de processos oxidativos avançados no tratamento dos resíduos líquidos oriundos da estação de tratamento de esgoto do município de Marmeleiro-PR**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2018.

BONVIN, F. et al. Super-fine powdered activated carbon (SPAC) for efficient removal of micropollutants from wastewater treatment plant effluent. **Water Research**, v. 90, p. 90-99, 2016.

BOURGIN, M. et al. Effect of operational and water quality parameters on conventional ozonation and the advanced oxidation process O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: kinetics of micropollutant abatement, transformation product and bromate formation in a surface water. **Water research**, v. 122, p. 234-245, 2017.

BRASIL. Ministério Do Meio Ambiente. Conselho Nacional Do Meio Ambiente, CONAMA. Resolução nº 357 de 17 de março 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 União**. Brasília, 18 mar. 2005.

BRASIL. Ministério Do Meio Ambiente. Conselho Nacional Do Meio Ambiente, CONAMA. Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução CONAMA nº 357. **Diário Oficial da União**. Brasília, 16 mai. 2011.

BRICIU, R. D.; KOT-WASIK, A.; NAMIESNIK, J. Analytical challenges and recent advances in the determination of estrogens in water environments. **Journal of chromatographic science**, v. 47, n. 2, p. 127-139, 2009.

- CABAN, M. et al. The triple-sorbents solid-phase extraction for pharmaceuticals and estrogens determination in wastewater samples. **Microchemical Journal**, v. 149, p. 103965, 2019.
- CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011.
- CANDELLO, F. P. **Comportamento de fuga de minhocas na presença do antimicrobiano sulfadiazina em solo**. Dissertação – Mestrado em Engenharia Civil. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.
- CÉDAT, B. et al. Are UV photolysis and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process efficient to treat estrogens in waters? Chemical and biological assessment at pilot scale. **Water Research**, v. 100, p. 357-366, 2016.
- ČELIĆ, M. et al. Occurrence and assessment of environmental risks of endocrine disrupting compounds in drinking, surface and wastewaters in Serbia. **Environmental Pollution**, v. 262, p. 114344, 2020.
- CERVANTES, T. N. M.; ZAIA, D. A. M.; SANTANA, H. Estudo da fotocatalise heterogênea sobre TiO<sub>2</sub> na descoloração de corantes sintéticos. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2423-2428, 2009.
- CHAMAS, A. et al. Separation and identification of hormone-active compounds using a combination of chromatographic separation and yeast-based reporter assay. **Science of The Total Environment**, v. 605, p. 507-513, 2017.
- CHANG, H. et al. Occurrence of androgens and progestogens in wastewater treatment plants and receiving river waters: comparison to estrogens. **Water Research**, v. 45, n. 2, p. 732-740, 2011.
- CHEN, Y.; ZHANG, K.; ZUO, Y. Direct and indirect photodegradation of estriol in the presence of humic acid, nitrate and iron complexes in water solutions. **Science of the Total Environment**, v. 463–464, p. 802–809, 2013.
- CHIMCHIRIAN, R. F.; SURİ, R. PS; FU, H. Free synthetic and natural estrogen hormones in influent and effluent of three municipal wastewater treatment plants. **Water Environment Research**, v. 79, n. 9, p. 969-974, 2007.
- CHONG, M. N. et al. Recent developments in photocatalytic water treatment technology: a review. **Water Research**, v. 44, n. 10, p. 2997-3027, 2010.
- COMBALBERT, S.; HERNANDEZ-RAQUET, G. Occurrence, fate, and biodegradation of estrogens in sewage and manure. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 86, n. 6, p. 1671–1692, 2010.
- CONLEY, J. M. et al. Comparison of in vitro estrogenic activity and estrogen concentrations in source and treated waters from 25 US drinking water treatment plants. **Science of the Total Environment**, v. 579, p. 1610-1617, 2017.

CUERDA-CORREA, E. M.; ALEXANDRE-FRANCO, M. F.; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, C. Advanced oxidation processes for the removal of antibiotics from water. An overview. **Water**, v. 12, n. 1, p. 102, 2020.

CUI, C. W.; JI, S. L.; REN, H. Y. Determination of steroid estrogens in wastewater treatment plant of a contraceptives producing factory. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 121, n. 1-3, p. 409-419, 2006.

CZAJKA, C. P.; LONDRY, K. L. Anaerobic biotransformation of estrogens. **Science of the total environment**, v. 367, n. 2-3, p. 932-941, 2006.

DA CUNHA, D. L. et al. Ocorrência e remoção de estrogênios por processos de tratamento biológico de esgotos. **Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 12, n. 2, p. 249-262, 2017.

DAMSTRA, T. et al. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. **Geneva: World Health Organization**, p. 11-32, 2002.

DANIEL, M. S.; LIMA, E. C. Determinação simultânea de estriol,  $\beta$ -estradiol,  $17\alpha$ -etinilestradiol e estrona empregando-se extração em fase sólida (SPE) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). **Revista Ambiente & Água**, v. 9, p. 688-695, 2014.

DANZEI, A. P.; VERCELLINO, I. S. Uso de Bioindicadores no monitoramento da qualidade da água. **Revinter**, v. 11, n. 01, p. 100-115, 2018.

DATTA, S. et al. Earthworms, pesticides and sustainable agriculture: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 9, p. 8227-8243, 2016.

DAVEZZA, M. et al. Photocatalytic degradation of bentazone in soil washing wastes containing alkylpolyoxyethylene surfactants. **Chemosphere**, v. 86, n. 4, p. 335-340, 2012.

DE MES, T.; ZEEMAN, G.; LETTINGA, G. Occurrence and fate of estrone,  $17\beta$ -estradiol and  $17\alpha$ -ethynylestradiol in STPs for domestic wastewater. **Reviews in Environmental Science and Bio/technology**, v. 4, n. 4, p. 275, 2005.

DHAKA, S. et al. Aqueous phase degradation of methyl paraben using UV-activated persulfate method. **Chemical Engineering Journal**, v. 321, p. 11-19, 2017.

DI CESARE, A. et al. Impact of disinfection processes on bacterial community in urban wastewater: Should we rethink microbial assessment methods?. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 5, p. 104393, 2020.

DOLAR, D. et al. Removal of emerging contaminants from municipal wastewater with an integrated membrane system, MBR-RO. **Journal of Hazardous Materials**, v. 239-240, p. 64-69, 2012.

ECC (European Community Commission). **Commission Directive 91/271/EC of the European Parliament and the Council concerning urban wastewater treatment.** Off. J. Eur. Union, OJL, 135. 1991.

EPA. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Contaminants of Emerging Concern including Pharmaceuticals and Personal Care Products**, 2015.  
Disponível em: <<https://www.epa.gov/wqc/contaminants-emerging-concern-including-pharmaceuticals-and-personal-care-products>>. Acessado em: junho de 2021.

ESPERANZA, M. et al. Fate of sex hormones in two pilot-scale municipal wastewater treatment plants: Conventional treatment. **Chemosphere**, v. 66, p. 1535–1544, 2007.

ESTEBAN, S. et al. Analysis and occurrence of endocrine-disrupting compounds and estrogenic activity in the surface waters of Central Spain. **Science of the Total Environment**, v. 466-467, p. 939–951, 2014.

FAST, S. A. et al. A critical evaluation of advanced oxidation processes for emerging contaminants removal. **Environmental Processes**, v. 4, n. 1, p. 283-302, 2017.

FERNANDES, A. N. et al. Remoção dos Hormônios 17 $\beta$ -estradiol e 17 $\alpha$ -etinilestradiol de soluções aquosas empregando turfa decomposta como material adsorvente. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1526-1533, 2011.

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

FIORENTINO, A. et al. Inactivation and regrowth of multidrug resistant bacteria in urban wastewater after disinfection by solar-driven and chlorination processes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 148, p. 43-50, 2015.

FRONTISTIS, Z. et al. UV and simulated solar photodegradation of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol in secondary-treated wastewater by hydrogen peroxide or iron addition. **Catalysis Today**, v. 252, p. 84–92, 2015.

FRONTISTIS, Z. et al. Degradação fotocatalítica (UV-A/TiO<sub>2</sub>) do 17 $\alpha$ -etinilestradiol em matrizes ambientais: estudos experimentais e modelagem de redes neurais artificiais. **Jornal de Fotoquímica e Fotobiologia A: Chemistry**, v. 240, p. 33-41, 2012.

GABET-GIRAUD, V. et al. Occurrence and removal of estrogens and beta blockers by various processes in wastewater treatment plants. **Science of the total environment**, v. 408, n. 19, p. 4257-4269, 2010.

GAGNÉ, F. et al. Evidence of feminization in wild *Elliptio complanata* mussels in the receiving waters downstream of a municipal effluent outfall. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 153, n. 1, p. 99-106, 2011.

GALLUBA, S.; OEHLMANN, J. Widespread endocrine activity in river sediments in Hesse, Germany, assessed by a combination of in vitro and in vivo bioassays. **Journal of Soils and Sediments**, v. 12, n. 2, p. 252-264, 2012.

GAVRILESCU, M. et al. Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. **New biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 147-156, 2015.

GHISELLI, G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: Ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. Tese de Doutorado – Área de Química Analítica. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2006.

GHISELLI, G; JARDIM, F. W. Interferentes Endócrinos no Ambiente. **Química Nova**. v.30, n.3, p.11, 2007.

GIANNAKIS, S. et al. Effect of advanced oxidation processes on the micropollutants and the effluent organic matter contained in municipal wastewater previously treated by three different secondary methods. **Water Research**, v. 84, p. 295-306, 2015.

GIANNAKIS, S. et al. Solar photo-Fenton and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processes against the antidepressant Venlafaxine in urban wastewaters and human urine. Intermediates formation and biodegradability assessment. **Chemical Engineering Journal**, v. 308, p. 492-504, 2017.

GMUREK, M.; OLAK-KUCHARCZYK, M.; LEDAKOWICZ, S. Photochemical decomposition of endocrine disrupting compounds—A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 310, p. 437-456, 2017.

GMUREK, M.; OLAK-KUCHARCZYK, M.; LEDAKOWICZ, S. Photochemical decomposition of endocrine disrupting compounds – a review. **Chemical Engineering Journal**, v. 310, p. 437-456, 2017.

GOKSØYR, A. Endocrine disruptors in the marine environment: mechanisms of toxicity and their influence on reproductive process in fish. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 69, p. 175-184, 2006.

GOMES, J. et al. Application of ozonation for pharmaceuticals and personal care products removal from water. **Science of The Total Environment**, v. 586, p. 265-283, 2017.

GOMES, R.; LESTER, J. N. Endocrine disruptors in drinking water and water reuse. **Endocrine Disruptors in Wastewater and Sludge Treatment Processes**, Lewis Publishers, New York, p. 219-266, 2003.

GONZÁLEZ, A. et al. Steroid hormones and estrogenic activity in the wastewater outfall and receiving waters of the Chascomús chained shallow lakes system (Argentina). **Science of The Total Environment**, v. 743, p. 140401, 2020.

GORGA, M. et al. Analysis of endocrine disrupters and related compounds in sediments and sewage sludge using on-line turbulent flow chromatography – liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1352, p. 29-37, 2014.

GORGA, M. et al. Occurrence and spatial distribution of EDCs and related compounds in waters and sediments of Iberian rivers. **Science of the Total Environment**, v. 503-504, p. 64-86, 2015.

GOU, Y. et al. Estrogenic effects in the influents and effluents of the drinking water treatment plants. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 9, p. 8518-8528, 2016.

GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**, v. 44, n. 8, p. 1737-1747, 2001.

GUNATILAKE, S. R. et al. A novel approach to determine estrogenic hormones in swine lagoon wastewater using the QuEChERS method combined with solid phase extraction and LC/MS/MS analysis. **Analytical Methods**, v. 6, n. 23, p. 9267-9275, 2014.

HALL, J. E. Fisiologia feminina antes da gravidez e hormônios femininos. **Tratado de fisiologia médica**. 12<sup>a</sup>. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 1041-57, 2012.

HAMID, H.; ESKICIOGLU, C. Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment: A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix. **Water Research**, v. 46, p. 5813-5833, 2012.

HANSEN, K.; ANDERSEN, H. R. Energy effectiveness of direct UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment of estrogenic chemicals in biologically treated sewage. **International Journal of Photoenergy**, v. 2012, 2012.

HERMAN, A. et al. Human exposure to synthetic endocrine disrupting chemicals (S-EDCs) is generally negligible as compared to natural compounds with higher or comparable endocrine activity: how to evaluate the risk of the S-EDCs?. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 78, n. 103396, 2020.

HIROTA, B. C. K.; PAULA, C. S.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D Avaliação de toxicidade in vitro: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente à *Artemia Salina*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.13, n.2, 2012.

HOMEM, V.; SANTOS, L. Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices - a review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 10, p. 2304–2347, 2011.

HUANG, B. et al. Effects and bioaccumulation of 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethynylestradiol following long-term exposure in crucian carp. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 112, p. 169-176, 2015.

HUERTA, B.; RODRÍGUEZ-MOZAZ, S.; BARCELÓ, D. Pharmaceuticals in biota in the aquatic environment: analytical methods and environmental implications. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 404, n. 9, p. 2611-2624, 2012.

HUERTA-FONTELA, M.; GALCERAN, M. T.; VENTURA, F. Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. **Water research**, v. 45, n. 3, p. 1432-1442, 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico**, 2010. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/censo2010/apps/sinopse/>>. Acesso em: junho de 2021.

IKEHATA, K.; NAGHASHKAR, N. J.; EL-DIN, M. G. Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: a review. **Ozone: Science Technology**. v.28, p.353-414, 2006.

IPARDES. Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. **Caderno Estatístico Município Marmeleiro**, 2021.

ISO. International Organization for Standardization. **ISO 17512-1**: Qualidade do solo - Teste de prevenção para determinar a qualidade dos solos e os efeitos dos produtos químicos no comportamento - Parte 1: Teste com minhocas (*Eisenia fetida* e *Eisenia andrei*). São Paulo: 2008.

JIA, Y. et al. Effect-based and chemical analyses of agonistic and antagonistic endocrine disruptors in multiple matrices of eutrophic freshwaters. **Science of the Total Environment**, v. 651, p. 1096-1104, 2019.

JOBLING, S. et al. Predicted exposures to steroid estrogens in UK rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. Suppl 1, p. 32-39, 2006.

JOHNSON, A. C.; BELFROID, A.; DI CORCIA, A. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. **Science of the Total Environment**, v. 256, n. 2-3, p. 163-173, 2000.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de Esgotos Domésticos**. Rio de Janeiro: ABES: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 6ª ed., 969 p., 2011.

KANAKARAJU, D.; GLASS, B. D.; OELGEMÖLLER, M. Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: a review. **Journal of environmental management**, v. 219, p. 189-207, 2018.

KANAKARAJU, D.; GLASS, B. D.; OELGEMÖLLER, M. Titanium dioxide photocatalysis for pharmaceutical wastewater treatment. **Environmental chemistry letters**, v. 12, n. 1, p. 27-47, 2014.

KANAKARAJU, D.; GLASS, B. D.; OELGEMÖLLER, M. Advanced oxidation process-mediated removal of pharmaceuticals from water: a review. **Journal of environmental management**, v. 219, p. 189-207, 2018.

- KIM, I.; YAMASHITA, N.; TANAKA, H. Photodegradation of pharmaceuticals and personal care products during UV and UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatments. **Chemosphere**, v. 77, n. 4, p. 518-525, 2009.
- KIM, S.; YAMADA, H.; TSUNO, H. Evaluation of estrogenicity for 17  $\beta$ -estradiol decomposition during ozonation. **Ozone: Science and Engineering**, v. 26, n. 6, p. 563-571, 2004.
- KRYSTYNIK, P. et al. Semi-pilot scale environment friendly photocatalytic degradation of 4-chlorophenol with singlet oxygen species—Direct comparison with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV-C reaction system. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 160, p. 506-513, 2014.
- KUMAR, V. et al. De-conjugation behavior of conjugated estrogens in the raw sewage, activated sludge and river water. **Journal of Hazardous Materials**. v. 227–228, p. 49–54, 2012.
- LARCHER, S. et al. Degradation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol by ozonation- Identification of the by-products and assessment of their estrogenicity and toxicity. **Environment International**, v. 39, n. 1, p. 66–72, 2012.
- LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A. M. Photochemical processes for water treatment. **Chemical reviews**, v. 93, n. 2, p. 671-698, 2003.
- LI, A. J. et al. Transformation of acesulfame in chlorination: kinetics study, identification of byproducts, and toxicity assessment. **Water research**, v. 117, p. 157-166, 2017.
- LI, C. et al. Kinetics and mechanism of 17 $\beta$ -estradiol chlorination in a pilotscale water distribution systems. **Chemosphere**, v. 178, p. 73–79, 2017.
- LIANG, W.; LI, J.; JIN, Y. Photo-catalytic degradation of gaseous formaldehyde by TiO<sub>2</sub>/UV, Ag/TiO<sub>2</sub>/UV and Ce/TiO<sub>2</sub>/UV. **Building and environment**, v. 51, p. 345-350, 2012.
- LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 2.ed. Campinas, SP: Editora Átomo, 2008.
- LIN, Y. PENG, Z.; ZHANG, X. Ozonation of estrone, estradiol, diethylstilbestrol in waters. **Desalination**, v. 249, n. 1, p. 235-240, 2009.
- LINTELMANN, J. et al. Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 75, n. 5, p. 631-681, 2003.
- LIU, B.; LIU, X. Direct photolysis of estrogens in aqueous solutions. **Science of the Total Environment**, v. 320, n. 2-3, p. 269-274, 2004.
- LIU, B.; WU, F.; DENG, N. UV-light induced photodegradation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in aqueous solutions. **Journal of hazardous materials**, v. 98, n. 1-3, p. 311-316, 2003.

LIU, J. et al. Distribution and bioaccumulation of steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in wild fish species from Dianchi Lake, China. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2815-2822, 2011.

LIU, R.; ZHOU, J. L.; WILDING, A. Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1022, n. 1-2, p. 179-189, 2004.

LIU, Y. et al. Enhanced catalytic degradation of methylene blue by  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/graphene oxide via heterogeneous photo-Fenton reactions. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 206, p. 642-652, 2017.

LIU, Z. et al. Removal of natural estrogens and their conjugates in municipal wastewater treatment plants: a critical review. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 9, p. 5288-5300, 2015.

LIU, Z.; KANJO, Y.; MIZUTANI, S. Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment—physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: a review. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 2, p. 731-748, 2009a.

LIU, Z.; KANJO, Y.; MIZUTANI, S. Urinary excretion rates of natural estrogens and androgens from humans, and their occurrence and fate in the environment: a review. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 18, p. 4975-4985, 2009b.

LOCATELLI, M. et al. Analytical methods for the endocrine disruptor compounds determination in environmental water samples. **Journal of chromatography A**, v. 1434, p. 1-18, 2016.

LUÍZ, A. M. E.; PINTO, M. L. C.; SCHEFFER, E. W. O. Parâmetros de cor e turbidez relacionados aos usos do solo e à morfometria da bacia hidrográfica do rio Taquaral, São Mateus do Sul-PR. **Revista Caminhos da Geografia**, v. 24, p. 290-310, 2012.

LUO, Y. et al. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **Science of the total environment**, v. 473, p. 619-641, 2014.

LUO, Y. et al. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. **The Science of the total environment**, v. 473-474, p. 619-41, 2014.

LUST, M. J. et al. Biodegradation kinetics of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in activated sludge treatment processes. **Environmental Engineering Science**, v. 32, n. 7, p. 637-646, 2015.

MA, X. et al. Simultaneous degradation of estrone, 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethinyl estradiol in an aqueous UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system. **International journal of environmental research and public health**, v. 12, n. 10, p. 12016-12029, 2015.

MACHADO, K. S. et al. Occurrence of female sexual hormones in the Iguazu river basin, Curitiba, Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 36, n. 3, p. 421-427, 2014.

MACWAN, D. P.; DAVE, P. N.; CHATURVEDI, Shalini. A review on nano-TiO<sub>2</sub> sol-gel type syntheses and its applications. **Journal of materials science**, v. 46, n. 11, p. 3669-3686, 2011.

MAHMOUD, W. M. M; KÜMMERER, K. Captopril and its dimer captopril disulfide: Photodegradation, aerobic biodegradation and identification of transformation products by HPLC-UV and LC-ion trap-MSn. **Chemosphere**, v. 88, n. 10, p. 1170-1177, 2012.

MALAKOOTIAN, M. et al. Advanced oxidation processes for the removal of organophosphorus pesticides in aqueous matrices: A systematic review and meta-analysis. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 134, p. 292-307, 2020.

MANICKUM, T.; JOHN, W. Occurrence, fate and environmental risk assessment of endocrine disrupting compounds at the wastewater treatment works in Pietermaritzburg (South Africa). **Science of the Total Environment**, v. 468, p. 584-597, 2014.

MARCONE, G. P. S. et al. Ecotoxicity of TiO<sub>2</sub> to *Daphnia similis* under irradiation. **Journal of hazardous materials**, v. 211, p. 436-442, 2012.

MARMELEIRO, Prefeitura Municipal. **Revisão do Plano Diretor Municipal – Relatório de Mobilização**. 2019. Disponível em: <[http://www.marmeleiro.pr.gov.br/sitio/planodiretor/2019/revisao\\_pdm\\_2019\\_p01\\_mobilizacao.pdf](http://www.marmeleiro.pr.gov.br/sitio/planodiretor/2019/revisao_pdm_2019_p01_mobilizacao.pdf)>. Acessado em: maio de 2021.

MARTINI, J. et al. Sulfamethoxazole degradation by combination of advanced oxidation processes. **Journal of environmental chemical engineering**, v. 6, n. 4, p. 4054-4060, 2018.

MAZELLIER, P.; MÉITÉ, L.; DE LAAT, J. Photodegradation of the steroid hormones 17 $\beta$ -estradiol (E2) and 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) in dilute aqueous solution. **Chemosphere**, v. 73, n. 8, p. 1216-1223, 2008.

MELO, S. A. S. et al. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, v.32, n.1, p.188-197, 2009.

MESSIAS, Raquel de Aquino. **Ozonização catalítica de efluente de laticínio em processo semi-batelada com reciclo**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2015.

MOMPELAT, S.; LE BOT, B.; THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. **Environment International**, v. 35, n. 5, p. 803-814, 2009.

MSIGALA, S. C. et al. Performance of wastewater stabilization ponds in treatment of endocrine disrupting estrogens in Morogoro urban and peri-urban, Tanzania. **International Journal of Public Health and Epidemiology**, v. 6, n. 1, p. 305-317, 2017.

NAKADA, N. et al. Removal of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) during sand filtration and ozonation at a municipal sewage treatment plant. **Water Research**, v. 41, n. 19, p. 4373-4382, 2007.

NASUHOGLU, D.; BERK, D.; YARGEAU, V. Photocatalytic removal of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) and levonorgestrel (LNG) from contraceptive pill manufacturing plant wastewater under UVC radiation. **Chemical Engineering Journal**, v. 185, p. 52-60, 2012.

NEALE, P. A. et al. Wastewater treatment efficacy evaluated with in vitro bioassays. **Water Research X**, v. 9, p. 100072, 2020.

NEAMȚU, M.; FRIMMEL, F. H. Degradation of endocrine disrupting bisphenol A by 254 nm irradiation in different water matrices and effect on yeast cells. **Water Research**, v. 40, n. 20, p. 3745-3750, 2006.

OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Guideline for testing of chemicals n. 207**: earthworm acute toxicity test. Paris: 1984.

PANDOPULOS, A. J. et al. A sensitive analytical method for the measurement of neurotransmitter metabolites as potential population biomarkers in wastewater. **Journal of Chromatography A**, v. 1612, p. 460623, 2020.

PARANÁ. Secretaria Estadual do Meio Ambiente – SEMA. **Resolução n. 021, de 22 de abril de 2009**. Dispõe sobre licenciamento ambiental, estabelece condições e padrões ambientais e dá outras providências, para empreendimentos de saneamento. Curitiba, PR, 22 de abril de 2009.

PATROLECCO, L. et al. Simultaneous determination of human pharmaceuticals in water samples by solid phase extraction and HPLC with UV-fluorescence detection. **Microchemical Journal**, v. 107, p. 165-171, 2013.

PENG, Y. et al. Screening hundreds of emerging organic pollutants (EOPs) in surface water from the Yangtze River Delta (YRD): occurrence, distribution, ecological risk. **Environmental Pollution**, v. 241, p. 484-493, 2018.

PERONDI, T. **Processos oxidativos avançados na degradação de hormônios sexuais femininos: cinética, produtos e toxicidade**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2019.

PEŠOUTOVÁ, R.; STRÍTESKÝ, L.; HLAVÍNEK, P. A pilot scale comparison of advanced oxidation processes for estrogenic hormone removal from municipal wastewater effluent. **Water Science and Technology**, v. 70, n. 1, p. 70-75, 2014.

PESSOA, G. D. P. et al. Desenvolvimento de metodologia para avaliar remoção de estrogênios em estações de tratamento de esgotos. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 968–973, 2012.

PESSOA, G. P. et al. Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants. **Science of the Total Environment**, v. 490, p. 288-295, 2014.

PETRIE, B.; BARDEN, R.; KASPRZYK-HORDERN, B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. **Water Research**, v. 72, p. 3- 27, 2015.

PUMA, G. L. et al. Photocatalytic oxidation of multicomponent mixtures of estrogens (estrone (E1), 17 $\beta$ -estradiol (E2), 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE2) and estriol (E3)) under UVA and UVC radiation: Photon absorption, quantum yields and rate constants independent of photon absorption. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 99, n. 3-4, p. 388-397, 2010.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RICHARDSON, S. D.; TERNES, T. A. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 1, p. 398-428, 2018.

RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. **Water research**, v. 45, n. 15, p. 4311-4340, 2011.

ROBINSON, B. J.; HELLOU, J. Biodegradation of endocrine disrupting compounds in harbour seawater and sediments. **Science of the total environment**, v. 407, n. 21, p. 5713-5718, 2009.

ROCHA, S. et al. Occurrence of bisphenol A, estrone, 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethynylestradiol in Portuguese Rivers. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 90, n. 1, p. 73-78, 2013.

RODRIGUES-SILVA, C. et al. Ocorrência e degradação de quinolonas por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, v. 37, n. 5, p. 868-885, 2014.

ROLOFF, G. A. **Degradação do hormônio estradiol por eletrólise, fotólise e fotoeletrocatalise**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2007.

ROSAL, R. et al. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. **Water Research**, v. 44, n. 2, p. 578-588, 2010.

ROSENFELDT, E. J. et al. Destruction of estrogenic activity in water using UV advanced oxidation. **Science of the Total Environment**, v. 377, n. 1, p. 105-113, 2007.

ROSENFELDT, E. J.; LINDEN, K. G. Degradation of endocrine disrupting chemicals bisphenol A, ethinyl estradiol, and estradiol during UV photolysis and advanced oxidation processes. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 20, p. 5476-5483, 2004.

RUEDA-MÁRQUEZ, J. J. et al. Post-treatment of biologically treated wastewater containing organic contaminants using a sequence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> based advanced oxidation processes: photolysis and catalytic wet oxidation. **Water Research**, v. 71, p. 85-96, 2015.

SABIR, S.; AKHTAR, M. F.; SALEEM, A. Endocrine disruption as an adverse effect of non-endocrine targeting pharmaceuticals. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 2, p. 1277-1286, 2019.

SACDAL, R.; MADRIAGA, J.; ESPINO, M. P. Overview of the analysis, occurrence and ecological effects of hormones in lake waters in Asia. **Environmental research**, v. 182, p. 109091, 2020.

SANCHES, S. et al. Comparison of UV photolysis, nanofiltration, and their combination to remove hormones from a drinking water source and reduce endocrine disrupting activity. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 11, p. 11279-11288, 2016.

SANTOS, A. B. **Avaliação técnica de sistemas de tratamento de esgotos**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 206 p., 2007.

SARKAR, S. et al. Degradation of estrone in water and wastewater by various advanced oxidation processes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 278, p. 16–24, 2014.

SERVOS, M. R. et al. Distribution of Estrogens, 17 $\beta$ -Estradiol and Estrone, in Canadian Municipal Wastewater Treatment Plants. **Science of the Total Environment**, v. 336, p. 155-170, 2005.

SHIMADA, K.; MITAMURA, K.; HIGASHI, T. Gas chromatography and high-performance liquid chromatography of natural steroids. **Journal of Chromatography A**, v. 935, n. 1-2, p. 141-172, 2001.

SHISHOV, A. et al. An effervescence tablet-assisted switchable solvent-based microextraction: On-site preconcentration of steroid hormones in water samples followed by HPLC-UV determination. **Journal of Molecular Liquids**, v. 247, p. 246-253, 2017.

SILVA, C. P.; OTERO, M.; ESTEVES, V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: A review. **Environmental Pollution**, v.165, p. 38-58, 2012.

SILVA, L. O.; MARQUES, P. M.; GARCIA, G. P. P. Estrogênios no meio ambiente: seus efeitos na saúde humana e na biota aquática. **Sustentare**, v. 3, n. 1, p. 75-92, 2019.

SILVEIRA, G. L. et al. Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. **Chemosphere**, v. 178, p. 359-367, 2017.

SINGH, S.; LI, S. S. Epigenetic effects of environmental chemicals bisphenol A and phthalates. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 8, p. 10143-10153, 2012.

SODRÉ, F. F. et al. Origem e destino de interferentes endócrinos em águas naturais. **Caderno Temático**, v. 6, p. 1-27, 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**, v. 33, n. 1, p. 216-219, 2010.

SOLANO, M. L. M. et al. Potential endocrine disruptor activity of drinking water samples. **Endocrine Disruptors**, v. 3, n. 1, p. 9833841-12, 2015.

SORNALINGAM, K. et al. Photocatalysis of estrone in water and wastewater: Comparison between Au-TiO<sub>2</sub>nanocomposite and TiO<sub>2</sub>, and degradation byproducts. **Science of the Total Environment**, v. 610–611, p. 521–530, 2018.

SORNALINGAM, K.; MCDONAGH, A.; ZHOU, J. L. Photodegradation of estrogenic endocrine disrupting steroidal hormones in aqueous systems: progress and future challenges. **Science of the Total Environment**, v. 550, p. 209-224, 2016.

STAFIEJ, A.; PYRZYNSKA, K.; REGAN, F. Determination of anti-inflammatory drugs and estrogens in water by HPLC with UV detection. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 7, p. 985-991, 2007.

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

SURI, R. P. S; SINGH, T. S.; CHIMCHIRIAN, R. F. Effect of process conditions on the analysis of free and conjugated estrogen hormones by solid-phase extraction–gas chromatography/mass spectrometry (SPE–GC/MS). **Environmental monitoring and assessment**, v. 184, n. 3, p. 1657-1669, 2012.

TAHERAN, M. et al. Membrane processes for removal of pharmaceutically active compounds (PhACs) from water and wastewaters. **Science of the Total Environment**, v. 547, p. 60-77, 2016.

TANG, Z. et al. Trace determination of eleven natural estrogens and insights from their occurrence in a municipal wastewater treatment plant and river water. **Water Research**, v. 182, p. 115976, 2020.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. de F. Processos oxidativos avançados: conceitos teóricos. **Caderno Temático**, v. 3, n. 1, p. 83, 2004.

TELES, A. G. D. X. **Processos oxidativos avançados em efluente de indústria de tratamento de sementes e avaliação da ecotoxicidade**. Trabalho de Conclusão de Curso – Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2021.

TERNUS, R. Z. et al. Influência da urbanização sobre a qualidade da água na bacia do rio Uruguai superior, no oeste de Santa Catarina, Brasil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 23, n. 2, p. 189-199. 2011.

TETREULT, G. R. et al. Intersex and reproductive impairment of wild fish exposed to multiple municipal wastewater discharges. **Aquatic Toxicology**, v. 104, n. 3-4, p. 278-290, 2011.

THIEL, N. A. et al. Avaliação da qualidade de água para abastecimento público do município de Marmeleiro – PR. In: Congresso Nacional de Meio Ambiente, XIII, 2016, Poços de Caldas. **Anais**. 7 p. 2016.

TIJANI, J. O.; FATOBA, O. O.; PETRIK, L. F. A review of pharmaceuticals and endocrine-disrupting compounds: sources, effects, removal, and detections. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 224, n. 11, p. 1770, 2013.

TORTORA, G. J.; DERRICKSON, B. H. **Principles of anatomy and physiology**. John Wiley & Sons, 2018.

TYLER, C. R.; JOBLING, S. Roach, sex, and gender-bending chemicals: The feminization of wild fish in English rivers. **Bioscience**, v. 58, n. 11, p. 1051-1059, 2008.

USEPA. United States Environmental Protection Agency. Special report on environmental endocrine disruption: An effects assessment and analysis. **Washington, DC**, pp. 1- 120, 1997.

UTZIG, L. M. et al. Ecotoxicity response of chlorpyrifos in *Aedes aegypti* larvae and *Lactuca sativa* seeds after UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UVC oxidation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 449-456, 2019.

VALCÁRCEL, Y. et al. Determining the presence of chemicals with suspected endocrine activity in drinking water from the Madrid region (Spain) and assessment of their estrogenic, androgenic and thyroidal activities. **Chemosphere**, v. 201, p. 388-398, 2018.

VÄLITALO, P. et al. Effect-based assessment of toxicity removal during wastewater treatment. **Water research**, v. 126, p. 153-163, 2017.

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

VIEIRA, W. T. et al. Latest advanced oxidative processes applied for the removal of endocrine disruptors from aqueous media-a critical report. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 105748, 2021.

VILELA, C. L. S.; BASSIN, J. P; PEIXOTO, R. S. Water contamination by endocrine disruptors: Impacts, microbiological aspects and trends for environmental protection. **Environmental Pollution**, v. 235, p. 546-559, 2018.

VIONE, D. et al. The role of direct photolysis and indirect photochemistry in the environmental fate of ethylhexyl methoxy cinnamate (EHMC) in surface waters. **Science of the Total Environment**, v. 537, p. 58-68, 2015.

VIVIANI, M. T.; GARCIA JR, J. R. Interações entre os sistemas nervoso e endócrino e tecidos adiposo e muscular na regulação do peso corporal durante dietas alimentares. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 21, n. 1, p. 72-7, 2006.

VON GUNTEN, U. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. **Water research**, v. 37, n. 7, p. 1443-1467, 2003.

VON SPERLING, M. **Princípios do tratamento biológico de águas residuária – Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Vol. 1. 3º ed. Editora UFMG, 2005.

VYMAZAL, J. BŘEZINOVÁ, T.; KOŽELUH, M. Occurrence and removal of estrogens, progesterone and testosterone in three constructed wetlands treating municipal sewage in the Czech Republic. **Science of the Total Environment**, v. 536, p. 625-631, 2015.

WANG, J.; WANG, S. Activation of persulfate (PS) and peroxymonosulfate (PMS) and application for the degradation of emerging contaminants. **Chemical Engineering Journal**, v. 334, p. 1502-1517, 2018.

WANG, S.; CHEN, H.; SUN, B. Recent progress in food flavor analysis using gas chromatography–ion mobility spectrometry (GC–IMS). **Food Chemistry**, v. 315, p. 126158, 2020.

WANG, J.; ZHU, Y. Occurrence and risk assessment of estrogenic compounds in the East Lake, China. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 52, p. 69-76, 2017.

WANG, J.; ZHUAN, R. Degradation of antibiotics by advanced oxidation processes: an overview. **Science of The Total Environment**, v. 701, p. 135023, 2020.

WANG, S.; WANG, J. Carbamazepine degradation by gamma irradiation coupled to biological treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 321, p. 639-646, 2017.

WANG, Y. et al. Comparative acute toxicity of twenty-four insecticides to earthworm, *Eisenia fetida*. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 79, p. 122-128, 2012.

WERT, E. C.; ROSARIO-ORTIZ, F. L.; SNYDER, S. A. Effect of ozone exposure on the oxidation of trace organic contaminants in wastewater. **Water Research**, v. 43, n. 4, p. 1005-1014, 2009.

- WILLIAMS, M. et al. Emerging contaminants in a river receiving untreated wastewater from an Indian urban centre. **Science of the Total Environment**, v. 647, p. 1256-1265, 2019.
- WU, Q. et al. Occurrence and fate of endogenous steroid hormones, alkylphenol ethoxylates, bisphenol A and phthalates in municipal sewage treatment systems. **Journal of Environmental Sciences**, v. 61, p. 49-58, 2017.
- XIE, H. et al. Occurrence, distribution and ecological risks of antibiotics and pesticides in coastal waters around Liaodong Peninsula, China. **Science of the Total Environment**, v. 656, p. 946-951, 2019.
- XU, J. et al. Bioassay: A useful tool for evaluating reclaimed water safety. **Journal of Environmental Sciences**, v. 88, p. 165-176, 2020.
- YAO, W. et al. Removal of pharmaceuticals from secondary effluents by an electro-peroxone process. **Water Research**, v. 88, p. 826-835, 2016.
- YING, G. G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y. J. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. **Environment International**, v. 28, n. 6, p. 545-551, 2002.
- YU, Q. et al. Occurrence and removal of progestagens in municipal wastewater treatment plants from different regions in China. **Science of the total environment**, v. 668, p. 1191-1199, 2019.
- YUAN, S. et al. Trace determination of sulfonamide antibiotics and their acetylated metabolites via SPE-LC-MS/MS in wastewater and insights from their occurrence in a municipal wastewater treatment plant. **Science of the Total Environment**, v. 653, p. 815-821, 2019.
- ZHANG, W. et al. Effect of water composition on TiO<sub>2</sub> photocatalytic removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) and estrogenic activity from secondary effluent. **Journal of Hazardous Materials**, v. 215, p. 252-258, 2012.
- ZHANG, Y. et al. Evaluating removal of steroid estrogens by a model alga as a possible sustainability benefit of hypothetical integrated algae cultivation and wastewater treatment systems. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 2, n. 11, p. 2544-2553, 2014.
- ZHAO, X.; LUNG, W. Modeling the fate and transport of 17 $\beta$ -estradiol in the South River watershed in Virginia. **Chemosphere**, v. 186, p. 780-789, 2017.
- ZHENG, W.; YATES, S. R.; BRADFORD, S. A. Analysis of steroid hormones in a typical airy waste disposal system. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 2, p. 530-535, 2008.

## ANEXOS

## ANEXO A – Laudo da análise de Coliformes Termotolerantes para o efluente tratado pela ETE (E).



## Relatório de Ensaio 40379/2021.0

Data de Publicação: 19/09/2021 22:03

Identificação Conta	
Cliente: Jaqueline Klem Bohrer	CNPJ/CPF: 098.432.799-13
Endereço: Rua Falcão - Padre Ulrico - Francisco Beltrão - Paraná - CEP: 85604-535 - Brazil	

Identificação da Amostra: Efluente - Bruto	
Data Amostragem: 17/09/2021 08:20	Data Recebimento: 17/09/2021 11:47
Ponto de Amostragem: ET	Responsável pela Amostragem: Jaqueline
Quantidade de Amostra recebida (g/mL): 300 ml	Temperatura no Recebimento (°C): 14,8°
Temperatura na Amostragem (Cliente) (°C): NI	Lacre: NA
Observações: NI	

Resultados Analíticos					
Microbiológico					
Ensaio	Resultado	LQ	Incerteza	Método de Referência	Data Ensaio
Contagem de Coliformes Termotolerantes	1,7 x 10 <sup>4</sup> UFC/100mL	1,0	-	SMWW 23a Edição 2017, Método 9222D	17/09/2021

Notas
<p>NI: Não informado. NA: Não aplica. LQ: Limite de quantificação. ND: Não detectável. EST: Estimado.</p> <p>Valores de Referência: Consulte a legislação aplicável e em vigor.</p> <p>Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra conforme recebida e só pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.</p> <p>Método de amostragem e informações da amostra são de responsabilidade do solicitante.</p> <p>Local de realização dos ensaios LGQ Laboratório: Instalações permanentes.</p>

  
Aildany de Lara  
Responsável pela Publicação do Relatório

  
Aizangela de Lara - CRBio 8642767D  
Responsável Técnico Microbiológico

Chave de Validação: d900ee3546184b69b9d29b276ectcf22

## ANEXO B – Laudo da análise de Coliformes Termotolerantes para o efluente (E) submetido ao processo de fotólise (UV).



### Relatório de Ensaio 40377/2021.0

Data de Publicação: 19/09/2021 22:03

Identificação Conta					
Cliente: Jaqueline Klem Bohrer				CNPJ/CPF: 098.432.799-13	
Endereço: Rua Falcão - Padre Uirico - Francisco Beltrão - Paraná - CEP: 85604-535 - Brazil					
Identificação da Amostra: Efluente - Tratado					
Data Amostragem: 17/09/2021 08:10			Data Recebimento: 17/09/2021 11:45		
Ponto de Amostragem: UV			Responsável pela Amostragem: Jaqueline		
Quantidade de Amostra recebida (g/mL): 300 ml			Temperatura no Recebimento (°C): 14,8°		
Temperatura na Amostragem (Cliente) (°C): NI			Lacre: NA		
Observações: NI					
Resultados Analíticos					
Microbiológico					
Ensaio	Resultado	LQ	Incerteza	Método de Referência	Data Ensaio
Contagem de Coliformes Termotolerantes	2,0 x 10 <sup>1</sup> UFC/100mL	1,0	-	SMWW 23a Edição 2017, Método 922D	17/09/2021
Notas					
<p>NI: Não informado. NA: Não aplica. LQ: Limite de quantificação. ND: Não detectável. EST: Estimado.</p> <p>Valores de Referência: Consulte a legislação aplicável e em vigor.</p> <p>Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra conforme recebida e só pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração. Método de amostragem e informações de amostra são de responsabilidade do solicitante.</p> <p>Local de realização dos ensaios LGQ Laboratório: Instalações permanentes.</p>					

Arizany de Lara  
Responsável pela Publicação do  
Relatório

Arizany de Lara - CRBio 86427/07D  
Responsável Técnico  
Microbiológico

Chave de Validação: 24504b203034ffa5194d0620597ec

**ANEXO C – Laudo da análise de Coliformes Termotolerante para o efluente (E) submetido ao processo de fotólise com o peróxido de hidrogênio (UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).**



**Relatório de Ensaio 40378/2021.0**

Data de Publicação: 19/09/2021 22:03

Identificação Conta					
Cliente: Jaqueline Klem Bohrer				CNPJ/CPF: 098.432.799-13	
Endereço: Rua Falcão - Padre Ulrico - Francisco Beltrão - Paraná - CEP: 85604-535 - Brazil					
Identificação da Amostra: Efluente - Tratado					
Data Amostragem: 17/09/2021 08:15			Data Recebimento: 17/09/2021 11:45		
Ponto de Amostragem: H2-O2			Responsável pela Amostragem: Jaqueline		
Quantidade de Amostra recebida (g/mL): 300 ml			Temperatura no Recebimento (°C): 14,6°		
Temperatura na Amostragem (Cliente) (°C): Nil			Lacre: NA		
Observações: Nil					
Resultados Analíticos					
Microbiológico					
Ensaio	Resultado	LQ	Incerteza	Método de Referência	Data Ensaio
Contagem de Coliformes Termotolerantes	1,0 x 10 <sup>1</sup> UFC/100mL	1,0	-	SMWW 23a Edição 2017, Método 922D	17/09/2021
Notas					
<p>NI: Não informado. NA: Não aplica. LQ: Limite de quantificação. ND: Não detectável. EST: Estimado.</p> <p>Valores de Referência: Consulte a legislação aplicável e em vigor.</p> <p>Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra conforme recebida e só pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração. Método de amostragem e informações da amostra são de responsabilidade do solicitante.</p> <p>Local de realização dos ensaios LGQ Laboratório: Instalações permanentes.</p>					

  
 Arildany de Lara  
 Responsável pela Publicação do Relatório

  
 Artzangela de Lara - CRBio 66427/07D  
 Responsável Técnico Microbiológico

Chave de Validação: 5e54b038e90c4f0aa3a1d5106e27c13

## ANEXO D – Laudo da análise de Coliformes Termotolerante para o efluente (E) submetido ao processo de fotocatalise heterogênea (UV/TiO<sub>2</sub>).



### Relatório de Ensaio 40375/2021.0

Data de Publicação: 19/09/2021 22:03


Identificação Conta	
Cliente: Jaqueline Kiem Bohrer	CNPJ/CPF: 098.432.799-13
Endereço: Rua Falcão - Padre Ulrico - Francisco Beltrão - Paraná - CEP: 85604-535 - Brazil	

Identificação da Amostra: Efluente - Tratado	
Data Amostragem: 17/09/2021 08:00	Data Recebimento: 17/09/2021 11:44
Ponto de Amostragem: TI - 02	Responsável pela Amostragem: Jaqueline
Quantidade de Amostra recebida (g/mL): 300 ml	Temperatura no Recebimento (°C): 14.8°
Temperatura na Amostragem (Cliente) (°C): NI	Lacre: NA
Observações: NI	

### Resultados Analíticos

Microbiológico					
Ensaio	Resultado	LQ	Incerteza	Método de Referência	Data Ensaio
Contagem de Coliformes Termotolerantes	2,0 x 10 <sup>1</sup> UFC/100mL	1,0	-	SMWW 23a Edição 2017, Método 9222D	17/09/2021

Notas
<p>NI: Não informado. NA: Não aplica. LQ: Limite de quantificação. ND: Não detectável. EST: Estimado.</p> <p>Valores de Referência: Consulte a legislação aplicável e em vigor.</p> <p>Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra conforme recebida e só pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.</p> <p>Método de amostragem e informações de amostra são de responsabilidade do solicitante.</p> <p>Local de realização dos ensaios LGQ Laboratório: Instalações permanentes.</p>

  
Aildany de Lara  
Responsável pela Publicação do Relatório

  
Antzangela de Lara - CRBio 86427/07D  
Responsável Técnico Microbiológico

Chave de Validação: bca33fc8d42a4d2b9cf5562179a81e25

## ANEXO E – Laudo da análise de Coliformes Termotolerante para o efluente (E) submetido ao processo de foto-ozonização (UV/O<sub>3</sub>).



### Relatório de Ensaio 40376/2021.0

Data de Publicação: 19/09/2021 22:03

Identificação Conta	
Cliente: Jaqueline Klem Bohrer	CNPJ/CPF: 098.432.799-13
Endereço: Rua Falcão - Padre Ulrico - Francisco Beltrão - Paraná - CEP: 85604-535 - Brazil	

Identificação da Amostra: Efluente - Tratado	
Data Amostragem: 17/09/2021 08:05	Data Recebimento: 17/09/2021 11:44
Ponto de Amostragem: O3	Responsável pela Amostragem: Jaqueline
Quantidade de Amostra recebida (g/mL): 300 ml	Temperatura no Recebimento (°C): 14,8°
Temperatura na Amostragem (Cliente) (°C): NI	Lacre: NA
Observações: NI	

### Resultados Analíticos

Microbiológico					
Ensaio	Resultado	LQ	Incerteza	Método de Referência	Data Ensaio
Contagem de Coliformes Termotolerantes	4,0 x 10 <sup>1</sup> UFC/100mL	1,0	-	SMWW 23a Edição 2017, Método 9222D	17/09/2021

Notas
<p>NI: Não informado; NA: Não aplica; LQ: Limite de quantificação; ND: Não detectável; EST: Estimado.</p> <p>Valores de Referência: Consulte a legislação aplicável e em vigor.</p> <p>Este relatório de ensaio refere-se somente à amostra conforme recebida e só pode ser reproduzido por completo e sem nenhuma alteração.</p> <p>Método de amostragem e informações da amostra são de responsabilidade do solicitante.</p> <p>Local de realização dos ensaios LGQ Laboratório: Instalações permanentes.</p>


  
Adilary de Lara  
Responsável pela Publicação do Relatório

  
Afzangela de Lara - CRBio 8642787D  
Responsável Técnico Microbiológico

Chave de Validação: 054297f6f62a4ceb34da7bf3d478a339


## APÊNDICES

### APÊNDICE A – Curva de calibração para estrona (E1).




Fonte: Autoria própria (2021)


### APÊNDICE B – Curva de calibração para 17 $\beta$ -estradiol (E2).



Fonte: Autoria própria (2021)

**APÊNDICE C – Curva de calibração para estriol (E3).**

Fonte: Autoria própria (2021).

**APÊNDICE D – Curva de calibração para 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2).**

Fonte: Autoria própria (2021).