

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS MEDIANEIRA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM GESTÃO AMBIENTAL

CARLA REGINA HEINTZE
THAYNE DANIELI SCHMIDT

**DIAGNÓSTICO DO AMBIENTE AQUÁTICO DA FOZ DO RIO OCOY
POR MEIO DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-
QUÍMICOS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA
2011

CARLA REGINA HEINTZE
THAYNE DANIELI SCHMIDT

**DIAGNÓSTICO DO AMBIENTE AQUÁTICO DA FOZ DO RIO OCOY
POR MEIO DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-
QUÍMICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia em Gestão Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus de Medianeira, como requisito parcial para obtenção do Título de Tecnólogo .

Orientador: Profª Dra. Carla Daniela Camara

Co-orientador: Profº Dr. Fernando Periotto

MEDIANEIRA
2011



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Curso Superior de Tecnologia em gestão Ambiental



TERMO DE APROVAÇÃO

DIAGNÓSTICO DO AMBIENTE AQUÁTICO DA FOZ DO RIO OCOY POR MEIO DE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

por

Carla Regina Heintze
Thayne Danieli Schmidt

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado às 16 h 00 min do dia 28 de novembro de 2011 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo no Curso Superior de Tecnologia em Gestão Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira. Os candidatos foram argüidos pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof^ª. Dra. Carla Daniela Camara
UTFPR – Campus Medianeira
(Orientadora)

Prof^º. Dr. Fernando Periotto
UTFPR – Campus Medianeira
(Co – orientador)

Prof. Dr. Adelmo Lowe Pletsch
UTFPR – Campus Medianeira
(Convidado)

Paulo Rodrigo Stival Bittencourt
Responsável pelas Atividades do TCC

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus que iluminou nosso caminho durante a elaboração deste trabalho.

A Professora Carla Daniela Camara pelo estímulo, orientação no desenvolvimento desta pesquisa e momentos de aprendizagem durante o trabalho de Iniciação Científica e este trabalho de Conclusão de Curso.

Aos Professores Fernando Periotto, Adelmo Lowe Pletsch, Paulo Bittencourt e a Ruth pelo auxílio e atenção disponibilizados.

Agradecemos as nossas famílias que sempre estiveram nos apoiando e incentivando nos momentos mais difíceis, compreendendo os momentos de ausência.

Aos colaboradores e integrantes do Grupo de Pesquisa Biotecnologia Ambiental e Saúde Pública.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira por nos ter permitido o uso dos laboratórios para realização do estudo.

Memoravelmente ao professor Dr. Ronald Bastos Freire, que deu início ao projeto. Mesmo estando ausente, permanecerá eternamente vivo em nossa memória.

E a todos que de forma direta ou indiretamente, contribuíram para o bom andamento deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Fundação Araucária, pela concessão da bolsa de Iniciação Científica e Tecnológica.

“Onde quer que haja mulheres e homens,
há sempre o que fazer,
há sempre o que ensinar,
há sempre o que aprender.”

Paulo Freire

RESUMO

HEINTZE, Carla Regina; SCHMIDT, Thayne Danieli. Diagnóstico do ambiente aquático da foz do Rio Ocoy por meio de indicadores microbiológicos e físico-químicos. 2011. 51 fls Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2011.

O sedimento de três pontos de amostragem da foz do rio Ocoy – Tributário do Lago de Itaipu, localizado no município de São Miguel do Iguçu, na região oeste do Paraná, foi estudado para avaliar a presença e o teor do fármaco cafeína, a presença de microrganismos, juntamente com análise dos parâmetros físico-químicos. Foram realizadas duas coletas, sendo uma no mês de outubro de 2010 e outra no mês de fevereiro de 2011. Os três pontos de amostragem estão localizados ao longo de seis km a montante foz do rio. A quantificação do fármaco cafeína foi realizada por espectrofotômetro UV-Vis e as concentrações alcançaram teores de partes por bilhão, variando de 0,78 à 1,73 $\mu\text{g} \cdot \text{Kg}^{-1}$. Em relação aos microrganismos no sedimento, a contagem de bactéria total indicou um número decrescente de organismos da nascente para a foz: $3,5 \cdot 10^3$, $2,4 \cdot 10^3$ e $1,6 \cdot 10^3$ UFC.g⁻¹ respectivamente. Para a contagem de coliformes totais e fecais obteve-se os valores de: 460 e 240 g⁻¹ respectivamente no ponto localizado na nascente. Nos dois pontos a jusante do Rio, os resultados para coliformes totais e fecais foram semelhantes: 4.g⁻¹ e 3.g⁻¹). O teor de fósforo variou de 172 à 304 (mg Kg⁻¹), mostrando que há contaminação por fontes antropogênicas, mas os valores estão abaixo daqueles considerado um valor crítico pela legislação do CONAMA 344. De acordo com os valores de pH, o sedimento pode ser considerado levemente ácido variando os valores de 4,15 a 5,81, e os teores de CO variam de 10,2% à 15,4%. Os resultados obtidos indicam que a qualidade ambiental da Foz do Rio Ocoy encontra-se em favorável para manutenção do ecossistema.

Palavras-chave: Sedimentos. Cafeína. Microrganismos.

ABSTRACT

HEINTZE, Carla Regina; SCHMIDT, Thayne Danieli. Diagnosis of the aquatic environment of the mouth of the river by means of indicators Ocoy microbiological and physico-chemical. 2011. 51 pgs. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2011.

The three sediment sampling sites on the mouth of the river Ocoy - Tributary of Lake Itaipu, located in São Miguel do Iguaçu, in western Paraná, was studied to assess the presence and content of the drug caffeine, the presence of microorganisms along with analysis of physical and chemical parameters. There were two collections, one in October 2010 and another in February 2011. The three sampling points are located along six kilometers upstream the river mouth. The quantification of the drug caffeine was performed by UV-Vis spectrophotometer and the concentrations reached levels of parts per billion, ranging from 0.78 to 1.73 mg. Kg⁻¹. In relation to the microorganisms in the sediment, total bacteria count indicated a decreasing number of organisms to the mouth of the spring: 3,5.10³, 2,4.10³ and 1,6.10³ CFU g⁻¹ respectively. For the count of total and fecal coliforms was obtained values: 460 and 240 g⁻¹ at the point located at the source. In two points downstream of the river, the results for total and fecal coliforms were similar: 4-g⁻¹ and 3.g⁻¹). The phosphorus content ranged from 172 to 304 (mg kg⁻¹), showing that there is contamination from anthropogenic sources, the values are below a critical value of those considered by the law of CONAMA 344. According to the pH values, the sediment can be considered slightly acid values ranging from 4.15 to 5.81, and CO levels ranging from 10.2% to 15.4%. The results indicate that the environmental quality of the river mouth is in Ocoy favorable for maintenance of the ecosystem.

Keywords: Sediment. Caffeine. Micro-organisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Possíveis rotas de fármacos no meio ambiente.....	14
Figura 2. Estrutura química da cafeína e de outras metilxantinas.....	16
Figura 3. Funcionamento do aparelho espectrofotômetro.....	17
Figura 4. Bacia do Paraná III, divisão Geopolítica.....	21
Figura 5. Bacia do Paraná III e principais Sub-Bacias.....	22
Figura 6. Ilustração da utilização do Disco de Secchi em corpos hídricos.....	25
Figura 7. Localização dos pontos de coleta 1, 2 e 3 no Rio Ocoy-tributário do Lago de Itaipu-PR.....	26
Figura 8. Ponto 1 coberto por macrófitas.....	26
Figura 9. Ponto amostral 2.....	27
Figura 10. Ponto amostral 3.....	27
Figura 11. Draga tipo Petersen.....	28
Figura 12. Preparo das amostras para as análises químicas.....	29
Figura 13. Surgimento de colônias.....	31
Figura 14. Procedimento para análise de pH.....	32
Figura 15. Espectrofotômetro UV-Vis –Femto 700plus.....	32
Figura 16. Aquecimento das amostras em banho-maria.....	36
Figura 17. Separação das frações e redução do clorofórmio em rotadestilador.....	37
Figura 18. Coleta fevereiro/2011, ponto1 coberto por macrófitas.....	39

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Características do plantel pecuário do município de São Miguel do Iguaçu	23
Gráfico 2. Lavouras perenes do município de São Miguel do Iguaçu.....	23
Gráfico 3. Lavouras temporárias soja, milho e trigo do município de São Miguel do Iguaçu.....	24
Gráfico 4. Curva de calibração para determinação dos teores de fósforo total em amostras de sedimentos, coleta de outubro de 2010.....	33
Gráfico 5. Curva de calibração para determinação dos teores de fósforo total em amostras de sedimentos, coleta de fevereiro de 2011.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características dos pontos de amostragem no Rio Ocoy – tributário do Lago de Itaipu no município de São Miguel do Iguaçu - PR.....	25
Tabela 2. Resultado das análises <i>in loco</i> tais como a transparência, oxigênio dissolvido e temperatura do ar e água.....	38
Tabela 3. Resultado das análises de pH, coletado nos três pontos de amostragem	39
Tabela 4. Resultado das análises de fosfato total (P_T), coletado nos três pontos de amostragem.....	40
Tabela 5. Resultado das análises de carbono orgânico total (COT) e matéria orgânica (MO).....	40
Tabela 6. Resultado das análises de cafeína em sedimento.....	42
Tabela 7. Resultado das análises de coliformes e bactérias totais.....	42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	09
2. OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
3.1 SEDIMENTO DE ÁGUA DOCE.....	12
3.2 BIOINDICADORES DA QUALIDADE DA ÁGUA.....	12
3.3 FÁRMACOS EM SEDIMENTOS.....	13
3.3.1 Cafeína.....	16
3.4 ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS.....	16
3.5 PARAMETROS FÍSICO-QUÍMICOS.....	18
3.5.1 Potencial Hidrogeniônico (pH).....	18
3.5.2 Fosfato Total (P_T).....	18
3.5.3 Carbono Orgânico Total (COT) e Matéria Orgânica (MO).....	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL.....	20
4.2 USO E OCUPAÇÃO DO SOLO.....	22
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA.....	24
4.3.1 Caracterização do Ponto Amostral 1.....	26
4.3.2 Caracterização do Ponto Amostral 2.....	27
4.3.3 Caracterização do Ponto Amostral 3.....	27
4.4 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS.....	28
4.5 DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS.....	29
4.5.1 Metodologia para Determinação de Microrganismos.....	29
4.6 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS.....	31
4.6.1 Metodologia para Determinação de pH.....	31
4.6.2 Metodologia para Determinação de Fosfato Total (P_T).....	32
4.6.3 Metodologia para Determinação de Carbono Orgânico Total (COT) e Matéria Orgânica (MO).....	35
4.6.4 Metodologia para Determinação de Cafeína.....	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 POTENCIAL HIDROGENIÔCO (pH)	39
5.2 FOSFATO TOTAL (P_T)	40

5.3 CARBONO ORGANICO TOTAL(COT) E MATÉRIA ORGANICA (MO)	40
5.4 CAFEÍNA.....	41
5.5 MICROORGANISMOS NO SEDIMENTO.....	42
6. CONSIDERAÇÕES.....	43
REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

A saúde ecológica de rios é atualmente um assunto de crescente e fundamental importância no manejo de recursos hídricos em todo o mundo. Conforme Karr (1999), a sociedade é grandemente dependente dos seus rios. No entanto, ao longo do século passado a atividade humana alterou drasticamente estes ecossistemas, ameaçando a sua qualidade.

A água além de ser um dos mais importantes fatores da preservação da vida, está em vias de se tornar escassa no mundo, perdendo a condição de potabilidade devido ao despejo de rejeitos industriais urbanos e várias outras atividades humanas, causando assim sua contaminação (OLIVEIRA, 2001).

Para a caracterização da qualidade água dos rios uma forma é por meio de bioindicadores. Pesquisas com bioindicadores são cada vez mais freqüentes para determinar a abundância, a biodisponibilidade de contaminantes e seus efeitos nocivos ao ambiente (MAIA *et al.*, 2001 *apud* CHAGAS, 2008 p 13).

Outro foco de investigação para caracterizar o ambiente aquático é o sedimento. Este se encontra presente no fundo dos rios, o qual deriva da erosão das margens e dos processos de erosão nas bacias hidrográficas. A deposição de sedimento erodido das margens ou proveniente da erosão do solo nas bacias hidrográficas ocorre nas diversas regiões dos rios, especialmente nas áreas de várzea, em remansos e zonas de baixa velocidade (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

Um fator de importância na avaliação do ambiente hídrico são os parâmetros físico-químicos, pois são de grande importância para conhecer o nível de eutrofização do local e estes estando em grande quantidade mostram que o ambiente é poluído. E quando esses fatores tais como mudança de pH e condições de anoxia se alteram, o sedimento pode se tornar uma fonte de substâncias tóxicas para a coluna d'água, causando assim uma alteração geral nas condições do sistema em estudo (DORNFELD, 2006).

O estudo dos compostos presentes no sedimento até o século passado, tinha como foco de investigação os poluentes orgânicos prioritários convencionais, com características tóxicas e carcinogênicas, tais como os defensivos agrícolas, os compostos derivados do petróleo (hidrocarbonetos petrogênicos, principalmente

hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – HPAs) e subprodutos de processos industriais, tais como PCBs, dioxinas e furanos (KALW, 2011).

Mas com o desenvolvimento e aperfeiçoamento de novas técnicas analíticas identificou-se a presença, em matrizes ambientais, de outros compostos orgânicos, que são atualmente chamados de “Contaminantes Emergentes”, onde entram os fármacos, sendo que estes estão se mostrando de grande relevância, pois o conhecimento sobre o impacto ambiental gerado pela disposição direta ou indireta no meio ambiente é ainda bastante restrito, por este motivo os estudos relacionados à contaminação por fármacos estão ganhando interesse cada vez mais por pesquisadores e cientistas (BARCELÓ, 2008).

Neste contexto, o presente estudo teve como finalidade diagnosticar a presença de contaminantes presentes no sedimento do Rio Ocoy – tributário do Lago de Itaipu por meio de análises de contaminação do fármaco cafeína em sedimento juntamente com as análises de parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar microorganismos como bioindicadores ambientais na avaliação da qualidade de sedimentos do sistema aquático e detectar e quantificar cafeína no sedimento da foz do Rio Ocoy, tributário do Lago de Itaipu.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Levantamento do uso e ocupação do solo
- Identificar e quantificar os microorganismos presentes nos sedimentos da foz em estudo;
- Determinação de parâmetros físico-químicos como pH, matéria orgânica, entre outros;
- Identificação de cafeína nas amostras ambientais;
- Quantificação de cafeína nas amostras ambientais;
- Comparar os resultados com as legislações internacionais para sedimentos;

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 SEDIMENTO DE ÁGUA DOCE

O sedimento presente nos rios é o substrato para uma vasta variedade de organismos que vivem dentro ou sobre ele, muitos economicamente importantes, e funciona também como depósito de descartes e sumidouro de larga variedade de contaminantes. “Contaminantes são transportados dos continentes para os oceanos em solução ou aderidos à matéria suspensa, podendo ser estocados temporariamente ou de modo permanente nos sedimentos de rios, lagos e águas costeiras” (JARDIM, 2004, p. 09).

O sedimento presente nas bacias hidrográficas origina-se da erosão das margens dos rios, e esta ocorrência se dá principalmente nas áreas de remansos e em locais de zonas de baixa velocidade (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

Pode-se sintetizar o conjunto de alterações produzidas pelo transporte dos sedimentos para ecossistemas aquáticos da seguinte forma: aumento da turbidez, acúmulo de metais pesados e substâncias tóxicas orgânicas em locais de alta sedimentação e interferência nos ciclos de vida de organismos aquáticos, pela modificação de substratos (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

A variedade de organismos e os contaminantes nos sedimentos variam substancialmente em função do local. “Por isso, a proteção da qualidade dos sedimentos é um componente do gerenciamento global da água” (BAIRD, 2002. p. 556).

3.2 BIOINDICADORES DA QUALIDADE DA ÁGUA

Segundo Melo e Azevedo (2008), em linhas gerais, a atividade metabólica desenvolvida pelos microorganismos exerce comprovada influência no intemperismo

de rochas, na formação e transformação de sedimentos do solo, na gênese e degradação de minerais e de combustíveis fósseis, entre outros.

Dessa forma, muitos microorganismos degradam compostos químicos e os efluentes domésticos, e por esse fato eles são conhecidos como bioindicadores de qualidade da água. Esses organismos apresentam alterações que possibilitam gerar informações sobre a qualidade do seu ambiente. Podem acumular substâncias em concentrações maiores do que as consideradas normais ou essenciais para o seu metabolismo corpóreo, reduzir ou aumentar o número populacional de sua espécie (FINGERMAN et al., 1998; MacFARLANE et al., 2000; HODKINSON; JACKSON, 2005), *apud* CHAGAS (2008) p 13.

Esses organismos respondem ao estresse de ambientes poluídos, modificando-se quimicamente, podendo romper processos celulares, afetando assim, processos fisiológicos e mudando seu comportamento (LIGNOT et al., 2000; MAIA et al., 2001; MARTIN-DIAZ et al., 2005) *apud* CHAGAS (2008) p 14. Também podem sofrer variações morfológicas e demográficas (MacFARLANE et al., 2000) *apud* CHAGAS (2008) p 14.

Nos métodos da bioindicação, o comportamento do bioindicador ante a um agente estressante e utilizado na avaliação da qualidade de uma dada área e do impacto da contaminação dos poluentes nesse ambiente (MARTIN-DIAZ et al., 2000; MAIA et al., 2001; AZEVEDO; CHASIN, 2003) *apud* CHAGAS (2008).

3.3 FÁRMACOS EM SEDIMENTOS

Toneladas de medicamentos são produzidos por ano e aplicados na medicina humana e veterinária, mas geralmente esses dados sobre a produção não são publicados na literatura (BILA e DEZOTTI, 2003).

Quando ingeridos, os fármacos são absorvidos pelo o organismo mas, no entanto uma quantidade significativa dessa substância acaba sendo excretada pela urina, fezes ou esterco animal, e por fim acaba sendo despejada muitas vezes sem o tratamento adequado em ambientes aquáticos (BILA e DEZOTTI, 2003).

Segundo Pedroso (2007):

O monitoramento de fármacos residuais no meio ambiente vem ganhando interesse, nos últimos anos, pois tem sido encontrados em efluentes de estação de tratamento de esgotos e águas naturais em concentrações na faixa de $\mu\text{g/l}$ e ng/l . A principal entrada desses produtos no meio ambiente resulta de suas aplicações em medicina humana e veterinária, que após a administração são parcialmente metabolizados e excretados (PEDROSO, Rosana Cristina Ribeiro, 2007, p. 01).

A razão pela qual eles podem ser micropoluentes é porque os fármacos são desenvolvidos com a intenção de desempenhar um efeito biológico, que segundo Pedroso (2007, p. 04), “são capazes de passar pelas membranas, e são persistentes, pois não são inativos antes de ter o efeito de cura”. Sendo assim, os fármacos possuem muitas propriedades necessárias para bioacumular e provocar efeitos no ecossistema aquático e terrestre.

A figura abaixo mostra o possível caminho percorrido pelos fármacos no ambiente.

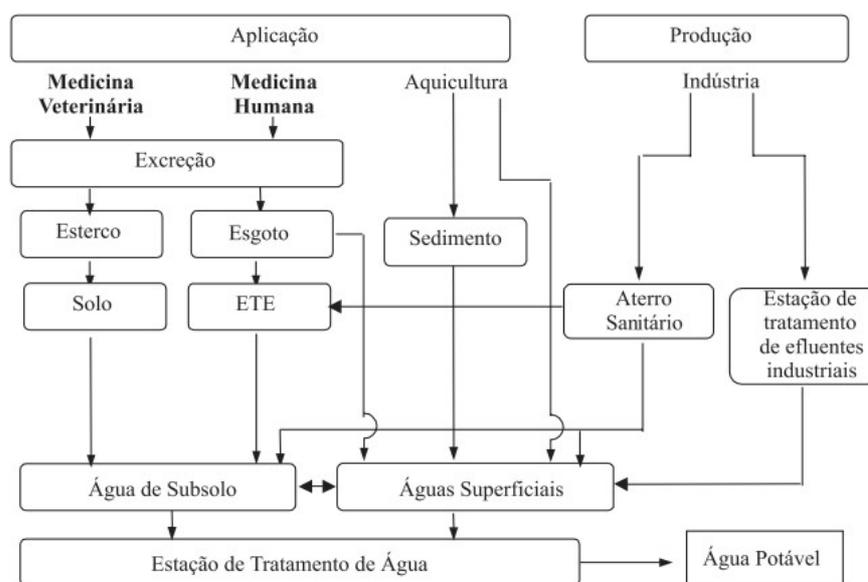


Figura 1: Possíveis rotas de fármacos no meio ambiente
FONTE: Bila e Dezotti, 2003

Em se tratando de fármacos tem-se o grupo dos antibióticos os quais são usados também como aditivos na alimentação de peixes na aquicultura. Sendo assim, podem contaminar o solo, águas de subsolo e superficiais.

Regitano & Leal (2010, p. 601) destacam que a ocorrência dos fármacos no meio ambiente pode acabar fazendo com que os microrganismos adquiram resistência aos agentes antibióticos, além de que isso poderá causar problemas de ordem toxicológica a alguns organismos vivos.

Segundo Regitano & Leal (2010):

Na Alemanha, resíduos de antibióticos do grupo das tetraciclina, β -lactâmicos e fluoroquinolonas foram detectados em poucas ou mesmo nenhuma das amostras de água analisadas, devido à forte sorção que as tetraciclina apresentam às partículas orgânicas e, ou, minerais do solo/sedimento e à baixa estabilidade dos β -lactâmicos no ambiente. Outra hipótese aventada para a ausência de tetraciclina foi a sua elevada taxa de fotodegradação, com valores de meia-vida de apenas algumas horas. A origem desses resíduos foi atribuída à disposição de esgoto tratado nos cursos d'água (REGITANO. Jussara Borges, LEAL. Rafael Marques Pereira, 2010, p.605).

Para realizar a detecção e quantificação de tetraciclina (antibiótico), cada literatura tem um método a ser usado.

Segundo Denobile & Nascimento (2004):

As tetraciclina apresentam forte absorção UV, em torno de 270 e 360 nm em soluções ácidas e neutras, portanto o método de detecção mais convencional para sua determinação é a CLAE acoplada ao detector UV ou detector de arranjo de diodos (DAD), que permite análise em diferentes comprimentos de onda simultaneamente (DENOBILO. Michela, NASCIMENTO. Elizabeth de Souza, 2004, p. 211).

Outra possibilidade para capturar antibióticos no meio ambiente é desenvolver anticorpos que segundo Freire, Freire e Berbara (2004):

Nas últimas décadas, diversos pesquisadores em todo mundo têm desenvolvido experimentos acerca da possibilidade de se desenvolver anticorpos de galinhas poedeiras (IgY) para capturar micromoléculas, tais como antibióticos, pesticidas, herbicidas e metabólitos secundários característicos de animais e vegetais (FREIRE. Ronald Bastos, FREIRE. Márcia de Fátima Inácio, BERBARA. Ricardo Louro, 2004, p.1069).

Atualmente há poucos estudos relacionados sobre a contaminação de fármacos em sedimentos, estes ainda são bastante restritos, mas como foi citado acima há vários estudos acerca de possibilidade de desenvolver novas pesquisas para detectar antibióticos bem como outros fármacos no meio ambiente, sendo assim será possível verificar o grau de contaminação dos ambientes, para que seja discutido e avaliado o grau desta poluição.

3.3.1 Cafeína

A cafeína é um alcalóide, cuja estrutura contém um esqueleto de purina (Figura 2). A cafeína na forma de fármaco é consumida por uma pequena parcela da população, sendo umas das formas os antigripais (DE MARIA e MOREIRA, 2007).

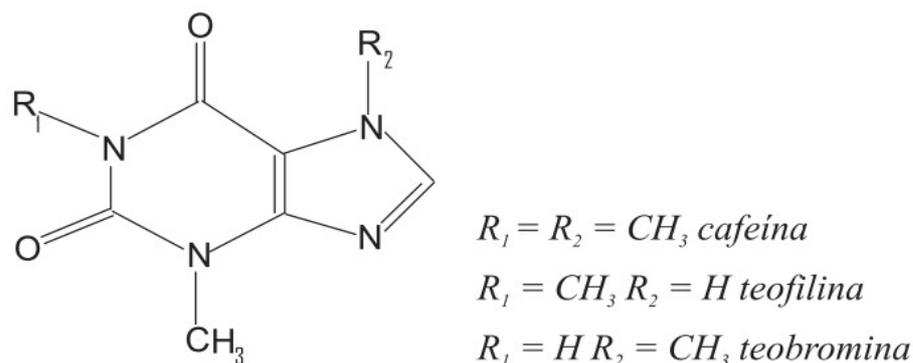


Figura 2: Estrutura química da cafeína e de outras metilxantinas
FONTE: De Maria e Moreira, 2007

Segundo de Maria e Moreira (2007):

A cafeína é um dos alcalóides com atividade biológica mais ingeridos no planeta. Apresenta ação farmacológica variada provocando, dentre outros efeitos, alterações no sistema nervoso central, sistema cardiovascular e homeostase de cálcio (DE MARIA, Carlos A. B. MOREIRA, Ricardo F. A. 2007, p. 99)

A cafeína pode ser determinada por vários métodos, a todos eles há necessidade de uma extração e purificação iniciais. Os métodos espectrofotométricos, baseados na absorção característica da cafeína a 274 nm, são os mais recomendados na rotina, além de mais específicos que os métodos gravimétricos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 1985, p. 189)

3.4 ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS

Atualmente, diversos setores da saúde, indústrias, áreas de meio ambiente, e vários outros setores, utilizam resultados de análises gerados em laboratórios químicos para a tomada de decisões, que segundo Chui, Zucchini e Lichtig (2001):

Com base nestes resultados, aceitam-se ou rejeitam-se matérias primas, diferenciam-se a performance de fornecedores, processos produtivos são modificados, atua-se sobre a saúde das pessoas e dos animais. Deste modo, os resultados das análises devem ser “bons”, ou melhor, devem apresentar “qualidade aceitável” em função dos objetivos requeridos. (CHUI. Queenie S, H; ZUCCHINI. Ricardo; LICHTIG. Jaim, 2001, p. 374).

Os métodos espectroscópicos baseiam-se na absorção e emissão de radiação eletromagnética por muitas moléculas, quando os seus elétrons se movimentam entre níveis energéticos (GORDON, 1995; REED et al, 1998). A espectrofotometria baseia-se na absorção da radiação nos comprimentos de onda entre o ultravioleta e o infravermelho (OKUMURA, CAVALHEIRO e NÓBREGA, 2004).

O espectrofotometro é um aparelho que faz passar um feixe de luz monocromática através de uma solução (Figura 3), e mede a quantidade de luz que foi absorvida por essa solução (GORDON, 1995; REED et al, 1998).

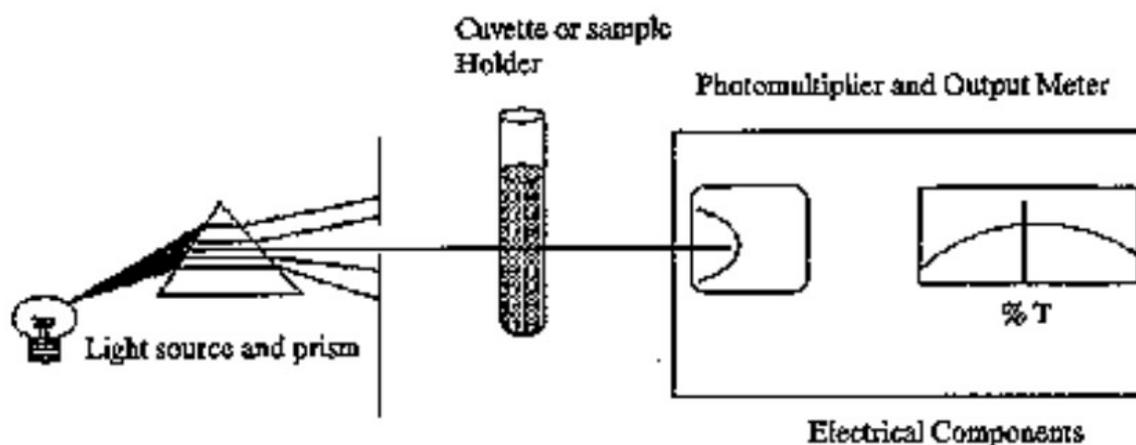


Figura 3: Funcionamento do aparelho espectrofotometro
FONTE: Gordon, 1995; Reed et al, 1998.

As medidas espectrofotométricas são realizadas em cubetas de quartzo de 1 cm e velocidade de varredura de $8,3 \text{ nm s}^{-1}$ (“middle”), observando-se a estabilidade das soluções (PASCHOAL et al, 2003)

3.5 PARAMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

3.5.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

O conceito de pH foi introduzido por Sorensen em 1909, com o intuito de quantificar os valores de acidez e basicidade de uma solução (FIURUCCI, SOARES e CAVALHEIRO, 2001)

O pH juntamente com outros parâmetros pode fornecer indícios do grau de poluição dos ecossistemas, por isso é um fator importante no campo do saneamento ambiental. O pH pode influenciar em diversos equilíbrios químicos, precipitando ou solubilizando nutrientes (BELÓ, 2008; QUÍMICA E SOCIEDADE, 2009).

Este parâmetro é indicador das características ácidas ou básicas de fontes antrópicas, como por exemplo, o lançamento de esgoto. Quando o pH de uma solução é inferior a 7 ela é considerada uma solução ácida e quando seu pH é superior a 7 a solução é considerada alcalina e quando o pH de uma solução é igual a 7 esta é considerada neutra (VON SPERLING, 1996; VIANNA, 1994).

3.5.2 Fosfato Total (P_T)

O fósforo que se encontra presente ou até mesmo o que está sendo lançado para os corpos hídricos por meio de fontes naturais ou antrópicas pode ser de origem orgânica bem como inorgânica (BAIRD, 2002).

O alto índice de concentração de fósforo em ambientes aquáticos gera um local eutrofizado apresentando uma elevada proliferação de fitoplâncton, com conseqüente incremento na produção de matéria orgânica e isso faz com que ocorra alterações na qualidade da água para consumo humano e uso recreacional (BEM, 2009; SILVA *et al.*, 2003).

O fósforo pode ser encontrado também em sedimentos, sendo este oriundo da rocha da bacia de drenagem ou deposição através da coluna d'água por meio de processos físicos, químicos ou até mesmo biológicos (BEM, 2009).

A forma mais utilizada do fósforo é como fertilizante, o chamado fertilizante a base de NPK, o fósforo é um dos principais componentes utilizados neste fertilizante (SILVA *et al.*, 2003).

3.5.3 Carbono Orgânico Total (COT) e Matéria Orgânica (MO)

A importância da determinação de matéria orgânica no ambiente reside no fato de que a interpretação da ocorrência representa efetiva contribuição sobre origem, natureza e destino final dessa matéria no ambiente considerado. Assim, por exemplo, a matéria orgânica presente em águas subterrâneas pode ser nociva à qualidade dessas águas, enquanto que quando transportada pelos rios ou presente em águas estuarinas é de importância vital para a cadeia alimentar (BELÓ, 2008).

Para os solos esse parâmetro tem importância pedológica no que diz respeito à fertilidade química desses ambientes, enquanto que em sedimentos é indicativa dos processos geoquímicos associados ao ambiente geológico considerado (BELÓ, 2008).

A quantificação do C tem sido realizada empregando-se métodos que podem determinar ou a forma total do C do solo (CT) ou a forma orgânica do C (CO). Esses métodos vêm sendo modificados e adaptados à rotina dos laboratórios de análises de solo (GATTO, 2009).

O conteúdo de carbono orgânico nos sedimentos superficiais depende de uma série de fatores, sendo eles a características sedimentar, a produtividade da coluna d'água, a taxa de degradação microbiana, além das condições oceanográficas locais (BARCELLOS e FURTADO, 1999).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LOCALIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO LOCAL

O reservatório de Itaipu, formado em outubro de 1982, localiza-se na divisa Brasil-Paraguai, entre os paralelos de 24°05' e 25°33' de latitude Sul e entre os meridianos 54°00 e 54°37' de longitude Oeste (Grw). Apresenta uma superfície de 1350 Km² em sua quota média de operação (220m) e 1460 Km² na quota máxima (223m). Possui extensão de 151 Km e está entre os Municípios de Foz do Iguaçu e Guaíra (BARTH, 2007).

O volume médio do reservatório é de 20 bilhões de m³, com profundidade média de 21,5 m, tempo de residência da água de 40 dias e a velocidade média superficial de 0,6 m s⁻¹. Foi realizada a plantação da mata ciliar às margens do lago com mais de 1 milhão de mudas, formada por grupos de árvores nativas de rápido crescimento (QUINÁIA *et. al.*, 2010).

O Rio Ocoy é tributário do Lago de Itaipu situado no Oeste do Estado do Paraná é um Rio classe 2 de acordo com a RESOLUÇÃO CONAMA 357/05 e pertence a Bacia do Paraná III, com uma extensão de 27.500 m e com 11 afluentes totalizando 47.200m (CAVALHEIRO, 2010).

A bacia hidrográfica do Rio Paraná III (Figura 4 e 5), possui uma área de 8.000 km², onde estão localizados 29 municípios com aproximadamente 1 milhão de habitantes (PIRES e SILVA, 2011).

BACIA DO PARANÁ III - DIVISÃO GEOPOLÍTICA

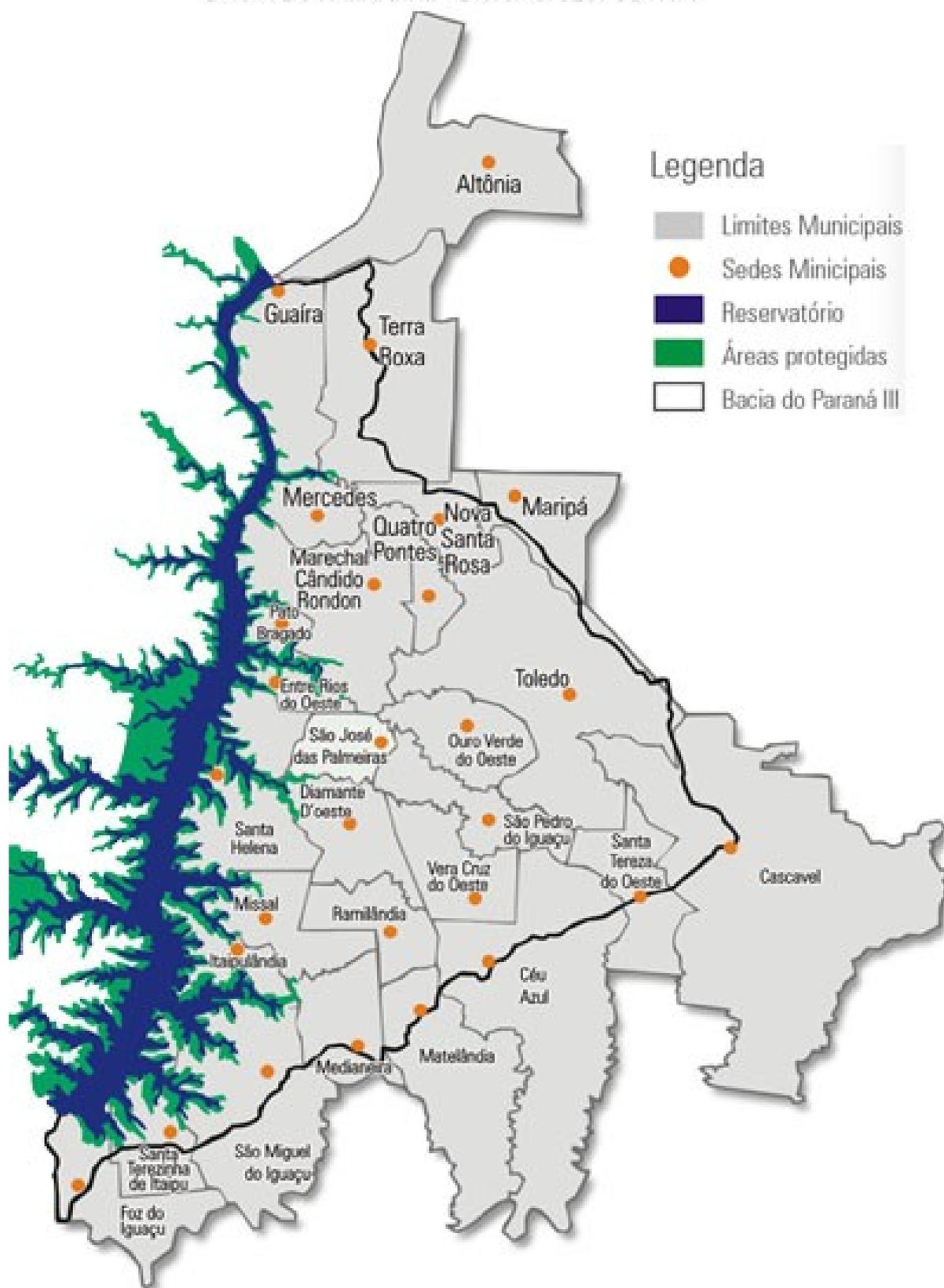


Figura 4: Bacia do Paraná III, divisão Geopolítica
 FONTE: O Portal do Brasil (2011)

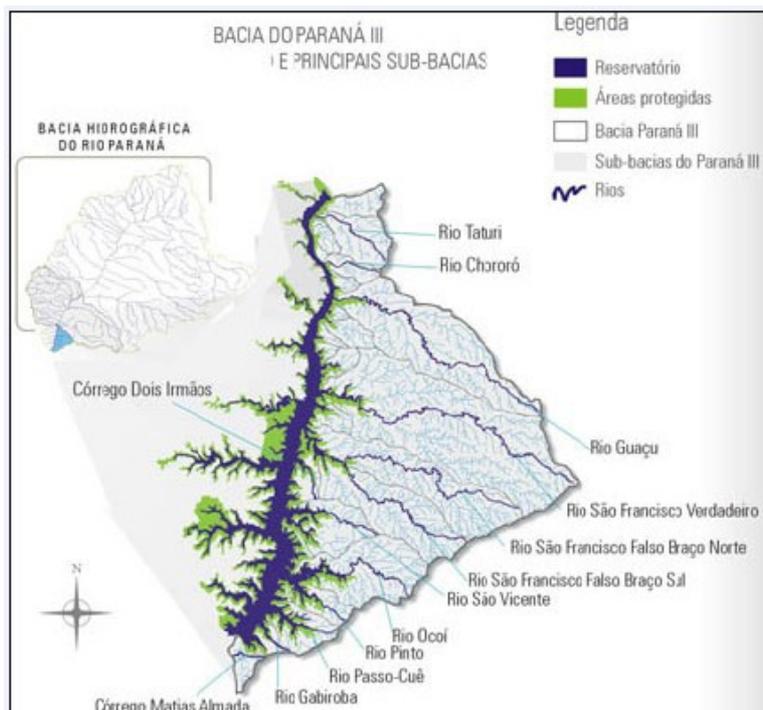


Figura 5: Bacia do Paraná III e principais sub-bacias.
FONTE: Itaipu Binacional (2009).

4.2 USO E OCUPAÇÃO DO SOLO

Segundo Bem 2006, a região oeste do Paraná se caracteriza principalmente pela intensa atividade agrícola e agropecuária. Com pequenas variações de culturas vegetais e espécies animais (Gráfico 1). Nas lavouras o cultivo de milho, soja e trigo é o mais encontrado sendo que as demais culturas não possuem grandes áreas de cultivo (Gráfico 2).

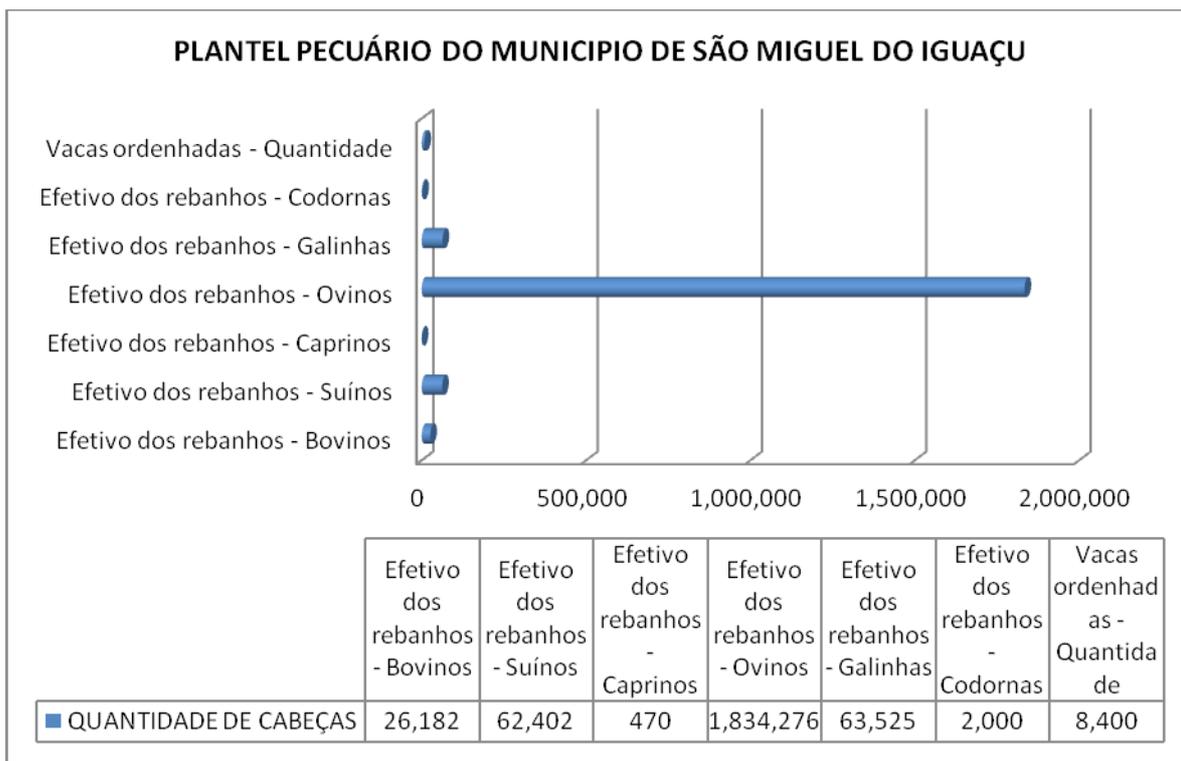


Gráfico 1: Características do plantel pecuário do município de São Miguel do Iguaçu.
FONTE: Produção da pecuária municipal de São Miguel do Iguaçu (IBGE, 2009).

No gráfico a seguir mostra-se a produção de lavouras perenes no município de São Miguel do Iguaçu.

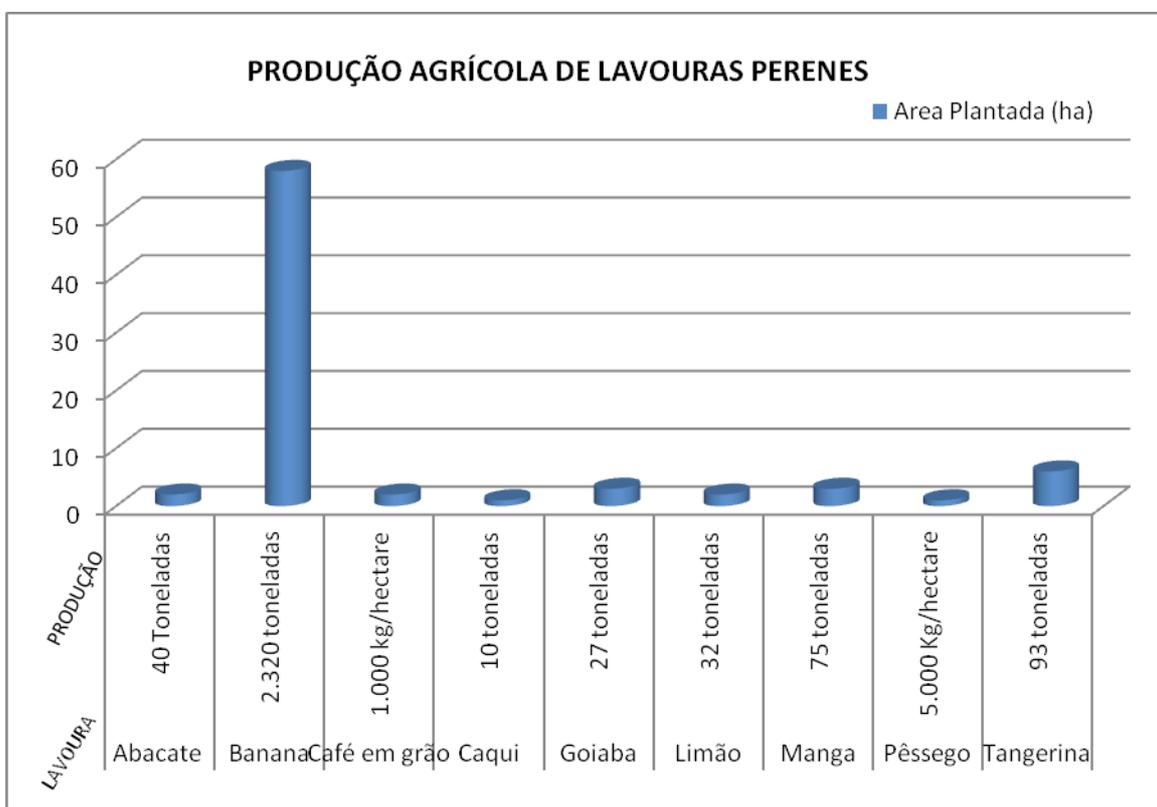


Gráfico 2: Lavouras perenes do município de São Miguel do Iguaçu

FONTE: Produção da pecuária municipal de São Miguel do Iguaçu (IBGE, 2009).

O gráfico 3 mostra a produção das culturas da soja, milho e trigo as quais são temporárias no município.

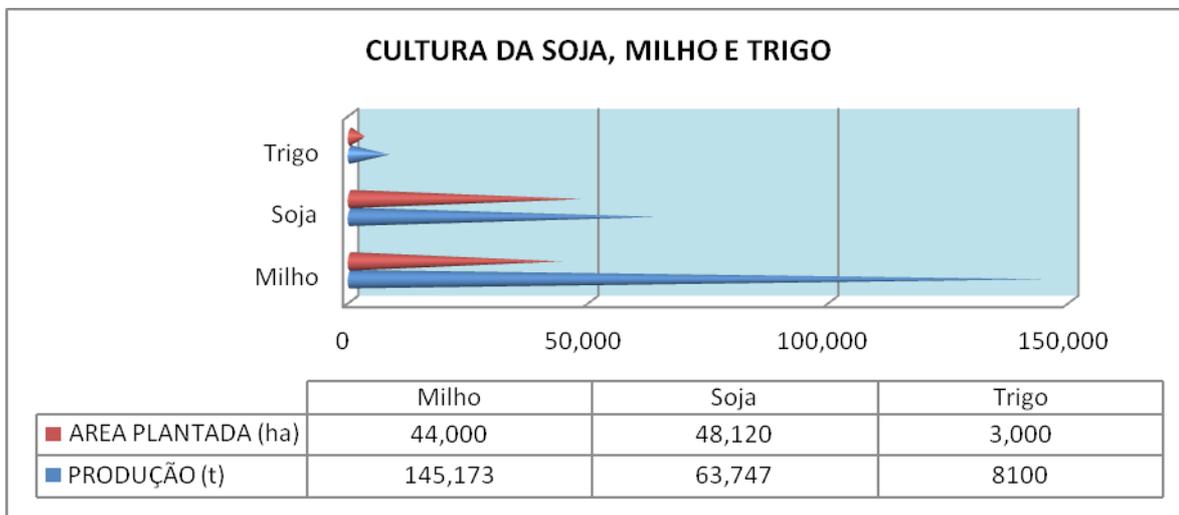


Gráfico 3: Lavouras temporárias soja, milho e trigo do município de São Miguel do Iguaçu
FONTE: Produção da pecuária municipal de São Miguel do Iguaçu (IBGE, 2009).

Segundo os dados obtidos no IBGE (2009), o município de São Miguel do Iguaçu conta com um plantel de 1.997.725 cabeças de animais domésticos e uma área plantada de 96.638 hectares de lavoura perene e também temporária.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA

Este estudo foi realizado na foz do rio Ocoy tributário do Lago de Itaipu no município de São Miguel do Iguaçu-PR (S.M.I).

As amostras de sedimento foram coletadas nos meses de outubro de 2010 e fevereiro de 2011 em três pontos amostrais (P1, P2 e P3) distribuídos ao longo de 6 km, a montante da Foz do Rio Ocoy. Os pontos distanciam-se em aproximadamente 2 Km, sendo P1 o mais afastado da Foz.

Para medir a transparência da coluna d'água, utilizou-se o disco de Secchi. Este disco possui dois quadrantes pintados de preto e dois de branco. Segundo a CMB Consultoria: Mineração e Meio Ambiente (2011), em corpos com águas claras a profundidade do disco é mais fiel a realidade, sendo que nestas condições tem

pouca dispersão da radiação, conseqüentemente esta radiação refletida a partir da superfície do disco é em grande parte captada pela pessoa que esta observando. Mas em contrapartida, em corpos hídricos que possuem altas concentrações de compostos dissolvidos e também particulados, ocorre maior dispersão da radiação, na figura 6 pode-se visualizar o procedimento utilizado para observar a transparência dos corpos d'água.

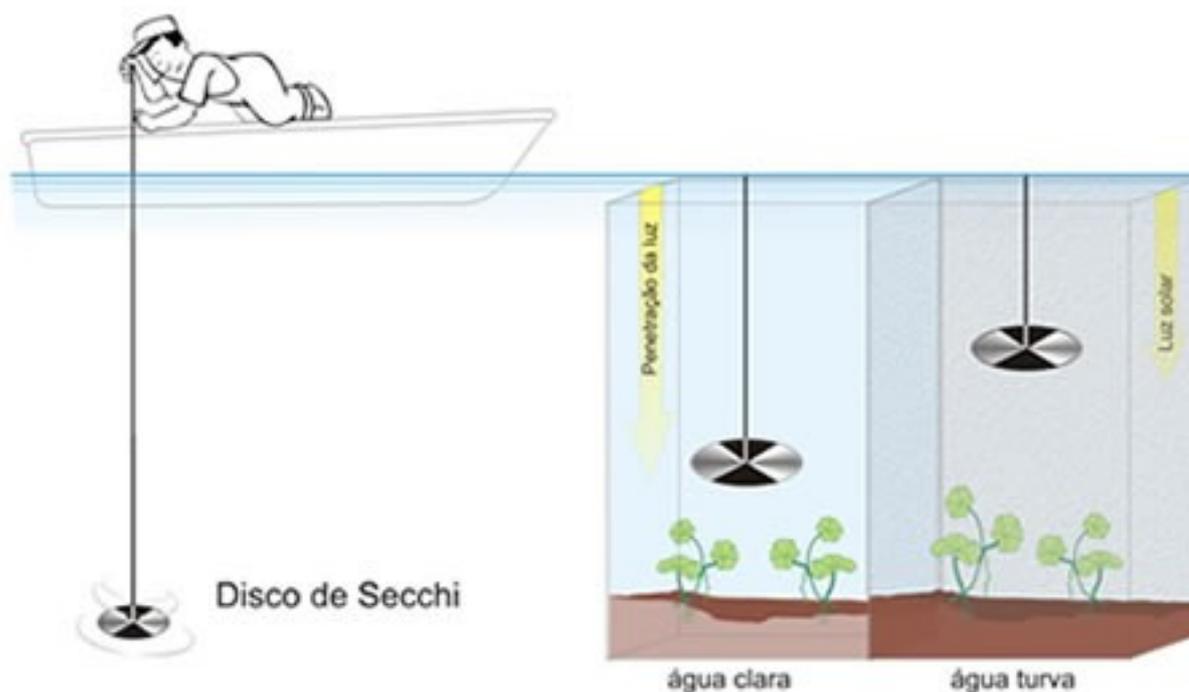


Figura 6: Ilustração da utilização do disco de Secchi em corpos hídricos.
 FONTE: CMB CONSULTORIA: Mineração e Meio Ambiente (2011).

Tabela 1 – Características dos pontos de amostragem no Rio Ocoy- Tributário do Lago de Itaipu no Município de São Miguel do Iguaçu-PR.			
PONTOS	LATITUDE e LONGITUDE	TRANSPARENCIA	H
1	25°13'34.27"S 54°13'12.96"O	1,38 m	225 m
2	25°13'53.21"S 54°13'23.77"O	1,57 m	225-226 m
3	25°13'54.30"S 54°13'23.15"O	1,67 m	219 m

H: Altitude.

As amostras foram coletadas nos seguintes pontos, cuja localização pode ser observada na figura 7.

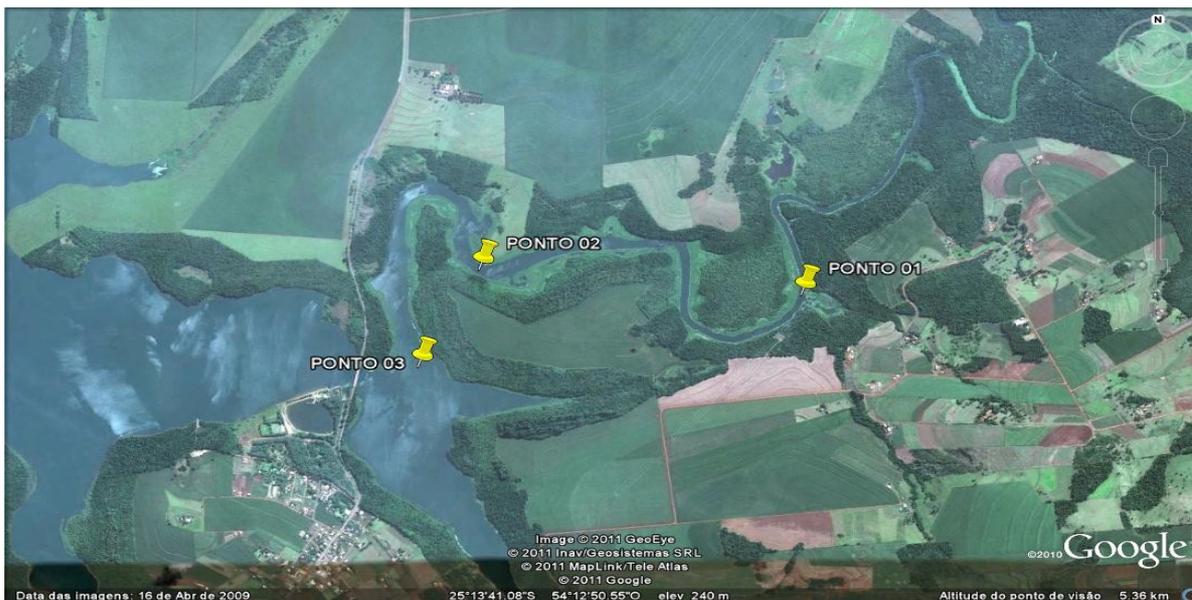


Figura 7: Localização dos pontos de coleta 1, 2 e 3 no Rio Ocoy no Município São Miguel do Iguaçu-PR.

FONTE: Google Earth (2011).

4.3.1 Caracterização do Ponto Amostral 1

O ponto amostral 1, está localizado na entrada de um pequeno rio chamado Rio Ipiranga que passa pela cidade de S.M.I. o qual recebe despejo de esgoto doméstico, este ponto fica próximo a rede de Itaipu (alta tensão). Caracterizava-se, na ocasião das coletas, por apresentar uma vasta proliferação de macrófitas (Figura 8), o ambiente neste local é lântico. É o ponto mais longe da foz do rio com aproximadamente 6 Km de distancia.



Figura 8: Ponto 1 coberto por macrófitas

FONTE: Prof. Drº Fernando Periotto.

4.3.2 Caracterização do Ponto Amostral 2

O ponto amostral 2 (Figura 9), é o ponto médio entre o Rio Ipiranga (Rio Ocoy) e a ponte. Distanciando-se aproximadamente 3 Km da foz do rio. Este ponto caracteriza-se por apresentar uma vasta proliferação de macrófitas como no ponto amostral 1 e também é um ambiente lântico.



Figura 9: Ponto amostral 2
FONTE: Prof. Drº Fernando Periotto.

4.3.3 Caracterização do Ponto Amostral 3

O ponto amostral 3 (Figura 3), é o mais próximo da ponte onde tem-se uma praia artificial e o Balneário de Ipiranga.



Figura 10: Ponto amostral 3
FONTE: Prof. Drº Fernando Periotto.

4.4 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

As coletas das amostras de sedimentos foram realizadas nos meses de outubro de 2010 e fevereiro de 2011. As amostras de sedimento foram coletadas com draga tipo Petersen (Figura 11) armazenadas em caixas de isopor e encaminhadas imediatamente ao laboratório da universidade e acondicionadas em geladeira.



Figura 11: Draga tipo Petersen
FONTE: Jardel da Silva

O preparo das amostras de sedimentos para as análises químicas (Figura 12) seguiu as etapas de secagem em temperatura ambiente por um período de 28 dias, desagregação homogênea das partículas, maceração em almofariz, separação das partículas em malha de Teflon de 500 μm e posterior armazenagem em frascos de vidro. Todo o material utilizado nas coletas e ensaios laboratoriais foram previamente descontaminados em banho de ácido nítrico 10% (v/v) por 24 horas.



Figura 12: Preparo das amostras para as análises químicas
FONTE: Jardel da Silva

Para as amostras microbiológicas, as amostras foram coletadas em réplicas (quatro) usando-se coletores previamente esterilizados. Foi coletado sedimento superficial (2 cm). As amostras foram acondicionadas em caixa térmica e transportadas ao laboratório.

4.5 DETERMINAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

No dia posterior à coleta, em laboratório, foram preparadas as amostras e enriquecidas em meio de cultura (peptonada de carne). Após, foi feito o isolamento e a quantificação dos microrganismos utilizando-se de métodos simples, de contagem padrão e do Número mais Provável (NMP).

4.5.1 Metodologia para Determinação de Microrganismos

A técnica utilizada foi a do Número Mais Provável (NMP), também conhecida como técnica dos tubos múltiplos.

Na técnica dos tubos múltiplos, diferentes alíquotas da amostra, obtidas por sucessivas diluições, foram respectivamente inoculadas em tubos de ensaio contendo o meio de cultura. O método consistiu em um teste presuntivo, e dois testes confirmativos para coliformes totais e fecais (este último, atualmente denominado de termotolerantes). Após a incubação, a partir do número de tubos positivos em cada série de diluição, estimou-se o número mais provável (NMP) de microrganismos em 100 mL da amostra (BRASIL, 2005).

Os materiais utilizados para executar esta análise foram: bico de Bunsen, frascos contendo as amostras, tubos de ensaio, tubos de Durhan, pipetas, meio de cultura LST, água peptonada tamponada a 0,1%, e pipetador.

Na primeira etapa, foram retirados assepticamente 25 mL de amostra e preparadas três diluições sucessivas (0,1; 0,01 e 0,001) e para cada diluição foram utilizados três tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST) com tubos de Durhan invertidos, os quais foram posteriormente incubados de 35 a 37°C por 24 horas. Os tubos que apresentaram formação de gás no Caldo LST, tiveram alíquotas semeadas em tubos contendo 5 mL de Caldo verde brilhante 2% (VB) contendo tubos de Durhan invertidos para o crescimento de coliformes totais.

Em uma segunda etapa, os tubos positivos para VB foram transferidos para tubos contendo caldo com *Escherichia coli* (E.C.), meio confirmatório para coliformes termotolerantes (E.C.) e deixados em estufa de 44,5 a 45°C durante 24 horas. A positividade do teste foi observada pela produção de gás no interior dos tubos de Durhan.

Os resultados foram analisados em tabela do Número Mais Provável (NMP). Dos tubos positivos para o meio E.C. alíquotas foram semeadas em placas de Petri contendo meio de cultura ágar eosina azul de metileno (EMB) e posteriormente incubadas de 35 a 37°C por 24 horas.

Por fim, a caracterização dos coliformes termotolerantes foi evidenciada pelo crescimento de colônias com centros enegrecidos e brilho verde metálico (Figura 13).

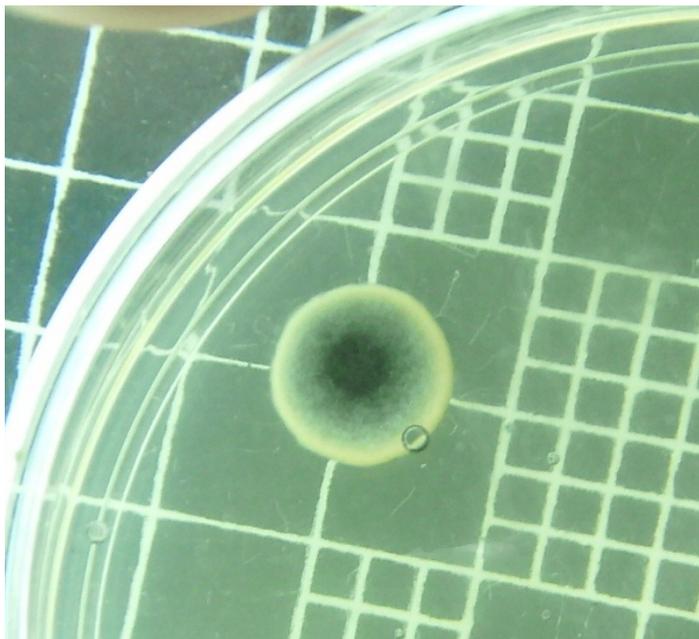


Figura 13: Surgimento de colônias.

4.6 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

4.6.1 Metodologia para Determinação de pH

O pH foi determinado pela estimativa da atividade dos íons H^+ na suspensão do sedimento, utilizando-se $CaCl_2 \ 10^{-2} \ mol.L^{-1}$ para manter o equilíbrio iônico da solução. A leitura foi efetuada utilizando-se um pH-metro *HI 76405* de precisão $\pm 0,01$, calibrado com as soluções tampão pH 7,0 e 4,0.

O pH das amostras de sedimentos foi determinado utilizando-se 8,000 g da amostra, em duplicata, que foram transferidas para um béquer de 50 mL que continha 20mL de cloreto de Cálcio ($CaCl_2$).

Em seguida utilizou-se o agitador magnético para homogeneizar a solução durante 15 minutos. Enquanto isso calibrava-se o pH-metro. Após os 15 min de agitação da solução, as leituras foram determinadas mergulhando o eletrodo de vidro e sensor de temperatura no sobrenadante e a leitura realizada (Figura 14).



Figura 14: Procedimento para análise de pH
FONTE: Jardel da Silva

4.6.2 Metodologia para Determinação de Fosfato Total (P_T)

O fosfato total (P_T) foi determinado utilizando uma solução extratora de Mehlich-¹ (H_2SO_4 0,025 mol.L⁻¹; HCl 0,05 mol.L⁻¹) e quantificação em espectrofotômetro UV-Vis – Femto 700 plus (Figura 15) no comprimento de onda de 660 nm, através da reação com o molibdato de amônia.



Figura 15: Espectrofotômetro UV-Vis – Femto 700 plus
FONTE: Jardel da Silva

Foram adicionados 10 mL da solução de Mehlich-1 em, aproximadamente, 1,000g de sedimento permanecendo em repouso por por 12 horas, após foram adicionados 5 mL de solução de molibdato de amônio $4,85 \text{ mol.L}^{-1}$, uma pitada de ácido ascórbico em pó e realizada a homogeneização. A leitura em UV-VIS foi realizada após 1 hora de repouso. A curva de calibração foi preparada a partir de uma solução padrão de fosfato de 100 ppm. A concentração de P_T nas amostras de sedimentos foi determinada a partir da curva de calibração. Os gráficos 4 e 5 apresentam as curvas de calibração obtidas na determinação do P_T na coleta de outubro de 2010 e fevereiro de 2011, respectivamente.

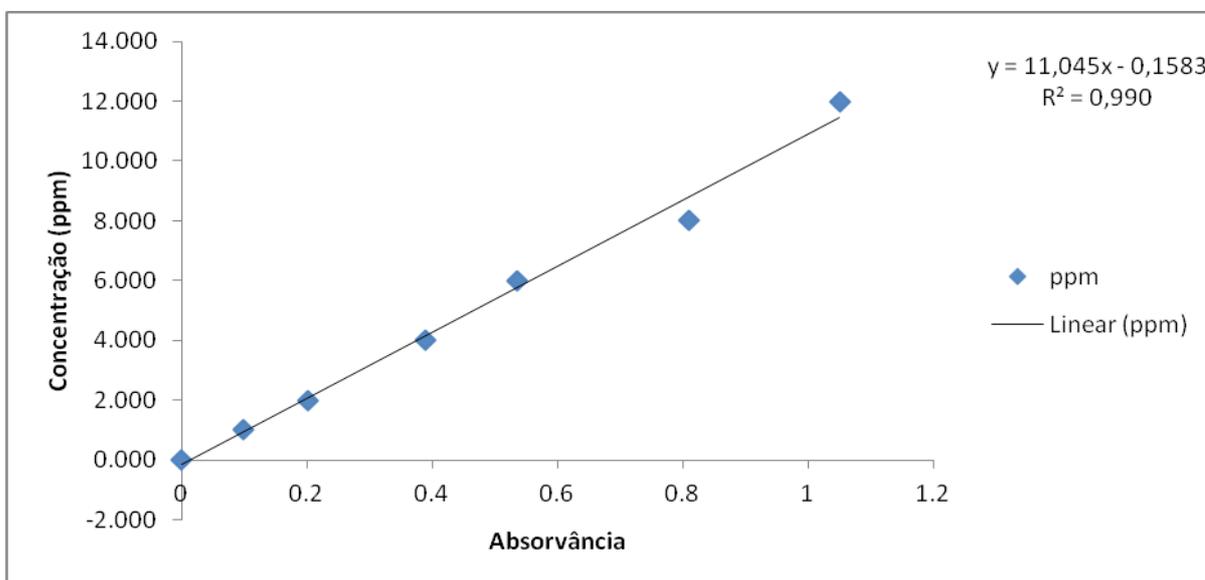


Gráfico 4: Curva de calibração para determinação dos teores de fósforo total em amostras de sedimentos, coleta de outubro de 2010.

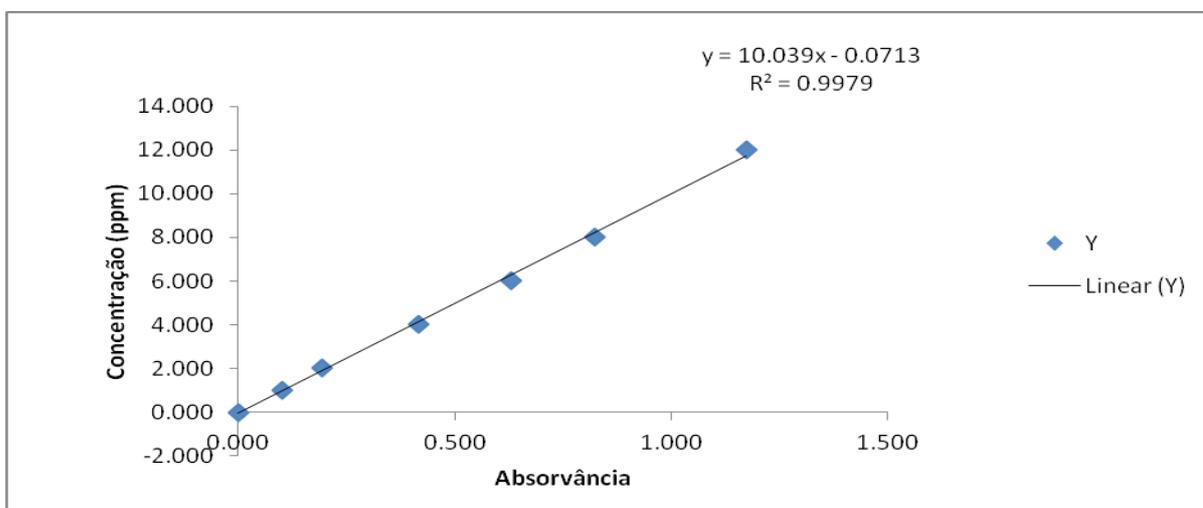


Gráfico 5: Curva de calibração para determinação dos teores de fósforo total em amostras de sedimento, coleta de fevereiro de 2011.

Para o preparo das soluções padrões para a curva de calibração os procedimentos foram os seguintes:

Em um balão volumétrico foram adicionados um pouco de água destilada e logo após adicionou-se 10mL de fosfato de sódio Anidro dibásico PA N_2HPO_4 1000 ppm.

Padrão de 20 ppm: em um balão volumétrico de 100mL diluía-se 2 mL da solução concentrada. Dessa diluição retirava-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica 1mL e acrescentava-se 10mL da solução extratora de Mehlich + 5mL de solução de molibdato de amônia + uma pitada de ácido Ascórbico em pó, em um tubo de ensaio. Em seguida agitou-se o tubo de ensaio manualmente e aguardou-se 30 minutos.

Padrão de 10 ppm: em um balão volumétrico de 100mL diluía-se 1mL a solução concentrada. Dessa diluição retirava-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica 1mL e acrescentava-se 10mL da solução extratora de Mehlich + 5mL de solução de molibdato de amônia + uma pitada de ácido Ascórbico em pó, em um tubo de ensaio. Em seguida agitou-se o tubo de ensaio manualmente e aguardou-se 30 minutos.

Padrão de 1 ppm: em um balão volumétrico de 100mL diluía-se 0,1mL a solução concentrada. Dessa diluição retirava-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica 1mL e acrescentava-se 10mL da solução extratora de Mehlich + 5mL de solução de molibdato de amônia + uma pitada de ácido Ascórbico em pó, em um tubo de ensaio. Em seguida agitou-se o tubo de ensaio manualmente e aguardou-se 30 minutos.

Padrão de 0,6 ppm: em um balão volumétrico de 100mL diluía-se 4 mL da solução padrão de 1ppm. Dessa diluição retirava-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica 1mL e acrescentava-se 10mL da solução extratora de Mehlich + 5mL de solução de molibdato de amônia + uma pitada de ácido Ascórbico em pó, em um tubo de ensaio. Em seguida agitou-se o tubo de ensaio manualmente e aguardou-se 30 minutos.

Padrão de 0,4 ppm: em um balão volumétrico de 100mL diluía-se 2 mL da solução padrão de 1ppm. Dessa diluição retirava-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica 1mL e acrescentava-se 10mL da solução extratora de Mehlich + 5mL de solução de molibdato de amônia + uma pitada de ácido Ascórbico em pó, em um

tubo de ensaio. Em seguida agitou-se o tubo de ensaio manualmente e aguardou-se 30 minutos.

Padrão de 0,2 ppm: em um balão volumétrico de 100mL diluía-se 1 mL da solução padrão de 1ppm. Dessa diluição retirava-se com o auxílio de uma pipeta volumétrica 1mL e acrescentava-se 10mL da solução extratora de Mehlich + 5mL de solução de molibdato de amônia + uma pitada de ácido Ascórbico em pó, em um tubo de ensaio. Em seguida agitou-se o tubo de ensaio manualmente e aguardou-se 30 minutos.

4.6.3 Metodologia para Determinação de Carbono Orgânico Total (COT) e Matéria Orgânica (MO).

O carbono orgânico total foi obtido através dos teores de matéria orgânica, essa determinada pela técnica de gravimetria (KIEHL, 1985). Este método tem sido utilizado para estimar quantitativamente a fração orgânica de solo e sedimentos, pois se baseia no pressuposto de que a matéria orgânica é constituída por 58% de carbono orgânico total (BELÓ, 2008).

As medidas foram feitas em duplicata, usando, aproximadamente, 1g de sedimento, que foi colocado em cadinhos de porcelana (previamente aferidos) com posterior aquecimento à 500°C na mufla, por um período de 4 horas. Retirados da mufla e encaminhados para o dessecador para atingir a temperatura ambiente durante 30 minutos, os cadinhos foram retirados do dessecador e pesados em balança analítica e posteriormente feitos os devidos cálculos. A fração perdida na calcinação refere-se a matéria orgânica, com a divisão pelo fator de Van Bemmelen (1,724), foi obtido o COT.

4.6.4 Metodologia para Determinação de Cafeína.

A detecção e quantificação de cafeína podem ser realizadas por vários métodos, no entanto, em todos eles há a necessidade de uma extração e purificação inicial. Os métodos espectrofotométricos, baseados na absorção característica da cafeína a 274 nm, são os mais recomendados na rotina, além de mais específicos que os métodos gravimétricos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

Em, aproximadamente, 2 gramas de amostra de sedimento foram adicionados 4mL de ácido sulfúrico, foi realizada a homogeneização, para evitar a formação de grumos. Em seguida, a mistura foi aquecida em banho-maria por aproximadamente 15 minutos a uma temperatura de 50°C (Figura 16).



Figura 16: Aquecimento das amostras em banho-maria

O extrato foi filtrado em um filtro de 0,45 μm , com adição de 30 mL de água quente, e encaminhado para um béquer. Esse procedimento de extração foi realizado três vezes com a mesma amostra e no final os extratos foram acidulados com H_2SO_4 e encaminhados para um funil de separação de 250 mL. Após resfriamento, foram adicionados 30 mL de clorofórmio, foi provocada a agitação manual e após repouso as frações imiscíveis foram separadas. O volume da fração clorofórmica, a partir de balão de fundo chato, foi reduzido a cerca de 25mL com um

rotadestilador (Figura 17). Em seguida o extrato foi avolumado em um balão volumétrico de 500mL para posterior quantificação.



Figura 17: Separação das frações e redução do clorofórmio em rotadestilador
FONTE: Jardel da Silva

A análise instrumental foi realizada com um espectrofotômetro UV-Vis – (Femto 700 plus), no comprimento de onda de 274 nm.

A curva analítica foi construída a partir de um padrão de cafeína com 98% de pureza. Foram pesados em uma balança analítica 0,1001g do padrão de cafeína e diluído com água para balão volumétrico de 1000mL. Essa solução foi utilizada para construir a curva de calibração de 2, 4, 6, 8, 10 e 12 mg · L⁻¹. As análises foram realizadas em duplicata.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas análises *in loco* tais como a transparência, oxigênio dissolvido, temperatura do ar e água, os resultados são apresentados na Tabela 2.

O nível de turbidez dos rios está relacionado diretamente com a fotossíntese, sendo que quanto maior a turbidez do local menor será a penetração da luz nesse ambiente e assim prejudicará a fotossíntese. A turbidez pode ter origem antrópica como, por exemplo, despejos de esgotos domésticos e industriais, bem como pode ter origem da erosão causada pelas enxurradas das chuvas que acabam por desaguar nos ambientes hídricos (VON SPERLING, 1996)

Tabela 02 – Resultados das análise *in loco* tais como a transparência, oxigênio dissolvido, e temperatura do ar e água.

Parâmetros	PONTOS					
	Coleta de outubro/2010			Coleta de fevereiro/2011		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Transparência	1,38 m	1,57 m	1,67 m	N.d	1,57 m	2,50 m
Oxigênio Dissolvido	-	-	-	N.d	1,09 ppm	5,87 ppm
Temp. do Ar	-	-	-	N.d	38,5°C	34,0°C
Temp. da Água	-	-	-	N.d	29,6°C	30,3°C

N.d=Não determinado, local de coleta coberto por plantas aquáticas.

- = Não foi realizada a análise.

Os níveis de turbidez são elevados, provavelmente, associado a vasta proliferação de macrófitas que impossibilita a penetração da luz no corpo de água (Figura 18). Essa proliferação teve um aumento da primeira para a segunda coleta, onde não foi possível alcançar o P1 na segunda coleta realizada devido a cobertura total do rio nesta região.



Figura 18: Coleta fevereiro/2011, ponto 1 coberto por macrófitas
FONTE: Prof. Drº Fernando Periotto.

Em relação ao oxigênio dissolvido, o P2 está muito abaixo do ideal, sendo que o recomendado para água de rios é estar maior que 5,00 ppm (BRASIL, 2005), isso provavelmente ocorreu devido a vasta proliferação de macrófitas, as quais acabam por impossibilitar a penetração da luz no ambiente e faz com que a fotossíntese se prejudique e diminua a solubilidade dos gases (PIRES e SILVA, 2011).

5.1 POTENCIAL HIDROGENIÔNICO – pH

Os valores de pH, são relativamente homogêneos, a maior diferença ocorreu entre os pontos 1 e 3 da coleta de outubro/2010 (0,45 unidades de pH). O pH, apresentado na Tabela 3, mostra um sedimento levemente ácido.

Tabela 03 – Resultado das análises de pH, coletado nos três pontos de amostragem						
PONTOS AMOSTRAIS	Coleta de outubro/2010			Coleta de fevereiro/2011		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
PARÂMETRO						
pH	4,15	4,17	4,60	-	4,84	5,81

-- Não determinado, local de coleta coberto por plantas aquáticas

5.2 FOSFATO TOTAL (P_T)

Através da equação da reta foi possível determinar os valores da concentração de fosfato para cada ponto de amostragem. Os valores das concentrações foram convertidos de mg.L^{-1} para mg.Kg^{-1} em função da massa pesada de cada amostra.

Os teores de P_T encontrados (Tabela 4) em comparação com dados disponíveis no trabalho de Beló (2010), para o lago de Itaipu, em pontos próximos as praias artificiais, apontam que tais concentrações estão superiores, no entanto, os teores estão abaixo dos níveis considerados críticos de $2000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, segundo legislação CONAMA 344, de 25 de março de 2004.

Tabela 04 – Resultado das análises de fosfato total (P_T), coletado nos três pontos de amostragem

PONTOS AMOSTRAIS	Coleta de outubro/2010			Coleta de fevereiro/2011		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
PARÂMETRO P_T	175	269	304	--	190	172

-- Não determinado, local de coleta coberto por plantas aquáticas.

5.3 CARBONO ORGÂNICO TOTAL (COT) E MATÉRIA ORGÂNICA (MO)

O carbono orgânico total, foi obtido a partir do teor de matéria orgânica pelo método de *Kiehl*, dividindo-se os teores de matéria orgânica pelo fator de *Van Bemmelen* (1,724), estimando-se assim o COT. Na tabela seguir, apresenta-se as concentrações de COT (%) e MO (%) nas amostras de sedimentos.

Tabela 05 – Resultado das análises de Carbono Orgânico Total (COT) e Matéria Orgânica (MO)

PONTOS AMOSTRAIS	Coleta de outubro/2010			Coleta de fevereiro/2011		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
CO (%)	15,4	10,2	13,5	--	10,3	11,5
MO (%)	26,6	17,6	23,3	--	17,7	19,8

-- Não determinado, local de coleta coberto por plantas aquáticas.

Em todas as amostras mostrou-se que as concentrações de COT (%) acabaram excedendo os valores que são estabelecidos pela Resolução do CONAMA 344, de 25 de março de 2004 o qual é de 10% de carbono orgânico total (COT).

Os sedimentos com teores de MO acima de 10%, podem ser classificados como orgânicos. A introdução antropogênica pode estar relacionada com o uso e ocupação do solo, como a intensa atividade agropecuária e a urbanização (BONAI *et al.*, 2009). Os teores de CO variam de 10,2% à 15,4% e o sedimento pode ser classificado com orgânico.

Segundo Silva, Torrado e Junior 1999, a matéria orgânica (M.O) produz muitos benefícios, mas mesmo assim estudos no Brasil sobre MO é ainda incipiente. Isso se deve segundo o autor pelo fato da complexidade e a dificuldade em estudá-la e suas macromoléculas constituintes, ou seja, as substâncias húmicas.

5.4 CAFEÍNA

Existem vários estudos para determinar níveis de cafeína em água e efluentes (STUMPF, 1999; TERNES, 1999, 2002; ELLIS, 2006), mas muito poucos em sedimento (TERNES, 2002). Considerando-se a necessidade de avaliar os efeitos sobre a fauna aquática é importante o monitoramento destes compostos em sedimentos (BERETTA, 2009).

Os teores de cafeína apresentados na tabela 6 mostram um pequeno aumento nas amostras coletadas em fevereiro de 2011, quando comparados com a coleta de outubro de 2010. A concentração mais baixa foi no P3, na amostra coletada em outubro de 2010. Os resultados encontrados neste trabalho são semelhantes aos apresentados na literatura para ambientes aquáticos.

Os teores de cafeína tiveram uma dinâmica semelhante ao pH, logo, devido ao pequeno número de pontos estudados, as interpretações estatísticas precisam ser usadas com cautela.

PONTOS AMOSTRAIS	Coleta de outubro/2010			Coleta de fevereiro/2011		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Cafeína	1,46	1,16	0,77	--	1,73	1,46
pH	4,15	4,17	4,60	--	4,84	5,81

-- Não determinado, local de coleta coberto por plantas aquáticas.

5.5 MICROORGANISMOS NO SEDIMENTO

Em relação aos microrganismos no sedimento, a contagem de bactéria total indicou um número decrescente de organismos da nascente para a foz: $3,5 \cdot 10^3$, $2,4 \cdot 10^3$ e $1,6 \cdot 10^3$ UFC.g⁻¹ respectivamente. Para a contagem de coliformes totais e fecais obteve-se os valores em NMP de: 460 e 240 g⁻¹ respectivamente no ponto localizado na nascente. Em P₂ e P₃, já no reservatório, os resultados para coliformes totais e fecais foram semelhantes: 4.g⁻¹ e 3.g⁻¹. Os resultados podem ser visualizados na tabela a seguir:

PONTOS AMOSTRAIS	Coleta de fevereiro/2011		
	P1	P2	P3
Bactéria Total (UFC.g ⁻¹)	$3,5 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$	$1,6 \cdot 10^3$
Coliformes Totais (NMP/g ⁻¹)	460	4,00	4,00
Coliformes Fecais (NMP/g ⁻¹)	240	3,00	3,00

6 CONSIDERAÇÕES

Os parâmetros físico-químicos avaliados, bem como a concentração de fosfato total, tiveram valores superiores aos apresentados em outros estudos da região, mas não representam concentrações que podem ser apontadas como de risco para o ambiente, segundo a resolução CONAMA 344.

O pH e o carbono orgânico mostraram pequena variação espacial para os pontos estudados nas duas coletas, indicando um ambiente levemente ácido e orgânico.

Em relação ao fármaco cafeína, os teores encontrados mostraram uma dinâmica semelhante ao pH. Dados sobre a presença de fármacos no ambiente aquático no Brasil, especialmente nas regiões tropicais, são ainda escassos, enquanto que o consumo destes compostos sofre pouco controle e o descarte de drogas com validade vencida é indiscriminado, sendo assim é possível concluir que os produtos farmacêuticos poderão estar presentes na água para consumo humano bem como animal.

Houve contaminação bacteriana presente nos pontos, mas estes em valores reduzidos, mostrando-se mais evidente quando mais próxima da nascente, decrescendo em direção à foz do rio, indicando um potencial efeito de poluentes e contaminantes provenientes da bacia de contribuição deste rio.

Com relação à presença de coliformes, embora não se disponha de padrão de referência para quantificação dos mesmos em sedimentos, os valores podem ser considerados baixos. Todavia, como estes refletem poluição recente, possivelmente há entradas contínuas de resíduos de origem doméstica ou animal ao longo da área de contribuição, desde a nascente até sua foz.

REFERÊNCIAS

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2 ed. Porto Alegre, Bookman, 2002, 622p.

BARCELLOS, R. L., FURTADO, V.V. **Processo sedimentar atual e a distribuição de carbono e nitrogênio orgânicos no Canal de São Sebastião(SP) e plataforma Continental interna adjacente**. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil, 1999.

BARCELÓ, D. *et al.* **Aguas continentales – Gestion de recursos hídricos, tratamiento y calidad del agua**. Consejo superior de investigaciones científicas – Informes CSIC, 2008.

BARTH, Raphael M. **Estudo da capacidade de adsorção de fósforo em sedimentos da bacia do Rio Ocoí utilizando a isoterma de Langmur**. 2007. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso Superior de Tecnologia em Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2007.

BELÓ, A. **Diagnóstico da Concentração de Metais em Sedimentos**. Trabalho de Conclusão de Curso. Unicentro. Guarapuava – PR. p. 25. 2008

BELÓ, A. QUINÁIA, S. P. PLETSCH, A. L. **Caracterização de sedimento superficial do Rio Jordão na Região Centro-Sul do Estado do Paraná, Brasil**. *Ambi-Agua*, Taubaté, v. 5, n. 1, p. xx-xx, 2010.

BEM, C. C. **Determinação do estado de Eutrofização de um lago raso: Estudo de caso do Lago Barigui – Curitiba**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental. Universidade Federal do Paraná – Curitiba, 2009.

BERETTA, M.; PERELO, W.L.; OLIVEIRA, I. **Quantification and microbial toxicity testing of pharmaceuticals in tropical marine sediments, All Saints Bay, Bahia, Brazil**. III International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology Lisboa, Portugal, 2009

BILA, D. M. & DEZOTTI, M. **Fármacos no meio ambiente**. *Química Nova*, 26:523-530, 2003.

BONAI N.C; SOUZA - FRANCO, G. M; FOGOLARI, O; MOCELIN, D. J. C; DAL MAGRO, J; **Distribution of metals in the sediment of the Itá Reservoir, Brazil.** Acta Limnol. Bras. vol. 21, no. 2, p. 245-250. 2009.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. **RESOLUÇÃO Nº 344 DE 25 DE MARÇO DE 2004.** Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml>>. Acesso em 21 de maio de 2011.

BRASIL. Ministérios do Meio Ambiente - Conselho Nacional do Meio ambiente. **Resolução CONAMA n. 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 condições e padrões de lançamento de efluentes e dá outras providências. Disponível em: ><http://www.mma.gov.br/port/Conama>>. Acesso em: 12 de abril de 2011.

CAVALHEIRO, D. B. **Microalgas como Bioindicadores na foz do Rio coy – Tributário do Lago de Itaipu – PR.** Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2010.

CHAGAS, G. C. **Avaliação do Potencial Bioindicador de Trichodactylus Fluviatilis (Latreille, 1828) (Crustacea: Decapoda: Trichodactylidae) na Bacia do Rio Corumbataí (S/P).** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Rio Claro, 2008.

CHUI, Q. S. H.; ZUCCHINI, R. R.; LICHTIG, J. **Qualidade de medições em química analítica. Estudo de caso: determinação de cádmio por espectrofotometria de absorção atômica com chama.** Química Nova, 24: 374-380, 2001.

CMB CONSULTORIA: Mineração e Meio Ambiente. Disponível em : <http://www.cmbconsultoria.com.br/servicos/monitoramento/ecovillas/fevereiro-2008/>>. Acesso em 25 de outubro de 2011.

CUNHA, M. A. **Métodos de detecção de microrganismos indicadores.** Saúde & Ambiente em Revista, Duque de Caxias, 1:09-13, 2006.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. **Cafeína: revisão sobre métodos de análise.** Química Nova, 30:99-105, 2007.

DENOBILO, M.; NASCIMENTO, E. de S. **Validação de método para determinação de resíduos dos antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina e**

doxiciclina, em leite, por cromatografia líquida de alta eficiência. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 40:209-218, 2004.

DORNFELD, C. B. **Utilização de Chironomus SP (Diptera, Chironomidae) para avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais.** 2006. 211 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.

ELLIS, J. B.; **Environmental Pollution, In Press**, 2006.

FIORUCCI, A. R.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. **O Conceito de Solução Tampão.** Quimica Nova na Escola, 13: 18-21, 2001.

FREIRE, R. B.; FREIRE, M. de F. I.; BERBARA, R. L. **Elisa de captura com IgY para quantificação de acetato de lupeol em Vernonia scorpioides lam. Pers (asteraceae).** Ciência Rural, Santa Maria, 34:1069-1074, 2004.

GATTO, A.; BARROS, N. F.; FERREIRA, R. N.; SILVA, I. R.; MENDONÇA, E. S. **Comparação de Métodos de Determinação do Carbono Orgânico em Solos Cultivados com Eucalipto.** Parte da Tese do primeiro autor apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Solos e Nutrição de Plantas da Universidade Federal de Viçosa – UFV 2009.

GORDON, D. B. **Spectroscopic Techniques**.pp. 324-344 in Principles and Techniques in Practical Biochemistry. K. Wilson & J. Walker Eds., Cambridge University Press, Cambridge, 1995.

IBGE. **Produção da atividade agrícola e pecuária municipal de São Miguel do Iguaçu.** 2009. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 13 outubro de 2011.

INFORMATIVO CULTIVANDO ÁGUA BOA, **Itaipu Binacional**, Edição 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** 3. ed. São Paulo: O Instituto, 1985.

JARDIM, G. M. **Estudos ecotoxicológicos da água e do sedimento do rio Corumbataí, SP.** 2004. 127 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

KALW, M. **Diagnóstico da concentração de HPAS e íons metálicos em sedimentos do Lago de Itaipu-PR.** Dissertação de Mestrado, 2011.

KARR, J.R. **Defining and measuring river health.** *Freshwater Biology, England*, V.41, p.221-234, 1999.

MELO, Itamar Soares de; AZEVEDO, João Lucio de. **Microbiologia Ambiental.** 2ª. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio ambiente, 2008. p 50.

O PORTAL DO BRASIL. Disponível em:<http://www.achetudoeregiao.com.br/PR/rio_parana.htm>. Acesso em 24 de outubro de 2011.

OKUMURA, F.; CAVALHEIRO, E. T. G.; NPOBREGA, J. A. **Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica.** *Química Nova*, 27: 832-836, 2004.

OLIVEIRA, J. A. *et al.* **Absorção e acúmulo de cádmio e seus efeitos sobre o crescimento relativo de plantas de aguapé e de salvinia.** *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* . 2001, vol.13, n.3, p. 329-341.

PASCHOAL, L. R.; FERREIRA, W. A.; PRADO, M. R. D.; VILELA, A. P. O. **Aplicação do método da espectrofotometria de derivadas na identificação e doseamento simultâneo de sistemas multicomponentes.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 39:105-113, 2003.

PEDROSO, R. C. R. **Desenvolvimento de métodos de análise por CLAE-UV para os antimicrobianos tetraciclina, sulfametoxazol e trimetoprima utilizando materiais à base de sílica e poliméricos como sistemas de pré-concentração.** 2007. 105 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

PIRES, K.; SILVA, J da. **Determinação de Metais no Sedimento da Foz do Rio Ocoy – Tributário do Lago de Itaipu – PR.** Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2011.

QUINÁIA, P.S.; BELO, A.; PLETSCHE, L. A.; **Avaliação da contaminação de metais em sedimentos superficiais das praias do Lago de Itaipu.** Paraná, 2010.

QUÍMICA E SOCIEDADE. **O Emprego de Parâmetros Físicos e Químicos para a Avaliação da Qualidade de Águas Naturais: Uma Proposta para a Educação Química e Ambiental na Perspectiva CTSA- QUÍMICA E SOCIEDADE - Vol. 31 N° 1, FEVEREIRO 2009- Química nova na escola.**

REED, R.; HOLMES, D.; WEYERS, J. & JONES, A. J. **Practical Skills in Biomolecular Sciences.** Ed. Prentice Hall, 1998.

REGITANO, J. B. & LEAL, R. M. P. **Comportamento e impacto ambiental de antibióticos usados na produção animal brasileira.** Revista Brasileira das Ciências do Solo, 34:601-616, 2010.

SILVA, A. C. F.; TORRADO, P. V.; JUNIOR, J. S. A. **Métodos de Quantificação da Matéria Orgânica do Solo.** R. Un. Alfenas, 5:21-26, 1999

SILVA, R. MESSIAS, A. R. AMBROZINI, B. **Importância da compreensão dos ciclos biogeoquímicos para o desenvolvimento sustentável.** Monografia Universidade de São Paulo, São Carlos, 2003.

TERNES, T. A.; MEISENHEIMER, M.; MCDOWELL, D.; SACHER, F.; BRAUCH, H. J.; GULDE, B. H.; PREUSS, G.; WILME, U.; SEIBERT, N. Z.; **Environ. Sci. Technology**, 2002, 36, 3855-3863.

TERNES, T. A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R. D.; SERVOS, M. **The Sci. Total Environ.** 1999, 225, 81-90.

TUNDISI, J. G. TUNDISI, T. M. **Limnologia.** São Paulo, SP: Oficina de Textos, 2008. 631 p.

VIANNA, Marcos Rocha. **Casas de química para estações de tratamento de água.** Belo Horizonte: Instituto de Engenharia Aplicada Editora, 1994.

VON SPERLING, Marcos. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos.** 2. ed., rev. Belo Horizonte: UFMG, 1996. 243 p.