

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA  
BACHARELADO EM QUÍMICA**

**NATHÁLIA VANÇAN JUSTO**

**ANÁLISE DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS DO RIO BARIGUI**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**CURITIBA  
2015**

**NATHÁLIA VANÇAN JUSTO**

**ANÁLISE DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS DO RIO BARIGUI**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de TCC 2 do Curso de Bacharelado em Química Tecnológica do Departamento Acadêmico de Química e Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR.

Orientador: Prof. Dr. Júlio César R. de Azevedo  
Co-orientador: Prof. Dr. Marcelo Real Prado

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**CURITIBA  
2015**

**NATHÁLIA VANÇAN JUSTO**

**ANÁLISE DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS DO RIO BARIGUI**

Trabalho de Conclusão de Curso **aprovado** como requisito parcial à obtenção do grau de BACHAREL EM QUÍMICA pelo Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI), do Câmpus Curitiba, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), pela seguinte banca examinadora:

**Membro 1 – Prof. Dr. Edson Luiz Seibert**  
**Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)**

**Membro 2 – Prof. Luiz Alberto P. da Costa**  
**Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)**

**Orientador – Prof. Dr. Júlio Cesar Rodrigues de Azevedo**  
**Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)**

**Coordenadora de Curso – Profa. Dra. Danielle Caroline Schnitzler**

Curitiba, 01 de dezembro de 2015.

Esta Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais Lia e Sérgio, ao meu irmão Eduardo e a minha avó Célia  
pelo amor, carinho, paciência e apoio em todos os  
momentos de minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor Julio pela orientação, paciência, confiança e pela oportunidade de aprender um pouco mais sobre o assunto envolvido neste trabalho.

Aos professores Cruz, Luiz Alberto, Marcela e Marcelo pelas inúmeras ajudas, conversas e risadas nas diversas situações encontradas durante minha graduação.

As minhas amigas Mariana, Nicole e Tais pela amizade, pela paciência, pelos conselhos e por estarem sempre dispostas a me ajudar.

A equipe do LEAQUA: Tais, Luma, Fran, Lucas e Rafael pela ajuda em todo procedimento.

A banca, professor Luiz Alberto e professor Edson pelas contribuições.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais fontes dos contaminantes emergentes nas águas superficiais .	21
Tabela 2: Características dos contaminantes emergentes.....	23
Tabela 3: : Latitude e Longitude dos pontos de coleta .....	29
Tabela 4: : Curvas analíticas, coeficientes de correlação e sensibilidades .....	32
Tabela 5: Limites de detecção e quantificação para os compostos analisados .....	35
Tabela 6: Concentrações de Cafeína (mg•L-1) nos pontos amostrados ao longo do rio Barigui nas três coletas realizadas .....	36

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura molecular da cafeína .....	18
Figura 2: Estrutura básica dos esteroides .....	19
Figura 3: Estrutura dos hormônios analisados .....	21
Figura 4: : Representação esquemática da principal via de entrada de disruptores endócrinos hormonais em sistemas aquáticos .....	22
Figura 5: Pontos de amostragem no rio Barigui .....	29
Figura 6: Curva analítica com soluções-padrão em HPLC para o composto Cafeína (CAF) .....	33
Figura 7: Curva analítica com solução-padrão em HPLC para o composto Estradiol (E1).....	33
Figura 8: Curva analítica com soluções-padrão em HPLC para o composto Etinilestradiol (EET) .....	34
Figura 9: Curva analítica com soluções-padrão em HPLC para o composto Estrona (E2).....	34
Figura 10: Níveis de precipitação, em mm, durante o período de coletas.....	36
Figura 11: Variação da concentração de Cafeína ao longo do rio Barigui nas três coletas realizadas (out/2014, fev/2015 e mai/2015). .....	37

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APHA - Associação Americana de Saúde Pública

BA - Rio Barigui

C18 - Octadecilsilano

CAF - Cafeína

CIC - Cidade Industrial de Curitiba

DAD - Arranjo de fotodiodos

EDCs - disruptores endócrinos

E1 - Estradiol

E2 - Estrona

EET - Etinilestradiol

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

EFS - Extração por fase sólida

HCl - Ácido clorídrico

HPLC - Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*)

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry*)

$K_{ow}$  – Coeficiente de partição octanol/água

LD - Limite de detecção

LEAQUA - Laboratório de Estudos Avançados em Química Ambiental

LQ - Limite de quantificação

NIPTA - Núcleo Interdisciplinar de Pesquisas em Tecnologias Ambientais

RMC - Região Metropolitana de Curitiba



$T_r$  - Tempo de retenção

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

WHO - Organização Mundial de Saúde

$\lambda$  - Comprimento de onda

$\gamma_{sat}$  - Solubilidade em água

## RESUMO

JUSTO, Nathália Vançan. Análise de Contaminantes Emergentes em Águas Superficiais do Rio Barigui. 2015. 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica – Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2015.

A água é indispensável para a vida humana desde o setor agrícola até o industrial bem como para a sobrevivência dos seres vivos. Baseado nisto, para ter uma boa qualidade nos processos em que é utilizada deve estar livre de contaminantes. Com o crescimento dos centros urbanos os contaminantes emergentes estão cada vez mais presentes fazendo com que haja uma atenção especial a eles, pois não são considerados pela legislação ambiental e sabe-se pouco sobre os efeitos destes contaminantes em ambientes aquáticos, mesmo alguns sendo classificados como interferentes endócrinos, os quais causam efeitos adversos ao organismo humano. Hormônios sexuais são exemplos de interferentes dos quais vários estudos estão sendo realizados, pois há evidências de desequilíbrios hormonais e reprodutivos, além da feminização de peixes. Já a cafeína é um exemplo de contaminante emergente e indicador de atividade antrópica. O objetivo deste trabalho foi verificar as presenças e determinar a concentração de cafeína e dos hormônios sexuais: estrona,  $17\beta$ -estradiol e  $17\alpha$ -etinilestradiol dissolvidos na água do rio Barigui, analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. A cafeína foi o composto mais presente nas análises com a concentração variando de 0,05 a 0,87  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e em relação aos hormônios, o estradiol foi o único detectado com uma concentração de 0,85  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

**Palavras-chave:** Ambientes Aquáticos, Rio Barigui, Contaminantes Emergentes, Interferentes Endócrinos, Cafeína, Hormônios.

## ABSTRACT

JUSTO, Nathália Vançan. Analyzing Emerging Contaminants in surface waters of Barigui river. 2015. 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica – Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2015.

Water is essential for human life from the agricultural sector to the industrial and to the survival of humans. Based on this, to have a good quality in processes where it is used must be free of contaminants. With the growth of urban centers emerging contaminants are increasingly present requiring a special attention to them, because they are not considered by environmental legislation and little is known about the effects of these contaminants in aquatic environments, even some being classified as endocrine disruptors, which cause adverse effects on the human body. Sex hormones are examples of interfering of which several studies are being carried out because there is evidence of hormonal and reproductive imbalances, in addition to the feminization of fish. While caffeine is an example of emerging contaminants and indicator of anthropic activity. The objective of this work was to verify the presence and determine the concentration caffeine and of sex hormones: estrone, 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in the river Barigui by high performance liquid chromatography efficiency requiring. The caffeine was the main compound in analysis with concentration range between from 0,05 to 0,87 mg·L<sup>-1</sup> and in relation to hormones, the 17 $\beta$ -estradiol was the only detected at a concentration of 0,85 mg·L<sup>-1</sup>.

**Keywords:** Aquatic Environment, Barigui River, Emerging Contaminants, Disruptor Endocrine, Caffeine, Hormones.

## SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA .....</b>	<b>I</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>II</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>III</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>V</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>VII</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>VIII</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>16</b>
3.1 CONTAMINANTES EMERGENTES .....	16
3.1.1 Cafeína .....	17
3.1.2 Sistema endócrino e os hormônios .....	19
3.2 ORIGENS, DESTINOS E COMPORTAMENTOS NO MEIO AMBIENTE .....	21
3.2.1 Técnicas Analíticas .....	24
3.2.2 Validação da Metodologia .....	25
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>28</b>
4.1 ÁREA DE ESTUDO .....	28
4.2 COLETA DE AMOSTRAS .....	30
4.3 ANÁLISES LABORATORIAIS .....	30
4.3.1 Extração dos Interferentes Endócrinos da Água .....	30
4.3.2 Análise Cromatográfica .....	31
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>32</b>
5.1 VALIDAÇÃO .....	32
5.2 CURVAS ANALÍTICAS E SENSIBILIDADES .....	32
5.3 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO .....	35
5.4 DETERMINAÇÃO DOS CONTAMINANTES EMERGENTES .....	35
5.4.1 Cafeína .....	36

5.4.2 Estradiol.....	38
5.4.3 Etinilestradiol .....	38
5.4.4 Estrona .....	39
<b>6. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA FUTUROS ESTUDOS.....</b>	<b>40</b>
<b>7. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade de vida na Terra é ligada a qualidade do meio ambiente. Em muitos países, problemas ambientais terrestres e marinhos como o aumento da demanda por água e a descoberta constante de poluentes potencialmente perigosos são questões sérias. Esta situação exige pesquisa em todas as áreas relacionadas com a proteção da saúde humana e o uso sustentável de recursos naturais.

A presença de contaminantes emergentes no meio ambiente é uma das principais preocupações das organizações comprometidas com a saúde pública e do meio ambiente, como a Organização Mundial de Saúde (WHO), Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) e a Comissão Europeia (HERNANDO; FERNÁNDEZ-ALBA; BARCELÓ, 2011).

Os contaminantes emergentes são compostos que têm sido detectados nos diferentes compartimentos ambientais, tanto os de origem antrópica como aqueles de ocorrência natural, que podem apresentar algum risco ao ecossistema e que não estão incluídos nos programas de monitoramento de rotina, ou seja, ainda não são legislados (PETROVIC, BARCELÓ, 2006).

A cafeína é um contaminante emergente e está sendo utilizado como traçador de contaminação por esgoto doméstico. No Brasil, a presença de cafeína em águas naturais é notoriamente esperada tendo em vista a situação de saneamento básico precária, principalmente das grandes cidades que tiveram um rápido crescimento populacional e não apresentam um sistema de esgotamento sanitário adequado para receber e tratar grandes volumes de esgoto que, portanto, são lançados nos corpos d'água (RAIMUNDO, 2011).

Dentre os contaminantes emergentes, alguns compostos são ainda classificados pelos seus potenciais ou capacidades de alterarem as funções do sistema endócrino e, conseqüentemente, causar efeitos adversos em um organismo saudável ou em seus descendentes (IPCS, 2006). A USEPA define disruptores endócrinos (EDCs) como agentes exógenos que interferem na síntese, secreção, transporte, recepção, ação ou eliminação dos hormônios naturais do corpo, que são responsáveis pela manutenção da homeostase (preservação da constância interna), reprodução, desenvolvimento e comportamento (USEPA, 2015).

Estes compostos são utilizados pela sociedade atual, sendo encontrados em produtos farmacêuticos, produtos de uso pessoal (como ex. as fragrâncias), pesticidas, antioxidantes, plásticos, produtos industrializados, tenso-ativos, entre outros.

Observa-se um aumento crescente da exposição de seres humanos aos agentes químicos naturais e xenobióticos, dentre os quais, os hormônios esteroides que são lançados diariamente no ambiente. Quando presentes em matriz aquosa, os hormônios esteroides podem atuar como disruptores endócrinos, ocasionando diversos efeitos indesejáveis e toxicológicos à biota (SALOMÃO; SOROLDONO; MARQUES, 2012).

O estrógeno sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol, amplamente usado na medicina em terapias de reposição e métodos contraceptivos, e os naturais estrona, 17 $\beta$ -estradiol e estriol são considerados como responsáveis pela maioria dos efeitos de desregulação endócrina (REIS FILHO *et al.*, 2006; JOHNSON; WILLIAMS, 2004).

A persistência da atividade dos estrogênios tem origem na contínua introdução em ambientes aquáticos por meio da disposição inadequada de esgoto doméstico e industrial, *in natura* ou após tratamentos ineficientes de efluentes, como também pelo uso de lodo ativado de estação de tratamento de esgoto na agricultura (BOYD *et al.*, 2003; REIS FILHO *et al.*, 2006). O uso de águas superficiais para o consumo humano, bem como a transformação de seus mananciais como receptores de esgotos sanitários (tratados ou *in natura*) têm sido os principais motivos de preocupação acerca da contaminação das fontes de água (RODRIGUEZ-MOZAZ; ALDA; BARCELÓ, 2004).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem como principal objetivo verificar a presença e determinar a concentração da cafeína e dos hormônios sexuais estrona,  $17\beta$ -estradiol e  $17\alpha$  - etinilestradiol dissolvidos na água do Rio Barigui.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a presença e concentração da cafeína como indicador de atividade antropogênica;
- Quantificar a concentração de hormônios sexuais femininos nas amostras de água de rio Barigui;



### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

A qualidade dos corpos aquáticos tem sido motivo de preocupação de diversas esferas da sociedade. Essa preocupação tem crescido devido à alta taxa de ocupação urbana, que proporciona um risco elevado de contaminação dos corpos aquáticos situados próximos a essas áreas. Na maioria das vezes, esses corpos contaminados são os mesmos a serem utilizados para o abastecimento urbano. Dessa forma, áreas densamente urbanizadas podem acabar utilizando uma água com qualidade inferior àquela considerada ideal para diferentes tipos de usos (SANTANA, 2013). Além disso, a escassez na alocação de recursos financeiros e a inexistência de um planejamento baseado em critérios toxicológicos e ambientais conduziram a um quadro onde o lançamento de esgoto doméstico não tratado, em conjunto com cargas industriais remanescentes, vem causando sérios impactos aos sistemas de águas superficiais (RAIMUNDO, 2011).

Recentemente, um dos principais focos das comunidades científicas e regulatórias refere-se à presença de um grupo de contaminantes de interesse recente, denominados comumente de contaminantes emergentes. Há diversas definições para este grupo de contaminantes. A Agência de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos (USGS, do inglês United States Geological Survey) é um dos institutos de pesquisa que mais investigam a ocorrência de contaminantes emergentes no mundo. Segundo a USGS, um contaminante emergente pode ser definido, em termos gerais, como “uma substância química, de ocorrência natural ou antrópica, ou qualquer microrganismo que não é normalmente controlado no ambiente, mas que tem potencial para entrar no ambiente e causar efeitos adversos ecológicos e (ou) sobre a saúde humana, sendo estes efeitos conhecidos ou suspeitos.” (USGS, 2012).

Diversos grupos de substâncias têm sido considerados contaminantes emergentes, incluindo novos agrotóxicos, drogas ilícitas, fármacos, produtos de higiene pessoal, protetores solares, estrogênios, alquilfenóis e seus derivados, alguns subprodutos provenientes de processos de desinfecção de água, retardantes

de chama bromados, compostos perfluorados, benzotriazóis, líquidos iônicos, dioxinas, o antimônio, dentre os adoçantes a sucralose, além dos nanomaterias e alguns micro organismos e toxinas de algas (RICHARDSON e TERNES, 2011)

Embora a poluição ambiental por contaminantes emergentes seja um assunto conhecido e pesquisado em muitos países, diversas questões relacionadas à sua identificação e quantificação, a elucidação dos mecanismos de transformação em matrizes ambientais, a avaliação dos efeitos biológicos dessas substâncias e de seus produtos de degradação e o desenvolvimento de tecnologias para remoção desses compostos ainda não são totalmente esclarecidos (FATTA; MERIÇ; NIKOLAOU, 2011).

### 3.1.1 Cafeína

A cafeína (CAF), identificado como 1,3,7-trimetilxantina, é um alcalóide cuja estrutura contém um esqueleto de purina (DE MARIA, *et al*, 1996). A cafeína pertence ao grupo de compostos químicos chamados metilxantinas, presentes em cerca de 60 espécies de plantas no mundo. Produtos alimentícios como café, chás, refrigerante de cola e chocolate são exemplos que contém cafeína (BUERGE *et al.*, 2003). Também é encontrado no guaraná, no tabaco, em alguns condimentos além de medicamentos do tipo analgésico, antigripais e inibidores de apetite. As xantinas são substâncias capazes de estimular o sistema nervoso, produzindo um estado de alerta de curta duração (GARDINALI; ZHAO, 2002).

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. Os efeitos da cafeína sobre o comportamento humano têm sido objeto de estudos a algumas décadas. Esses efeitos podem ser descritos como aumento da capacidade de alerta e redução da fadiga, com concomitante melhora no desempenho de atividades que requeiram maior vigilância (CASTELLANOS; RAPOPORT *et al.*, 2002; SMITH, 2002; LORIST; BRAIN 2003). Em contrapartida, o consumo de cafeína pode afetar negativamente o controle motor e a qualidade do sono, bem como causar irritabilidade em indivíduos com quadro de ansiedade (SMITH, 2002).

A cafeína possui um papel especial dentro das substâncias classificadas como contaminantes emergentes, uma vez que sua ocorrência em uma matriz pode indicar a presença de outras substâncias. A cafeína mostra a qualidade química do ambiente em questão. Assim como os demais contaminantes emergentes, a cafeína possui origem antrópica e pode ser vista como uma boa indicadora de esgoto e, conseqüentemente, de outras substâncias no ambiente (FERREIRA, 2005).

Embora o consumo diário de cafeína seja elevado a maior parte é metabolizada pelo organismo humano e somente de 3 a 10% de cafeína são excretados através da urina. Contudo, uma quantidade suplementar de cafeína pode ser introduzida no ambiente através da lavagem dos utensílios domésticos, que alcançam os ambientes hídricos através dos esgotos onde devido a diluição estará presente em concentrações reduzidas na ordem de  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . A presença de cafeína em águas superficiais ou subterrâneas é prova inquestionável da mistura com águas contaminadas por esgoto, pois a cafeína não é consumida por animais e nem esta presente em fertilizantes. Apesar de a cafeína não ser tóxica, sua presença em água para consumo humano sugere que outras substâncias químicas e/ou micro-organismos patogênicos nocivos à saúde humana podem estar presentes (TUBBS; FREIRE; YOSHINAGA, 2003). O uso da cafeína como indicador é apropriado devido a persistência ao longo da coluna d'água, possuir alta solubilidade ( $21,7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), apresentar pequeno coeficiente de partição octanol-água ( $\log K_{ow} = 0.01$ ) (GARDINALI; ZHAO, 2002; RAIMUNDO, 2007) e volatilidade desprezível (WEINBERG; BEALER, 2001).

Na Figura 1 está representada a estrutura química da cafeína.

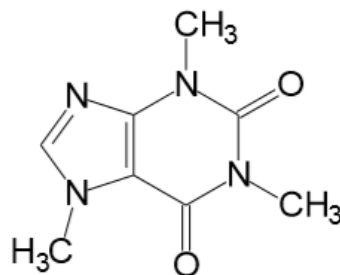


Figura 1: Estrutura molecular da cafeína

Fonte: SANTANA, 2013.

### 3.1.2 Sistema endócrino e os hormônios

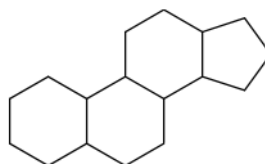
O sistema endócrino é um mecanismo complexo que coordena e regula a comunicação entre as células, constituído por combinações de glândulas e hormônios, sendo responsável pelas funções biológicas normais, como reprodução, desenvolvimento embrionário, crescimento e metabolismo (RAPHAEL, 2002; MCGOVERN, MCDONALD, 2003).

O sistema endócrino regula, juntamente com o sistema nervoso, todas as funções fisiológicas do organismo. Enquanto o sistema nervoso se comunica através de impulsos elétricos ao longo de precisos circuitos nervosos e celulares, o sistema endócrino trabalha de um modo mais difuso, transportando informações através da circulação de um tecido para outro através dos hormônios (RAIMUNDO, 2007).

Hormônios são mensageiros químicos que respondem pela comunicação entre diferentes tipos de células, as quais identificam os hormônios através de receptores que são estruturas proteicas especializadas em reconhecimento molecular (SIMMONDS, 1992).

Os hormônios são produzidos e secretados pelas glândulas endócrinas diretamente para a corrente sanguínea e influenciam as atividades funcionais de outras células de modo específico, sendo a influência quer de natureza excitadora, quer inibidora (RAIMUNDO, 2007).

Quimicamente, os hormônios são proteínas derivadas de aminoácidos ou esteróides. Segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), os esteróides compreendem uma classe de hormônios cuja estrutura básica é formada pelo ciclo- $\alpha$ -fenantreno (Figura 2). Nessa estrutura podem existir ligações duplas, metilas, carbonilas e hidroxilas, dando origem a uma série de hormônios esteroidais (IUPAC).



**Figura 2: Estrutura básica dos esteroides**

**Fonte: RAIMUNDO, 2007.**

De acordo com Gutendorf e Westendorf (2001), os estrogênios são classificados em quatro tipos de acordo com a sua origem:

- (1) os que ocorrem naturalmente no organismo;
- (2) os que são sintetizados para serem ingeridos como medicamento;
- (3) os fitoestrogênios presentes em plantas alimentícias, muitos dos quais promovem importantes benefícios à saúde;
- (4) os “xenoestrogênios” ou externos, sintetizados pelo homem e presentes em produtos de uso doméstico.

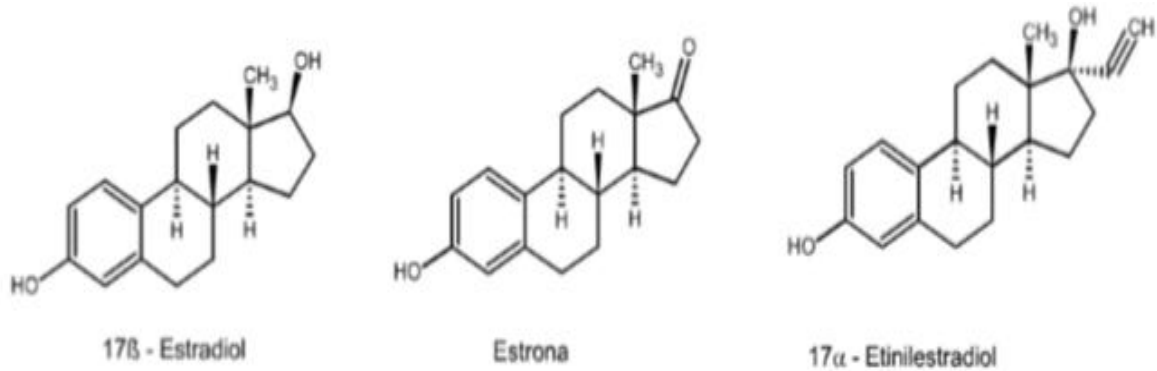
O estrógeno (estrogênio), andrógeno e progestógenos são chamados de hormônios sexuais e são, respectivamente, hormônio feminino, masculino e da gravidez.

Dos hormônios sexuais, os estrógenos vêm recebendo maior atenção por serem compostos extremamente ativos biologicamente e estão relacionados à etiologia de vários tipos de cânceres (REYS, 2001).

Os estrogênios são responsáveis pelas características secundárias femininas; agem no controle da ovulação; no desenvolvimento e preparo cíclico do sistema reprodutor para a fertilização e implantação do óvulo; estimulam o crescimento dos tecidos ao promover a proliferação celular nos órgãos sexuais femininos (seios e útero); geralmente exercem influência sobre o crescimento, desenvolvimento e no comportamento (NASSIF *et al.*, 2005). Atuam também nos sistemas imunológico e cardiovascular além de influir na pele, nos ossos, no fígado e mesmo no cérebro, assegurando a normalidade nos sistemas orgânicos (RAIMUNDO, 2007).

Os estrógenos naturais  $17\beta$ -estradiol, estrona e o estrógeno sintético  $17\alpha$ -etinilestradiol, desenvolvido para uso médico em terapias de reposição e métodos contraceptivos, são os que despertam maior preocupação, tanto pela potência como pela quantidade contínua introduzida no ambiente. Estes hormônios possuem a melhor conformação reconhecida pelos receptores e, portanto, resultam em respostas máximas, sendo considerados como responsáveis pela maioria dos efeitos disruptores desencadeados pela disposição de efluentes (GRAY *et al.*, 2000).

Na Figura 3 estão representadas as estruturas químicas dos hormônios  $17\beta$ -Estradiol, Estrona e  $17\alpha$ -Etinilestradiol.



**Figura 3: Estrutura dos hormônios analisados**

Fonte: REIS FILHO *et al.*, 2006.

### 3.2 ORIGENS, DESTINOS E COMPORTAMENTOS NO MEIO AMBIENTE

Hormônios, assim como medicamentos, pesticidas, entre outros produtos químicos, podem apresentar várias formas de introdução ao meio ambiente. Essas formas podem ser divididas em dois grupos: pontuais e difusas. As fontes pontuais são uma entrada direta dos poluentes no ambiente, geralmente através do curso d'água, ou seja, são provenientes de descarte de efluentes a partir de estações de tratamento de efluentes industriais, estações de tratamento de esgotos, fossas sépticas e do próprio esgoto bruto. Já as fontes difusas são aquelas cuja origem não pode ser facilmente identificada, isto é, não apresentam um ponto de entrada bem caracterizado no meio ambiente. As fontes difusas geralmente são provenientes das deposições atmosféricas (úmidas e/ou secas), da lixiviação de compostos do solo e da drenagem de águas pluviais em ambientes rurais e urbanos (RAIMUNDO, 2007). Na Tabela 1 estão representados os tipos de fontes aonde, provavelmente, são encontrados alguns contaminantes emergentes.

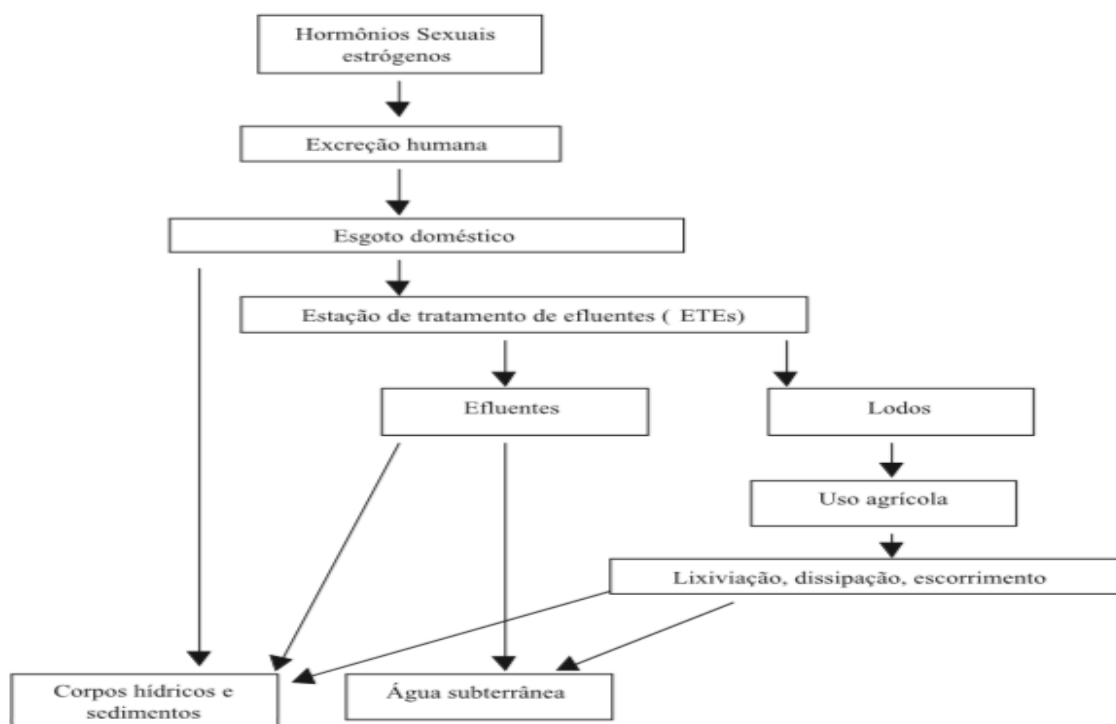
**Tabela 1: Principais fontes dos contaminantes emergentes nas águas superficiais**

Fontes	Tipos de fontes	Compostos emergentes provavelmente presentes
Esgoto doméstico	Pontual	Hormônios naturais e sintéticos, cafeína
Desflúvio pecuário	Difusa	Hormônios naturais e sintéticos
Natural	Difusa	Estrogênios naturais

Fonte: Adaptado de BIRKETT; LESTER, 2003; RAIMUNDO, 2007.

Hormônios naturais e sintéticos são excretados diariamente pela urina e em menor proporção pelas fezes (JOHNSON; WILLIAMS, 2004), os quais seguem para a rede coletora, adentrando depois no ambiente. O lançamento de efluentes *in natura* ou mesmo processados são as principais vias de contaminação do ambiente aquático, seja pelo déficit de infra estrutura em saneamento, seja pela ineficiência (tecnológica e/ou operacional) das estações do tratamento (ERICKSON, 2002).

Apesar de possuírem meia vida relativamente curta (cerca de 2 à 6 dias), os estrógenos naturais são continuamente lançados no ambiente, o que lhes concede um caráter de persistência. Embora grande parte dos estrógenos sejam metabolizados e excretado na forma inativa, conjugada com glucuronídeos e sulfatos, a ação de enzimas produzidas por bactérias comumente encontradas em áreas de despejo de efluentes facilmente os biotransformam em compostos biologicamente ativos e passíveis de desencadear efeitos principalmente a biota. Vários organismos excretam quantidades diferentes de hormônios dependendo da idade, do estado de saúde, da dieta ou do estado de gestação (JOHNSON *et al.*, 2004). A Figura 4 exemplifica o modo de entrada destes contaminantes nos ecossistemas.



**Figura 4: Representação esquemática da principal via de entrada de disruptores endócrinos hormonais em sistemas aquáticos**

Fonte: VELAGALETTI, 1995; REIS FILHO, 2006.

O destino e comportamento dos compostos no ambiente e nas ETE são influenciados por suas propriedades físicas e químicas, as quais regem a partição na água, solo ou biota. Compostos com baixa solubilidade ( $\phi$ ) e alto coeficiente de partição octanol/água ( $K_{ow}$ ), geralmente estão presentes em tecidos gordurosos da biota, o que promove a bioacumulação na cadeia alimentar. O  $K_{ow}$  também pode determinar a sorção efetiva e a afinidade dessas substâncias pela matéria orgânica. São verificados dois mecanismos de sorção: a absorção, que trata de interações hidrofóbicas caracterizadas pelo valor de  $K_{ow}$ ; e a adsorção que está relacionada com interações eletrostática e a tendência da substância de se dissociar no meio aquoso, a qual é caracterizada pela sua constante de dissociação,  $pK_a$  (RAIMUNDO, 2007).

De acordo com essas propriedades, os contaminantes podem ser divididos em três grandes grupos: os lipofílicos, com alto valor de  $K_{ow}$ ; os básicos ou não-iônicos; e os compostos ácidos, que apresentam hidrofiliicidade e são iônicos. Os hormônios naturais e sintéticos, bem como os xenoestrogênios apresentam natureza lipofílica (RAIMUNDO, 2007).

A esterificação com gluconídeos ou ácidos alteram drasticamente as propriedades físicas e químicas dos estrogênios que, quando conjugados passam a ser mais hidrofílicos e menos ativos biologicamente podendo permanecer por mais tempo em ambientes aquáticos (BIRKETT; LESTER, 2003)

Na Tabela 2 tem-se representados as características da cafeína e dos principais estrógenos, sendo que  $\phi_{sat}$  é a solubilidade em água e  $K_{ow}$  o coeficiente de partição octanol/água.

**Tabela 2: Características dos contaminantes emergentes.**

Nome comum	Fórmula	$\phi_{sat}$ (mg·L <sup>-1</sup> 25°C)	Log $K_{ow}$	Meia-vida (dias)
Cafeína	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	21,7	0,01	0,84
17 $\beta$ -Estradiol	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	12,9	4,01	2 - 3
Estrona	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	12,4	3,13	2 - 3
17 $\alpha$ -Etinilestradiol	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	0,5	3,67	4 - 6

Fonte: Adaptada de LINTELMANN et al., 2003; RAIMUNDO, 2007; TABAK et al., 1981; TOXNET, 2015.



O destino dos contaminantes emergentes no ambiente depende de suas características físicas e químicas e das propriedades do meio receptor. As inúmeras variáveis que atuam em conjunto no ambiente aquático, como temperatura, turbidez, pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido, radiação, matéria orgânica e concentração de diversas outras substâncias, tornam a tarefa de modelar o comportamento destes compostos bastante complexa. Devido à lipofilicidade e baixa volatilidade dos hormônios, o processo de sorção em sedimentos suspensos pode ser um fator significativo na redução dos estrógenos na fase aquosa (LAI *et al.*, 2000). Porém, em estudos de partição entre sedimento e água simulando várias condições ambientais, Bowman *et al.* concluíram que embora as partículas influenciem no comportamento ambiental dos estrógenos, a sorção é relativamente limitada, com a maioria permanecendo na fase aquosa. Já Lai *et al.* (2000) sugeriram que estrógenos dissolvidos podem rapidamente se tornar adsorvidos aos sólidos em suspensão, indicando que a competição pelos sítios de ligação com outros compostos mais hidrofóbicos e a respectiva saturação destes sítios são os responsáveis pela proporção de estrógenos que permanecem na fase aquosa.

### 3.2.1 Técnicas Analíticas

As técnicas analíticas utilizadas no monitoramento e identificação de micropoluentes no meio ambiente é um importante tópico da química analítica. Métodos que determinam com acurácia essas substâncias em concentrações na faixa de  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  em matrizes ambientais complexas, tais como, águas naturais, solo, sedimentos, lodo biológico e efluente de ETE, são um desafio para muitos pesquisadores (BILA *et al.*, 2007).

Nos últimos anos, foram publicados muitos métodos para a análise desses micropoluentes em amostras ambientais. Ternes (2001) fez uma revisão de todos os métodos analíticos utilizados na determinação de estrogênios, a níveis de  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ , em diferentes matrizes ambientais aquosas.

Na maioria das análises que envolvem amostras “reais”, é necessário o enriquecimento substancial do analito para se isolar os compostos alvos da matriz e atingir os limites de detecção e quantificação requeridos. Um procedimento analítico

típico inclui, portanto, vários passos para a preparação da amostra, tais como filtração, extração, purificação e evaporação (BARCELÓ; ALDA; DÍAS-CRUZ, 2003).

Na determinação de estrogênios e de outros disruptores endócrinos em amostras aquosas, os métodos analíticos mais utilizados e publicados são, frequentemente, baseados na extração por fase sólida (EFS e ou SPE), derivatização e detecção por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas (CG/EM). Também são empregadas análises por cromatografia líquida (HPLC).

A EFS é uma técnica de extração simples, rápida e que requer pequenas quantidades de solventes (BILA, 2007). De acordo com Christian (1994), a extração por fase sólida consiste em grupos funcionais orgânicos hidrofóbicos que são quimicamente ligados a uma superfície sólida, como sílica. Um exemplo comum é a ligação do grupo C18 com a sílica, sendo que esse grupo interage com compostos orgânicos hidrofóbicos pela ação das forças de van der Waals e, dessa forma, são extraídos da fase aquosa. A EFS não é só uma técnica de extração, mas também de concentração dos componentes.

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é um tipo de cromatografia líquida que emprega colunas recheadas com materiais especialmente preparados e uma fase móvel, eluída sob altas pressões. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande variedade de compostos presentes em diversos tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e detectabilidade (COLLINS *et al.*, 2006).

### 3.2.2 Validação da Metodologia

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda as exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. No entanto, não há um procedimento oficial padrão para análise de compostos como os fármacos, hormônios e os xenoestrogênios em matrizes aquosas, bem como uma legislação que aponte valores de concentrações permitidas, para os compostos considerados contaminantes emergentes, que garantam a preservação da vida aquática (RAIMUNDO, 2007).

Indiretamente, a validação dos experimentos tornou-se uma exigência para os laboratórios, pois para demonstrarem sua competência técnica ou mesmo para acompanhar as exigências do mercado internacional e nacional, muitos se submetem ao credenciamento junto às agências competentes. No Brasil, os órgãos responsáveis pela acreditação de laboratórios são a ANVISA e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) (INMETRO, 2003; RIBANI *et al.*, 2004; MANSILHA *et al.*, 2010).

A resolução ANVISA número 899, "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos", de 29 de maio de 2003, apresenta as características a serem consideradas durante a validação de procedimentos analíticos, sendo que o objetivo de uma validação é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida (Quadro 1). Essas informações aplicam-se a técnicas analíticas que façam uso de métodos de cromatografia gasosa ou cromatografia líquida de alta eficiência. Para a garantia da qualidade analítica dos resultados, todos os equipamentos utilizados na validação devem estar devidamente calibrados e os analistas devem ser qualificados e adequadamente treinados (ANVISA, 2003).

Para a ANVISA, a metodologia será considerada validada, desde que sejam avaliados os parâmetros relacionados a seguir:

<b>Parâmetro</b>	<b>Definição</b>
Especificidade e Seletividade	É a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz.
Linearidade	É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado.
Intervalo	É a faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico.
Precisão	É a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra.
Limite de detecção	É a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas.

<b>Parâmetro</b>	<b>Definição</b>
Limite de quantificação	É a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas
Exatidão	É a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro.
Robustez	É a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos.

**Quadro 1: Parâmetros a serem considerados para uma metodologia ser validada**

**Fonte: ANVISA, 2003.**

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 ÁREA DE ESTUDO

O Rio Barigui atravessa a região metropolitana de Curitiba e é um típico exemplo de ambiente contaminado provocados por lançamentos de esgotos domésticos e industriais (SILVA; TOLEDO, 1997; IDE, 2013), motivo que o leva a ser uma área de interesse para estudos.

A Bacia do Rio Barigui localiza-se no Primeiro Planalto Paranaense, na Região Metropolitana de Curitiba, entre as coordenadas 25° 13' 24" e 25° 38' 23" Sul e 49° 15' 00" e 49° 22' 29" Oeste, percorrendo no sentido geral norte-sul os municípios de Almirante Tamandaré, Curitiba e Araucária. A Bacia faz divisa com os municípios de Rio Branco do Sul, Almirante Tamandaré, Campo Largo, Araucária, Fazenda do Rio grande, São José dos Pinhais, Pinhais e Colombo.

O Rio Barigui é afluente da margem direita do rio Iguaçu; suas nascentes estão localizadas na serra da Betara, próximo à divisa dos municípios de Almirante Tamandaré e Rio Branco do Sul. A extensão do Rio Barigui é de 67 km. A área total de drenagem da Bacia do Rio Barigui é de 279 km<sup>2</sup>, sendo 120 km<sup>2</sup> no município de Almirante Tamandaré, 144 km<sup>2</sup> no município de Curitiba, e 15 km<sup>2</sup> no município de Araucária (FERNANDES *et al.*, 2005).

Na região norte da Bacia, pertencente ao município de Almirante Tamandaré, predomina o uso rural do solo (aproximadamente de 16%), com a ocorrência de núcleos urbanos dispersos, estando entre eles a cidade de Almirante Tamandaré. Na região média da Bacia, que contém parte do município de Curitiba, a ocupação urbana é preponderante, com predominância dos usos residencial, comercial e de serviços, justificando assim a quantidade de lançamentos de esgoto *in natura* nesta parte do rio. Na região pertencente ao município de Araucária, a urbanização é ainda incipiente (FROEHNER; MARTINS, 2008).

Foram estudados no total 7 pontos de coleta, os quais estão representados, com suas respectivas coordenadas, na Tabela 3:

Tabela 3: : Latitude e Longitude dos pontos de coleta

Pontos	Rio	Latitude (Sul)	Longitude (Oeste)	Região
BA1	Barigui	25°37'82.92"	49°29'80.85"	Curitiba
BA2	Barigui	25°41'47.12"	49°30'71.19"	Curitiba
BA3	Barigui	25°42'61.85"	49°30'69.21"	Curitiba
BA4	Barigui	25°43'12.67"	49°31'32.91"	Curitiba
BA5	Barigui	25°45'93.80"	49°31'87.77"	Curitiba
BA6	Barigui	25°46'50.44"	49°32'03.02"	Curitiba
BA7	Barigui	25°51'48.58"	49°33'84.13"	CIC

O ponto BA1 localiza-se na região do parque Tingui, o ponto BA2 localiza-se próximo a Avenida Manoel Ribas, o ponto BA3 e o BA4 localizam-se, respectivamente, na entrada e na saída do parque Barigui. Já o ponto BA5 fica próximo a avenida Iguaçu, o ponto BA6 localiza-se a jusante da Estação de Tratamento de Esgoto de Santa Quitéria e o último ponto, BA7, localiza-se na Cidade Industrial de Curitiba (CIC). Na Figura 5 consta os pontos de amostragem no rio Barigui.

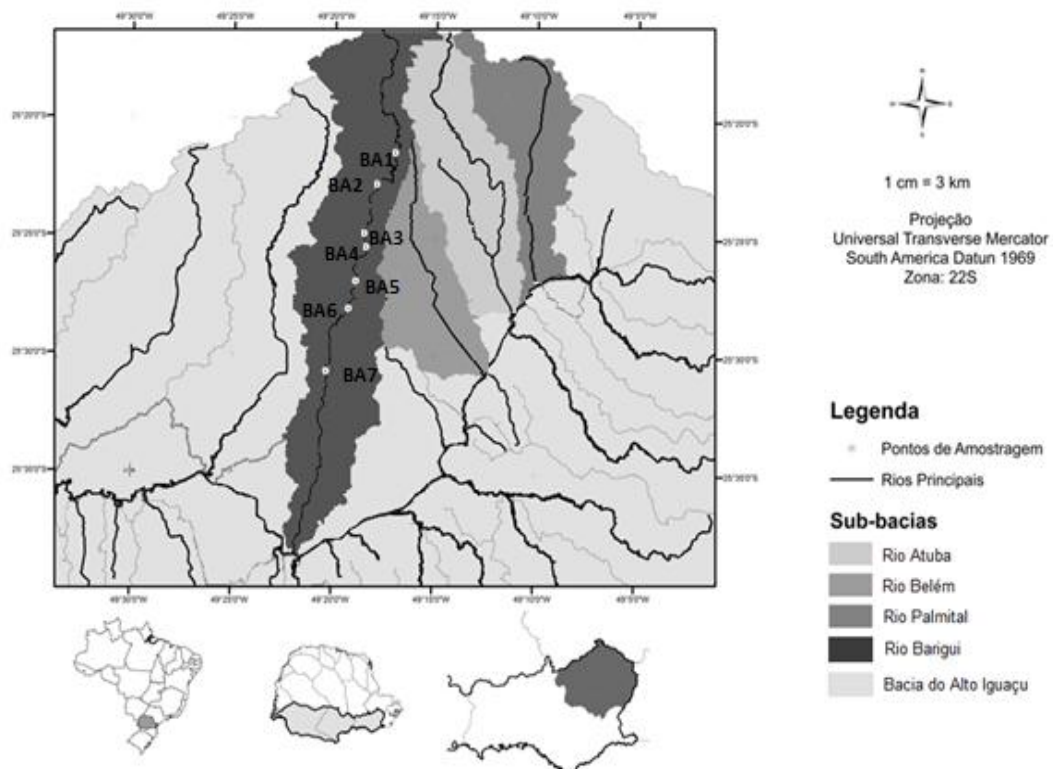


Figura 5: Pontos de amostragem no rio Barigui

Fonte: Adaptado de SUDERHSA (2000)

## 4.2 COLETA DE AMOSTRAS

Realizou-se três coletas amostrais no rio Barigui, sendo que a primeira foi coletada em outubro de 2014, a segunda em fevereiro de 2015 e a última em maio de 2015. Coletou-se um litro de amostra em sete pontos ao longo do rio Barigui.

As amostras para a extração dos interferentes endócrinos foram armazenadas em garrafas tipo âmbar com volume de 1L descontaminadas com solução de detergente extran 5%.

## 4.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

As extrações dos hormônios e da cafeína, das amostras coletadas no rio Barigui, foram realizadas logo após a chegada ao Laboratório de Estudos Avançados em Química Ambiental (LEAQUA) e as leituras pelo HPLC foram realizadas no Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa em Tecnologias Ambientais (NIPTA) da UTFPR.

### 4.3.1 Extração dos Interferentes Endócrinos da Água

A metodologia consiste em um volume de amostra de 1L para a extração dos hormônios. Primeiramente a amostra foi filtrada em membranas de acetato de celulose 0,45  $\mu\text{m}$  de tamanho médio de poros. Em seguida o pH da amostra foi ajustado para 3 por meio da adição de HCl 6  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Realizou-se extração em fase sólida utilizando-se cartucho HLB pré-condicionado com 6 mL de hexano, 6 mL de acetato de etila, 6 mL de metanol e 6 mL de água mili-Q com pH ajustado para 3. As amostras passaram pelos cartuchos HLB com um fluxo de 12 a 15  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , os quais, na sequência, foram secos com nitrogênio gasoso por 10 min. A eluição dos analitos foi realizada utilizando duas frações de 6mL de acetonitrila, recolhidos em balões de fundo redondo. Em seguida, as amostras foram levadas à secura em rota- evaporador e em seguida reconstituídas com 1 mL de acetonitrila, sendo a seguir submetidas ao equipamento de ultra-som para completa remoção dos contaminantes de interesse.

### 4.3.2 Análise Cromatográfica

As amostras foram analisadas por cromatografia em fase líquida em um aparelho Agilent modelo 1260, bomba quaternária de 600 bar, equipado com uma coluna de octadecilsilano (Eclipse Plus C18) com 5 $\mu$ m de diâmetro de poro, 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno. O detector utilizado é o arranjo de fotodiodos (DAD), modelo 1260.

A fase móvel empregada foi composta por uma mistura isocrática de acetonitrila-água numa proporção 50:50 com pH ajustado entre 3 e 3,5, volume de injeção de 5  $\mu$ L e vazão de 1,0 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>. Os comprimentos de onda,  $\lambda$ , para a análise de cada interferente e seus respectivos tempo de retenção (Tr) se encontram no Quadro 2:

Hormônio	Comprimento de onda (nm)	Tr (min)
Cafeína	273	2,54
Estrona	280	10.31
17 $\beta$ -Estradiol	280	7.56
17 $\alpha$ -Etinilestradiol	280	8.88

**Quadro 2: Comprimento de onda necessário para a análise dos contaminantes emergentes**

**Fonte: IDE, 2014**



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 VALIDAÇÃO

A metodologia utilizada foi a adotada no LEAQUA (Laboratório de Estudos Avançados em Química Ambiental), a qual foi validada por Ide (2014). Ide (2014) obteve na validação dos métodos cromatográficos bons resultados de recuperação, sensibilidade e seletividade, tornando possível a quantificação destes analisados simultânea.

### 5.2 CURVAS ANALÍTICAS E SENSIBILIDADES

A sensibilidade está expressa pela inclinação da curva analítica. Em relação aos hormônios sexuais femininos, o de melhor sensibilidade é o etinilestradiol seguido da estrona e estradiol.

O coeficiente de correlação mínimo, de acordo com a resolução 899/03 da ANVISA, deve ser igual ou superior a 0,99 e com isso observou-se, na Tabela 4, que todas as curvas analíticas apresentaram o coeficiente acima do valor de referência.

A Tabela 4 mostra a equação da regressão linear, o coeficiente de correlação ( $r^2$ ) e a sensibilidade para os compostos analisados. Todas as curvas analíticas da cafeína (Figura 6), estradiol (Figura 7), etinilestradiol (Figura 8) e estrona (Figura 9) apresentaram bons coeficientes de correlação.

**Tabela 4: : Curvas analíticas, coeficientes de correlação e sensibilidades**

<b>Composto</b>	<b>Curva analítica</b>	<b>Coeficiente de correlação (<math>r^2</math>)</b>	<b>Sensibilidade</b>
<b>Cafeína</b>	Área = 13.54 Conc + 0.0869	0.9991	13.54
<b>Estradiol</b>	Área = 4.0086 Conc + 0.1171	0.9987	4.0086
<b>Etinilestradiol</b>	Área = 4.3446 Conc + 0.0492	0.9991	4.3446
<b>Estrona</b>	Área = 4.1874 Conc + 0.2332	0.9994	4.1873

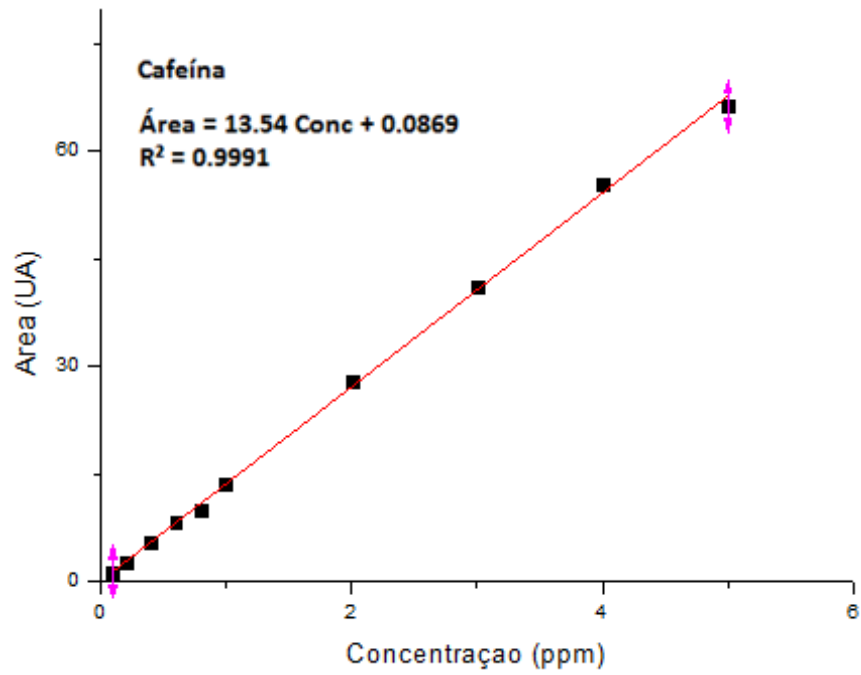


Figura 6: Curva analítica com soluções-padrão em HPLC para o composto Cafeína (CAF)

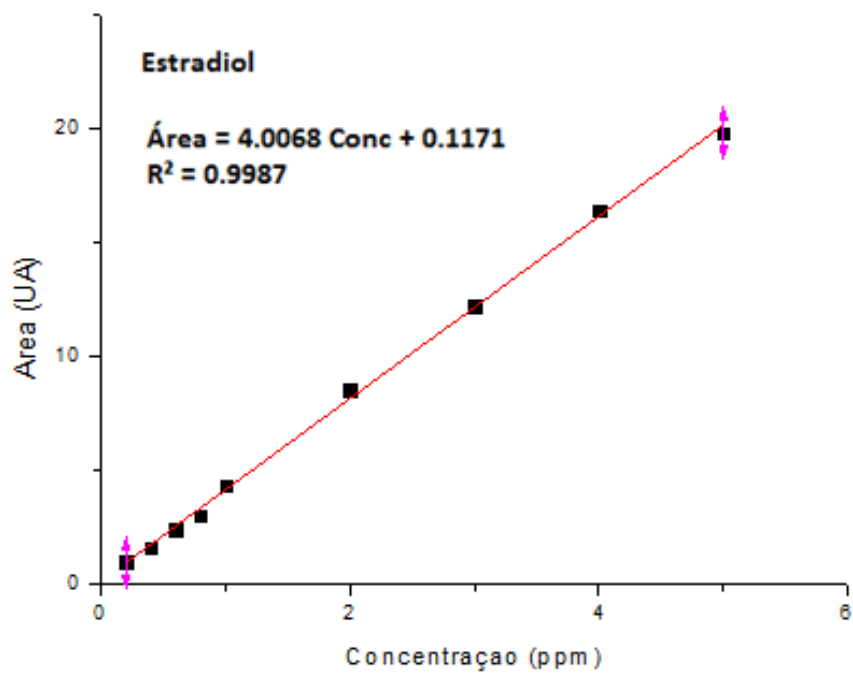


Figura 7: Curva analítica com solução-padrão em HPLC para o composto Estradiol (E1)

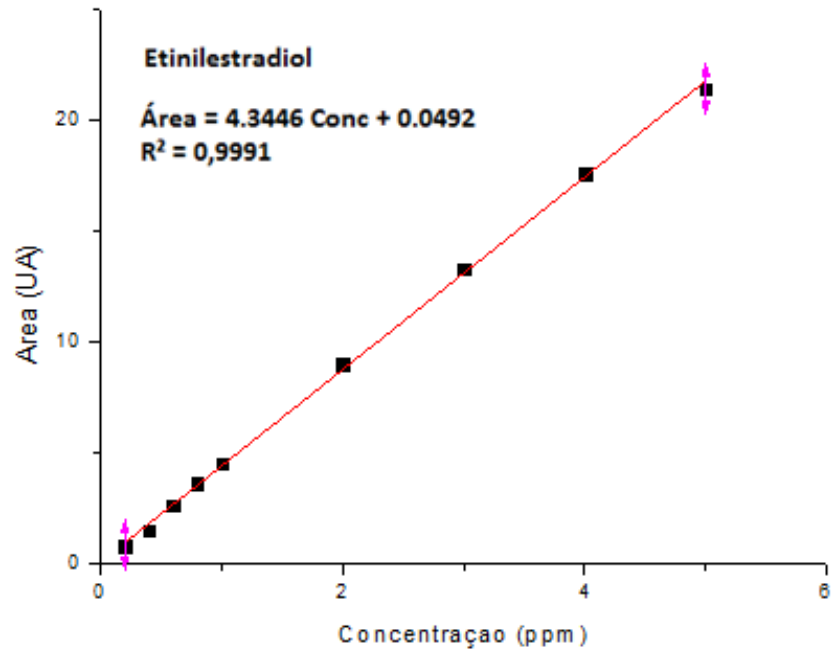


Figura 8: Curva analítica com soluções-padrão em HPLC para o composto Etinilestradiol (EET)

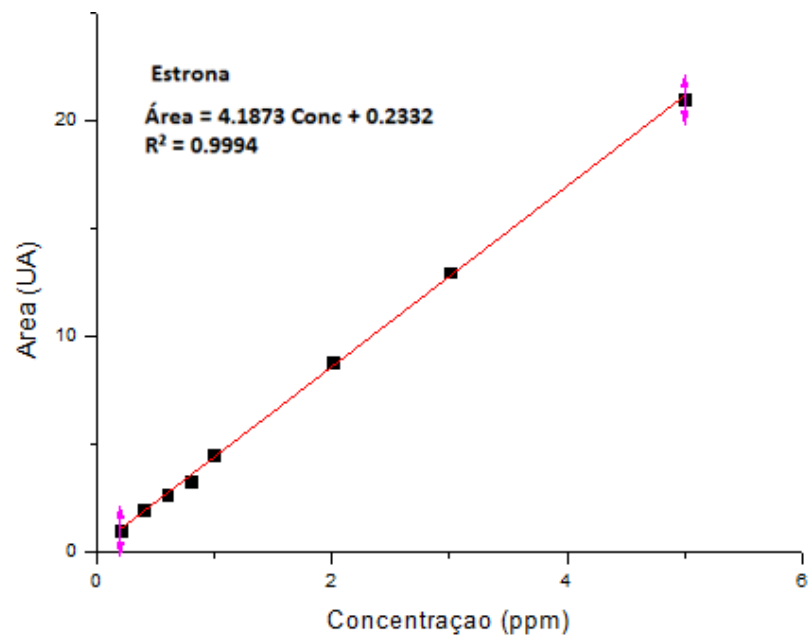


Figura 9: Curva analítica com soluções-padrão em HPLC para o composto Estrona (E2)

### 5.3 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

De acordo com a validação de Ide (2014), os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram obtidos pelo método sinal-ruído, onde o limite de detecção é 3 vezes a altura do ruído e o limite de quantificação 10 vezes. Os limites de detecção e quantificação estão representados pela Tabela 5.

**Tabela 5: Limites de detecção e quantificação para os compostos analisados**

<b>Composto</b>	<b>LD (ng·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LQ (ng·L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Cafeína</b>	8,2	27,4
<b>Estradiol</b>	25,4	84,8
<b>Etinilestradiol</b>	48,2	160,7
<b>Estrona</b>	26,7	89,0

**Fonte: Adaptado de IDE (2014).**

### 5.4 DETERMINAÇÃO DOS CONTAMINANTES EMERGENTES

Os níveis de concentração dos contaminantes emergentes em um rio tem ligação direta com o nível de precipitação pluviométrica, pois quanto maior o nível de chuvas na época da coleta maior será a diluição, maior a vazão dos rios e menor o valor das concentrações. A Figura 10 mostra as precipitações, em mm, no ano de 2014 e 2015, sendo que C1 é a coleta realizada em outubro de 2014, C2 em fevereiro de 2015 e C3 a realizada em maio de 2015. Observou-se que em outubro de 2014 houve uma precipitação razoável para esta época do ano, pois de acordo com o SIMEPAR (2014) nesta época, em Curitiba, ocorreu aumento natural das chuvas com possíveis eventos severos. Já no ano de 2015, em fevereiro o SIMEPAR (2015) considerou normal a ocorrência de chuva forte. A precipitação foi razoavelmente alta neste mês como demonstra a Figura 10. Em maio, no outono, o SIMEPAR afirmou ser uma época com uma forte variabilidade temporal da precipitação, pois as frentes frias são eficientes na produção de chuvas. Neste mês houve uma quantidade pequena de chuva conforme observado, porém na semana da coleta houve uma elevada precipitação.

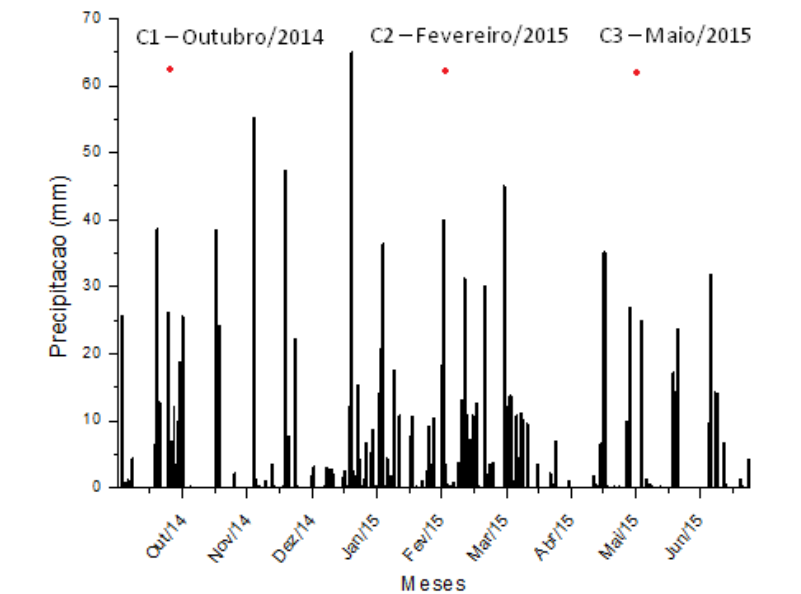


Figura 10: Níveis de precipitação, em mm, durante o período de coletas

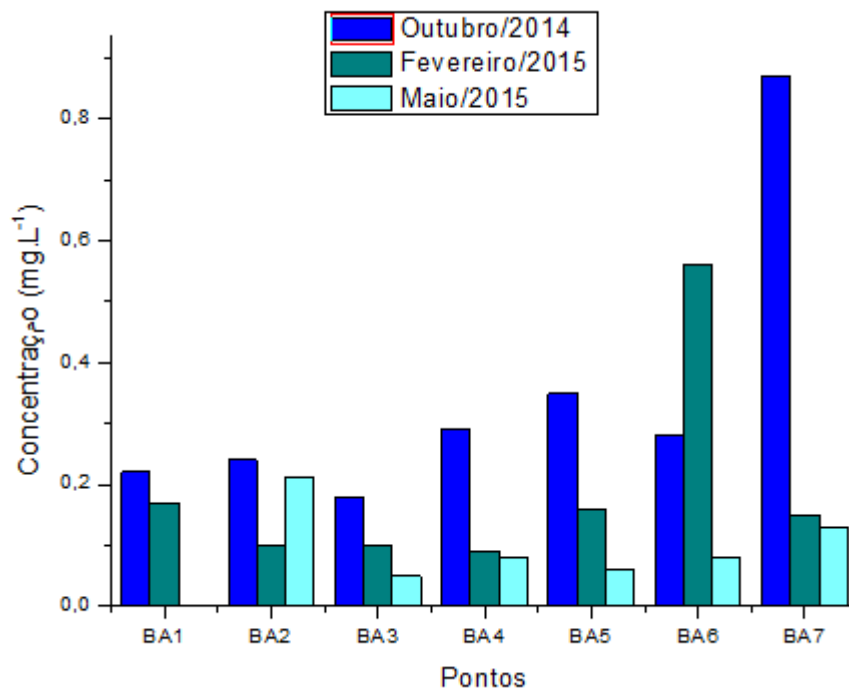
#### 5.4.1 Cafeína

Dos 4 contaminantes analisados, a cafeína foi o mais detectado, estando presente nas 3 coletas e em todos os pontos, exceto no ponto BA1 da coleta realizada em maio de 2015. Na Tabela 6 estão representadas as concentrações de cafeína nos pontos amostrados ao longo do rio Barigui e na Figura 11 o gráfico das concentrações. Observou-se que os pontos com maior concentração foram os pontos finais, BA5, BA6 e BA7. Isto ocorre pelo fato dos pontos finais serem depois da lagoa do Parque Barigui, onde a densidade populacional e a existência de uma Estação de Tratamento de Esgoto influencia nestes locais amostrados.

Tabela 6: Concentrações de Cafeína ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) nos pontos amostrados ao longo do rio Barigui nas três coletas realizadas

Ponto	Outubro/2014	Fevereiro/2015	Mai/2015
BA1	0,22	0,17	ND
BA2	0,24	0,10	0,21
BA3	0,18	0,10	0,05
BA4	0,29	0,09	0,08
BA5	0,35	0,16	0,06
BA6	0,28	0,56	0,08
BA7	0,87	0,15	0,13

\*LD =  $8,2 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$



**Figura 11: Variação da concentração de Cafeína ao longo do rio Barigui nas três coletas realizadas (out/2014, fev/2015 e mai/2015).**

Por ser uma indicadora eficaz de atividade antrópica a cafeína tem sido pesquisada em diferentes locais. Montagner e Jardim (2011) determinaram cafeína na concentração de  $0,13 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  em água superficial na região de Campinas. Para Silva *et al* (2013) o resultado da concentração da cafeína foi de  $0,075 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  até  $0,084 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  em um arroio em Novo Hamburgo - RS, porém, como a área de estudo é um arroio, a comparação não pode ser feita de maneira direta. Já Ide (2014), nas análises dos rios da Região Metropolitana de Curitiba (RMC) obteve concentrações variando de  $0,0007 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  até  $0,059 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  sendo que a presença da cafeína estava em todos os rios da RMC. Ide (2014), especificamente no rio Barigui, obteve concentrações variando de  $8,8 \times 10^{-4} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  até  $0,02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Em estudos fora do Brasil a cafeína também já foi detectada como mostram Gardinali e Zhao (2002), os quais obtiveram uma concentração de  $4,1 \times 10^{-5} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  no rio Miami, na Flórida e como mostra García-Navas (2013), que obteve concentração de  $1,37 \times 10^{-5} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de cafeína no rio Manzanares em Madrid.

#### 5.4.2 Estradiol

O estradiol é um hormônio produzido naturalmente pelo corpo e também encontrado em fármacos para reposição hormonal. Este composto foi encontrado apenas no ponto BA1 da coleta realizada em outubro de 2014 sendo que sua concentração foi de  $0,18 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . O primeiro ponto é localizado próximo ao parque Tingui. Este local tem ocupações desordenadas e irregulares além de apresentarem déficit no esgotamento sanitário, fatores que justificam a presença deste hormônio.

Ide (2014) em seu estudo detectou este hormônio em todos os rios analisados, em pelo menos um ponto, sendo que houve uma variação de não detectado até  $5,88 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Especificamente no rio Barigui, Ide encontrou uma concentração de  $1,53 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , sendo plausíveis comparações. Estudos feito por Guimarães (2008) determinou concentração de até  $2,43 \times 10^{-5} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  na cidade de São Carlos - São Paulo, Machado (2010), na bacia do Alto Iguaçu, encontrou uma faixa de concentração de estradiol de  $1 \times 10^{-4}$  a  $1,3 \times 10^{-2} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Já Otomo (2010) estudou a região do rio Paraíba do Sul em 4 cidades (Pindamonhangaba, Taubaté, São José dos Campos e Guararema) e encontrou uma concentração inferior a  $5,5 \times 10^{-4} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  nas 4 cidades.

#### 5.4.3 Etinilestradiol

O hormônio etinilestradiol não foi determinado em nenhuma coleta, porém a coleta de fevereiro foi realizada em um período chuvoso o que prejudica a determinação pela grande diluição da água. Este interferente endócrino é utilizado como anticoncepcional, ou seja, é de origem farmacêutica.

Otomo (2010), na região do rio Paraíba do Sul não determinou concentrações deste hormônio, já Raimundo (2007), em Campinas, encontrou concentrações variando de  $1,1 \times 10^{-4}$  a  $4,39 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Ide (2014) detectou em 19% das amostras analisadas com uma concentração variando de  $6,7 \times 10^{-4}$  até  $1,59 \times 10^{-3} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , mas na análise dos pontos no rio Barigui não houve detecção.

#### 5.4.4 Estrona

Assim como o etinilestradiol, a estrona não foi detectada, resultado esperado, pois é difícil de ser encontrada por ser um hormônio natural.

Ide (2014) determinou este hormônio em apenas um ponto dos 14 analisados encontrando a concentração de  $9,5 \times 10^{-4} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . No rio Barigui, Ide (2014) não detectou em nenhum ponto analisado. Raimundo (2007), em seu estudo, encontrou a estrona em concentração de até  $1,6 \times 10^{-5} \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Já Otomo (2010) não detectou em nenhuma das 4 cidades analisadas, assim como neste trabalho.



## 6. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA FUTUROS ESTUDOS

Este trabalho pretendeu contribuir para o entendimento de um tema pouco abordado no Brasil, mas de conhecimento um pouco mais valorizado em outras partes do mundo, como Estados Unidos e Europa.

Os resultados obtidos seguindo a metodologia de Ide (2014) foram considerados satisfatórios. Dentre os quatro compostos estudados, a cafeína foi o contaminante que mais chamou a atenção devido a sua presença em praticamente todos os pontos amostrados nas coletas, mostrando que o rio Barigui possui influência antrópica. Sua concentração foi 0,05 a 0,87 mg·L<sup>-1</sup>, sendo que está bem acima de outros estudos citados neste trabalho. Em relação aos hormônios o único encontrado foi o estradiol, o qual é de origem natural e sintético, sendo mais fácil a detecção. Já com o etinilestradiol e a estrona não houve determinação, sendo compatível com análises feitas, neste mesmo rio, em anos anteriores.

Entretanto, como outros estudos detectaram a presença destes estrógenos é importante continuar a investigação com estudos ecotoxicológicos também, pois estes interferentes têm potenciais de alterar as condições do meio aquático assim como a feminização de algumas espécies de peixes e répteis que vivem nesses habitats.

É válido também o estudo em águas utilizadas para o consumo humano, pois existem pesquisas comprovando a contaminação com vários contaminantes emergentes não legisladas pelo governo brasileiro e assim como estes contaminantes podem alterar as populações aquáticas podem afetar também a população humana com alterações na tireóide, testículo e mama.

## 7. REFERÊNCIAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária; **Resolução - RE nº899**, de 29 de maio de 2003.

ARIE, W. M. Y.; ARIE, M. H. A.; DA FONSECA, A. M.; HALBE, H. W.; BAGNOLI, V. R. **Manual de Normas Em Estrogênios em Ginecologia Endócrina; Da Fonseca, A. M.; BAGNOLI, V. R.; HALBE, H. W.; PINOTTI, J. A., eds.; Roca: São Paulo, 2004.**

APHA; AWWA; WPC – American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 21 ed, 2005.

BARCELÓ, D.; ALDA, M. J .L.; DÍAZ-CRUZ, S.; **J. Chromatogr.**, v. 1000, p. 503, 2003.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. São Paulo. **Quím. Nova**, v. 30 nº. 3., 2007.

BIRKETT J. W., LESTER J. N.; **Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes**; ISBN 1-56670-601-7; Disponível em: <www.crcpress.com>; 2003.

BUERGE I.J.; POIGER, T.; MULLER, M.D.; BUSER, H.R.; Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters.; **Environ. Sci. Technol.**; v. 37; p. 691-700; 2003.

BOYD, G. R.; REEMTSMA, H.; GRIMM, D. A.; MITRA, S.; **Sci. Total Environ.** v. 311, p. 135-139, 2003.

BOWMAN, J. C.; READMAN, J. W.; ZHOU, J. L.; **Environ. Geochem. Health.** v. 25, p. 63, 2003.

CASTELLANOS, F. X.; Rapoport, J. L.; **Food Chem. Toxicol.** v.40, p.1235, 2002.

CHRISTIAN, G .D. **Analytical Chemistry**, Wiley: New York, 1994.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia.** Editora da Unicamp, 2006.

DE MARIA, C. A. B.; TRUGO, L. C.; CORA, G.; **Quim. Nova**, v. 19, p. 350, 1996.

ERICKSON, B. E.; **Environ. Sci. Technol.**, v. 36, p. 141, 2002.

FATTA, D.; NIKOLAOU, A.; ACHILLEOS, A.; MERIÇ, S. Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 6, 2007.

FERNANDES, C. V. S.; FILL, H. D. O. A.; SANTOS, I.; TOCZECK, A.; Medeiros, M. F.; **Ra'ega**, v.9, p. 67, 2005.

FERREIRA, A. P.; **Cad. Saúde Públ.** v.21, 2005.

FROEHNER, S.; MARTINS, F. M. **Avaliação da composição química de sedimentos do Rio Barigui na Região Metropolitana de Curitiba.** Química Nova, v. 31, n. 8, p. 2020-2026, 2008.

GARCÍA-NAVAS, SARA ESTEBAN. **Niveles de fármacos y disruptores endocrinos en aguas fluviales y potables españolas. Riesgos ecotoxicológicos y para la salud pública.** Tesis doctoral. Facultad de Ciencias de la Salud. 2013

GARDINALI, P.R. & ZHAO, X. Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatograph – atmospheric pressure chemical ionization – mass spectrometry (LCAPCI-MS). **Environment International**, v. 28 p. 521-528, 2002.

GUIMARÃES, TATIANE SANT'ANA. **Deteção e quantificação dos hormônios sexuais 17 BETA-estradiol (E2), Estriol (E3), Estrona (E1) e 17 ALFA-etinilestadiol (EE2) em água de abastecimento: Estudo de caso da cidade de São Carlos, com vistas ao saneamento ambiental.** Mestrado na Universidade de São Paulo. 2008.

GUTENDORF B., WESTENDORF J.; Comparison of an array of in vitro assays for the assessment of the estrogenic potential of natural and synthetic estrogens, phytoestrogens and xenoestrogens; **Toxicol.**; v. 166; p. 79-89; 2001.

GRAY, T. P. R.; JOBLING, S.; MORRIS, S.; KELLY, C.; KIRBY, S.; JANBAKHSH, A.; HARRIES, J. E.; WALDOCK, M. J.; SUMPTER, J. P.; TYLER, C. R.; **Environ. Sci. Technol.**, v. 34, p. 1521, 2000.

HERNANDO, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R.; BARCELÓ, D., **Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments**, Talanta 69 (2006) 334-342, Disponível em: <<<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.037>>>.

IDE, A. H.; CARDOSO, F. D.; DOS SANTOS, M. M.; KRAMER, R. D.; DE AZEVEDO, J. C. R.; MIZUKAWA, A. **Utilização da Cafeína como Indicador de Contaminação por Esgotos Domésticos na Bacia do Alto Iguaçu.** Revista Brasileira de Recursos Hídricos, v. 18, n. 2, p.201-211, 2013.

IDE, Alessandra Honjo. **Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal no Rio Iguaçu e seus Afluentes.** Dissertação de Mestrado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2014.

INMET, **Instituto Nacional de Meteorologia.** Disponível em: <[http://www.inmet.gov.br/sim/gera\\_graficos.php](http://www.inmet.gov.br/sim/gera_graficos.php)> Acesso em: 20 out. 2015.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Quality management systems-guidelines for performanceimprovements**. Rio de Janeiro. NBR 9004:2000. Revisão 01. Mar. 2003.

IPCS (2006), International Programme on Chemical Safety, **International Chemical Safety Cards**. Disponível em:<<http://www.who.int/ipcs/publications/icsc/en>>. Acesso em 31 out. 2015.

**IUPAC, International Union of Pure and Applied Chemistry**, The Nomenclature of Steroids. Disponível em <: <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/steroid/>> Acesso em: 11, fev. 2015.

JOHNSON, A. C.; WILLIAMS, R. J.; **Environ. Sci. Technol.**, v. 38, p. 3649, 2004.

LAI, K. M.; JOHNSON, K. L.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N.; **Environ. Sci. Technol.** v. 34, p. 3890, 2000.

LINTELMANN, J.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; SHORE, L.; WENZEL, A.; **Pure Appl. Chem.**, v. 75, p. 631, 2003.

LORIST, M. M.; **Brain Cogn.** v. 53, p. 82, 2003.

MACHADO, KARINA SCURUPA. **Determinação de hormônios sexuais femininos na bacia do Alto Iguaçu, região metropolitana de Curitiba-PR**. Dissertação de Pós Graduação da Universidade Federal do Paraná. 2010.

MANSILHA, C.; MELO, A.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; DOMINGUES, V.; PINHO, C.; GAMEIRO. Quantification of endocrine disruptors and pesticides in water by gás chromatography-tandem mass spectrometry. Method validation using weighted linear regression schemes. **Journal of Chromatography A**, 2010.

MCGOVERN, P.; MCDONALD, H. S.; **WE&T**, v. 15, p. 35, 2003.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F.; J. **Braz. Chem. Soc.**, v. 22, p. 1452, 2011.

NASSIF M. C., CIMAROSTI H. I., ZAMIN L. L., SALBEGO C. G.; **Estrógeno versus isquemia cerebral: hormônio feminino como agente neuroprodutor.**; Infarma; v. 17; p. 57-65, 2005.

OTOMO, JULIANA IKEBE. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de hormônios, considerados disruptores endócrinos, nas águas destinadas ao abastecimento público na região do rio Paraíba do Sul, SP**. Mestrado do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. 2010.

PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of the emerging environmental contaminants; **Anal. Bioanal. Chem.**; 385, p. 422, 2006.

RAIMUNDO, C. C. M. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia**. 126p. (Mestrado em Química Analítica). Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

RAIMUNDO, C. C. M.; **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas do rio Atibaia**. 2011. Dissertação (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

RAPHAEL, J. W.; **Regul.Toxicol.Pharmacol.** v. 36, p. 118, 2002.

REIS FILHO, R. W.; DE ARAÚJO, J. C.; VIEIRA, E. M.. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. **Quim. Nova**, Vol. 29, No. 4, 817-822, 2006.

REYS, L. L.; **RFML**, v. 6, p. 213, 2001.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RICHARDSON S.D.; TERNES T.A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues; **Anal. Chem.**; 83, p. 4614, 2011.

RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D.; **J. Chromatogr. A**, v. 1045, p. 85, 2004.

SALOMÃO, A.L. S.; SOROLDONI, G.; MARQUES M.. **Avaliação da toxicidade do hormônio sintético 17 -etinilestradiol em microalgas unicelulares *Scenedesmus subspicatus* e *Selenastrum capricornutum***. Artigo apresentado no XII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. 2012.

SANTANA, JOYCE DA SILVA. **Determinação de contaminantes emergentes em mananciais de água bruta e na água para consumo humano no Distrito Federal**. Dissertação de Mestrado. Brasília, Fev. 2013.

SILVA, I. S.; TOLEDO, M. C. M.; **Geochim. Bras.** v. 3, p. 243, 1997.

SILVA, A. P. B.; KLAUCK, C. R.; MONTEIRO, G. S.; BENVENUTTI, T.; RODRIGUES, M. A. S.; OSORIO, D. M. M.; LINDEN, R. **Determinação de cafeína em amostras de água do arroio vila Kunz - Novo Hamburgo, RS, Brasil**. 2013.

SIMEPAR, Tecnologia e Informações Ambientais; **Previsão climática para a primavera/2014: Características climáticas da primavera**. 17 de set., 2014.

SIMEPAR, Tecnologia e Informações Ambientais; **Boletim climático para o Paraná - Outono de 2015**.

SIMMONDS, R. J.; **Chemistry of Biomolecules: An Introduction**, The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 1992.

SMITH, A.; **Food Chem. Toxicol.** v. 40, p. 1243, 2002.

SUDERHSA - **Instituto das Águas do Paraná.** Disponível em: <<<http://www.aguasparana.pr.gov.br>>>. Acesso em: 11 fev. 2015

TABAK, H. H.; BLOMHUFF, R. N.; BUNCH, R. L.; **Dev. Ind. Microbiol.**, v. 22, p. 497, 1981.

TERNES, T. A.; **Trends Anal. Chem.** v. 20, p. 419, 2001.

THOMPSON, R. S.; BERESFOR, N.; SUMPTER, J. P.; **Chemosphere** v. 38, p. 3579, 1999.

TOXNET, **Toxicology Data Network.** Site <[toxnet.nlm.nih.gov](http://toxnet.nlm.nih.gov)>. Acesso em 31 out 2015.

TUBBS, DÉCIO; FREIRE RONALD BASTOS; YOSHINAGA, SUELI. **Utilização da cafeína como indicador de contaminação das águas subterrâneas por esgotos domésticos no bairro de Piranema - Municípios de Seropédica e Itaguaí/RS.** XIII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. 2003.

TYLER, C. R.; ROUTLEDGE, E. J.; **Pure Appl. Chem.** v. 70, p. 1795, 1998.

USEPA, **United States Environmental Protection Agency.** Disponível em: <<http://www.epa.gov/>> Acesso em:15 jan. 2015.

USGS,**United States Geological Survey.** Disponível em: <<<http://toxics.usgs.gov/regional/emc/index.html>>>. Acesso em outubro de 2015.

VELAGALETI, R. R.; **Drug Infor.J.** v. 250, p. 565, 1995.

WEINBERG, B.; BEALER, B. The world of caffeine: the science and culture of the world's most popular drug. **New York: Routledge**, p. 213-316, 2001.