



Instituto de Química
Universidade Estadual de Campinas
Laboratório de Química Ambiental



**Avaliação da Qualidade das Águas Destinadas ao
Abastecimento Público na Região de Campinas:
Ocorrência e Determinação dos Interferentes
Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos
e de Higiene Pessoal (PFHP)**

Aluna: **Gislaine Ghiselli**

Orientador: **Wilson de Figueiredo Jardim**

Tese de Doutorado - Área de Química Analítica

Campinas, 27 de setembro de 2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP**

G345a Ghiselli, Gislaine.
Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP) / Gislaine Ghiselli. -- Campinas, SP: [s.n], 2006.

Orientador: Wilson de Figueiredo Jardim.

Tese - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Qualidade da água. 2. Interferentes endócrinos.
3. GC/MS. 4. PFHP. I. Jardim, Wilson de Figueiredo.
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Título em inglês: Potable water quality in the Campinas region: occurrence and determination of endocrine disruptors (EDs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs)

Palavras-chave em inglês: Water quality, Endocrine disruptors, GC/MS (Gas Chromatography/Mass Spectrometry), PPCPs (Pharmaceutical and Personal Care Products)

Área de concentração: Química Analítica

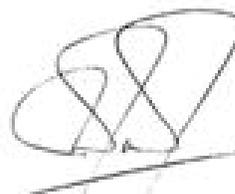
Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Wilson de Figueiredo Jardim (orientador), Gisela de Aragão Umbuzeiro (CETESB); Marina Franco Maggi Tavares (IQ-USP/SP); Carla Beatriz Grespan Bottoli (IQ-UNICAMP); Solange Cadore (IQ-UNICAMP)

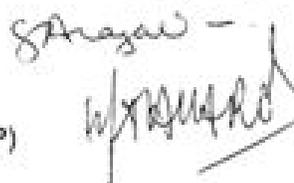
Data de defesa: 27/09/2006

BANCA EXAMINADORA

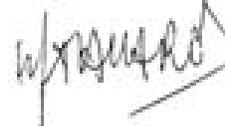
Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim (Orientador)



Dra. Gisela de Aragão Umbuzeiro (CETESB)



Profa. Dra. Marina Franco Maggi Tavares (IQ-USP)



Profa. Dra. Carla Beatriz Grespan Bottoli (IQ-UNICAMP)



Profa. Dra. Solange Cadore (IQ-UNICAMP)



Este exemplar corresponde à redação final da Tese de Doutorado defendida pela aluna **GISLAINE GHISELLI**, aprovada pela Comissão Julgadora em 27 de setembro de 2006.



Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim
(Presidente da Banca)

**“Não deixe que a saudade sufoque,
que a rotina acomode,
que o medo impeça de tentar.
Desconfie do destino e acredite em você.
Gaste mais horas realizando que sonhando,
fazendo que planejando,
vivendo que esperando porque,
embora quem quase morre esteja vivo,
quem quase vive já morreu.”**

Luiz Fernando Veríssimo

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Luiz Carlos e Fátima e ao meu irmão Daniel
pelo amor, carinho e apoio, dedico esta tese.

AGRADECIMENTOS

“O valor das coisas
não está no tempo
em que elas duram,
mas na intensidade
com que acontecem.

Por isso existem
momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e
pessoas incomparáveis”

**A Deus por ter iluminado
o meu caminho com sua luz.**

**Ao Fer, pelo carinho e pelas noites
e noites de companheirismo no laboratório.**

Ao Wilson pela orientação e amizade.

Aos colegas integrantes e ex-integrantes do LQA pela agradável convivência nestes anos de estudo e diversão, e por todas as oportunidades de trabalho em grupo: Aluisio, Andrea, Cassiana, Carlos Fidelis, Carlos Furtado, Cristiane, Daniela, Débora, Edna, Fernanda, Fernando, Gilberto, Gilmar, Juliano, Leonardo, Lorena, Maria Cristina, Marco, Matheus, Nívea, Patrícia, Pedro, Roberta, Tatiana, Tuca e, em especial à Cláudia Barêa (Clau) pela amizade e parceria na organização de alguns eventos do LQA, à Márcia Bisinoti (Marcinha), pela amizade e grande exemplo profissional, e ao Anderson, técnico do laboratório, pela sua presteza.

Aos colegas do GIA com os quais convivi: professores Jarbas, Ivo e Célio, Alexandre, Bitão, Celeste, Eliane, Emerson, Fabiano, Fernandinho, Flávia, Gabriela, Heronides, Ismael, Karime, Kássio, Mário, Pilar, Sílvia e Xaolin.

Ao pessoal da CPG, em especial à Bel e Rodrigo, pela competência na organização deste curso.

Aos professores do Instituto de Química, em especial à Isabel Jardim pelas dicas e ajuda na otimização da extração em fase sólida.

Aos funcionários do Instituto de Química, em especial ao Fontana, sempre muito prestativo e bem humorado.

Ao Instituto de Química da UNICAMP pela infra-estrutura oferecida.

À FAPESP pela bolsa concedida.

À SANASA pela autorização das coletas de água tratada e esgoto.

Aos colegas da FEA/UNICAMP pela agradável convivência em meu trabalho: Betânia, Camila, Carolina, Ciça, Claudinha, Cris, Daniela, Elede, Elizete, Jardette, Juliana, Ligia, Marcão, Marquinho, Margareth, Marina, Milene, Nádia, Nathália, Raquel, Roger, Rogéria, Rosemar, Scherer, Silvia Helena e Sr. Dirceu.

Aos professores Marcelo Prado e Helena Godoy por serem muito mais do que chefes, e pelos dias de afastamento “não oficial” concedido para que eu pudesse concluir esta tese.

A todos os meus familiares e amigos de família, em especial à Vilma e Tadeu, Douglair, Ângela e Edson.

Aos amigos “Temporões”: Naka e Bárbara, Cleber e Gisele, Bonini, Rodrigo, Gilberto e Jack, Bira, Denise e Milena, pelas nossas viagens, conversas, festas, churrascos e muito mais.

Às minhas grandes amigas: Kelen, Maristela, Perla, Michelle, Deborah, Talita, Fabiana, Fabiane, e aos amigos da ETECAP: Du, Galinha, Rachid, Zarias, Hugão, Fabião, Andrei, Gazotti e Bola.

Aos amigos e colegas do Instituto de Química da UNESP, em especial à Thanny e Willy, Débora, Mari, Tati, Carol e Ivan, Fabiana, Frede, Luciana, Renata, Gisele, Fábía, Anderson, Jean e Vinícius, pelos momentos de alegria intensa, stress e farra, e à Prof. Beth pelos conselhos e carinho.

Aos amigos Breda e Ivani, Maria José e Luiz, D. Mercedes e André, Heloísa, Gabriela, Claudinei, Diva e Renor, Célia, Vanessa, Gisele, Estrelita, Irene e Aécio, Leila e Toni, Cristina, Vladimir, Paulo e a todos os nossos guias espirituais, por nos ensinar o verdadeiro sentido da palavra amor.

À Éster Duclos pela amizade e excelência nas aulas de inglês.

Ao Flávio Verdum, terapeuta e amigo, por permitir que todas as minhas angústias fossem liberadas e pela ajuda na busca da felicidade.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação profissional.

MUITO OBRIGADA!

CURRICULUM VITAE

Gislaine Ghiselli ✉ gislaine.ghiselli@gmail.com

Formação Acadêmica

- Pós-Graduação:** Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP
Instituto de Química – Laboratório de Química Ambiental
Doutorado em Ciências
Período: 2001/2006
- Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP
Instituto de Química – Laboratório de Química Ambiental
Mestrado em Química Analítica
Período: 1999/2001
- Superior:** Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP
Instituto de Química - Campus de Araraquara
Bacharelado em Química com Atribuição Tecnológica
Período: 1994/1997
- Médio:** Escola Técnica Estadual “Conselheiro Antônio Prado”- ETECAP
Técnico em Química
Período: 1990/1993

Experiência Profissional

Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP

Química – Laboratório de Análise de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos.

Responsável técnica pelo laboratório de pesquisa. Apoio didático às aulas de pós-graduação.

Prestação de serviços a terceiros (indústrias e centros de pesquisa). Admissão: Abr/2005.

Experiência no Exterior

Participação no Projeto desenvolvido pelos países Brasil/Argentina/Chile.

Coordenadores: Wilson F. Jardim, Marta I. Litter e Héctor D. Mansilla.

CHILE: Degradação de efluentes (EDTA) por Processos Oxidativos Avançados. Utilização de Fenton e foto-Fenton. Laboratorio de Recursos Renovables, Universidad de Concepción, Concepción. Período: Abr-Mai/2000.

ARGENTINA: Degradação de efluentes (EDTA) por Processos Oxidativos Avançados. Utilização de Fenton e foto-Fenton na presença de íons Cu^{2+} . Unidad de Actividad Química, Centro Atómico Constituyentes – CNEA, Buenos Aires. Período: Ago-Set/2000.

Estágios, Atividades Acadêmicas e Prestação de Serviços

Parmalat Brasil S/A Indústria de Alimentos

Análise de Vitaminas A e D₃ em Leite em Pó Integral Vitaminado empregando CLAE.
Período: Set/2005-Nov/2005.

Projeto TACO – NEPA-FEA/UNICAMP

Análise de Niacinas em 80 tipos de alimentos empregando CLAE.
Financiamento do Ministério do Desenvolvimento Social e Combate à Fome (MDS) e Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT/FINEP). Período: Jun/2005-Mai/2006.

COMVEST – UNICAMP

Corretora das Provas de Química da 1ª e 2ª Fase do Vestibular. Período: Jan/2001-Jan/2006.

Projeto de Doutorado – Instituto de Química/UNICAMP

Bolsista FAPESP. Período: Jun/2002-Fev/2005.

Projeto de Mestrado – Instituto de Química/UNICAMP

Bolsista CNPq. Período: Ago/1999-Ago/2001.

Projeto FUNCAMP/Shell Paulínia – Instituto de Química/UNICAMP

Disponibilidade Técnica e Econômica do Uso do Reagente de Fenton na Descontaminação de Solos Contaminados com Drins. Período: Jul/1999-Jul/2000.

Estágio para Conclusão do Curso Bacharelado em Química Tecnológica

Empresa: 3M do Brasil Ltda. - Sumaré-SP. Período: Jan-Fev/1997.

Projeto de Iniciação Científica – Instituto de Química/UNESP

Bolsista FAPESP. Período: Jul/1996-Dez/1997.

Auxiliar Didático/Monitoria da Disciplina de Química Fundamental

Instituto de Química – UNESP. Período: Mar-Dez/1995.

Estágio para Conclusão do Curso Técnico em Química

Empresa: COPERSUCAR - Piracicaba-SP. Período: Fev-Dez/1993.

Publicações

- Ghiselli, G.; Jardim, W.F. (2007). Inteferentes Endócrinos no Ambiente. *Quim. Nova*, in press.
- Ghiselli, G.; Jardim, W.F.; Litter, M.I.; Mansilla, H.D. (2004). Destruction of EDTA using Fenton and photo-Fenton-like Reactions under UV-A Irradiation. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* (167) 59-67.
- Diniz, R.E.O.; Ribeiro, S.J.L.; Messaddeq, Y.; Ghiselli, G.; Nunes, L.A. (1997). Crystallization of Fluorindate and Fluorogallate Glasses. *J. Non-Cryst. Solids* (219) 187-191.

Participação em Eventos Científicos

- Palestrante na 25ª Semana de Engenharia de Alimentos – SEMALIM, 16-22/Jul/2006.
- Participação no III Encontro Nacional de Química Ambiental. Oficina “Segurança Química, Ambiente e Saúde”, 21-24/Mar/2006.
- Participação no I Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas, 20-22/Nov/2005.
- Participação no 7th International Symposium on Advances in Extraction Technologies. Curso “Técnicas de Extração/Pré-Concentração para Análises Cromatográficas”, 13-15/Nov/2005.
- Palestrante no VI Encontro do Instituto Adolfo Lutz, 03-06/Out/2005.
- Apresentação de trabalho na 28ª SBQ, 30/Mai-02/Jun/2005.
- Palestrante e membro da comissão organizadora da I Escola de Química Ambiental do IQ-Unicamp, 26-30/Jul/2004.
- Apresentação de trabalho na 27ª SBQ, 30/Mai-02/Jun/2004.
- Membro da Comissão Organizadora do II Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados, 25-27/Ago/2003.
- Palestrante no Encontro Interno sobre Pesquisas Ambientais na RMC, 07-08/Ago/2003.
- Participação no Workshop “Aspectos Legais da Qualidade da Água. Impacto de Usos Múltiplos e suas Implicações na Portaria MS 1469/00”, 17/Jun/2003.
- Participação no I Seminário Internacional sobre Remediação In-Situ de Sites Contaminados, 04-05/Nov/2002.
- Participação na 4ª Semana de Meio Ambiente Fiesp/Ciesp, 03-07/Jun/2002.
- Apresentação de trabalho e membro da comissão organizadora do I Encontro sobre Aplicações Ambientais de Processos Oxidativos Avançados, 08-10/Out/2001.
- Participação no 11ª ENQA. Curso “Validação de Métodos Analíticos”, 18-21/Set/2001.
- Apresentação de trabalho na 24ª SBQ e participação no Workshop “Ensino de Química Ambiental”, 28-31/Mai/2001.
- Apresentação de trabalho no XL Congresso Brasileiro de Química, 23-26/Out/2000.
- Apresentação de trabalho na 23ª SBQ, 23-26/Mai/2000.
- Participação no II Seminário Internacional sobre Qualidade de Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – CETESB. Membro da Oficina de Trabalho que gerou o Documento de Valores Orientadores para o Estado de São Paulo, 14-15/Mar/2000.
- Participação no Curso “Mega em Análise Instrumental e Procedimentos em Alta Tecnologia Química”, CRQ-4ª Região, Jul-Dez/1999.
- Participação no International Symposium on Glass Crystallization e II Brazilian Symposium on Glass, 03-07/Nov/1996.

RESUMO

Avaliação da Qualidade das Águas Destinadas ao Abastecimento Público na Região de Campinas: Ocorrência e Determinação dos Interferentes Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal (PFHP)

Aluna: Gislaine Ghiselli

Orientador: Wilson de Figueiredo Jardim

Neste trabalho foi avaliada a qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas, através da determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP) na sub-bacia do Atibaia. As atividades desenvolvidas compreenderam três etapas: (1) ocorrência dos IE e PFHP em águas superficiais; (2) adaptação/otimização do procedimento analítico proposto para a extração, concentração e quantificação de uma classe específica de compostos empregando extração líquido-líquido (ELL), extração em fase sólida (SPE) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS); e (3) determinação dos IE e PFHP em águas superficiais, água potável e esgoto doméstico. Os procedimentos analíticos empregados foram efetivos para a identificação e quantificação de dietilftalato, dibutilftalato, cafeína, nonilfenol, androstano, bisfenol A, benzo[a]pireno, coprostanol, colesterol, colestanol, estigmasterol e hormônios sexuais, sendo que a ELL mostrou ser a mais eficiente para a análise quantitativa da maioria dos IE e PFHP monitorados, e SPE empregando cartuchos Oasis[®]HLB a mais indicada para a análise dos hormônios sexuais (estrogênios e progesterona), com base nos valores de recuperação obtidos. Vários PFHP e traçadores de contaminação por esgoto doméstico foram identificados nos extratos: paracetamol, teobromina, vanilina, mentol, esqualeno, tri(butoxietil) fosfato, cafeína e coprostanol. Diversos IE também estiveram presentes, como os ftalatos, 4-nonilfenol, bisfenol A, p-tércio-butilfenol, metoxicloro e clorofeno. Dentre os compostos monitorados, os freqüentemente detectados nas águas superficiais e potável foram: cafeína (1-106 µg/L), dietil e dibutilftalato (0,2-3 µg/L), estradiol (1,8-6 µg/L), etinilestradiol (1-3,5 µg/L), progesterona (1,2-4 µg/L), bisfenol A (2-64 µg/L), colesterol (9-301 µg/L) e coprostanol (5-41 µg/L). Amostras de esgoto bruto e tratado também apresentaram concentrações muito próximas dos hormônios sexuais, indicando a ineficiência do tratamento empregado na ETE para a remoção dos mesmos.

ABSTRACT

Potable Water Quality in the Campinas Region: Occurrence and Determination of Endocrine Disruptors (EDs) and Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs)

Author: Gislaine Ghiselli

Advisor: Wilson de Figueiredo Jardim

In this work, the quality of receiving and drinking water in the Campinas region was evaluated by determination of endocrine disruptors (EDs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the Atibaia river. The study was developed according to: (1) occurrence of EDs and PPCPs in surface waters; (2) optimization of the analytical procedures (extraction, concentration and quantification steps) proposed to quantify a specific class of chemical contaminants, based on the use of both liquid-liquid extraction (LLE) and solid-phase extraction (SPE) as extraction methods and subsequent analysis using gas chromatography with mass spectrometric detection (GC/MS); and (3) determination of EDs and PPCPs in surface and potable waters and effluents of a municipal sewage treatment plant (STP). Analytical procedures employed were effective for the identification and quantification of diethylphthalate, dibutylphthalate, caffeine, nonylphenol, androstane, bisphenol A, benzo[a]pyrene, coprostanol, cholesterol, cholestanol, stigmasterol and steroid sexual hormones. Based on the recovery percentages, LLE was the most efficient method for the quantitative analysis of EDs and PPCPs, although SPE using Oasis[®]HLB cartridges was the most suitable method for the analysis of sexual hormones (estrogens and progesterone). Several PPCPs and faecal biomarkers used to trace sewage pollution were identified in the extracts: paracetamol, theobromine, vanillin, menthol, squalene, tri(butoxyethyl) phosphate, caffeine and coprostanol. Some IEs were also found in the extracts such as 4-nonylphenol, phthalates, bisphenol A, p-tert-butylphenol, methoxychlor and chlorophene. Major compounds detected in surface and potable waters were caffeine (1-106 µg/L), diethyl and dibutyl phthalates (0.2-3 µg/L), estradiol (1.8-6 µg/L), ethynylestradiol (1-3.5 µg/L), progesterone (1.2-4 µg/L), bisphenol A (2-64 µg/L), cholesterol (9-301 µg/L) and coprostanol (5-41 µg/L). Raw and treated sewage samples also showed very close concentrations of sexual hormones due to their partial removal through the STP, as a consequence of the low efficiency of the employed treatment.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	xxiii
LISTA DE TABELAS	xxv
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	xxvii
I – INTRODUÇÃO	03
II – JUSTIFICATIVA	09
III – OBJETIVOS	13
IV – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
IV.1 – A Região Metropolitana de Campinas – RMC	17
IV.2 – Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá	20
IV.3 – A Situação dos Recursos Hídricos Superficiais nas BH-PCJ	24
IV.3.1 – Disponibilidades e Demandas Hídricas	24
IV.3.2 – A Qualidade das Águas	29
IV.3.3 – Saneamento Ambiental	33
IV.4 – Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal – PFHP	40
IV.5 – Interferentes Endócrinos – IE	45
IV.5.1 – O Sistema Endócrino	47
IV.5.2 – Mecanismos de Ação dos Interferentes Endócrinos	49
IV.5.3 – Compostos Classificados como Interferentes Endócrinos	51
IV.6 – Procedimentos Analíticos para a Determinação dos IE e PFHP	62
V – MATERIAIS E MÉTODOS	69
V.1 – Região de Estudo	71
V.2 – Procedimentos de Coleta e Preservação	79
V.3 – Extração/Concentração dos Compostos de Interesse	81
V.3.1 – Extração Líquido-Líquido – ELL	81
V.3.2 – Extração em Fase Sólida – SPE	81
V.4 – Derivatização	83
V.5 – Análise Cromatográfica	85
V.5.1 – Análise Qualitativa	86

V.5.2 – Análise Quantitativa	88
V.6 – Otimização do Procedimento Analítico	94
VI – RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
VI.1 – Parâmetros Físico-Químicos Monitorados	99
VI.2 – Ocorrência dos IE e PFHP em Águas Superficiais	101
VI.3 – Otimização do Procedimento Analítico	112
VI.4 – Determinação dos IE e PFHP em Águas de Abastecimento e Esgoto	120
VI.4.1 – IE e PFHP em Esgoto Doméstico	120
VI.4.2 – IE e PFHP em Águas Superficiais	124
VI.4.3 – IE e PFHP em Água Potável	127
VI.5 – Considerações Finais	130
VII – CONCLUSÕES	137
VIII – PERSPECTIVAS FUTURAS	141
IX – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	145
ANEXOS	159

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Região Metropolitana de Campinas – Densidade populacional	18
Figura 2:	Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos no Estado São Paulo ..	21
Figura 3:	A Região Metropolitana de Campinas inserida na UGRHI 5 e nas BH-PCJ	23
Figura 4:	Resultados mensais e médias anuais dos índices IAP e IVA – 2005	33
Figura 5:	Fórmula de alguns dos produtos farmacêuticos e de higiene pessoal	44
Figura 6:	O sistema endócrino e suas principais glândulas	48
Figura 7:	Disfunções endócrinas	50
Figura 8:	Fórmula dos esteróides e IE utilizados, incluindo os hormônios sexuais	57
Figura 9:	Fórmula dos compostos de origem antrópica utilizados	61
Figura 10:	Mapa da região estudada	71
Figura 11:	Pontos de amostragem no Atibaia e Pinheiros (Sousas-SP)	73
Figura 12:	Pontos de amostragem no Rib. Anhumas (Paulínia-SP)	74
Figura 13:	Pontos de amostragem no Rio Atibaia (Paulínia-SP)	75
Figura 14:	Pontos de amostragem de água tratada (ETA) e esgoto doméstico (ETE) .	77
Figura 15:	Localização dos pontos de amostragem de água potável - Campinas	78
Figura 16:	Amostrador de água utilizado nas coletas	80
Figura 17:	Técnicas de extração empregadas para a determinação dos IE e PFHP	83
Figura 18:	Fluxograma para SPE empregando cartuchos Envi-18 e Envi-Carb	84
Figura 19:	Fluxograma para SPE empregando cartuchos Oasis [®] HLB	85
Figura 20:	Cromatograma típico obtido para as soluções-padrão de IE/PFHP	93
Figura 21:	Cromatograma obtido para amostra do Rio Atibaia - campanha 1. ELL	102
Figura 22:	Cromatograma obtido para amostra do Rib. Anhumas - campanha 1. ELL	102
Figura 23:	Cromatogramas obtidos para Rib. Anhumas - campanha 2. ELL	104
Figura 24:	Cromatograma obtido para Rib. Anhumas - campanha 2. SPE	106
Figura 25:	Cromatogramas após ELL utilizando EtOAc e DCM - campanha 3	106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Áreas de drenagem das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiáí	22
Tabela 2:	Disponibilidades (Q_{total}) das bacias hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiáí	26
Tabela 3:	Demandas para abastecimento público, industrial, irrigação e aquicultura nas BH-PCJ	28
Tabela 4:	Carga orgânica poluidora de origem doméstica: cidades da RMC inseridas na UGRHI 5	35
Tabela 5:	Plano Diretor de tratamento de esgoto de Campinas	38
Tabela 6:	Principais aplicações dos produtos farmacêuticos e de higiene pessoal	42
Tabela 7:	Propriedades físico-químicas relevantes dos PFHP avaliados	45
Tabela 8:	Propriedades físico-químicas relevantes dos esteróides avaliados	56
Tabela 9:	Propriedades físico-químicas relevantes dos compostos antrópicos avaliados	60
Tabela 10:	Campanhas realizadas para a determinação dos IE e PFHP nas águas da RMC	76
Tabela 11:	Descrição dos pontos de coleta de água potável – Campinas	77
Tabela 12:	Parâmetros do CG/MS – Métodos empregados durante as análises nas campanhas 1-3	87
Tabela 13:	Soluções-estoque empregadas no preparo das soluções-padrão– calibração do CG/MS	88
Tabela 14:	Parâmetros do CG/MS – Métodos empregados durante as análises nas campanhas 4-7	89
Tabela 15:	Concentrações das soluções-padrão usadas na calibração do CG/MS. Campanhas 4-6	90
Tabela 16:	Concentrações das soluções-padrão usadas na calibração do CG/MS. Campanha 7	91
Tabela 17:	Parâmetros qualitativos e quantitativos empregados no método EDCQTL.MET	92

Tabela 18: Parâmetros físico-químicos obtidos para as amostras de água e esgoto analisadas	99
Tabela 19: Compostos presentes no Atibaia e Anhumas após ELL – campanha 2	103
Tabela 20: Compostos presentes no Atibaia e Anhumas após ELL – campanha 3	107
Tabela 21: Compostos presentes no Rio Atibaia após SPE – campanha 3	108
Tabela 22: Compostos presentes no Ribeirão Anhumas após SPE – campanha 3	109
Tabela 23: Parâmetros quantitativos obtidos após calibração CG/MS. Campanhas 4-6	113
Tabela 24: Parâmetros quantitativos obtidos após calibração CG/MS. Campanha 7 ...	114
Tabela 25: Valores de recuperação obtidos para os procedimentos usados nas campanhas 4-6	116
Tabela 26: Valores de recuperação obtidos para os procedimentos usados na campanha 7	117
Tabela 27: Precisão do método cromatográfico empregado	119
Tabela 28: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para o esgoto doméstico	121
Tabela 29: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para as águas do Rio Atibaia	125
Tabela 30: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para as águas do Rib. Anhumas	126
Tabela 31: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para os pontos extras	126
Tabela 32: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para a água potável	127
Tabela 33: Comparação entre as concentrações dos IE e PFHP obtidas neste estudo e as obtidas em estudos realizados em outros países	131

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

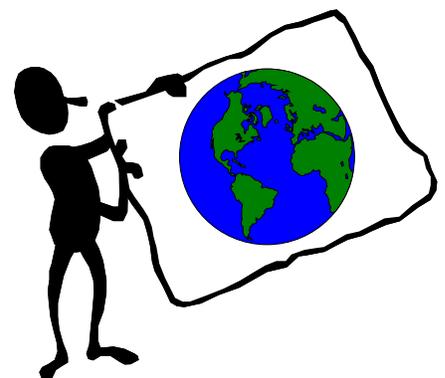
2,4,5-T	Ácido (2,4,5-triclorofenoxi)acético
2,4,5-TP	Ácido (2,4,5-triclorofenoxi)propiônico
2,4-D	Ácido (2,4-diclorofenoxi)acético
AAS	Ácido Acetilsalicílico
Acet	Acetona
ANA	Agência Nacional de Águas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APCI	Ionização Química à Pressão Atmosférica
API	Ionização à Pressão Atmosférica
BHA	Hidroxianisol Butilado
BH-PCJ	Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá
BHT	Hidroxitolueno Butilado ou di- <i>térccio</i> -Butilcresol
BPC	Bifenilas Policloradas
BSTFA	bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida
C18	Sílica Modificada com Silano contendo o Grupo Octadecil
CATI	Coordenadoria de Assistência Técnica Integral
CBH-PCJ	Comitê das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá
CE	Eletroforese Capilar
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo
Cgraf	Carbono Grafitizado
CID	Carbono Inorgânico Dissolvido
COD	Carbono Orgânico Dissolvido
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CPqD	Centro de Pesquisa e Desenvolvimento da Telebrás
CTI	Fundação Centro Tecnológico para a Informática
DAD	Detector por Arranjo de Diodos
DAEE	Departamento de Água e Energia Elétrica do Estado de São Paulo
DB-5	Coluna Capilar com Fase Estacionária 95%dimetil-5% difenilpolissiloxano

DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DCM	Diclorometano ou Cloreto de Metileno
DDD	1,1-Dicloro-2,2-di(p-clorofenil)etano
DDE	1,1-Dicloro-2,2-di(p-clorofenil)etileno
DDT	1,1,1-Tricloro-2,2-di(p-clorofenil)etano
DL ₅₀	Dose Letal (que causa letalidade a 50% dos organismos-teste em um tempo t)
DQO	Demanda Química de Oxigênio
ECD	Detector por Captura de Elétrons
ED	Detector Eletroquímico
EDSTAC	Comitê Consultivo para Avaliação e Diagnóstico de Interferentes Endócrinos
EI	Ionização por Elétrons
ELISA	Enzima-Imuno Ensaio
ELL	Extração Líquido-Líquido
ELLc	Extração Líquido-Líquido Contínua
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ESI	Ionização por Electrospray
ETA	Estação de Tratamento de Água
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
EtOAc	Acetato de Etila
FEHIDRO	Fundo Estadual de Recursos Hídricos
FID	Detector por Ionização em Chama
FL	Detector por Fluorescência
FSH	Hormônio Estimulador do Folículo
GC	Cromatografia Gasosa
GC/MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
HCB	Hexaclorobenzeno
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
IAC	Instituto Agronômico de Campinas

IAP	Índice de Qualidade de Águas Brutas para Fins de Abastecimento Público
IARC	Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IE	Interferentes Endócrinos
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
ITAL	Instituto de Tecnologia de Alimentos
ITI	Instituto Nacional de Tecnologia da Informação
IVA	Índice de Proteção da Vida Aquática
JEA	Agência Ambiental do Japão
K _{OW}	Coefficiente de Partição Octanol-Água
LC	Cromatografia Líquida
LD	Limite de Detecção
LH	Hormônio Luteizante
LQ	Limite de Quantificação
m/z	Relação massa/carga de um determinado íon
MBTFA	<i>N</i> -metilbis(trifluoroacetamida)
MeOH	Metanol
MS	Espectrômetro de Massas
MTBSTFA	<i>N</i> -(<i>tér</i> cio-butildimetilsilil)- <i>N</i> -metiltrifluoroacetamida
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (EUA)
OD	Oxigênio Dissolvido
OSPAR	Comissão de Paris e Oslo
PCJ	Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá
PFHP	Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal
PFTBA	Perfluorotributilamina
POP	Poluentes Orgânicos Persistentes
PVC	Cloreto de Polivinila
RAC	Região Administrativa de Campinas

REPLAN	Refinaria do Planalto, em Paulínia-SP
RIA	Radio-Imuno Ensaio
RMC	Região Metropolitana de Campinas
RMSP	Região Metropolitana de São Paulo
SABESP	Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
SANASA	Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento S/A
SCAN	Modo Íon Total (modo de aquisição de dados do MS)
SEADE	Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados
SIM	Monitoramento do Íon Seleccionado (modo de aquisição de dados do MS)
SPE	Extração em Fase Sólida
SPME	Microextração em Fase Sólida
STP	Substâncias Tóxicas Persistentes
TBDMS	Grupo <i>térccio</i> -butildimetilsilil
TCB	Triclorobenzeno
TELEBRÁS	Empresa Brasileira de Telecomunicações
THM	Trihalometanos
TIC	Corrente Iônica Total
TMS	Grupo Trimetilsilil
t_R	Tempo de Retenção
UFC	Unidades Formadoras de Colônias (usada em análises microbiológicas)
UGRHI	Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos
UKEA	Agência Ambiental do Reino Unido
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
UT	Unidade de Turbidez
UV	Detector por Absorbância no Ultravioleta-Visível
v/v	Proporção em volume da mistura de solventes
VTG	Vitelogenina

I – INTRODUÇÃO



I – INTRODUÇÃO

A água é fundamental para a vida. Seus múltiplos usos são indispensáveis a um largo espectro das atividades humanas onde se destacam, entre outros, o abastecimento público e industrial, a irrigação agrícola, a produção de energia elétrica, as atividades de lazer e recreação e a preservação da vida aquática. Todavia, os modelos de desenvolvimento adotados pelo homem para a agricultura, a pecuária, a indústria e os centros urbanos não têm levado em conta, há muito tempo, o meio ambiente^[1,2].

A crescente expansão demográfica e industrial observada nas últimas décadas trouxe, como conseqüência, o comprometimento das águas dos rios, lagos e reservatórios. A falta de recursos financeiros nos países em desenvolvimento também tem agravado esse problema, principalmente pela impossibilidade da aplicação de medidas corretivas para reverter tal situação^[1,3,4].

As bacias dos Rios Piracicaba e Capivari, parte inseridas na Região Metropolitana de Campinas - RMC, apresentam uma crescente ocupação industrial e adensamento populacional. Em decorrência disso, observa-se um agravamento das condições sócio-ambientais com conseqüente queda da qualidade dos corpos d'água constituintes destas bacias, bem como da qualidade de vida^[3-12].

A inexistência de um planejamento baseado em critérios ambientais e a expansão urbana aleatória e desordenada associada a uma política deficiente de saneamento - que priorizou a coleta e afastamento dos despejos urbanos sem soluções para o seu tratamento - conduziu a um quadro em que, o lançamento desses despejos não tratados em conjunto com as cargas industriais remanescentes vem causando impactos em afluentes e em trechos da calha dos rios, principalmente sobre o Rio Atibaia, um dos formadores da bacia do Rio Piracicaba^[5-7].

O Rio Atibaia é considerado um dos mais importantes mananciais com vistas ao abastecimento público da Região Metropolitana de Campinas. A SANASA (Sociedade de

Abastecimento de Água e Saneamento S/A), empresa responsável pelo gerenciamento das águas e dos esgotos do município de Campinas utiliza, durante a captação, 95% das águas do Rio Atibaia contra apenas 5% do Rio Capivari. Cerca de 98% da população desta cidade, com cerca de um milhão de habitantes, é abastecida com água tratada, através das redes de distribuição. Os outros 2% são abastecidos com caminhões-pipa e torneiras coletivas^[3-7,13,14].

Quanto ao sistema de esgotamento sanitário, embora a coleta e o afastamento do esgoto doméstico atinja mais de 86% da população urbana de Campinas, o seu tratamento ainda é considerado insatisfatório (até o ano 2000, apenas 5% dos esgotos coletados eram tratados em pequenas estações). Segundo a SANASA, grande parte da carga dos esgotos domésticos gerados, mesmo aquela coletada e afastada pela rede pública, vem sendo lançada em córregos e ribeirões que atravessam a área urbana, comprometendo não apenas os demais usos da água disponíveis para a população assentada à jusante, bem como a qualidade ambiental da região^[3-7,13,14].

Modernas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) – as que contemplam desde o tratamento preliminar até o tratamento secundário ou terciário – mostram ser eficientes na descontaminação microbiológica e na remoção de excessivas quantidades de nutrientes, os maiores responsáveis pelos processos de eutrofização de um determinado corpo aquático. Entretanto, dados publicados na literatura indicam que alguns compostos orgânicos de interesse ambiental recente, como os interferentes endócrinos (IE) e os produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP), não conseguem ser biodegradados ou eliminados completamente durante o tratamento. Em adição, quimioterápicos antimicrobianos (antibióticos) e desinfetantes são supostamente considerados como sendo causadores de distúrbios ecológicos em águas superficiais, uma vez que favorecem a criação de bactérias resistentes aos mesmos, denominadas “superbugs”^[15-52].

A maioria dos compostos farmacêuticos está presente na formulação de uma série de medicamentos, inclusive de uso veterinário, como os quimioterápicos antimicrobianos, analgésicos e antiinflamatórios, reguladores lipídicos, antiepilépticos e contraceptivos orais que, após serem aplicados, são total ou parcialmente metabolizados e excretados pelo organismo. Diversos PFHP (e seus metabólitos) como o ácido clofíbrico, ácido acetilsalicílico, cafeína, ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno, e ainda hormônios naturais

e/ou sintéticos e produtos de limpeza como detergentes e desinfetantes, têm sido detectados em amostras de esgotos domésticos tratados, águas superficiais e, em alguns casos, águas potáveis de países como a Alemanha, Espanha, Canadá e EUA^[15-52]. Entretanto, no Brasil, pouco se sabe sobre a origem, ocorrência e destino destes compostos no ambiente

Muitos dos interferentes endócrinos listados por algumas organizações como a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos – USEPA, a Agência Ambiental do Reino Unido – UKEA, a Agência Ambiental do Japão – JEA e a Comissão de Paris e Oslo – OSPAR, também estão classificados numa série de grupos de compostos orgânicos potencialmente tóxicos, tais como os micropoluentes orgânicos, substâncias tóxicas persistentes (STP), poluentes orgânicos persistentes (POP), poluentes emergentes, dentre outros. A União Européia também elaborou um relatório contendo uma vasta lista de compostos suspeitos de interferir no sistema endócrino, tanto de seres humanos como de diferentes espécies animais, com base em seus estudos. Foram identificadas 118 substâncias, sendo 12 destas designadas prioritárias para a condução de estudos mais detalhados. São elas: dissulfeto de carbono, orto-fenilfenol, difenil éter tetrabromado, 4-cloro-3-metilfenol, resorcinol, 2,4-diclorofenol, 2,2'-bis(4-(2,3-epoxipropoxi)fenil)propano, 4-nitrotolueno, 4-octilfenol, etinilestradiol, estrona e estradiol^[16-20,22,24,53-55].

Embora alguns estudos científicos já terem relatado, há mais de 20 anos, a ocorrência no meio ambiente de algumas substâncias classificadas como interferentes endócrinos, apenas nos últimos 10 anos é que pesquisas nesta área começaram a ser intensificadas, principalmente nos países europeus e EUA, visando não apenas a determinação analítica dos mesmos nos mais variados compartimentos ambientais e a identificação de suas principais fontes, como também buscando desenvolver procedimentos analíticos que permitam avaliar os mecanismos de ação destas substâncias no sistema endócrino de animais, incluindo os seres humanos. Todavia, estes estudos de toxicidade ainda representam uma pequena parcela dos trabalhos publicados^[56-82] frente aos inúmeros procedimentos que vem sendo desenvolvidos para a determinação dos mesmos em amostras ambientais como água superficial, água potável e esgoto doméstico tratado^[16].

Os equipamentos utilizados nestas determinações, em geral, são bastante sofisticados e apresentam elevada detectabilidade, enquanto que os procedimentos de

extração, concentração e quantificação dos produtos farmacêuticos e de higiene pessoal e dos possíveis interferentes endócrinos são bastante minuciosos^[83-145]. Dentre os métodos modernos de análise, a cromatografia gasosa ocupa um lugar de grande destaque devido à facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação das mais diferentes espécies químicas, por si mesma ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise como a espectrometria de massas.

II – JUSTIFICATIVA



II – JUSTIFICATIVA

O processo de desconcentração industrial da Região Metropolitana de São Paulo transformou a região que abrange as Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá (Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos- UGRHI 5) em uma das frentes mais avançadas da economia paulista, com destaque para a elevada diversificação de sua base produtiva e para a importância da presença de plantas industriais intensivas em capital e tecnologia, concentradas principalmente nos municípios de Sumaré, Indaiatuba e Paulínia^[5,6].

Embora a UGRHI 5 seja caracterizada como uma região industrializada com sérios problemas ambientais decorrentes da poluição dos corpos d'água pelos esgotos industriais, apresenta ainda grandes deficiências nos serviços básicos de saneamento ambiental, principalmente pela falta de coleta e tratamento dos esgotos domésticos gerados na região^[3,9,10].

Diante deste cenário, fica notória a gravidade da situação com relação à disponibilidade e qualidade das águas da UGRHI 5, decorrente das altas demandas verificadas e dos lançamentos nos cursos d'água de cargas poluidoras provenientes dos esgotos urbanos e industriais. Já foram constatados, em diversos trechos das sub-bacias constituintes desta UGRHI, avançados estágios de degradação dos mananciais, apontados pelos parâmetros em não conformidade avaliados pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB, o órgão de fiscalização ambiental do Estado de São Paulo, frente aos definidos pela Resolução Federal CONAMA 357/05^[146].

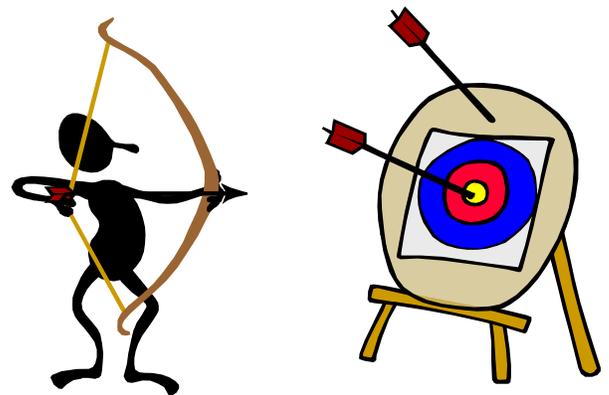
Diversos compostos orgânicos presentes nestes corpos d'água, embora não contemplados nas legislações ambientais brasileiras, também necessitam ser avaliados por apresentarem elevada toxicidade, sobretudo aqueles classificados como interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal. Portanto, a identificação destes compostos e a determinação de suas concentrações, para a monitoração de parâmetros e

indicadores da qualidade das águas que atenda aos órgãos de fiscalização e controle ambiental ou para a pesquisa científica, precisam ser realizadas, exigindo muitas vezes métodos analíticos de elevada detectabilidade e poder de resolução.

Este trabalho contribui para o entendimento do nível de contaminação no qual se encontram as águas da Região Metropolitana de Campinas e qual é a participação dos esgotos domésticos lançados na sub-Bacia do Atibaia. É importante mencionar que, a escolha da sub-Bacia do Atibaia como matriz de estudo teve como base sua escala regional e importância dentro da RMC, a quantidade e complexidade dos poluentes presentes (resíduos de atividades agrícolas e esgotos municipal e industrial), bem como sua potencialidade frente à exposição humana.

Este trabalho também poderá ser usado como um incentivo na realização de novos estudos envolvendo tais substâncias. Além disso, pretende-se levar ao conhecimento dos órgãos legisladores e de controle ambiental, dados que possam ser utilizados, futuramente, como base em estudos ecotoxicológicos, bem como em avaliações de risco frente à exposição da população a tais compostos através do consumo da água potável.

III – OBJETIVOS



III – OBJETIVOS

- **PRINCIPAL**

- Avaliar a qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas através da determinação de alguns compostos orgânicos classificados como interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP), usando como matriz as águas superficiais da sub-Bacia do Atibaia e água potável distribuída à população.

- **ESPECÍFICOS**

– Identificar e monitorar diversos poluentes ambientais representativos do aporte poluidor urbano na região como os IE e PFHP através da análise qualitativa de amostras de água superficial e potável, dando ênfase aos hormônios sexuais e alguns “traçadores” de atividade humana como a cafeína e o coprostanol. Considera-se este trabalho pioneiro no Brasil uma vez que a comunidade científica não dispõe, até o momento, de tais informações.

– Adaptar e otimizar um procedimento analítico para a extração, concentração e quantificação de uma classe específica de IE e PFHP, empregando extração líquido-líquido (ELL), extração em fase sólida (SPE) e cromatografia gasosa com espectrometria de massas (GC/MS).

– Quantificar uma classe específica de IE e PFHP, escolhida de acordo com os possíveis efeitos no sistema endócrino, persistência no meio ambiente, biodisponibilidade para certos organismos e ocorrência nas matrizes avaliadas, empregando-se o procedimento analítico otimizado.

– Divulgar a problemática envolvendo a presença dos interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal no ambiente, disponibilizando os resultados obtidos para instituições interessadas, incentivando desta maneira a elaboração de novos projetos sobre este tema.

IV – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA



IV – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

IV.1 – A Região Metropolitana de Campinas – RMC

A Região Metropolitana de Campinas – RMC, institucionalizada através da Lei Complementar Estadual nº 870 de junho de 2000, é considerada um dos maiores aglomerados urbanos do Estado. Atualmente, vivem nesta região cerca de 2,5 milhões de habitantes distribuídos por 19 municípios que ocupam uma área de 3.673 km² e aproximadamente 443 km de extensão, equivalente a 1,5% do território paulista^[5,6].

Dos 19 municípios que compõem a RMC, Campinas possui a maior parcela do território metropolitano com área territorial de 796 Km², ocupando a área urbana uma extensão de 388,9 km². Sua população é cerca de 1 milhão de habitantes, com 98% desta estabelecida na zona urbana. Nova Odessa e Holambra, ambas com 62 km² de extensão, constituem os menores municípios em termos de área. Do ponto de vista político-administrativo, 200 anos separam a criação do município mais antigo - Campinas - daqueles emancipados mais recentemente, no início da década de 90: Engenheiro Coelho, Hortolândia e Holambra^[5,6,14].

A RMC concentra 1,4% da população brasileira e 6,3% da estadual, sendo que o município de Campinas abriga 41,5% dos habitantes da RMC, conforme ilustrado na Figura 1. O município de Campinas passou a ser formalmente a sede da RMC, sendo também a sede da Região Administrativa de Campinas (RAC), que abarca sete Regiões de Governo: Bragança Paulista, Jundiaí, Limeira, Piracicaba, São João da Boa Vista, Rio Claro, além da própria Região de Campinas, compreendendo 90 municípios com aproximadamente 5 milhões de habitantes^[5,6,14].

Nos anos 70, o crescimento industrial da RMC já era superior ao da Grande São Paulo, fato que, aliado à modernização agrícola a tornava um importante pólo regional. Na

década de 80, apesar da crise econômica, a RMC manteve sua posição de destaque no cenário estadual e nacional. Nesse período iniciou-se um crescimento populacional intenso marcado principalmente pelos fluxos migratórios em vários municípios, alguns apresentando taxas superiores àquelas registradas pelo município-sede, Campinas. Nos anos 90 iniciaram-se algumas mudanças nesse cenário com o aumento do desemprego, fechamento ou mudança de indústrias para outros Estados, e ainda problemas com a produção agrícola trazendo sérias conseqüências sociais para a região^[5].

O parque produtivo da RMC caracteriza-se pelo perfil bastante complexo das atividades econômicas, destacando-se pela presença de empresas modernas de alta tecnologia, articuladas em complexas cadeias de produção, como é o caso das montadoras de veículos e do setor de telecomunicações. Destacam-se ainda os segmentos de metalurgia, mecânica, informática e microeletrônica. A agricultura regional distingue-se também, no âmbito do país, pelo emprego de técnicas modernas de manejo e pela variedade de culturas, sendo algumas fortemente integradas ao setor industrial através do processamento ou da industrialização dos produtos, como é o caso da cana-de-açúcar, laranja e café^[5,6].

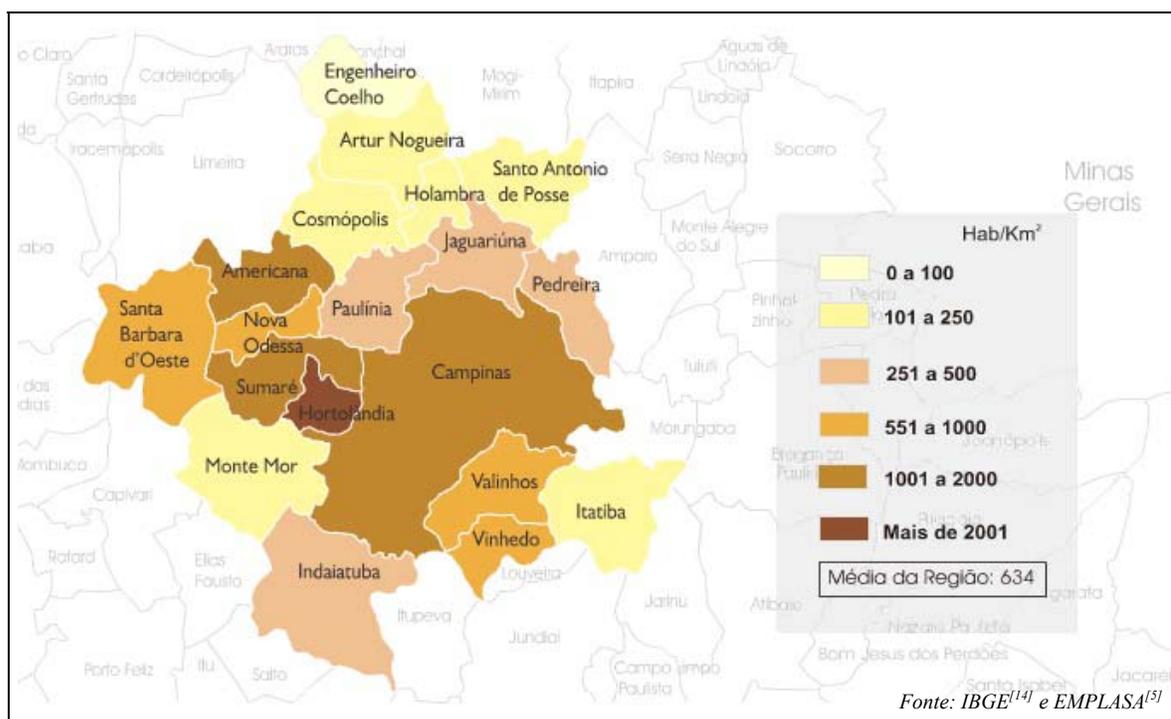


Figura 1: Região Metropolitana de Campinas – Densidade populacional.

Outra característica marcante da economia regional é a intensa cooperação entre os diversos institutos de pesquisa e tecnologia aplicadas às atividades agrícolas e urbanas. O intercâmbio com os centros de pesquisa vem resultando em crescentes ganhos de competitividade nos mercados interno e externo. Destacam-se o Centro de Pesquisa e Desenvolvimento (CPqD-Telebrás), o Instituto Agrônômico de Campinas (IAC), a Fundação Centro Tecnológico para a Informática (CTI), a Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), o Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), o Instituto Biológico de Campinas, o Instituto Nacional de Tecnologia da Informação (ITI), o Instituto de Zootecnia, o Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), dentre outros. A Região também se destaca como um importante centro inovador no campo da pesquisa acadêmica, situando-se como um dos maiores centros universitários do Brasil com destaque para as universidades Puccamp e Unicamp, com mais de 48 mil alunos matriculados no ensino superior^[5,6].

A RMC é, sem dúvida, um importante corredor de exportação e importação de nível nacional. Por contar com essa complexa infra-estrutura para as transações comerciais é alvo de investimentos diversificados por parte do capital estrangeiro. Por outro lado, o crescimento das cidades desta região e a rápida expansão da sua agricultura, indústrias e serviços formaram um dinâmico mercado de trabalho que não logrou absorver a totalidade dos intensos fluxos demográficos que se dirigiram para esta região, gerando um processo de periferização das camadas sociais de menor poder aquisitivo. A estagnação econômica dessas duas últimas décadas, com desemprego e deteriorização da renda real dos trabalhadores, culminou na gestação de um dos mais sérios focos de violência no país. O crescimento demográfico urbano acelerado, acompanhado dos mesmos perfis regressivos da renda pessoal, gerou pressão enorme sobre as demandas sociais que o Estado não soube ou não pôde atender. Conseqüentemente, habitação e saneamento passaram a ser dois dos mais graves problemas da RMC^[5,6].

Em adição, a escassez de recursos financeiros e a ausência de uma gestão metropolitana na RMC afetaram significativamente a qualidade dos serviços oferecidos e a organização do crescimento das cidades da região. Esta situação continua bastante crítica no que concerne à administração dos recursos hídricos (que inclui a captação, tratamento e abastecimento de água, e a coleta e tratamento de esgotos e resíduos sólidos), uma vez que, se não abordados de forma conjunta, lixo e esgoto não tratados de um município

tendem a aumentar a degradação ambiental e elevar os custos do tratamento nos demais, em vista da integração territorial que os cursos d'água provocam. Para garantir a qualidade de vida e saúde à população é imprescindível que se estabeleçam ações do poder público voltadas ao saneamento ambiental. Assim sendo, a gestão dos recursos hídricos constitui um dos principais problemas a serem enfrentados pelo conjunto de municípios que compõe a RMC^[6].

IV.2 – Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí

A importância do recurso água para a qualidade de vida das populações, principalmente aquelas de grandes centros urbanos e industriais, fez o governo estadual dividir o Estado de São Paulo em 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI), conforme mostrado na Figura 2, através da Lei Estadual nº 7.663 de dezembro de 1991, que instituiu a política estadual de recursos hídricos e o sistema integrado de gerenciamento de recursos hídricos. A estrutura destas UGRHI é baseada nos Comitês de Bacia que constituem os principais colegiados de decisão, integrados por municípios e entidades da sociedade civil sediadas na bacia. O conjunto dos comitês é representado no CORHI – Conselho Estadual de Recursos Hídricos – e as ações, definidas em cada comitê, são financiadas pelo Fundo Estadual de Recursos Hídricos – o FEHIDRO^[3,6,9,10].

Em atendimento ao que preceitua a Lei Estadual nº 7.663/91 foi criado, em 18 de novembro de 1993, o Comitê das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí (CBH-PCJ), cuja competência está em gerenciar os recursos hídricos destas bacias, visando à recuperação, preservação e conservação das mesmas^[3,9,10].

De 1993 a 1995, o CBH-PCJ elaborou relatórios de situação dos recursos hídricos da UGRHI 5, utilizando metodologia própria. Foram levantadas várias informações e realizadas análises de consistência e interpretação de dados dos 57 municípios paulistas pertencentes a esta unidade de gerenciamento, tendo como produto final deste projeto o Relatório de Situação 1999, denominado “Relatório Zero”^[9]. Em março de 2003, com a implantação do Comitê Federal das Bacias do PCJ, com abrangência em São Paulo e também Minas Gerais, foram criadas diversas câmaras técnicas. Na Câmara Técnica do Plano de Bacia foi formado um grupo de acompanhamento dos relatórios de situação que

orientou os trabalhos do Relatório de Situação 2002/2003, contando com representantes de diversos segmentos da sociedade. Neste relatório, denominado “Relatório Um”^[10], uma das maiores dificuldades encontradas foi a delimitação dos municípios que fazem parte das BH-PCJ. Isto ocorreu devido ao relatório em questão ter como área de estudo o limite geográfico da Bacia Federal dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiá e não mais o limite estabelecido pela UGRHI 5 (Estado de São Paulo), utilizado em relatórios anteriores. Assim sendo, além dos 57 municípios pertencentes a UGRHI 5, o município paulista de Mairiporã e os municípios mineiros Camanducaia, Extrema, Itapeva e Toledo foram também adicionados, totalizando 62 municípios. Todavia, esses incrementos limitaram possibilidades comparativas entre dados atuais e dos relatórios anteriores^[10].

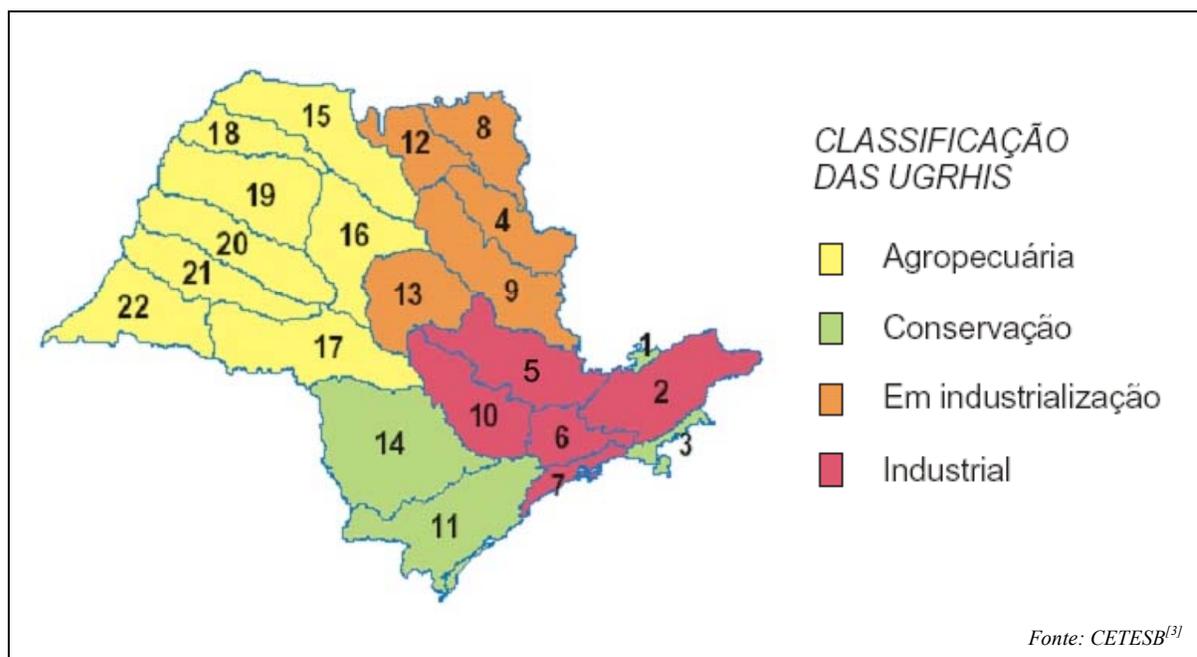


Figura 2: Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos no Estado de São Paulo.

Este novo relatório, disponibilizado pelo CBH-PCJ, vem sendo utilizado como base para o diagnóstico dos recursos hídricos das respectivas bacias hidrográficas e como orientação para o estabelecimento das metas e conjuntos de ações de gestão e intervenção do Plano Estadual de Recursos Hídricos 2004-2007^[8,10,12].

Dentro do novo limite geográfico estabelecido, as Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá apresentam uma área de drenagem de 15.303,67 km². Esta

área tem 92,6% de sua extensão localizada no Estado de São Paulo e 7,4% no Estado de Minas Gerais e está situada entre os meridianos 46° e 49° oeste e latitudes 22° e 23,5° sul, apresentando extensão aproximada de 300 km no sentido leste-oeste e 100 km no sentido norte-sul^[10].

Em termos hidrográficos, há sete unidades principais nas BH-PCJ sendo cinco sub-Bacias pertencentes à Bacia do Piracicaba (Rios Atibaia, Camanducaia, Corumbataí, Jaguari e Piracicaba), além das Bacias do Capivari e Jundiáí^[10], como descrito na Tabela 1.

A região das bacias hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiáí, embora tenha sido muito utilizada para agricultura e apresente grande crescimento urbano-industrial iniciado em meados de 1970, em decorrência da descentralização das atividades da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) em direção ao interior do Estado, é uma importante área de biodiversidade. Possui remanescentes da Mata Atlântica com a mesma fisionomia da Serra do Mar. O clima sofre influência das massas de ar atlânticas polares e tropicais, provocando diferenças regionais dadas pela distância em relação ao mar e por fatores topoclimáticos como as serras do Japi e de São Pedro. O regime pluviométrico é tropical típico, com um período chuvoso iniciando-se em outubro e findando em abril, e um período de estiagem no período de maio a setembro. Os índices médios de precipitação variam entre 25 e 40 mm mensais para os meses menos chuvosos (julho e agosto) e 190 a 270 mm para os meses de dezembro e janeiro, considerado o período de maior precipitação. Já o índice médio de precipitação anual varia de 1200 a 1800 mm^[3,10].

Tabela 1: Áreas de drenagem das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiáí.

<i>Sub-Bacia/Bacia</i>	<i>Área – SP (km²)</i>	<i>Área – MG (km²)</i>	<i>Área Total (km²)</i>	<i>Área Total (%)</i>
1 – Rio Atibaia	2.828,76	39,98	2.868,74	18,7
2 – Rio Camanducaia	870,68	159,32	1.030,00	6,7
3 – Rio Corumbataí	1.679,19	---	1.679,19	11,0
4 – Rio Jaguari	2.323,42	966,58	3.290,00	21,5
5 – Rio Piracicaba	3.700,79	---	3.700,79	24,2
Total Bacia Piracicaba	11.402,84	1.165,88	12.568,72	82,1
Total Bacia Capivari	1.620,92	---	1.620,92	10,6
Total Bacia Jundiáí	1.114,03	---	1.114,03	7,3
TOTAL BH-PCJ	14.137,79	1.165,88	15.303,67	100

Fonte: Relatório Um, CBH-PCJ^[10]

A UGRHI 5, inserida nas BH-PCJ, abrange áreas de 71 municípios dos quais somente 57 têm suas sedes localizadas na área compreendida pela Unidade, com população total de 4.764.057 habitantes e densidade populacional de 332,82 hab/km², estimadas em 2005 pela Fundação SEADE^[147]. A taxa de urbanização é de 93,72% nos municípios do CBH-PCJ, sendo 94,08% no trecho paulista e 62,86% no trecho mineiro. Os municípios com sede nesta UGRHI são também pertencentes à Região Administrativa de Campinas (RAC)^[3,9,10].

Em termos sócio-econômicos, a UGRHI 5 apresenta um parque industrial bastante significativo, com renda *per capita* superior à média paulista, configurando-a como a região mais dinâmica do interior do Estado. Um dos cenários de crescimento desta região é a implantação do gasoduto Brasil-Bolívia, cuja REPLAN está integrada^[9,10].

A RMC encontra-se na sua quase totalidade - exceto pelo município de Engenheiro Coelho - inserida na UGRHI 5, como mostrado na Figura 3. A sub-Bacia do Atibaia, um dos principais corpos d'água desta região, drena, parcial ou totalmente, os municípios paulistas de Americana, Campinas, Jaguariúna, Nova Odessa, Paulínia, Valinhos, Vinhedo, Itatiba, Jarinu, Morungaba, Atibaia, Bom Jesus dos Perdões, Bragança Paulista, Joanópolis, Nazaré Paulista e Piracaia, pertencentes a UGRHI 5, e o município de Camanducaia, no Estado de Minas Gerais^[6,9,10].

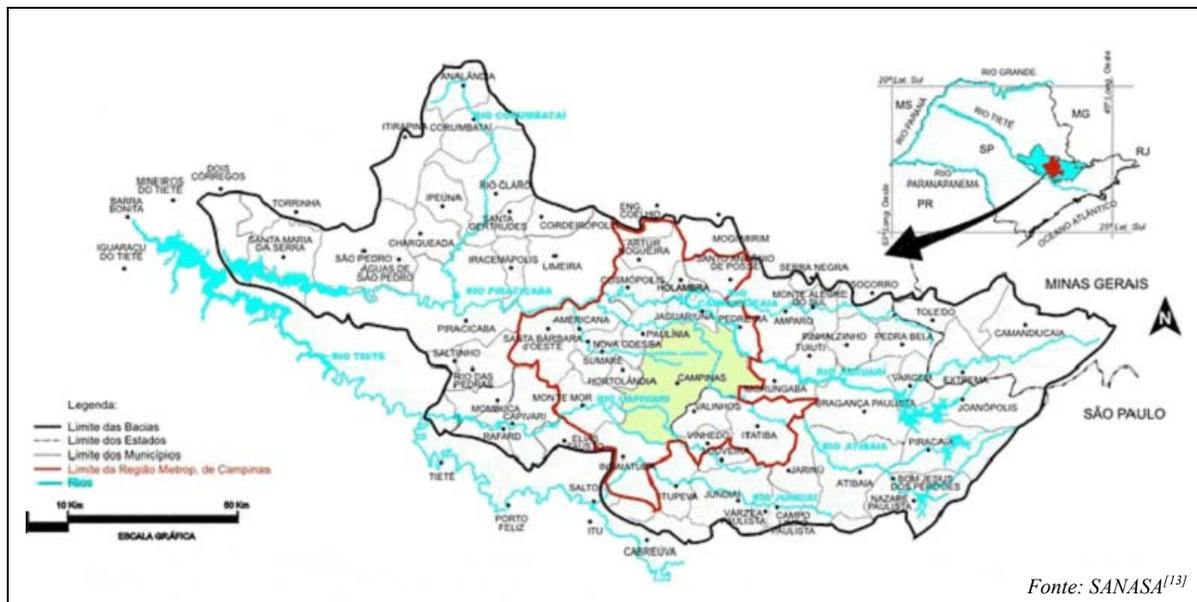


Figura 3: A Região Metropolitana de Campinas inserida na UGRHI 5 e nas BH-PCJ.

O Rio Atibaia é considerado um dos mais importantes mananciais com vistas ao abastecimento público desta região. A SANASA utiliza durante a captação 95% das águas do Rio Atibaia e apenas 5% do Rio Capivari. Cerca de 98% da população é abastecida com água tratada, através das redes de distribuição (os outros 2% são abastecidos com caminhões-pipa e torneiras coletivas), mas apenas 34% dos despejos coletados são tratados. Grande parte da carga dos esgotos domésticos, mesmo aquela coletada e afastada pela rede pública, vem sendo lançada em córregos e ribeirões que atravessam a área urbana, comprometendo os demais usos da água disponíveis para a população localizada à jusante, bem como a qualidade ambiental da região. Já existe um Plano Diretor para o tratamento de esgotos em Campinas, para a construção de novas ETE com capacidade para tratar 90% dos esgotos da cidade até 2008^[3,6,9,10,13].

IV.3 – A Situação dos Recursos Hídricos Superficiais nas BH-PCJ

IV.3.1 – Disponibilidades e Demandas Hídricas

O balanço entre a disponibilidade de água e a demanda de uma determinada bacia hidrográfica é um processo dinâmico e pontual, cuja associação entre quantidade e qualidade da água deve ser sempre considerada. Para ser cientificamente conduzido e apresentar validade em termos de utilização pelo CBH-PCJ, este processo deve incluir a quantificação numérica destas mesmas disponibilidades e demandas. Dadas às peculiaridades dos recursos hídricos, cujas disponibilidades variam no tempo e espaço de forma relativamente complexa, assim como as demandas variam de acordo com o crescimento e desenvolvimento sócio-econômico da bacia, a quantificação dessas variáveis foi imposta estabelecendo-se valores básicos de comparação^[9].

A rede hidrológica das BH-PCJ é operada pelo Departamento de Água e Energia Elétrica do Estado de São Paulo – DAEE, responsável também por regulamentar os serviços de abastecimento e saneamento básico no Estado. Desde 1980, o DAEE vem desenvolvendo metodologia de regionalização para estimar as disponibilidades hídricas das bacias hidrográficas do território paulista com deficiência de dados hidrológicos. Este estudo de regionalização hidrológica é baseado nos totais anuais precipitados em 444 postos pluviométricos, nas séries de descargas mensais observadas em 219 estações

fluviométricas e nas séries históricas de vazões diárias de 88 postos fluviométricos. A aplicação desse estudo nas BH-PCJ fornece uma visão geral das disponibilidades hídricas superficiais desta unidade^[10-12].

É importante ressaltar que os recursos hídricos superficiais das BH-PCJ, em particular os da bacia do Piracicaba, não se encontram em sua totalidade à disposição para uso na própria região, já que uma parcela substancial é revertida, através do Sistema Cantareira, para a Bacia do Alto Tietê que é a responsável pelo abastecimento de 60% da população da RMSP. O Sistema Cantareira foi criado na década de 70, a partir da autorização à Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – SABESP, para derivar as águas dos rios Jaguari, Cachoeira e Atibainha (Portaria 750/74 do Ministério das Minas e Energia^[148]), pelo prazo de 30 anos. Para efetuar esta exportação foram implantados 3 reservatórios nas cabeceiras da Bacia do Piracicaba (Jaguari-Jacaréi, Atibainha e Cachoeira), para regularizar e transferir 31 m³/s para a RMSP e simultaneamente possibilitar a garantia de uma vazão de 15 m³/s no Rio Atibaia, em Paulínia, e 40 m³/s no Rio Piracicaba, na cidade de Piracicaba^[10-12,149,150].

O Sistema Cantareira é o principal complexo de abastecimento da RMSP, disponibilizando água para cerca de 8 milhões de pessoas. Em agosto de 2004, a outorga desse sistema foi renovada pelos órgãos gestores – Agência Nacional de Águas-ANA e DAEE, após intensas discussões sobre as propostas apresentadas^[150]: de um lado a SABESP, que defendia a continuidade da outorga por mais 30 anos mantendo-se a vazão de 31 m³/s para a RMSP, sem definição de vazões para as bacias do PCJ; de outro o CBH-PCJ, que defendia a renovação por mais 10 anos e estabelecia vazões máximas de transferência para a RMSP em até 31 m³/s e vazão mínima para as bacias do PCJ, que aumentaria gradativamente de 4 m³/s para 7 m³/s até 2010, mantendo-se esta vazão até 2014. O CBH-PCJ incluía ainda como responsabilidade da SABESP o tratamento do esgoto nos 22 municípios das bacias nos quais a companhia é concessionária, a aplicação de programas de controle de perdas, reuso e uso racional da água, recuperação de mata ciliar e educação ambiental, defendendo o planejamento do abastecimento de água e a integração de políticas públicas no Estado de São Paulo. Da decisão dos órgãos gestores foi criada a Resolução Conjunta ANA/DAEE nº 428/04^[151], que propõe as diretrizes de operação deste sistema^[149,150,152-154].

Além da exportação de água da bacia do Piracicaba para a RMSP, ocorrem também na área destas bacias transposições internas tais como a subdivisão de água do Rio Atibaia para o Rio Jundiá-Mirim visando o abastecimento do município de Jundiá; a subdivisão de água da sub-Bacia do Atibaia para as bacias do Capivari e Piracicaba, através do sistema de abastecimento de água de Campinas; e a subdivisão de água da sub-Bacia do Jaguari para as sub-Bacias do Atibaia e Piracicaba. Deste modo, as disponibilidades hídricas superficiais destas sub-bacias são resultantes das seguintes parcelas: vazões naturais correspondentes às contribuições dos trechos das respectivas sub-bacias, à jusante dos reservatórios do Sistema Cantareira (Q_n); vazão descarregada pelo Sistema Cantareira nos Rios Jaguari e Atibaia (Q_d); vazão proveniente de importação (Q_i); vazão exportada (Q_e); e vazão total ou disponibilidade (Q_{total}), reportada como a vazão mínima média de 7 dias consecutivos e período de retorno de 10 anos ($Q_{7,10}$) e vazão mínima com 95% de permanência ($Q_{95\%}$), conforme mostrado na Tabela 2. A vazão $Q_{7,10}$ é também a medida necessária para o estudo da autodepuração dos corpos hídricos, ou seja, a capacidade de restabelecimento do equilíbrio de um dado corpo d'água, naturalmente, após o aporte de poluentes^[11,155].

Tabela 2: Disponibilidades (Q_{total}) das bacias hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá.

<i>Bacias/sub-Bacias</i>	Q_n (m^3/s)		Q_d (m^3/s)	Q_i (m^3/s)	Q_e (m^3/s)	<i>Disponibilidades</i> (m^3/s)	
	$Q_{7,10}$	$Q_{95\%}$				$Q_{7,10}$	$Q_{95\%}$
Rio Atibaia	7,32	11,01	3,00	1,17	2,31	9,78	12,87
Rio Camanducaia	3,75	5,59	---	---	---	3,75	5,59
Rio Corumbataí	4,96	8,06	---	0,03	0,44	4,55	7,65
Rio Jaguari	9,13	13,62	1,00	---	2,20	7,93	12,42
Rio Piracicaba	26,93	41,62	---	2,67	0,02	29,58	44,27
Total Bacia Piracicaba	26,93	41,62	4,00	3,89	4,98	29,84	44,53
Total Bacia Capivari	2,50	4,33	---	1,53	0,24	3,79	5,92
Total Bacia Jundiá	2,26	3,92	---	1,03	---	3,65	4,95
TOTAL BH-PCJ	31,69	49,87	4,00	6,45	5,22	37,28	55,10

Fonte: Plano de Bacia 2000-2003, CBH-PCJ^[11]

Já o uso dos recursos hídricos é classificado conforme a sua finalidade, segundo a Portaria DAEE 717/96, obedecendo oito discriminações: (1) industrial, para uso em empreendimentos industriais, nos seus sistemas de processo, refrigeração, uso sanitário,

combate a incêndios e outros; (2) urbano, para toda água captada que vise, predominantemente, ao consumo humano de núcleos urbanos (sede, distritos, bairros, vilas, loteamentos, condomínios, etc); (3) irrigação, para uso em culturas agrícolas; (4) rural, para uso em atividade rural como aqüicultura e saciação da sede de animais, exceto a irrigação; (5) mineração, para a água utilizada em processos de mineração, incluindo lavra de areia; (6) recreação e paisagismo, para uso em atividades de recreação tais como piscinas, lagos para pescaria, bem como para a composição paisagística de propriedades (lago, chafariz, etc), dentre outros; (7) comércio e serviços, para uso em empreendimentos comerciais e de prestação de serviços, seja para o desenvolvimento de suas atividades ou uso sanitário (shoppings, postos de gasolina, hotéis, clubes, hospitais, etc); e (8) outros, para uso em atividades que não se enquadram nas acima discriminadas^[11].

O atendimento das demandas industriais atuais é feito da seguinte maneira: mananciais superficiais com 16,8 m³/s, mananciais subterrâneos com 0,5 m³/s e rede pública de abastecimento com 0,5 m³/s. Atualmente, a maior demanda é a industrial. Porém, diante do crescimento previsto da demanda para o abastecimento urbano, estima-se que as duas demandas serão da mesma ordem de grandeza em 2020^[11].

Quanto às demandas para uso agrícola, estima-se que serão crescentes até o ano 2010, estabilizando-se no período entre 2010 e 2020, principalmente em função das adequações dos sistemas de irrigação e do uso racional da água. Assim, em face dos acréscimos das demais demandas, a participação da agricultura deverá diminuir até o horizonte de 2020^[11,12]. As estimativas das demandas de água visando o abastecimento público, industrial e agrícola (irrigação e aqüicultura), tendo como horizonte o ano de 2020, são mostradas na Tabela 3.

Além do balanço entre a disponibilidade de água e as demandas, o CBH-PCJ, em seu Plano de Situação 2002/2003, calculou a relação entre a vazão mínima (Q_{7,10}) e as demandas das sete unidades principais das BH-PCJ. Esta relação permite avaliar as situações atuais e previstas para cada bacia em análise^[11].

Segundo o CH-PCJ, este novo indicador revelou um quadro extremo nas BH-PCJ onde a disponibilidade é mais restrita face às demandas. Além da escassez dos recursos

hídricos, há também um comprometimento da qualidade das águas superficiais, conseqüência direta dos baixos valores de vazão média e das enormes quantidades de despejos urbanos e industriais lançados^[11,12].

Tabela 3: Demandas para abastecimento público, industrial, irrigação e aqüicultura nas BH-PCJ.

<i>Bacias/sub-Bacias</i>	<i>Demandas para Abastecimento Público (m³/s)</i>				
	<i>2000</i>	<i>2005</i>	<i>2010</i>	<i>2015</i>	<i>2020</i>
Rio Atibaia	5,52	5,89	6,26	6,79	7,15
Rio Camanducaia	0,22	0,27	0,31	0,34	0,36
Rio Corumbataí	1,71	1,83	1,98	2,11	2,23
Rio Jaguari	3,58	4,03	4,48	4,90	5,28
Rio Piracicaba	1,49	1,76	2,02	2,23	2,41
Total Bacia Piracicaba	12,42	13,78	15,05	16,37	17,43
Total Bacia Capivari	0,88	0,96	1,05	1,16	1,24
Total Bacia Jundiá	1,50	1,74	1,98	2,25	2,47
TOTAL BH-PCJ	14,90	16,48	18,08	19,78	21,14
<i>Bacias/sub-Bacias</i>	<i>Demandas para o Uso Industrial (m³/s)</i>				
	<i>2000</i>	<i>2005</i>	<i>2010</i>	<i>2015</i>	<i>2020</i>
Rio Atibaia	6,5	6,9	7,2	7,5	7,9
Rio Camanducaia	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Rio Corumbataí	0,9	0,1	0,1	0,1	0,1
Rio Jaguari	3,1	3,2	3,5	3,7	3,9
Rio Piracicaba	3,8	3,8	3,9	4,4	4,5
Total Bacia Piracicaba	14,4	15,0	15,7	16,7	17,4
Total Bacia Capivari	1,9	2,0	2,0	2,0	2,1
Total Bacia Jundiá	1,0	1,7	1,8	1,9	1,9
TOTAL BH-PCJ	17,3	18,7	19,6	20,6	21,4
<i>Bacias/sub-Bacias</i>	<i>Demandas para Irrigação e Aqüicultura (m³/s)</i>				
	<i>2000</i>	<i>2005</i>	<i>2010</i>	<i>2015</i>	<i>2020</i>
Rio Atibaia	1,62	1,72	1,82	1,82	1,82
Rio Camanducaia	0,60	0,64	0,68	0,68	0,68
Rio Corumbataí	0,88	0,90	0,99	0,99	0,99
Rio Jaguari	0,60	0,64	0,68	0,68	0,68
Rio Piracicaba	2,66	2,89	3,00	3,00	3,00
Total Bacia Piracicaba	6,36	6,79	7,17	7,17	7,17
Total Bacia Capivari	1,07	1,07	1,13	1,13	1,13
Total Bacia Jundiá	0,53	0,57	0,60	0,60	0,60
TOTAL BH-PCJ	7,89	8,43	8,90	8,90	8,90

Fonte: Plano de Bacia 2000-2003, CBH-PCJ^[11]

Da análise das Tabelas 2 e 3 pode-se inferir que, em relação às vazões $Q_{95\%}$, as demandas totais atuais, com exceção da sub-Bacia do Atibaia, situam-se abaixo das disponibilidades. Já em 2020 nota-se que as demandas totais na sub-Bacia do Atibaia superam as disponibilidades em cerca de 30%, configurando-se como a mais crítica dentre as sub-bacias do Piracicaba.

Como forma de garantir melhores condições para as BH-PCJ, a gestão de recursos hídricos no Estado de São Paulo ganhou, no ano passado, importante reforço legal. Foi regulamentada a cobrança pelo uso da água por meio da Lei Estadual nº 12.183, de dezembro de 2005. A cobrança prevista na legislação brasileira, particularmente na Constituição Paulista de 1989 e na Lei 7.663/91 sobre a Política Estadual de Recursos Hídricos, chega para ser mais um dos instrumentos de planejamento e gestão das águas de São Paulo em que devem ser consideradas as peculiaridades regionais e, de forma integrada, os aspectos quantitativos e qualitativos^[1,3].

O produto da cobrança estará vinculado às bacias em que for arrecadado e será aplicado em financiamentos, empréstimos ou a fundo perdido, em conformidade com o aprovado pelo respectivo Comitê de Bacia. A fixação dos valores a serem cobrados levará em conta, entre outros aspectos: a classe de uso preponderante em que o corpo d'água estiver enquadrado no local de uso; a carga poluidora lançada, suas características físico-químicas e biológicas e as suas vazões; e as vazões e características físico-químicas e biológicas do corpo receptor. Isso significa uma nova oportunidade para discutir e implementar a necessária articulação entre outorga de usos da água, licenciamento ambiental e enquadramento dos corpos d'água, elementos fundamentais para o planejamento e gestão ambiental do desenvolvimento regional^[1,3].

IV.3.2 – A Qualidade das Águas

A poluição das águas tem como origem diversas fontes, dentre as quais se destacam as cargas pontuais de origem doméstica e industrial e cargas difusas de origem urbana e agrícola. As diferentes formas de aporte tornam, na prática, impossível a análise sistemática de todos os poluentes que possam estar presentes nas águas superficiais. Por isso a CETESB, o órgão de fiscalização ambiental do Estado de São Paulo, faz uso de

50 variáveis de qualidade de água (físicas, químicas, hidrobiológicas, microbiológicas e ecotoxicológicas), considerando-se aquelas mais representativas, cuja amostragem é feita na rede de monitoramento de qualidade das águas interiores (rios e reservatórios). Essa rede tem possibilitado um conhecimento satisfatório das condições reinantes nos principais cursos d'água do Estado de São Paulo. A rede de monitoramento da CETESB possui 307 pontos de monitoramento manuais e 13 estações automáticas que geram dados em tempo real. Em 2005, a CETESB também acompanhou a qualidade das águas brutas de 70 pontos próximos às captações superficiais utilizadas para o abastecimento público de aproximadamente 23 milhões de habitantes^[1,3].

As variáveis monitoradas pela CETESB, juntamente com aquelas exigidas pelas legislações brasileiras (Resolução CONAMA 357/05^[146], que classifica as águas doces, salinas e salobras de todo o Território Nacional, e a Portaria 518/04^[156] do Ministério da Saúde, que estabelece os índices de qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade), são listadas no Anexo 1.

Os principais objetivos dessa rede de monitoramento são: (1) avaliar a evolução da qualidade das águas interiores dos rios e reservatórios do Estado; (2) propiciar o levantamento das áreas prioritárias para o controle da poluição das águas; (3) subsidiar o diagnóstico e controle da qualidade das águas doces utilizadas para o abastecimento público, verificando se as características da água são compatíveis com o tratamento existente, bem como para outros usos; (4) dar subsídio técnico para a elaboração dos Planos de Bacia e Relatórios de Situação dos Recursos Hídricos, bem como para a implantação da cobrança pelo uso da água, realizados pelos Comitês de Bacias Hidrográficas em níveis estadual e federal, na área compreendida pelo Estado de São Paulo; e (5) identificar trechos de rios onde a qualidade d'água possa estar mais degradada, possibilitando ações preventivas e corretivas da CETESB e de outros órgãos, como a construção de ETE pelos municípios ou a adequação de lançamentos industriais^[3].

Para a definição das condições e padrões de qualidade das águas superficiais foram adotados pela CETESB os seguintes critérios^[3]:

- Proteção da Vida Aquática, avaliada por meio de ensaios ecotoxicológicos, realizados para determinar os efeitos tóxicos causados por um ou por uma mistura de substâncias químicas, sendo tais efeitos detectados por respostas fisiológicas aos

organismos aquáticos como a *Ceriodaphnia dubia* (pulga d'água). Estes efeitos são classificados como agudo (aquele mais severo e rápido, que é caracterizado pela letalidade dos organismos dentro de um período de 48 horas) ou crônico (ação de baixas concentrações de substâncias químicas nas águas, que se traduz pela inibição da reprodução dos organismos dentro de um período de sete dias). Este critério é representado pelo Índice de Proteção da Vida Aquática – IVA.

- Proteção da Saúde Humana, avaliada por meio de ensaios toxicológicos, realizados para determinar o efeito deletério de agentes físicos ou químicos à saúde humana. Os padrões para proteção da saúde humana são legislados devido às possíveis vias de exposição: água de consumo humano (no caso de águas doces e eventualmente salobras após tratamento avançado), consumo de organismos aquáticos e recreação (águas doces, salobras e salinas), irrigação de verduras e frutas (águas doces e salobras), etc. Este critério é representado pelo Índice de Qualidade de Águas Brutas para Fins de Abastecimento Público – IAP.

- Princípio geral: entre proteção à saúde humana e preservação da vida aquática, adota-se o valor mais restritivo de acordo com as classes de uso.

Já o enquadramento dos corpos d'água, em âmbito federal, é dado pela Resolução CONAMA 357/05^[146], que define enquadramento como o estabelecimento da meta ou objetivo de qualidade da água (classe) a ser alcançado ou mantido em um segmento de corpo d'água, de acordo com os usos pretendidos, ao longo do tempo.

O fato de um trecho de rio estar enquadrado em determinada classe não significa, necessariamente, que esse seja o nível de qualidade que ele apresenta, mas sim aquele que se busca alcançar ou manter ao longo do tempo. O enquadramento também guarda importante relação com o desenvolvimento regional pois está diretamente ligado aos usos do solo^[3,146].

Segundo o Relatório de Qualidade de Águas Interiores no Estado de São Paulo – Ano 2005, publicado neste ano pela CETESB, todos os corpos d'água que compõem as Bacias dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá localizam-se em uma região de alta densidade populacional, onde uma de suas finalidades é o abastecimento público, encontrando-se em processo de eutrofização devido às elevadas cargas de fósforo total.

A coleta e o tratamento de esgotos domésticos são fundamentais para a atenuação deste quadro de deterioração, sendo um de seus aspectos principais a eliminação de nutrientes (nitrogênio e fósforo) que causam a eutrofização e o conseqüente crescimento da comunidade fitoplanctônica. Inclusive foi registrada a presença de cianobactérias (*Planktothrix agardhii*) em novembro/05 na captação de Piracicaba, em densidades que podem trazer problemas na estação de tratamento, por ser uma espécie potencialmente tóxica. Nestas bacias, as ETE em sua maioria contemplam apenas os tratamentos primário e secundário, portanto com baixa eficiência na remoção de nutrientes^[3].

A CETESB também aponta em seu relatório a necessidade da continuidade dos trabalhos de identificação das fontes, bem como da extensão da degradação da Bacia do Piracicaba para um efetivo controle, já que desde 2002 tanto o Rio Atibaia (no trecho de Paulínia) quanto o Piracicaba (no trecho à jusante dos Rios Quilombo e Tatu) têm-se apresentado degradados, comprometendo suas biotas. No Rio Atibaia também ficou comprovada a existência de fontes de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), de acordo com os estudos de da Silva^[157] em 2004, e Locatelli^[158] em 2006.

Complementarmente a estes fatores e agravando ainda mais a situação existem outras fontes poluidoras como os processos erosivos, uso de agrotóxicos, poluição difusa urbana e parte de resíduos sólidos dispostos de forma inadequada. Portanto, esse quadro revela a importância da implementação do Plano de Bacia proposto pelo CH-PCJ na forma como foi concebido, ou seja, com a perspectiva de um planejamento integrado^[9].

A Figura 4 mostra os índices de qualidade das águas, obtidos pela CETESB, para a sub-Bacia do Atibaia. Quanto ao índice de proteção da vida aquática – IVA, a captação de Campinas (ponto ATIB02065) recebeu classificação oligotrófica em sua média anual, sendo encontrado em todos os meses do ano de 2005, coliformes termotolerantes em concentrações que ultrapassaram os valores limite para classe 2, segundo o CONAMA 357/05, com variações entre 3.300 a 79.000 UFC/100 mL. Já para o ponto no Rio Atibaia localizado à jusante da cidade de Paulínia (ponto ATIB02605) foram observadas altas cargas de fósforo total, caracterizando-o como supereutrófico. A origem deste fósforo é atribuída, segundo a CETESB, ao lançamento de esgoto doméstico e industrial através do seu tributário Ribeirão Anhumas, pertencente à classe 4^[3].

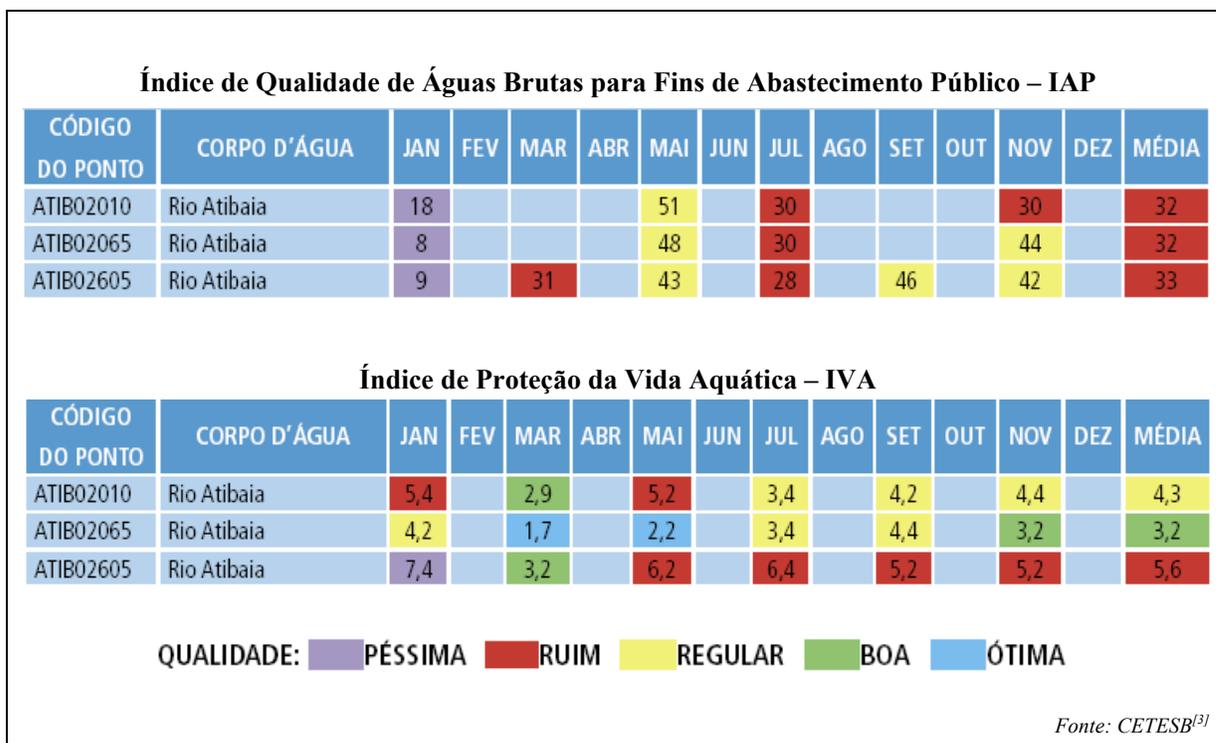


Figura 4: Resultados mensais e médias anuais dos índices IAP e IVA - 2005.

Com relação ao índice para abastecimento público - IAP, as águas do Rio Atibaia apresentaram qualidade ruim em 2005. Na captação de Atibaia destacaram-se os baixos valores de oxigênio dissolvido, enquanto na captação de Campinas, à jusante do Ribeirão Pinheiros, pertencente à classe 3 e que recebe parte do esgoto das cidades de Valinhos/Vinhedo e da região leste de Campinas, foram encontradas elevadas concentrações de coliformes termotolerantes. Outros estudos desenvolvidos na Companhia, assim como os resultados obtidos durante o monitoramento de 2004, levaram a inclusão do parâmetro teste de Ames na avaliação do Rio Atibaia. Observou-se atividade mutagênica nas duas amostras coletadas na captação da cidade de Sumaré, com potências de 200 a 600 revertentes/L, consideradas baixas a moderadas^[3].

IV.3.3 – Saneamento Ambiental

O saneamento básico é constituído pelos serviços de abastecimento de água, coleta e tratamento de esgoto e coleta, tratamento e disposição final de lixo, drenagem urbana,

vigilância sanitária e controle de zoonoses. O entendimento de que cada um desses serviços deve ser tratado de forma conjunta constitui a noção de saneamento ambiental. A presença e qualidade satisfatória de cada componente destes serviços repercutem sobre os demais e, conseqüentemente, sobre a saúde da população e preservação do ambiente^[6].

Para avaliar a carga de esgoto doméstico na UGRHI 5 a CETESB apresentou em seu Relatório de Qualidade de Águas, a situação sanitária dos municípios constituintes dessas bacias, mostrando as porcentagens de coleta e tratamento dos esgotos e das cargas orgânicas potencial e remanescente. A porcentagem de coleta foi definida em função da população urbana atendida por rede coletora de esgoto, enquanto a porcentagem de tratamento foi definida como aquela da população urbana atendida por rede coletora e que tem seu esgoto tratado. Por meio dos índices de coleta e tratamento foi possível estimar também as cargas orgânicas poluidoras potencial e remanescente^[3].

A carga orgânica potencial foi definida como a quantidade de matéria orgânica gerada pela população urbana por dia. Adotou-se o valor de 0,054 kg DBO/dia como a quantidade de matéria orgânica gerada diariamente por habitante. A carga orgânica remanescente foi considerada aquela efetivamente lançada em corpos d'água após redução ocorrida nos sistemas de tratamento, sendo calculada como a carga orgânica gerada pela população urbana menos a carga orgânica removida no sistema de tratamento de esgoto. A Tabela 4 fornece a carga poluidora de origem doméstica lançada nos corpos receptores dos municípios da RMC pertencentes a UGRHI 5^[3].

De acordo com os dados apresentados observa-se que ainda existe uma carência muito grande com relação ao tratamento dos esgotos domésticos na RMC, onde apenas 25% do esgoto coletado recebe tratamento. Os municípios de Americana, Campinas, Hortolândia, Indaiatuba, Santa Bárbara d'Oeste e Sumaré apresentam elevadas cargas poluidoras, com sério comprometimento dos ribeirões Quilombo, Samambaia e Anhumas.

Dos 18 municípios da RMC inseridos nas BH-PCJ, 7 não apresentam sequer qualquer tipo de tratamento de esgoto, cujo caso mais crítico é o da cidade de Hortolândia, já que a coleta atinge apenas 2%. Esta situação é tão dramática quanto surpreendente se considerada a capacidade de arrecadação de parte dos municípios da região, como por exemplo Paulínia. Neste caso, não há qualquer tipo de tratamento para os esgotos

domésticos gerados, ou seja, 100% do esgoto coletado é lançado diretamente no Rio Atibaia. Como consequência, há um comprometimento das águas na captação do município à jusante deste, com elevação no custo do tratamento da água.

Tabela 4: Carga orgânica poluidora de origem doméstica: cidades da RMC inseridas na UGRHI 5.

<i>Município</i>	<i>População 2005 SEADE^[147]</i>		<i>Atendimento (%)</i>		<i>Carga Poluidora (kg DBO/dia)</i>		<i>Corpo Receptor</i>
	<i>Total</i>	<i>Urbana</i>	<i>Coleta</i>	<i>Trat.</i>	<i>Potencial</i>	<i>Remanesc</i>	
Americana	196.497	196.106	81	72	10.590	5.649	R. Piracicaba
Artur Nogueira	39.465	37.076	100	0	2.002	2.002	Rib. Cotrins Rib. Três Barras
Campinas	1.029.898	1.015.316	86	34	54.827	42.002	Rib. Samambaia Rib. Anhumas Rib. Quilombo R. Capivari
Cosmópolis	50.366	48.737	82	0	2.632	2.632	Cor. Três Barras
Holambra	8.162	4.381	91	100	237	64	Rib. Cachoeira Cor. Borda Mata
Hortolândia	184.069	184.069	2	0	9.940	9.940	Rib. Jacuba
Indaiatuba	172.140	170.062	96	10	9.183	8.478	R. Jundiá
Itatiba	92.780	71.879	100	0	3.881	3.881	Rib. Jacarezinho R. Atibaia
Jaguariúna	32.978	29.569	95	35	1.597	1.172	R. Jaguari R. Camanducaia
Monte Mor	44.193	41.345	35	2	2.233	2.220	R. Capivari
Nova Odessa	45.629	44.763	90	7	2.417	2.295	Rib. Quilombo
Paulínia	60.875	60.368	79	0	3.260	3.260	R. Atibaia
Pedreira	39.220	38.241	97	0	2.065	2.065	R. Jaguari
Sta Bárbara d'Oeste	182.130	180.182	88	40	9.730	6.990	Rib. dos Toledos
Sto Antônio Posse	20.578	17.472	19	0	943	943	R. Camandu.Mirim Rib. Pirapitingui
Sumaré	220.937	218.431	88	4	11.795	11.463	Rib. Quilombo
Valinhos	90.155	86.131	85	85	4.651	1.963	Rib. Pinheiros
Vinhedo	56.062	55.125	92	60	2.977	1.662	Rib. Pinheiros R. Capivari
TOTAL RMC exceto Eng. Coelho	2.566.134	2.499.253	78	25	134.960	108.681	---
TOTAL UGRHI 5	4.764.057	4.528.637	84	30	244.546	192.260	---

Fonte: CETESB^[3]

O desperdício a que está submetida à rede de água dos municípios da RMC, em muitos casos ultrapassando 30%, está associado à idade da infra-estrutura e a

precariedade da manutenção. Gasta-se muito durante o tratamento, devido ao elevado grau de poluição dos corpos d'água superficiais que são também depositários dos esgotos domésticos, industriais e agrícolas lançados *in natura*, na maioria dos casos^[6].

Em Campinas o serviço de água e esgoto é operado pela SANASA. Atualmente ela atende com água potável encanada 98% da população urbana de Campinas, através de 5 estações de tratamento (ETA 1 e 2 no bairro Swift, ETA 3 e 4 na estrada de Sousas, todas com água captada no Rio Atibaia, e a ETA Capivari junto a Rodovia dos Bandeirantes, com água proveniente do Rio Capivari). O conjunto de estações de tratamento de água tem capacidade de produção de até 4.530 L/s, sendo que 95% é proveniente do Rio Atibaia e 5% do Rio Capivari. O volume médio anual de água potável produzido é da ordem de 100 milhões de metros cúbicos, transportado por 3.884 km de adutoras e redes de distribuição e reservado em 68 reservatórios dispersos pela cidade (25 elevados e 43 semi-enterrados), com capacidade total de 122 milhões de litros^[13].

Segundo a SANASA, toda a infra-estrutura do sistema de abastecimento de água instalada está dimensionada para atender as novas demandas decorrentes do crescimento da cidade, no mínimo até 2010, considerando-se o aumento populacional registrado nos últimos 10 anos. Todas as ETA são do tipo convencional, utilizando-se processos físico-químicos para a potabilização que abrange as unidades de clarificação (floculadores, decantadores e filtros), desinfecção (cloradores e amoníadores) e polimento (correção de pH e fluoretação), esta última como medida profilática para diminuir a incidência de cáries dentárias na população infanto-juvenil^[13].

Quanto ao sistema de esgotamento sanitário, a SANASA atende atualmente 86% da população urbana de Campinas com coleta de 200 mil ligações e afastamento através de 3.037 km de redes, emissários e interceptores. Entretanto, o grande desafio é o tratamento dos esgotos. Até o ano 2000, praticamente todo o esgoto coletado era lançado sem tratamento nos corpos d'água da região. Apenas em 2001 é que investimentos nesta área começaram a ser intensificados, com a criação do Programa Nacional de Despoluição de Bacias Hidrográficas. Este programa, considerado inovador na forma como efetua a liberação das verbas, nada mais é do que um contrato de pagamento por esgoto tratado, firmado entre a ANA e a prefeitura ou a prestadora de serviço^[13,159-162].

Em janeiro de 2001, a cidade de Campinas tratava somente 5% de seus esgotos domésticos e, sozinha, respondia por 25% de todo o esgoto sem tratamento lançado na UGRHI 5, e por metade do esgoto não tratado entre os 19 municípios da RMC. O avanço inicial no tratamento de esgotos foi a inauguração, em 03/junho/2001, da ETE Samambaia, na qual mais de 150 litros de esgoto por segundo deixaram de ser despejados *in natura* nos corpos d'água, de uma região onde vivem cerca de 40 mil habitantes. Com a entrada em operação da ETE Samambaia, Campinas elevou o índice de tratamento de esgoto para 10%. Além disso, esta ETE apresenta-se estrategicamente localizada uma vez que o corpo d'água receptor, o Ribeirão Samambaia, é afluente do Ribeirão Pinheiros que por sua vez desemboca no Rio Atibaia, 2 km acima do ponto de captação da SANASA^[13,159-162].

Como o Plano Diretor de Esgotos de Campinas (mostrado na Tabela 5), elaborado e executado pela SANASA, prevê o tratamento de 90% dos esgotos domésticos da cidade até 2008, sete novas ETE foram projetadas. A primeira delas, inaugurada em 22/março/2004, foi a ETE Vó Pureza que opera hoje com uma vazão média de 63 litros de esgoto por segundo, beneficiando cerca de 25 mil habitantes. Deste modo, Campinas elevou o índice de tratamento de esgoto de 10 para 13,5%. Em 14/julho/2004 foi inaugurada a ETE Piçarrão, operando com uma vazão média de 556 litros de esgoto por segundo e beneficiando cerca de 200 mil habitantes. Considerada a maior estação de tratamento construída no interior paulista nos últimos anos, a ETE Piçarrão elevou para 34% o índice de esgotos tratados em Campinas. Segundo a SANASA, esta obra está contribuindo para a despoluição de 40% da bacia do Capivari^[13,159-162].

Cinco novas ETE estão sendo construídas e algumas delas já estão parcialmente concluídas, como a ETE Anhumas, que compreende a sub-Bacia do Atibaia. Construída em uma área próxima à rodovia D. Pedro I, tratará 1.200 L/s dos esgotos correspondentes a uma população de 250 mil habitantes e juntamente com a ETE Sousas/Joaquim Egídio elevará em mais 34% o índice de tratamento em Campinas, totalizando 68%. Ainda estão previstas para 2008 as ETE Barão Geraldo, San Martin e Boa Vista^[13,159-162].

De modo geral, os tratamentos convencionais empregados nas ETE compreendem diversas fases ou graus de tratamento e costumam ser classificados em tratamento preliminar, primário, secundário e terciário. O tratamento preliminar destina-se à preparação das águas de esgoto para uma disposição ou tratamento subsequente, onde se remove

apenas os sólidos grosseiros, gorduras e sólidos sedimentáveis (areia). As unidades preliminares de tratamento mais comuns são as *grades* ou *desintegradores*, responsáveis pela retenção de materiais em suspensão no esgoto (papelão, latas, madeiras, trapos e panos, estopas, papéis, etc); as *caixas de areia* ou *desarenadores*, que retêm partículas discretas basicamente constituídas por areia; os *tanques de remoção de óleos e graxas*, tendo também a possibilidade do uso de *flotadores* (indicado no caso de alta taxa de gordura); e as *rafas*, constituídas de carvão ativado para a retenção dos gases geralmente presentes no esgoto, como o nitrogênio (N₂), oxigênio (O₂) e hidrogênio (H₂), o sulfeto de hidrogênio (H₂S), o dióxido de carbono (CO₂) e o metano (CH₄), que são posteriormente queimados^[155].

Tabela 5: Plano Diretor de tratamento de esgoto de Campinas, elaborado pela SANASA.

<i>Bacia</i>	<i>ETE</i>	<i>População (2002)</i>	<i>Vazão Média (L/s)</i>	<i>Tratamento (%)</i>	<i>Empreendimento</i>
Atibaia	Anhumas	247.345	1.044	31,7	em obras
	Arboreto dos Jequitibás	706	4	0,2	em operação
	Barão Geraldo	45.585	168	5,7	em obras
	Samambaia	39.892	98	5,0	em operação
	Sousas/Joaquim Egídio	10.478	72	2,4	em licitação
Quilombo	Boa Vista / CIATEC	36.727	158	2,3	em licitação/em operação
	San Martin	4.219	17	0,4	em licitação
	Vó Pureza (Sta.Mônica)	25.401	63	3,5	em operação
Capivari	Bandeiras	20.316	67	2,3	projeto básico
	Florence	57.968	88	3,1	projeto conceitual
	Icaraí	1.114	3	0,1	em operação
	Itajaí	8.080	38	1,3	projeto conceitual
	Marajó	6.847	35	1,2	projeto conceitual
	Mercedes	2.140	8	0,3	projeto conceitual
	Nova América	4.266	11	0,4	em estudo
	Ouro Verde	64.417	256	9,0	projeto conceitual
	Piçarrão	208.489	551	20,5	em operação
	PUCC II	13.302	35	1,2	projeto conceitual
	Santa Lúcia	132.322	219	7,7	projeto conceitual
	Santa Rosa	4.254	13	0,5	em operação
	Viracopos	30.000	35	1,2	projeto conceitual
TOTAL		963.868	2.983	100	

Fonte: SANASA^[13]

O tratamento primário, por sua vez, consiste na remoção de sólidos sedimentáveis através de operações físicas. Esta fase é de fundamental importância durante o tratamento uma vez que apresenta baixo custo e reduz bastante as impurezas contidas no esgoto. Além das operações preliminares, estão incluídos nesta fase de tratamento os *decantadores primários* que removem o resíduo sedimentável, gorduras e óleos flutuantes, sendo estes bombeados para os digestores; os *tanques de aeração*, responsáveis por receber o efluente do decantador primário, e que combinam a agitação do esgoto com a injeção de ar (obtem-se nesta etapa o “lodo ativado”, uma massa líquida de microorganismos que se alimentam da matéria orgânica contida no efluente do decantador primário, e que se proliferam na presença do oxigênio); e os *flotadores* ou *decantadores secundários* onde há a remoção dos sólidos (flocos de lodo ativado) que, ao sedimentarem no fundo do tanque, são raspados para um poço central retornando para o tanque de aeração, sendo que a parte líquida vertente do decantador é destinada ao rio^[155].

O tratamento secundário é aquele que apresenta um *tratamento biológico* e consiste na remoção de matéria orgânica e, conseqüentemente, na diminuição da DBO. Os tratamentos mais empregados são: lagoa facultativa, sistema australiano de lagoas, lagoa aerada, lodos ativados, filtro biológico aeróbio, tratamento eletrolítico, biodigestores anaeróbios, fossas sépticas, tanque imhoff, filtro anaeróbio, reator de contato anaeróbio, reator anaeróbio de manta de lodo (UASB), lagoas de maturação, cloração e radiação ultravioleta. A digestão do lodo gerado no tratamento que emprega “lodos ativados”, por exemplo, é feita através da fermentação na ausência de oxigênio (processo anaeróbico), onde o lodo removido é mantido em grandes tanques de concreto hermeticamente fechados para que ocorra a sua transformação em matéria altamente mineralizada, com carga orgânica reduzida e diminuição de bactérias patogênicas^[155].

Já o tratamento terciário é aquele que objetiva a remoção de nutrientes, como por exemplo o tratamento avançado ou o tratamento combinado, e tem sido pouco empregado nas ETE em operação no Brasil^[155]. Embora este tratamento, bem como alguns tipos de tratamento secundário, sejam eficientes na descontaminação microbiológica e na remoção de nutrientes, na maioria das ETE em funcionamento na RMC apenas o tratamento primário é contemplado, o que acarreta em uma baixa eficiência na remoção de nutrientes e também de contaminantes mais recalcitrantes, geralmente presentes neste tipo de matriz.

Matrizes ambientais como os esgotos domésticos, efluentes industriais e águas superficiais são bastante complexas no que diz respeito à composição química. Os esgotos domésticos, por exemplo, apresentam elevadas concentrações de produtos de limpeza como detergentes e desinfetantes, fármacos, hormônios naturais ou sintéticos, cafeína, colesterol, coprostanol, etc. A maioria dos produtos farmacêuticos encontrados está presente na formulação de uma série de medicamentos, inclusive de uso veterinário, como os quimioterápicos antimicrobianos (antibióticos), analgésicos, antiinflamatórios, reguladores lipídicos, antiepilépticos e contraceptivos orais que após serem administrados, são total ou parcialmente metabolizados e excretados pelo organismo^[16].

Por outro lado, os efluentes industriais têm características distintas dos esgotos domésticos podendo conter uma infinidade de compostos orgânicos e inorgânicos de elevada toxicidade como os fenóis, metais pesados, pesticidas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, uma série de compostos organoalogenados como as bifenilas policloradas, e ainda vários surfactantes e plastificantes usados na fabricação de tintas, pigmentos e resinas como os ftalatos, policarbonatos, estirenos e alquilfenóis^[16].

Recentemente, diversos hormônios como o 17- β -estradiol, estrona, estriol, etinilestradiol, e fármacos como o ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno, eritromicina, propranolol, tamoxifeno, paracetamol, cafeína, etc., foram detectados em amostras de esgoto doméstico tratado, águas superficiais e subterrâneas e até mesmo em água potável^[16,93-145]. Portanto, a avaliação destes contaminantes presentes requer cada vez mais atenção já que apresentam considerada toxicidade para alguns animais vertebrados como peixes, aves, répteis, anfíbios e mamíferos^[56-82], muito embora ainda não estejam contemplados nas legislações ambientais vigentes, tanto brasileiras como internacionais. Vários destes compostos são classificados como produtos farmacêuticos e de higiene pessoal e/ou interferentes endócrinos e fazem parte dos chamados poluentes emergentes.

IV.4 – Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal – PFHP

Os produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (tradução para o termo em inglês *pharmaceuticals and personal care products*, PPCPs) abrangem um grupo bastante diversificado de compostos, de uso interno ou externo, desde princípios-ativos utilizados na

formulação de medicamentos, tanto de aplicação veterinária como em seres humanos e plantas, como drogas quimioterápicas, antiinflamatórios não esteroidais, agentes utilizados em diagnósticos (meios de contraste para raios-X), estimulantes, a maioria deles não prescritos, até produtos químicos de consumo diário utilizados por exemplo na cosmética como bloqueador solar, excipientes diversos, essências, fragrâncias, dentre outros. São bastante bioativos, muito deles polares e opticamente ativos, e na maioria das vezes, quando presentes no meio ambiente, ocorrem em baixíssimas concentrações^[17,26,27,31-35,51].

Durante as últimas 3 décadas a análise de poluentes ambientais esteve focada, quase que exclusivamente, nos poluentes prioritários convencionais, isto é, aqueles compostos persistentes, bioacumulativos e tóxicos, os POP^[54,55]. Entretanto, recentemente muitas outras classes de poluentes orgânicos, incluindo os PFHP, também têm ganhado atenção da comunidade científica pelos impactos que causam, ou podem causar, na saúde humana e no meio ambiente. Ao contrário dos POP, vários fármacos listados dentre os PFHP não são bioacumulativos e nem voláteis. Mas alguns dos compostos presentes nos produtos de higiene pessoal, como as loções de bloqueador solar e fragrâncias de almíscar, tendem a ser mais lipofílicos^[25-27,32-35].

A presença de mais de 50 tipos de PFHP em matrizes ambientais como efluentes, águas superficiais e subterrâneas, e menos freqüentemente em água potável, juntamente aos quimioterápicos antimicrobianos e aos hormônios esteróides, foi identificada e primeiramente relatada em 1998 por Ternes^[30], e posteriormente por Daughton e Ternes^[33], muito embora há mais de 20 anos suspeitava-se que estes compostos, especialmente cafeína e ácido acetilsalicílico, poderiam entrar no meio ambiente através de várias rotas, como pelo aporte de esgotos domésticos tratados e não tratados nos corpos d'água. Portanto, a ocorrência dos PFHP em águas superficiais não é um fenômeno recente, apenas tornou-se mais evidente na última década devido basicamente ao aperfeiçoamento das metodologias analíticas, principalmente da instrumentação, permitindo e/ou facilitando a detecção de baixas concentrações destes xenobióticos polares. A Tabela 6 fornece as classes mais representativas dos PFHP detectados nas amostras ambientais^[30-35].

Uma vez administrados, certos fármacos são completamente metabolizados dentro do organismo, tornando-se inativos. Entretanto, a maioria destes, depois de ingeridos, é excretada principalmente através das fezes e urina em quantidades variadas, e muitas

vezes na forma não dissolvida devido à proteção ocasionada pelos excipientes presentes nas formulações, durante as etapas de absorção e metabolismo. Alguns compostos já no meio ambiente, são degradados química ou biologicamente; outros são carregados até os corpos d'água através de processos de lixiviação e escoamento superficial^[32,35,36].

Dentre os PFHP, muitos compostos são utilizados como analgésicos, antiinflamatórios e antitérmicos. Por exemplo, diclofenaco e ibuprofeno são poderosos agentes não esteróides usados no combate à febre e para o alívio de dores em geral, como antigripais, no tratamento de reumatismo, etc. O diclofenaco é um fármaco usado principalmente na forma sódica, persistente e altamente estável sob as condições de operação utilizadas nas ETE, e tem sido detectado em mais de 50% dos efluentes municipais avaliados na Alemanha, sendo que apenas 20% de remoção foi observada para este composto, após tratamento do esgoto coletado^[32,36,163-165].

Tabela 6: Principais aplicações dos produtos farmacêuticos e de higiene pessoal^[30,33,166].

<i>Composto</i>	<i>Exemplo PFHP</i>	<i>Uso Terapêutico/Cosmética</i>
Ácido Clofibrico	Lipofacton [®] , como clofibrato (Akzo Organon)	maior metabólito do clofibrato regulador lipídico
Ácido Fenofibrico	Lipidil [®] , como fenofibrato (Allergan Frumtost)	maior metabólito do fenofibrato regulador lipídico
Diclofenaco	Tandrilax [®] (Aché), Cataflam [®] (Geigy), Voltaren [®] (Novartis)	analgésico, antitérmico e antiinflamatório
Ibuprofeno	Algi Reumatril [®] (Lab. Galenogal Ltda.) Artril 300 [®] (Farmasa), Advil [®] (WhiteHall)	analgésico, antitérmico e antiinflamatório
Cafeína	Neosaldina [®] (Knoll)	estimulante, atua no SNC
Ácido Acetilsalicílico	Aspirina [®] (Bayer), AAS [®] (Sanofi-SynthLabo)	analgésico, antitérmico e antiinflamatório
Paracetamol	Tylenol [®] (Jansen-Cilag), Tandrilax [®] (Aché) Resfenol [®] (Lab. Galenogal Ltda.)	analgésico e antitérmico
Dipirona	Neosaldina [®] (Knoll), Lisador [®] (Farmasa) Novalgina [®] (Hoechst)	analgésico, antitérmico e antiinflamatório não esteroideal
Fluoxetina	Prozac [®] (Lilly), Foxetina [®] (Gador)	antidepressivo e contra bulimia
Triclosan	Sapoderm [®] (Reckitt & Colman), Gamofen [®] (Johnson & Johnson)	bactericida, anti-séptico e preservante em cosmética
Metoxicinamato de Etilhexila	Sundown [®] (Johnson & Johnson)	bloqueador solar

O ibuprofeno é a terceira droga mais utilizada no mundo, administrada em elevadas quantidades (600-1200 mg/dose terapêutica). Pode ser encontrado em duas formas enantioméricas, mas seu efeito farmacológico é dado exclusivamente na forma *S*, ainda que tal composto seja administrado como uma mistura racêmica. Algumas pesquisas mostraram que no organismo humano e de outros mamíferos pode ocorrer a inversão quiral da forma enantiomérica *R* (inativa) para a forma enantiomérica *S* (ativa). Embora esta última forma seja excretada em maior quantidade que a forma *R*, ela degrada mais rapidamente quando presente nos efluentes domésticos e nas águas superficiais. Este dado tem importante implicação na toxicidade deste composto frente aos organismos aquáticos, incluindo a possibilidade de intervenção no sistema endócrino^[103].

Buser *et alii*^[103] mostraram que, embora o ibuprofeno tenha sido facilmente degradado nas amostras de esgoto provenientes das ETE avaliadas, diclofenaco e ácido clofíbrico foram mais resistentes a este tipo de tratamento. Por outro lado, em águas naturais como lagos e rios, o diclofenaco foi facilmente eliminado sob radiação solar, mostrando que o mecanismo de degradação mais provável para a eliminação *in situ* deste composto é a fotodecomposição. O ácido clofíbrico mostrou ser o mais persistente dentre os três compostos avaliados^[95,103,163,164].

Os reguladores lipídicos não polares tais como o clofibrato, etofibrato e fenofibrato, em geral, não são detectados nos efluentes domésticos, porém seus metabólitos polares já foram encontrados em amostras ambientais em níveis de concentração da ordem de µg/L. O ácido clofíbrico é um metabólito ativo do clofibrato, etofilinclofibrato e etofibrato e um dos PFHP mais persistentes no meio ambiente, além de ser isômero estrutural do herbicida mecoprop. Por sua vez, o ácido fenofíbrico é apenas derivado do fenofibrato^[30,32,95,103]. Tais compostos são administrados na forma de etil-ésteres e exercem atividades normalizadoras sobre o balanço lipídico, particularmente na hipercolesterolemia e/ou hipertrigliceridemia.

A cafeína é uma das substâncias mais consumidas no mundo e pode ser encontrada em diversos produtos como os alimentícios (café, chá, erva-mate, pó de guaraná, bebidas como os refrigerantes a base de cola, condimentos, etc.), tabaco, medicamentos, dentre outros. A presença deste composto no meio ambiente, principalmente nas águas naturais, é sobretudo de origem antrópica e tem sido associada, na maioria dos casos, às elevadas concentrações de nitrato. Alguns estudos têm mostrado que uma certa porcentagem deste

composto não é absorvida pelo organismo e é excretada na urina. Em adição, uma grande quantidade de produtos alimentícios contendo cafeína é descartada nas residências e estabelecimentos comerciais, fazendo com que esteja presente nos efluentes domésticos. Também é bastante utilizada em estudos ambientais como um traçador de atividade humana, e também como um traçador da contaminação por nitrato^[15,121,122,128,166].

Os compostos paracetamol, dipirona e ácido acetilsalicílico também possuem ação analgésica, antitérmica e antiinflamatória e estão comumente presentes numa infinidade de formulações de medicamentos, principalmente os não prescritos. Entretanto, há pouca informação disponível na literatura com relação à ocorrência e efeitos ecotoxicológicos destes compostos no meio ambiente. A Figura 5 ilustra as fórmulas estruturais dos PFHP avaliados neste trabalho.

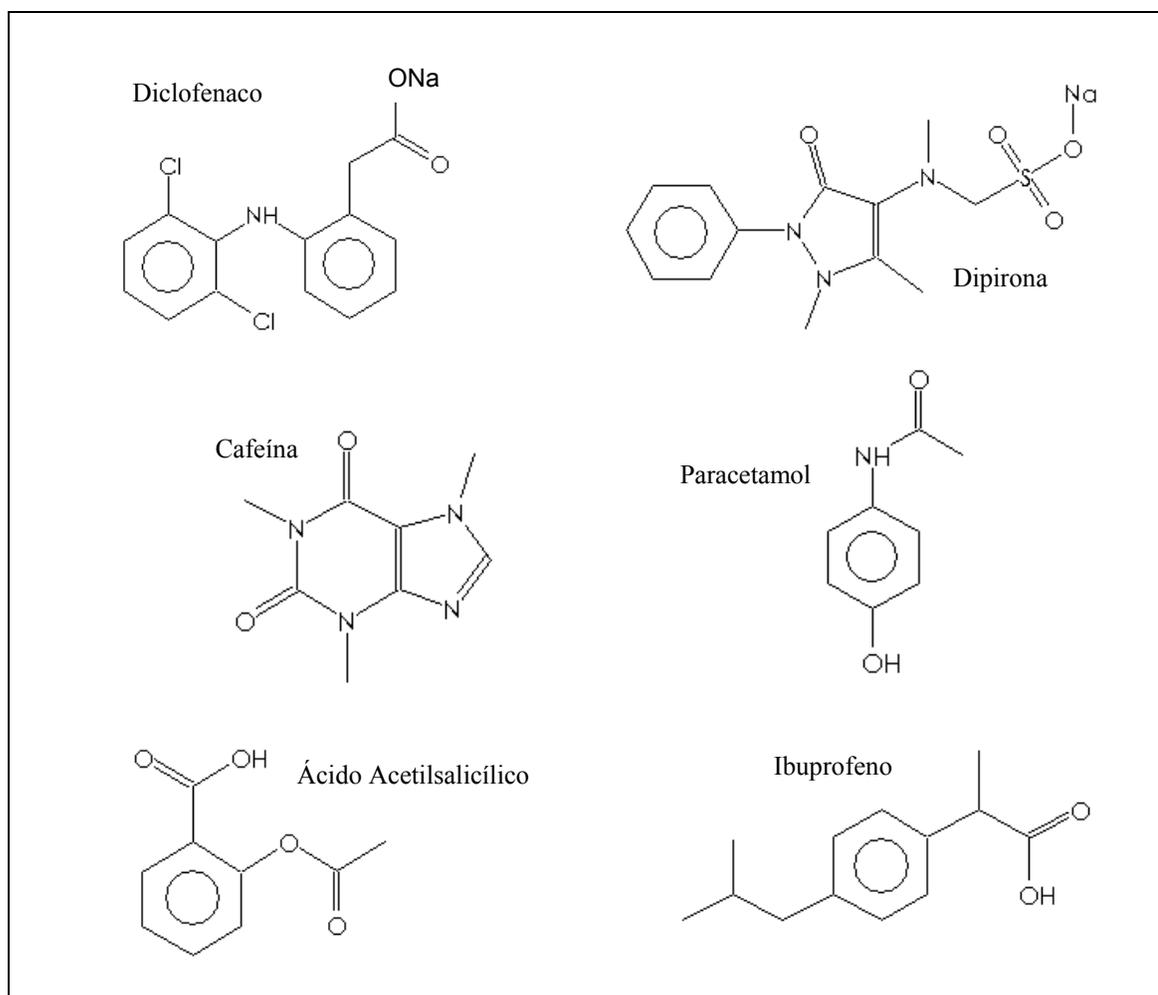


Figura 5: Fórmula de alguns dos produtos farmacêuticos e de higiene pessoal – PFHP^[167].

Na Tabela 7 são mostradas algumas das propriedades físico-químicas relevantes para os PFHP avaliados. Os valores de pKa correspondem às constantes de ionização ácida, enquanto K_{OW} é o coeficiente de partição octanol-água dado em escala logarítmica decimal, representando o grau de hidrofobicidade de um determinado composto, bastante utilizado para inferir o fator de bioconcentração.

Tabela 7: Propriedades físico-químicas relevantes dos PFHP avaliados^[142,166].

<i>Composto</i>	<i>CAS Number</i>	<i>Fórmula Molecular</i>	<i>PM (g/mol)</i>	<i>Sol. H₂O^[166] (mg/L)</i>	<i>pKa</i>	<i>log K_{OW}</i>
AAS	50-78-2	C ₉ H ₈ O ₄	180,16	3.300	3,5 ^[36,166]	1,19 ^[36,168]
Ibuprofeno	15687-27-1	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206,28	ne	4,9 ^[36,142]	3,97 ^[142]
Paracetamol	103-90-2	C ₈ H ₉ NO ₂	151,17	ne	9,4 ^[36,142]	0,46 ^[36,142]
Cafeína	58-08-2	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,19	21.700	10,0 ^[142]	< 0 ^[142]
Dipirona	68-89-3	C ₁₃ H ₁₆ N ₃ NaO ₄ S.H ₂ O	351,36	667.000	ne	ne
Diclofenaco	15307-79-6	C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NNaO ₂	318,13	9.000	4,2 ^[36,142]	0,70 ^[36,142]

ne = não encontrado

IV.5 – Interferentes Endócrinos – IE

Muitas definições têm sido propostas para um interferente endócrino. Entretanto, para todas elas existe um ponto em comum: trata-se de uma substância química que pode interferir no funcionamento natural do sistema endócrino de espécies animais, incluindo os seres humanos. Tal substância pode ser de origem antrópica, também denominada xenoestrogênio, ou de origem natural, como por exemplo os fitoestrogênios^[15,16,19,20,25,53,58].

Alguns pesquisadores definem um interferente endócrino com base nos seus efeitos, ou seja, trata-se de uma substância química que, mesmo presente em concentração extremamente baixa, é capaz de interferir no funcionamento natural do sistema endócrino causando câncer, prejudicando os sistemas reprodutivos (por exemplo, reduzindo a produção de espermatozoides) e causando outros efeitos adversos. Por isso, tais substâncias são mundialmente denominadas *endocrine disruptors* (EDs) ou ainda *endocrine disrupting compounds or chemicals* (EDCs)^[15,16,19,20,25,53,58].

Em maio de 1997, a agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (Environmental Protection Agency - USEPA), através do seu comitê consultivo responsável

pela avaliação e diagnóstico de interferentes endócrinos (Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee – EDSTAC) propôs uma definição mais detalhada que considerava também a ampla diversidade de mecanismos envolvidos nas disfunções do sistema endócrino. O EDSTAC^[25] descreve um interferente endócrino como sendo uma substância ou mistura química exógena que altera uma ou mais funções do sistema endócrino, bem como a sua estrutura, causando efeitos adversos tanto sobre um organismo e sua descendência, como em populações ou sub-populações de organismos, tendo como base estudos científicos, dados, evidências de peso e princípios de precaução.

A tradução deste termo para a língua portuguesa tem gerado algumas denominações diferentes, uma vez que há poucos grupos de pesquisadores brasileiros trabalhando com esta temática. Podem ser encontradas as seguintes denominações: “perturbadores endócrinos”^[17], “disruptivos ou disruptores endócrinos”^[18], “desreguladores endócrinos”^[53], “interferentes endócrinos”^[16], “estrogênios ambientais”^[169], dentre outras. Embora a tradução exata para a palavra *disrupt* seja desfazer, perturbar, interromper, decidiu-se adotar o termo “interferentes endócrinos” para referir-se a estas substâncias, já que as mesmas interferem ou alteram, de alguma forma, o funcionamento natural do sistema endócrino de espécies animais^[16].

Embora desde o início do século XX já existissem hipóteses prevendo alterações no funcionamento do sistema endócrino de algumas espécies animais expostas a determinadas substâncias químicas tóxicas, apenas recentemente esta importante questão tem recebido atenção por parte da comunidade científica, principalmente devido ao número crescente de publicações^[56-82] que relatam o aumento da incidência de disfunções no sistema endócrino de seres humanos (incluindo a infertilidade masculina), e mais significativamente, efeitos fisiológicos adversos observados em espécies animais para as quais a relação causa/efeito é mais evidente. De fato, as evidências observadas em estudos envolvendo moluscos, crustáceos, peixes, répteis, pássaros e alguns mamíferos têm sugerido que possíveis alterações de saúde humana envolvendo o sistema reprodutivo, tais como o câncer de mama e de testículo, podem estar relacionadas à exposição a estas substâncias^[16,19,20,49,50,58,170].

Uma grande parte da evidência dos possíveis efeitos destas substâncias em seres humanos foi obtida a partir da experiência envolvendo mulheres grávidas que tomaram o

estrogênio sintético dietilestilbestrol, prescrito para evitar o aborto espontâneo e promover o crescimento do feto, no período entre 1948 a 1971. Muitas das filhas dessas mulheres são hoje estéreis, enquanto uma minoria tem desenvolvido um tipo raro de câncer vaginal. Os homens adultos mostram uma maior incidência de anormalidades em seus órgãos sexuais, apresentam contagem média de espermatozóides diminuída e podem sofrer um risco maior de desenvolver câncer de testículos. Esta nova ameaça à saúde de espécies animais, incluindo os seres humanos, tem despertado interesse público neste tema, principalmente após a publicação do livro *Our Stolen Future* (O Futuro Roubado^[171]), de Theo Colburn e seus associados, em 1996^[16,19,20,49,50,53,169].

IV.5.1 – O Sistema Endócrino

O sistema endócrino é constituído por um conjunto de glândulas localizadas em diferentes áreas do corpo como a tireóide, as gônadas e as glândulas supra-renais, e pelos hormônios por elas sintetizados tais como a tiroxina, os estrogênios e progestagênios, a testosterona e a adrenalina^[16,19,20,53,58], conforme mostrado na Figura 6.

Os hormônios são substâncias químicas (mensageiros) produzidas e secretadas pelas glândulas endócrinas e que, lançadas na corrente sanguínea, coordenam o funcionamento do organismo como um todo (atividades de órgãos completos, níveis de sais, açúcares e líquidos no sangue, o uso e armazenamento de energia, o crescimento e o desenvolvimento de um determinado organismo, sua reprodução, suas características sexuais, etc)^[16,19,20,85,86,172].

A maioria dos estudos ecotoxicológicos realizados até o momento mostram que as glândulas mais afetadas pelos interferentes endócrinos constituem os sistemas reprodutivos masculino (testículos) e feminino (ovários)^[56-82].

Os testículos são os responsáveis pela produção de espermatozóides e androgênios, os hormônios sexuais masculinos. Os espermatozóides são produzidos durante toda a vida e, quando não são liberados, morrem e são reabsorvidos pelo organismo. A formação dos espermatozóides é controlada pelo hormônio estimulador do folículo (FSH), hormônio luteizante (LH) e pela testosterona, principal androgênio. Ela é

responsável pelo desenvolvimento do órgão reprodutor masculino, desde a gestação, além de aumentar a síntese de proteínas, especialmente nos músculos, e contribuir com as funções anabólicas^[16,20,172].

Os ovários são responsáveis por produzir e expelir o óvulo, após o seu amadurecimento. Também produzem os hormônios sexuais, regulam a ovulação e a menstruação, garantem a manutenção da gravidez e são os responsáveis pelo desenvolvimento dos caracteres femininos, influenciando no crescimento dos órgãos reprodutivos. O ciclo menstrual é controlado por quatro hormônios: o hormônio estimulador do folículo (FSH), o hormônio luteizante (LH), os estrogênios (como o estradiol, que estimula o desenvolvimento do endométrio e influencia a libido), e a progesterona, essencial para o desenvolvimento do embrião (placenta e glândulas mamárias)^[16,20,172].

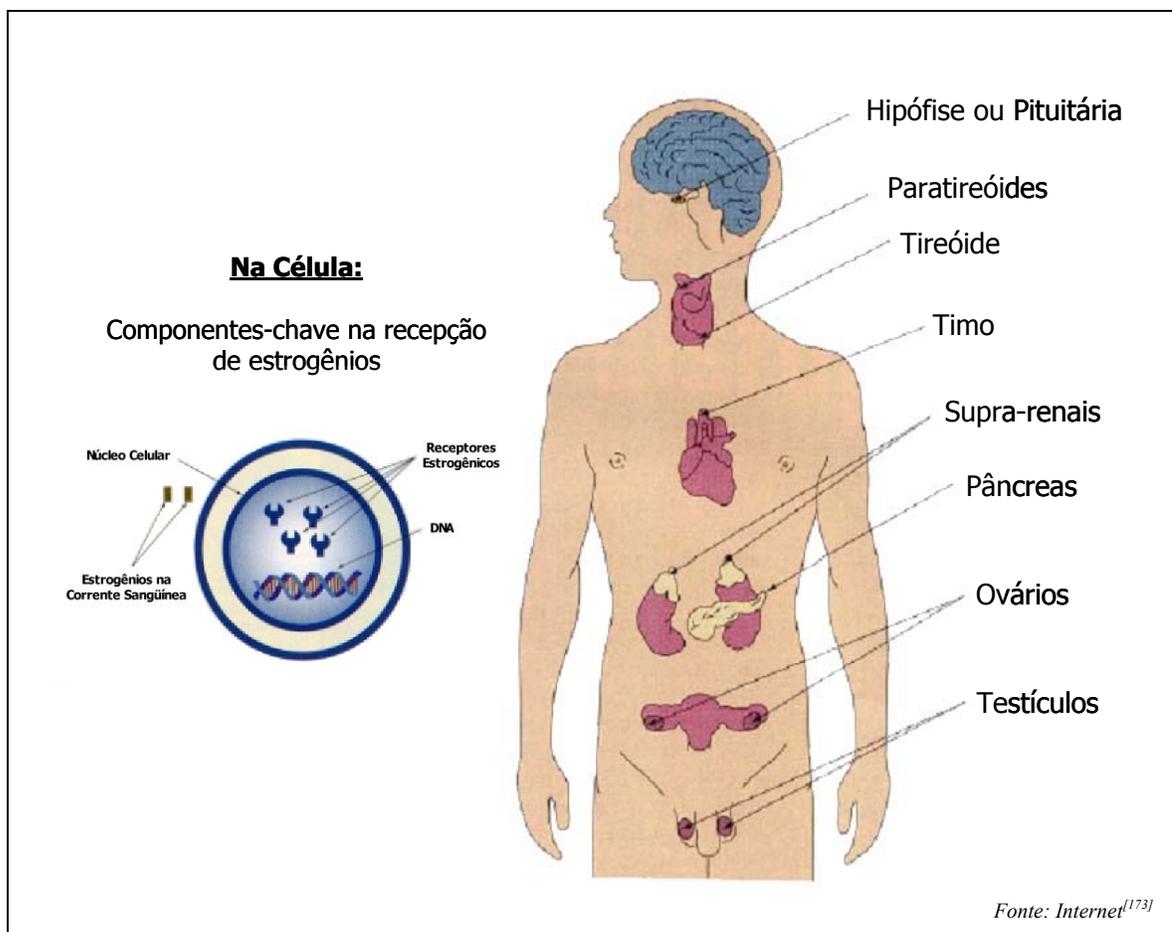


Figura 6: O sistema endócrino e suas principais glândulas.

IV.5.2 – Mecanismos de Ação dos Interferentes Endócrinos

A ação de um determinado hormônio inicia-se através da sua ligação a um receptor específico, no interior de uma célula. O complexo resultante liga-se a regiões específicas do DNA presente no núcleo da célula, o que determina a ação dos genes. Certos compostos químicos podem também se ligar ao receptor hormonal e, conseqüentemente, mimetizar ou bloquear a ação do próprio hormônio^[16,20,53,169,174,175].

Após complexos processos bioquímicos em cadeia, o hipotálamo secreta hormônios que controlam a liberação de outros hormônios pela glândula pituitária. Estas glicoproteínas (também denominadas glandotrofinas), por sua vez, induzem a síntese e a atividade de hormônios de tecidos específicos presentes nas glândulas internas. Os hormônios produzidos nestas glândulas são transportados pela corrente sangüínea até tecidos-alvo, iniciando uma mudança na atividade celular nos seus receptores. Esta mudança de atividade é transmitida por várias vias metabólicas, através da membrana plasmática, dependendo do tipo de hormônio. Estes diferentes processos fisiológicos (em cascata e independentes) são controlados por mecanismos complexos como os de “feedback”, que são ativados ou desativados de acordo com os níveis dos hormônios encontrados no organismo. Embora muitas destas vias metabólicas possam ser influenciadas por estimulações externas ao organismo, a grande maioria dos distúrbios endócrinos observados e explicados até o momento é atribuída ao funcionamento das gônadas, responsáveis pelas características sexuais secundárias e pelo desenvolvimento e funcionamento dos órgãos sexuais^[16,20,53,169,174,175].

Um receptor hormonal possui elevada sensibilidade e afinidade por um hormônio específico produzido no organismo. Por isso, concentrações extremamente baixas de um determinado hormônio geram um efeito, produzindo uma resposta natural (Figura 7a). Entretanto, estes receptores hormonais também podem se ligar a outros compostos químicos. Isso explica o porquê de determinados interferentes endócrinos presentes no organismo, mesmo em baixíssimas concentrações, serem capazes de gerar um efeito, provocando conseqüentemente uma resposta^[16,18-20].

A alteração no sistema endócrino ocorre quando o IE interage com os receptores hormonais modificando a sua resposta natural. Dois processos distintos podem ser desencadeados. O IE pode se ligar ao receptor hormonal e produzir uma resposta, atuando

então como um mimetizador, ou seja, imitando a ação de um determinado hormônio, processo este denominado de efeito agonista (Figura 7b). Se o IE se ligar ao receptor mas nenhuma resposta for produzida, ele estará agindo como um bloqueador, ou seja, estará impedindo a interação entre um hormônio natural e o seu respectivo receptor. Este processo é denominado de efeito antagonista (Figura 7c)^[16,18-20].

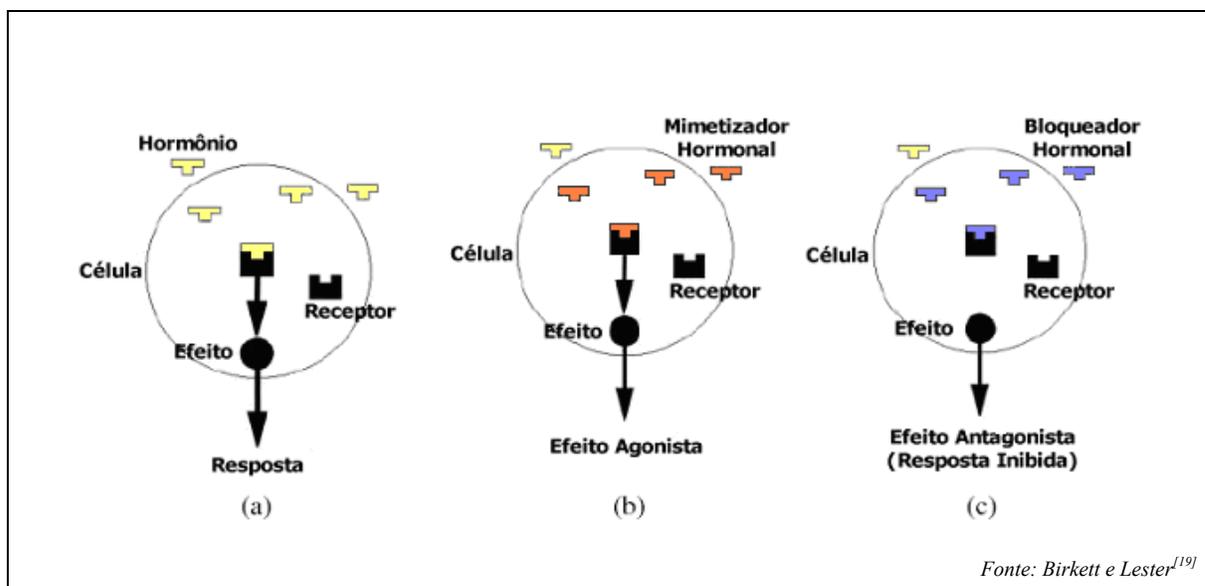


Figura 7: Disfunções endócrinas: (a) resposta natural; (b) efeito agonista; (c) efeito antagonista.

Outros efeitos que podem ocorrer no sistema endócrino são alterações na síntese e na remoção dos hormônios de seus respectivos receptores, e ainda interações com sistemas multi-hormonais. Como se pode perceber, os processos aqui envolvidos são complexos e por este motivo ainda não foram completamente elucidados^[16,19,20].

Muitos interferentes endócrinos competem com o estradiol (hormônio sexual feminino produzido naturalmente pelo organismo), pelos receptores de estrogênio. Outros competem com a dihidrotestosterona (hormônio sexual masculino produzido naturalmente pelo organismo), pelos receptores de androgênio. Portanto, estes compostos exercem efeitos de feminização ou masculinização sobre o sistema endócrino. Compostos que produzem efeitos de feminização são conhecidos como estrogênicos, enquanto que os que produzem efeitos de masculinização são conhecidos como androgênicos. Assim, se um determinado composto é considerado anti-androgênico como a flutamida, ele certamente inibirá a ação biológica dos androgênios, ligando-se e, conseqüentemente, inativando os

receptores de androgênios presentes nos tecidos-alvo. Já um composto anti-estrogênico como o tamoxifeno inibe a ação biológica dos estrogênios ligando-se e, conseqüentemente, inativando os receptores de estrogênios presentes nos tecidos-alvo^[16,19,20,58].

Em suma, os interferentes endócrinos podem interferir no funcionamento do sistema endócrino pelo menos de três formas possíveis: (1) imitando a ação de um hormônio produzido naturalmente pelo organismo, como o estrogênio ou a testosterona, desencadeando deste modo reações químicas semelhantes no corpo; (2) bloqueando os receptores nas células que recebem os hormônios, impedindo assim a ação dos hormônios naturais; e/ou (3) afetando a síntese, o transporte, o metabolismo e a excreção dos hormônios naturais no organismo, alterando desta forma as concentrações dos mesmos, dependendo da fase na qual um determinado organismo se encontra (há fases mais suscetíveis, por exemplo, durante o desenvolvimento do feto)^[16,19,20,53,174,175].

IV.5.3 – Compostos Classificados como Interferentes Endócrinos

Muitos dos interferentes endócrinos estão também classificados numa série de grupos de compostos orgânicos potencialmente tóxicos, tais como os micropoluentes orgânicos, substâncias tóxicas persistentes (STP), poluentes orgânicos persistentes (POP), poluentes emergentes, dentre outros^[16,54,55,169,176].

Entretanto, existem basicamente duas classes de compostos que podem alterar o funcionamento do sistema endócrino: (1) os hormônios naturais que incluem o estrogênio, a progesterona e a testosterona, presentes no corpo humano e nos animais, e os fitoestrogênios, compostos presentes em algumas plantas como nas sementes de soja, e que apresentam uma atividade semelhante aos esteróides hormonais quando ingeridos por um determinado organismo; e (2) os compostos sintéticos ou de origem antrópica que incluem os hormônios sintéticos (hormônios idênticos aos naturais, fabricados pelo homem e utilizados como contraceptivos orais e/ou aditivos na alimentação animal), bem como os xenoestrogênios, produzidos para a utilização nas indústrias, na agricultura e para os bens de consumo. Estão incluídos nesta categoria os pesticidas e aditivos plásticos (ftalatos), compostos de organoestanho, alquilfenóis, as bifenilas policloradas, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, retardantes de chama (éteres difenílicos polibromados) e ainda subprodutos de processos industriais, como as dioxinas e furanos^[15,16,19,20,49,50].

Os interferentes endócrinos ainda podem ser classificados, segundo a sua ação biológica, em agonista ou antagonista, termos estes mais genéricos. Conforme já mencionado, um IE exibe um comportamento agonista quando mimetiza um determinado hormônio (são os compostos estrogênicos ou androgênicos), ou antagonista quando bloqueia um hormônio, ligando-se ao seu receptor (são os compostos anti-estrogênicos ou anti-androgênicos)^[16,19,20]. Até o momento, a maioria dos compostos classificados como IE são os pesticidas (herbicidas, fungicidas, inseticidas, etc.) e esteróides sexuais. Alguns metais como o cádmio e mercúrio também apresentam atividade semelhante no sistema endócrino, especialmente nas suas formas orgânicas como por exemplo, o metilmercúrio.

Esteróides compreendem um imenso grupo de compostos como os hormônios e seus precursores, freqüentemente determinados em materiais biológicos como sangue e urina. De acordo com as suas funções podem ser divididos em três principais grupos: (1) esteróides hormonais como os androgênios, corticóides, estrogênios e progestagênios; (2) colesterol e derivados; e (3) fitoesteróides^[16,19,20,85,86,164,169,172].

Os androgênios são esteróides que contém em sua estrutura dezenove átomos de carbono (C19), distribuídos de forma cíclica e cuja substância mais característica é a testosterona, principal hormônio sexual masculino. Os corticóides são produzidos nas glândulas supra-renais, na parte externa denominada córtex, cujos representantes principais são os glucocorticóides e a aldosterona, que tem como principal função regular o metabolismo dos íons potássio e sódio nos rins^[16,19,20,85,86,164,169,172].

Os estrogênios apresentam em sua estrutura um grupo fenólico e em alguns casos um grupo hidroxila alifático, enquanto que nos progestagênios este grupo fenólico é substituído por um grupo cetona. Como são os principais responsáveis pelo crescimento e pela reprodução de espécies animais, incluindo os seres humanos, seus derivados sintéticos são bastante empregados como contraceptivos (hormônios inibidores do processo de ovulação), ao passo que os estrogênios são também administrados no controle dos sintomas que envolvem a menopausa, distúrbios fisiológicos e no tratamento do câncer de próstata e de mama. Já os progestagênios são empregados nos tratamentos voltados para as causas de infertilidade e descontrole do ciclo menstrual. Em geral, são rapidamente absorvidos pelo organismo e então metabolizados no fígado^[16,19,20,85,86,164,169,172].

Ainda existem os esteróides anabólicos ou anabolizantes sintéticos que nada mais são que substâncias químicas relacionadas estruturalmente com a testosterona. A testosterona pode ser aromatizada a estradiol, sendo esta a principal via de biossíntese de estrogênios em homens e em mulheres após a menopausa. A aplicação terapêutica mais evidente que os androgênios possuem é a de suprir a deficiência da função endócrina dos testículos e aumentar a síntese protéica do organismo. Para obter esses efeitos os ésteres da testosterona são preferidos à sua forma livre, podendo ser aplicados por via intramuscular^[16,85,177].

Os esteróides sintéticos são basicamente obtidos a partir de reações de alquilação (principalmente grupos metila e etila) ou esterificação dos hormônios naturais, prevenindo-os da metabolização rápida quando no organismo e garantindo assim o efeito desejado. Os esteróides sintéticos mais utilizados são o etinilestradiol e mestranol (estrogênios), norgestrel e noretisterona (progestagênicos), metiltestosterona, fluoximesterona, mesterolona, fenilpropionato de nandrolona (Durabolin[®]) e ésteres da testosterona, como anabolizantes^[16,19,20,85,177].

Estrogênios, androgênios e progestagênios, tanto naturais quanto sintéticos, são excretados principalmente pela urina, na forma biologicamente inativa, ou seja, como conjugados solúveis em água (principalmente glucoronídeos ou sulfatos) e em menor proporção pelas fezes (na forma livre), apresentando variações com relação à solubilidade em água, taxa de excreção e catabolismo biológico. Sob condições ambientais estes conjugados são rapidamente hidrolisados, levando-se aos hormônios livres e aos seus metabólitos^[16,19,20,85,172].

Vários organismos excretam diferentes quantidades de esteróides sexuais, dependendo da idade, do estado de saúde, da dieta ou gravidez. A quantidade de estrogênio excretada por uma mulher grávida pode ser até mil vezes maior do que a de uma mulher em atividade normal (da ordem de 2 a 20 μg estrona/dia, 3 a 65 μg estriol/dia, e 0,3 a 5 μg estradiol/dia), dependendo do estágio da gravidez^[20]. Por isso, estes compostos têm sido detectados em amostras provenientes de sistemas aquáticos, como os esgotos domésticos, devido à remoção/destruição ineficiente dos mesmos após serem tratados nas ETE. Como são resistentes à maioria dos processos empregados podem também ser encontrados nas águas superficiais e até mesmo na água potável^[16,19,20,24,85-87,115].

Shore *et al*^[178] foram os primeiros pesquisadores que investigaram a influência e a concentração dos esteróides sexuais como poluentes ambientais. Posteriormente, vários estudos foram realizados com o objetivo de determinar as concentrações dos hormônios sexuais em diversas matrizes ambientais, identificando as suas possíveis fontes. Um destes estudos, realizado nos EUA, mostrou que na água de 10 riachos avaliados, 40% deles apresentavam concentração de testosterona acima de 1,0 ng/L. Dentre estas áreas, três estavam localizadas em regiões que empregavam como fertilizante, altas quantidades de adubo animal, enquanto que apenas uma havia recebido esgoto doméstico. Amostras de esgoto doméstico (bruto e tratado) provenientes de uma estação de tratamento também apresentaram elevados teores de hormônios naturais: 19-273 ng/L para testosterona e 49-73 ng/L para estrogênios no esgoto bruto e 1,6-7,2 ng/L para testosterona e 0,8 a 4,0 ng/L para estrogênios no esgoto tratado^[16,20].

Um outro tipo de esteróide é o colesterol, principal esteróide de origem animal, precursor dos hormônios sexuais e um importante lipídio que atua em muitos processos vitais, sendo um constituinte estrutural presente nas membranas celulares e um substrato na síntese de ácidos biliares. Por outro lado, é considerado como sendo o maior responsável pelos distúrbios ocorridos nas artérias, como a hipertensão. No meio ambiente, este tipo de esteróide é bastante encontrado em sedimentos, inclusive marinhos, e em menor proporção nas águas superficiais, como resultado de numerosas sínteses biológicas e processos de degradação natural, bem como de atividades antrópicas^[77,85,179-182].

Esteróides derivados do colesterol, tais como os isômeros coprostanol (5β -colestano- 3β -ol) e colestanol (5α -colestano- 3β -ol), estão também presentes nestas matrizes ambientais uma vez que são gerados e excretados durante o metabolismo do colesterol. Ambos têm sido utilizados como traçadores de contaminação proveniente de esgoto doméstico, em especial o coprostanol, um esterol de origem fecal formado a partir da hidrogenação bacteriana do colesterol no intestino de animais superiores, e amplamente empregado como marcador molecular na avaliação da qualidade das águas superficiais, na identificação de fontes, no estudo dos mecanismos de transporte e destino final de diversos poluentes no ambiente, dentre outros^[85,179,181,183-186].

Já os fitoestrogênios, análogos estruturalmente e funcionalmente ao colesterol, são encontrados nas plantas e atuam como constituintes das membranas celulares, como

hormônios de crescimento (neste caso desempenhando atividade estrogênica), como antioxidantes, fungicidas, e algumas vezes como herbicidas. Esses fitoquímicos não nutricionais somam mais de doze mil compostos químicos naturais presentes nos alimentos de origem vegetal. Diferentemente dos hormônios sexuais, os fitoestrogênios são compostos que apresentam uma estrutura do tipo 2-fenilnaftaleno, basicamente pertencendo à família dos flavonóides e das ligninas^[16,19,20,85,169,181,182,187].

Vários cientistas têm focado suas pesquisas nas isoflavonas, como a genisteína, e nas ligninas, como a enterolactona. Ambos os fitoestrogênios têm apresentado uma atividade estrogênica da ordem de 10^{-2} a 10^{-3} quando comparados ao 17β -estradiol^[19]. Isto significa que, se um fitoestrogênio se ligar no organismo a um receptor de estrogênio, irá produzir uma resposta cerca de 100 a 1000 vezes menor que a de um estrogênio endógeno. Embora a concentração destes compostos no corpo humano possa ser até 100 vezes maior que os valores encontrados para os estrogênios endógenos, eles são facilmente metabolizados e excretados pela urina e pela bÍlis, na forma de glucoronÍdios e sulfatos conjugados. Portanto, a inclusão destas substâncias na dieta humana tem conferido mais um efeito benéfico à saúde do que deletério. Afinal, evidências científicas têm mostrado que os fitoestrogênios podem apresentar alguns benefícios à saúde quando relacionados às doenças cardiovasculares, câncer, osteoporose e sintomas da menopausa^[16,19,20,85,169].

Por outro lado, estudos realizados com animais provenientes de regiões agrícolas (monocultura) demonstraram que alguns fitoestrogênios apresentaram atividade estrogênica com efeitos deletérios à saúde animal. Algumas ovelhas, após terem sido alimentadas por um longo período com um tipo especial de pasto que continha as isoflavonas genisteína, formonoetina e biochanina A, desenvolveram sintomas de infertilidade^[20]. Posteriormente, estudos envolvendo ensaios *in vivo* com camundongos fêmeas ovariectomizadas comprovaram tal potencial estrogênico^[20]. Ensaios *in vitro* mais recentes também mostraram que muitos fitoestrogênios ligam-se aos receptores hormonais produzindo um efeito agonista similar aos esteróides sexuais exógenos^[16,20].

Outros fitoestrogênios com atividade estrogênica são a zearalenona, uma micotoxina produzida por um fungo presente nos alimentos embolorados como o milho, algodão e cevada, e o β -sitosterol, encontrado em óleos vegetais, legumes e na madeira. Uma vez

que a exposição ambiental as isoflavonas tem sido negligenciada pelos pesquisadores, poucos dados científicos são encontrados na literatura^[16,20,181,187].

Vários testes e biomarcadores têm sido desenvolvidos para detectar a atividade estrogênica de uma determinada substância. Um marcador bastante usado é a vitelogenina (VTG), uma proteína presente no plasma sangüíneo e que desempenha um importante papel no sistema reprodutivo de vertebrados ovíparos fêmeas. Tal substância, sintetizada no fígado, é regulada por estrogênios e transportada através do sangue para os ovários. Em organismos de machos a vitelogenina também está presente, mas apresenta uma concentração pouco expressiva. Entretanto, sua concentração no plasma pode se tornar elevada após a exposição de um determinado organismo às substâncias que apresentam atividade estrogênica. É o caso do β -sitosterol, capaz de induzir a produção de vitelogenina em peixes machos, bem como produzir efeitos androgênicos em peixes fêmeas, tais como o desenvolvimento dos órgãos reprodutivos masculinos^[16-18,20,22,57-61,75-80].

Na Tabela 8 são mostradas algumas das propriedades físico-químicas relevantes para os hormônios sexuais e esteróides derivados do colesterol avaliados neste trabalho, enquanto na Figura 8 são ilustradas as fórmulas estruturais dos mesmos. De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer - IARC^[172], os compostos estradiol, estriol, etinilestradiol e progesterona estão classificados como potencialmente cancerígenos.

Tabela 8: Propriedades físico-químicas relevantes dos esteróides avaliados^[166].

<i>Composto</i>	<i>CAS Number</i>	<i>Fórmula Molecular</i>	<i>PM (g/mol)</i>	<i>Sol. H₂O (mg/L)</i>	<i>pKa^[142]</i>	<i>log K_{ow}^[20,142]</i>
Estrona	53-16-7	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270,37	12,42 ^[20]	10,5	3,13
Estriol	50-27-1	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	288,39	13,25 ^[20]	10,4	2,45
Estradiol	50-28-2	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272,39	12,96 ^[20]	10,4	4,01
Etinilestradiol	57-63-6	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,41	4,83 ^[19]	10,5	3,67
Progesterona	57-83-0	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314,47	ne	ne	3,87
Levonorgestrel	797-63-7	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	312,45	ne	ne	ne
Androstano	438-22-2	C ₁₉ H ₃₂	260,46	ne	ne	ne
Colesterol	57-88-5	C ₂₇ H ₄₆ O	386,66	2,0 ^[85,166]	ne	ne
Coprostanol	360-68-9	C ₂₇ H ₄₈ O	388,68	ne	ne	ne
Colestanol	80-97-7	C ₂₇ H ₄₈ O	388,68	ne	ne	ne
Estigmaterol	83-48-7	C ₂₉ H ₄₈ O	412,70	ne	ne	ne

ne = não encontrado

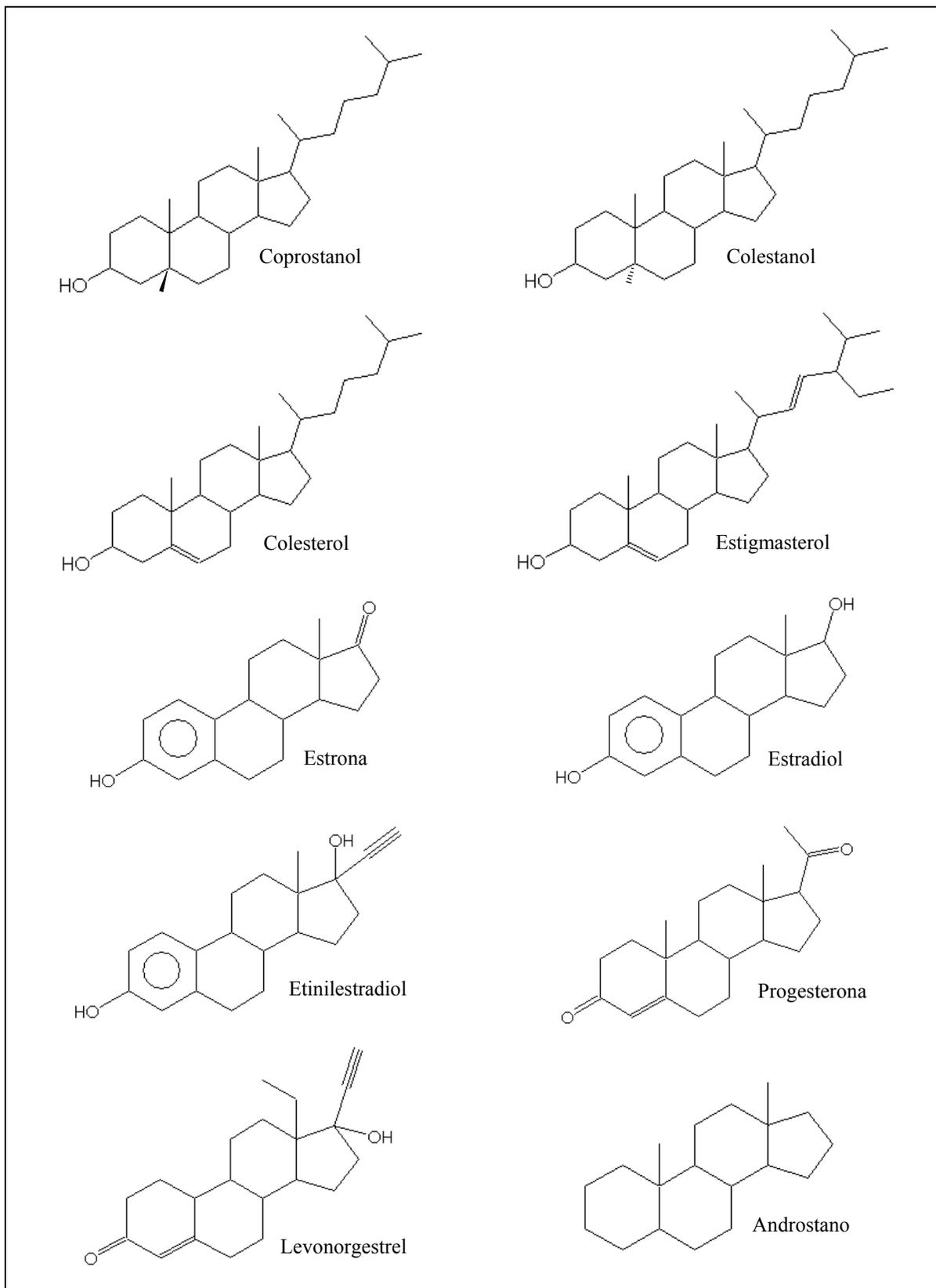


Figura 8: Fórmula dos esteróides e IE utilizados, incluindo os hormônios sexuais^[167].

Os compostos de origem antrópica constituem uma outra classe de IE, composta pelos xenoestrogênios (também denominados estrogênios ambientais) e os compostos comumente utilizados como matéria-prima ou fabricados durante os processos industriais. Também fazem parte desta classe os compostos usados nas atividades agrícolas, como os pesticidas^[16,19,20,22,37,44,48,52,54,55,58,64,68,96,96,117,120,122,124,127,135,138,145,157,158,169,176].

O pentaclorofenol é utilizado desde 1936 como pesticida com múltiplos usos: herbicida como desfolhante pré-colheita, inseticida no controle de cupins, fungicida como preservante de madeira e no tratamento de sementes, e como moluscicida no controle de lesmas. O interesse ambiental envolvendo este composto está na sua elevada toxicidade, uma vez que é considerado como sendo uma das maiores fontes de geração de dioxinas para o ambiente, por exemplo, após a queima da madeira tratada com pentaclorofenol^[16,22,94,169].

Bisfenol é um nome genérico dado a um grupo de difenilalcanos comumente empregados na produção de plásticos. O bisfenol A, principal representante deste grupo, é uma substância amplamente utilizada durante os processos industriais como monômero na produção de polímeros, policarbonatos, resinas epóxi e resinas de poliéster-estireno insaturadas, e ainda como fungicidas e agentes retardantes de chama. Outras aplicações incluem o seu uso como estabilizante na produção de plásticos (inclusive embalagens de alimentos), como revestimento interno nas latas de alumínio usadas em bebidas, como selante dentário, como antioxidante, dentre outras. Este composto ocorre no ambiente como resultado do processo de lixiviação dos produtos finais manufaturados a partir deste, podendo estar presente nos vários compartimentos: ar, água, solo, sedimento e biota^[16].

Embora apresente solubilidade em água moderadamente elevada, o valor do seu coeficiente de partição octanol-água, dado na Tabela 9, permite assumir que tal substância está preponderantemente adsorvida na matéria orgânica. Entretanto, seu transporte no ambiente aquático constitui a sua maior rota de distribuição para os demais compartimentos ambientais. Uma vez presente no meio ambiente, o bisfenol A pode vir a ser degradado biologicamente, com velocidades bastante diferenciadas, apresentando um tempo de meia-vida variando entre 1 a 180 dias em solos, bem como um tempo de meia-vida de 2,5 a 4 dias quando em água. Com relação à sua atividade estrogênica, alguns estudos envolvendo ensaios *in vitro* mostram que o bisfenol A possui um potencial de 4 a 6 ordens

de magnitude menor que o 17 β -estradiol, e ainda que pode apresentar atividade anti-androgênica. Pelo fato do bisfenol A ser bastante empregado nos processos industriais e também por participar das formulações de produtos de uso doméstico, suas principais fontes no meio ambiente são os efluentes industriais, os esgotos domésticos, bem como os lodos provenientes das ETE^[16,19,20,22,37,44,117,127,169].

Os diésteres derivados do ácido ftálico são empregados basicamente como plastificantes, principalmente aqueles contendo o grupo vinil como o cloreto de polivinila (PVC) e outras resinas como acetato de polivinila e poliuretano, bem como na fabricação de tintas, adesivos, papelão, lubrificantes e fragrâncias, e têm sido utilizados há mais de 40 anos. Ftalatos podem ser introduzidos no ambiente através da lixiviação, sobretudo dos plastificantes utilizados na fabricação de plásticos de uso comum. Tais ftalatos são encontrados não apenas na água lixiviada como também nos lodos provenientes dos esgotos, na água superficial, no sedimento e em algumas espécies aquáticas, inclusive peixes^[16,19,22,37,44,48,68,120,124,135,138,145].

Por serem lipofílicos tendem a acumular nos tecidos adiposos das espécies envolvidas numa determinada cadeia alimentar, num processo conhecido como biomagnificação. Como os seres humanos são muitas vezes o topo desta cadeia alimentar, altas concentrações destas substâncias poderão estar presentes na sua dieta. Em geral, a toxicidade aguda destes compostos é relativamente baixa. Porém, estudos ecotoxicológicos têm mostrado que alguns produtos da degradação destes, como os monoésteres, podem ser tóxicos para os mamíferos^[16,19,22,37,44,48,68,120,124,135,138,145].

Os alquilfenóis compreendem os surfactantes não iônicos empregados principalmente na forma de etoxilados e que são sintetizados através da adição de óxido de etileno ao nonilfenol, sob condições alcalinas. Dentre os alquilfenóis, 4-nonilfenol e 4-octilfenol são os compostos de maior importância ambiental devido à escala em que são produzidos no ambiente, a partir de processos de biodegradação dos alquilfenóis etoxilados. Embora nos últimos anos o uso destes compostos na formulação de detergentes de uso doméstico ter sido diminuído em alguns países da Europa, eles ainda continuam sendo empregados como componentes de detergentes industriais, como agentes dispersantes na produção de polpa e papel, como agentes emulsificantes nas

formulações de tintas látex e pesticidas, como aditivos plásticos na produção de resinas fenólicas, como agente floculante, como espermicida em aplicações contraceptivas, nas indústrias têxteis, dentre outras. A maioria destes etoxilados, durante os processos de biodegradação como os empregados nas ETE, geram subprodutos tóxicos e persistentes que, após serem introduzidos no meio ambiente, são acumulados nos organismos aquáticos uma vez que são mais lipofílicos que os compostos que os originaram^[16,19,20,52,64].

Já o benzo[a]pireno representa um dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), um grupo de mais de 100 compostos químicos formados principalmente durante a combustão incompleta da matéria orgânica, tais como combustíveis derivados do petróleo (gasolina e óleo diesel) ou ainda a partir do carvão, madeira, etc. São gerados a partir de fontes naturais ou antrópicas, sendo esta última a principal responsável pela presença destes poluentes no ambiente. As fontes naturais ocorrem como consequência de processos de síntese por bactérias, plantas e fungos, além dos processos naturais de combustão como os incêndios florestais e as emissões vulcânicas. Já as fontes antrópicas incluem os efluentes industriais e esgotos domésticos, processos de incineração de resíduos (inclusive lixo urbano), derramamento acidental de petróleo, produção de asfalto e de alumínio e queima de combustíveis fósseis, principalmente provenientes de emissões veiculares^[16,19,20,22,54,58,157,158,169,176].

As propriedades físico-químicas mais relevantes para os compostos de origem antrópica avaliados neste trabalho são dadas na Tabela 9, enquanto as fórmulas estruturais dos mesmos são ilustradas na Figura 9.

Tabela 9: Propriedades físico-químicas relevantes dos compostos antrópicos avaliados^[166].

<i>Composto</i>	<i>CAS Number</i>	<i>Fórmula Molecular</i>	<i>PM (g/mol)</i>	<i>Sol. H₂O (mg/L)</i>	<i>pKa</i>	<i>log K_{OW}</i>
Dietilftalato	84-66-2	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	222,24	400 ^[166]	ne	2,35 ^[188]
Dibutilftalato	84-74-2	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278,35	13,0 ^[166]	ne	4,57 ^[168]
Bisfenol A	80-05-7	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228,29	120 ^[20]	10,2 ^[126]	3,40 ^[19,20]
Pentaclorofenol	87-86-5	C ₆ HCl ₅ O	266,34	14,0 ^[166]	4,7 ^[166]	3,32 ^[166]
4-Nonilfenol	104-40-5	C ₁₅ H ₂₄ O	220,35	5,43 ^[20]	10,7 ^[166]	4,48 ^[19,20]
Benzo[a]pireno	50-32-8	C ₂₀ H ₁₂	252,30	0,0033 ^[20]	ne	6,13 ^[20,142]

ne = não encontrado

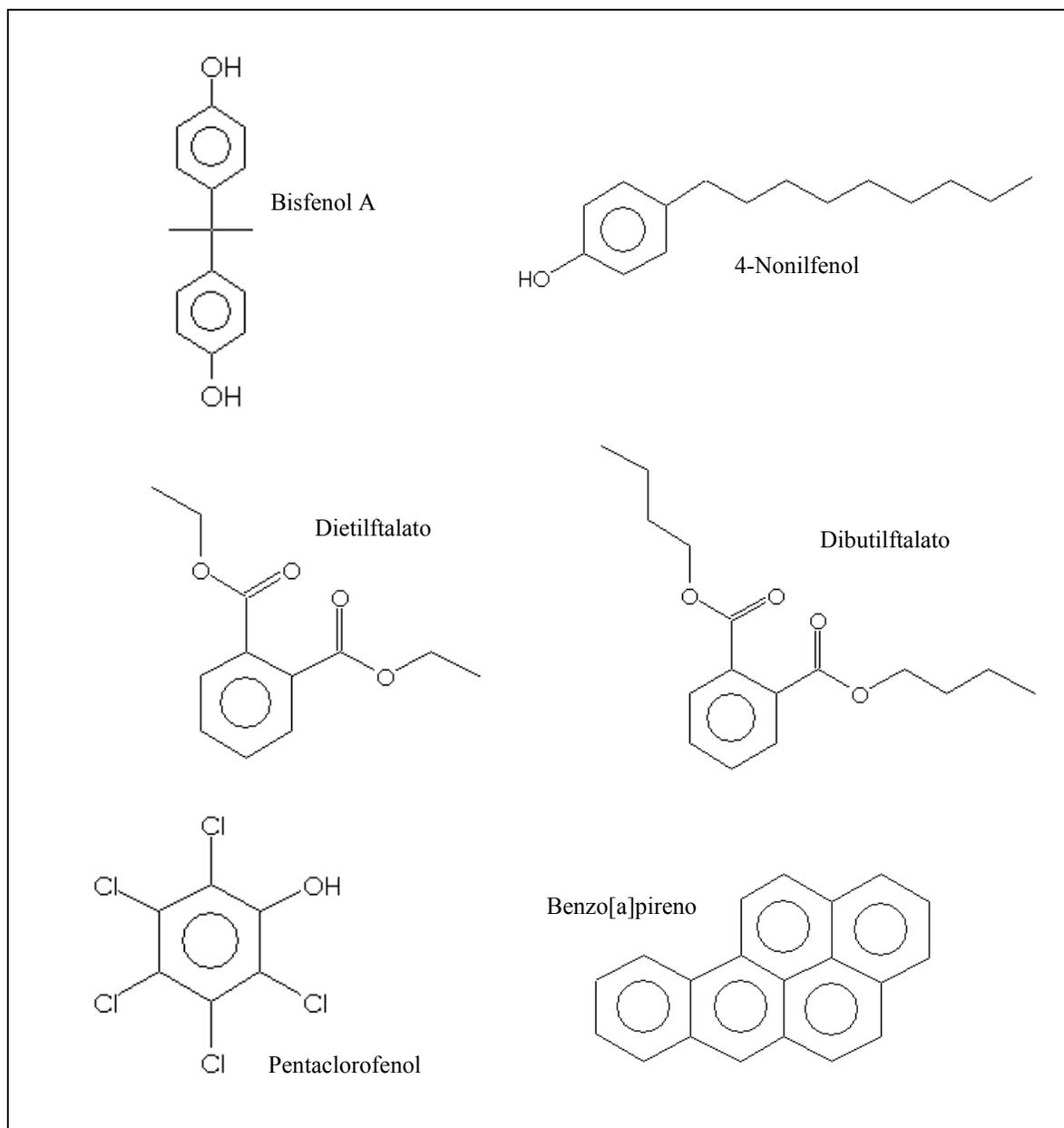


Figura 9: Fórmula dos compostos de origem antrópica utilizados neste trabalho^[167].

Diante destas informações conclui-se que, para os seres humanos, a mais importante fonte de exposição aos IE e PFHP é a alimentação, uma vez que muitas destas substâncias são utilizadas durante a produção de alimentos industrializados e/ou no processo de embalagem dos mesmos, ou ainda através da ingestão de água potável contaminada, já que várias destas substâncias não são totalmente destruídas durante os processos empregados nas estações de tratamento, tanto de água como de esgoto^[16].

IV.6 – Procedimentos Analíticos para a Determinação dos IE e PFHP

Atualmente existem disponíveis na literatura^[93-145] uma grande variedade de procedimentos analíticos que estão sendo empregados na determinação dos IE e PFHP em amostras ambientais (água, solo, sedimento, ar e biota), desde os que envolvem etapas preliminares minuciosas de preparo de amostra, o enriquecimento substancial do analito e o emprego de técnicas cromatográficas de uso comum nos laboratórios de análise química, até os que envolvem uma etapa de extração menos criteriosa mas que empregam equipamentos que apresentam elevada seletividade e baixos limites de detecção.

A determinação de concentrações dos IE e PFHP da ordem de $\mu\text{g/L}$ até ng/L ou menos em matrizes complexas, como por exemplo os esgotos domésticos e as águas superficiais que geralmente contêm uma infinidade de compostos que podem interferir na análise, constitui um grande desafio analítico, iniciando-se pelos materiais a serem utilizados na coleta das amostras, passando pelas etapas de preparo da amostra, limpeza dos extratos (comumente denominado *cleanup*), extração, concentração e derivatização dos compostos de interesse, e chegando-se finalmente à etapa de quantificação. Nesta última etapa outros fatores devem ser também levados em consideração, tais como a disponibilidade, adaptabilidade e capacidade total da técnica instrumental escolhida para a quantificação, tempo de análise e custos envolvidos, seletividade, detectabilidade, precisão nas medidas, repetibilidade e reprodutibilidade, robustez, faixa de aplicação, dentre outros.

É óbvio que todas estas etapas nem sempre podem ser combinadas em um único procedimento analítico. Porém, dependendo do objetivo da análise e da infraestrutura oferecida em certos laboratórios de análise química, tais etapas tornam-se necessárias para que se atinja a detectabilidade esperada.

Dentre as técnicas instrumentais disponíveis para a quantificação dos IE e PFHP em amostras ambientais, a cromatografia é, sem dúvida, a principal delas. Até início da década de 90 a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) eram as técnicas mais empregadas, tanto para a análise de compostos voláteis, termicamente estáveis e de baixa polaridade (GC) como para compostos de polaridade média a elevada (HPLC). Entretanto, após o desenvolvimento de diversas interfaces para o acoplamento da cromatografia líquida à espectrometria de massas, originando as técnicas cromatográficas

conhecidas como LC/MS, houve uma mudança significativa com relação ao emprego das técnicas cromatográficas na análise ambiental, com conseqüente aumento na detectabilidade dos poluentes monitorados.

De modo geral, os IE e PFHP pertencentes às classes dos pesticidas organoalogenados como o lindano, aldrin, DDT e seus metabólitos, de alguns herbicidas, das bifenilas policloradas, dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos como o benzo[a]pireno, dos ftalatos, bem como de outros compostos que apresentam elevada hidrofobicidade e baixa polaridade, ainda são determinados empregando-se cromatografia gasosa, com baixos limites de detecção, cujas principais técnicas são: GC/ECD (detector por captura de elétrons), GC/FID (detector por ionização em chama) e GC/MS (como detector um espectrômetro de massas).

Por outro lado, para a maioria dos PFHP e IE que apresentam elevada solubilidade em água e elevada polaridade, como vários dos fármacos não prescritos e antibióticos, quantificados recentemente nos países mais desenvolvidos como Alemanha, EUA, Canadá, Holanda, Inglaterra, Espanha, Itália, Suécia, Japão, dentre outros, a técnica comumente empregada é a cromatografia líquida, LC/MS. Neste caso, a introdução da amostra no espectrômetro de massas é feita basicamente através da ionização por electrospray (ESI) ou ionização química a pressão atmosférica (APCI)^[113,122,130,141,145]. Técnicas do tipo LC/MS/MS onde dois ou mais espectrômetros são empregados em série também têm sido muito utilizadas^[29,30,105,107,116,138-140,142,143]. Já para os IE e PFHP com propriedades físico-químicas intermediárias, como os hormônios sexuais, tanto técnicas do tipo LC/MS como GC/MS (com ou sem derivatização) e GC/MS/MS têm sido empregadas, segundo os vários trabalhos reportados na literatura^[37,93-101,103-106,108-111,114,116-118,122,124,127-129,131-137,140-142].

Nas etapas de preparo da amostra, concentração dos analitos e limpeza dos extratos obtidos, são adotados diversos métodos. Em geral, a preservação das amostras pós coleta pode ou não ser feita, em conjunto com a refrigeração das mesmas. Em alguns procedimentos reportados são adotados como preservantes certos agentes químicos como formaldeído (1% v/v), metanol, ácido sulfúrico ou cloreto mercúrico^[86].

A etapa de extração e concentração dos analitos também é bastante diversificada. Existem procedimentos que empregam extração líquido-líquido (ELL), com ou sem filtração prévia da amostra, utilizando-se em geral diclorometano ou acetato de etila como solvente

extrator. Em outros, a extração em fase sólida (SPE) é empregada, e neste caso, a variedade de sorventes utilizados é imensa (grupos octadecil, resinas poliméricas, resinas de troca iônica, carbono grafitizado, etc), incluindo ou não a derivatização dos analitos. Quando da derivatização, os reagentes silanizantes como o *N*-metilbis(trifluoroacetamida), mais conhecido como MBTFA, e bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida, o BSTFA, são os mais empregados. Também são descritos procedimentos empregando-se microextração em fase sólida (SPME), às vezes com a etapa de derivatização realizada na própria fibra^[86,127,131,132].

A combinação destas várias etapas também não parece seguir um padrão. Os procedimentos são adotados, na maioria dos casos, baseados na infra-estrutura do laboratório onde o trabalho está sendo realizado e nas faixas de concentração que se pretende alcançar. Portanto, há trabalhos que combinam SPE com GC/MS^[37,94,95,97-100,103,106,108,109,111,116,118,128,129,133,134,136,137] e outros que combinam SPME com HPLC^[123]. Já nos procedimentos que empregam LC/MS, grande parte dos trabalhos publicados utiliza SPE como a etapa de extração e concentração dos analitos.

Procedimentos analíticos empregando técnicas biológicas para a determinação dos IE e PFHP em amostras ambientais, como os imuno-ensaios do tipo ELISA (enzima-imuno ensaio) e RIA (radio-imuno ensaio)^[102,143], e ainda biosensores ópticos^[144] foram também encontrados na literatura. Embora tais técnicas dispensem a etapa de concentração do analito reduzindo os custos envolvidos, apresentam algumas limitações. Além da impossibilidade de se analisar simultaneamente vários compostos de classes diferentes, como em geral é feito nos métodos cromatográficos, até agora não foi possível a automação destas técnicas para o emprego em análises de rotina.

Alguns artigos de revisão sobre procedimentos analíticos adotados na determinação dos IE e PFHP em amostras ambientais podem ser encontrados na literatura, recentemente publicados por: Shimada *et alii*^[85], de Alda e Barceló^[86], de Alda *et alii*^[88], Gelpí^[89], Zwiener e Frimmel (parte I^[90] e parte II^[91]), e Petrović *et alii*^[92].

Dentre os inúmeros trabalhos publicados nos últimos 10 anos, apenas dois envolveram a análise de amostras ambientais coletadas no Brasil. Em ambos, publicados em 1999 por Stumpf *et alii*^[100] e Ternes *et alii*^[101], foram determinados alguns fármacos polares no esgoto bruto e tratado (coletados em 10 diferentes ETE no Estado do RJ), nas

águas superficiais do Rio Paraíba do Sul, Reservatório Lagoa de Juturnaíba, na região Dos Lagos, e da Baía de Guanabara, e também na água potável coletada nas 5 maiores cidades do Estado do RJ: Rio de Janeiro, Niterói, Resende, Três Rios e Campos. A concentração média da maioria dos fármacos investigados no esgoto tratado da ETE esteve na faixa de 0,1 a 1,0 µg/L. Nos rios, as concentrações médias encontradas estiveram entre 0,02 e 0,04 µg/L, como consequência da remoção incompleta dos fármacos durante sua passagem pela ETE e pelo descarte de esgoto *in natura*. A taxa de remoção de fármacos individuais após passagem pela ETE variou de 12 a 90%.

Estrogênios naturais e sintéticos também foram encontrados na ETE da Penha/RJ. No esgoto bruto as concentrações obtidas foram de 0,021 µg/L para o estradiol e 0,04 µg/L para a estrona, enquanto as taxas de remoção de estrona observadas foram de 67% para o esgoto tratado em filtro biológico e 83% para o esgoto tratado pelo processo de lodo ativado. Já para o estradiol e etinilestradiol as respectivas taxas de remoção foram de 92% e 64% para o esgoto tratado em filtro biológico e de 99,9% e 78% para o esgoto tratado por lodo ativado^[100,101].

No Anexo 2 são mostrados os diversos procedimentos analíticos adotados por vários pesquisadores na determinação dos IE e PFHP em amostras ambientais, bem como as respectivas referências.

V – MATERIAIS E MÉTODOS



V – MATERIAIS E MÉTODOS

Para que pudesse ser desenvolvido um procedimento analítico capaz de identificar e quantificar possíveis IE e PFHP nas amostras ambientais estudadas, além de ser útil para avaliar a qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na RMC, foram estabelecidas 5 etapas de estudo durante a execução deste trabalho. Os procedimentos adotados foram baseados em alguns métodos descritos na literatura, uma vez que ainda não existem métodos oficiais para a análise destas classes específicas de compostos em amostras ambientais. No total foram realizadas 7 campanhas para a coleta das amostras.

Na primeira etapa de estudo foi feito um diagnóstico das águas superficiais provenientes do Rio Atibaia e do Ribeirão Anhumas, um dos afluentes do Atibaia e que recebe preponderantemente cargas poluidoras de origem doméstica, ambos próximos à cidade de Paulínia, através da análise das amostras de água coletadas nas campanhas 1-3. As amostras foram analisadas procurando-se identificar a ocorrência dos IE e PFHP. Os compostos de interesse foram extraídos da fase aquosa utilizando-se dois métodos de extração: extração líquido-líquido (ELL) empregando como solvente extrator diclorometano e acetato de etila; e extração em fase sólida (SPE) empregando-se dois tipos de sorvente, octadecil (C18) e carbono grafitizado (Cgraf), e diferentes solventes de eluição como metanol, acetato de etila, diclorometano, e misturas contendo acetona e acetato de etila e diclorometano e metanol. A análise cromatográfica dos extratos obtidos foi feita em condições variadas (rampas de aquecimento diferenciadas, vazão ou pressão do gás constante, etc), conforme descrições de alguns trabalhos publicados na literatura. Também foi realizada a derivatização dos compostos utilizando-se um reagente silanizante, o MTBSTFA. Em suma, apenas a análise qualitativa foi realizada nesta etapa.

A segunda etapa consistiu na escolha e otimização do método cromatográfico que seria empregado posteriormente na análise quantitativa das amostras avaliadas. Para isso, trabalhou-se com soluções-padrão contendo alguns IE e PFHP, selecionados ao final da primeira etapa de estudo. Procurou-se escolher, dentre os compostos listados, aqueles cuja

presença se fez constante em nossa região, ou seja, compostos usados como matéria-prima nas inúmeras indústrias aqui instaladas, compostos utilizados como princípio-ativo de alguns medicamentos não prescritos bastante consumidos pela população em geral, e ainda aqueles freqüentemente encontrados nos cursos d'água. Dos 21 compostos selecionados, 6 correspondem aos hormônios sexuais, 4 são esteróides derivados do colesterol, 6 são classificados como PFHP e 5 têm suas origens em atividades antrópicas. Os parâmetros cromatográficos otimizados foram fixados obtendo-se um método único para a quantificação dos compostos selecionados. Nesta etapa também foram obtidas as curvas analíticas para os mesmos.

Além da identificação dos IE e PFHP presentes nas amostras avaliadas, na terceira etapa de estudo foi feita a quantificação dos compostos-alvo selecionados, empregando-se ELL com diclorometano e SPE com ambos sorventes C18 e Cgraf. Com relação aos pontos monitorados foi acrescentado um segundo ponto no Rio Atibaia, localizado no distrito de Sousas, exatamente na captação da SANASA, ponto este usado para o abastecimento público da cidade de Campinas. Amostras de água tratada, esgoto bruto e esgoto tratado também foram coletadas e analisadas. As amostras avaliadas nesta etapa correspondem às obtidas durante as campanhas 4-6.

A quarta etapa consistiu na otimização da EFS empregando sorvente misto para a extração dos compostos (cartuchos Oasis[®]HLB, Waters), e na otimização do procedimento analítico como um todo. Parâmetros como precisão, repetibilidade, linearidade, detectabilidade, recuperação, intervalo de aplicação, dentre outros, foram determinados para a garantia dos resultados gerados. A análise de brancos de laboratório também foi realizada nesta etapa de estudo.

Por fim, a quinta etapa de estudo consistiu na identificação e quantificação dos IE e PFHP selecionados, em amostras de água superficial e água potável coletadas em diversos pontos da sub-Bacia do Atibaia e da cidade de Campinas, respectivamente. Com relação aos pontos de água superficial monitorados (campanha 7) foi acrescentado um terceiro ponto no Rio Atibaia, localizado na ponte de acesso a Joaquim Egídio, no distrito de Sousas, pouco mais de 2 km a montante da captação da SANASA, e também um ponto no Ribeirão Pinheiros, há poucos metros da sua confluência com o Rio Atibaia. As amostras de água potável foram coletadas em 10 pontos da cidade de Campinas, incluindo

residências, comércios e áreas de recreação, distribuídos de forma representativa. As análises foram efetuadas empregando-se o procedimento otimizado, isto é, a partir dos extratos obtidos após ELL e SPE com sorvente misto (testado após obtenção de baixa eficiência com os cartuchos C18 e Cgraf) e método cromatográfico validado. Os resultados obtidos nesta etapa puderam ser comparados, permitindo-se avaliar a eficiência das extrações empregadas.

V.1 – Região de Estudo

Para que fosse avaliada a qualidade dos corpos d'água pertencentes a RMC, com relação à presença dos IE e PFHP, escolheu-se a sub-Bacia do Atibaia como região de estudo, conforme ilustrado na Figura 10.

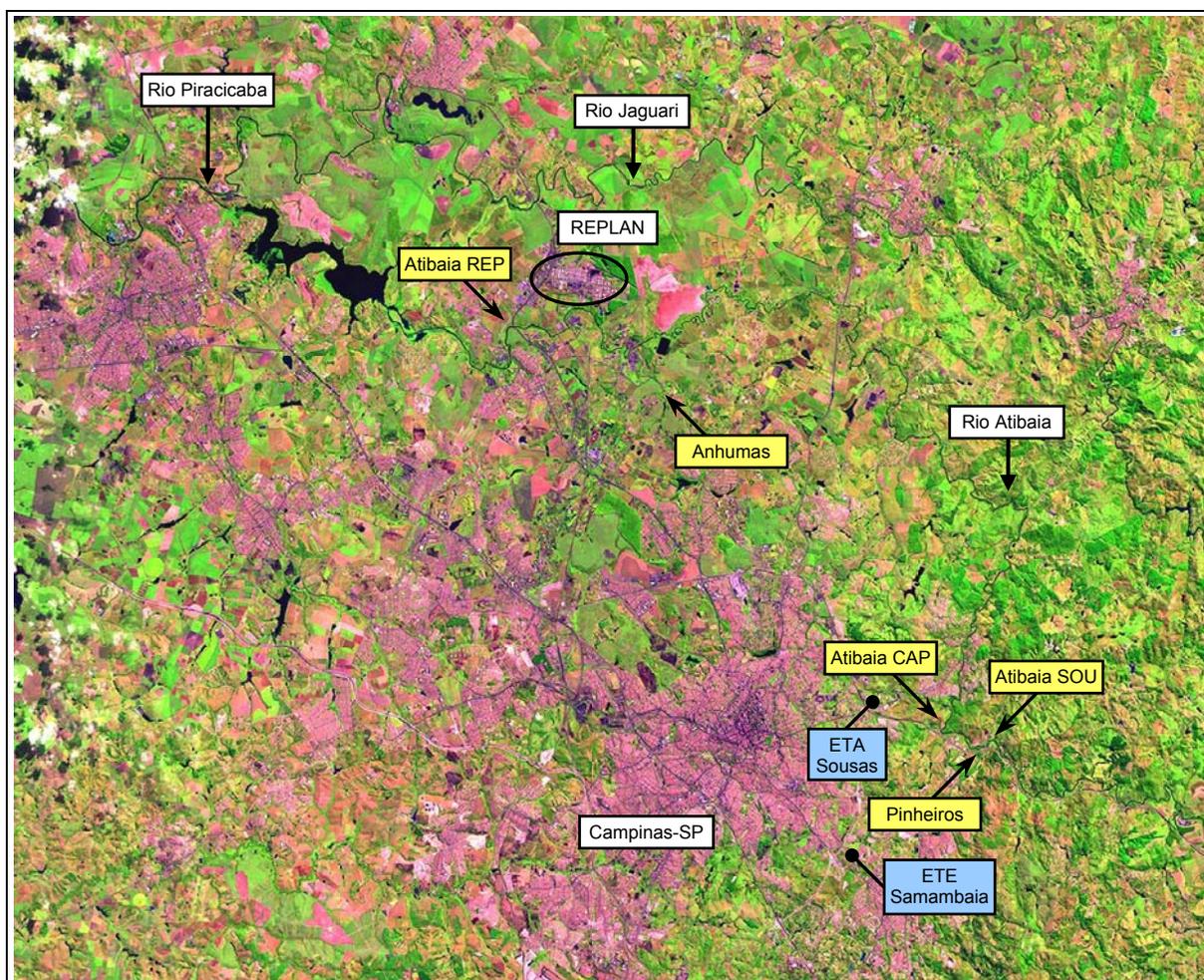


Figura 10: Mapa da região estudada – Fotos de satélite obtidas pela internet (www.embrapa.br).

Para a avaliação das águas superficiais foram selecionados 5 pontos de amostragem sendo três no Rio Atibaia, um no Ribeirão Anhumas e um no Ribeirão Pinheiros, ilustrados nas Figuras 11-13.

O primeiro ponto de coleta no Rio Atibaia, denominado **Atibaia REP** (latitude 22°45'47", longitude 47°09'18"), localiza-se sob a ponte da rodovia SP-332, no trecho que liga as cidades de Campinas e Cosmópolis (próximo a REPLAN), à jusante do Ribeirão Anhumas. Este ponto coincide com o ponto de amostragem utilizado pela CETESB no monitoramento da qualidade das águas, descrito no Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo – 2005^[3] e identificado como ATIB02605.

O segundo ponto de coleta, denominado **Atibaia CAP** (latitude 22°54'18", longitude 46°58'26"), está no Rio Atibaia, no distrito de Sousas, exatamente no ponto de captação de água utilizado pela SANASA para o abastecimento público da cidade de Campinas, representando a água bruta que abastece 95% da população campineira. Este ponto encontra-se na divisa dos municípios de Campinas e Valinhos, à jusante do Ribeirão Pinheiros, e também coincide com o ponto de amostragem utilizado pela CETESB no monitoramento da qualidade das águas, identificado como ATIB02065^[3]. Já o terceiro ponto no Rio Atibaia, denominado **Atibaia SOU** e utilizado apenas na última campanha, está localizado sob a ponte de acesso a Joaquim Egídio, no distrito de Sousas, pouco mais de 2 km a montante da captação da SANASA.

O ponto de coleta no Ribeirão Pinheiros, afluente do Rio Atibaia que recebe preponderantemente cargas poluidoras domésticas das cidades de Valinhos e Vinhedo e da região leste de Campinas, denominado **Pinheiros** (latitude 22°54'53", longitude 46°57'39") e também utilizado apenas na última campanha, está localizado há poucos metros da sua confluência com o Rio Atibaia, sob a ponte na Marginal paralela à Rodovia D. Pedro I (altura do km 122,5 sentido Campinas), também no distrito de Sousas. Este ponto coincide com o ponto de monitoramento da CETESB, identificado como PINO03900^[3]. Já o ponto no Ribeirão Anhumas, denominado **Anhumas** (latitude 22°45'56", longitude 47°06'00"), localiza-se sob a ponte na estrada da Rhodia, no trecho que liga o distrito de Barão Geraldo à cidade de Paulínia, muito próximo ao ponto monitorado pela CETESB, descrito no Relatório de Qualidade das Águas^[3] e identificado como NUMA04900.

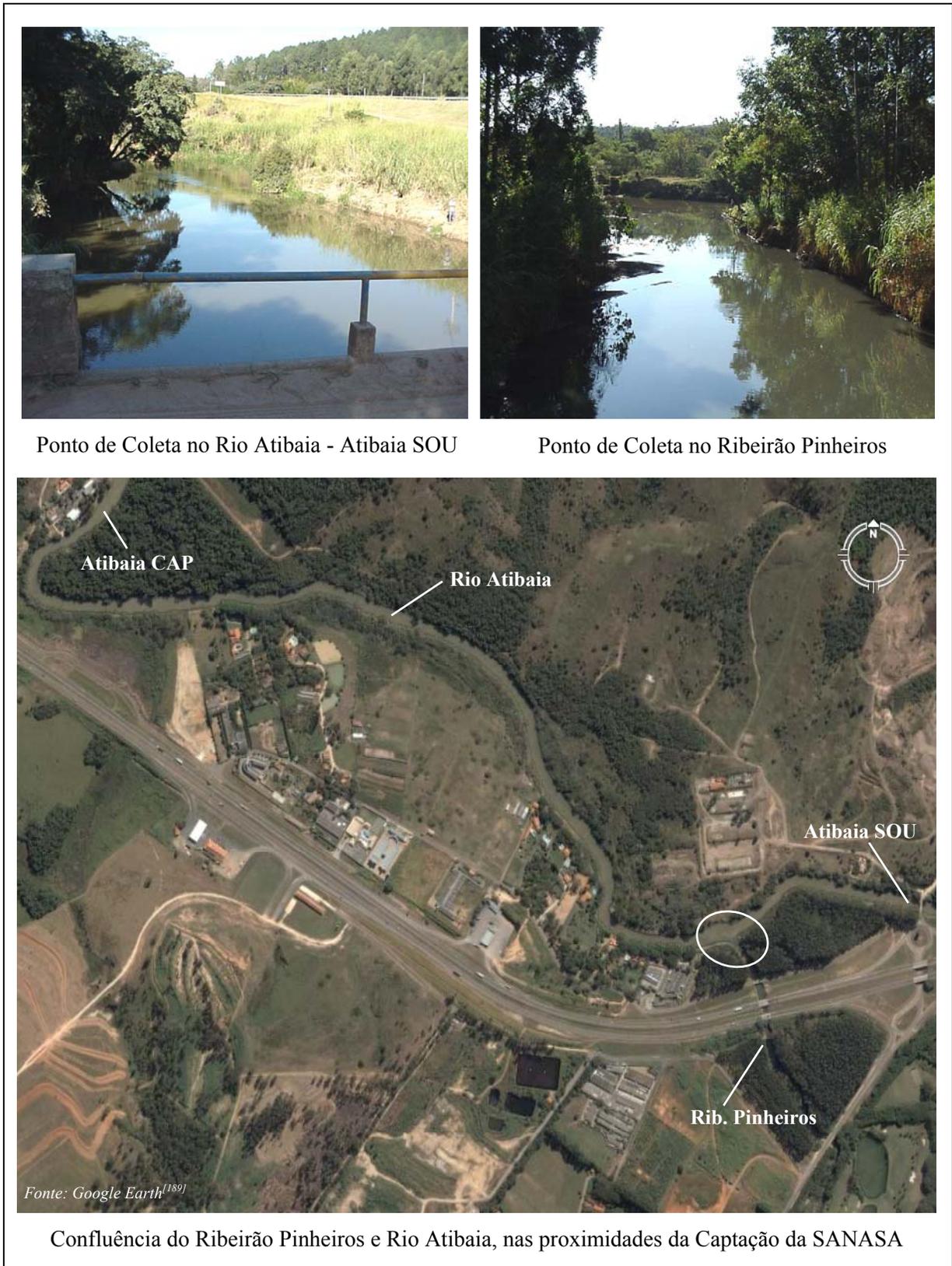


Figura 11: Pontos de amostragem no Atibaia e Pinheiros, localizados no distrito de Sousas-SP.

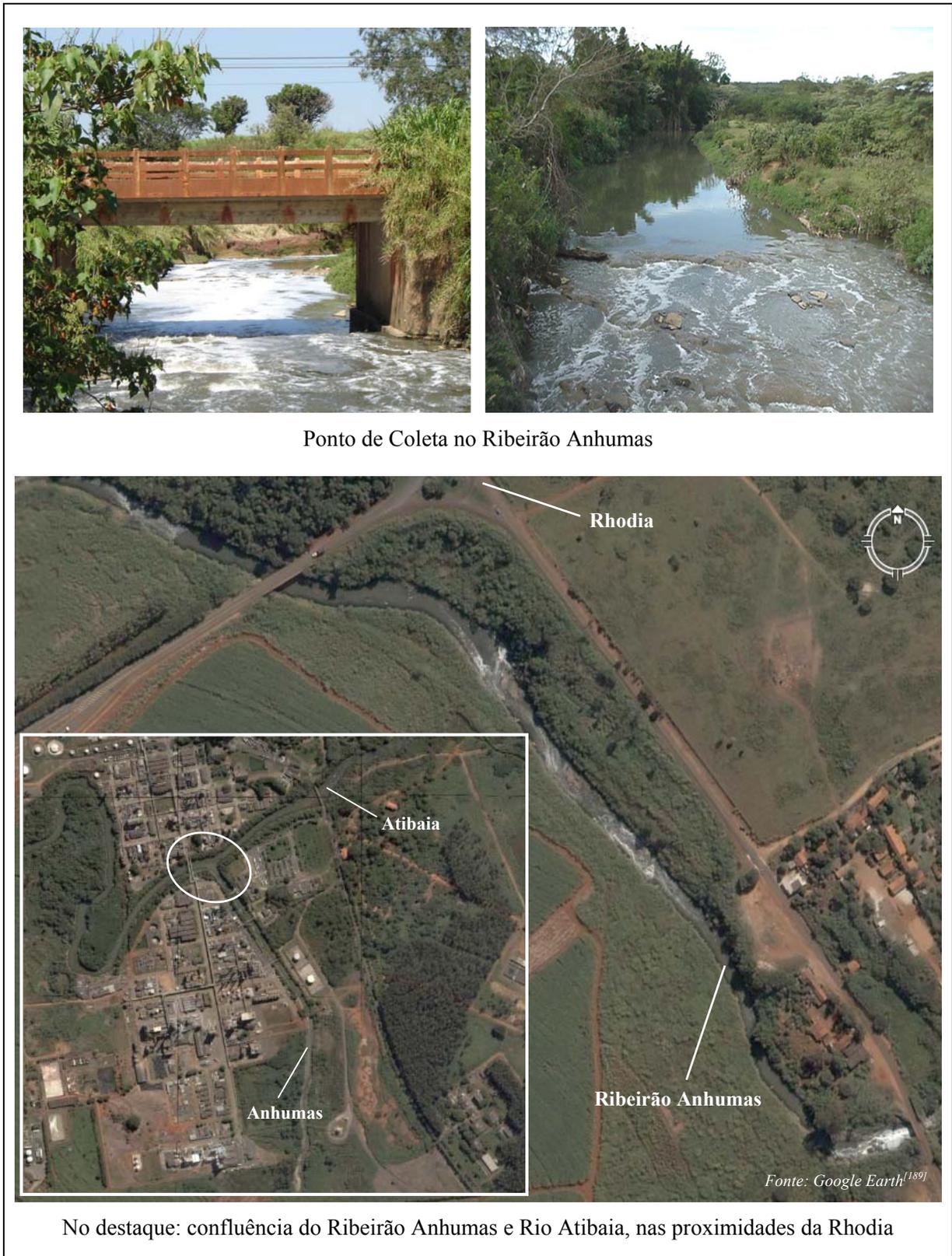


Figura 12: Ponto de amostragem no Ribeirão Anhumas, no município de Paulínia-SP.



Figura 13: Ponto de amostragem no Rio Atibaia, no município de Paulínia-SP.

Para que fosse avaliada a presença dos IE e PFHP na água potável distribuída à população da RMC, além das amostras de água superficial foram coletadas amostras de água tratada pela SANASA. Estas amostras foram obtidas tanto da ETA Sousas (diretamente de uma das torneiras da sala de controle de qualidade - campanhas 5 e 6), bem como da própria torneira de residências, comércios e áreas de recreação em 10 diferentes pontos localizados na cidade de Campinas (campanha 7). Também foram coletadas, de maneira instantânea, amostras de esgoto doméstico bruto e tratado provenientes da ETE Samambaia, localizada próxima ao Ribeirão Pinheiros, região leste de Campinas (campanha 5). Algumas campanhas foram realizadas no período de seca (entre a primavera e verão); já outras no período de chuvas (durante o outono, após as chuvas de verão), como descrito na Tabela 10.

Tabela 10: Campanhas realizadas para a determinação dos IE e PFHP nas águas da RMC.

<i>Campanha</i>	<i>Nº Pontos</i>	<i>Data</i>	<i>Horário</i>	<i>Amostra</i>	<i>Análise</i>
1 (seca)	02	02/05/2002	14:15 14:40	Atibaia REP Anhumas	qualitativa
2 (chuvas)	02	04/02/2003	12:15 12:30	Atibaia REP Anhumas	qualitativa
3 (chuvas)	02	16/04/2003	08:50 09:10	Atibaia REP Anhumas	qualitativa
4 (seca)	03	10/11/2003	11:47 13:25 13:45	Atibaia CAP Atibaia REP Anhumas	quali/quantitativa
5 (chuvas)	06	04/04/2004	14:35 15:30 16:00	Atibaia CAP Atibaia REP Anhumas	quali/quantitativa
		08/04/2004	14:05 15:00 15:00	Água Tratada - ETA Esgoto Bruto - ETE Esgoto Tratado - ETE	
6 (chuvas)	04	15/12/2004	15:35 14:45 11:45 11:00	Água Tratada - ETA Atibaia CAP Atibaia REP Anhumas	quali/quantitativa
7 (seca)	05	02/06/2006	15:15 14:22 16:23 14:53 16:45	Atibaia SOU Atibaia CAP Atibaia REP Pinheiros Anhumas	quali/quantitativa
	10	21/06/2006	09:30 até 16:30	Água Tratada - Torneira	quali/quantitativa

Os pontos de coleta utilizados na amostragem de água tratada (ETA) e de esgoto doméstico bruto e tratado (ETE) são ilustrados na Figura 14. A descrição dos pontos de coleta de água tratada (potável), amostrados durante a campanha 7 em diferentes bairros de Campinas, é dada na Tabela 11, enquanto a localização dos mesmos é ilustrada na Figura 15, na qual também é esquematizado o sistema de produção e distribuição de água, monitorado pela SANASA.



Figura 14: Pontos de amostragem de água tratada (ETA) e esgoto doméstico (ETE).

Tabela 11: Descrição dos pontos de coleta de água potável, amostrados em Campinas.

<i>Ponto</i>	<i>Região</i>	<i>Bairro</i>	<i>Uso da Água</i>	<i>Reservatório</i>	<i>Captação</i>
1	Norte	Bosque das Palmeiras	residencial	ETA 3 e 4	Rio Atibaia
2	Noroeste	Castelo	lazer/recreação	ETA 3 e 4	Rio Atibaia
3	Oeste	Jardim Eulina	residencial	ETA 3 e 4	Rio Atibaia
4	Sudoeste	Jardim Londres	residencial	ETA 3 e 4	Rio Atibaia
5	Sul	Jardim do Lago	comercial	ETA 3 e 4	Rio Atibaia
6	Sudeste	Jardim Proença	comercial	ETA 1 e 2	Rio Atibaia
7	Leste	Distrito de Sousas	residencial	ETA 3 e 4	Rio Atibaia
8	Nordeste	Parque Taquaral	lazer/recreação	ETA 3 e 4	Rio Atibaia
9	Central	Centro	lazer/recreação	ETA 1 e 2	Rio Atibaia
10	Extremo Sul	Recanto do Sol II	residencial	ETA Capivari	Rio Capivari

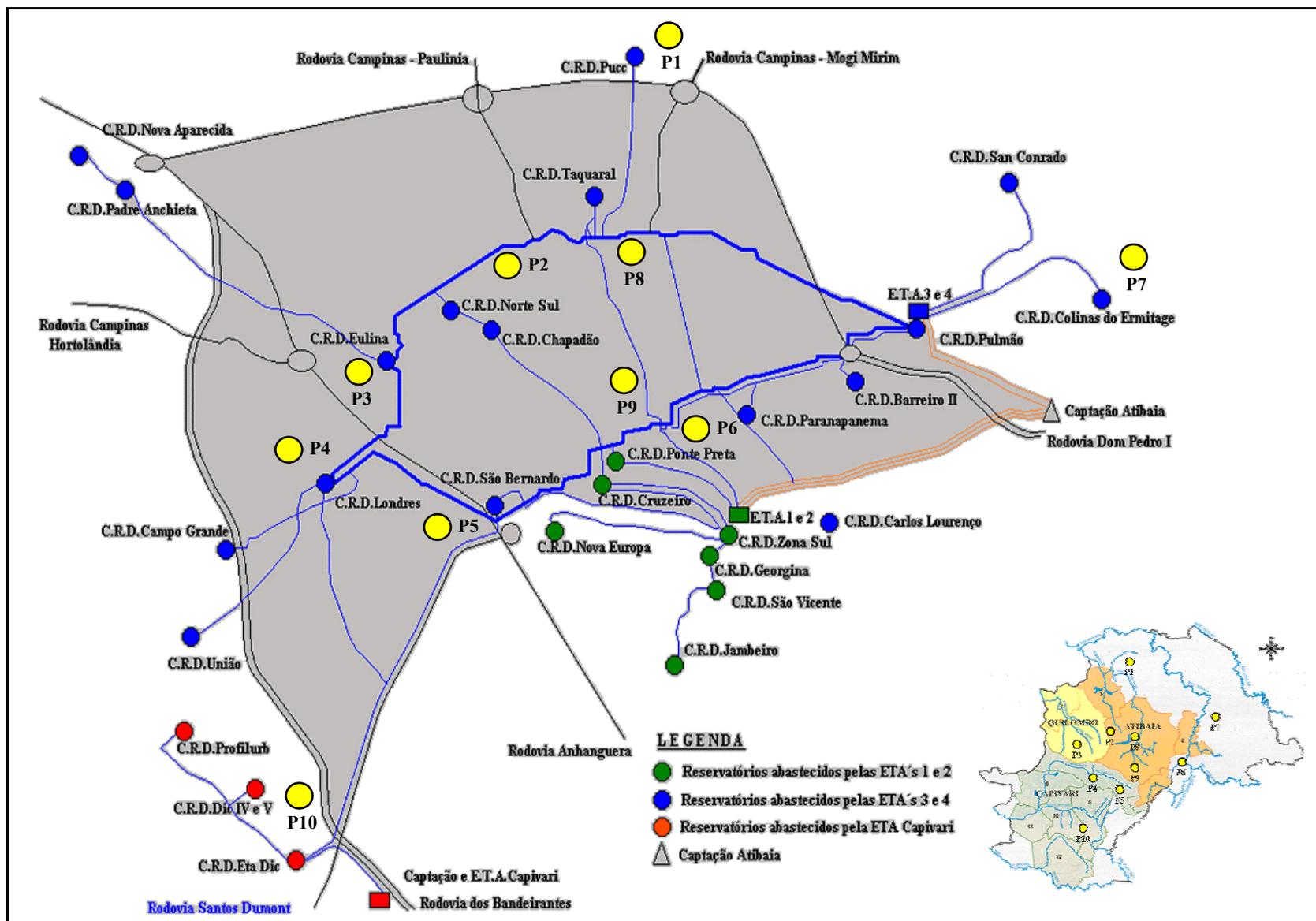


Figura 15: Localização dos pontos de amostragem de água potável. Sistema produtor e distribuidor de Campinas (fonte: Sanasa^[13]).

V.2 – Procedimentos de Coleta e Preservação

Os procedimentos analíticos adotados em todas as etapas deste estudo foram praticamente os mesmos e por este motivo estão aqui descritos de forma conjunta, a fim de facilitar o entendimento e evitar a repetição de informações.

Os materiais e vidrarias utilizados na coleta e extração das amostras foram criteriosamente limpos, sendo previamente lavados com água/detergente e água deionizada. Após lavagem, os materiais não volumétricos foram submetidos à alta temperatura para a eliminação de possíveis resíduos orgânicos (mufla a 400°C por 4 horas), enquanto a vidraria volumétrica utilizada foi deixada por 24 horas em solução detergente alcalina 8% (Extran[®]), já que não podiam ser expostas a altas temperaturas. Com relação aos solventes empregados, obtidos da Mallinckrodt, J.T.Baker ou Merck, os mesmos apresentavam elevado grau de pureza (nanograde), assim como os demais reagentes (padrões, reagente de derivatização, ácido para ajuste do pH, agente secante, dentre outros), obtidos da Sigma-Aldrich, Merck ou Mallinckrodt. Quando necessário o emprego de água trabalhou-se sempre com água deionizada, obtida após purificação da água destilada em sistema Milli-Q[®], da Millipore.

Durante a amostragem das águas superficiais procurou-se seguir, sempre que possível, os procedimentos adotados pela CETESB e descritos no Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Águas^[190]. Para cada ponto amostrado foram coletados cerca de 8 L de água (no máximo a 50 cm de profundidade), armazenados em frascos de vidro âmbar previamente descontaminados. Durante a coleta foi utilizado um amostrador de água construído no laboratório, constituído por um balde plástico reforçado e amarrado a uma corda, que foi então lançado ao corpo d'água de cima de uma ponte, exceto para o ponto localizado no Rio Atibaia na captação da SANASA, conforme mostrado na Figura 16.

Para caracterizar melhor a sub-bacia estudada foram efetuadas algumas análises físico-químicas como a determinação do pH, temperatura, teor de oxigênio dissolvido, condutividade e teor de carbono orgânico e inorgânico dissolvidos. Os parâmetros monitorados foram medidos nos locais da coleta, exceto carbono orgânico e inorgânico, utilizando-se um instrumento manual portátil de medição universal MULTI 340i, WTW, equipado com os seguintes itens: sensor de oxigênio Cellox 325, um eletrodo de pH

Sentix 41-3 e uma célula para medição da condutividade, TetraCon® 325. Depois de coletadas, as amostras foram imediatamente transportadas ao laboratório e armazenadas em geladeira para a preservação das mesmas através da refrigeração a 4°C. No laboratório, cerca de 50 mL de cada amostra coletada foi utilizado na análise de carbono total, tanto orgânico (COD) quanto inorgânico (CID), utilizando-se um analisador de carbono marca Shimadzu, modelo TOC 5000.



Figura 16: Amostrador de água construído no laboratório e utilizado durante as coletas.

Posteriormente, as amostras foram analisadas procurando-se identificar e determinar compostos classificados como IE, fármacos e produtos utilizados em cosmética e higiene pessoal, compostos provenientes de processos industriais e ainda alguns traçadores de contaminação por esgotos domésticos. Para isso as amostras foram submetidas a dois métodos de extração: extração líquido-líquido (ELL) e extração em fase sólida (SPE) empregando-se vários solventes ou combinações dos mesmos seguida da análise por GC/MS, com base nos procedimentos adotados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos - USEPA^[191], nos sugeridos pela Waters^[192] e nos descritos por alguns pesquisadores como Mol *et alii*^[109], Öllers *et alii*^[118], Heberer *et alii*^[99] e Heberer e Stan^[94]. Os procedimentos analíticos empregados neste estudo estão descritos nos itens subseqüentes.

V.3 – Extração/Concentração dos Compostos de Interesse

V.3.1 – Extração Líquido-Líquido – ELL

Todas as extrações líquido-líquido empregadas neste trabalho foram realizadas em duplicata, seguindo-se os procedimentos adotados pela USEPA^[191] (método 3510C e método 506) e por Mol *et al*^[109], com algumas adaptações. Trabalhou-se com um volume de 1 L de amostra *in natura* e um funil de separação de 2 L. Foram testados dois tipos de solvente extrator: diclorometano (DCM) e acetato de etila (EtOAc). A extração com DCM foi realizada utilizando-se sempre três porções de 60 mL do solvente, enquanto que para o EtOAc foram usadas duas porções de 150 mL. Embora pequenas porções de solvente e um maior número de adições do mesmo à amostra sejam mais eficientes na ELL, o acetato de etila forma uma mistura azeotrópica com água^[166], na proporção 6,1% v/v, ou seja, aproximadamente 60 mL para cada litro de amostra. Deste modo, justifica-se a escolha de um volume maior do solvente e menor número de adições para este caso específico.

Após a primeira adição do solvente o sistema foi agitado vigorosamente. Após um tempo de repouso, a fase orgânica (mais densa no caso do DCM) foi coletada em um balão de fundo chato de 250 mL, passando-se previamente por um funil contendo lã de vidro e sulfato de sódio anidro (aquecido em mufla por 6 horas a 400°C). Repetiu-se este procedimento mais duas vezes na extração com DCM e uma vez mais para o EtOAc. O extrato final foi concentrado em rotaevaporador até um volume aproximado de 5 mL e então transferido, em várias etapas e com o auxílio de uma pipeta Pasteur, para um balão volumétrico de 1 mL que era mantido sob fluxo de N₂. O extrato foi concentrado sucessivas vezes para que o excesso de solvente fosse eliminado. Ao final, completou-se o volume com o solvente apropriado obtendo-se um fator de concentração de 1000 vezes. Do extrato obtido, injetou-se 1 µL no GC/MS. Durante a extração empregando EtOAc houve a necessidade de adicionar uma pequena quantidade de cloreto de sódio para que fosse possível desestabilizar a emulsão formada após a agitação vigorosa.

V.3.2 – Extração em Fase Sólida – SPE

As SPE empregadas neste trabalho foram baseadas nos procedimentos adotados pela USEPA^[191] (método 3535A), sugeridos pela Waters^[192] e nos descritos por

Mol *et alii*^[109], Öllers *et alii*^[118], Heberer *et alii*^[99]. Foram utilizados três tipos de sorventes: (1) octadecil, empregando-se cartuchos Supelclean Envi-18 da Supelco (lote SP-2672, 500 mg, 6 mL, capeado); (2) carbono grafitizado, empregando-se cartuchos Supelclean Envi-Carb da Supelco (lote SP-1169, 500 mg, 6 mL); e (3) resina polimérica mista (produzida a partir dos monômeros hidrofílico, N-vinilpirrolidona, e lipofílico, divinilbenzeno), empregando-se cartuchos Oasis[®]HLB da Waters (lote 040A34244A, 500 mg, 6 mL). Cartuchos Oasis[®]HLB foram utilizados apenas na última etapa de estudo (campanha 7).

As amostras foram filtradas utilizando-se membrana filtrante de éster de celulose com 0,45 µm de tamanho de poro (Millipore), e sistemas de filtração em vidro, sob vácuo, próprios para filtração de fase móvel empregada em HPLC. Após filtração, o pH das amostras foi ajustado para 3,0 utilizando-se ácido clorídrico concentrado e um pHmetro digital marca ATI Orion. Em seguida, as amostras filtradas foram transferidas para frascos âmbar de 1 L, previamente limpos e secos, e armazenadas em geladeira até o momento da extração (1-3 dias). Nenhum tipo de preservante foi adicionado nas amostras, embora em alguns procedimentos^[86] certos agentes químicos tenham sido sugeridos.

Para cada extração efetuada trabalhou-se um volume inicial de 1 L. Após o condicionamento dos cartuchos foi feita a passagem da amostra através dos mesmos, sob vácuo, utilizando-se um sistema adaptado e uma bomba peristáltica, marca Ismatec (campanhas 1-6). Na extração das amostras coletadas na campanha 7 foi empregado um dispositivo específico para SPE, denominado “Vacuum Manifold” da Fisherbrand, como mostrado na Figura 17.

Após lavagem do cartucho com 1 mL de MeOH:H₂O 10:90 v/v, os mesmos foram secados sob fluxo de N₂ por 1 h para que pequenas quantidades de água fossem eliminadas. Procedeu-se então a eluição dos analitos, utilizando-se diferentes combinações de solventes: metanol (MeOH), acetato de etila (EtOAc), acetato de etila e acetona 50:50 v/v (EtOAc/Acet), e diclorometano e metanol 60:40 v/v (DCM/MeOH), sendo este último empregado apenas quando Cgraf foi usado como sorvente. O mesmo procedimento foi adotado para as amostras de águas superficiais, água tratada e esgoto doméstico. Entretanto, para as amostras de água a eluição foi efetuada utilizando-se 2 x 2,5 mL de solvente e o eluato concentrado até 1 mL, enquanto para as amostras de esgoto o volume empregado foi de 3 x 2,5 mL e o eluato concentrado até 5 mL, obtendo-se desta forma

fatores de concentração de 1000 vezes e 200 vezes, respectivamente. Todas as extrações foram realizadas em duplicata. Os fluxogramas mostrados nas Figuras 18 e 19 esquematizam as etapas envolvidas nas SPE empregadas.

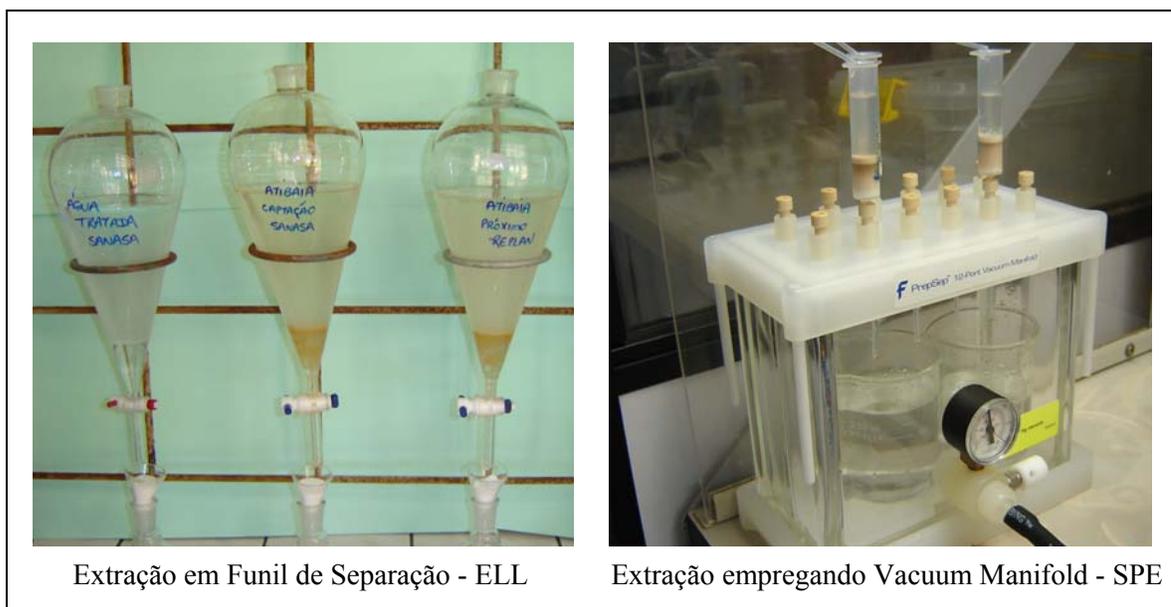


Figura 17: Técnicas de extração empregadas para a determinação dos IE e PFHP.

V.4 – Derivatização

A etapa de derivatização efetuada neste trabalho foi realizada apenas para as amostras coletadas durante a Campanha 3 e para algumas soluções-padrão. Após a análise cromatográfica dos extratos obtidos, os mesmos, inicialmente em um volume de 1 mL, foram concentrados sob fluxo de N_2 até a secura e então redissolvidos com 200 μ L de EtOAc, uma vez que Mol *et alii*^[109] verificaram ser este o melhor solvente empregado como meio reacional na derivatização. Em seguida foi adicionado em cada amostra, no próprio frasco em que estava armazenada, 100 μ L do reagente silanizante (MTBSTFA + TBDMCS 99:1, da Sigma-Aldrich). Os frascos foram tampados e levados a um banho-maria a 75°C, deixando-se reagir por 3 h. Em seguida, o volume foi completado para 1 mL e os extratos novamente analisados no GC/MS. Todo o procedimento foi realizado em capela.

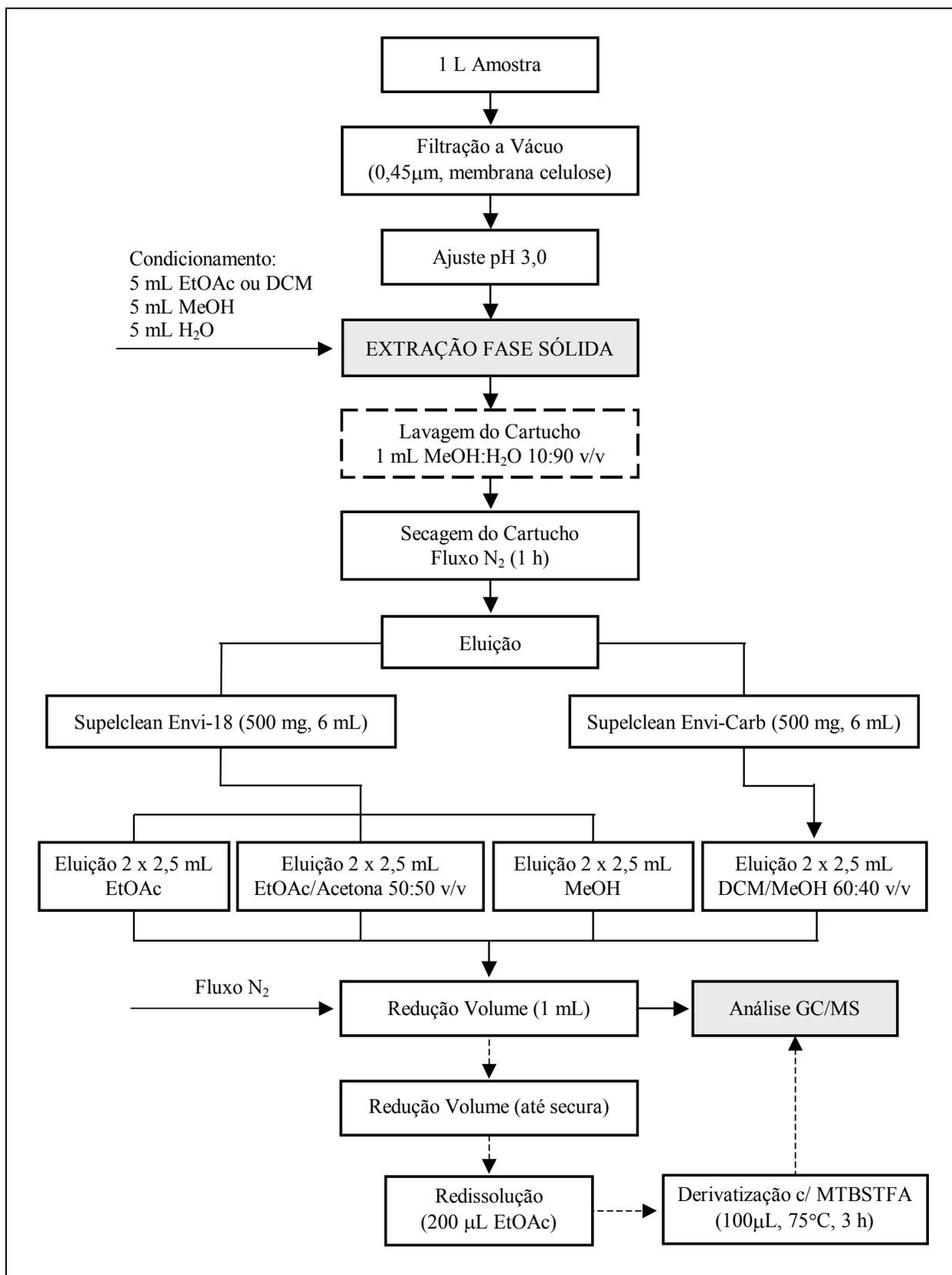


Figura 18: Fluxograma para SPE empregando cartuchos Envi-18 e Envi-Carb.

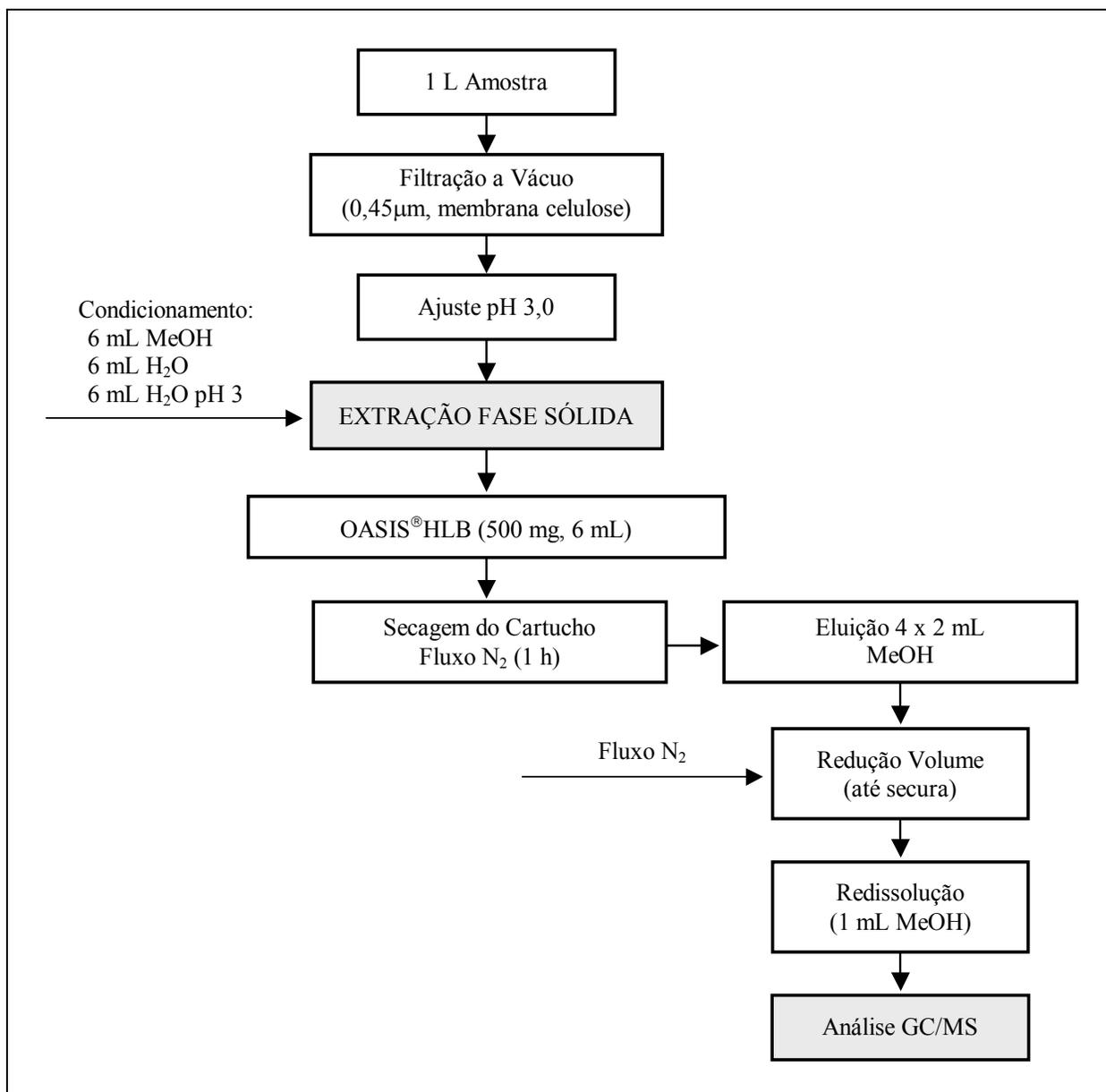


Figura 19: Fluxograma para SPE empregando cartuchos Oasis® HLB.

V.5 – Análise Cromatográfica

A identificação e quantificação dos compostos foram feitas utilizando-se um GC/MS da Shimadzu com um cromatógrafo GC-17A acoplado a um espectrômetro de massas QP 5050A, e uma coluna capilar de fase reversa DB-5MS da J&W Scientific (sílica fundida ligada quimicamente a um filme com 95%dimetil–5%difenilpolissiloxano), com 30 m de

comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme de 0,25 μm . A injeção manual de 1 μL dos extratos e padrões foi realizada utilizando-se uma microseringa Hamilton de 10 μL . As descrições dos métodos empregados são descritas nos itens seguintes.

V.5.1 - Análise Qualitativa

A análise qualitativa das amostras referentes às campanhas 1-3 foi realizada baseada nas condições de operação do GC/MS utilizadas por Ghiselli^[193], Mol *et al*^[109], Öllers *et al*^[118] e Heberer *et al*^[99]. Para isso foram criados quatro métodos distintos, denominados respectivamente: Ghiselli.MET, Mol.MET, Öllers.MET e Heberer.MET. Para as amostras da campanha 1 onde apenas a ELL foi empregada, utilizou-se o método Ghiselli.MET. Já para as amostras da campanha 2 utilizou-se o método Mol.MET para a análise dos extratos obtidos após ELL e os métodos Mol.MET, Öllers.MET e Heberer.MET para análise dos extratos após SPE. Na campanha 3 apenas o método Öllers.MET foi utilizado. A Tabela 12 fornece os parâmetros operacionais dos métodos empregados.

Conforme descrito, diferentes condições cromatográficas foram empregadas já que não havia sido encontrado um método de referência que pudesse ser utilizado para avaliar a ocorrência dos diferentes grupos de IE e PFHP nas amostras de água superficial. Partiu-se então de métodos publicados na literatura científica e a partir destes foram feitos vários ajustes para que fosse possível obter um único método cromatográfico capaz de identificar e quantificar os compostos de interesse posteriormente selecionados. A identificação dos compostos foi feita usando o modo SCAN (mass scan range) para aquisição dos dados.

Após a otimização destes parâmetros foram criados dois métodos cromatográficos, empregados nas análises durante as campanhas 4-7. O método denominado EDCQTISC.MET foi utilizado na identificação de todos os compostos (modo SCAN) e também na quantificação dos compostos presentes em elevadas concentrações nas amostras de água superficial e esgoto doméstico (dibutilftalato, dietilftalato, cafeína, bisfenol A, coprostanol e colesterol). Na quantificação dos demais compostos presentes e na análise de todas as amostras de água potável foi empregado o método EDCQTISM.MET,

cujas condições cromatográficas são idênticas ao método anteriormente descrito, porém empregando o modo SIM para aquisição dos dados.

Tabela 12: Parâmetros do GC/MS - Métodos empregados durante as análises nas campanhas 1-3.

	Ghiselli.MET	Mol.MET	Öllers.MET	Heberer.MET
Parâmetros do GC				
Gás Carregador	hélio	hélio	hélio	hélio
Pressão Inicial do Gás	185,7 kPa	127,0 kPa	105,0 kPa	145,0 kPa
Vazão Inicial do Gás	1,6 mL/min	2,0 mL/min	1,5 mL/min	2,0 mL/min
Vazão Final do Gás	0,8 mL/min	2,0 mL/min	1,5 mL/min	0,9 mL/min
Vazão do Gás na Análise	variada	2,0 mL/min (cte)	1,5 mL/min (cte)	variada
Vazão Inicial Total	36,6 mL/min	43,8 mL/min	33,0 mL/min	52,8 mL/min
Volume de Injeção	1 µL	1 µL	1 µL	1 µL
Modo de Injeção	Splitless	Splitless	Splitless	Splitless
Tempo Equilíbrio Forno	3 min	3 min	3 min	3 min
Pressão Inicial	---	127,0 kPa	105,0 kPa	---
Tempo Inicial	---	1 min	1 min	---
Programa Pressão	---	3 kPa/min–220 kPa	3 kPa/min–135 kPa (15 min a 135 kPa) 2,5 kPa/min-160 kPa (5 min a 160 kPa) 6 kPa/min–200 kPa	---
Tempo Total	---	32 min	47 min	---
Temperatura do Injetor	280°C	280°C	250°C	250°C
Temperatura da Interface	280°C	280°C	290°C	280°C
Rampa de Aquecimento:				
Temperatura Inicial	80°C	70°C	80°C	100°C
Tempo Inicial	1 min	1 min	1 min	1 min
Programa Temperatura	25°C/min até 110°C 3°C/min até 250°C 25°C/min até 285°C	20°C/min até 120°C 10°C/min até 280°C	15°C/min até 150°C (15 min em 150°C) 5°C/min até 200°C (5 min em 200°C) 15°C/min até 290°C	30°C/min até 150°C (1 min em 150°C) 3°C/min até 205°C 10°C/min até 260°C
Temperatura Final	285°C	280°C (12,5 min)	290°C (5 min)	260°C (23 min)
Tempo Total de Análise	51 min	32 min	47 min	50,5 min
Parâmetros do MS				
Calibração com PFTBA	Modo Automático	Modo Automático	Modo Automático	Modo Automático
Método de Ionização	EI	EI	EI	EI
Relação m/z Inicial	45	45	45	45
Relação m/z Final	350	460	400	400
Aquisição Dados	0,50 s	0,50 s	0,50 s	0,50 s
Modo Aquisição Dados	SCAN	SCAN	SCAN	SCAN
Voltagem do Detector	1,30 kV	1,50 kV	1,45 kV	1,45 kV

Os parâmetros cromatográficos destes novos métodos são mostrados na Tabela 14, apresentada no item subsequente.

Os espectros de massas obtidos para os compostos identificados nas campanhas 1-6 foram confrontados com os espectros disponíveis no GC/MS (biblioteca NIST), considerando-se uma similaridade mínima de 70%. Para a identificação dos compostos presentes nas amostras da campanha 7 empregou-se uma biblioteca de espectros de massas criada a partir dos espectros obtidos após injeção das soluções-padrão, considerando-se também uma similaridade mínima de 70%.

V.5.2 - Análise Quantitativa

As análises quantitativas foram realizadas empregando-se padronização externa. Trabalhou-se com soluções-padrão contendo os analitos em concentrações variadas, obtidas através de diluições sucessivas das respectivas soluções-estoque. Estas soluções foram preparadas dissolvendo-se em metanol uma massa conhecida dos padrões individuais adquiridos, exceto para os compostos dibutilftalato e dietilftalato (adquiridos na forma líquida), obtendo-se uma concentração de 200 µg/mL, aproximadamente. A pureza dos padrões utilizados e as concentrações das soluções-estoque são dadas na Tabela 13.

Tabela 13: Soluções-estoque empregadas no preparo das soluções-padrão - calibração do GC/MS.

<i>Composto</i>	<i>CAS Number</i>	<i>Pureza (%)</i>	<i>Conc. (µg/mL)</i>	<i>Composto</i>	<i>CAS Number</i>	<i>Pureza (%)</i>	<i>Conc. (µg/mL)</i>
AAS	50-78-2	99,5	226,1	Bisfenol A	80-05-7	97	202,6
Ibuprofeno	31121-93-4	99	211,7	Estrona	53-16-7	99+	202,0
Dietilftalato	84-66-2	99	224,0	Estradiol	50-28-2	97	201,8
Paracetamol	103-90-2	98-101	207,4	Etinilestradiol	57-63-6	98	228,6
Pentaclorofenol	87-86-5	99	207,9	Levonorgestrel	797-63-7	99	205,8
Cafeína	58-08-2	99	202,0	Progesterona	57-83-0	98	213,6
4-Nonilfenol	104-40-5	99,7	200,0	Benzo[a]pireno	50-32-8	97	170,2
Dibutilftalato	84-74-2	99	208,5	Coprostanol	360-68-9	98	206,0
Androstano	438-22-2	98	204,4	Colesterol	57-88-5	95	194,9
Dipirona	68-89-3	98	270,2	Colestanol	80-97-7	95	193,8
Diclofenaco	15307-86-5	98	229,9	Estigmasterol	83-48-7	95	200,0

A pesagem dos padrões foi feita em uma microbalança com precisão de $\pm 0,05$ mg, modelo AD-6 Autobalance da Perkin-Elmer. As soluções-estoque obtidas foram transferidas para frascos individuais (vidro âmbar com tampa de teflon) e injetadas no GC/MS para que fosse verificada a pureza dos padrões empregados. Após injeção, foram armazenadas em freezer a uma temperatura de -18°C . Os parâmetros cromatográficos do método empregado são mostrados na Tabela 14.

Tabela 14: Parâmetros do GC/MS - Métodos empregados durante as análises nas campanhas 4-7.

<i>Parâmetros do GC</i>	EDCQTI.MET	<i>Parâmetros do MS</i>	EDCQTI.MET
Gás Carregador	hélio	Calibração com PFTBA	Modo Automático
Pressão do Gás (constante)	198 kPa	Método de Ionização	EI
Vazão Inicial do Gás na Coluna	3,3 mL/min	Modo Aquisição Dados	SCAN/SIM
Vazão Final do Gás na Coluna	1,4 mL/min	Intervalo Massas m/z	45 – 460
Vazão do Gás durante Análise	variada	Intervalo Varredura	0,50 s
Velocidade Linear	66,5 cm/s	Intervalo Aquisição Dados	3,45 – 40,50 min
Volume de Injeção	1 μL	Voltagem do Detector	1,50 – 2,00 kV
Tempo Equilíbrio Forno	1 min		
Modo de Injeção	Splitless		
Temperatura do Injetor	280 $^{\circ}\text{C}$		
Temperatura da Interface	300 $^{\circ}\text{C}$		
Programação Temperatura	80 $^{\circ}\text{C}$ por 1 min 18 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 130 $^{\circ}\text{C}$ 5,0 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 270 $^{\circ}\text{C}$ 1,5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 280 $^{\circ}\text{C}$ 18 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 300 $^{\circ}\text{C}$ 300 $^{\circ}\text{C}$ por 6 min		
Tempo Total de Análise	45 min		

As concentrações das soluções-estoque empregadas na calibração do GC/MS durante a análise das amostras referentes às campanhas 4-6 são dadas na Tabela 15, enquanto as empregadas na campanha 7 são dadas na Tabela 16. Estas soluções foram injetadas em duplicata, sendo os picos correspondentes a cada um dos analitos integrados utilizando-se o modo automático. Quando necessária, fez-se a correção através da integração manual. Com as áreas obtidas nas duplicatas calculou-se a média e o desvio padrão, sendo a média utilizada para a obtenção das curvas analíticas através da regressão linear entre as áreas obtidas para os padrões e suas respectivas concentrações.

Tabela 15: Concentrações das soluções-padrão usadas na calibração do GC/MS. Campanhas 4-6.

<i>Composto</i>	<i>Ponto 1</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 2</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 3</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 4</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 5</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 6</i> ($\mu\text{g/mL}$)
AAS	0,01	0,03	0,05	0,10	0,21	0,51
Ibuprofeno	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,52
Paracetamol	0,01	0,03	0,05	0,10	0,21	0,51
Pentaclorofenol	0,01	0,03	0,05	0,10	0,21	0,51
Cafeína	0,03	0,05	0,10	0,20	0,52	1,1
4-Nonilfenol	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,51
Dibutilftalato	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,51
Androstano	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,52
Dipirona	0,01	0,03	0,05	0,10	0,21	0,51
Diclofenaco	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,52
Bisfenol A	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,52
Estrona	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,52
Estradiol	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,51
Etinilestradiol	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,51
Levonorgestrel	0,01	0,02	0,05	0,10	0,21	0,50
Progesterona	0,01	0,03	0,05	0,10	0,21	0,52
Benzo[a]pireno	0,01	0,02	0,05	0,10	0,20	0,51
Coprostanol	0,02	0,05	0,10	0,21	0,50	1,0
Colesterol	0,03	0,05	0,10	0,20	0,52	1,1
Colestanol	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,51
Estigmasterol	0,01	0,03	0,05	0,10	0,20	0,51
<i>Composto</i>	<i>Ponto 7</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 8</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 9</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 10</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 11</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 12</i> ($\mu\text{g/mL}$)
AAS	1,0	5,2	9,9	15,1	25,1	49,7
Ibuprofeno	1,1	5,1	9,9	15,0	25,0	50,8
Paracetamol	1,0	5,2	10,0	15,1	25,1	49,8
Pentaclorofenol	1,0	5,2	10,0	15,0	24,9	49,9
Cafeína	5,1	10,1	15,2	25,0	50,5	80,8
4-Nonilfenol	1,1	5,0	10,0	15,0	25,0	50,0
Dibutilftalato	1,1	5,0	10,0	15,0	25,0	50,0
Androstano	1,1	5,1	10,0	15,1	25,1	51,1
Dipirona	1,1	5,1	10,0	15,1	25,1	50,3
Diclofenaco	1,1	5,1	10,1	14,9	25,1	50,6
Bisfenol A	1,1	5,1	10,1	15,0	25,1	50,7
Estrona	1,1	5,1	10,1	15,2	25,0	50,5
Estradiol	1,1	5,0	10,1	15,1	25,0	50,5
Etinilestradiol	1,1	5,0	10,1	15,1	25,1	50,3
Levonorgestrel	1,0	5,1	10,1	15,0	25,1	49,4
Progesterona	1,1	5,1	10,0	15,2	25,0	51,3
Benzo[a]pireno	1,0	5,1	10,1	15,0	25,1	49,6
Coprostanol	5,2	10,1	15,0	25,1	49,4	80,3
Colesterol	5,1	10,1	15,0	24,9	50,7	79,9
Colestanol	1,1	5,0	10,1	15,1	25,0	50,4
Estigmasterol	1,1	5,0	10,0	15,0	25,0	50,0

Tabela 16: Concentrações das soluções-padrão usadas na calibração do GC/MS. Campanha 7.

<i>Composto</i>	<i>Ponto 1</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 2</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 3</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 4</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 5</i> ($\mu\text{g/mL}$)
Dietilftalato	0,08	0,18	0,24	0,51	1,2
Cafeína	0,05	0,10	0,50	1,0	5,0
4-Nonilfenol	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Dibutilftalato	0,08	0,18	0,24	0,51	1,2
Androstano	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Diclofenaco	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Bisfenol A	0,02	0,07	0,10	0,21	0,48
Estrona	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Estradiol	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Etinilestradiol	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Levonorgestrel	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Progesterona	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Benzo[a]pireno	0,02	0,07	0,10	0,20	0,48
Coprostanol	0,05	0,10	0,50	1,0	5,0
Colesterol	0,05	0,10	0,50	1,0	5,0
Colestanol	0,05	0,10	0,50	1,0	5,0
Estigmasterol	0,05	0,10	0,50	1,0	5,0
<i>Composto</i>	<i>Ponto 6</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 7</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 8</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 9</i> ($\mu\text{g/mL}$)	<i>Ponto 10</i> ($\mu\text{g/mL}$)
Dietilftalato	4,0	12,0	20,1	32,1	40,1
Cafeína	10,0	30,0	50,1	80,1	100
4-Nonilfenol	4,0	12,0	20,0	32,0	40,0
Dibutilftalato	4,0	12,0	20,0	32,0	40,0
Androstano	2,0	6,0	10,1	16,1	20,1
Diclofenaco	2,0	6,0	10,0	16,0	20,0
Bisfenol A	4,0	12,1	20,1	32,2	40,2
Estrona	2,0	6,1	10,1	16,2	20,2
Estradiol	2,0	6,0	10,1	16,1	20,1
Etinilestradiol	2,0	6,0	10,1	16,1	20,1
Levonorgestrel	2,0	6,0	10,0	16,0	20,0
Progesterona	2,0	6,0	10,1	16,1	20,1
Benzo[a]pireno	4,0	12,0	20,1	32,1	40,1
Coprostanol	7,0	21,0	35,0	56,0	70,0
Colesterol	10,0	30,0	50,0	80,0	100
Colestanol	10,0	30,0	50,1	80,1	100
Estigmasterol	10,0	30,0	50,1	80,1	100

Dos 22 compostos empregados nas soluções-padrão quase todos puderam ser detectados no intervalo de concentração empregado, com sensibilidade considerada, exceto o ácido acetilsalicílico (AAS), ibuprofeno, paracetamol e dipirona, mesmo quando se trabalhou com concentrações elevadas. As formas esterificadas identificadas após injeção

da solução-estoque do AAS (metil salicilato e metil acetilsalicilato) tampouco foram detectadas. Por este motivo, durante a quantificação das amostras coletadas na última campanha estes compostos foram excluídos da análise, assim como o pentaclorofenol já que o mesmo não foi detectado nas amostras avaliadas (ou a concentração estava abaixo do limite de quantificação), enquanto o dietilftalato foi incluído na análise uma vez que o laboratório dispunha deste padrão.

A Tabela 17 fornece os parâmetros qualitativos e quantitativos utilizados na calibração do GC/MS, cujas curvas analíticas obtidas foram empregadas na determinação dos IE e PFHP durante as campanhas 4-7. O tempo de retenção (t_R) e ambos os íons de quantificação - $m/z(1)$, e de identificação - $m/z(2)$, foram usados na identificação de cada composto presente. Já para a quantificação dos compostos apenas o íon $m/z(1)$ foi usado.

Tabela 17: Parâmetros qualitativos e quantitativos empregados no método EDCQTI.MET.

<i>Análise Amostras Campanhas 4-6</i>				<i>Análise Amostras Campanha 7</i>			
<i>Composto</i>	<i>t_R (min)</i>	<i>m/z (1)</i>	<i>m/z (2)</i>	<i>Composto</i>	<i>t_R (min)</i>	<i>m/z (1)</i>	<i>m/z (2)</i>
AAS	3,8	120	92	AAS	---	---	---
Ibuprofeno	9,0	161	91	Ibuprofeno	---	---	---
Dietilftalato	---	---	---	Dietilftalato	9,8	149	222
Paracetamol	10,8	109	---	Paracetamol	---	---	---
Pentaclorofenol	11,3	266	---	Pentaclorofenol	---	---	---
Cafeína	13,2	194	---	Cafeína	14,6	194	109
4-Nonilfenol	13,6	107	---	4-Nonilfenol	15,3	107	220
Dibutilftalato	15,1	149	---	Dibutilftalato	16,9	149	205
Androstano	15,9	245	95	Androstano	18,0	245	95
Dipirona	16,3	56	---	Dipirona	---	---	---
Diclofenaco	18,8	214	242	Diclofenaco	20,6	214	277
Bisfenol A	19,3	213	---	Bisfenol A	20,9	213	228
Estrona	26,6	270	---	Estrona	28,5	270	185
Estradiol	26,8	272	---	Estradiol	28,8	272	160
Etinilestradiol	27,9	213	296	Etinilestradiol	29,9	213	296
Levonorgestrel	28,5	91	245	Levonorgestrel	30,7	245	91
Progesterona	29,4	124	---	Progesterona	31,6	124	314
Benzo[a]pireno	29,8	252	---	Benzo[a]pireno	31,9	252	126
Coprostanol	32,6	55	149	Coprostanol	35,6	55	215
Colesterol	33,1	275	301	Colesterol	36,3	275	81
Colestanol	33,3	215	233	Colestanol	36,5	215	95
Estigmasterol	35,2	55	412	Estigmasterol	38,9	55	255

A pequena variação observada nos tempos de retenção obtidos para as campanhas 4-6 e para a campanha 7 deve-se ao fato da coluna cromatográfica empregada durante as análises ter sido substituída por uma nova coluna, porém de dimensões exatamente idênticas à anteriormente utilizada.

A Figura 20 ilustra um cromatograma típico obtido após injeção de uma das soluções-padrão de IE e PFHP, identificando todos os compostos de interesse monitorados. As curvas analíticas obtidas após calibração do GC/MS são mostradas nos Anexos 3 e 4.

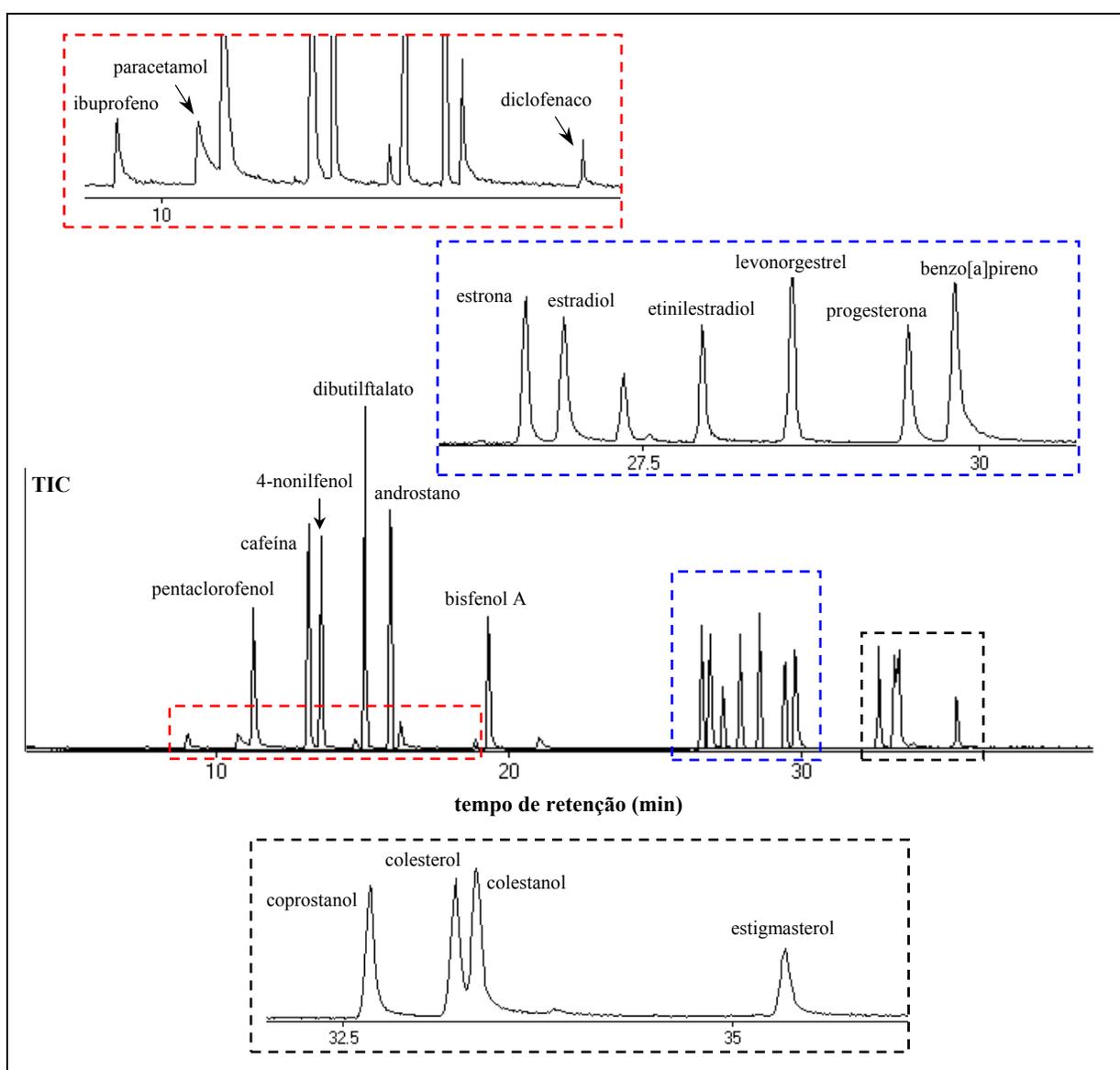


Figura 20: Cromatograma típico obtido para as soluções-padrão de IE/PFHP.

V.6 – Otimização do Procedimento Analítico

Os parâmetros analíticos normalmente encontrados para a validação de métodos de separação são: precisão; exatidão; linearidade e faixa de aplicação; seletividade; limite de detecção; limite de quantificação e robustez. Estes termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico, características de desempenho e, algumas vezes, como figuras analíticas de mérito^[194-196].

Embora não existam ainda sistemas de validação que assegurem a confiabilidade dos procedimentos analíticos que vem sendo empregados na determinação de IE e PFHP em amostras ambientais, procurou-se seguir, quando viável, os critérios e recomendações de alguns órgãos nacionais de avaliação da qualidade de laboratórios de análise, como o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - INMETRO e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, bem como de especialistas na área. Portanto, os critérios adotados neste trabalho tiveram como principais referências os seguintes documentos: Guia de Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos^[197], do INMETRO; Resolução nº 899 de 29/05/03^[198], da ANVISA; os artigos científicos publicados por Ribani *et al*^[196] e Shabir^[199]; e ainda os livros “Validação de Métodos Cromatográficos de Análise”^[195], de Fernando M. Lanças, e “Validação em Análise Química”^[194], de Flávio Leite.

Neste trabalho a precisão instrumental foi determinada com base nas áreas dos padrões injetando-se em quintuplicata duas das soluções-padrão empregadas na calibração, com as seguintes concentrações: 1,2 µg/mL para os compostos dietilftalato e dibutilftalato; 6 µg/mL para androstano, diclofenaco, estrona, estradiol, etinilestradiol, levonorgestrel e progesterona; 12 µg/mL para 4-nonilfenol, bisfenol A e benzo[a]pireno; 21 µg/mL para coprostanol e 30 µg/mL para cafeína, colesterol, colestanol e estigmasterol.

A seletividade do método cromatográfico foi determinada através da avaliação da pureza dos picos cromatográficos obtidos, tanto para os padrões como para os compostos presentes nas amostras, comparando-se os espectros de massas obtidos para os padrões empregados na calibração do GC/MS com os espectros disponibilizados na biblioteca do próprio instrumento (NIST).

Branco de laboratório também foram obtidos, para a verificação de possíveis contaminações durante o procedimento analítico. Para tanto, dois tipos de branco foram empregados: água mineral da Prata, obtida comercialmente em frascos de 1,5 L e água deionizada. Foram gastos no total 10 L de água, sendo 2 L para cada tipo de extração empregada (ELL, SPE com C18 e eluição com MeOH, SPE com C18 e eluição com EtOAc/Acet, SPE com Cgraf e SPE com Oasis[®]HLB), já que foram adotadas análises em duplicata. Todas as etapas envolvendo o preparo da amostra, extração dos compostos e a quantificação dos mesmos foram realizadas para os brancos exatamente como procedido para as amostras, obtendo-se uma situação bastante fiel. Um branco do equipamento também foi feito injetando-se 1 µL de MeOH.

A recuperação ou fator de recuperação, uma medida da eficiência do processo de isolamento do composto de interesse, também foi obtida para todas as extrações avaliadas empregando-se 2 níveis de concentração. Na análise das amostras coletadas nas campanhas 4-6 trabalhou-se com 0,80 e 40 µg/L dos compostos de interesse, enquanto que na análise das amostras coletadas na campanha 7 trabalhou-se com 0,54 e 12 µg/L dos compostos 4-nonilfenol, androstano, diclofenaco, bisfenol A, estrona, estradiol, etinilestradiol, levonorgestrel, progesterona e benzo[a]pireno, 0,80 e 50 µg/L de cafeína, coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol, e 1,35 e 30 µg/L de dietilftalto e dibutilftalato. Utilizou-se água deionizada fortificada em laboratório, adicionando-se volumes conhecidos das soluções dos padrões, preparadas em metanol. As alíquotas usadas foram pipetadas empregando-se micropipetas semi-automáticas. Mais uma vez os 4 tipos de extração foram empregados, fazendo-se análise em duplicata.

Após todas as etapas de extração e concentração terem sido efetuadas, determinou-se quanto do composto adicionado ao branco foi quantificado (ou recuperado), através da relação:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{quantidade obtida (conc. ou massa)}}{\text{quantidade adicionada}} \times 100$$

Por fim, foram também determinados os limites de detecção (*LD*) e quantificação (*LQ*). O limite de detecção representa a menor quantidade do composto de interesse que

pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada como um valor exato. Já o limite de quantificação corresponde à menor quantidade do composto de interesse que pode ser quantificada com exatidão, utilizando-se um determinado procedimento experimental. Ambos os limites podem ser determinados de 3 maneiras diferentes: empregando-se o método visual, o método da relação sinal-ruído e o método baseado nos parâmetros da curva analítica^[194-196].

No método baseado nos parâmetros da curva analítica, os limites de detecção e quantificação são expressos como^[196]:

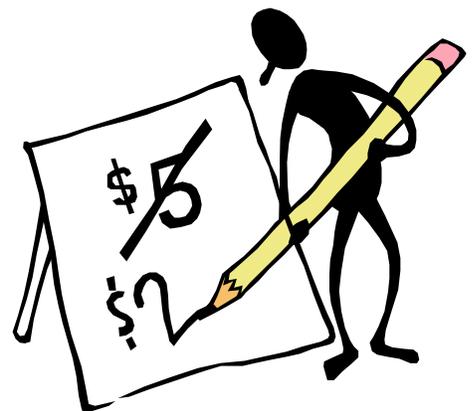
$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \qquad LQ = 10 \times \frac{s}{S}$$

onde: s é o desvio-padrão da resposta, que pode ser de um branco, da equação da linha de regressão linear ou do coeficiente linear da curva analítica obtida; e S é a inclinação da reta (“slope”) ou coeficiente angular da curva analítica obtida.

Segundo Ribani *et alii*^[196], o método mais utilizado para a determinação dos LD e LQ é o da relação sinal-ruído para técnicas analíticas em geral. Porém, em técnicas analíticas de separação como as cromatográficas e eletroforéticas, a medição do ruído não é tão trivial, sendo às vezes bastante subjetiva. Além disso, tanto o LD quanto o LQ podem ser afetados pelas condições cromatográficas, devendo-se considerar o tipo e o tempo de uso da coluna cromatográfica. Assim sendo, o melhor caminho para resolver o problema de cálculo destes limites é utilizar o método baseado nos parâmetros da curva analítica, estatisticamente mais confiável, sendo que a curva analítica deve conter a concentração correspondente ao LQ .

Neste trabalho ambos os limites de detecção e quantificação foram determinados utilizando-se o método baseado nos parâmetros da curva analítica, utilizando-se como desvio-padrão da resposta (s) o desvio-padrão da equação de regressão linear, calculado pelo Software Microcal Origin[®].

VI – RESULTADOS E DISCUSSÃO



VI – RESULTADOS E DISCUSSÃO

VI.1 – Parâmetros Físico-Químicos Monitorados

Temperatura, pH, condutividade, teor de oxigênio dissolvido e teor de carbono orgânico dissolvido compreendem alguns dos parâmetros de qualidade de água determinados neste trabalho, conforme mostrado na Tabela 18 para as campanhas 1-7.

Tabela 18: Parâmetros físico-químicos obtidos para as amostras de água e esgoto analisadas.

<i>Campanha</i>	<i>Data</i>	<i>Amostra</i>	<i>Temp. (°C)</i>	<i>pH</i>	<i>CID (mgC/L)</i>	<i>COD (mgC/L)</i>	<i>O₂ (mg/L)</i>	<i>Condutiv. (µS/cm)</i>
1 (seca)	02/05/2002	Atibaia REP	25	7,2	14,4	5,6	nd	nd
		Anhumas	24	6,9	29,2	16,9	nd	nd
2 (chuvas)	04/02/2003	Atibaia REP	27	6,7	8,1	6,2	nd	nd
		Anhumas	28	6,5	29,4	8,9	nd	nd
3 (chuvas)	16/04/2003	Atibaia REP	24	6,9	19,5	5,0	nd	337
		Anhumas	23	6,8	34,4	12,9	nd	355
4 (seca)	10/11/2003	Atibaia CAP	25	7,0	11,3	7,0	nd	150
		Atibaia REP	27	7,5	17,6	8,7	nd	594
		Anhumas	27	7,4	33,1	15,4	nd	491
5 (chuvas)	04/04/2004	Atibaia CAP	25	6,9	9,3	3,5	6,23	122
		Atibaia REP	27	7,0	14,7	5,2	3,95	320
		Anhumas	27	7,1	29,9	14,6	0,64	390
	08/04/2004	Água Tratada	25	6,6	6,6	1,8	5,20	249
Esgoto Bruto		27	6,9	34,7	152	0,02	692	
		Esgoto Tratado	28	7,1	34,6	11,7	3,31	518
6 (chuvas)	15/12/2004	Água Tratada	25	6,8	7,5	2,1	5,55	225
		Atibaia CAP	28	7,3	9,0	4,9	4,85	107
		Atibaia REP	29	7,1	12,0	5,6	3,83	238
		Anhumas	28	7,1	35,1	19,9	0,33	446
7 (seca)	02/06/2006	Atibaia SOU	21	7,1	6,0	4,9	7,80	98
		Atibaia CAP	21	7,1	8,0	5,7	7,52	127
		Atibaia REP	23	7,3	4,6	17,4	5,10	429
		Pinheiros	23	7,2	20,1	21,2	2,54	459
		Anhumas	23	7,2	21,5	43,7	0,63	450

nd = não determinado CID = carbono inorgânico dissolvido COD = carbono orgânico dissolvido

De acordo com a Resolução CONAMA 357/05^[146], o Ribeirão Pinheiros está enquadrado na Classe 3 e o Ribeirão Anhumas na Classe 4. Já as cabeceiras do Rio Atibaia, formadas pelos Rios Atibainha e Cachoeira até as barragens da SABESP, encontram-se enquadradas na Classe 2, assim como os demais corpos d'água da sub-Bacia do Atibaia, incluindo o próprio Rio Atibaia^[3,146].

Como mostrado, as amostras de água provenientes do Rio Atibaia, Ribeirão Anhumas e Ribeirão Pinheiros, e ainda as amostras de esgoto doméstico proveniente da ETE Samambaia, apresentaram valores de pH e temperatura dentro dos valores estabelecidos pelo CONAMA para as três classes nas quais os corpos d'água estão classificados (todas com pH entre 6,0 e 9,0). Com relação à Portaria 518/04^[156] do Ministério da Saúde, os valores de pH e temperatura obtidos para as amostras de água tratada proveniente da ETA Sousas também se encontram em conformidade.

Para os teores de carbono orgânico e inorgânico quase todas as amostras avaliadas apresentaram baixas concentrações de carbono dissolvido, tanto na forma orgânica ou presente como íons carbonato e bicarbonato, exceto o esgoto bruto devido ao seu alto teor de matéria orgânica.

Com relação aos teores de oxigênio dissolvido, as amostras de água do Rio Atibaia apresentaram, de modo geral, valores em conformidade com a Resolução CONAMA^[146] para Classe 2 (não inferior a 5 mg/L), com exceção do ponto Atibaia REP. Entretanto, para os Ribeirões Pinheiros e Anhumas os valores obtidos encontraram-se abaixo do valor mínimo estipulado, respectivamente, para a Classe 3 (não inferior a 4 mg/L) e Classe 4 (superior a 2 mg/L). Portanto, estes corpos d'água podem ser considerados poluídos, uma vez que os valores obtidos para oxigênio dissolvido se assemelham aos encontrados para as amostras de esgoto tratado (no caso do Ribeirão Pinheiros) e esgoto bruto (para o Ribeirão Anhumas). Nota-se que o esgoto tratado pôde ser classificado, apenas com relação a este parâmetro, na Classe 4, da mesma maneira que o Rio Atibaia no ponto localizado próximo a REPLAN.

Já para condutividade, os valores encontrados para o Rio Atibaia no ponto próximo a REPLAN e para os Ribeirões Pinheiros e Anhumas foram relativamente elevados, mais uma vez indicando que estes corpos d'água estão fortemente impactados com as cargas poluidoras lançadas na RMC.

VI.2 – Ocorrência dos IE e PFHP em Águas Superficiais

Esta primeira etapa de estudo consistiu apenas na análise qualitativa das amostras de água superficial coletadas em pontos considerados críticos na região: Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas, ambos próximos à cidade de Paulínia-SP. Os resultados aqui apresentados referem-se às análises das águas superficiais coletadas nas campanhas 1-3.

Durante a análise das amostras coletadas na campanha 1 utilizou-se apenas ELL com diclorometano (DCM) como solvente, já que se tratava de um estudo preliminar que consistia em diagnosticar as águas superficiais da sub-Bacia do Atibaia com relação à presença dos IE e PFHP. Os cromatogramas obtidos para as amostras do Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas apresentaram poucos picos cromatográficos, referentes aos compostos de interesse, ao contrário do que se esperava, como pode ser observado nas Figuras 21 e 22. Diante disso, foi concluído que apenas alguns dos compostos supostamente presentes nas matrizes avaliadas conseguiram ser extraídos, uma vez que as amostras analisadas eram provenientes de corpos d'água bastante impactados pelos despejos industriais e domésticos da RMC. Além disso, compostos muito polares tendem a permanecer na fase aquosa já que DCM, embora seja muito mais polar que hexano ou éter de petróleo, ainda apresenta uma certa característica apolar. Compostos voláteis presentes na matriz também acabam interferindo na extração dos compostos de interesse, competindo com os mesmos.

Os picos mais intensos foram identificados comparando-se os espectros obtidos com os espectros-padrão disponíveis na biblioteca do GC/MS, sendo os principais compostos identificados no Rio Atibaia: (1) cafeína (CAS 58-02-2); (2) dibutilftalato (CAS 84-74-2); (3) butil-octil-ftalato (CAS 84-78-6); (4) ácido hexadecanóico ou palmítico (CAS 57-10-3); (5) bisfenol A (CAS 80-05-7); (6) di-n-octil adipato (CAS 123-79-5); (7) di-n-octil-ftalato (CAS 117-84-0); (8) androstano-3,16-diol (CAS 22630-49-5); e (9) estigmasterol. No Ribeirão Anhumas: (10) terpenol (98-55-5); (11) 3-fenoxi-1-propanol (CAS 6180-61-6); (12) dicitlopentenil álcool (CAS 27137-33-3); (13) dietilftalato (CAS 84-66-2); (14) tetracetil-etilenodiamina (CAS 10543-57-4); (15) n-tridecano (CAS 629-50-5); (1) cafeína; (2) dibutilftalato; (4) ácido hexadecanóico ou palmítico (CAS 103-23-1); (16) 1-tridecanol (CAS 112-70-9); (17) ácido octadecanóico ou esteárico (CAS 57-11-4); (18) KP 140 ou tri(butoxietil)fosfato (CAS 78-51-3); (7) di-n-octil-ftalato; (19) colestanol (80-97-7); (9) estigmasterol (CAS 83-48-7) e (20) esqualeno (CAS 7683-64-9).

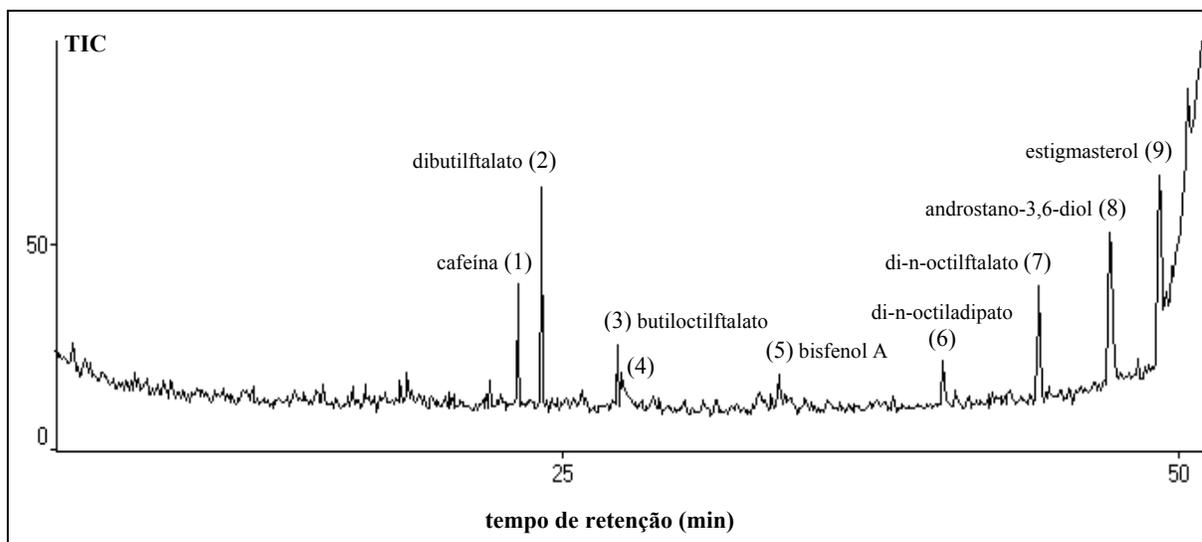


Figura 21: Cromatograma obtido para amostra do Rio Atibaia - campanha 1. ELL com DCM.

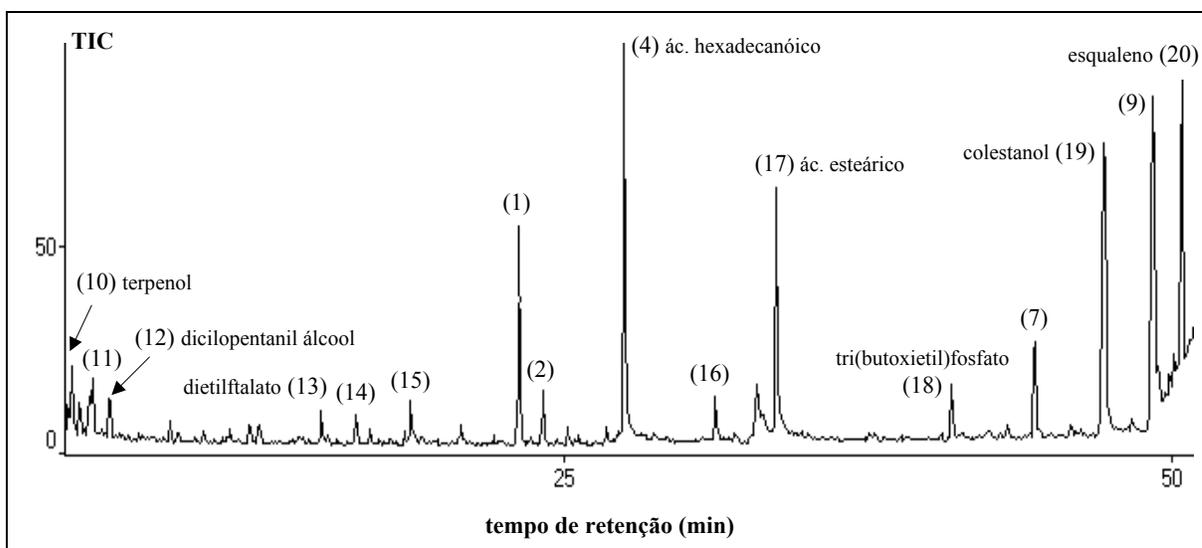


Figura 22: Cromatograma obtido para amostra do Rib. Anhumas - campanha 1. ELL com DCM.

Nota-se que estiveram presentes nas amostras avaliadas, compostos provenientes de esgotos domésticos como o **coprostanol** (esteróide fecal), **cafeína** (estimulante e traçador de atividade humana) e um hormônio androgênico, possivelmente metabólito da testosterona, identificado como androstano-3,16-diol. Também foram identificados alguns compostos de origem industrial como os **ftalatos** (dibutil, dietil, butil-octil e di-n-octil), bastante empregados como plastificantes; vários ácidos carboxílicos como o hexadecanóico, encontrado como gliceril éster em muitos óleos e gorduras, **esqualeno**, um

bactericida, intermediário nos processos de fabricação de produtos farmacêuticos, intermediário na biossíntese do colesterol, e ainda encontrado no óleo de oliva e no óleo de fígado de alguns tipos de peixes, e ainda um possível **retardante de chama** organofosforado, o tri(butoxietil)fosfato ou KP 140^[166].

Com relação às amostras coletadas na campanha 2, tanto após ELL com DCM como EtOAc, observou-se nos cromatogramas obtidos a presença de vários compostos de origem industrial e doméstica, conforme descrito na Tabela 19. A Figura 23 compara os cromatogramas obtidos para o Ribeirão Anhumas após extração com os dois tipos de solventes empregados.

Tabela 19: Compostos presentes no Atibaia e Anhumas após ELL – campanha 2.

<i>Amostra</i>	<i>Solvente Utilizado</i>	<i>Principais Compostos Presentes*</i>
Atibaia	EtOAc	nonaldeído; ác. octanóico; ác. nonanóico; vanilina; dietilftalato; cafeína; dibutilftalato; ác. oléico; ác. hexadecanóico; ác. octadecanóico; esqualeno; di-n-octilftalato; di-n-octiladipato; ác. tetradecanóico; colest-4-eno; colest-3,5-dieno;
Atibaia	DCM	ác. hexadecanóico; dibutilftalato; dietilftalato; di-n-octilftalato; cafeína; ác. oléico; ác. octanóico; ác. octadecanóico; colesterol; colestanol; ác. tetradecanóico; esqualeno;
Anhumas	EtOAc	nonaldeído; ác. octanóico, benzóico, nonanóico (1) e decanóico; vanilina (2); o-xenol (3); dietilftalato (4); ác. tetradecanóico (5); cafeína (6); dibutilftalato (7); clorofeno; ác. hexadecanóico (8); ác. oléico (9); ác. octadecanóico (10); di-isooctil-adipato (11); di-n-octilftalato (12); esqualeno (13); colest-4-eno (14); colest-3,5-dieno (15);
Anhumas	DCM	dietiltoluamida; dietilcarbinol; o-hidroxibifenila; ác. dodecanóico; dietilftalato (4); cafeína (6); dibutilftalato (7); ác. hexadecanóico (8); ác. oléico (9); ác. octadecanóico (10); tri(butoxietil)fosfato (16); di-n-octilftalato (12); esqualeno (13); colestanol (17); colesterol (18); estigmasterol (19); chalinasterol (20); sitosterol (21);

* Procedimento e condições GC/MS segundo Mol *et alli*^[109] DCM = diclorometano EtOAc = acetato de etila

Avaliando-se os dois solventes utilizados foi observado que colesterol, colestanol e alguns **fitoesteróides** como o estigmasterol, chalinasterol e sitosterol puderam ser extraídos e identificados quando utilizado DCM como solvente, não estando presentes nos extratos obtidos após ELL com EtOAc. Já empregando EtOAc, os compostos colest-4-eno

e colest-3,5-dieno puderam ser identificados nos extratos. Devido à semelhança destes compostos com o colesterol, diferindo-se apenas com a perda de um grupo hidroxila, pode-se concluir que ambos sejam metabólitos do colesterol. De fato, Niven *et al*.^{180]} confirmaram em seus estudos que o composto colest-3,5-dieno é um metabólito do colesterol, formado após decomposição térmica de ésteres de colesteril, por sua vez gerados apenas através de reações bióticas do colesterol.

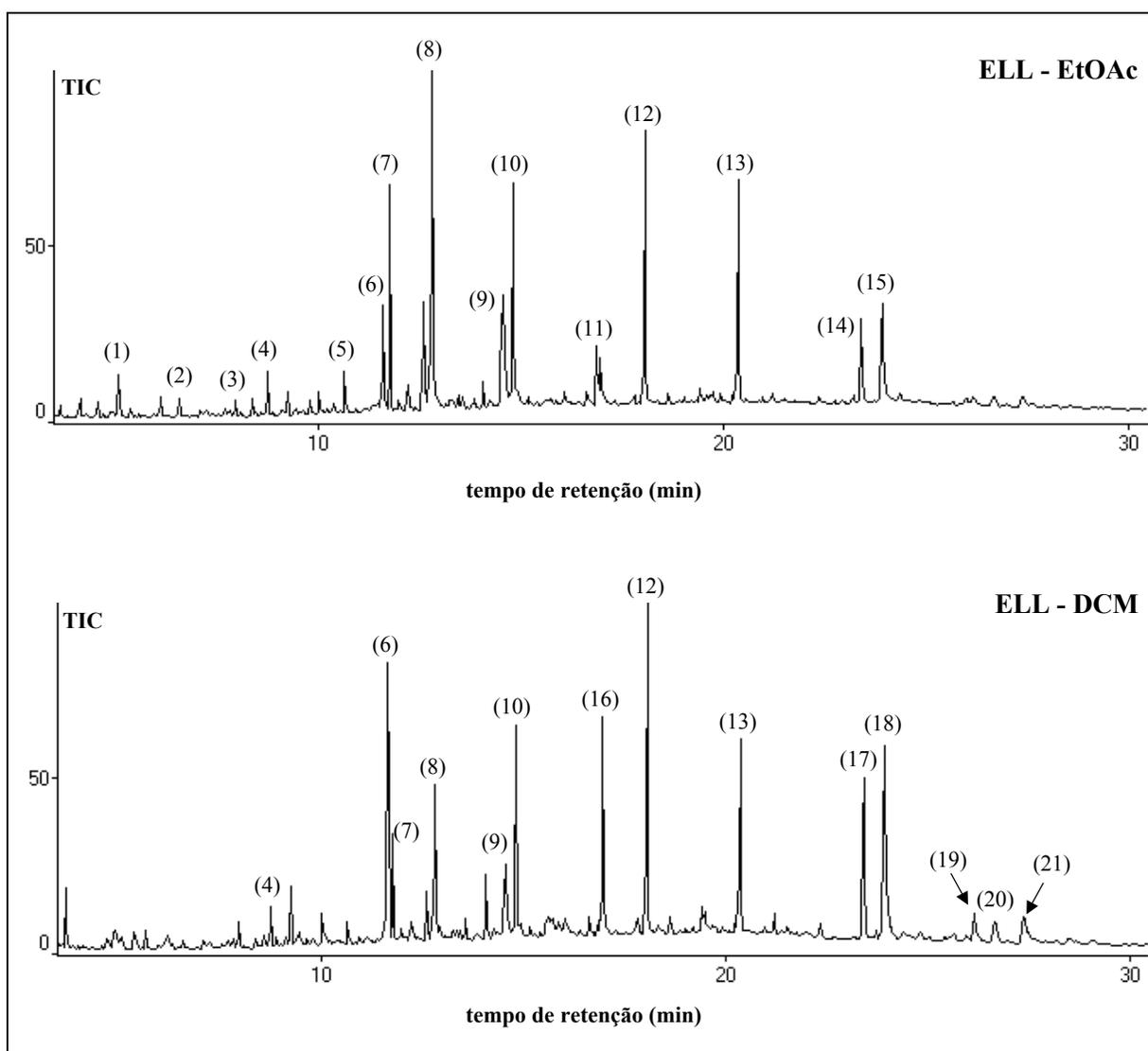


Figura 23: Cromatogramas obtidos para Rib. Anhumas - campanha 2. ELL com DCM e EtOAc.

Principais compostos identificados: ácido nonanóico (1); vanilina (2); o-xenol (3); dietilftalato (4); ácido tetradecanóico (5); cafeína (6); dibutilftalato (7); ácido hexadecanóico (8); ácido oléico (9); ácido octadecanóico (10); di-isooctil-adipato (11); di-n-octilftalato (12); esqualeno (13); colest-4-eno (14); colest-3,5-dieno (15); tri(butoxi)etilfosfato (16); colestanol (17); colesterol (18); estigmasterol (19); chalinasterol (20); e sitosterol (21).

De modo geral, os cromatogramas obtidos em ambos os procedimentos foram muito parecidos. Entretanto, ELL empregando EtOAc foi muito mais trabalhosa quando comparada a ELL empregando DCM pois, após a mistura da amostra com o solvente e agitação vigorosa, ocorreu a formação de emulsão, principalmente para as amostras provenientes do Ribeirão Anhumas, dificultando a separação das fases orgânica e aquosa. Além disso, EtOAc possui densidade menor do que a água e pode formar uma mistura azeotrópica com a mesma, conforme já mencionado anteriormente.

Os esteróides derivados do colesterol, por serem altamente lipofílicos, foram mais facilmente extraídos pelo DCM já que este solvente apresenta menor polaridade quando comparado ao EtOAc. Também estiveram presentes nos extratos os compostos **vanilina**, um flavorizante bastante conhecido e comumente utilizado na fabricação de bebidas, alimentos e cosméticos, e **o-hidroxibifenila**, que pode ser um subproduto da degradação do bisfenol A, um fungicida, já que ambos apresentam estruturas muito semelhantes.

Nos cromatogramas obtidos para os extratos após SPE das amostras coletadas na campanha 2 foi observado o aparecimento de picos muito intensos, característicos e provavelmente provenientes do sorvente empregado (C18), como os grupos siloxanos. A saturação destes compostos no cromatograma acarretou perda de sensibilidade para os compostos presentes em menor quantidade. Mesmo assim, alguns deles puderam ser identificados com um certo grau de confiabilidade, como os ftalatos (dietilftalato, dibutilftalato, di-n-octilftalato), cafeína, esqualeno, e ainda alguns ácidos como o ácido octanóico, nonanóico, oléico, hexadecanóico, benzenodicarboxílico, dentre outros. A Figura 24 ilustra um cromatograma típico obtido quando a SPE foi empregada.

Além disso, o composto **p-tércio-butilfenol** (CAS 98-54-4) também foi identificado. Este composto é usado como antioxidante na produção de sabão e sabonetes, como aditivo em óleo para motor, e um intermediário na fabricação de resinas (laca, verniz e esmalte). Apresenta toxicidade relativamente elevada com um valor de DL_{50} estimado em 3,25 mL/kg quando ingerido^[166] (via oral, em ratos), sendo também classificado em algumas listas como um suspeito IE.

Para a análise das amostras coletadas na campanha 3 foram fixadas algumas condições de trabalho já avaliadas no decorrer das análises efetuadas para as

campanhas 1 e 2. Dentre elas, a utilização de apenas um método de análise qualitativo (Öllers.MET) para ambas as ELL e SPE, condicionamento do cartucho (500 mg, 6 mL) efetuado com a adição de 5 mL de cada solvente, respectivamente EtOAc, MeOH e H₂O e a realização da etapa de derivatização, feita em meio EtOAc. Desta vez, vários compostos de diferentes classes puderam ser identificados nas duas extrações com uma interferência muito pequena dos grupos siloxanos que, quando presentes, foram basicamente eluídos no início da corrida cromatográfica.

A Figura 25 ilustra os cromatogramas obtidos para as amostras provenientes do Ribeirão Anhumas, extraídas com EtOAc e DCM utilizando ELL, antes da etapa de derivatização.

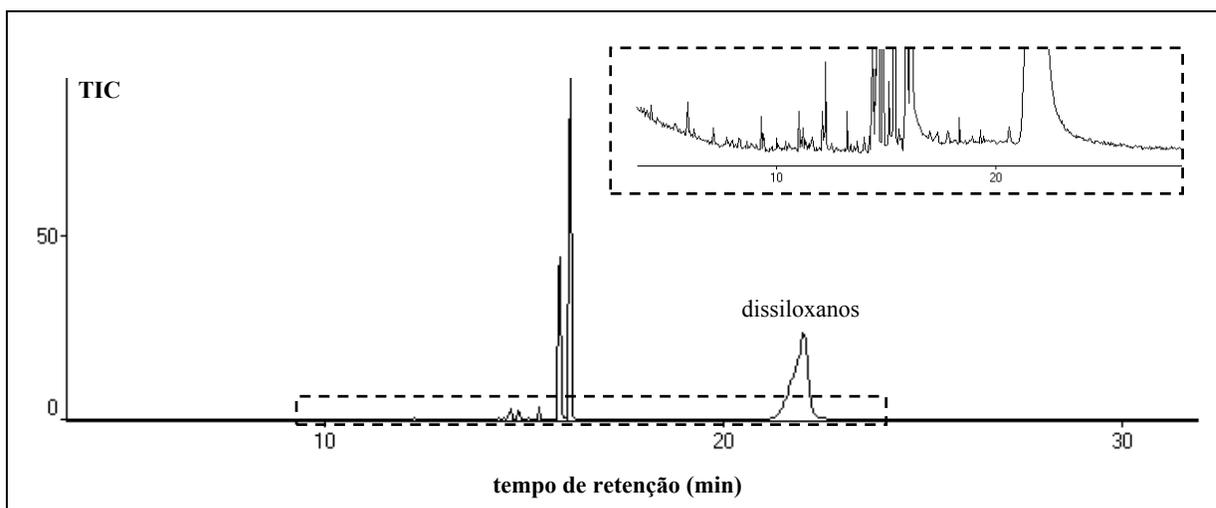


Figura 24: Cromatograma obtido para Rib. Anhumas - campanha 2. SPE segundo Mol *et al*^[101].

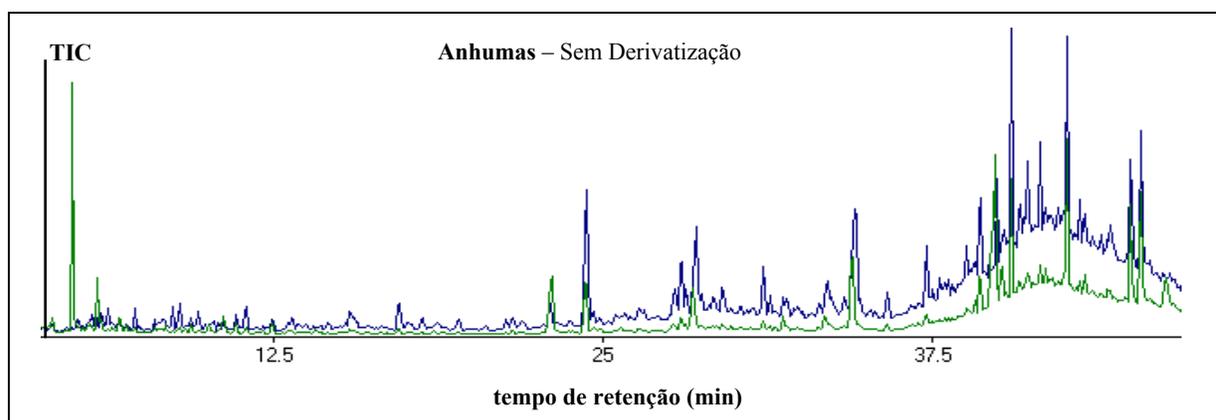


Figura 25: Cromatogramas após ELL utilizando EtOAc (azul) e DCM (verde) - campanha 3.

Nos cromatogramas correspondentes a ELL empregando EtOAc como solvente, um maior número de compostos foi extraído e identificado, tanto para o Rio Atibaia como para o Ribeirão Anhumas. Entretanto, a maioria deles correspondia aos **alcanos** de cadeia longa como undecano e heneicosano, **álcoois insaturados** como o farnesol e citronela (encontrados nos óleos de citronela, rosa, gerânio e empregados em perfumaria para enfatizar o odor floral adocicado), alguns **ácidos carboxílicos** como o ácido hexadecanóico, oléico e malônico (este último largamente empregado na indústria farmacêutica), e inúmeros alcenos como o esqualeno^[166]. Embora nos extratos obtidos após ELL com DCM os principais compostos presentes tivessem sido os alcanos, também puderam ser identificados compostos como o clorofeno e alguns derivados do colesterol. A Tabela 20 fornece os principais compostos identificados nas amostras Atibaia e Anhumas, antes e após a derivatização, quando empregada a ELL.

Tabela 20: Compostos presentes no Atibaia e Anhumas após ELL - campanha 3.

<i>Amostra</i>	<i>Principais Compostos Presentes Sem Derivatização</i>	<i>Principais Compostos Presentes Após Derivatização</i>
Atibaia – EtOAc	dibutilftalato; ác. nonanóico; diisoamil; ác. hexadecanóico; di-n-octilftalato; farnesol; fenilbicyclodieno derivado; ciclohexadieno derivado;	dibutilftalato; di-octilftalato; farnesol; uréia (TMS); uréia (TBDMS); ácido malônico (TMS); trimetilsililazida; ác. octadecanóico (TBDMS); ác. hexadecanóico (TMS);
Atibaia – DCM	dibutilftalato; cafeína; butil glicol; butil diglicol; ác. octadecanóico; dibutil carbitol; ác. hexadecanóico;	dibutilftalato; di-n-octilftalato; butil-diglicol; ác. oxálico (TMS); 2-butoxi-etanol;
Anhumas – EtOAc	dibutilftalato; dietilftalato; diisoamil; di-octilftalato ou di-n-octilftalato; cafeína; ác. nonanóico; ác. oléico; ác. hexadecanóico; ác. hexadecenóico; farnesol; ác. octadecanóico; colesterol ou colest-3,5-dieno; colest-4-eno; o-hidroxibifenila;	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; di-n-octilftalato; ác. malônico (TMS); ác. nonanóico (TBDMS); uréia (TMS); tri(butoxi- <i>etil</i>)fosfato; trimetilsililazida; ác. propanóico (TBDMS); antraquinona (TMS); ác. octadecanóico (TBDMS); ác. hexadecanóico (TMS);
Anhumas – DCM	dibutilftalato; dietilftalato; dibutil carbitol; butil diglicol; clorofeno; di-isooctil adipato; di-octilftalato; n-propilbenzamida; o-hidroxibifenila; cafeína; esqualeno; ác. hexadecanóico e octadecanóico; colest-3,5-dieno; colest-4-eno; tri(butoxi- <i>etil</i>)fosfato;	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; di-n-octilftalato; ác. hexadecanóico e malônico (TMS); 5 β -colest-3-ona; tri(butoxi- <i>etil</i>)fosfato; ác. nonanóico e propanóico (TBDMS); esqualeno; trimetilsililazida; hidrox- <i>antraquinona</i> derivado; uréia (TMS e TBDMS); ác. octadecanóico (TBDMS ou TMS);

Nos cromatogramas referentes aos extratos obtidos após SPE das amostras coletadas na campanha 3, vários compostos de origem industrial e doméstica foram identificados, conforme mostrado nas Tabelas 21 e 22, respectivamente, para o Rio Atibaia e Ribeirão Anhumas.

Vários compostos listados como IE foram identificados nas amostras analisadas. Dentre eles: **dibutilftalato**, **dietilftalto** e di-octil ou di-n-octil ftalato; **bisfenol A**, um fungicida e também utilizado com plastificante; **clorofeno**, usado no preparo de desinfetantes para uso doméstico, hospitalar e veterinário; **metoxicloro**, um inseticida bastante empregado na agricultura (análogo do DDT porém mais biodegradável), presente nos inseticidas domésticos e vermífugo para fins veterinários; além do **p-tércio-butilfenol**.

Tabela 21: Compostos presentes no Rio Atibaia após SPE - campanha 3.

<i>Amostra</i>	<i>Principais Compostos Presentes Sem Derivatização</i>	<i>Principais Compostos Presentes Após Derivatização</i>
Atibaia–C18 EtOAc	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; di-n-octilftalato; ác. tetradecanóico; ác. nonanóico; ác. n-decanóico; ác. esteárico; farnesol; bisfenol A; tri(butoxietyl)fosfato; nonadecano; p-tércio-butilfenol;	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; uréia (TMS e TBDMS); fenol (TMS); sarcosina (TMS); trimetilsililazida; ác. propanóico, fórmico, acético, hexadecanóico, benzóico, octanóico, dodecanóico, tetradecanóico, nonanóico, decanóico e octadecanóico (derivados TMS e/ou TBDMS);
Atibaia–C18 EtOAc/Acet 50:50 v/v	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; isobutilftalato; bisfenol A; esqualeno; di-n-octilftalato; ác. hexadecanóico, oléico, tetradecanóico e nonanóico; o-hidroxibifenila; p-tércio-butilfenol; isocitronela; dimetilftalato; rhodinal;	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; uréia (TMS e TBDMS); ác. propanóico, acético tetradecanóico, octadecanóico, octanóico e hexadecanóico derivados (TBDMS);
Atibaia–C18 MeOH	dibutilftalato; dietilftalato; bisfenol A; di-n-octilftalato; p-tércio-butilfenol; o-hidroxibifenila; isocitronela; ác. octanóico, nonanóico e decanóico; cafeína; BHT (di-tércio-butilcresol);	dibutilftalato; dietilftalato; di-n-octilftalato; uréia (TMS e TBDMS); ác. dodecanóico, oléico, nonanóico, hexadecanóico e octadecanóico metil ésteres derivados; p-tércio-butilfenol; bisfenol A; esqualeno;
Atibaia–Cgraf DCM/MeOH 60:40 v/v	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; di-n-octilftalato; ác. hexadecanóico, nonanóico e decanóico; vanilina; butil carbitol; tri(butoxietyl)fosfato; anidrido ftálico; n-heneicoisano; esqualeno; bisfenol A;	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; uréia (TMS e TBDMS); di-n-octilftalato; anidrido ftálico; esqualeno; bisfenol A; tri(butoxietyl)fosfato; ác. hexadecanóico oléico e octadecanóico (metil-éster deriv.); butil diglicol; octacosano;

Tabela 22: Compostos presentes no Rib. Anhumas após SPE - campanha 3.

<i>Amostra</i>	<i>Principais Compostos Presentes Sem Derivatização</i>	<i>Principais Compostos Presentes Após Derivatização</i>
Anhumas–C18 EtOAc	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; di-octilftalato; isocitronela; hidroxicitronela; ác. tetradecanóico, hexadecanóico, n-decanóico, oléico, propanóico e nonanóico; mentol; cuminol; p-tert-butilciclohexanol; dipropileno glicol; clorofeno; o-hidroxibifenila; bisfenol A; dietiltoluamida; tri(butoxietyl)fosfato;	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; uréia (TMS e TBDMS); hidroxicitronela; trimetilsililazida; ác. malônico, propanóico, hexadecanóico, octanóico, tetradecanóico, nonanóico, decanóico, octadecanóico e ftânico, (derivados TMS e/ou TBDMS); bis(dimetil-t-butilsilil) succinato; metoxicloro; tri(butoxietyl)fosfato; trietileno glicol; antraquinona (TMS);
Anhumas–C18 EtOAc/Acet 50:50 v/v	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; di-octil e di-n-octilftalato; esqualeno; ác. nonanóico, tetra e hexadecanóico, propanóico, n-decanóico e oléico; clorofeno; p-tert-butilciclohexanol; dipropileno glicol; hidroxicitronela; isocitronela; tri(butoxietyl)fosfato; o-hidroxibifenila; dimetanonaftaleno; BHT (di-tércio-butilcresol); bisfenol A;	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; uréia (TMS e TBDMS); hidroxicitronela; trimetilsililazida; ác. malônico, propanóico, nonanóico, decanóico, tetra, hexa, octa e nonadecanóico, butírico, succínico, ftânico, benzóico e p-amino-salicílico (derivados TMS e/ou TBDMS); tri(butoxietyl)fosfato; bis(dimetil-t-butilsilil) succinato; butoxi-triglicol; antraquinona deriv.(TMS);
Anhumas–C18 MeOH	dibutilftalato; dietilftalato; cafeína; di-n-octilftalato; p-tércio-butilfenol; hidroxicitronela; dipropileno glicol; bisfenol A; BHT (di-tércio-butilcresol); dietiltoluamida; tri(butoxietyl)fosfato; terpenol; o-hidroxibifenila; clorofeno; ác. oléico, tetradecanóico, octanóico, nonanóico, decanóico e isoftálico; isocitronela; cuminol; citronela; mentol; butil diglicol; propilparabeno;	dibutilftalato; dietilftalato; di-n-octilftalato; uréia (TMS e TBDMS); ác. octadecanóico, dodecanóico e hexadecanóico metil ésteres derivados; ác. propanodióico (TMS); o-hidroxibifenila; 2,4bis(1-feniletil)fenol; mentol; tri(butoxietyl)fosfato; terpenol; cafeína; dibutil carbitol; dipropileno glicol; butil diglicol; cuminol; isocitronela; BHT deriv. (di-tércio-butilcresol); farnesol;
Anhumas–Cgraf DCM/MeOH 60:40 v/v	dibutilftalato; dietilftalato; teofilina; aminofilina; cafeína; teobromina; di-n-octilftalato; tri(butoxietyl)fosfato; o-hidroxibifenila; clorofeno; cuminol; isocitronela; bisfenol A; vanilina; ác. hexadecanóico e propanóico; n-heneicosano; hidroximetil furfural; paracetamol (p-acetaminofenol); butil diglicol; isatina; esqualeno; sacarina;	dibutilftalato; dietilftalato; teobromina; cafeína; uréia (TMS e TBDMS); silicone; di-n-octilftalato; tri(butoxietyl)fosfato; bisfenol A; tetratetracontano; farnesol; dibutil carbitol; butil diglicol; ác. oléico, hexadecanóico e octadecanóico (metil éster derivados); ác. butenóico (TBDMS); heptacosano; octacosano;

Outros compostos de origem antrópica presentes nos extratos das amostras analisadas e que podem estar relacionados com o despejo de esgotos domésticos e

industriais nos corpos d'água avaliados foram: **BHT**, um antioxidante usado na indústria de alimentos e também presente nos produtos derivados do petróleo, na borracha sintética, nos plásticos e óleos vegetais e animais (apresenta estrutura semelhante ao BHA, classificado como um IE e também empregado nas indústrias de alimentos como antioxidante); um **derivado da antraquinona**, matéria-prima para a fabricação de corantes; **butilcarbital**, um solvente produzido exclusivamente pela Union Carbide; **isatina**, um composto usado nas indústrias têxteis para tingimento, também obtido a partir da oxidação do índigo, dentre outros^[166].

Compostos de origem antrópica e bastante utilizados como PFHP também foram identificados nos extratos obtidos após SPE, tais como: **vanilina**; **sacarina**, um adoçante bastante utilizado na indústria de alimentos; **mentol**, empregado na cosmética, nas indústrias de alimentos, e de forma terapêutica como antiséptico, sedativo e anestésico local; **citronela** e derivados; **farnesol**; **terpinol**, usado em cosmética, presente no óleo de pinho, e empregado de forma terapêutica como antiséptico; **propilparabeno**, um fungicida de uso farmacêutico; e **sarcosina** na sua forma derivatizada (TMS), um composto intermediário na síntese de agentes antienzimáticos encontrados na formulação de creme dental, podendo também ser formado a partir da cafeína^[166]. Estes compostos podem estar relacionados tanto com o despejo de esgotos industriais quanto domésticos, já que são fabricados e utilizados em vários processos empregados pelas indústrias da RMC, além de estarem presentes na formulação de vários produtos de higiene pessoal.

Dentre os fármacos de interesse neste trabalho, apenas o **paracetamol** foi identificado nesta primeira etapa de estudo, no extrato não derivatizado da amostra proveniente do Ribeirão Anhumas após SPE utilizando Cgraf como sorvente. Também foram detectadas neste extrato algumas xantinas (compostos com estruturas muito similares à cafeína), tais como: **teobromina**, presente nos refrigerantes à base de cola, nos chás, na semente do cacau e ainda utilizada com fins terapêuticos como broncodilatador, vasodilatador, estimulante do miocárdio e também como diurético (uso veterinário); **teofilina**, presente em pequena quantidade nos chás e usada como broncodilatador; e **aminofilina**, também usada como broncodilatador, além de diurético e relaxante muscular bucal para fins veterinários^[166]. Estes compostos podem ter sido gerados como metabólitos da cafeína ou estarem presentes na formulação de alguns medicamentos.

Com relação aos sorventes empregados durante a SPE, carbono grafitizado mostrou ser mais eficiente para a extração e identificação de compostos que apresentam um certo caráter básico como o paracetamol e os compostos de estrutura semelhante à cafeína (teobromina, teofilina e aminofilina), podendo ser utilizado em substituição ao sorvente C18, já que neste caso o pH inicial da amostra (antes da SPE) poderia ser aumentado sem que houvesse perda do sorvente por solubilização. Este sorvente, embora também possa ser utilizado para a extração e concentração de compostos ácidos e neutros, limita-se em ser pouco hidrofílico. De fato, poucos compostos de caráter ácido puderam ser extraídos e detectados nesta etapa de estudo, quando os cartuchos Cgraf foram empregados.

Já com relação aos solventes utilizados na eluição dos compostos após SPE empregando C18, concluiu-se que tanto metanol como acetato de etila ou a mistura EtOAc/Acet mostraram ser eficientes para a extração e identificação dos compostos de interesse. Para a quantificação dos mesmos, a escolha do solvente foi feita apenas após a avaliação da recuperação obtida para o procedimento analítico empregado.

Ao contrário do que se esperava, após a derivatização dos extratos não foram identificados os esteróides como derivados TBDMS, tampouco em suas formas livres, concluindo-se que o reagente empregado foi totalmente consumido na derivatização dos inúmeros ácidos graxos presentes. Devido a esta baixa eficiência obtida, foram realizados posteriormente alguns testes empregando soluções dos padrões de esteróides e os reagentes derivatizantes MTBSTFA e diazometano, sob as mesmas condições utilizadas para as amostras. Mais uma vez os resultados obtidos não acrescentaram nenhuma melhora para esta classe específica (hormônios sexuais e derivados do colesterol).

Diante dos resultados obtidos na derivatização dos compostos de interesse, optou-se pela continuidade do trabalho excluindo-se esta etapa, já que as reações testadas foram ineficientes, sobretudo para os hormônios sexuais cuja classe era considerada a de maior interesse neste estudo.

Após esta primeira etapa do estudo, que consistiu em uma análise qualitativa bastante criteriosa, foram selecionados 21 compostos para posterior análise quantitativa. São eles: ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, paracetamol, cafeína, dipirona e diclofenaco, representando a classe dos PFHP; androstano, estrona, estradiol, etinilestradiol, levonorgestrel e progesterona, representando a classe dos hormônios sexuais; colesterol,

coprostanol, colestanol e estigmasterol, representando a classe dos esteróides derivados do colesterol; e por fim, representando a classe dos compostos de origem antrópica, os compostos pentaclorofenol, dibutilftalato, 4-nonilfenol, bisfenol A e benzo[a]pireno.

Uma vez que a análise cromatográfica dos extratos obtidos nesta primeira etapa de estudo foi feita em condições variadas (rampas de aquecimento diferenciadas, vazão ou pressão do gás constante, etc), a etapa seguinte consistiu na escolha e otimização do método cromatográfico que seria empregado durante as análises quantitativas. Ao final desta segunda etapa foram criados dois métodos cromatográficos, utilizados para a obtenção dos resultados descritos nos itens seguintes.

VI.3 – Otimização do Procedimento Analítico

Para que se pudesse avaliar a eficiência dos procedimentos analíticos utilizados durante a análise dos IE e PFHP, alguns dos parâmetros fundamentais empregados em validação química foram determinados. Para isso foram empregados brancos de laboratório e soluções aquosas dos compostos de interesse com concentrações conhecidas dos mesmos. Além disso, a precisão instrumental, a linearidade e a seletividade foram avaliadas, determinando-se os limite de detecção do método cromatográfico (limite de detecção do equipamento) e limite de quantificação do procedimento analítico.

Os parâmetros de otimização obtidos após a calibração do GC/MS, como os coeficientes de correlação calculados (R), o número de pontos utilizados para a regressão linear (N) e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para cada composto, são dados nas Tabelas 23 e 24, respectivamente para as campanhas 4-6 e campanha 7. As curvas analíticas obtidas constam dos Anexos 3 e 4. O coeficiente de variação ou desvio padrão relativo obtido nas duplicatas, para todos os compostos, estiveram abaixo de 10%.

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do composto de interesse, dentro de uma determinada faixa de aplicação. Na prática, a linearidade é determinada através do coeficiente de correlação R . A ANVISA^[198] recomenda um coeficiente de correlação de 0,99 e o INMETRO^[197], um valor acima de 0,90.

Tabela 23: Parâmetros quantitativos obtidos após calibração do GC/MS. Campanhas 4-6.

CAMPANHAS 4-6 – MODO SCAN					
Composto	R	N	Intervalo Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	LD ($\mu\text{g/mL}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)
Ibuprofeno	0,9950	4	10,0 - 50,8	7,4	22,3
Paracetamol	0,9925	4	5,2 - 49,8	8,3	25,2
Pentaclorofenol	0,9919	5	8,1 - 56,1	2,1	6,4
Cafeína	0,9963	8	0,20 - 50,5	0,26	0,79
4-Nonilfenol	0,9993	5	0,10 - 10,0	0,61	1,8
Dibutilftalato	0,9980	6	0,05 - 5,0	0,33	0,98
Androstano	0,9986	8	0,05 - 15,1	1,1	3,2
Dipirona	0,9938	6	1,1 - 50,3	7,4	22,3
Diclofenaco	0,9890	6	0,52 - 25,1	3,2	9,6
Bisfenol A	0,9911	6	0,51 - 25,1	0,67	2,0
Estrona	0,9942	5	1,1 - 50,5	8,2	24,7
Estradiol	0,9923	5	1,1 - 50,5	9,4	28,6
Etinilestradiol	0,9937	7	0,20 - 50,3	7,3	22,1
Levonorgestrel	0,9943	5	1,0 - 49,4	7,9	23,9
Progesterona	0,9930	8	0,10 - 51,3	7,4	22,3
Benzo[a]pireno	0,9985	7	0,05 - 15,0	1,1	3,4
Coprostanol	0,9900	5	8,0 - 40,0	3,1	9,3
Colesterol	0,9946	6	5,1 - 79,9	2,7	8,1
Colestanol	0,9777	4	1,1 - 15,1	0,99	3,0
Estigmasterol	0,9883	5	0,20 - 15,0	1,9	5,7
CAMPANHAS 4-6 – MODO SIM					
Composto	R	N	Intervalo Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	LD ($\mu\text{g/mL}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)
Ibuprofeno	0,9981	3	5,1 - 15,0	1,4	4,3
Paracetamol	0,9925	4	0,51 - 15,1	0,86	2,6
Pentaclorofenol	0,9883	4	8,0 - 40,0	9,1	27,6
Cafeína	0,9941	10	0,03 - 25,0	0,02	0,06
4-Nonilfenol	0,9994	5	0,15 - 8,0	0,43	1,3
Dibutilftalato	0,9972	6	0,04 - 1,0	0,11	0,33
Androstano	0,9994	7	0,01 - 1,1	0,05	0,16
Dipirona	0,9999	3	16,0 - 32,0	8,6	25,8
Diclofenaco	0,9996	5	0,20 - 14,9	0,57	1,7
Bisfenol A	0,9997	4	0,72 - 16,0	0,77	2,3
Estrona	0,9966	5	0,20 - 15,2	0,80	2,4
Estradiol	0,9966	5	0,52 - 15,1	0,58	1,8
Etinilestradiol	0,9959	7	0,10 - 15,1	0,33	1,0
Levonorgestrel	0,9966	6	0,21 - 15,0	0,37	1,1
Progesterona	0,9979	9	0,03 - 15,2	0,10	0,30
Benzo[a]pireno	0,9995	9	0,01 - 15,0	0,15	0,44
Coprostanol	0,9952	6	0,21 - 15,0	0,61	1,8
Colesterol	0,9917	5	0,52 - 15,0	0,37	1,1
Colestanol	0,9959	5	0,20 - 15,1	0,67	2,0
Estigmasterol	0,9795	4	1,1 - 15,0	1,5	4,5

Tabela 24: Parâmetros quantitativos obtidos após calibração do GC/MS. Campanha 7.

CAMPANHA 7 – MODO SCAN					
Composto	R	N	Intervalo Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	LD ($\mu\text{g/mL}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)
Dietilftalato	0,9931	6	0,08 – 12,0	2,0	6,1
Cafeína	0,9959	7	0,50 - 80,1	1,1	3,2
4-Nonilfenol	0,9952	5	0,20 - 20,0	3,2	9,6
Dibutilftalato	0,9951	6	0,18 - 12,0	1,7	5,1
Androstano	0,9998	7	0,10 - 20,1	0,54	1,6
Diclofenaco	0,9934	4	2,0 - 20,0	3,7	11,1
Bisfenol A	0,9987	5	4,0 - 40,2	0,67	2,0
Estrona	0,9837	4	2,0 - 20,0	2,0	6,1
Estradiol	0,9810	4	2,0 - 20,1	2,4	7,4
Etinilestradiol	0,9815	4	2,0 - 16,1	2,1	6,5
Levonorgestrel	---	---	---	---	---
Progesterona	0,9790	4	6,0 - 20,1	5,3	16,0
Benzo[a]pireno	0,9995	4	4,0 - 32,1	1,5	4,6
Coprostanol	0,9884	5	5,0 - 56,0	4,6	13,9
Colesterol	0,9866	5	10,0 - 100	7,0	21,2
Colestanol	0,9919	5	10,0 - 100	17,8	54,0
Estigmasterol	0,9969	5	10,0 - 100	2,7	8,1
CAMPANHAS 7 – MODO SIM					
Composto	R	N	Intervalo Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	LD ($\mu\text{g/mL}$)	LQ ($\mu\text{g/L}$)
Dietilftalato	0,9951	6	0,08 - 4,0	0,04	0,12
Cafeína	0,9984	6	0,50 - 50,1	0,94	2,9
4-Nonilfenol	0,9938	6	0,10 - 20,0	0,50	1,5
Dibutilftalato	0,9949	6	0,08 - 4,0	0,09	0,27
Androstano	0,9993	6	0,02 - 2,0	0,02	0,05
Diclofenaco	0,9945	5	0,48 - 16,0	1,5	4,4
Bisfenol A	---	---	---	---	---
Estrona	0,9881	4	2,0 - 16,2	1,1	3,3
Estradiol	0,9860	4	2,0 - 16,1	0,69	2,1
Etinilestradiol	0,9886	4	2,0 - 16,1	0,51	1,5
Levonorgestrel	0,9823	4	2,0 - 16,0	0,87	2,6
Progesterona	0,9919	5	0,48 - 16,0	0,29	0,88
Benzo[a]pireno	0,9938	4	0,48 - 20,1	0,64	1,9
Coprostanol	0,9817	8	0,50 - 70,0	0,64	1,9
Colesterol	0,9906	7	0,50 - 80,0	0,58	1,8
Colestanol	0,9918	7	0,50 - 80,0	0,87	2,6
Estigmasterol	0,9865	6	0,50 - 50,1	0,55	1,7

Para os brancos obtidos após ELL e SPE apenas os compostos dietilftalto e dibutilftalato foram identificados. Entretanto, para o dietilftalato a concentração obtida

esteve abaixo do limite de quantificação calculado (0,12 µg/L). Já as concentrações encontradas para o dibutilftalato foram de $0,28 \pm 0,02$ µg/L para ELL, $0,40 \pm 0,04$ µg/L para SPE empregando Oasis[®]HLB, $0,69 \pm 0,08$ µg/L para SPE empregando C18 e $1,2 \pm 0,2$ µg/L para SPE empregando Cgraf.

Com relação às porcentagens de recuperação obtidas, dadas nas Tabelas 25 e 26, observou-se que, de modo geral, a ELL (empregando DCM – este foi o solvente escolhido ao final da primeira etapa do trabalho) foi a técnica mais eficiente dentre as empregadas. Os compostos dietilftalato, cafeína, 4-nonilfenol, dibutilftalato, androstano, bisfenol A, benzo[a]pireno e os esteróides derivados do colesterol (coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol) foram eficientemente extraídos, com recuperações acima de 70% em ambos os níveis de concentração avaliados. Já para os compostos ibuprofeno e pentaclorofenol a ELL mostrou-se eficiente apenas para elevadas concentrações dos mesmos (~40 µg/L). Como nas amostras avaliadas estes compostos encontram-se presentes em concentrações mais baixas, ambos foram excluídos da quantificação dos IE e PFHP realizada na campanha 7.

Na SPE empregando Cgraf observou-se que as maiores eficiências foram obtidas para os compostos paracetamol e cafeína, nos dois níveis de concentração avaliados, provavelmente por serem menos ácidos (pKa ~10) que os demais compostos monitorados. Para SPE empregando C18 como sorvente, as recuperações obtidas nas campanhas 4-6 foram insatisfatórias para a maioria dos compostos avaliados. Na campanha 7, onde a eluição dos compostos foi realizada com MeOH excluindo-se a etapa de lavagem do cartucho (MeOH:H₂O 10:90 v/v), as recuperações obtidas foram satisfatórias, inclusive para os hormônios estrogênios e progesterona, indicando uma provável dessorção destes compostos antes da eluição. O uso dos cartuchos Oasis[®]HLB foi considerado excelente apenas para a análise de cafeína, diclofenaco, bisfenol A e hormônios sexuais (estrogênios e progesterona), de acordo com os altos valores de recuperação obtidos.

Segundo Ribani *et alii*^[196], os intervalos aceitáveis de recuperação na análise de traços geralmente estão entre 70-120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade do procedimento analítico adotado e da própria amostra, este valor pode ser de 50-120%, com precisão de até $\pm 15\%$. Sendo assim, os valores encontrados nos procedimentos aqui empregados estão dentro dos intervalos aceitáveis de recuperação.

Tabela 25: Valores de recuperação obtidos para os procedimentos usados nas campanhas 4-6.

CONCENTRAÇÃO 0,80 µg/L (modo SIM)				
Composto	Recup ELL (%)	Recup SPE Cgraf (%)	Recup SPE C18 MeOH (%)	Recup SPE C18 EtOAc (%)
Ibuprofeno	nd	nd	nd	nd
Paracetamol	nd	nd	nd	nd
Pentaclorofenol	nd	nd	nd	nd
Cafeína	79,1	78,8	26,9	47,3
4-Nonilfenol	81,1	51,0	37,8	42,3
Dibutilftalato	82,9	91,3	50,3	55,5
Androstano	84,6	nd	nd	13,1
Dipirona	nd	nd	nd	nd
Diclofenaco	67,8	nd	nd	nd
Bisfenol A	78,0	nd	nd	nd
Estrona	nd	nd	nd	nd
Estradiol	nd	nd	nd	nd
Etinilestradiol	nd	nd	nd	nd
Levonorgestrel	nd	nd	nd	nd
Progesterona	36,8	nd	nd	18,0
Benzo[a]pireno	70,1	nd	21,6	19,9
Coprostanol	119	nd	121	52,6
Colesterol	nd	nd	nd	nd
Colestanol	155	nd	101	nd
Estigmasterol	nd	nd	nd	nd
CONCENTRAÇÃO 40,0 µg/L (modo SCAN)				
Composto	Recup ELL (%)	Recup SPE Cgraf (%)	Recup SPE C18 MeOH (%)	Recup SPE C18 EtOAc (%)
Ibuprofeno	109	54,5	97,7	nd
Paracetamol	39,6	89,6	3,1	3,2
Pentaclorofenol	86,0	12,9	29,5	44,3
Cafeína	89,3	82,0	7,1	13,7
4-Nonilfenol	94,5	41,8	49,0	58,9
Dibutilftalato	103	113	124	133
Androstano	102	18,8	7,9	27,9
Dipirona	71,4	nd	nd	nd
Diclofenaco	114	53,7	25,3	41,3
Bisfenol A	94,3	38,7	63,7	82,9
Estrona	55,0	36,5	31,8	49,5
Estradiol	47,7	31,9	31,1	43,2
Etinilestradiol	52,4	19,8	24,2	35,1
Levonorgestrel	53,5	35,5	30,2	48,0
Progesterona	46,4	9,1	20,2	29,9
Benzo[a]pireno	115	nd	0,5	2,0
Coprostanol	53,6	5,1	5,2	5,7
Colesterol	87,1	5,4	4,9	6,0
Colestanol	92,6	nd	6,9	6,8
Estigmasterol	80,3	17,6	15,8	10,0

Tabela 26: Valores de recuperação obtidos para os procedimentos usados na campanha 7.

CONCENTRAÇÃO 054 µg/L, 0,80 µg/L e 1,35 µg/L (modo SIM)				
Composto	Concentração (µg/L)	Recup ELL (%)	Recup SPE C18 (%)	Recup SPE Oasis®HLB (%)
Dietilftalato	1,35	114	82,8	48,3
Cafeína	0,80	106	100	110
4-Nonilfenol	0,54	109	67,2	49,3
Dibutilftalato	1,35	97,6	34,9	97,1
Androstano	0,54	102	42,4	41,5
Diclofenaco	0,54	nd	nd	nd
Bisfenol A	0,55	nd	nd	nd
Estrona	0,54	nd	nd	nd
Estradiol	0,54	nd	nd	nd
Etinilestradiol	0,54	nd	nd	181
Levonorgestrel	0,54	nd	nd	nd
Progesterona	0,54	nd	nd	nd
Benzo[a]pireno	0,54	85,9	nd	nd
Coprostanol	0,80	116	113	nd
Colesterol	0,80	nd	147	nd
Colestanol	0,80	nd	118	nd
Estigmasterol	0,80	127	109	nd
CONCENTRAÇÃO 12,0 µg/L, 30,0 µg/L e 50,0 µg/L (modo SCAN)				
Composto	Concentração (µg/L)	Recup ELL (%)	Recup SPE C18 (%)	Recup SPE Oasis®HLB (%)
Dietilftalato	30,0	90,1	75,9	56,8
Cafeína	50,0	78,1	69,3	91,0
4-Nonilfenol	12,0	109	10,0	3,7
Dibutilftalato	30,0	77,5	50,3	42,2
Androstano	12,0	111	5,1	1,8
Diclofenaco	12,0	nd	145	114
Bisfenol A	12,1	85,3	125	127
Estrona	12,0	184	79,8	88,4
Estradiol	12,0	195	77,0	98,3
Etinilestradiol	12,0	nd	90,1	102
Levonorgestrel	12,0	nd	101	112
Progesterona	12,0	nd	73,0	80,9
Benzo[a]pireno	12,0	129	8,2	8,0
Coprostanol	50,0	101	34,3	21,9
Colesterol	50,0	127	53,7	5,6
Colestanol	50,0	120	37,7	6,0
Estigmasterol	50,0	101	38,1	19,8

Frente às recuperações obtidas, a quantificação dos compostos pentaclorofenol, 4-nonilfenol, dietil e dibutilftalato, androstano, dipirona, benzo[a]pireno e esteróides derivados do colesterol, nas amostras coletadas nas quatro últimas campanhas (4-7), foi feita a partir da análise dos extratos obtidos após ELL com DCM. Para cafeína, diclofenaco, bisfenol A e os hormônios estrona, estradiol, etinilestradiol, levonorgestrel e progesterona, a quantificação foi feita a partir dos resultados obtidos na ELL para as campanhas 4-6, e a partir dos resultados da SPE com Oasis[®]HLB para a campanha 7. Já para o ibuprofeno e paracetamol, determinados apenas durante as campanhas 4-6, a quantificação foi feita a partir dos resultados obtidos, respectivamente, na SPE com C18 (MeOH como solvente de eluição) e SPE com Cgraf.

A precisão instrumental (do método cromatográfico empregado) foi determinada em condições de repetibilidade, isto é, os resultados foram obtidos utilizando-se o mesmo método para uma mesma amostra, no mesmo laboratório, com o mesmo equipamento e mesmo operador, e em um curto intervalo de tempo (determinação feita em um único dia), através da injeção manual em quintuplicata de uma solução-padrão. A Tabela 27 fornece os coeficientes de variação calculados para as áreas e tempos de retenção, obtidos após sucessivas injeções do padrão.

De acordo com os valores apresentados, o método empregado mostrou-se bastante preciso, tanto para os tempos de retenção obtidos como para as áreas integradas, respectivamente com coeficientes de variação menores que 0,1% e 10%.

A seletividade do método cromatográfico empregado também foi verificada injetando-se os brancos de laboratório obtidos, e observando se havia ou não picos na região do tempo de retenção dos compostos de interesse, conforme descrito por Lanças^[195]. A pureza dos picos cromatográficos obtidos para os compostos identificados nas amostras também foi avaliada, através da comparação dos respectivos espectros de massas com os obtidos para os padrões. A similaridade na análise destas amostras esteve acima de 70%, na grande maioria dos casos.

Tabela 27: Precisão do método cromatográfico empregado na quantificação dos IE e PFHP.

PRECISÃO INSTRUMENTAL – Áreas dos Picos Cromatográficos								
Composto	Conc. (µg/mL)		Área 2		Área 4		Média	CV (%)
Dietilftalato	1,2	2725368	2579457	2402840	2216436	2362615	2457343	8,1
Cafeína	30,0	6949946	6796582	6795364	7063946	7102058	6941579	2,1
4-Nonilfenol	12,0	10561973	13031973	12261205	11765029	12239115	11971859	7,6
Dibutilftalato	1,2	2521514	2320107	2170506	2028129	2114802	2231012	8,7
Androstano	6,0	751570	741947	725927	751641	790426	752302	3,2
Diclofenaco	6,0	38725	34704	36181	35822	39239	36934	5,3
Bisfenol A	12,1	188233	208314	214825	211180	224949	209500	6,4
Estrona	6,1	87394	79067	71448	82316	76159	79277	7,6
Estradiol	6,0	76969	73603	66381	74953	68061	71993	6,3
Etinilestradiol	6,0	44868	44288	39970	42870	40045	42408	5,4
Levonorgestrel	6,0	21517	20585	18645	20156	19687	20118	5,3
Progesterona	6,0	214210	204541	184527	201784	197386	200490	5,4
Benzo[a]pireno	12,0	1041212	1113307	1179841	1113717	1137285	1117072	4,5
Coprostanol	21,0	769784	925603	910237	796088	896977	859738	8,3
Colesterol	30,0	397338	382604	363784	381595	386702	382405	3,2
Colestanol	30,0	1718462	1674828	1613786	1685564	1717287	1681985	2,5
Estigmasterol	30,0	2392699	2376106	2185823	2292791	2325427	2314569	3,6
PRECISÃO INSTRUMENTAL – Tempos de Retenção dos Picos Cromatográficos								
Composto	(µg/mL)	t_R 1 (min)	t_R 2 (min)	t_R 3 (min)	t_R 4 (min)	t_R 5 (min)	Média	CV (%)
Dietilftalato	1,2	9,738	9,725	9,721	9,727	9,723	9,727	0,07
Cafeína	30,0	14,601	14,606	14,611	14,605	14,599	14,604	0,03
4-Nonilfenol	12,0	15,259	15,247	15,250	15,249	15,247	15,250	0,03
Dibutilftalato	1,2	16,872	16,869	16,862	16,863	16,863	16,866	0,03
Androstano	6,0	17,962	17,962	17,966	17,963	17,959	17,962	0,01
Diclofenaco	6,0	20,636	20,640	20,650	20,637	20,633	20,639	0,03
Bisfenol A	12,1	20,987	20,980	20,957	20,977	20,957	20,972	0,07
Estrona	6,1	28,512	28,505	28,510	28,513	28,513	28,511	0,01
Estradiol	6,0	28,796	28,798	28,803	28,800	28,797	28,799	0,01
Etinilestradiol	6,0	29,858	29,857	29,857	29,860	29,860	29,858	0,01
Levonorgestrel	6,0	30,670	30,660	30,660	30,667	30,657	30,663	0,02
Progesterona	6,0	31,573	31,574	31,512	31,575	31,570	31,561	0,09
Benzo[a]pireno	12,0	31,877	31,880	31,870	31,883	31,867	31,875	0,02
Coprostanol	21,0	35,554	35,560	35,553	35,560	35,548	35,555	0,01
Colesterol	30,0	36,208	36,207	36,208	36,211	36,199	36,207	0,01
Colestanol	30,0	36,407	36,405	36,401	36,402	36,401	36,403	0,01
Estigmasterol	30,0	38,814	38,816	38,813	38,812	38,808	38,813	0,01

VI.4 – Determinação dos IE e PFHP em Águas de Abastecimento e Esgoto

VI.4.1 – IE e PFHP em Esgoto Doméstico

As amostras de esgoto doméstico avaliadas referem-se às coletadas durante a campanha 5, na ETE Samambaia, na cidade de Campinas. Esta ETE, em operação desde junho/2001, encontra-se a montante da captação de água da SANASA, no Rio Atibaia.

A concepção desta ETE constitui-se de processo de “lodos ativados” na modalidade aeração prolongada, porém com diferenciações inovadoras visando economia construtiva e desempenho. Os tanques de aeração são constituídos de duas unidades em série, com diques de terra compactada no solo escavado, revestidos com manta sintética. Os decantadores secundários são de alta taxa, dotados de placas planas paralelas de fluxo laminar, sendo os três módulos retangulares construídos em estrutura de concreto acoplada à saída do segundo tanque de aeração. Também foram previstos digestores aeróbios para maior estabilização do lodo, antecedendo as unidades de adensamento por gravidade em tanques retangulares com fundo tronco-piramidal e desidratação por centrífuga^[13].

Segundo a SANASA^[13], o esgoto tratado vem apresentando excelente qualidade (DBO inferior a 10 mg/L), sendo que foram realizados ajustes no processo para a melhoria do desempenho e redução dos custos operacionais. Devido às baixas vazões de início de plano, foram deixados em modo de espera o primeiro tanque de aeração e dois módulos de decantadores secundários. O sistema de aeração com aeradores mecânicos superficiais de alta rotação e fluxo de ar induzido foi substituído por aeradores submersos de melhor eficiência de oxigenação e mistura. Nos decantadores secundários foram instalados aspersores para quebra de espuma, e a taxa de recirculação de lodo foi elevada ao máximo para evitar entupimentos no barrilete inferior, que deve ter concepção que garanta velocidades de arraste adequadas na extração do lodo por bombeamento. Ainda está prevista a implantação de um sistema de desinfecção por ultravioleta, estando em fase de teste, desde 2002, uma unidade piloto com reator de aço inox em posição horizontal e perpendicular ao fluxo, e lâmpadas imersas de média pressão e alta intensidade, protegidas com tubos de quartzo^[13].

Deste modo, a amostra de esgoto bruto avaliada neste trabalho refere-se ao esgoto coletado após a passagem pelos desarenadores (tratamento preliminar), onde apenas os materiais mais grosseiros e areia foram removidos. Já a amostra de esgoto tratado refere-se ao esgoto coletado após o tratamento biológico de “lodos ativados”. As amostras foram coletadas uma única vez (durante a campanha 5), de modo instantâneo, isto é, os esgotos bruto e tratado foram coletados ao mesmo tempo, não sendo considerado, portanto, o tempo de retenção durante o tratamento biológico, que pode variar de 1-8 h^[155] quando se utiliza o processo de “lodos ativados”.

As concentrações dos IE e PFHP monitorados são dadas na Tabela 28, expressas como a média aritmética das concentrações obtidas para os dois extratos analisados da mesma amostra, uma vez que todo o procedimento de extração e quantificação foi realizado em duplicata.

Tabela 28: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para o esgoto doméstico da ETE Samambaia.

Composto	Concentração Média ($\mu\text{g/L}$)		
	Esgoto Bruto	Esgoto Tratado	Remoção (%)
Ibuprofeno	54,2 \pm 0,2	48,4 \pm 0,4	10,7
Dietilftalato	nd	nd	---
Paracetamol	18,1 \pm 0,4	5,89 \pm 0,02	67,5
Pentaclorofenol	8,20 \pm 0,02	< 6,4	\geq 22,0
Cafeína	294 \pm 1	1,32 \pm 0,05	99,6
4-Nonilfenol	1,87 \pm 0,03	1,39 \pm 0,02	25,7
Dibutilftalato	12,4 \pm 0,2	1,43 \pm 0,05	88,5
Androstano	< 0,16	< 0,16	---
Dipirona	36,4 \pm 0,8	23,7 \pm 0,1	34,9
Diclofenaco	2,87 \pm 0,04	1,78 \pm 0,03	38,0
Bisfenol A	8,66 \pm 0,01	7,98 \pm 0,03	7,9
Estrona	4,83 \pm 0,05	4,13 \pm 0,06	14,5
Estradiol	6,69 \pm 0,03	5,56 \pm 0,06	16,9
Etinilestradiol	5,81 \pm 0,02	5,04 \pm 0,05	13,3
Levonorgestrel	< 1,1	< 1,1	---
Progesterona	3,57 \pm 0,01	2,93 \pm 0,01	17,9
Benzo[a]pireno	1,07 \pm 0,02	< 0,44	\geq 58,9
Coprostanol	212 \pm 1	66,5 \pm 0,2	68,6
Colesterol	513 \pm 2	76,4 \pm 0,2	85,1
Colestanol	32,7 \pm 0,5	25,8 \pm 0,4	21,1
Estigmasterol	309 \pm 2	1958 \pm 7	---

nd = não determinado

Segundo os dados apresentados, dos 20 compostos determinados apenas o androstano e levonorgestrel apresentaram concentrações abaixo dos limites de quantificação estimados para o procedimento analítico empregado. Ao contrário, cafeína, colesterol e coprostanol estiveram presentes em elevadas concentrações no esgoto bruto, mas foram eficientemente removidos após o tratamento biológico empregado na ETE.

Para o colesterol, a concentração encontrada no esgoto bruto foi relativamente maior que a obtida para o coprostanol mas, para ambos, a concentração diminuiu significativamente após o tratamento empregado na ETE. Concluiu-se, portanto, que durante o tratamento biológico o colesterol foi convertido em coprostanol, através da ação dos microorganismos presentes. De fato, no organismo de animais superiores o coprostanol é facilmente produzido através da hidrogenação bacteriana do colesterol no intestino, sendo a produção de colestanol e epicoprostanol, outros subprodutos desta reação, muito pouco favorecida. Por este motivo, o coprostanol é o principal esteróide fecal encontrado nas fezes humanas, constituindo aproximadamente 60% do conteúdo total de esteróides, sendo também eliminado através da urina, uma vez que não é totalmente metabolizado^[179,183-185].

Efluentes domésticos e lodos também contêm bactérias fecais que podem reduzir colesterol em coprostanol. Estas duas substâncias podem ser utilizadas como traçadores passivos de matéria orgânica proveniente de contaminação por esgotos domésticos^[183,185]. Apesar de ser considerado como um marcador molecular específico e apresentar boa resistência aos processos iniciais de diagênese, especialmente em ambientes anóxicos, o coprostanol pode também sofrer degradação em águas naturais e lodos provenientes de esgotos (90 - 95% em 1-2 semanas), segundo relatado por Schönning *et alii*^[184].

No meio ambiente, o colesterol pode ter a sua origem tanto natural como antrópica. Já para o colestanol o aporte natural se dá através de algas e zooplâncton. O colestanol é um isômero do coprostanol, sendo também encontrado nas fezes e biles humana. Para este composto, os valores de concentração encontrados no esgoto bruto e tratado estiveram bastante próximos. Por outro lado, observou-se um aumento significativo na concentração do estigmasterol, indicando que o mesmo foi gerado durante o tratamento biológico empregado na ETE, provavelmente como um subproduto da degradação das lipoproteínas presentes no esgoto. Segundo Shimada *et alii*^[185], fitoesteróides como o

estigmasterol são importantes indicadores do metabolismo de lipoproteínas (principais constituintes dos nutrientes encontrados em elevadas concentrações nos esgotos), uma vez que podem ser formados a partir da degradação microbiológica destas proteínas.

Ao contrário dos esteróides derivados do colesterol, os compostos ibuprofeno, bisfenol A e os hormônios sexuais apresentaram concentrações muito próximas no esgoto bruto e tratado, com porcentagens de remoção abaixo de 18%. Os fármacos paracetamol, dipirona e diclofenaco e os compostos pentaclorofenol e 4-nonilfenol também foram apenas parcialmente removidos durante o tratamento biológico, comprovando-se a resistência dos mesmos frente ao tratamento empregado, em concordância com as observações relatadas na literatura por vários pesquisadores^[23,96,163-165].

A biosíntese dos hormônios sexuais (androgênios, estrogênios e progestagênios) no organismo humano é catalisada por uma série de enzimas que formam a rota esteroidogênica. Esta rota se inicia com a conversão do colesterol em pregnenolona, que em seguida é convertida em progesterona, precursora na produção dos androgênios. Os androgênios por sua vez podem ser transformados em estrogênios. A extensão destas reações de biotransformação depende da atuação de várias enzimas em tecidos específicos^[20,85].

Cerca de 98% dos hormônios esteróides lipofílicos são transportados através do sangue, ligados aos receptores de proteínas. Apenas 2% destes hormônios circulam livres e são biologicamente ativos. Tanto os progestagênios quanto os estrogênios são metabolizados no fígado e então excretados como glucoronídeos solúveis em água ou sulfatos conjugados. No meio ambiente, estes conjugados são rapidamente hidrolisados, gerando novamente os hormônios na forma livre ou seus metabólitos. Segundo Lintelmann *et al*^[20], a degradação microbiológica destes compostos mostrou uma forte dependência com relação à adição de nutrientes. Na presença dos mesmos, estrona, estriol e estradiol podem ser quase que totalmente degradados em 4 semanas. Ao contrário, sem a presença suficiente de nutrientes, a degradação ocorre, porém em menor extensão^[20,85]. Talvez a baixa remoção observada para os compostos estrona e estradiol no esgoto após tratamento esteja relacionada com este fator, uma vez que as lipoproteínas inicialmente presentes no esgoto, a principal fonte de nutrientes, foram metabolizadas pelos microorganismos empregados no tratamento biológico, conforme já discutido.

VI.4.2 – IE e PFHP em Águas Superficiais

As amostras de águas superficiais avaliadas e apresentadas neste item referem-se às coletadas durante as campanhas 4-7, compreendendo as águas do Rio Atibaia nos três pontos monitorados, Ribeirão Pinheiros e Ribeirão Anhumas. As concentrações dos IE e PFHP são dadas nas Tabelas 29-31, expressas mais uma vez como a média aritmética das concentrações obtidas para os extratos analisados em duplicata. De acordo com os resultados apresentados, todos os corpos d'água avaliados apresentaram elevadas concentrações de cafeína, colesterol e coprostanol, principalmente as águas provenientes dos Ribeirões Pinheiros e Anhumas, com relação às obtidas nos estudos realizados em vários países da Europa, nos EUA e Canadá^[30,37,96,100,101,107,111,118,120, 122,128-130,136,141,145]. Nas águas do Rio Atibaia, cafeína esteve presente em concentrações variando de 1-17 µg/L, cuja concentração máxima refere-se ao ponto localizado próximo a REPLAN, enquanto colesterol e coprostanol variaram, respectivamente, de 9-22 µg/L e 5-12 µg/L. O Ribeirão Anhumas apresentou os maiores níveis de concentração destes compostos com valores máximos de 106 µg/L para cafeína, 301 µg/L para colesterol e 41 µg/L para coprostanol.

O aporte das águas do Ribeirão Pinheiros no Rio Atibaia também foi avaliado, comparando-se as concentrações dos compostos obtidas para os pontos Atib SOU e Atib CAP, respectivamente localizados a montante e à jusante do ribeirão. Observou-se que na água coletada 2 km antes do ponto de captação da SANASA, as concentrações dos compostos diclofenaco e bisfenol A, e em menor proporção, de cafeína e progesterona, foram inferiores às encontradas na captação, concluindo-se que este incremento deve-se ao lançamento das águas impactadas provenientes do Ribeirão Pinheiros.

Para os compostos ibuprofeno, paracetamol, pentaclorofenol, 4-nonilfenol, androstano, dipirona e benzo[a]pireno, as concentrações obtidas estiveram abaixo dos limites de quantificação determinados. Já entre os hormônios sexuais analisados, estradiol, etinilestradiol e progesterona foram os que estiveram mais presentes nestas águas. As concentrações obtidas no Rio Atibaia estiveram entre 1,9-3 µg/L para estradiol, 1,2-1,7 µg/L para etinilestradiol e 1,2-1,4 µg/L para progesterona, sendo superiores a 3,5 µg/L no Ribeirão Anhumas. Entretanto, os valores encontrados estiveram muito próximos dos limites de quantificação determinados para esta classe específica de compostos.

Tabela 29: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para as águas do Rio Atibaia.

Composto	ATIBAIA CAP - Concentração Média ($\mu\text{g/L}$)			
	Campanha 4	Campanha 5		Campanha 7
Ibuprofeno	< 22,3	< 22,3	nd	nd
Dietilftalato	nd	nd	nd	< 0,12
Paracetamol	< 25,2	< 2,6	nd	nd
Pentaclorofenol	< 6,4	< 6,4	nd	nd
Cafeína	1,1 \pm 0,1	1,1 \pm 0,2	4,7 \pm 0,5	3,8 \pm 0,1
4-Nonilfenol	< 1,8	< 1,3	< 1,3	< 1,5
Dibutilftalato	1,2 \pm 0,2	0,43 \pm 0,03	1,17 \pm 0,03	0,39 \pm 0,01
Androstano	nd	< 0,16	< 0,16	< 0,05
Dipirona	< 22,3	< 22,3	nd	nd
Diclofenaco	< 9,6	< 1,7	< 1,7	5,9 \pm 0,6
Bisfenol A	5,4 \pm 0,3	< 2,3	< 2,3	3,2 \pm 0,2
Estrona	nd	< 2,4	< 2,4	< 3,3
Estradiol	nd	< 1,8	< 1,8	3,0 \pm 0,9
Etinilestradiol	nd	< 1,0	< 1,0	1,7 \pm 0,1
Levonorgestrel	nd	< 1,1	< 1,1	< 2,6
Progesterona	nd	< 0,30	< 0,30	1,4 \pm 0,1
Benzo[a]pireno	< 3,4	< 0,44	< 0,44	< 1,9
Coprostanol	10,8 \pm 0,3	8,3 \pm 0,2	5,2 \pm 0,2	7,4 \pm 0,3
Colesterol	10,0 \pm 0,4	9,4 \pm 0,5	9,9 \pm 0,1	8,8 \pm 0,7
Colestanol	< 3,0	2,6 \pm 0,1	2,2 \pm 0,2	3,6 \pm 0,1
Estigmasterol	< 5,7	< 4,5	< 4,5	9,2 \pm 0,8
Composto	ATIBAIA REP - Concentração Média ($\mu\text{g/L}$)			
	Campanha 4	Campanha 5	Campanha 6	Campanha 7
Ibuprofeno	< 22,3	< 22,3	nd	nd
Dietilftalato	nd	nd	nd	0,22 \pm 0,02
Paracetamol	< 25,2	< 2,6	nd	nd
Pentaclorofenol	< 6,4	< 6,4	nd	nd
Cafeína	5,6 \pm 0,3	2,9 \pm 0,6	10,3 \pm 0,2	16,8 \pm 0,4
4-Nonilfenol	< 1,8	< 1,3	< 1,3	< 1,5
Dibutilftalato	< 0,98	0,53 \pm 0,05	1,51 \pm 0,03	0,39 \pm 0,01
Androstano	nd	< 0,16	< 0,16	< 0,05
Dipirona	< 22,3	< 22,3	nd	nd
Diclofenaco	< 9,6	< 1,7	2,44 \pm 0,06	< 4,4
Bisfenol A	5,79 \pm 0,01	< 2,3	< 2,3	2,86 \pm 0,06
Estrona	nd	< 2,4	< 2,4	< 3,3
Estradiol	nd	< 1,8	1,9 \pm 0,1	2,38 \pm 0,02
Etinilestradiol	nd	1,2 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1	< 1,5
Levonorgestrel	nd	< 1,1	< 1,1	< 2,6
Progesterona	nd	< 0,30	< 0,30	1,45 \pm 0,03
Benzo[a]pireno	< 3,4	< 0,44	< 0,44	< 1,9
Coprostanol	11,6 \pm 0,1	9,3 \pm 0,5	7,7 \pm 0,1	8,9 \pm 0,1
Colesterol	10,9 \pm 0,4	12,9 \pm 0,6	16,7 \pm 0,4	22,3 \pm 0,9
Colestanol	< 3,0	3,3 \pm 0,5	2,8 \pm 0,2	4,7 \pm 0,3
Estigmasterol	9,8 \pm 0,3	5,7 \pm 0,3	15,8 \pm 0,5	10,3 \pm 0,3

nd = não determinado

campanha 4 = aquisição SCAN

demais campanhas = aquisição SCAN/SIM

Tabela 30: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para as águas do Ribeirão Anhumas.

Composto	ANHUMAS - Concentração Média ($\mu\text{g/L}$)			
	Campanha 4		Campanha 6	Campanha 7
Ibuprofeno	< 22,3	< 22,3	nd	nd
Dietilftalato	nd	nd	nd	3,2 \pm 0,7
Paracetamol	< 25,2	< 2,6	nd	nd
Pentaclorofenol	< 6,4	< 6,4	8,3 \pm 0,3	nd
Cafeína	93,5 \pm 0,6	41,1 \pm 0,1	35,3 \pm 0,6	106 \pm 4
4-Nonilfenol	< 1,8	< 1,3	< 1,3	< 1,5
Dibutilftalato	2,2 \pm 0,1	1,1 \pm 0,3	1,6 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1
Androstano	nd	< 0,16	< 0,16	< 0,05
Dipirona	< 22,3	< 22,3	nd	nd
Diclofenaco	< 9,6	< 1,7	2,01 \pm 0,05	< 4,4
Bisfenol A	5,8 \pm 0,1	< 2,3	< 2,3	64,2 \pm 0,9
Estrona	nd	< 2,4	< 2,4	3,5 \pm 0,1
Estradiol	nd	< 1,8	2,0 \pm 0,1	6,0 \pm 0,1
Etinilestradiol	nd	1,4 \pm 0,3	1,6 \pm 0,1	3,5 \pm 0,1
Levonorgestrel	nd	< 1,1	< 1,1	< 2,6
Progesterona	nd	< 0,30	< 0,30	4,2 \pm 0,8
Benzo[a]pireno	< 3,4	< 0,44	< 0,44	< 1,9
Coprostanol	27,5 \pm 0,6	34,0 \pm 0,2	40,9 \pm 0,7	20,9 \pm 0,7
Colesterol	9,5 \pm 0,4	75,9 \pm 0,7	67,6 \pm 0,8	301 \pm 10
Colestanol	7,2 \pm 0,6	4,8 \pm 0,3	5,2 \pm 0,4	40,2 \pm 0,5
Estigmasterol	85,5 \pm 0,8	59,3 \pm 0,8	45,1 \pm 0,5	23,7 \pm 0,5

nd = não determinado

campanha 4 = aquisição SCAN

demais campanhas = aquisição SCAN/SIM

Tabela 31: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para os pontos extras.

Composto	Concentração Média ($\mu\text{g/L}$)	
	Rio Atibaia - Sousas	Ribeirão Pinheiros
Dietilftalato	< 0,12	0,563 \pm 0,001
Cafeína	3,2 \pm 0,3	10,3 \pm 0,1
4-Nonilfenol	< 1,5	< 1,5
Dibutilftalato	0,41 \pm 0,05	0,60 \pm 0,03
Androstano	< 0,05	< 0,05
Diclofenaco	< 4,4	6,0 \pm
Bisfenol A	2,2 \pm 0,1	5,7 \pm 0,4
Estrona	< 3,3	5,0 \pm 0,6
Estradiol	2,7 \pm 0,5	3,7 \pm 0,9
Etinilestradiol	1,7 \pm 0,2	2,2 \pm 0,3
Levonorgestrel	< 2,6	< 2,6
Progesterona	1,2 \pm 0,1	2,3 \pm
Benzo[a]pireno	< 1,9	< 1,9
Coprostanol	7,0 \pm 0,1	12,4 \pm 0,9
Colesterol	9,2 \pm 0,8	138 \pm 6
Colestanol	2,6 \pm 0,1	46 \pm 1
Estigmasterol	9,4 \pm 0,2	15,1 \pm 0,8

Nas Tabelas 29 e 30 os limites de quantificação (LQ) obtidos diferem para as 4 campanhas descritas, devido ao fato de terem sido empregados procedimentos diferentes durante a análise dos IE e PFHP, conforme descrito no item V.5.2 – Análise Quantitativa. Na análise das amostras coletadas na campanha 4 apenas o modo SCAN foi usado para a aquisição dos dados. Já nas campanhas 5, 6 e 7 tanto o modo SCAN como o modo SIM foi empregado. Mas, para a campanha 7, foram utilizadas novas soluções-padrão durante a calibração do GC/MS, resultando em diferentes LQ.

VI.4.3 – IE e PFHP em Água Potável

As concentrações dos IE e PFHP determinados nas águas potáveis analisadas, bem como as coletadas diretamente na ETA Sousas durante as campanhas 5 e 6 são dadas na Tabela 32. Tais concentrações são expressas como a média aritmética das concentrações obtidas para os dois extratos analisados da mesma amostra, uma vez que todo o procedimento de extração e quantificação foi realizado em duplicata.

Tabela 32: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para água potável.

Composto	ÁGUA TRATADA - Concentração Média ($\mu\text{g/L}$)			
	Campanha 5	Campanha 6	Ponto 1	Ponto 2
Dietilftalato	nd	nd	0,17 \pm 0,05	0,16 \pm 0,01
Cafeína	0,4 \pm 0,1	1,5 \pm 0,1	3,8 \pm 0,2	2,9 \pm 0,5
4-Nonilfenol	< 1,3	< 1,3	< 1,5	< 1,5
Dibutilftalato	< 0,33	0,39 \pm 0,02	0,41 \pm 0,05	0,33 \pm 0,01
Androstano	< 0,16	< 0,16	< 0,05	< 0,05
Diclofenaco	< 1,7	< 1,7	< 4,4	< 4,4
Bisfenol A	< 2,3	< 2,3	2,1 \pm 0,4	2,2 \pm 0,2
Estrona	< 2,4	< 2,4	< 3,3	< 3,3
Estradiol	< 1,8	< 1,8	2,2 \pm 0,4	2,4 \pm 0,2
Etinilestradiol	< 1,0	< 1,0	< 1,5	1,6 \pm 0,4
Levonorgestrel	< 1,1	< 1,1	< 2,6	< 2,6
Progesterona	< 0,30	< 0,30	1,3 \pm 0,6	1,5 \pm 0,3
Benzo[a]pireno	< 0,44	< 0,44	< 1,9	< 1,9
Coprostanol	< 1,8	< 1,8	< 1,9	< 1,9
Colesterol	< 1,1	2,0 \pm 0,2	2,3 \pm 0,2	2,1 \pm 0,3
Colestanol	< 2,0	< 2,0	< 2,6	< 2,6
Estigmasterol	< 4,5	< 4,5	< 1,7	< 1,7

nd = não determinado

campanhas 5 e 6 = aquisição dos dados nos modos SCAN/SIM

Tabela 32: Concentrações dos IE e PFHP obtidas para água potável – Continuação.

<i>Composto</i>	<i>ÁGUA TRATADA - Concentração Média (µg/L)</i>			
	<i>Ponto 3</i>	<i>Ponto 4</i>	<i>Ponto 5</i>	<i>Ponto 6</i>
Dietilftalato	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,03	0,13 ± 0,03	0,13 ± 0,09
Cafeína	3,4 ± 0,3	3,8 ± 0,1	3,4 ± 0,3	< 2,9
4-Nonilfenol	<1,5	<1,5	< 1,5	<1,5
Dibutilftalato	0,38 ± 0,03	0,38 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,40 ± 0,05
Androstano	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Diclofenaco	< 4,4	< 4,4	< 4,4	< 4,4
Bisfenol A	2,0 ± 0,3	2,4 ± 0,5	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,2
Estrona	< 3,3	< 3,3	< 3,3	< 3,3
Estradiol	2,3 ± 0,1	2,1 ± 0,3	2,6 ± 0,3	2,3 ± 0,1
Etinilestradiol	< 1,5	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,1	< 1,5
Levonorgestrel	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6
Progesterona	< 0,88	< 0,88	1,5 ± 0,5	1,2 ± 0,1
Benzo[a]pireno	< 1,9	< 1,9	< 1,9	< 1,9
Coprostanol	< 1,9	< 1,9	< 1,9	< 1,9
Colesterol	2,4 ± 0,5	2,7 ± 0,4	2,9 ± 0,5	2,8 ± 0,3
Colestanol	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6
Estigmasterol	< 1,7	< 1,7	< 1,7	< 1,7
<i>Composto</i>	<i>ÁGUA TRATADA - Concentração Média (µg/L)</i>			
	<i>Ponto 7</i>	<i>Ponto 8</i>	<i>Ponto 9</i>	
Dietilftalato	0,15 ± 0,01	0,14 ± 0,04	0,14 ± 0,02	0,23 ± 0,02
Cafeína	2,9 ± 0,2	2,94 ± 0,02	2,95 ± 0,01	3,55 ± 0,01
4-Nonilfenol	<1,5	<1,5	< 1,5	<1,5
Dibutilftalato	0,33 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,49 ± 0,04	1,75 ± 0,04
Androstano	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Diclofenaco	< 4,4	< 4,4	< 4,4	< 4,4
Bisfenol A	2,1 ± 0,3	2,8 ± 0,4	2,1 ± 0,2	3,6 ± 0,3
Estrona	< 3,3	< 3,3	< 3,3	< 3,3
Estradiol	2,2 ± 0,1	2,3 ± 0,4	2,3 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Etinilestradiol	< 1,5	< 1,5	< 1,5	1,7 ± 0,3
Levonorgestrel	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6
Progesterona	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,4	1,4 ± 0,1	1,4 ± 0,5
Benzo[a]pireno	< 1,9	< 1,9	< 1,9	< 1,9
Coprostanol	< 1,9	< 1,9	< 1,9	< 1,9
Colesterol	1,9 ± 0,1	2,0 ± 0,2	2,1 ± 0,2	2,6 ± 0,6
Colestanol	< 2,6	< 2,6	< 2,6	< 2,6
Estigmasterol	< 1,7	< 1,7	< 1,7	< 1,7

De acordo com os resultados apresentados, para as amostras de água tratada referente às campanhas 5 e 6, apenas cafeína, colesterol e dibutilftalato foram detectados. Os demais compostos monitorados apresentaram concentrações abaixo do LQ determinado pelo método.

Já para as amostras de água potável proveniente da rede de distribuição da SANASA, além da cafeína, colesterol e dibutilftalato, foram ainda quantificados, embora com concentrações bastante próximas aos *LQ* determinados, os compostos dietilftalato e bisfenol A, que juntamente com o dibutilftalato podem ser oriundos de materiais plásticos possivelmente empregados nas tubulações por onde a água tratada, durante a sua distribuição à população campineira, e ainda alguns hormônios femininos como o estradiol e progesterona, de origens naturais, e o etinilestradiol, amplamente empregado nos contraceptivos orais e pílulas para terapia de reposição hormonal.

Cafeína apresentou uma concentração média na água potável de 3,3 µg/L, sendo que este valor está bastante próximo dos obtidos para as águas superficiais provenientes do Rio Atibaia. Para o colesterol, a média obtida foi de 2,4 µg/L. Ambos os compostos e mais os hormônios sexuais detectados comprovam que os tratamentos que vêm sendo empregados nas ETE da RMC não estão sendo eficientes para a destruição destes interferentes endócrinos. Conseqüentemente, estes hormônios são transportados para as águas superficiais, através do lançamento do esgoto tratado, e chegam na água potável já que também são resistentes aos tratamentos empregados nas ETA.

As águas de todos os pontos monitorados apresentaram concentrações dos poluentes monitorados bastante próximas, exceto as águas coletadas no bairro Recanto do Sol II (ponto 10), localizado no extremo sul da cidade de Campinas, cujas concentrações obtidas para todos os compostos foram relativamente maiores. De fato, este foi o único ponto localizado intencionalmente na região de Campinas abastecida com água tratada proveniente do Rio Capivari. Este rio também se encontra em elevado estágio de degradação, chegando a apresentar trechos cuja qualidade das águas é muito pior em relação ao Atibaia (classe 4, como divulgado pela CETESB^[3]), de modo que a presença dos hormônios também nestas águas já era esperada.

De modo geral, os procedimentos analíticos empregados neste trabalho mostraram ser bastante efetivos para a identificação e quantificação dos compostos dietilftalato e dibutilftalato, cafeína, nonilfenol, androstano, bisfenol A, benzo[a]pireno, coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol, na análise de amostras ambientais como os esgotos domésticos (bruto e tratado), águas superficiais e água potável, e ainda para os fármacos não prescritos e hormônios sexuais na análise de esgoto doméstico.

Já para a análise dos hormônios sexuais e fármacos não prescritos nas águas superficial e potável, o procedimento adotado (SPE e quantificação por GC/MS) foi considerado satisfatório frente aos objetivos inicialmente propostos, mas não totalmente efetivo, principalmente para situações que envolvem a determinação de concentrações dos mesmos em intervalos mais restritos (ng/L), uma vez que os limites de detecção e quantificação alcançados para estas duas classes não foram tão baixos como os necessários. Assim sendo, deve-se buscar soluções para as limitações do procedimento aqui empregado, que pode incluir desde alterações nas técnicas de extração, o emprego de outros tipos de reagentes derivatizantes, ou uma maior concentração dos extratos antes da análise cromatográfica, para que se consiga aumentar a sua detectabilidade.

VI.5 – Considerações Finais

Enquanto nos EUA, Canadá, Japão, bem como em vários países europeus, a problemática envolvendo a presença dos interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal no meio ambiente vem sendo discutida e estudada há alguns anos, no Brasil ainda existe pouca informação a respeito, praticamente nenhum trabalho científico divulgado e, ao que tudo indica, um grande potencial para problemas futuros. Sendo assim, este trabalho buscou diagnosticar a situação dos recursos hídricos destinados ao abastecimento público da RMC, onde vivem cerca de 2,5 milhões de habitantes, avaliando-se a qualidade destas águas. Deste modo, ao final deste trabalho foi evidenciada a presença de vários interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal nas diferentes matrizes ambientais avaliadas: no esgoto bruto e tratado proveniente da ETE Samambaia, localizada na região leste de Campinas; nas águas superficiais de três importantes mananciais da RMC (Rio Atibaia, Ribeirão Anhumas e Ribeirão Pinheiros); e na água potável distribuída à população campineira, com mais de um milhão de habitantes. De modo simplificado, a Tabela 33 fornece os intervalos de concentração dos IE e PFHP determinados neste estudo, comparando-os com os obtidos em 1999 por Stumpf *et alii*^[100] e Ternes *et alii*^[101] (que trabalharam com amostras coletadas no Brasil), e ainda com os obtidos, nos últimos 10 anos, em estudos realizados nos EUA, Canadá e vários países europeus, especialmente Alemanha, Espanha, Itália e Suíça.

Tabela 33: Comparação entre as concentrações dos IE e PFHP obtidas neste estudo e as obtidas em estudos de outros países.

COMPOSTO	Conc. Esgoto Bruto (µg/L)		Conc. Esgoto Tratado (µg/L)		Conc. Água Bruta (µg/L)		Conc. Max. Água Potável (µg/L)	
	ESTE ESTUDO	OUTROS TRABALHOS	ESTE ESTUDO	OUTROS TRABALHOS	ESTE ESTUDO	OUTROS TRABALHOS	ESTE ESTUDO	OUTROS TRABALHOS
Ibuprofeno	54,2	0,400 (BRA ^[100])	48,4	0,10 – 0,30 (BRA ^[100]) < 0,0026 (EUA ^[128]) < 0,042 (EUA ^[141]) 0,005 – 1,5 (SUI ^[118]) 0,37 / 3,4 (ALE ^[30])	nd	< 0,010 (BRA ^[100]) < 0,0026 (EUA ^[128]) 0,038 (EUA ^[129]) 0,20 / 1,0 (EUA ^[122]) < 0,0045 / 0,08 (SUI ^[118]) 0,07 / 0,53 (ALE ^[30])	nd	< 0,0026 (EUA ^[128]) < 0,013 (CAN ^[128])
Paracetamol	18,1		5,9	0,006 / 1,06 (EUA ^[141]) < 0,50 / 6,0 (ALE ^[30])	nd	0,036 / 1,78 (EUA ^[141]) 0,11 / 10 (EUA ^[122]) < 0,50 (ALE ^[30])	nd	
Dietilftalato	---	< 0,01 – 16,2 (ESP ^[145])	---	< 0,01 – 13,3 (ESP ^[145]) 0,71 (EUA ^[141])	0,22 – 3,2	0,15 / 9,77 (ESP ^[145]) 0,42 (EUA ^[122]) 0,03 / 35,6 (AFR ^[120])	0,13 – 0,23	
Pentaclorofenol	8,2	0,020 (EUA ^[96])	nd	0,072 (EUA ^[141])	nd	0,033 (EUA ^[141])	nd	
Cafeína	294	11,4 (AUS ^[121])	1,3	15,2 (AUS ^[121]) 0,053 / 7,99 (EUA ^[141])	1,1 – 106	0,098 / 0,15 (ALE ^[136]) 0,041 / 2,6 (EUA ^[141]) 0,1 / 6,0 (EUA ^[122])	0,4 – 3,8	
4-Nonilfenol	1,9	< 0,07 – 17,5 (ESP ^[145]) 25 – 33 (EUA ^[96])	1,4	0,33 – 2,07 (ESP ^[145]) 16 (EUA ^[96]) < 5,0 / 22 (EUA ^[141]) 0,199 (ALE ^[111])	nd	0,10 / 1,32 (ESP ^[145]) 0,8 / 40 (EUA ^[122]) 0,032 (ALE ^[111])	nd	0,016 (ALE ^[111])
Dibutilftalato	12,4	< 0,03 (ESP ^[145])	1,4	< 0,03 – 2,78 (ESP ^[145]) 10,4 (ALE ^[37])	0,39 – 2,4	0,29 / 2,39 (ESP ^[145]) 8,8 (ALE ^[37]) 0,04 / 75,6 (AFR ^[120])	0,33 – 1,75	
Diclofenaco	2,9	0,800 (BRA ^[100])	1,8	0,015 (BRA ^[100]) 0,100 – 0,700 (SUI ^[118]) 0,81 / 2,1 (ALE ^[30])	2,0 – 6,0	0,060 (BRA ^[100]) 0,020 – 0,150 (SUI ^[118]) 0,15 / 1,2 (ALE ^[30]) 0,031 / 0,067 (ALE ^[136])	nd	

nd = não detectado

BRA = Brasil ALE = Alemanha CAN = Canadá EUA = Estados Unidos AUS = Austrália ESP = Espanha SUI = Suíça AFR = África do Sul ITA = Itália

Tabela 33: Comparação entre as concentrações dos IE e PFHP obtidas neste estudo e as obtidas em estudos de outros países – Continuação.

COMPOSTO	Conc. Esgoto Bruto ($\mu\text{g/L}$)		Conc. Esgoto Tratado ($\mu\text{g/L}$)		Conc. Água Bruta ($\mu\text{g/L}$)		Conc. Max. Água Potável ($\mu\text{g/L}$)	
	ESTE ESTUDO	OUTROS TRABALHOS	ESTE ESTUDO	OUTROS TRABALHOS	ESTE ESTUDO	OUTROS TRABALHOS	ESTE ESTUDO	OUTROS TRABALHOS
Bisfenol A	8,7	0,094 – 0,15 (EUA ^[96]) < 0,05 – 1,51 (ESP ^[145])	8,0	0,020 – 0,055 (EUA ^[96]) < 0,0001 (EUA ^[128]) 0,120 / 0,310 (EUA ^[141]) < 0,05 – 0,27 (ESP ^[145]) 0,702 (ALE ^[37]) 0,016 (ALE ^[111])	2,2 – 64,2	< 0,0001 (EUA ^[128]) 0,300 (EUA ^[141]) 0,113 (EUA ^[129]) 0,14 / 12 (EUA ^[122]) < 0,05 (ESP ^[145]) 0,065 – 0,295 (ESP ^[130]) 0,410 (ALE ^[37]) 0,0047 (ALE ^[111])	2,0 – 3,6	< 0,0001 (EUA ^[128]) < 0,0001 (CAN ^[128]) 0,005 (ESP ^[130]) 0,0020 (ALE ^[111])
Estrona	4,8	0,027 (ALE ^[101]) 0,040 (BRA ^[101]) 0,025 – 0,132 (ITA ^[107])	4,1	< 0,003 (EUA ^[128]) 0,009 (ALE ^[101]) 0,0034 (ALE ^[111]) 0,003 (CAN ^[101]) 0,0821 (ITA ^[107])	3,5 – 5,0	< 0,003 (EUA ^[128]) 0,0016 (ALE ^[101]) 0,0041 (ALE ^[111]) 0,112 (EUA ^[122]) 0,004 – 0,022 (ESP ^[130])	nd	< 0,003 (EUA ^[128]) 0,0006 (ALE ^[111]) < 0,003 (CAN ^[128])
Estradiol	6,7	0,021 (BRA ^[101]) 0,015 (ALE ^[101]) 0,004 – 0,025 (ITA ^[107])	5,6	< 0,0001 (EUA ^[128]) 0,006 (CAN ^[101]) < 0,001 (ALE ^[101]) 0,0009 (ALE ^[111]) 0,0035 (ITA ^[107])	1,9 – 6,0	< 0,0001 (EUA ^[128]) < 0,0001 (EUA ^[129]) 0,2 (EUA ^[122]) 0,0036 (ALE ^[111])	2,1 – 2,6	< 0,0001 (EUA ^[128]) < 0,0001 (CAN ^[128]) 0,0021 (ALE ^[111])
Etinilestradiol	5,8	0,0004 – 0,013 (ITA ^[107])	5,0	0,0017 (ITA ^[107]) 0,0014 (ALE ^[111]) 0,009 (CAN ^[101]) 0,001 (ALE ^[101])	1,2 – 3,5	0,0051 (ALE ^[111]) 0,831 (EUA ^[122])	1,6 – 1,9	0,0005 (ALE ^[111])
Progesterona	3,6		2,9		1,4 – 4,2	0,199 (EUA ^[122])	1,1 – 1,5	
Benzo[a]pireno	1,1		nd	0,084 (EUA ^[141])	nd	0,24 (EUA ^[122])	nd	
Coprostanol	212		66,5	1,3 / 5,9 (EUA ^[141])	5,2 – 40,9	0,175 / 5,6 (EUA ^[141]) 9,8 / 150 (EUA ^[122])	nd	
Colesterol	513		76,4	2,0 / 8,7 (EUA ^[141])	8,8 – 301	0,785 / 8,0 (EUA ^[141]) 10 / 60 (EUA ^[122])	1,9 – 2,9	
Colestanol	32,7		25,8		2,2 – 46,0		nd	
Estigmasterol	309		1958		5,7 – 85,5		nd	

No entanto, a simples constatação da presença de um determinado interferente endócrino no meio ambiente não significa, necessariamente, que existe um risco a ele associado, uma vez que esta informação não tem significado algum sem que antes seja avaliada a sua atividade estrogênica. Para isso deve-se recorrer aos ensaios biológicos, com destaque para os imunoenaios (do tipo *in vitro* e/ou *in vivo*), cujo princípio é a produção de anticorpos e/ou receptores que se liguem especificamente a compostos que apresentam atividade estrogênica^[19,75,76,174,175].

Os bioensaios *in vitro* são necessários para a identificação de novos interferentes endócrinos e para elucidar seus mecanismos de funcionamento. Estes ensaios utilizam linhas celulares de mamíferos ou leveduras que, por sua vez, possuem um gene de “informação” e um elemento de resposta hormonal. Em geral, ensaios *in vitro* são bastante sensíveis e altamente específicos. Entretanto, existe uma limitação quanto a extrapolar o resultado para seres vivos, bem como a possibilidade de “falsos negativos” devido à complexidade dos eventos que envolvem o teste. Deste modo, os bioensaios *in vivo* complementam as informações dos bioensaios *in vitro*, por serem mais abrangentes quanto à resposta obtida e mais confiáveis ou precisos que os primeiros^[19,75,76,174,175].

Dentre os ensaios *in vivo* existentes, tem-se o ensaio uterotrófico de 3 dias e o ensaio de Hershberger de 5-7 dias, ambos feitos com ratos e que permitem avaliar, respectivamente, a atividade anti-estrogênica e a atividade anti-androgênica de vários compostos químicos; também o ensaio de reprodução de peixes, usado para testar agentes estrogênicos e androgênicos, examinando-se as anormalidades relacionadas ao sistema endócrino de peixes adultos, maduros e ativos que foram expostos a possíveis IE, durante 21 dias^[75,76].

A detecção de precursores de vitelogenina (VTG), uma lipoproteína produzida no fígado de espécies ovíparas (normalmente em fêmeas adultas), é um dos ensaios *in vivo* mais empregados. Neste caso, a evidência da atividade estrogênica está relacionada com a detecção, no plasma sanguíneo de peixes machos, de concentrações anormais da vitelogenina após exposição a possíveis IE. A determinação também pode ser acompanhada do teste com kit ELISA, constituindo, deste modo, um biomarcador bastante recomendado por vários pesquisadores na identificação dos IE^[57,75-80].

Pesquisas envolvendo ensaios *in vivo* e *in vitro* realizados para uma mesma amostra mostraram que, a análise *in vitro* pode subestimar o potencial de um determinado IE existente na amostra^[81,82]. Embora o ensaio *in vivo* não possibilite a identificação inequívoca do IE, são considerados mais rápidos, sensíveis, específicos, de baixo custo e ainda apresentam limites de detecção relativamente baixos, da ordem de 0,1 ppb^[76]. Portanto, as estratégias de monitoramento e avaliação toxicológica dos IE devem ser baseadas na combinação de estudos de curto prazo que incluem a identificação da atividade estrogênica *in vitro*, e estudos de longo prazo que incluem a identificação da atividade estrogênica e dos efeitos da mesma, *in vivo*, podendo-se, deste modo, avaliar o potencial de risco humano. Assim sendo, ambos os ensaios são recomendados durante a análise toxicológica^[77,81].

Para muitos compostos químicos sintéticos, como os pesticidas, os efeitos produzidos a partir de suas atividades no sistema endócrino (estrogênica, androgênica, anti-estrogênica e/ou anti-androgênica), observados em ensaios *in vitro*, apresentam ordens de magnitude menores quando comparados aos hormônios endógenos como o estradiol, conforme relatado por alguns pesquisadores^[16,19,20]. Entretanto, a presença dos interferentes endócrinos no meio ambiente jamais deve ser ignorada pois, embora pareçam ser menos potentes que os hormônios endógenos, muitos deles (especialmente os POP) são persistentes, acumulando-se nos vários compartimentos ambientais, principalmente biota, sendo posteriormente detectados nas águas, nos sedimentos, no material particulado rico em matéria orgânica, mesmo após terem deixado de ser produzidos industrialmente há várias décadas^[16].

Os interferentes endócrinos apresentam ainda uma variedade de rotas de exposição no meio ambiente, dependendo basicamente das suas propriedades físico-químicas inerentes, das condições externas em que são utilizados, das condições ambientais como temperatura, radiação UV e conteúdo microbiológico, dentre outros fatores^[16].

VII – CONCLUSÕES



VII – CONCLUSÕES

O presente trabalho avaliou a qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na Região Metropolitana de Campinas, através da determinação dos produtos farmacêuticos e de higiene pessoal e dos interferentes endócrinos, e mostrou que o lançamento dos esgotos domésticos nas águas da sub-Bacia do Atibaia, com ou sem tratamento prévio, vêm afetando significativamente a qualidade destas águas, com reflexos sobre a manutenção das condições ideais para a sobrevivência dos organismos aquáticos, bem como sobre a saúde humana. Compostos tipicamente encontrados nos esgotos domésticos, como a cafeína e os esteróides fecais foram identificados e quantificados nas águas superficiais da sub-Bacia do Atibaia. Os altos teores encontrados nestas águas, em relação aos obtidos nos estudos desenvolvidos em outros países, especialmente para cafeína e coprostanol, indicaram que a mesma encontra-se em acelerado processo de degradação. Para a atenuação deste quadro de deterioração observado, fica notória a necessidade de investimentos urgentes que contemplem a coleta e o tratamento dos esgotos gerados na RMC.

Hormônios sexuais naturais e sintéticos, potentes interferentes endócrinos, também estiveram presentes nas águas superficiais desta sub-bacia, e ainda na água potável distribuída à população campineira, em concentrações próximas às encontradas no organismo. Todavia, a simples presença de um determinado IE no meio ambiente não significa, necessariamente, que existe um risco a ele associado. Testes usualmente empregados para a determinação da toxicidade aguda de um dado IE tampouco são satisfatórios para a determinação da atividade endócrina do mesmo. Portanto, além do monitoramento das concentrações dos IE e PFHP presentes no meio ambiente, para se avaliar os riscos da exposição de organismos aquáticos a estas substâncias deve-se compreender também os mecanismos de degradação que as envolvem. Para isso, deve-se recorrer aos ensaios biológicos do tipo *in vitro* e/ou *in vivo*.

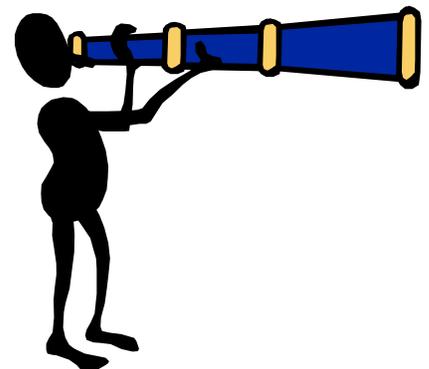
De modo geral, os procedimentos analíticos empregados neste trabalho mostraram ser efetivos para a identificação e quantificação dos compostos dietilftalato e dibutilftalato, cafeína, nonilfenol, androstano, bisfenol A, benzo[a]pireno, coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol, na análise de amostras ambientais como os esgotos domésticos (bruto e tratado), águas superficiais e água potável, e satisfatórios frente aos objetivos inicialmente propostos, para a análise dos hormônios sexuais e fármacos não prescritos presentes nas águas superficiais e potável.

Com relação às extrações empregadas, extração líquido-líquido com diclorometano mostrou ser a mais eficiente para a análise quantitativa da maioria dos IE e PFHP monitorados, com base nos valores de recuperação obtidos, enquanto a extração em fase sólida empregando cartuchos Oasis[®]HLB foi considerada a técnica mais indicada para a análise dos hormônios sexuais (estrogênios e progesterona). Dentre todos os compostos monitorados, cafeína, dietilftalto, dibutilftalato, bisfenol A, colesterol, coprostanol, estradiol, etinilestradiol e progesterona foram os compostos freqüentemente detectados nas amostras avaliadas (esgoto doméstico, águas superficiais e água potável).

Com relação aos processos geralmente empregados nas ETE existentes na RMC, em particular os que contemplam os tratamentos preliminar e biológico, ficou comprovada a ineficiência deste tipo de tratamento empregado na remoção de alguns IE e PFHP, como para o fármaco ibuprofeno, o fungicida e plastificante bisfenol A, o surfactante 4-nonilfenol, e os hormônios sexuais estrona, estradiol, etinilestradiol e progesterona, uma vez que o esgoto tratado apresentou concentrações consideráveis destes compostos.

É importante mencionar que, embora a problemática envolvendo a presença dos IE e PFHP nas águas superficiais e potáveis seja de grande relevância, principalmente frente aos estudos de toxicidade crônica já realizados e que comprovam que parte dos compostos listados podem causar efeitos deletérios à saúde humana e ao meio ambiente, no Brasil as ações voltadas ao saneamento básico ainda fazem parte dos serviços considerados essenciais, como os que envolvem a solução de problemas relacionados à patogenicidade das águas (água como vetor de doenças tais como cólera, dengue, febre amarela, leptospirose, esquistossomose e outras verminoses). Isto significa continuar priorizando a minimização dos riscos relacionados à presença dos microrganismos nas águas, enfatizando-se os processos de desinfecção aos de remoção de poluentes químicos.

VIII – PERSPECTIVAS FUTURAS



VIII – PERSPECTIVAS FUTURAS

Considerando-se este trabalho como um dos estudos pioneiros realizados no Brasil, uma vez que até o momento nenhum trabalho realizado exclusivamente por cientistas brasileiros foi publicado relatando não apenas a problemática da ocorrência dos IE e PFHP no meio ambiente, como também apresentando as concentrações obtidas para os mesmos, vários novos estudos podem ser realizados como uma continuidade ou ainda como um aprimoramento deste.

Nos tópicos a seguir são apresentadas algumas sugestões para novos trabalhos, envolvendo a problemática dos IE e PFHP no meio ambiente e sua ocorrência em algumas matrizes ambientais.

- Aprimoramento dos procedimentos analíticos empregados neste trabalho objetivando alcançar limites de detecção ainda menores: avaliação do emprego da cromatografia líquida de alta eficiência - HPLC e da seletividade dos detectores comumente utilizados para a quantificação dos compostos monitorados; desenvolvimento de novos métodos de extração empregando, por exemplo, SPME ou extração líquido-líquido contínua, ou ainda extração em fase sólida em condições diferentes das aqui empregadas (isto irá depender das propriedades físico-químicas dos compostos de interesse); avaliação de uma etapa de derivatização dos compostos empregando-se reagentes diferentes do testado neste trabalho para a quantificação por GC/MS; e até mesmo o emprego de LC/MS e/ou LC/MS/MS se a infra-estrutura do laboratório assim permitir.
- Realização de estudos ecotoxicológicos para os compostos monitorados que estiveram presentes nas águas superficiais avaliadas e na água potável, bem como a realização de testes ecotoxicológicos com organismos aquáticos ou outros tipos de organismos-teste que sejam capazes de detectar os efeitos de interferência endócrina;

- Elaboração de estudos que avaliem o comportamento destes poluentes no meio ambiente, em condições variadas, como por exemplo o efeito dos mesmos na pecuária, podendo acarretar prejuízos decorrentes de problemas de infertilidade ou perda do interesse sexual entre as espécies de animais;
- Determinação de outros compostos presentes nas águas superficiais da RMC e que não foram contemplados neste trabalho, tais como os antibióticos, retardantes de chama e vários outros fármacos e produtos empregados em cosmética, bem como alguns herbicidas listados como IE e que não são contemplados nas legislações ambientais;
- Verificação da presença destes compostos também em alimentos industrializados, já que muitos dos IE produzidos industrialmente são empregados na fabricação de alimentos (corantes artificiais, antioxidantes, etc) ou ainda podem estar presentes nas embalagens, podendo ocorrer a migração dos mesmos para o alimento. Também pode ser incluída neste tópico a avaliação da ocorrência de ftalatos nas águas minerais comercializadas, já que são geralmente armazenadas em galões plásticos;
- Avaliação de processos não convencionais para o tratamento de água contendo os IE e PFHP, que poderiam ser futuramente combinados aos processos convencionais já em operação nas ETA para aumentar a eficiência na remoção dos mesmos (testes envolvendo processos que empregam carvão ativado, lodo ativado, osmose reversa, ozonização, nanofiltração, processos oxidativos avançados, dentre outros);

IX – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS



IX – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.CETESB: http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios_informacoes.htm, acessada em 01/2002.
- 2.Bechara, E.J.H. (1992). O Homem e o Meio Ambiente. *Quim. Nova* 15 (2), 117.
- 3.CETESB (2006). Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2005. Série Relatórios, São Paulo.
- 4.CETESB; Secretaria do Meio Ambiente (1999), Relatório Técnico Preliminar sobre a Bacia do Rio Atibaia, Projeto Watershed 2000 – Gestão Ambiental dos Recursos Hídricos no Estado de São Paulo.
- 5.Por Dentro da Região Metropolitana de Campinas (2002). [CD-ROM], Emplasa, São Paulo.
- 6.Cano, W.; Brandão, C.A. (2002). A Região Metropolitana de Campinas: Urbanização, Economia, Finanças e Meio Ambiente. Volumes 1 e 2. Editora da Unicamp, Campinas-SP.
- 7.NÚCLEO DE ESTUDOS DE POPULAÇÃO – UNICAMP. Água: Abundância e Escassez, série de reportagens divulgadas em: <http://www.comciencia.br>, acessada em 01/2002.
- 8.CBH-PCJ: <http://www.comitepcj.sp.gov.br>, acessada em 05/2006.
- 9.CBH-PCJ (2000). Situação dos Recursos Hídricos das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá – UGRHI 5. *Relatório Técnico Final* (Relatório Zero), FEHIDRO
- 10.CBH-PCJ (2004). Relatório de Situação dos Recursos Hídricos das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiá – 2002/2003. *Relatório Final* (Relatório Um). Volumes 1-4. IRRIGART, São Paulo
- 11.CBH-PCJ (2001). Plano de Bacia Hidrográfica 2000-2003. *Relatório Técnico Final - Fase 3*. Contrato Consórcio número 015/99, FEHIDRO.
- 12.CRH (2004). Plano Estadual dos Recursos Hídricos 2004/2007. *Relatório 1* (Síntese dos Planos de Bacia), Conselho Estadual de Recursos Hídricos, São Paulo.
- 13.SANASA: <http://www.sanasa.com.br/atualidade.htm>, acessada em 04/2006.
- 14.IBGE: <http://www.ibge.gov.br>, acessada em 05/2006.
- 15.Masters, B.(2001). Emerging Contaminants – Drugs on Tap. *Water & Wastewater International* 16 (4), 11-12.
- 16.Ghiselli, G.; Jardim, W.F. (2007). Interferentes Endócrinos no Ambiente. *Quim. Nova*, in press.

17. Bila, D.M.; Dezotti, M. (2003). Fármacos no Meio Ambiente. *Quim. Nova* 26 (4), 523-530.
18. Reis Filho, R.W.; Araújo, J.C.; Vieira, E.M. (2006). Hormônios Sexuais Estrógenos: Contaminantes Bioativos. *Quim. Nova* 29 (4), 817-822.
19. Birkett, J.W.; Lester, J.N. (2003). Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes, 1^a ed., IWA Publishing, Lewis Publishers CRC Press LLC: USA.
20. Lintelmann, J.; Katayama, A. Kurihara, N.; Shore, L.; Wenzel, A. (2003). Endocrine Disruptors in the Environment – IUPAC Technical Report. *Pure Appl. Chem.* 75 (5), 631-681.
21. HP: <http://www.ourstolenfuture.org>, acessada em janeiro de 2002.
22. Hoffman, D.J.; Rattner, B.A.; Burton Jr., G.A.; Cairns Jr., J. (2003). *Handbook of Ecotoxicology*, 2^a ed., Lewis Publishers CRC Press LLC: USA, section V, cap. 39.
23. Scott, M.J.; Jones, M.N. (2000). The biodegradation of Surfactantes in the Environment. *Biochem. Biophys Acta* 1508, 235-251.
24. Lee, H.B.; Liu, D. (2002). Degradation of 17 β -Estradiol and its Metabolites by Sewage Bacteria. *Water, Air and Soil Pollution* 134, 353-368.
25. USEPA, <http://www.epa.gov> e <http://www.epa.gov/opptintr/opptindo/finalrept/htm>, acessada em abril 2005.
26. Halling-Sørensen, B.; Nielsen, S.N.; Lanzky, P.F.; Ingerslev, F.; Holten Lützhøft, H.C.; Jørgensen, S.E. (1998). Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment – A Review. *Chemosphere* 36 (2), 357-393.
27. Kümmerer, K. (2001). Drugs in the Environment: Emission of Drugs, Diagnostic Aids and Disinfectants into Wastewater by Hospitals in Relation to other Sources – A Review. *Chemosphere* 45, 957-969.
28. Drewes, J.E.; Heberer, T.; Reddersen, K. (2001). Removal of Pharmaceuticals during Conventional Wastewater Treatment, Advanced Membrane Treatment and Soil-Aquifer Treatment. *Proceedings of the 2nd International Conference on Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Chemicals in Water*. Minnesota, October, 9-11.
29. Hirsch, R.; Ternes, T.; Haberer, K.; Kratz, K.L. (1999). Occurrence of Antibiotics in the Aquatic Environment. *Sci. Total Environ.* 225, 109-118.
30. Ternes, T.A. (1998). Occurrence of Drugs in German Sewage Treatment Plants and Rivers. *Water Res.* 32 (11), 3245-3260.
31. Stan, H.J.; Heberer, T. (1997). Pharmaceuticals in the Aquatic Environment. *Analisis Magazine*, 25 (7), 20-23.
32. Daughton, C.G. (2001). Emerging Pollutants, and Communicating the Science of Environmental Chemistry and Mass Spectrometry: Pharmaceuticals in the Environment. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 12, 1067-1076.
33. Daughton, C.G.; Ternes, T.A. (1999). Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? *Environ. Health Perspectives* 107 (6), 907-944.

34. Daughton, C.G. (2004). Non-regulated Water Contaminants: Emerging Research. *Environ. Impact Assessment Review* 24, 711-732.
35. Daughton, C.G; Jones-Lepp, T.L., eds. (2001). "Pharmaceuticals in the Environment: Overarching Issues and Overview", in *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and Regulatory Issues*. Symposium Series 791; *American Chem. Soc.*, 2-38.
36. Jones, O.A.H; Voulvoulis, N.; Lester, J.N. (2002). Aquatic Environmental Assessment of the Top 25 English Prescription Pharmaceuticals. *Water Res.* 36, 5013-5022.
37. Fromme, H.; Kuchler, T.; Otto, T.; Pilz, K.; Müller, J.; Wenzel, A. (2002). Occurrence of Phthalates and Bisphenol A and F in the Environment. *Water Res.* 36, 1429-1438.
38. Mastrup, M.; Schäfer, A.I.; Khan, S.J. (2005). Predicting Fate of the Contraceptive Pill in Wastewater Treatment and Discharge. *Water Sci. Technol.* 52 (8), 279-286.
39. Nghiem, L.D.; McCutcheon, J.; Elimelech, M. (2004). The Role of Endocrine Disrupters in the Water Recycling: Risk or Mania? *Water Sci. Technol.* 50 (2), 215-220.
40. Hanselman, T.A.; Graetz, D.A.; Wilkie, A.C. (2003). Manure-Borne Estrogens as Potential Environmental Contaminants: A Review. *Environ. Sci. Technol.* 37 (24), 5471-5478.
41. Bound, J.P.; Voulvoulis, N. (2005). Household Disposal of Pharmaceuticals as a Pathway for Aquatic Contamination in the United Kingdom. *Environ. Health Perspectives* 113 (12), 1705-1711.
42. Gurr, C.J.; Reinhard, M. (2006). Harnessing Natural Attenuation of Pharmaceuticals and Hormones in Rivers. *Environmental News. Environ. Sci. Technol.* May, 2873-2876.
43. Rule, K.L.; Comber, S.D.W.; Ross, D.; Thornton, A.; Makropoulos, C.K.; Rautiu, R. (2006). Sources of Priority Substances entering an Urban Wastewater Catchment – Trace Organic Chemicals. *Chemosphere* 63, 581-591.
44. Wensing, M.; Uhde, E.; Salthammer, T. (2005). Plastics Additives in the Indoor Environment – Flame Retardants and Plasticizers. *Sci Total Environ.* 339, 19-40.
45. Slack, R.J.; Gronow, J.R.; Voulvoulis, N. (2005). Household Hazardous Waste in Municipal Landfills: Contaminants in Leachate. *Sci Total Environ.* 337, 119-137.
46. Ying, G-G.; Kookana, Rai S.; Ru, Y-J. (2002). Occurrence and Fate of Hormones Steroids in the Environment. *Environ. Intern.* 28, 545-551.
47. Weeb, S.; Ternes, T.; Gibert, M.; Olejniczak, K. (2003). Indirect Human Exposure to Pharmaceuticals via Drinking Water. *Toxicol. Letters* 142, 157-167.
48. Latini, G. (2005). Monitoring Phthalate Exposure in Humans. *Clinica Chim. Acta* 361, 20-29.
49. McCann, B. (2002). Endocrine Enquiry. *Water 21*, Magazine of the IWA, October, 45-46.
50. McCann, B. (2004). Disruptive Influences. *Water 21*, Magazine of the IWA, April, 20-22.
51. Duguet, J-P.; Bruchet, A.; Mallevalle, J. (2004). Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Water Cycle. *Yearbook 2004*, IWA 41-46.

52. Guenther, K.; Heinke, V.; Thiele, B.; Kleist, E.; Prast, H.; Raecker, T. (2002). Endocrine Disrupting Nonylphenols are Ubiquitous in Food. *Environ. Sci. Technol.* 36 (8), 1676-1680.
53. Comissão das Comunidades Europeias (1999). Comunicação da Comissão ao Conselho e ao Parlamento Europeu: *Estratégia Comunitária em Matéria de Desreguladores Endócrinos*, Relatório Final COM 706, obtido na internet em outubro de 2001.
54. Barra, R.; Colombo, J.C.; Eguren, G.; Gamboa, N.; Jardim, W.F.; Mendoza, G. (2005). Persistent Organic Pollutants (POPs) in Eastern and Western South American Countries. *Environ. Contam. Toxicol.*, 185, 1-33.
55. UNEP Chemicals; *Global Report 2003*; UNEP Chemicals; *Eastern and Western South America Regional Report 2002*, disponíveis em <http://www.chem.unep.ch/pts>.
56. Bevan, C.L.; Prasad, A.; Henderson, L.P. (2000). The Effects of Endocrine Disrupting Compounds on the Development of the Nervous System: Use of Frog, *Xenopus laevis*, as a Model System, obtido pela Internet em outubro de 2001.
57. Hansen, P-D.; Dizer, H.; Hock, B.; Marx, A.; Sherry, J.; McMaster, M.; Blaise, Ch. (1998). Vitellogenin – A Biomarker for Endocrine Disruptors. *Trends Anal. Chem.* 17 (7), 448-451.
58. Ankley, G.; Mihaich, E.; Stahl, R.; Tillitt, D.; Colborn, T.; McMaster, S.; Miller, R.; Bantle, J.; Campbell, P. *et alli* (1998). Overview of a Workshop on Screening Methods for Detecting Potential (Anti-)Estrogenic/Androgenic Chemicals in Wildlife. *Environ. Toxicol. Chem.* 17 (1), 68-87.
59. Routledge, E.J.; Sheahan, D.; Desbrow, C.; Brighty, G.C.; Waldock, M.; Sumpter, J.P. (1998). Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 2. In Vivo Responses in Trout and Roach. *Environ. Sci. Technol.* 32 (11), 1559-1565.
60. Jobling, S.; Nolan, M.; Tyler, C.R.; Brighty, G.C.; Sumpter, J.P. (1998). Widespread Sexual Disruption in Wild Fish. *Environ. Sci. Technol.* 32 (17), 2498-2506.
61. Kavlock, R.J. (1999). Overview of Endocrine Disruptor Research Activity in the United States. *Chemosphere* 39 (8), 1227-1236.
62. Mantovani, A.; Stazi, A.V.; Macri, C.; Maranghi, F.; Ricciardi, C. (1999). Problems in Testing and Risk Assessment of Endocrine Disrupting Chemicals with Regard to Developmental Toxicology. *Chemosphere* 39 (8), 1293-1300.
63. Lutz, I.; Kloas, W. (1999). Amphibians as a Model to Study Endocrine Disruptors: I. Environmental Pollution and Estrogen Receptor Binding. *Sci. Total Environ.* 225, 49-57.
64. Bøgh, L.B.; Christensen, P.; Dantzer, V.; Groot M., Thøfner, I.C.N.; Rasmussen, R.K.; Schmidt; Greve, T. (2001). Endocrine Disrupting compounds: Effect of Octylphenol on Reproduction over Three Generations. *Theriogen.* 55, 131-150.
65. Takagi, H.; Mitsumori, K.; Onodera, H.; Nasu, M.; Tamura, T.; Yasuhara, K.; Takegawa, K.; Hirose, M. (2002). Improvement of a Two-stage Carcinogenesis Model to Detect Modifying Effects of Endocrine Disrupting Chemicals on Thyroid Carcinogenesis in Rats. *Cancer Letters* 178, 1-9.

66. Kashiwada, S.; Ishikawa, H.; Miyamoto, N.; Ohnishi, Y.; Magara, Y. (2002). Fish Test for Endocrine-Disruption and Estimation of Water Quality of Japanese Rivers. *Water Res.* 36, 2161-2166.
67. A-Mondragon, F.; Iranpour, R.; Ahring, B.K. (2003). Toxicity of Di-(2-ethylhexyl)phtalate on the Anaerobic Digestion of Wastewater Sludge. *Water Res.* 37, 1260-1269.
68. Stoker, C.; Rey, F.; Rodriguez, H.; Ramos, J.G.; Sirosky, P.; Larriera, A.; Luque, E.H.; Muñoz-de-Toro, M. (2003). Sex Effects on *Caiman latirostris* Exposed to Environmentally Relevant Doses of the Xenoestrogen Bisphenol A. *Gen. Comp. Endocrinol.* 133, 287-296.
69. Mills, L.J.; Chichester, C. (2005). Review of Evidence: Are Endocrine-Disrupting Chemicals in the Aquatic Environment Impacting Fish Populations? *Sci. Total Environ.* 343, 1-34.
70. Wang, H.Y.; Olmstead, A.W.; Li, H.; LeBlanc, G.A. (2005). The Screening of Chemicals for Juvenoid-related Endocrine Activity using the Water Flea *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicol.* 74, 193-204.
71. Hewitt, L.M.; Marvin, C.H. (2005). Analytical Methods in Environmental Effects-Directed Investigations of Effluents. *Mutation Res.* 589, 208-232.
72. Carlsson, C.; Johansson, A.-K.; Alvan, G.; Bergman, K.; Kühler, T. (2006). Are Pharmaceuticals Potent Environmental Pollutants? Part I: Environmental Risk Assessments of Selected Active Pharmaceutical Ingredients. *Sci. Total Environ.* 364, 67-87.
73. Environmental News (2006). Dead Zones might Masculinize Fish. *Environ. Sci. Technol.* May 1, 2862-2869.
74. Larsson, D.G.J.; Adolfsson-Erici, M.; Parkkonen, J.; Pettersson, M.; Berg, A.H.; Olsson, P.-E.; Förlin, L. (1999). Ethinyloestradiol – An Undesired Fish Contraceptive? *Aquatic Toxicol.* 45, 91-97.
75. Eertmans, F.; Dhooge, W.; Stuyvaert, S.; Comhaire, F. (2003). Endocrine Disruptors: Effects on Male Fertility and Screening Tools for their Assessment. *Toxicol. in Vitro* 17, 515-524.
76. Nogueira, J.M.F. (2003). Desreguladores Endócrinos - Efeitos Adversos e Estratégias para Monitorização dos Sistemas Aquáticos. *Boletim da Sociedade Portuguesa de Química* 88, 65-71.
77. Shilling, A.D.; Williams, D.E. (2000). Determining Relative Estrogenicity by Quantifying Vitellogenin Induction in Rainbow Trout Liver Slices. *Toxicol. Applied Pharmacol.* 164, 330-335.
78. Allner, B.; Hennies, M.; Sauerwein, H.; Wiesmann, M. (2003). Vitellogenin in Carp (*Cyprinus carpio*) and Perch (*Perca fluviatilis*): Purification, Characterization and Development of an ELISA for the Detection of Estrogenic Effects. *Sci Total Environ.* 309, 93-103.
79. Hahn T.; Schenk K.; Schulz, R. (2002). Environmental Chemicals with Known Endocrine Potential Affect Yolk Protein Content in the Aquatic Insect *Chironomus riparius*. *Environ. Pollution* 120, 525-528.

80. Marin, M.G.; Matozzo, V. (2004). Can 4-Nonylphenol Induce Vitellogenin-Like Proteins in the Clam *Tapes philippinarum*? *Environ. Res.* 97, 43-49.
81. Van Den Belt, K.; Berckmans, P.; Vangenechten, C.; Verheyen, R.; Witter, H. (2004). Comparative Study on the *In Vitro/In Vivo* Estrogenic Potencies of 17 β -Estradiol, Estrone, 17 α -Ethinylestradiol and Nonylphenol. *Aquatic Toxicol.* 66, 183–195.
82. Greim, H.Z. (2004). The Endocrine and Reproductive System: Adverse Effects of Hormonally Actives Substances. *Pediatrics* 113 (4), 1070-1075.
83. Jones-Lepp, T.; Gerlach, C.L.; Cooter, E.J. (2000). The Power of Analytical Methods for Measuring Suspected Endocrine Disrupting Compounds: a Pilot Field Study. *Trends in Anal. Chem.* 19 (5), 286-291.
84. Reemtsma, T. (2001). The Use of Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Ionization-Mass Spectrometry in Water Analysis – Part I: Achievements. *Trends in Anal. Chem.* 20 (9), 500-517.
85. Shimada, K.; Mitamura, K.; Higashi, T. (2001). Gas Chromatography and High Performance Liquid Chromatography of Natural Steroids. Review. *J. Chromatogr. A* 935, 141-172.
86. de Alda, M.J.L.; Barceló, D. (2001). Review of Analytical Methods for the Determination of Estrogens and Progestrogens in Wastewaters. *Fresenius J. Anal. Chem.* 371, 437-447.
87. Ternes, T.A. (2001). Analytical Methods for the Determination of Pharmaceuticals in Aqueous Environmental Samples. *Trends Anal. Chem.* 20 (8), 419-434.
88. de Alda, M.J.L.; Díaz-Cruz, S.; Petrovic, M.; Barceló, D. (2003). Liquid Chromatography-(Tandem) Mass Spectrometry of Selected Emerging Pollutants (Steroid Sex Hormones, Drugs and Alkylphenolic Surfactants) in the Aquatic Environment. *J. Chromatogr. A* 1000, 503-526.
89. Gelpí, E. (2003). Contributions of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry to “Highlights” of Biomedical Research. *J. Chromatogr. A* 1000, 567-581.
90. Zwiener, C.; Frimmel, F.H. (2004). LC-MS Analysis in the Aquatic Environment and in Water Treatment – A Critical Review. Part I: Instrumentation and General Aspects of Analysis and Detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 851-861.
91. Zwiener, C.; Frimmel, F.H. (2004). LC-MS Analysis in the Aquatic Environment and in Water Treatment – A Critical Review. Part II: Applications for Emerging Contaminants and Related Pollutants, Microorganisms and Humic Acids. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 862-874.
92. Petrović, M.; Hernando, M.D.; Díaz-Cruz, M.S.; Barceló, D. (2005). Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for the Analysis of Pharmaceutical Residues in Environmental Samples: A Review. *J. Chromatogr. A* 1067, 1-14.
93. Franke, S.; Hidelbrandt, S.; Schwarzbauer, J.; Link, M.; Francke, W. (1995). Organic Compounds as Contaminants of the Elbe River and its Tributaries. Part II: GC/MS Screening for Contaminants of the Elbe Water. *Fresenius J. Anal. Chem.* 353, 39-49.

94. Heberer, T.; Stan, H.J. (1997). Detection of more than 50 substituted Phenols as their t-butyldimethylsilyl derivatives using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 341, 21-34.
95. Buser, H-R; Müller, M.D.; Theobald, N. (1998). Occurrence of the Pharmaceutical Drug Clofibric Acid and the Herbicide Mecoprop in Various Swiss Lakes and in the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* 32 (1), 188-192.
96. Rudel, R.A.; Melly, S.J.; Geno, P.W.; Sun, G.; Brody, J.G. (1998). Identification of Alkylphenols and Other Estrogenic Phenolic Compounds in Wastewater, Septage, and Groundwater on Cape Cod, Massachusetts. *Environ. Sci. Technol.* 32 (7), 861-869.
97. Desbrow, C.; Routledge, E.J.; Brighty, G.C.; Sumpter, J.P.; Waldock, M.J. (1998). Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. I: Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening. *Environ. Sci. Technol.* 32 (11) 1549-1558.
98. Ternes, T.A.; Hirsch, R.; Mueller, J.; Heberer, K. (1998). Methods for the Determination of Neutral Drugs as well as Betablockers and β_2 -Sympathomimetics in Aqueous Matrices using GC/MS and LC/MS/MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* 362, 329-340.
99. Heberer, T.; Schmidt-Bäumler, K.; Stan, H.J. (1998). Occurrence and Distribution of Organics Contaminants in the Aquatic System in Berlin. Part I: Drug Residues and other Polar Contaminants in Berlin Surface and Groundwater. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 26, 272-278.
100. Stumpf, M.; Ternes, T.A.; Wilken, R.-D.; Rodrigues, S.V.; Baumann, W. (1999). Polar Drugs Residues in Sewage and Natural Waters in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Sci. Total Environ.* 225, 135-141.
101. Ternes, T.A.; Stumpf, M.; Mueller, J.; Heberer, K.; Wilken, R.-D.; Servos, M. (1999). Behavior and Occurrence of Estrogens in Municipal Sewage Treatment Plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci. Total Environ.* 225, 81-90.
102. Snyder, S.A.; Keith, T.L.; Verbrugge, D.A.; Snyder, E.M.; Gross, T.S.; Kannan, K.; Giesy, J.P. (1999). Analytical Methods for Detection of Selected Estrogenic Compounds in Aqueous Mixtures. *Environ. Sci. Technol.* 33 (16) 2814-2820.
103. Buser, H-R; Poiger, T.; Müller, M.D. (1999). Occurrence and Environmental Behavior of the Chiral Pharmaceutical Drug Ibuprofen in Surface Waters and in Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 33 (15), 2529-2535.
104. Belfroid, A.C.; Van Der Horst, A.; Vethaak, A.D.; Schäfer A.J.; Rijs, G.B.J.; Wegener, J.; Cofino, W.P. (1999). Analysis and Occurrence of Estrogenic Hormones and their Glucuronides in Surface Water and Waste Water in The Netherlands. *Sci. Total Environ.* 225, 101-108.
105. Hartig, C.; Storm, T.; Jekel, M. (1999). Detection and Identification of Sulphonamide Drugs in Municipal Waste Water by Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionisation Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 854, 163-173.
106. Rodgers-Gray, T.P.; Jobling, S.; Morris, S.; Kelly, C.; Kirby, S.; Janbakhsh, A.; Harries, J.E.; Waldock, M.J.; Sumpter, J.P.; Tyler, C.R. (2000). Long-Term Temporal Changes in the Estrogenic Composition of Treated Sewage Effluent and its Biological Effects on Fish. *Environ. Sci. Technol.* 34, 1521-1528.

107. Baronti, C.; Curini, R.; D'ascenzo, G.; Di Corcia, A.; Centili, A.; Samperi, R. (2000). Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River Water. *Environ. Sci. Technol.* 34 (24), 5059-5066.
108. Kelly, C. (2000). Analysis of Steroids in Environmental Water Samples using Solid-Phase Extraction and Ion-Trap Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 872, 309-314.
109. Mol, H.G.J.; Sunarto, S.; Steijger, O.M. (2000). Determination of Endocrine Disruptors in Water after Derivatization with *N*-methyl-*N*-(*tert*-butyldimethyltrifluoroacetamide) using Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detection. *J. Chromatogr. A* 879, 97-112.
110. de Alda, M.J.L.; Barceló, D. (2000). Determination of Steroid Sex Hormones and Related Synthetic Compounds Considered as Endocrine Disruptors in Water by Liquid Chromatography-Diode Array Detection-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 892, 391-406.
111. Kuch, H.M.; Ballschmiter, K. (2001). Determination of Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds and Estrogens in Surface and Drinking Water by HRGC-(NCI)-MS in the Picogram per Liter Range. *Environ. Sci. Technol.* 35 (15), 3201-3206.
112. Snyder, S.A.; Villeneuve, D.L.; Snyder, E.M.; Giesy, J.P. (2001). Identification and Quantification of Estrogen Receptor Agonists in Wastewater Effluents. *Environ. Sci. Technol.* 35 (18), 3620-3625.
113. Castillo, M.; Barceló, D. (2001). Characterisation of Organic Pollutants in Textile Wastewaters and Landfill Leachate by using Toxicity-based Fractionation Methods followed by Liquid and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometric Detection. *Anal. Chim. Acta* 426, 253-264.
114. la Farré, M.; Ferrer, I.; Ginebreda, A.; Figueras, M.; Olivella, L.; Tirapu, L.; Vilanova, M.; Barceló, D. (2001). Determination of Drugs in Surface Water and Wastewater Samples by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: Methods and Preliminary Results including Toxicity Studies with *Vibrio Fischeri*. *J. Chromatogr. A* 938, 187-197.
115. de Alda, M.J.L.; Barceló, D. (2001). Use of Solid-Phase Extraction in Various of its Modalities for Sample Preparation in the Determination of Estrogens and Progestogens in Sediment and Water. *J. Chromatogr. A* 938, 145-153.
116. Sacher, F.; Lange, F.Th.; Brauch, H.-J.; Blankenhorn, I. (2001). Pharmaceuticals in Groundwaters. Analytical Methods and Results of a Monitoring Program in Baden-Württemberg, Germany. *J. Chromatogr. A* 938, 199-210.
117. Heemken, O.P.; Reincke, H.; Stachel, B.; Theobald, N. (2001). The Occurrence of Xenoestrogens in the Elbe River and the North Sea. *Chemosphere* 45, 245-259.
118. Öllers, S.; Singer, H.P.; Fässler, P. E Müller, S.R. (2001). Simultaneous Quantification of Neutral and Acidic Pharmaceuticals and Pesticides at the low-ng/L level in Surface and Waste Water. *J. Chromatogr. A* 911, 225-234.

119. de Alda, M.J.L.; Barceló, D. (2001). Determination of Steroid Sex Hormones and Related Synthetic Compounds Considered as Endocrine Disrupters in Water by fully Automated On-Line Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography-Diode Array Detection. *J. Chromatogr. A* 911, 203-210.
120. Fatoki, O.S.; Noma, A. (2002). Solid Phase Extraction Method for Selective Determination of Phthalates Esters in the Aquatic Environment. *Water, Air and Soil Pollution* 140, 85-98.
121. Chen, Z.; Pavelic, P.; Dillon, P.; Naidu, R. (2002). Determination of Caffeine as a Tracer of Sewage Effluent in Natural Waters by On-Line Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography with Diode-Array Detection. *Water Res.* 36, 4830-4838.
122. Kolpin, D.W.; Furlong, E.T.; Meyer, M.T.; Thurman, E.M.; Zaugg, S.D.; Barber, L.B. E Buxton, H.T. (2002). Pharmaceuticals, Hormones and other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: A National Reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202-1211.
123. Peñalver, A.; Pocurull, E.; Borrull, F.; Marcé, R.M. (2002). Method based on Solid-Phase Microextraction-High Performance Liquid Chromatography with UV and Electrochemical Detection to Determine Estrogenic Compounds in Water Samples. *J. Chromatogr. A* 964, 153-160.
124. Jonsson, S.; Ejlertsson, J.; Ledin, A.; Mersiwsky, I.; Svensson, B.H. (2003). Mono- and Diesters from *o*-phthalic Acid in leachates from Different European Landfills. *Water Res.* 37, 609-617.
125. Fogarty, B.; Dempsey, E.; Regan, F. (2003). Potential of Microemulsion Electrokinetic Chromatography for the Separation of Priority Endocrine Disrupting Compounds. *J. Chromatogr. A* 1014, 129-139.
126. Yoon, Y.; Westerhoff, P.; Snyder, S.A.; Esparza, M. (2003). HPLC-Fluorescence Detection and Adsorption of Bisphenol A, 17 β -Estradiol and 17 α -Ethinylestradiol on Powdered Activated Carbon. *Water Res.* 37, 3530-3537.
127. Braun, P.; Moeder, M.; Schrader, S.; Popp, P.; Kusch, P.; Engewald, W. (2003). Trace Analysis of Technical Nonylphenol, Bisphenol A and 17 α -Ethinylestradiol in Wastewater using Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 988, 41-51.
128. Boyd, G.R.; Reemtsma, H.; Grimm, D.A.; Mitra, S. (2003). Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in Surface and Treated Waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada. *Sci. Total. Environ.* 311, 135-149.
129. Boyd, G.R.; Palmeri, J.M.; Zhang, S.; Grimm, D.A. (2004). Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) and Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) in Stormwater Canals and Bayou St. John in New Orleans, Louisiana, USA. *Sci. Total. Environ.* 333, 137-148.
130. Rodriguez-Mozaz, S.; de Alda, M.J.L.; Barceló, D. (2004). Monitoring of Estrogens, Pesticides and Bisphenol A in Natural Waters and Drinking Water Treatment Plants by Solid-Phase Extraction-Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1045, 85-92.

131. Rodríguez, I.; Carpinteiro, J.; Quintana, J.B.; Carro, A.M.; Lorenzo, R.A.; Cela, R. (2004). Solid-Phase Microextraction with On-Fiber Derivatization for the Analysis of Anti-inflammatory Drugs in Water Samples. *J. Chromatogr. A* 1024, 1-8.
132. Basheer, C.; Lee, H.K. (2004). Analysis of Endocrine Disrupting Alkylphenols, Chlorophenols and Bisphenol A using Hollow Fiber-Protected Liquid-Phase Microextraction Coupled with Injection Port-Derivatization Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1057, 163-169.
133. Liu, R.; Zhou, J.L.; Wilding, A. (2004). Simultaneous Determination of Endocrine Disrupting Phenolic Compounds and Steroids in Water by Solid-Phase Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1022, 179-189.
134. Hernando, M.D.; Mezcuca, M.; Gómez, M.J.; Malato, O.; Agüera, A.; Fernández-Alba, A.R. (2004). Comparative Study of Analytical Methods involving Gas Chromatography-Mass Spectrometry after Derivatization and Gas-Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for the Determination of Selected Endocrine Disrupting Compounds in Wastewaters. *J. Chromatogr. A* 1047, 129-135.
135. Soliman, M.A.; Pedersen, J.A.; Suffet, I.H. (2004). Rapid Gas Chromatography-Mass Spectrometry Screening Method for Human Pharmaceuticals, Hormones, Antioxidants and Plasticizers in Water. *J. Chromatogr. A* 1029, 223-237.
136. Weigel, S.; Kallenborn, R.; Hühnerfuss, H. (2004). Simultaneous Solid-Phase Extraction of Acidic, Neutral and Basic Pharmaceuticals from Aqueous Samples at Ambient (Neutral) pH and their Determination by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1023, 183-195.
137. Stehmann, A.; Meesters, R.J.W.; Schröder, H.F. (2004). Mass Spectrometric Analytical Methods for the Determination of Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs). *Water Sci. Technol.* 50 (5), 165-171.
138. Rodil, R.; Quintana, J.B.; Reemtsma, T. (2005). Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Determination of Nonionic Organophosphorus Flame Retardants and Plasticizers in Wastewater Samples. *Anal. Chem.* 77, 3083-3089.
139. Beck, I.C.; Bruhn, R.; Gandrass, J.; Ruck, W. (2005). Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Analysis of Estrogenic Compounds in Coastal Surface Water of the Baltic Sea. *J. Chromatogr. A* 1090, 98-106.
140. Pedersen, J.A.; Soliman, M.; Suffet, I.H. (2005). Human Pharmaceuticals, Hormones and Personal Care Product Ingredients in Runoff from Agricultural Fields Irrigated with Treated Wastewater. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1625-1632.
141. Glassmeyer, S.T.; Furlong, E.T.; Kolpin, D.W.; Cahill, J.D.; Zaugg, S.T.; Werner, S.L.; Meyer, M.T.; Kryak, D.D. (2005). Transport of Chemical and Microbial Compounds from Known Wastewater Dischargers: Potential for Use as Indicators of Human Fecal Contamination. *Environ. Sci. Technol.* 39 (14), 5157-5169.
142. Westerhoff, P.; Yoon, Y.; Snyder, S.; Wert, E. (2005). Fate of Endocrine-Disruptor, Pharmaceutical and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes. *Environ. Sci. Technol.* 39 (17), 6649-6663.

143. Schneider, C.; Schöler, H.F.; Schneider, R.J. (2005). Direct sub-ppt Detection of the Endocrine Disruptor Ethinylestradiol in Water with a Chemiluminescence Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Anal. Chim. Acta* 551, 92-97.
144. Tschmelak, J.; Proll, G.; Gauglitz, G. (2005). Optical Biosensor for Pharmaceuticals, Antibiotics, Hormones, Endocrine Disrupting chemicals and Pesticides in Water: Assay Optimization Process for Estrone as Example. *Talanta* 65, 313-323.
145. Céspedes, R.; Lacorte, S.; Ginebreda, A.; Barceló, D. (2006). Chemical Monitoring and Occurrence of Alkylphenols, Alkylphenol Ethoxylates, Alcohol Ethoxylates, Phthalates and Benzothiazoles in Sewage Treatment Plants and Receiving Waters along the Ter River Basin (Catalonia, N.E. Spain). *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 992-1000.
146. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolução CONAMA nº 357, de 17/03/2005.
147. Fundação SEADE: <http://www.seade.gov.br>, acessada em 05/2006.
148. MINISTÉRIO DAS MINAS E ENERGIA. Portaria nº 750, de 08/08/1974.
149. AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS - ANA: <http://www.ana.gov.br>, acessada em 07/2006.
150. ANA (2004). Subsídios para a Análise do Pedido de Outorga do Sistema Cantareira e para a Definição das Condições de Operação dos seus Reservatórios. *Estudo Técnico*, disponível em <http://www.ana.gov.br>.
151. ANA/DAEE. Resolução Conjunta nº 428, de 04/08/2004.
152. SABESP: <http://www.sabesp.com.br>, acessada em 07/2006.
153. CORREIO POPULAR. Reportagens publicadas no jornal em 31/05/2004, 02,03,08/06/2004 e 28/07/2004, sobre a renovação da outorga do Sistema Cantareira.
154. CORREIO POPULAR. Reportagem publicada no jornal em 06/06/2004, no caderno especial "A Favor da Vida", em comemoração à semana do Meio Ambiente.
155. Marçal Jr., E. (1999). Curso de Tratamento de Esgoto, Empresa de Engenharia Ambiental – EEA, disponível em <http://www.comitepcj.sp.gov.br>.
156. MINISTÉRIO DA SAÚDE (2004). Portaria nº 518, de 25/03/2004.
157. Silva, G.S. (2004). Avaliação do Estado de Degradação e Capacidade de Suporte da Bacia do Rio Atibaia: Região de Campinas/Paulínia. *Tese de Doutorado*. Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP.
158. Locatelli, M.A.F. (2006). Investigação sobre a Emissão e Caracterização dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) na Bacia do Rio Atibaia. *Dissertação de Mestrado*. Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP.
159. CORREIO POPULAR. Reportagem publicada no jornal em 30/05/2004, no caderno especial "Cenário XXI".
160. CORREIO POPULAR. Reportagem publicada no jornal em 06/06/2004, no caderno especial "A Favor da Vida", em comemoração à semana do Meio Ambiente.

161. CORREIO POPULAR. Reportagem publicada no jornal em 05/06/2005, no caderno especial "Dia Mundial do Meio Ambiente", em comemoração à semana do Meio Ambiente.
162. CORREIO POPULAR. Reportagem publicada no jornal em 19,25/02/2005, sobre construção das ETE.
163. Buser, H-R; Poiger, T.; Müller, M.D. (1998). Occurrence and Fate of the Pharmaceutical Drug Diclofenac in Surface Waters: Rapid Photodegradation in a Lake. *Environ. Sci. Technol.* 32 (22), 3449-3456.
164. Ravina, M.; Campanella, L.; Kiwi, J. (2002). Accelerated Mineralization of the Drug Diclofenac via Fenton Reactions in a Concentric Photo-Reactor. *Water Res.* 36, 3553-3560.
165. Zwiener, C.; Frimmel, F.H. (2000). Oxidative Treatment of Pharmaceuticals in Water. *Water Res.*, 34 (6), 1881-1885.
166. THE MERCK INDEX (1997). Version 12:2 [CD-ROM], Chapman & Hall, New York.
167. THE NIST MASS SPECTRAL PROGRAM (1998). Version 1.6, National Institute of Standards and Technology, for the Nist/Epa/Nih Mass Spectral Library.
168. IPCS. International Programme on Chemical Safety. International Chemical Safety Cards: <http://www.who.int/ipcs/publications/icsc/en/>, acessada em 08/2006.
169. Baird, C. (2002). Química Ambiental. Segunda Edição. Tradução Maria A. L. Recio e Luiz Carlos M. Carrera. Editora Bookman, Porto Alegre-RS.
170. Sumpter, J.P.; Johnson, A.C. (2005). Lessons from Endocrine Disruption and their Application to other Issues Concerning Trace Organics in the Aquatic Environment. *Environ. Sci. Technol.* 39 (12), 4321-4331.
171. Colborn, T.; Dumanoski, D.; Myers, J.P. (2002). O Futuro Roubado. Tradução Cláudia Buchweitz, Editora L&PM, Porto Alegre-RS.
172. IARC: <http://www.iarc.fr>, acessada em 09/2003.
173. Trussel, R.R. (2001). *JAWWA* 93 (2), 58-65, in Holland, J.E.; Boyd, G.; Reimers, R.S.; Englande, A.J. (2002) – Presentation: L.A. Civil Engineering Conference & Show, Kenner, L.A., disponível em <http://www.tulane.edu/~glenboyd/publications-overview.htm>.
174. Azevedo, F.A.A.; Chasin, A.A.M. (2003). As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia. Primeira Edição. Editora RiMa, São Carlos-SP e InterTox, São Paulo-SP.
175. Zagatto, P.A.; Bertoletti, E. (2006). Ecotoxicologia Aquática, Princípios e Aplicações. Primeira Edição. Editora RiMa, São Carlos-SP.
176. Almeida, F.V. (2003). Bases Técnico-Científicas para o Desenvolvimento de Critérios de Qualidade de Sedimentos referentes aos Compostos Orgânicos Persistentes. *Tese de Doutorado*. Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP.
177. Oga, S. (1996). *Fundamentos de Toxicologia*, 1ª ed., Atheneu Editora, São Paulo.
178. Shore, L.S.; Gurevich, M.; Shemesh, M. (1993). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 361 *apud* 20.

179. Kawakami, S.K.; Montone, R.C. (2002). An Efficient Ethanol-Based Analytical Protocol to Quantify Faecal Steroids in Marine Sediments. *J. Bras. Chem. Soc.* 13 (2), 226-232.
180. Niven, S.J.; Snape, J.; Hetheridge, M.; Evans, M.; McEvoy, J.; Rowland, S.J. (2001). Investigations of Cholesterol Transformation during Sewage Treatment: Relevance to Estrogen Formation Pathways? *Sci. Total Environ.* 279, 75-86.
181. Puglisi, E.; Nicelli, M.; Capri, E.; Trevisan, M.; Del Re, A.A.M. (2003). Cholesterol, β -Sitosterol, Ergosterol and Coprostanol in Agricultural Soils. *J. Environ. Qual.* 32, 466-471.
182. Palmgrén, J.J.; Töyräs, A.; Mauriala, T.; Mönkkönen, J.; Auriola, S. (2005). Quantitative Determination of Cholesterol, Sitosterol and Sitostanol in Cultured Caco-2 Cells by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. *J. Chromatog. B* 821, 144-152.
183. Carreira, R.; Wagener, A.L.R.; Fileman, T.; Readman, J.W. (2001). Distribuição de Coprostanol (5β (H)-colestano- 3β -ol) em Sedimentos Superficiais da Baía de Guanabara: Indicador da Poluição Recente por Esgotos Domésticos. *Quim. Nova* 24 (1), 37-42.
184. Schönning, C.; Leeming, R.; Stenström, T.A. (2002). Faecal Contamination of Source-Separated Human Urine based on the Content of Faecal Sterols. *Water Res.* 36, 1965-1972.
185. Gagné, F.; Blaise, C.; Lachance, B.; Sunahara, G.I.; Sabik, H. (2001). Evidence of Coprostanol Estrogenicity to the Freshwater Mussel *Elliptio complanata*. *Environ. Pollution* 115, 97-106.
186. Leeming, R.; Ball, A.; Ashbolt, N.; Nichols, P. (1996). Using Faecal Sterols from Humans and Animals to Distinguish Faecal Pollution in Receiving Waters. *Water Res.* 30 (12), 2893-2900.
187. Ostlund Jr., R.E. (2002). Phytosterols in Human Nutrition. *Annu. Rev. Nutr.* 22, 533-549.
188. Leyder, F.; Boulanger, P. (1983). Ultraviolet-Absorption, Aqueous Solubility and Octanol-Water Partition for Several Phthalates. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 30, 152-157.
189. GOOGLE EARTH: <http://www.earth.google.com>, acessada em 08/2006.
190. CETESB (1988). Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Águas, São Paulo-SP.
191. USEPA (1997). Version 1.0 [CD-ROM]. Methods and Guidance for Analysis of Water.
192. WATERS (2004). Catálogo de Produtos. HP: <http://www.waters.com>, acessada em agosto de 2004.
193. Ghiselli, G. (2001). Remediação de Solos Contaminados com Pesticidas Organoclorados utilizando Reagente de Fenton. *Dissertação de Mestrado*. Instituto de Química, UNICAMP, Campinas-SP.
194. Leite, F. (2002). Validação em Análise Química. 4ª Edição, Editora Átomo, Campinas-SP.
195. Lanças, F.M. (2004). Validação de Métodos Cromatográficos de Análise. Editora RiMa, São Carlos-SP.

- 196.**Ribani, M.; Bottoli, C.B.G.; Collins, C.H.; Jardim, I.C.S.F.; Melo, L.F.C. (2004). Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. *Quim. Nova* 25 (5), 771-780.
- 197.**INMETRO. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos. Documento Orientativo DQO-CGCRE-008, Revisão 1, Março/2003.
- 198.**ANVISA. Resolução nº 899 de 29/05/2003, disponível em <http://anvisa.gov.br>
- 199.**Shabir, G.A. (2003). Validation of High-Performance Liquid Chromatography Methods for Pharmaceutical Analysis. Understanding the Differences and Similarities between Validation Requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *J. Chromatogr. A* 987, 57-66.



ANEXO 1 – Comparação das variáveis de qualidade de água usadas pela CETESB e exigidas pelas Legislações Brasileiras.

PARÂMETROS	CETESB ^[3]	CONAMA 357/05 ^[146]	PORTARIA 518/04 ^[156]
		<i>Valor Máximo Permitido (Classe 2)</i>	
<i>Físico-Químicos</i>			
Absorbância no Ultravioleta	x	---	---
Acrilamida		0,5 µg/L	0,5 µg/L
Alacloro		20 µg/L	20 µg/L
Aldrin + Dieldrin		0,005 µg/L	0,03 µg/L
Alumínio	x	0,1 mg/L (dissolvido)	0,2 mg/L
Antimônio		0,005 mg/L	0,005 mg/L
Arsênio Total		0,01 mg/L 0,14 µg/L (pesca/cultivo organismos)	0,01 mg/L
Atrazina		2 µg/L	2 µg/L
Bário Total	x	0,7 mg/L	0,7 mg/L
Bentazona		---	300 µg/L
Benzeno		5 µg/L	5 µg/L
Benzidina		0,001 µg/L 0,0002 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
Benzo[a]antraceno		0,05 µg/L 0,018 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
Benzo[a]pireno		0,05 µg/L 0,018 µg/L (pesca/cultivo organismos)	0,7 µg/L
Benzo[b]fluoranteno		0,05 µg/L 0,018 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
Benzo[k]fluoranteno		0,05 µg/L 0,018 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
Berílio Total		0,04 mg/L	---
Bifenilas Policloradas (BPC)		0,001 µg/L 0,064 ng/L (pesca/cultivo organismos)	---

ANEXO 1 – Comparação das variáveis de qualidade de água usadas pela CETESB e exigidas pelas Legislações Brasileiras - Cont.

PARÂMETROS	CETESB ^[3]	CONAMA 357/05 ^[146]	PORTARIA 518/04 ^[156]
		<i>Valor Máximo Permitido (Classe 2)</i>	<i>Valor Máximo Permitido (Potabilidade)</i>
<i>Físico-Químicos</i>			
Boro Total		0,5 mg/L	---
Bromato		---	0,025 mg/L
Cádmio Total	x	0,001 mg/L	0,005 mg/L
Carbaril		0,02 µg/L	---
Carbono Orgânico Dissolvido - COD	x	---	---
Chumbo Total	x	0,01 mg/L	0,01 mg/L
Cianeto		0,005 mg/L (livre)	0,07 mg/L
Clordano (isômeros <i>cis</i> + <i>trans</i>)		0,04 µg/L	0,2 µg/L
Cloreto de Vinila		---	5 µg/L
Cloreto Total	x	250 mg/L	250 mg/L
Clorito		---	0,2 mg/L
2-Clorofenol		0,1 µg/L	---
Cloro Livre		---	5 mg/L
Cloro Residual Total (Combinado + Livre)		0,01 mg/L	---
Cobalto Total		0,05 mg/L	---
Cobre	x	0,009 mg/L (dissolvido)	2 mg/L
Condutividade Específica	x	---	---
Cor Verdadeira/Aparente	x	75 mg Pt-Co/L (ou Unidade Hazen: µH)	15 mg Pt-Co/L (ou Unidade Hazen: µH)
Corantes Artificiais		ausentes após processos convencionais de coagulação, sedimentação e filtração	ausentes
Criseno		0,05 µg/L 0,018 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
Cromo Total	x	0,05 mg/L	0,05 mg/L
2,4-D (Ácido 2,4-Diclorofenoxiacético)		4,0 µg/L	30 µg/L
DBO _{5,20} (5 dias a 20°C)	x	5 mg/L	---

ANEXO 1 – Comparação das variáveis de qualidade de água usadas pela CETESB e exigidas pelas Legislações Brasileiras - Cont.

PARÂMETROS	CETESB ^[3]	CONAMA 357/05 ^[146]	PORTARIA 518/04 ^[156]
		<i>Valor Máximo Permitido (Classe 2)</i>	<i>Valor Máximo Permitido (Potabilidade)</i>
<i>Físico-Químicos</i>			
DDT (p,p'-DDT + p,p'-DDE + p,p'-DDD)		0,002 µg/L	2 µg/L
Demeton (Demeton-O + Demeton-S)		0,1 µg/L	---
Dibenzo[a,h]antraceno		0,05 µg/L 0,018 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
3,3-Diclorobenzidina		0,028 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
1,2-Dicloroetano		10 µg/L	10 µg/L
1,1-Dicloroetano		3 µg/L	30 µg/L
2,4-Diclorofenol		0,3 µg/L	---
Diclorometano		20 µg/L	20 µg/L
Dodecacloro Pentaciclodecano		0,001 µg/L	---
DQO	x	---	---
Dureza		---	500 mg/L
Endossulfan		---	20 µg/L
Endossulfan (A + B + Sulfato)		0,056 µg/L	---
Endrin		0,004 µg/L	0,6 µg/L
Estireno		20 µg/L	20 µg/L
Etilbenzeno		90 µg/L	200 µg/L
Fenóis Totais	x	0,003 mg/L	---
Ferro	x	0,3 mg/L (dissolvido)	0,3 mg/L
Fluoreto	x	1,4 mg/L	1,5 mg/L
Fósforo Total	x	0,030 mg/L (ambientes lênticos) 0,050 mg/L (ambientes intermediários)	---
Glifosato		65 µg/L	500 µg/L
Gution		0,005 µg/L	---

ANEXO 1 – Comparação das variáveis de qualidade de água usadas pela CETESB e exigidas pelas Legislações Brasileiras - Cont.

PARÂMETROS	CETESB ^[3]	CONAMA 357/05 ^[146]	PORTARIA 518/04 ^[156]
		<i>Valor Máximo Permitido (Classe 2)</i>	<i>Valor Máximo Permitido (Potabilidade)</i>
<i>Físico-Químicos</i>			
Heptacloro + Heptacloro Epóxido		0,01 µg/L 0,039 ng/L (pesca/cultivo organismos)	0,03 µg/L
Hexaclorobenzeno (HCB)		0,0065 µg/L 0,00029 µg/L (pesca/cultivo organismos)	1 µg/L
Indeno[1,2,3-cd]pireno		0,05 µg/L 0,018 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
Lindano (gama-BHC)		0,02 µg/L	2 µg/L
Lítio Total		2,5 mg/L	---
Malation		0,1 µg/L	---
Manganês Total	x	0,1 mg/L	0,1 mg/L
Materiais Flutuantes		virtualmente ausentes	ausentes
Mercúrio Total	x	0,0002 mg/L	0,001 mg/L
Metolacloro		10 µg/L	10 µg/L
Metoxicloro		0,03 µg/L	20 µg/L
Molinato		---	6 µg/L
Monocloramina		---	3 mg/L
Monoclorobenzeno		---	0,12 mg/L
Níquel Total	x	0,025 mg/L	---
Nitrato (como nitrogênio)	x	10 mg/L	10 mg/L
Nitrito (como nitrogênio)	x	1,0 mg/L	1,0 mg/L
Nitrogênio Amoniacal (NH ₃)	x	0,5 – 3,7 mg/L (de acordo com o pH)	1,5 mg/L
Óleos e Graxas	x	virtualmente ausentes	ausentes
Ortofosfato Solúvel	x	---	---
Oxigênio Dissolvido - OD	x	não inferior a 5 mg/L	---
Paration		0,04 µg/L	---

ANEXO 1 – Comparação das variáveis de qualidade de água usadas pela CETESB e exigidas pelas Legislações Brasileiras - Cont.

PARÂMETROS	CETESB ^[3]	CONAMA 357/05 ^[146]	PORTARIA 518/04 ^[156]
		<i>Valor Máximo Permitido (Classe 2)</i>	<i>Valor Máximo Permitido (Potabilidade)</i>
<i>Físico-Químicos</i>			
Pendimetalina		---	20 µg/L
Pentaclorofenol		9 µg/L 3 µg/L (pesca/cultivo organismos)	9 µg/L
Permetrina		---	20 µg/L
pH	x	6,0 a 9,0	6,0 a 9,5
Potássio	x	---	---
Prata Total		0,01 mg/L	---
Propanil		---	20 µg/L
Radioatividade Alfa Global		---	0,1 Bq/L
Radioatividade Beta Global		---	1,0 BgAL
Resíduo Dissolvido, Suspenso, Fixo e Volátil	x	---	---
Resíduos Sólidos Objetáveis		virtualmente ausentes	ausentes
Selênio Total		0,01 mg/L	0,001 mg/L
Simazina		2 µg/L	2 µg/L
Sódio	x	---	200 mg/L
Sólidos Dissolvidos Totais	x	500 mg/L	1000 mg/L
Substâncias com Gosto ou Odor		virtualmente ausentes	não objetáveis
Substâncias Tensoativas/ Surfactantes	x	0,5 mg/L	0,5 mg/L
Sulfato Total	x	250 mg/L	250 mg/L
Sulfeto (como H ₂ S não dissociado)		0,002 mg/L	---
Sulfeto de Hidrogênio		---	0,05 mg/L
2,4,5-T (Ácido 2,4,5-Triclorofenoxiacético)		2,0 µg/L	---
Temperatura da Água e do Ar	x	---	---
Tetracloroeto de Carbono		2 µg/L 1,6 µg/L (pesca/cultivo organismos)	2 µg/L

ANEXO 1 – Comparação das variáveis de qualidade de água usadas pela CETESB e exigidas pelas Legislações Brasileiras - Cont.

PARÂMETROS	CETESB ^[3]	CONAMA 357/05 ^[146]	PORTARIA 518/04 ^[156]
		<i>Valor Máximo Permitido (Classe 2)</i>	
<i>Físico-Químicos</i>			
Tetracloroetano		10 µg/L 3,3 µg/L (pesca/cultivo organismos)	40 µg/L
Tolueno		2 µg/L	170 µg/L
2,4,5-TP (Ácido 2,4,5-Triclorofenoxipropiônico)		10,0 µg/L	---
Toxafeno		0,01 µg/L 0,00028 µg/L (pesca/cultivo organismos)	---
Trihalometanos Totais (THM)	x	---	0,1 mg/L
Tributilestanho		0,063 µg/L	---
Triclorobenzenos (1,2,3-TCB + 1,2,4-TCB)		20 µg/L	20 µg/L
Tricloroetano		0,03 mg/L	0,07 mg/L
2,4,6-Triclorofenol		10 µg/L 2,4 µg/L (pesca/cultivo organismos)	200 µg/L
Trifluralina		0,2 µg/L	20 µg/L
Turbidez	x	100 UT (Unidade de Turbidez)	5 UT (Unidade de Turbidez)
Urânio Total		0,02 mg/L	---
Vanádio Total		0,1 mg/L	---
Xileno		0,3 mg/L	0,3 mg/L
Zinco Total	x	0,18 mg/L	5 mg/L

ANEXO 1 – Comparação das variáveis de qualidade de água usadas pela CETESB e exigidas pelas Legislações Brasileiras - Cont.

PARÂMETROS	CETESB ^[3]	CONAMA 357/05 ^[146]	PORTARIA 518/04 ^[156]
		Valor Máximo Permitido (Classe 2)	Valor Máximo Permitido (Potabilidade)
Microbiológicos			
Coliformes Termotolerantes ou <i>Escherichia coli</i>	x	1000/100 mL (80% ou mais de pelo menos 6 amostras por mês, bimestralmente)	ausência em 100 mL
Coliformes Totais		---	0/100 mL (para 95% das 40 ou mais amostras avaliadas por mês); ou 1/100 mL (menos 40 amostras/mês)
<i>Cryptosporidium sp</i>	x	---	análise recomendada
<i>Giardia sp</i>	x	---	análise recomendada
Ecotoxicológicos			
Atividade Enzima Acetilcolinesterase		---	análise recomendada/15 ou 20% inibição
Cianotoxinas - Cilindropermopsina		---	análise recomendada/15,0 µg/L
Cianotoxinas - Microcistinas (Ensaio ELISA)	x	---	1,0 µg/L
Cianotoxinas - Saxitoxinas		---	análise recomendada/3,0 µg/L
Teste de Ames (avaliação mutagenicidade)	x	---	---
Toxicidade Aguda <i>Vibrio fischeri</i> (Microtox)	x	não tóxico	---
Toxicidade Aguda/Crônica <i>Ceriodaphnia dubia</i>	x	não tóxico	---
Hidrobiológicos			
Clorofila- <i>a</i> (grau de eutrofização)	x	30 µg/L	---
Comunidade Bentônica	x	---	---
Comunidade Fitoplanctônica	x	---	---
Comunidade Zooplanctônica	x	---	---
Feofitina- <i>a</i> (grau de eutrofização)	x	---	---

ANEXO 2 – Procedimentos analíticos comumente empregados na determinação de IE e PFHP em amostras ambientais.

CLASSE / USO DOS COMPOSTOS	Extração	Derivatização	Separação	Deteção	Referências
Plastificantes	coluna	não	GC	FID	120
Surfactantes, hormônios, fungicidas	SPE	sim	GC	ECD	111
Analgésicos, antiinflamatórios, antitérmicos, antiepiléticos, relaxante muscular, tranqüilizantes, estimulantes, reguladores lipídicos, antioxidantes, repelente de insetos, fragrâncias, hormônios, retardantes de chama, herbicidas, inseticidas, desinfetantes, plastificantes, surfactantes, corantes, bactericidas, esteróides/esteróides fecais, fitoesteróides, HPA, hidrocarbonetos clorados	ELL e ELLc	não	GC	MS	93, 122, 124, 135, 140, 141
Surfactantes, fungicidas, hormônios, fitoesteróides, esteróides/esteróides fecais, fenóis, antiinflamatórios, analgésicos, antitérmicos, reguladores lipídicos,	ELL e ELLc	sim	GC	MS	96, 109, 114, 117, 122
Antidepressivos, analgésicos, antiinflamatórios, reguladores lipídicos, hormônios, surfactantes	SPE	não	GC	MS	106, 136
Hormônios	SPE Fracion. HPLC ELL	não	GC	MS	97
Antibióticos, analgésicos, antiinflamatórios, antitérmicos, antidepressivos, tranqüilizantes, antiepiléticos, reguladores lipídicos, β -bloqueadores, vasodilatadores, estimulantes, hormônios, meios de contraste raios-X, surfactantes, plastificantes e intermediários, desinfetantes, fragrâncias, herbicidas, bactericidas, fungicidas, fenóis	SPE	sim	GC	MS	37, 94, 95, 98-100, 103, 108, 109, 111, 116, 118, 128, 129, 133, 134, 137

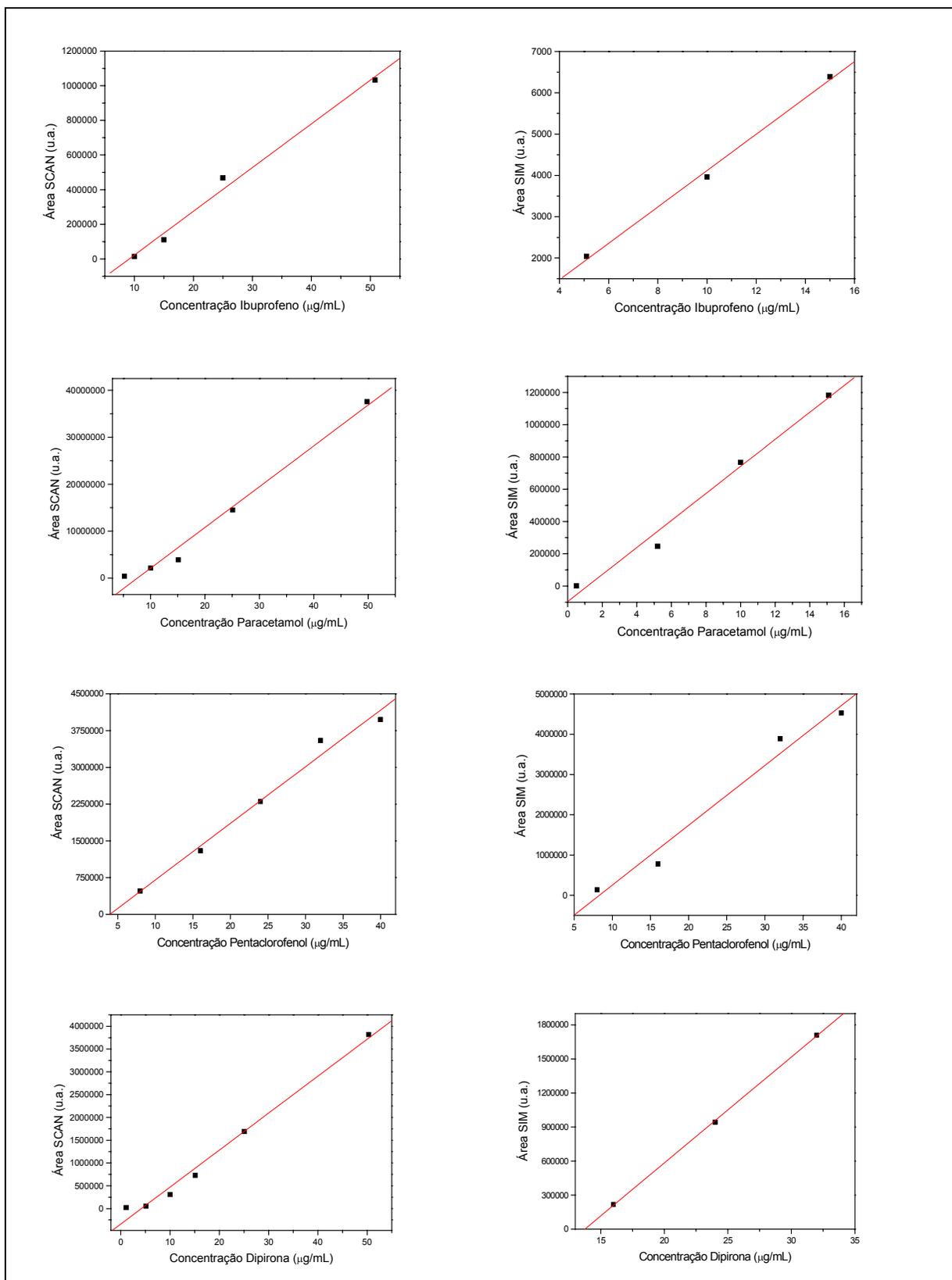
ANEXO 2 – Procedimentos analíticos comumente empregados na determinação de IE e PFHP em amostras ambientais - Cont.

CLASSE / USO DOS COMPOSTOS	Extração	Derivatização		Deteção	
Antiinflamatórios não esteroidais, analgésicos, hormônios, fungicidas, surfactantes, fenóis	SPME	sim	GC	MS	127, 131, 132
Pesticidas, HPA, fragrâncias.	ELL	não	GC	MS/MS	142
Surfactantes, hormônios, fungicidas, intermediários de plastificantes, pesticidas, PAHs, fragrâncias	SPE	não	GC	MS/MS	134, 142
Hormônios	SPE	sim	GC	MS/MS	101, 104, 108
Hormônios e fungicidas	---	não	HPLC	FL	126
Antibióticos (sulfonamidas), antidepressivos, analgésicos, antiinflamatórios, reguladores lipídicos, estimulantes, hormônios	SPE	não	HPLC	DAD	105, 115, 121, 136
Surfactantes, fungicidas, fenóis	ELL	sim	HPLC	UV	96
Hormônios, surfactantes, fungicidas	SPME	não	HPLC	UV/ED	123
Hormônios, surfactantes	SPE Fracion. HPLC	não	HPLC	FL	102, 112
Analgésicos, antitérmicos, antiinflamatórios, hormônios, reguladores lipídicos	SPE	não	HPLC	DAD/MS	110, 114, 115
Antibióticos, analgésicos, antitérmicos, reguladores lipídicos, antidepressivos, antiinflamatórios, estimulantes, hormônios e seus metabólitos, surfactantes, plastificantes, herbicidas, fungicidas, retardantes de chama, fenóis	SPE	não	LC	MS (ESI) MS (APCI)	113, 122, 130, 141, 145

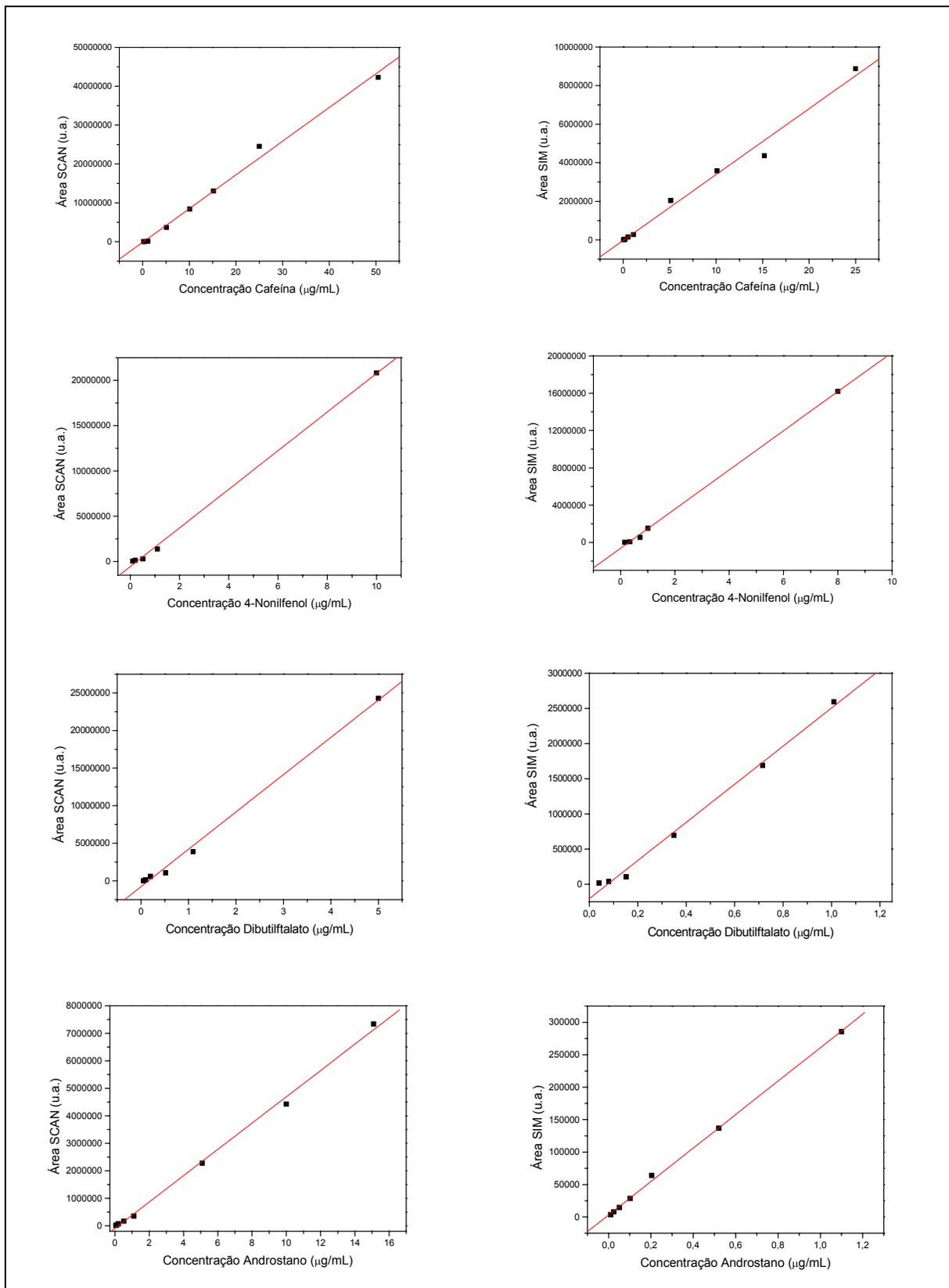
ANEXO 2 – Procedimentos analíticos comumente empregados na determinação de IE e PFHP em amostras ambientais - Cont.

CLASSE / USO DOS COMPOSTOS	Extração	Derivatização	Separação	Deteção	Referências
Antiinflamatórios, anti-epilépticos, estimulantes, relaxante muscular, hormônios, antioxidantes, plastificantes, Reguladores Lipídicos,	ELL	não	LC	MS/MS (ESI)	140
Antiepiléticos, antibióticos, hormônios, analgésicos, antidepressivos, antiinflamatórios, estimulantes, reguladores lipídicos, tranqüilizantes, meio de contraste de raios-X, herbicidas, bloqueadores solar	SPE	não	LC	MS/MS (API) MS/MS (APCI)	142, 143
hormônios, drogas sulfonamidas (bactericidas), antitérmicos, antiepiléticos, reguladores lipídicos, tranqüilizantes, β -bloqueadores, retardantes de chama, plastificantes, fungicidas, fitoesteróides	SPE	não	LC	MS/MS (ESI)	30, 105, 107, 138, 139
Drogas psiquiátricas, tranqüilizantes, antiepiléticos, analgésicos, antibióticos antitérmicos, reguladores lipídicos, β -bloqueadores, vasodilatadores, meios de contraste raios-X	SPE	sim	LC	MS/MS (ESI)	116
Antibióticos (sulfonamidas, penicilinas, tetraciclinas)	liofilização	não	LC	MS/MS (ESI)	29
Hormônios, surfactantes	---	---	CE	DAD	125
Hormônios, surfactantes	SPE Fracion. HPLC	---	---	RIA/ELISA	102
Etinilestradiol (hormônio)	---	---	---	RIA/ELISA	143
Estrona (hormônio)	---	---	---	biossensor RIANA	144

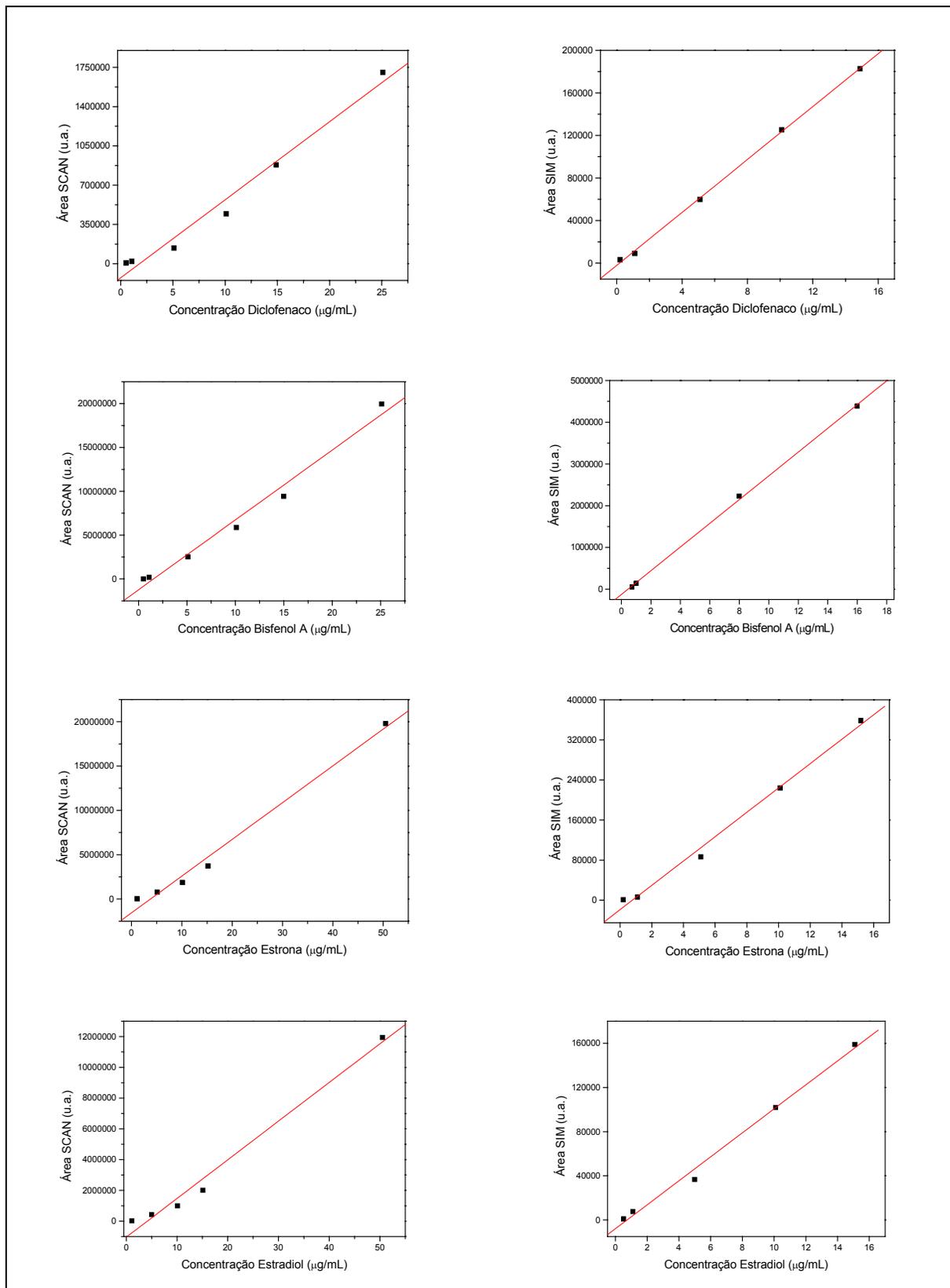
ANEXO 3 - Curvas analíticas para quantificação dos IE/PFHP. Campanhas 4-6.



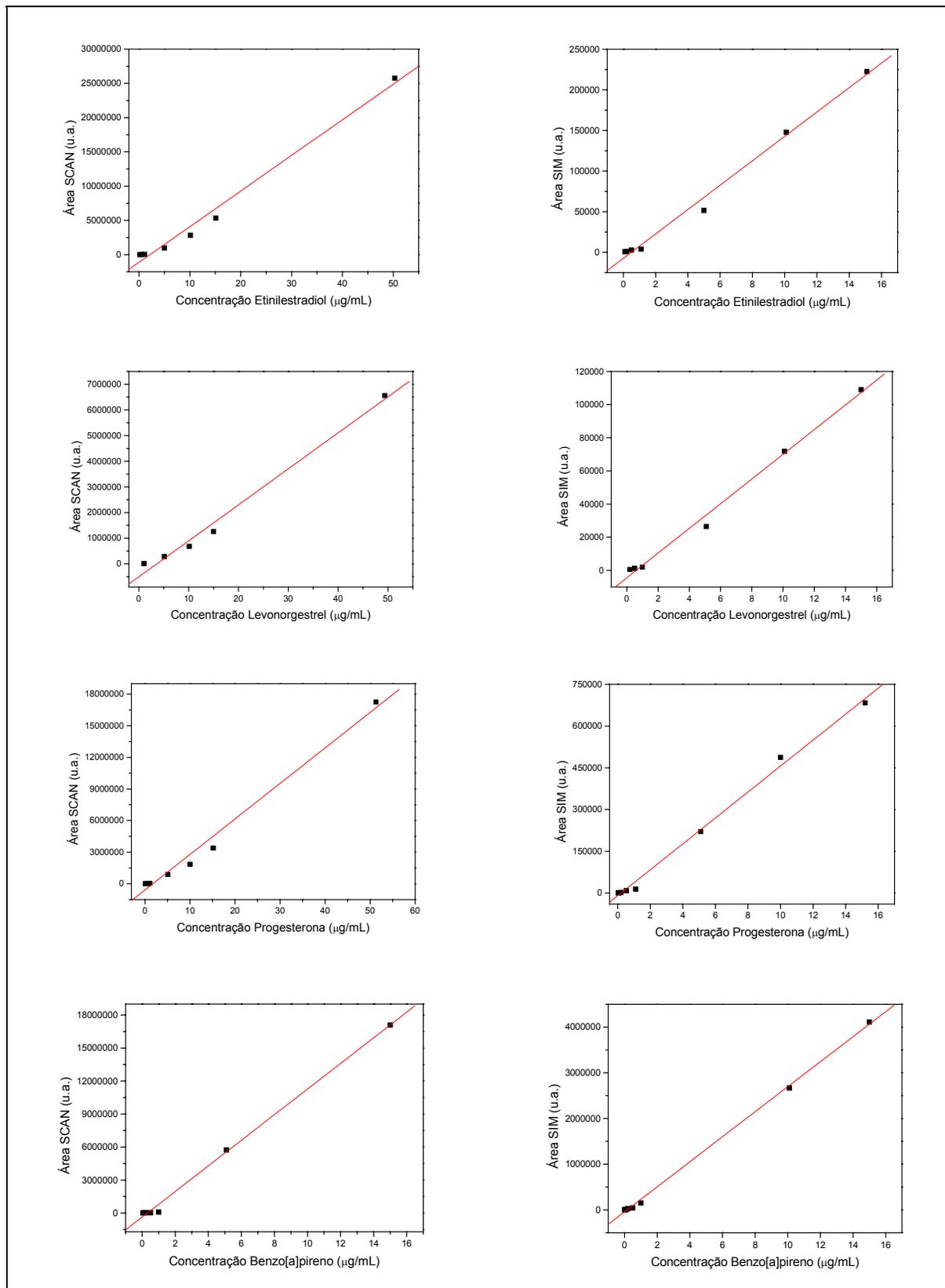
ANEXO 3 - Curvas analíticas para quantificação dos IE/PFHP. Campanhas 4-6 – Cont.



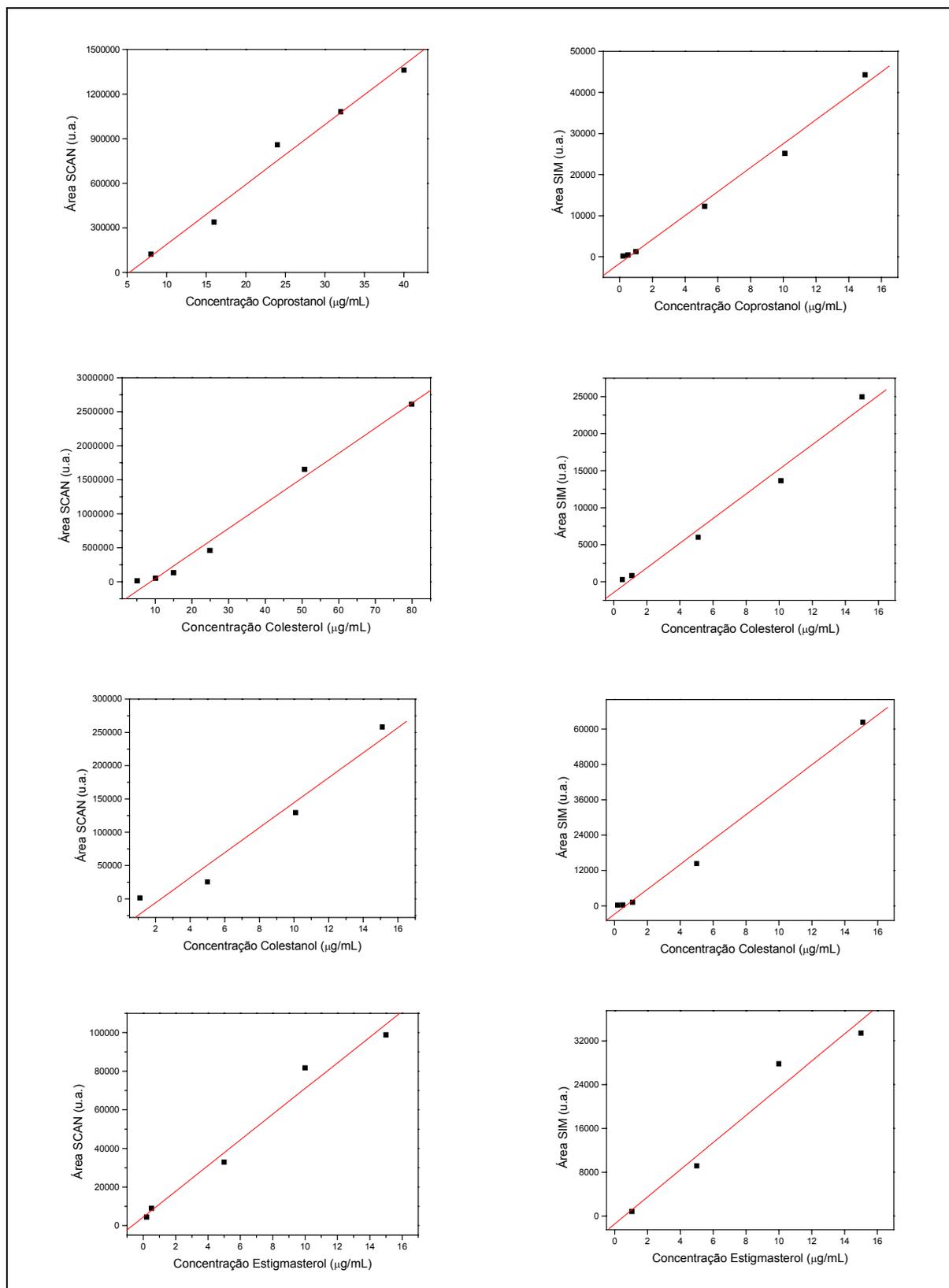
ANEXO 3 - Curvas analíticas para quantificação dos IE/PFHP. Campanhas 4-6 – Cont.



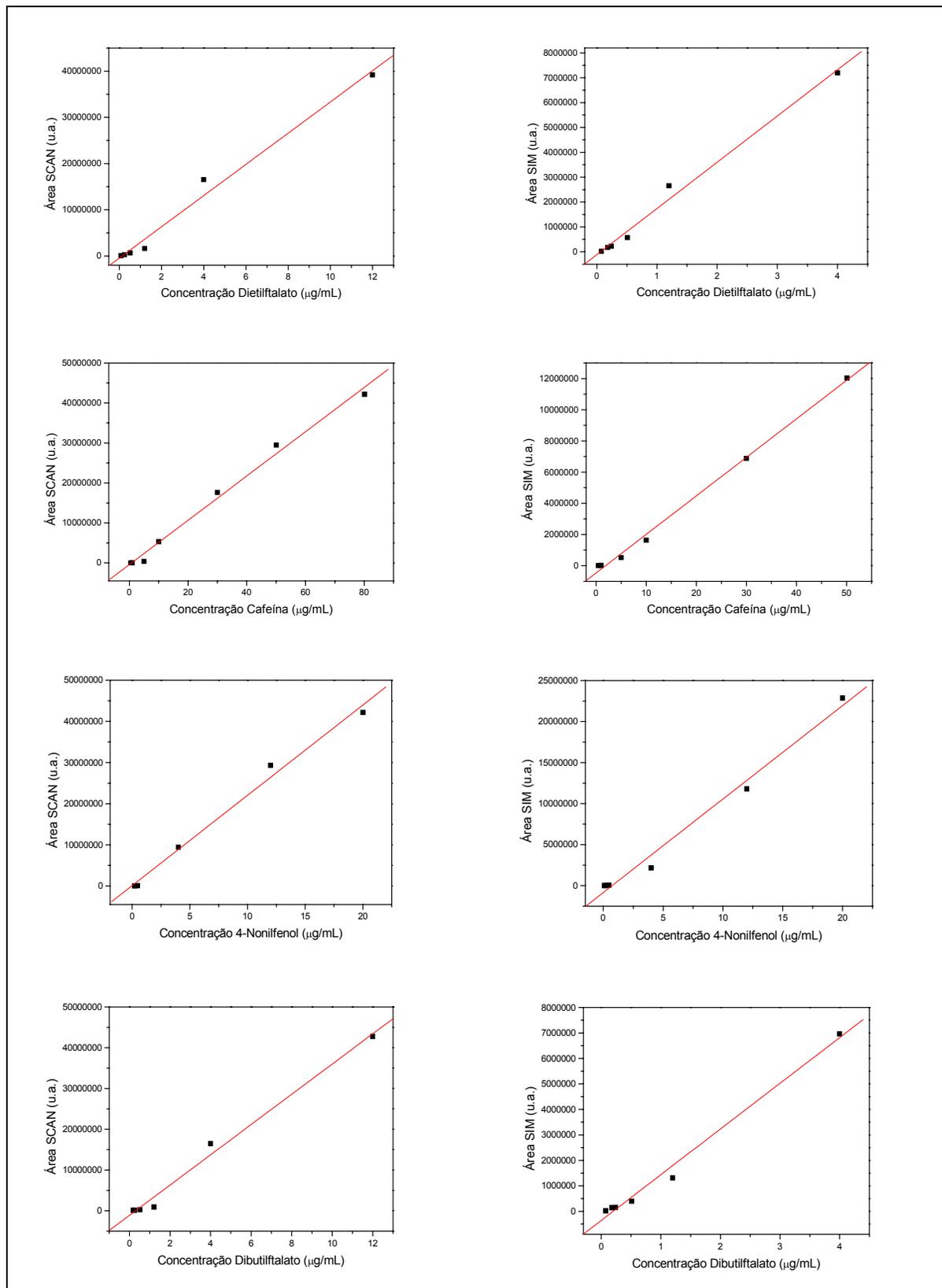
ANEXO 3 - Curvas analíticas para quantificação dos IE/PFHP. Campanhas 4-6 – Cont.



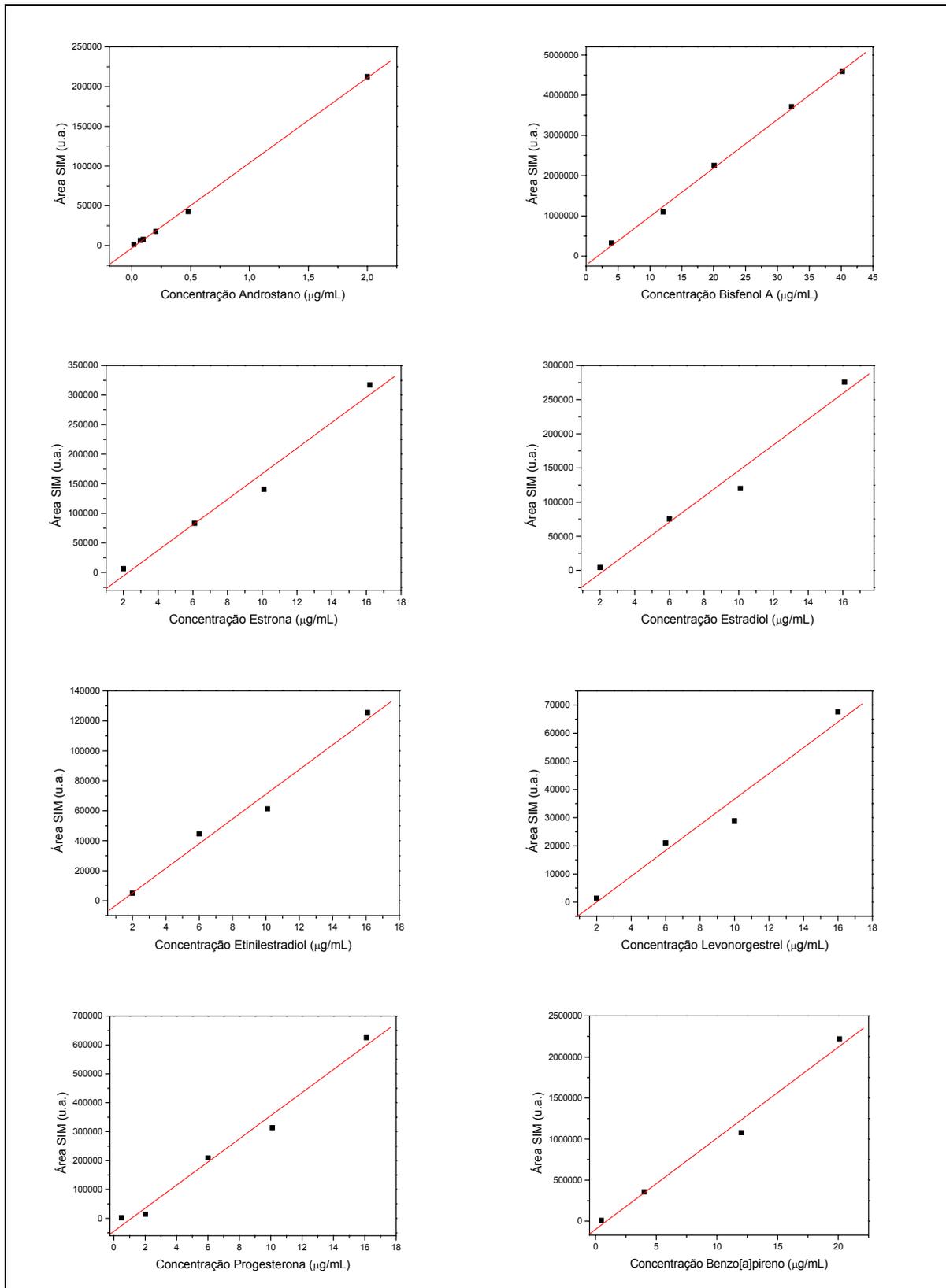
ANEXO 3 - Curvas analíticas para quantificação dos IE/PFHP. Campanhas 4-6 – Cont.



ANEXO 4 - Curvas analíticas para quantificação dos IE/PFHP. Campanha 7.



ANEXO 4 - Curvas analíticas para quantificação dos IE/PFHP. Campanha 7 – Cont.



ANEXO 4 - Curvas analíticas para quantificação dos IE/PFHP. Campanha 7 – Cont.

