



Centro Universitário de Brasília – UniCEUB  
FACULDADE DE TECNOLOGIA E CIÊNCIAS SOCIAIS  
APLICADAS – FATECS

FELIPE VILELA PINHEIRO

2087281/2

**VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE ESTRONA NAS MARGENS DO LAGO  
PARANOÁ**

Brasília

2013

FELIPE VILELA PINHEIRO

**VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE ESTRONA NAS MARGENS DO LAGO  
PARANOÁ**

**Trabalho de conclusão de curso (TCC)  
apresentado como um dos requisitos  
para conclusão do curso de Engenharia  
Civil**

**UniCEUB – Centro Universitário de  
Brasília**

**Ana Paula Abi-faiçal Castanheira**

Brasília

2013

FELIPE VILELA PINHEIRO

**VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE ESTRONA NAS MARGENS DO LAGO  
PARANOÁ**

**Trabalho de conclusão de curso (TCC)  
apresentado como um dos requisitos  
para conclusão do curso de Engenharia  
Civil**

**UniCEUB – Centro Universitário de  
Brasília**

**Ana Paula Abi-faiçal Castanheira**

Brasília, 01 de julho de 2013.

**Banca Examinadora**

---

Prof (a): Ana Paula Abi-faiçal Castanheira  
Orientador(a)

---

Prof (a): Lucijane Monteiro de Abreu  
Examinador(a)

---

Prof (a): Davi Tadeu Borges Marwell  
Examinador(a)

## **AGRADECIMENTOS**

À professora Dr. Ana Paula Abi-faiçal Castanheira, pela orientação, ajuda indispensável e apoio para a elaboração desse trabalho.

Ao Químico e Fiscal Agropecuário Nélio Fleury Filho, do Laboratório Nacional Agropecuário de Goiás (LANAGRO – GO), pela grande ajuda na análise das amostras coletadas.

Aos meus pais, Marcos de Barros Pinheiro e Elvira Maria Vilela Teixeira Pinheiro, por me darem amor, confiança e dedicação, além de apoiarem todas minhas decisões.

Aos meus amigos por sempre me apoiarem e proporcionarem bons momentos de descontração e alegria.

Ao Centro Universitário de Brasília – UniCEUB e professores do curso de Engenharia Civil, por me oferecerem um ensino de qualidade.

Aos meus amigos da Engenharia Civil do UniCEUB. Colegas que se tornaram amigos, que se tornaram irmãos.

## RESUMO

De maneira geral, a engenharia civil costuma ser encarada apenas como construção civil. Porém, a área de saneamento básico, pelo ponto de vista da engenharia civil, tem sido de grande importância para a sociedade e o meio-ambiente.

Parte-se do princípio que hormônios sejam substâncias bioacumulativas e suas consequências no meio ambiente perdurem. A estrona, por sua vez, é um hormônio que pode ser encontrado em pontos de lançamento de efluentes domésticos sem tratamento adequado. Assim, tem-se que a estrona é um indicador da presença de esgoto *in natura* e que os países mais desenvolvidos sofram mais as suas consequências.

A estrona é uma substância disruptora endócrina e, como tal, pode ser altamente prejudicial ao meio ambiente e à saúde humana e animal. Sua presença no meio aquático pode afetar todos os seres vivos que consomem ou vivem nesse meio.

Modernamente, tem-se observado que projetos de engenharia mal elaborados podem levar à inviabilidade de um empreendimento e, conseqüentemente, à contaminação do ambiente circundante.

O presente trabalho consiste na detecção de estrona no Lago Paranoá em Brasília/DF, mediante coleta de amostras em determinados pontos da orla que apresentavam suspeita de lançamento de esgoto doméstico sem tratamento.

Para a análise da água do Lago Paranoá foram coletadas 15 amostras da margem do Pontão do Lago Sul. A detecção da estrona foi realizada mediante análise por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas / massas no Laboratório Nacional Agropecuário de Goiás (LANAGRO – GO).

Foram detectadas concentrações de estrona variando entre 0,119 e 0,184 µg/L. As concentrações de estrona geralmente encontradas nas águas superficiais de rios brasileiros são de 0,02 e 0,05 µg/L. Conclui-se então que há lançamento de esgoto irregular na margem do Pontão do Lago Sul em Brasília-DF.

## SUMÁRIO

<b>1.0 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS .....	2
1.1.1 Objetivo Principal.....	2
1.1.2 Objetivo Específico .....	2
<b>2.0 SISTEMA ENDÓCRINO E DISRUPTORES ENDÓCRINOS.....</b>	<b>3</b>
2.1 SISTEMA ENDÓCRINO .....	3
2.1.1 Glândulas Endócrinas .....	5
2.1.2 Hormônios.....	6
2.2 DISRUPTORES ENDÓCRINOS .....	8
2.2.1 Classificação e Origem dos Disruptores Endócrinos.....	14
2.2.1.1 Substâncias Químicas Industriais .....	15
2.2.1.2 Hormônios Naturais .....	16
2.2.1.3 Pesticidas .....	17
2.3 A ESTRONA .....	17
2.4 EFEITOS DOS DISRUPTORES ENDÓCRINOS SOBRE O MEIO AMBIENTE.....	20
2.5 EFEITOS DOS DISRUPTORES ENDÓCRINOS SOBRE A SAÚDE HUMANA ....	25
2.5.1 Tendências Preocupantes a Respeito da Saúde do Homem.....	26
2.5.2 Tendências Preocupantes a Respeito da Saúde da Mulher .....	28
<b>3.0 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS DISRUPTORES ENDÓCRINOS NA</b>	
<b>ÁGUA .....</b>	<b>29</b>
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE AS TÉCNICAS ANALÍTICAS .....	29
3.2 A CROMATOGRAFIA LÍQUIDA .....	32
<b>4.0 LAGO PARANOÁ .....</b>	<b>36</b>
<b>5.0 METODOLOGIA .....</b>	<b>40</b>
5.1 INTRODUÇÃO .....	40
5.2 EXPERIMENTO.....	40
5.2.1 Preparo .....	40
5.2.2 Coleta de Amostras.....	44
5.2.3 Equipamento Utilizado .....	48
5.2.4 Condições Cromatográficas para as Análises .....	49
<b>6.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>50</b>
6.1 INTRODUÇÃO .....	50
6.2 RESULTADOS.....	50
6.2.1 Gráficos e Tabelas dos Resultados .....	50
6.3 DISCUSSÃO .....	55
6.3.1 Confiabilidade do Método de Análise .....	55
6.3.2 Discussão dos Resultados .....	55
<b>7.0 CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES .....</b>	<b>56</b>

7.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	56
<b>8.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXO A – CROMATOGRAMAS OBTIDOS PELO HPLC/MS/MS.....</b>	<b>58</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 – Estrutura química do 17 $\beta$ -estradiol (Warhurst, 2004, apud Castanheira, 2010). ...	3
Figura 2.2 – Estruturas moleculares dos estrógenos (livres e conjugados) naturais e sintéticos (BARCELÓ et al., 2003, apud CASTANHEIRA, 2010).....	4
Figura 2.3 – Localização das glândulas endócrinas no corpo humano (ISTAS, 2004, apud CASTANHEIRA, 2010). .....	5
Figura 2.4 – Comportamentos dos disruptores endócrinos comparados com o comportamento de um hormônio normal (produzido pelo corpo) (WARHUST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). .....	10
Figura 2.5 – Estrutura química da estrona (WANG et al., 2003 apud CASTANHEIRA, 2010). .....	18
Figura 4.1 – Foto de satélite da região do Lago Paranoá (Google Maps – Consultado em maio/2013).....	36
Figura 4.2 – Qualidade da água do Lago Paranoá em 04/11/2007 (CAESB - <a href="http://www3.caesb.df.gov.br/_conteudo/produtosServicos/qualidadeAgua.asp?id=1#Mapa">http://www3.caesb.df.gov.br/_conteudo/produtosServicos/qualidadeAgua.asp?id=1#Mapa</a> consultado em 05/2013.) .....	38
Figura 4.3 – Mapa da Bacia Rio Paranoá mostrando o gradiente dos cinco tipos de comunidades de peixes associados aos diferentes ambientes físicos de sua área de drenagem. (FONSECA, F., 2001).....	39
Figura 5.1 – Frascos de vidro âmbar com tampas de plástico.....	41
Figura 5.2 – Destilador DeLeo do Laboratório de Solos e Materiais do UniCEUB. ....	41
Figura 5.3 – Pisseta de 500 ml.....	42
Figura 5.4 – Frascos limpos.....	42
Figura 5.5 – Bandeja de ferro .....	43
Figura 5.6 – Bandeja de ferro com os frascos distribuídos. ....	43
Figura 5.7 – Estufa DeLeo regulada a 100°C. ....	44
Figura 5.8 – Local de coleta no Pontão do Lago Sul. ....	44
Figura 5.9 – Ponto com características de lançamento de esgoto doméstico.....	45
Figura 5.10 – Pontos marcados na margem. ....	45
Figura 5.11 – Pontos de coleta das amostras em relação aos pontos de lançamento de esgoto e sentido da corrente. ....	46
Figura 5.12 – Equipamento e modo de coleta. ....	46
Figura 5.13 – Seringa com Filtro de Seringa PTFE de 13 mm X 0,45 $\mu$ m acoplado e frasco de 1,5 ml.....	47
Figura 5.14 – Bandeja com capacidade de 48 frascos a ser inserida no HPLC/MS/MS. ....	47



Figura 5.15 – Foto esquemática do equipamento de cromatografia líquida acoplado ao espectrômetro de massas do Laboratório Nacional Agropecuário – Goiás (LANAGRO – GO). .....	48
Figura 6.1 – Curva de calibração do método analítico. ....	51
Figura 6.2 – Concentração de estrona nos pontos de coleta em µg/L .....	54
Figura A1 – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa... 58	
Figura A2 – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa... 59	
Figura A3 – Cromatogramas nº3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa... 60	
Figura A4 – Cromatogramas nº4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa... 61	
Figura A5 – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa... 62	
Figura A6 – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa... 63	
Figura A7 – Cromatograma nº7 obtido pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa. .... 63	
Figura A8 – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa. ... 64	
Figura A9 – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa. ... 65	
Figura A10 – Cromatogramas nº3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa. 66	
Figura A11 – Cromatogramas nº4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa. 67	
Figura A12 – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa. 68	
Figura A13 – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa. 69	
Figura A14 – Cromatogramas nº7 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa. 69	
Figura A15 – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa... 70	
Figura A16 – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa... 71	
Figura A17 – Cromatogramas nº3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa... 72	
Figura A18 – Cromatogramas nº4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa... 73	
Figura A19 – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa... 74	
Figura A20 – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa... 75	
Figura A21 – Cromatogramas nº7 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa... 75	
Figura A22 – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa. ... 76	
Figura A23 – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa. ... 77	
Figura A24 – Cromatogramas nº3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa. ... 78	
Figura A25 – Cromatogramas nº4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa. ... 79	
Figura A26 – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa. ... 80	
Figura A27 – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa. ... 81	

Figura A28 – Cromatogramas nº7 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa. ...	81
Figura A29 – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa. ...	82
Figura A30 – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa. ...	83
Figura A31 – Cromatogramas nº3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa. ...	84
Figura A32 – Cromatogramas nº4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa. ...	85
Figura A33 – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa. ...	86
Figura A34 – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa. ...	87
Figura A35 – Cromatogramas nº7 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa. ...	87

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 – Relação existente entre as glândulas endócrinas, os hormônios e as funções ou efeitos fisiológicos causados por elas. ....	7
Tabela 2.2 – Disruptores Endócrinos, seu uso e ocorrência.....	11
Tabela 2.3 – Alguns disruptores endócrinos e seus efeitos em humanos. ....	12
Tabela 2.4 – Taxa do potencial estrogênico dos disruptores endócrinos comparados com o estradiol (GAIDO et al., 1997; apud KANDA, 2003 apud CASTANHEIRA, 2010). ....	22
Tabela 3.1– Vantagens e desvantagens de alguns métodos para a detecção de disruptores endócrinos no meio aquático (CASTANHEIRA, 2010).....	31
Tabela 4.1 – Características gerais do Lago Paranoá. ....	36
Tabela 4.2 – Efeitos hidrológicos da urbanização no Lago Paranoá. ....	37
Tabela 6.1 – Concentrações referentes a injeções de do padrão de estrona para curva de calibração e controle de qualidade do método antes de injetar as amostras do Lago Paranoá. ....	50
Tabela 6.2 – Concentrações referentes a injeções de do padrão de estrona para curva de calibração e controle de qualidade do método depois de injetar as amostras do Lago Paranoá. ....	51
Tabela 6.3 - Cromatogramas referentes à média das concentrações encontradas nas injeções das amostras coletadas com cinco repetições. ....	51
Tabela 6.4 – Resultados HPLC/MS/MS .....	53

## 1.0 INTRODUÇÃO

A presença humana, assim como suas atividades, contribui para a deterioração do meio ambiente devido à grande quantidade de resíduos químicos despejados no meio aquífero. Algumas dessas substâncias, mesmo que em concentrações muito pequenas, são altamente resistentes e causam sérios efeitos aos animais e até mesmo à saúde humana (KURAMITZ et al., 2002 apud CASTANHEIRA, 2010). Os disruptores endócrinos se encaixam nessas características.

Segundo a Comissão das Comunidades Europeias, um disruptor endócrino é uma substância exógena ou uma mistura que altera a(s) função(ões) do sistema endócrino e conseqüentemente causa efeitos adversos a saúde de um indivíduo ou em sua descendência ou em parte de sua população (CEC, 1999, apud CASTANHEIRA, 2010). Médicos já identificaram que, em países mais industrializados, houve uma queda na capacidade reprodutiva humana, sugerindo uma diminuição na contagem de espermatozoides em diferentes países, como a Dinamarca, França, Bélgica, Grã-Bretanha, Holanda e Canadá. Identificaram também um aumento na incidência de alterações dos órgãos genitais durante o seu desenvolvimento, estando entre essas alterações a diminuição testicular, um aumento na frequência de criptorquia e da hipospádia, a menstruação cada vez mais precoce, a endometriose e também o câncer de órgãos dependentes do sistema hormonal (como o câncer de mama, próstata, testículo e ovário) sendo este último uma grande causa de mortalidade no mundo ocidental (ARANDA, 2004, apud CASTANHEIRA, 2010).

Apesar dos efeitos dos disruptores endócrinos à saúde humana se apresentarem somente à longo prazo, esse aumento de substâncias químicas disruptoras endócrinas nos rios vem despertando a atenção da comunidade científica. Estrógenos esteroides como o etinil estradiol (hormônio sintético), o estradiol e a estrona (hormônios naturais) possuem, em sua grande maioria, um potencial estrogênico maior que de outras substâncias químicas disruptoras, sendo o seu impacto frequentemente mais forte, mesmo que em concentrações mais baixas (NGHIEM et al., 2002, apud CASTANHEIRA, 2010).

Waissmann (2002), apud Castanheira (2010) relata algumas das medidas tomadas pelo governo brasileiro como preventivas aos disruptores endócrinos, entre elas: a construção de um laboratório de referência para a análise de contaminantes orgânicos persistentes (POPs), a proibição do uso de vários POPs no Brasil e um aumento na rigorosidade das exigências para o registro de agrotóxicos pela *Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)*.

Segundo a Comissão das Comunidades Europeias (CEC,1999, apud CASTANHEIRA, 2010), existem provas significantes, com dados retirados de estudos realizados em laboratório, que afirmam que, apesar dos efeitos do potencial estrogênico de várias substâncias só surtirem efeitos em zonas gravemente contaminadas, existe também a possibilidade de ocorrência global desses efeitos.

Conforme Schäfer and Waite (2002) apud Castanheira (2010), os estrógenos naturais e sintéticos, presentes nos excrementos e urina de homens e mulheres, e cujos níveis aumentam ainda mais durante a gestação e tratamentos de reposição hormonal, estão presentes em muitas águas e efluentes domésticos, apresentam uma alta persistência no ambiente e um alto potencial disruptor endócrino. A estrona, objeto deste trabalho, está dentro dos hormônios que causam a maior preocupação. Essas substâncias podem ser encontradas em praticamente todas as águas residuais municipais, podendo conseqüentemente aparecer em águas superficiais utilizadas para o abastecimento da população, o que torna o estudo deste disruptor endócrino de grande importância com relação à saúde pública, sob o enfoque da qualidade da água.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo Principal**

O objetivo deste trabalho é verificar e quantificar a presença de estrona na água superficial de uma das margens do Lago Paranoá em Brasília – DF por cromatografia líquida de alto desempenho acoplada ao espectrômetro de massas / massas.

### **1.1.2 Objetivo Específico**

O objetivo específico deste trabalho é analisar quinze amostras coletadas próximas ao lançamento de esgoto no Lago Paranoá para verificar a presença de estrona, utilizando os equipamentos do Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) localizado em Goiânia / Goiás, onde o método foi validado por Castanheira (2010).

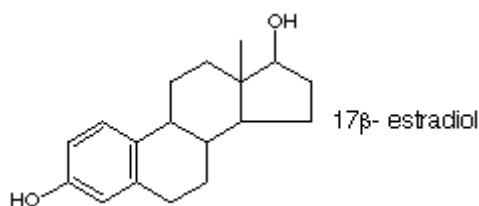
Caso seja verificada a presença de estrona, quantificá-la dentro do limite de detecção do método analítico.

## 2.0 SISTEMA ENDÓCRINO E DISRUPTORES ENDÓCRINOS

### 2.1 SISTEMA ENDÓCRINO

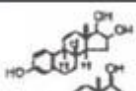
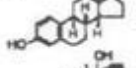
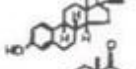
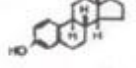
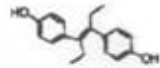
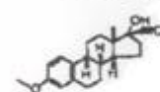
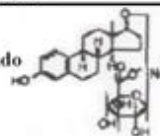
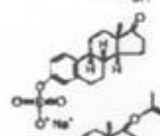
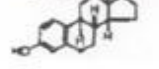
O sistema endócrino, também conhecido como sistema hormonal, está presente em todos os mamíferos, aves, peixes e vários outros seres vivos. Este sistema é constituído por glândulas distribuídas pelo corpo. Hormônios são produzidos por essas glândulas e liberados na corrente sanguínea ou no fluido que envolve as células e receptores em vários órgãos e tecidos, que reconhecem e respondem a esses hormônios (EPA, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Glândulas como a tireoide, gônadas e as glândulas suprarrenais, mediante os hormônios que produzem (tiroxina, testosterona, estrogênio, adrenalina etc.), ajudam a orientar o desenvolvimento, crescimento, reprodução e comportamento dos indivíduos e dos animais (CEC, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

O sistema endócrino tem como função coordenar e regular, através dos hormônios, várias atividades vitais, incluindo o metabolismo, reprodução ou o desenvolvimento embrionário e fetal. Os hormônios são substâncias que, mesmo em doses muito baixas, atuam com grande eficácia (parte por bilhão - ppb). Uma alteração no tempo ou na ação dos hormônios durante o desenvolvimento embrionário pode causar graves problemas para a descendência (ISTAS, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Os estrógenos, como estradiol, cuja estrutura é mostrada na Figura 2.1, são os hormônios que estimulam o desenvolvimento e a manutenção das características sexuais femininas, junto com a maturação e função dos órgãos sexuais femininos. As substâncias químicas que podem imitar o estrogênio são conhecidas como estrógenos sintéticos. Os andrógenos, como a testosterona, têm funções semelhantes a dos hormônios femininos, porém atua nos homens (WARHURST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). A Figura 2.2 mostra as estruturas moleculares de estrógenos naturais e sintéticos.



**Figura 2.1** – Estrutura química do 17 $\beta$ -estradiol (Warhurst, 2004, apud Castanheira, 2010).

Os hormônios, que são liberados pelas glândulas, se conectam com as células contendo os receptores correspondentes ou possuindo estes receptores em sua superfície, espalhando as mensagens químicas desejadas pelo corpo. Para serem eficientes, os hormônios precisam se conectar aos receptores compatíveis. Somente as células com os receptores compatíveis são capazes de responder aos estímulos enviados pelos hormônios. Ao se unirem receptor e hormônio, as informações do hormônio são recebidas e repassadas, alterando os genes que formam uma nova proteína ou modificando as proteínas existentes na célula. As suas ações desencadeiam reações pelo corpo inteiro (EPA, 2004, apud CASTANHEIRA, 2010). Podemos citar algumas reações do corpo aos estímulos desses hormônios: manter a estabilidade interna, como a excreção e equilíbrio de água e sais, nutrição e metabolismo; reação a estímulos externos; regulação do crescimento, desenvolvimento e reprodução; produção, utilização e armazenamento de energia (ISTAS, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Já foram identificados por pesquisadores mais de cinquenta hormônios em seres humanos e outras espécies vertebradas (EPA, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

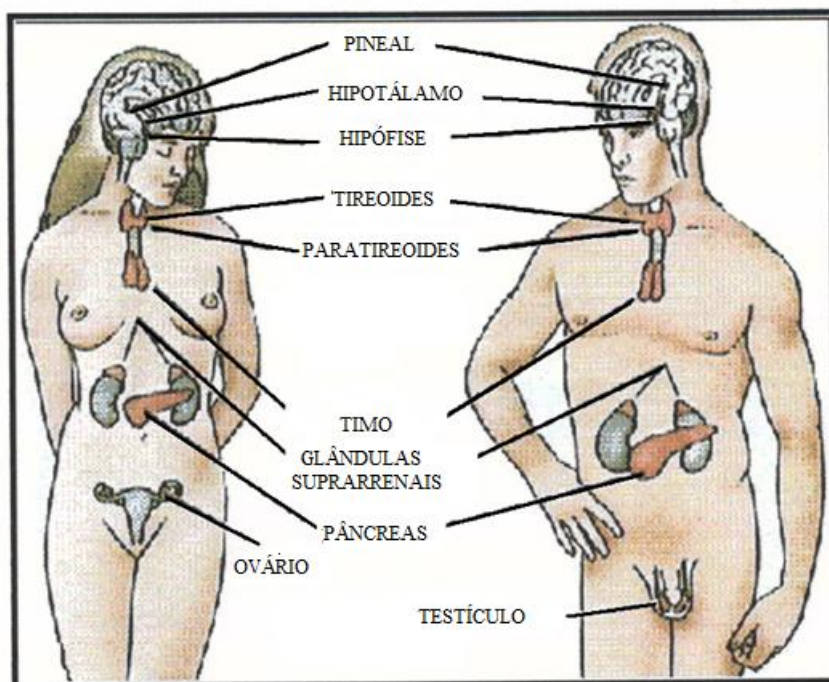
ESTRÓGENOS NATURAIS			
1	Estriol		Pm: 288,39
2	Estradiol		Pm: 272,39
3	Ethynyl estradiol		Pm: 296,41
4	Estrona		Pm: 270,37
5	Dietilestilbestrol		Pm: 268,35
6	Mestranol		Pm: 310,44
ESTRÓGENOS SINTÉTICOS			
7	Estradiol-17-glucuronídeo		Pm: 470,50
8	Estrona-3-sulfato		Pm: 372,40
9	Estradiol-17-acetato		Pm: 314,40

**Figura 2.2** – Estruturas moleculares dos estrógenos (livres e conjugados) naturais e sintéticos (BARCELÓ et al., 2003, apud CASTANHEIRA, 2010).

Os principais órgãos do sistema hormonal são os ovários, os testículos, as glândulas pituitárias, tireoides e as glândulas suprarrenais. Todos os processos biológicos do corpo, desde sua concepção até sua fase final, são regulados pelo sistema hormonal. O sistema hormonal controla inclusive o desenvolvimento do sistema nervoso, desenvolvimento e funções do sistema reprodutivo, metabolismo e nível de açúcar no sangue (EPA, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

### 2.1.1 Glândulas Endócrinas

As glândulas endócrinas são as que recebem os sinais das células nervosas ou mesmo de outras glândulas, com informações sobre temperatura, medo, fome, crescimento, entre outros estímulos. A Figura 2.3 indica a localização das glândulas endócrinas no corpo humano feminino e masculino (ISTAS, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).



**Figura 2.3** – Localização das glândulas endócrinas no corpo humano (ISTAS, 2004, apud CASTANHEIRA, 2010).

De uma maneira simplificada, o hipotálamo regula a hipófise anterior e posterior, localizadas junto ao cérebro. A hipófise é a glândula responsável pelo controle de várias funções, entre elas a secreção das gônadas. As adrenais, tireoides e paratireoides são responsáveis pelo controle ou estímulo do crescimento, formação óssea, temperatura, equilíbrio de água e sal, entre outras funções orgânicas. O pâncreas por sua vez, separa os



hormônios responsáveis pela regulação dos níveis de glicose, glicogênio e lipídios, sendo os principais a glucagon e a insulina. Os responsáveis pelo comportamento sexual, hormônios e características sexuais, são os ovários e os testículos, os quais os principais hormônios liberados, respectivamente, são o estrogênio e o androgênio (NOGUEIRA, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

Os hormônios responsáveis pelo desenvolvimento das características sexuais femininas são os hormônios estrógenos e os responsáveis pelas características sexuais masculinas são os andrógenos, sendo a testosterona o principal hormônio andrógeno. Os estrógenos são produzidos principalmente pelos ovários e em pequenas quantidades pelas glândulas suprarrenais. Já a testosterona é produzida nos testículos. A tiroxina e a *triiodothyronine*, os principais hormônios na corrente sanguínea, são produzidos pelas glândulas tireoides. Esses hormônios produzidos pela tireoide são responsáveis pelo estímulo das células corporais e controle dos processos biológicos como o crescimento, reprodução, desenvolvimento e metabolismo (EPA, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Cada glândula produz uma quantidade específica e muito pequena de hormônios, sendo estes liberados à corrente sanguínea em momentos adequados e específicos (ISTAS 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

### **2.1.2 Hormônios**

As glândulas endócrinas liberam os hormônios ao receberem determinados sinais. Esses hormônios transportam instruções a células específicas espalhadas pelo corpo, podendo elas estar próximas ou distantes das glândulas endócrinas. Esse transporte é feito pelo sangue (ISTAS, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Os hormônios são substâncias extremamente eficazes, ou seja, mesmo em concentrações extremamente pequenas, podendo apenas ser medidos por métodos analíticos sensíveis, já produzem efeitos no organismo (ISTAS, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Os hormônios controlam diversas funções e de diversos graus de complexidade. Podemos citar as seguintes funções, segundo ISTAS (2004) apud CASTANHEIRA (2010):

- Controle dos níveis metabólicos;
- Regulagem do desenvolvimento das glândulas mamárias;
- Transmissão de informações;
- Controle de limites superiores e inferiores das funções metabólicas;

- Fornecimento de informações de retroalimentação para controle do sistema;
- Controle do desenvolvimento embrionário.
- Controle dos sistemas hormonais complexos, como o do ciclo menstrual;

A Tabela 2.1 relaciona as principais funções dos diferentes hormônios com as glândulas que os secretam.

**Tabela 2.1** – Relação existente entre as glândulas endócrinas, os hormônios e as funções ou efeitos fisiológicos causados por elas.

Hormônio	Glândulas Endócrinas	Funções ou Efeitos Fisiológicos
Oxitocina	Lóbulo posterior (hipófise)	Estimula as contrações do útero durante o parto.
Vasopressina	"	Estimula as contrações dos músculos lisos. É antidiurética.
Tiroxina	Tireoides	Controla o metabolismo. Sua deficiência causa bócio, cretinismo. Seu excesso causa a exoftalmia.
Calcitonina	Tiroides – timo – paratireoides	Antagonista da paratormona
Somatotropina	Lóbulo anterior (hipófise)	Regula o crescimento.
Adrenocorticotropina	Lóbulo anterior "	Estimula a produção dos hormônios da glândula suprarrenal.
Tirotropina	"	Controla a tireoide e estimula a produção de tiroxina.
Foliculoestimulante (FSH)	"	Estimula a formação do folículo de Graaf de ovário.
Luteinizante (LH)	"	Regula a produção de testosterona e progesterona.
Prolactina (LTH)	Lóbulo anterior hipófise	Estimula a produção de leite.
Paratormona	Paratireoides	Regula o metabolismo do cálcio e do fósforo.
Insulina	Células das ilhotas de Langherans	Controla a concentração de açúcar no sangue. Sua deficiência causa a diabetes.

Glucagon	Células alfa das ilhotas de Langherans	Converte o glicogênio do fígado em glicose.
Cortisona	Córtex adrenal	Estimula a conversão de proteínas em hidratos de carbono.
Aldosterona	Córtex adrenal	Regula o metabolismo do sódio e potássio.
Adrenalina	Medula adrenal	Controla as reações perante situações de perigo, estimula as batidas do coração, dilatação das pupilas.
Noradrenalina	Medula adrenal	Contraí os vasos arteriais.
Testosterona	Testículos	Desenvolvimento do sexo masculino, aparição de características sexuais masculinas.
Androsterona	Células intersticiais do testículo	Contribui para a aparição de características sexuais masculinas secundárias.
Estradiol	Folículo do ovário	Estimula as características sexuais femininas e influi no comportamento sexual da mulher.
Progesterona	Folículo do ovário	Regula o ciclo menstrual, prepara o útero para a nidação, prepara a lactação.

Fonte: ISTAS, 2004 – Curso de Introdução aos Disruptores Endócrinos (CASTANHEIRA, 2010).

## 2.2 DISRUPTORES ENDÓCRINOS

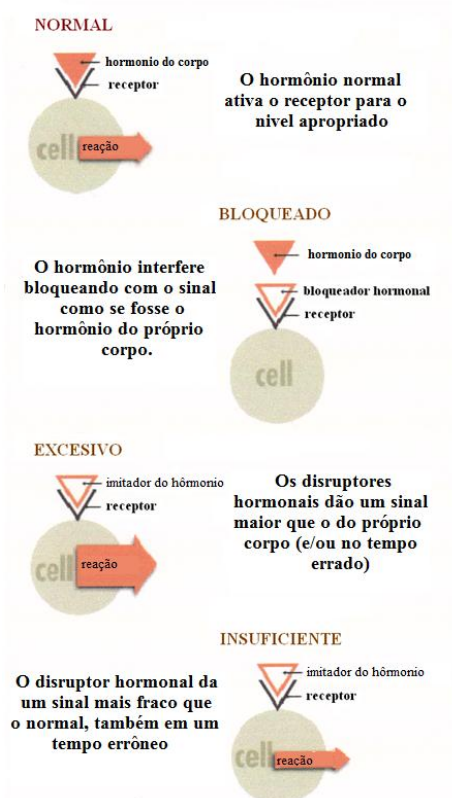
A Comissão das Comunidades Europeias (CEC, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010) define um disruptor endócrino como uma substância ou mistura que altera uma ou mais funções do sistema endócrino, causando efeitos não naturais à saúde do indivíduo. Para Kavlock et al (1996) apud Castanheira (2010), disruptores endócrinos atuam como agentes que interferem na produção, liberação, transporte, metabolismo, união, ação e eliminação de hormônios naturais no corpo, sendo esses hormônios também responsáveis pela manutenção e regulação dos processos ligados ao desenvolvimento e à homeostasia.

É comprovado que o funcionamento normal do sistema endócrino pode ser afetado por uma série de substâncias químicas naturais. O sistema hormonal pode ser afetado de diversas maneiras. Algumas substâncias imitam o hormônio natural, fazendo o corpo responder em demasia a esses estímulos (anabolizantes, muito utilizados em academias para obter uma maior hipertrofia, são um exemplo deste caso), ou responder em momentos inadequados (por exemplo, na produção de insulina em momentos inadequados). Estes hormônios também podem impedir que receptores detectem determinados hormônios, podendo afetar o crescimento e desenvolvimento normal de um indivíduo. Problemas na tireoide, como a superprodução e subprodução de hormônios, também são causados por substâncias disruptoras endócrinas. Alguns disruptores endócrinos são utilizados em grande escala e, quase que diariamente, pela sociedade. Um exemplo típico são as pílulas anticoncepcionais.

Segundo Warhurst (2004) apud Castanheira (2010), podem ser citados também como meios de interrupção ou perturbação do sistema hormonal, quando os disruptores endócrinos:

- 1) Atuam como um estrógeno, unindo e ativando o receptor estrogênico;
- 2) Atuam como um anti-estrógeno, unindo ao receptor estrogênico, mas não o ativando;
- 3) Unem-se a outros receptores;
- 4) Alteram as características normais do metabolismo dos hormônios naturais;
- 5) Modificam a quantidade de receptores hormonais das células; ou
- 6) Variam a formação de hormônios naturais.

A Figura 2.4 ilustra alguns comportamentos hormonais. O primeiro se refere ao hormônio normal e o restante atuando como disruptores endócrinos.



**Figura 2.4** – Comportamentos dos disruptores endócrinos comparados com o comportamento de um hormônio normal (produzido pelo corpo) (WARHUST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Existem vários fatores que influenciam um disruptor hormonal químico, como por exemplo: um fator biológico, incluindo a natureza, o tempo de ação, a sua captação e a distribuição em meio aquoso (WARHURST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Muitas plantas que contêm estrógenos, como os vegetais fitoestrógenos, demonstram efeitos favoráveis à saúde humana, prevenindo contra doenças cardiovasculares, osteoporose e algumas formas de câncer. Acredita-se que essas substâncias passam muito pouco tempo no organismo, evitando assim o acúmulo progressivo delas nos tecidos, como ocorre com algumas substâncias estrogênicas artificiais. Porém, é possível que grandes mudanças de estilos de vida ou de hábitos alimentares e um grande consumo desses vegetais, possam causar certos riscos à saúde (CEC, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

Os estrógenos endógenos, produzidos dentro do corpo do indivíduo, principalmente estradiol e a testosterona, sofrem com todos os tipos de potenciais estrogênicos exógenos, como os estrógenos sintéticos (farmacêuticos), os fitoestrógenos (produtos naturais) e xenoestrógenos (químicos industriais), uma vez que estes possuem grande semelhança com os

estrógenos endógenos tanto à nível estrutural quanto funcional. (NOGUEIRA, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

Os efeitos causados pelos disruptores endócrinos variam de acordo com as espécies e com as características bem específicas de cada substância. Porém, pode-se listar quatro efeitos gerais causados pelos disruptores:

1. Os efeitos dos disruptores podem ser diferentes sobre um organismo dependendo do seu estágio de desenvolvimento, seja ele um embrião, feto, recém-nascido ou adulto.
2. Os efeitos à exposição aos contaminantes se manifestam com mais frequência na prole do que no progenitor exposto.
3. O atual estágio de desenvolvimento de um organismo é decisivo para determinar o caráter, a gravidade e a evolução de sua exposição a contaminantes; e
4. Mesmo que a exposição aos contaminantes ocorra no desenvolvimento embrionário do organismo, é possível que suas manifestações só venham a aparecer na fase madura.

Essas alterações vêm ganhando embasamento e veracidade em observações ambientais feitas em estudos experimentais e de laboratório (ARANDA, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

A Tabela 2.2 indica alguns disruptores endócrinos e seus principais usos e ocorrências

**Tabela 2.2 – Disruptores Endócrinos, seu uso e ocorrência**

<b>Disruptores endócrinos</b>	<b>Uso e/ou ocorrência</b>
2,4-D; 2,4,5-T; Alacloro; Atrazina	Herbicidas
Cloreto de Cádmio; Metiram; Mancozeb; Maneb; Zineb (os 3 últimos contém etilenotriuréia);	Fungicidas
Carbaril; Clordano; Dieldrin; DDT; Endosulfan; Heptacloro; HCH; Metoxicloro; Mirex; Paration; Piretróides; Toxafeno	Inseticidas
Aldicarb; DBCP	Nematocidas
Acilamida	Tratamento de água e esgoto; floculante; produção de papel e celulose; impressão definitiva de tecidos
Ascarel (PCB)	Óleo isolante dielétrico; papel copiativo não-carbono, adesivos, lubrificante para lâminas de corte, tintas, revestimento interno de silos para estocagem de grãos e leite nos anos 80
Benzo(a)antraceno; Benzo(a)pireno	Alcatrão; Asfalto; Coqueiras; Emissões de diesel; Fundição de alumínio; graxas e óleos minerais
Bisfenol A	Resinas epóxi; revestimento interno de latas para alimentos diversos
BTX (Benzeno, tolueno e xilenos)	Tintas, solventes, gasolina, thinner, removedores
Cádmio	Ligas metálicas; solda; pigmentos; estabilizante de plásticos; baterias; cinzas de incineradores; chapas galvanizadas
Chumbo	Baterias; pigmentos; soldagem; ligas; tintas; primers; gasolina de aviação
Compostos pirimidínicos (Metirimol, Etirimol e Ciprodinil)	Fungicidas aplicados em frutas e cereais
Dibenzo- <i>p</i> -dioxinas policloradas e Dibenzofuranos policlorados	Incineração de resíduos urbanos e de resíduos perigosos; produção e queima de pesticidas, como pentaclorofenol, agente laranja, benzenos clorados;

	aciarias; queima de carvão; fundição de alumínio; produção de PVC; emissões de diesel
DBPC (Dibromocloropropano)	Nematicida
Dissulfeto de Carbono	Fabricação de celofane e de rayon; solvente para ceras, óleos, lacas e resinas; vulcanização a frio de borrachas; componente de certos tipos de inseticidas, parasiticidas e herbicidas
Estireno	Fabricação de plásticos (ex.: copinhos descartáveis) e borrachas diversas
Fenilfenóis	Desinfetantes
Ftalatos	Plastificantes do Cloreto de Polivinila e do Acetato de Celulose; vernizes; inseticidas; cosméticos
HCB (Hexaclorobenzeno)	Contaminante em processos de produção de organoclorados
Manganês	Produção de ferro e aço; eletrodos para solda; tintas; fertilizantes
Mercúrio	Indústria de cloro-soda; aparelhos de medição; garimpos; agrotóxicos; tintas
Óxido de Etileno	Esterilização de equipamentos cirúrgicos
Pentaclorofenol	Conservante de madeiras, fungicida, bactericida; tintas
Soldagem	Oficinas, indústrias diversas, montagem industrial, caldeiraria, funilaria
Triclorfon	Medicamento anti-helmíntico

Fonte: GUIMARÃES, 2011– Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional.

Substâncias com propriedades disruptoras estão presentes em diversos produtos do dia a dia da sociedade moderna, e cada ano, mais substâncias são enquadradas como disruptoras endócrinas. O bisfenol A é um exemplo de disruptor endócrino que apresenta grande preocupação, pois está em contato direto com alimentos, podendo ser absorvido por estes.

A Tabela 2.3 indica alguns dos efeitos que estes disruptores endócrinos causam ao corpo humano.

**Tabela 2.3** – Alguns disruptores endócrinos e seus efeitos em humanos.

Disruptores endócrinos	Efeitos em humanos
Atrazina	Redução na qualidade do esperma (SWAN, 2003)
Ascarel (PCB)	Declínio da função do sistema imunológico e aumento de doenças infecciosas (PENTEADO;VAZ, 2001); acumula-se no leite materno (WHO, 2001); Endometriose (SANTAMARTA, 2001); Atravessa a barreira placentária e chega ao feto; crianças nascidas de mães com PCB no sangue têm peso reduzido e QI inferior (BAIRD, 2002); Acumula-se nos tecidos do feto (NOGUEIRA et al, 1987); Filhos de mães que ingeriram óleo contaminado com PCB tiveram o tamanho do pênis reduzido quando na puberdade (COLBORN et al, 2002)
Benzo(a)antraceno; Benzo(a)pireno	Danos aos oócitos; alteram a ação de linfócitos; são mutagênicos (PATNAIK, 2002)
Bisfenol A	Substitui a recepção do estrogênio. Diminui a ovulação; aumento de secreção da prolactina (WOZNIAC et al, 2005)

BTX (Benzeno, tolueno e xilenos)	Anomalias menstruais, como aumento do sangramento e dos intervalos do ciclo (MENDES, 1997); Na corrente sanguínea, fixam-se nos glóbulos vermelhos (AZEVEDO & CHASIN, 2003)
Carbaril	Inibidor de acetilcolinesterase, causador de hipotireoidismo (LARINI, 1999); Redução na contagem de espermatozoides e presença excessiva de espermatozoides anormais (MENDES, 1997)
Cádmio	Câncer de próstata (CARDOSO & CHASIN, 2001); Concentra-se no pâncreas, testículos, tireoide e glândulas salivares (DELLA ROSA & GOMES, 1988); Acumula-se no leite materno (WHO, 2001); Atrofia testicular; redução no volume do esperma, tumores em testículos (PATNAIK, 2002)
Chumbo	Redução na qualidade e quantidade de esperma (MOREIRA & MOREIRA, 2004); Hipotireoidismo decorrente de alterações funcionais da hipófise (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001); Acumula-se no leite materno (WHO, 2001); Atrofia testicular; reduz a quantidade do esperma (PATNAIK, 2002); Abortamento espontâneo (MENDES, 1997); Acumula-se na tireoide, adrenais, pituitária, testículos e ovários (TEVES, 2001); Passa pela placenta entre a 12ª e 14ª semanas, atinge o cérebro do feto; aumento significativo na taxa de abortamentos, natimortalidade, prematuridade, diminuição no crescimento pós-natal e aumento na taxa de malformações (PERES et al, 2001)
Clordano; Dieldrin; DDT; Endosulfan	Acumulam-se no leite materno (WHO, 2001); Criptorquidia, hipospadia (SANTAMARTA, 2001); Aumento de irregularidades menstruais (MENDES, 1997)
Cloreto de Cádmio; Metiram; Mancozeb; Maneb; Zineb (os 3 últimos contém etilenotioúrea – ETU)	Hipotireoidismo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001)
Compostos pirimidínicos (Metirimol, Etirimol e Ciprodinil)	Inibem a produção de hormônios esteroides (COLBORN et al, 2002)
Dibenzo-p-dioxinas policloradas e Dibenzofuranos policlorados	Acumulam-se no leite materno (WHO, 2001); Alteração nas glândulas sebáceas (como cloroacne), suprime as funções imunológicas (PATNAIK, 2002); Redução do número de espermatozoides (COLBORN et al, 2002); Neoplasia de tireoide (DAMSTRA et al, 2002); Disfunção neurofisiológica bilateral nos lobos frontais do cérebro; acumula-se na tireoide (SANTOS, 2004)
DBPC (Dibromocloropropano)	Diminuição da motilidade e da produção de espermatozoides (BOWLER & CONE, 2001)
Dissulfeto de Carbono	Disruptor no balanço hormonal entre o cérebro, glândula pituitária e ovários, levando a distúrbios menstruais (BATSTONE, 2001)
Estireno	Teratogênico (LARINI, 1997) Abortamento espontâneo; filhos de mulheres expostas ao estireno têm peso inferior (MENDES, 1997)



Ftalatos	Redução na qualidade do esperma; teratogênico; causam demasculinização e feminilização (MCGINN, 2004)
HCB (Hexaclorobenzeno)	Acumula-se no leite materno (WHO, 2001); Hipotireoidismo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001); Supressão imunológica (PATNAIK, 2002); Esteatose, hepatomegalia (PATNAIK, 2002)
Manganês	Causa danos ao DNA dos linfócitos; Mal de Parkinson (MARTINS & LIMA, 2001); Impotência (BOWLER & CONE, 2001); Concentra-se na tireoide, pituitária, suprarenais e pâncreas (TEVES, 2001)
Mercúrio	Ciclo menstrual irregular, menos ovulações, teratogênico (CARDOSO, 2002); Acumula-se no leite materno (WHO, 2001); Acumula-se no pâncreas, testículos e próstata (TEVES, 2001); Atravessa a barreira placentária e hematoencefálica, na forma de metilmercúrio (AZEVEDO & CHASIN, 2003); Aborto espontâneo, natimortos, Síndrome de Paralisia Cerebral, danos ao cerebelo em filhos de mães que consumiram peixes com metilmercúrio (AZEVEDO, 2003)
Óxido de Etileno	Aborto espontâneo em profissionais que esterilizam instrumentos (XELEGATI & ROBAZZI, 2003)
PCF (Pentaclorofenol)	Glândulas sudoríparas, cloroacne, porfiria cutânea tardia, pápulas, pústulas (VIEIRA et al, 1981); Concentra-se nas adrenais; hepatomegalia; aumento de atividade da aril-hidrocarboneto hidroxilase (AHH), resultando em mutagenicidade e carcinogenicidade irreversíveis (LARINI, 1999); Anemia aplástica, citopenia, agranulocitose, cloroacne, disruptor endócrino (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001)
Soldagem	Espermatozoides com formato anormal (BATSTONE, 2001)
Triclorfon	Diminuição de espermatozoides e de fluido seminal, espermatozoides com formato anormal (SPRITZER et al, 2001)

Fonte: GUIMARÃES, 2011– Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional.

Grande parte das substâncias citadas causam danos duradouros ou até permanentes ao sistema endócrino e principalmente o sistema reprodutivo humano. Os disruptores endócrinos podem também causar danos à saúde dos filhos das pessoas expostas a essas substâncias.

### 2.2.1 Classificação e Origem dos Disruptores Endócrinos

Existem várias substâncias químicas que atuam como disruptores endócrinos e várias publicações recentes com novas substâncias. Portanto, é quase impossível listar todas essas substâncias. Porém, segundo Warhurst (2004 apud Castanheira, 2010), elas podem ser

divididas em três grandes grupos: substâncias químicas industriais, hormônios naturais e pesticidas.

### **2.2.1.1 Substâncias Químicas Industriais**

São definidas como substâncias químicas industriais, conforme Castanheira (2010):

- 1) Os retardadores de chama que contém bromo são usados para dar a propriedade de resistência ao fogo em plásticos e tecidos. Vários desses compostos são persistentes, bioacumulativos e disruptores hormonais.
- 2) O hydroxyanisol butirato (BHA) é um alimento antioxidante. Possui propriedades ligeiramente estrogênicas que favorecem o surgimento do câncer de mama.
- 3) Os *parabenos* são compostos utilizados frequentemente como conservantes em alguns cremes dentais e cosméticos, sendo vários compostos desse grupo imitadores estrogênicos.
- 4) Os ftalatos são muito utilizados como plastificantes em determinados produtos como o PVC, porém alguns deles possuem propriedades tóxicas e podem agir como disruptores endócrinos.
- 5) O bisfenol A é um dos compostos utilizados em pinturas metálicas de recipientes como as de comida enlatada e esmaltes usados em tratamentos dentários. Já é comprovado que as substâncias estrogênicas presentes na tinta podem passar para os vegetais, podendo assim causar o câncer de mama.
- 6) Os aquilfenóis e seus derivados possuem diversos usos. São usados como detergentes industriais e, com exceção da Europa, como detergentes domésticos. Essas substâncias vêm apresentando características disruptoras.
- 7) Os bisfenilos policlorados e dioxinas são produzidos frequentemente durante a incineração e também em alguns processos industriais como a produção de papel e a produção de hidrocarbonetos. Os bisfenilos policlorados eram usados em equipamentos elétricos como os transformadores, mas foram proibidos há alguns anos. Mesmo assim, essas substâncias ainda podem ser encontradas em grandes quantidades nos capacitores e transformadores.

Os xeno-estrógenos se originam de várias fontes. Uma fonte muito comum e disponível é o exemplo do uso de contraceptivos orais como o etinil, que é um derivado do estradiol (IEH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010). As substâncias estrogênicas podem ser

encontradas de maneira natural nos alimentos, particularmente nos vegetais, podendo também ser encontradas nas sementes. Já as substâncias químicas, como por exemplo, os compostos organoclorados, consideradas como contaminadoras ambientais, apresentam, em sua maioria, propriedades estrogênicas.

Sobre os casos ocorridos na fauna terrestre e com os mamíferos aquáticos, é possível concluir que a exposição destes animais aos disruptores endócrinos foi principalmente pela alimentação. O cenário da fauna aquática difere da fauna terrestre, já que a absorção direta de substâncias químicas dissolvidas na água é uma fonte de exposição significativa. Os animais aquáticos, com exceção dos mamíferos aquáticos, têm o seu desenvolvimento embrionário inicial desprotegido e em um ambiente aberto, o que os faz ainda mais sensíveis a essas substâncias químicas presentes na água (CEC, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

Os seres humanos podem ser expostos a estas substâncias disruptoras de várias maneiras: através da exposição direta com o ambiente de trabalho, através de produtos alimentícios, alguns plásticos, pinturas, detergentes, cosméticos, ou expostos indiretamente pelo meio ambiente (ar, água e solo) (CEC, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

De modo geral, a sensibilidade das espécies depende de dados como concentração, duração, frequência e via de exposição. Dependem também das características de cada espécie em relação à absorção, distribuição, transformação e eliminação dos disruptores. Considera-se também a etapa do desenvolvimento e a sensibilidade dos órgãos da espécie nessa etapa (CEC, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

### **2.2.1.2 Hormônios Naturais**

Podem ser citados como hormônios naturais os hormônios sexuais e os fitoestrógenos.

O estradiol e seus principais metabolitos (estriol e estrona), e seus conjugados (principalmente os sulfatos e os glucoronidos), são achados de maneira natural nas fêmeas e em baixas concentrações nos machos. Grande parte dos esteroides hormonais é excretada pela urina. Esses estrógenos naturais costumam produzir efeitos estrogênicos em concentrações na água na ordem de ng/L, muito menores que a necessária para exercer efeitos com estrógenos químicos, que causam efeitos com concentrações em torno de µg/L (ALDA et.al, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Efeitos estrogênicos são os efeitos não naturais causados à saúde dos seres vivos pelos estrógenos naturais, sendo os principais o estradiol, estriol e estrona.

Os fitoestrógenos são substâncias com funções estrogênicas, presentes em plantas comestíveis. Os fitoestrógenos estão presentes em muitos alimentos consumidos pelos humanos, como as vagens, couve, brotos de soja, ervilhas verdes, espinafre e brotos. As isoflavonas, lignanos, coumestanos (por exemplo: coumestrol), e os ácidos lactonas resorcílico (por exemplo: zearalenona), que são metabólitos fúngicos encontrados em alimentos como o trigo, são classificados como compostos fitoestrógenos (IEH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010). Acredita-se que os níveis de estrógenos dietéticos presentes nas plantas são geralmente baixos, porém muitas plantas contêm altas taxas de fitoestrógenos (PRICE & FENWICK, 1985, apud IEH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010) e quando ingeridas em grandes quantias, podem causar efeitos biológicos significantes (IEH, 1995).

### **2.2.1.3 Pesticidas**

Uma grande quantidade de pesticidas é identificada e classificada como disruptores endócrinos. Podemos citar como exemplo: metiram, lindano, benomilo, procimidona, dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), clorpirifos, propiconazol, deltametrina, carbendazima, carbofurano, amitraz, triclorfón, penconazol, procloraz, tridemorfo, vinclozolina, epoxyconazole, oxidemeton-metil, atrazina, dimetoato, linurón, outros piretroides (CASTANHEIRA, 2010).

## **2.3 A ESTRONA**

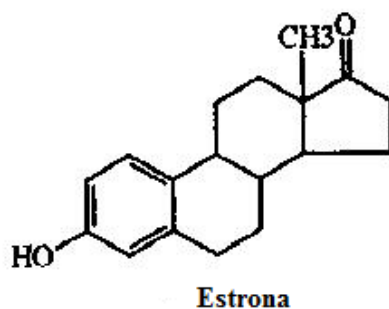
A estrona é uma substância bioacumulativa devido a sua grande resistência a degeneração. O grande aumento nas concentrações de compostos orgânicos detectados nas águas superficiais vem aumentando a preocupação sobre essa poluição dos recursos hídricos durante as últimas décadas. O principal motivo para esse aumento nas concentrações é o uso das águas superficiais como receptoras de águas residuais. Os efluentes das cidades e indústrias geralmente contêm grandes quantidades de contaminantes, que mesmo depois do tratamento, ainda chegam aos rios e lagos. Esses resíduos acabam se acumulando em grandes quantidades nas águas superficiais, podendo afetar o ecossistema e ainda afetar o abastecimento de água potável (BARCELÓ et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Segundo Castanheira (2010):

A estrona CAS number: 53-16-7, é um metabólito do 17 $\beta$ -estradiol (E2) (SCHÄFER et al., 2003; COMERTON et al., 2007); possui um peso

molecular igual a 270,36 g/mol; a fórmula:  $C_{18}H_{22}O_2$  (CHÄFER et al., 2003); o diâmetro igual a 0,8 mm, a constante de dissociação ácida (pKa) igual a 10,4 (SHÄFER et al., 2004); um coeficiente de partição octanol/água ( $\log_{k_{ow}}$ ) igual a 3.43, sugerindo uma natureza hidrofóbica (NGHIEM et al., 2004); os grupos funcionais hidroxila e carbonila podem facilitar a formação da ponte de hidrogênio entre a molécula e as superfícies (NGHIEM et al., 2002) e não apresenta carga para valores de pH neutros, porém têm características oxidantes, pois é uma boa receptora de elétrons (SCHÄFER et al., 2003).

A Figura 2.5 mostra a estrutura química da estrona:



**Figura 2.5** – Estrutura química da estrona (WANG et al., 2003 apud CASTANHEIRA, 2010).

Os esteroides naturais são secretados pelo corpo principalmente pela urina. São secretados normalmente como conjugados, glucoronídeos ou sulfatos e, em sua menor porção, como estrógenos livres (DESBROW et al., 1998; apud BARCELÓ et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Poder-se-ia esperar, então, que os estrógenos conjugados fossem encontrados em maiores concentrações nos ambientes aquáticos que os estrógenos livres. Porém, na maioria dos estudos essa proporção é contrária. Uma explicação possível é a forma com que os estrógenos conjugados menos ativos podem ser desconjugados durante o tratamento de águas residuais e no meio ambiente, gerando o estrógeno livre. Outra possibilidade dessa grande taxa de estrona é a oxidação parcial do estradiol e a separação dos conjugados glucoronídeos tanto do estradiol quanto da estrona, o que ajuda a explicar a ausência desses compostos conjugados no meio ambiente (BARCELÓ et al., 2004; SCHÄFER et al., 2002 apud CASTANHEIRA, 2010).

Estradiol e estrona são secretados em quantidades significantes por animais do sexo feminino e mulheres grávidas. Por isso, suspeita-se que produtos de degradação e componentes de pílulas anticoncepcionais podem chegar ao meio ambiente através de efluentes de águas residuais urbanas. Foram encontradas concentrações mensuráveis de estrógenos de 24 – 28 ng/L em efluentes de águas residuais usadas para irrigação em Tel Aviv, Israel (SHORE et al., 1993, apud IEH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010).

A eliminação dos disruptores endócrinos dos afluentes de estações de tratamento de águas residuais é uma grande preocupação, devido à qualidade da água que será devolvida ao meio ambiente. O tratamento de águas residuais elimina cerca de 50% dos estrógenos encontrados inicialmente, sendo que os valores de eliminação de estrógenos naturais são de 53,5% e de estrógenos sintéticos de 40% (CARGOUËT et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Foram encontrados nos rios da França concentrações em torno de 1,0 a 3,2 ng/L com pequenas ou nenhuma diferença nas concentrações de estrógenos naturais e sintéticos (CARGOUËT et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Foram detectados em algumas investigações valores de estrona e 17 $\beta$ -estradiol de até 4,0 ng/L (BELFROID et al., 1999; KUCH AS BALLSCHMITER, 2001; citados por CARGOUËT et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Já nos efluentes de estações de tratamento de água no Reino Unido, foram encontradas concentrações de 1 a 80 ng/L (DESBROW et al., 1998, apud POR ZHANG Y ZHOU, 2005 apud CASTANHEIRA, 2010). Zhang y Zhou (2005) apud Castanheira (2010) cita que, nos efluentes de tratamento de água municipal no Canadá, as concentrações de estrona encontradas foram de 48ng/L e na Alemanha foram de 80ng/L, valores medidos por Ternes et al. Dos valores citados por Zhang y Zhou, a menor quantidade de estrona, medidas por Larsson et al., (1999) apud Castanheira (2010), foi na Suécia, com concentrações de 5,8 ng/L.

Investigações feitas no Reino Unido descobriram que os efluentes de águas residuais e, em alguns casos, em rios são estrogênicos, causando a produção de vitelogenina (proteína da gema do ovo) em trutas machos (EA, 1997; apud WARHURST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). O vitelo, composto originado da vitelogenina, é um material nutriente composto por proteínas e lipídios, utilizado para nutrir o embrião desde a fecundação até o momento que for capaz de capturar o seu próprio alimento no ambiente. A vitelogenina é considerada como um biomarcador de exposição estrogênica em machos ou anti-estrogênica em fêmeas ovíparas. A vitelogenina é regulada pelo hormônio 17 $\beta$ -estradiol, também sofrendo influência de outras substâncias disruptoras (SANCHEZ, 2006). Segundo Alda et al (2001) apud Castanheira (2010), vários estudos foram feitos para identificar os estrógenos em efluentes de estações de tratamento de águas residuais e seus efeitos em peixes nesses efluentes, através do método de indução de produção de vitelogenina. Concluiu-se que os principais responsáveis pelos efeitos observados são os esteroides sintéticos e os naturais.

Investigações posteriores no Reino Unido sobre uma parte das águas residuais efluentes levaram a identificação de estrógeno e de 17 $\beta$ -estradiol como a principal fonte de atividade estrogênica em muitos efluentes (EA, 1997; apud WARHURST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Estes dois hormônios são naturalmente encontrados, de maneira conjugada, na urina da mulher. O etinil-estradiol, utilizado em pílulas anticoncepcionais, também foi encontrado nos efluentes de águas residuais, assim como outros estrógenos como o aquilfenol, mas o mais relevante sempre foi o estrógeno natural.

Existe uma lista preliminar de substâncias e categorias das principais substâncias com propriedades de disruptores endócrinos. Dentro da categoria dos esteroides estão os estrógenos etinil-estradiol, estradiol e estrona (EA, 1998 apud ALDA et al., 2001 apud CASTANHEIRA, 2010). Os níveis de estradiol no meio ambiente, de modo geral, vêm aumentando e se acumulando ao longo dos anos. Esse aumento é resultado do aumento populacional global e de criações de gado. Por esses motivos, podemos encontrar áreas de maior concentração de hormônios, sendo esses locais onde há uma maior concentração populacional, como as grandes cidades (ALDA et al., 2001 apud CASTANHEIRA, 2010).

## **2.4 EFEITOS DOS DISRUPTORES ENDÓCRINOS SOBRE O MEIO AMBIENTE**

Segundo a Comissão das Comunidades Europeias (CEC, 1999) apud Castanheira (2010), existem provas, obtidas através de estudos realizados em laboratórios, que demonstram o potencial endócrino de várias substâncias químicas encontradas no meio ambiente em quantidades possíveis. Apesar da maioria dos efeitos se manifestarem somente em zonas gravemente afetadas, também é possível que esses problemas ocorram em escala global.

Foram documentadas também pela CEC (1999) apud Castanheira (2010) alterações no sistema reprodutivo e no desenvolvimento em várias espécies de animais devido a substâncias químicas disruptoras endócrinas. Entre os efeitos observados estão inclusos:

- O surgimento de características masculinas em espécies fêmeas de moluscos marinhos devido ao tributil estanho. O tributil estanho é um biocida utilizado nas pinturas anti-incrustantes. O impacto dessa substância serve como exemplo claro de perturbação ambiental, uma vez que a masculinização da espécie *Nucella Lapillus*, que é especialmente sensível, causou a diminuição ou até a extinção de sua população local e mundial.

- O dicloro difenil dicloro etileno (DDE) foi responsável pela diminuição da espessura das cascas dos ovos de algumas aves, sendo esse efeito talvez o melhor exemplo de alteração no sistema reprodutivo. Essa diminuição na espessura das cascas causou a diminuição na população de espécies de ave de rapina da Europa e América do Norte. O grupo do dicloro difenil tricloetano (DDT) também está associada à ocorrência de *ovotestis* em espécies machos de gaivotas do oeste, quando expostas ainda em fase de desenvolvimento.
- Várias espécies de peixes são afetadas pelos disruptores endócrinos. Em locais mais contaminados, como zonas de lançamento de contaminantes, a exposição a essas substâncias causou alterações nos órgãos reprodutores desses peixes. Juntamente a esse fato, foi comprovada a maior concentração de disruptores endócrinos nas águas do Reino Unido, onde claramente houve efeitos estrogênicos nos sistemas de água doce, estuários e na costa.
- As focas cinzas e manchadas do Báltico, muito comum no mar dos Wadden, são provavelmente a prova mais evidente dos efeitos de disruptores endócrinos em mamíferos. A exposição a essas substâncias causou alterações no sistema reprodutor e imunológico dessas focas. Acredita-se que os efeitos sobre a reprodução causaram uma redução na população dessas focas, situação agravada ainda pela supressão da imunidade, que permitiu que a mortalidade dessas focas alcançasse níveis massivos devido a infecções por *morbillivirus*.
- Crocodilos de um lago na Flórida (EUA) apresentaram distorções nas funções dos órgãos sexuais e em seu desenvolvimento. Esses efeitos foram consequência à grande quantidade de pesticida detectada nesse lago. Estudos experimentais comprovaram que os efeitos estrogênicos e anti-androgênicos apresentados nos crocodilos foram causa da exposição de seus ovos ao grupo do dicloro difenil tricloroetano (DDT).

Mesmo com a grande quantidade de disruptores endócrinos no meio ambiente, estes frequentemente passam despercebidos, havendo, na maioria das vezes, somente uma medição parcial da contaminação. Toda análise de água contaminada deverá conter todos os metabólitos do disruptor endócrino, inclusive, em casos de grande quantidade, a quantidade de ácidos alquilfenoxicarbônicos (WARHURST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

As maiores fontes de contaminantes orgânicos que entram no meio ambiente são os efluentes das águas residuais urbanas. Existem também outras fontes de contaminação, sendo elas: a liberação de produtos orgânicos voláteis na atmosfera, a disposição dos lodos ao solo e os efluentes liberados nos rios e oceanos. Há uma grande quantidade de informações sobre a



concentração e presença de microcontaminantes em águas residuais, naturais e potáveis. Porém, dos prováveis 60.000 compostos existentes, somente cerca de 3.000 foram identificados. Suas origens vêm geralmente da agricultura, dos efluentes industriais e domésticos, da lixiviação ou também da poluição urbana ou atmosférica (JOBILING et al., 1995 apud CASTANHEIRA, 2010).

As principais prescrições para medicamentos estrogênicos são terapia de reposição de hormônios e controle de natalidade. Entre esses, são utilizados em grande escala o mestranol, etinilestradiol, estrógeno sintético ou o valerato de estradiol. Os compostos citados, junto com os hormônios naturais (estriol, 17 $\beta$ -estradiol e estrona), são excretados pela mulher, sendo assim encontrados em efluentes domésticos (AHERNE AND BRIGGS, 1989; LEE AND PEART, 1998; apud CARGOUËT et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Estrógenos naturais, possuindo uma concentração média variando entre 9,6 e 17,6 ng/L, predominam nos afluentes de estações de tratamento de águas residuais em Paris (CARGOUËT et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010). Levando em consideração que os humanos excretam pela urina mais a estrona e o estriol do que o 17 $\beta$ -estradiol (JOHNSON et al., 2000; apud CARGOUËT et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010), o esperado é que houvesse mais estrona e estriol do que 17 $\beta$ -estradiol, porém não é o que sempre ocorre.

Nos quatro afluentes, o estrógeno sintético etinilestradiol foi menos detectado que o estrógeno natural, com valores variando entre 4,9 e 7,1 ng/L, representando de 11 a 15% do total de esteroides encontrados. Após o tratamento de água residual, o etinilestradiol ainda era encontrado e com concentrações médias de estrógenos naturais, variando entre 4,3 e 8,6 ng/L (CARGOUËT et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

A Tabela 2.4 seguir mostra a taxa de potencial estrogênico dos disruptores endócrinos, de acordo com Gaido et al. (1997), apud Kanda (2003) apud Castanheira (2010).

**Tabela 2.4** – Taxa do potencial estrogênico dos disruptores endócrinos comparados com o estradiol (GAIDO et al., 1997; apud KANDA, 2003 apud CASTANHEIRA, 2010).

Composto	Taxa do Potencial Estrogênico
Estradiol	1,0
DES (dietilestilbestrol)	0,64
Coumestrol	0,1
p-Nonilfenol	0,0002
Bisfenol A	0,00007

$\beta$ -Sitosterol	0,000004
Metoxicloro	0,0000002

Fonte: GAIDO et al., 1997; apud KANDA, 2003 apud CASTANHEIRA, 2010.

Animais como os peixes e os pássaros, acumulam os compostos alquilfenólicos em seus organismos. A contaminação que chega aos seus órgãos atinge valores dez e, muitas vezes, mil vezes maior que o valor da concentração do ambiente que o circunda (WARHURST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

A correlação entre a taxa de redução do crescimento testicular e a exposição de peixes a substâncias químicas é comprovada por estudos realizados sobre a variedade de substâncias do grupo alquilfenol. Substâncias do grupo alquilfenol etoxilado (APE) mostram propriedades estrogênicas em mamíferos, peixes e pássaros. Mesmo em concentrações baixas no ambiente, os APes podem se bioacumular e serem encontrados em concentrações elevadas em salmões e mexilhões (FRIENDS OF THE EARTH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010).

Devido à evaporação do Rio Hudson, novas investigações feitas nos EUA comprovam a existência de nonilfenol na atmosfera urbana contaminada de Nova York e Nova Jersey (DACHS et al, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010). Investigações feitas pela Inspeção de Água Potável do Governo do Reino Unido mostram que vários produtos para o transporte de água que contêm alquilfenóis e ftalatos transferem esses compostos para água. Uma resina epóxi contém cerca de 1,4  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  de dibutil ftalato uma hora após a cura na água. Já uma porção de cimento contém 12,0  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  de nonilfenol etoxilado imediatamente após a cura, mas com uma taxa de lixiviação que se prolonga por três dias (EDNs, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

Várias patologias observadas em diferentes espécies animais são associadas, através de estudos, aos disruptores endócrinos com atividades hormonais diferentes da atividade estrogênica. Dentre os efeitos, pode-se citar:

- 1- Alterações da função das tireoides em aves e peixes;
- 2- Perda de fertilidade de aves, peixes, moluscos e mamíferos;
- 3- Redução da eficácia no processo de incubação em peixes, aves e tartarugas;
- 4- Feminização de peixes machos, aves e mamíferos;
- 5- Masculinização de peixes fêmeas, gastrópodes e aves; e
- 6- Mudanças no sistema imunológico em mamíferos e aves (ARANDA, M. 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

O motivo possível para a ocorrência destas tendências é a interferência que os contaminantes ambientais têm sobre a ação dos hormônios estrogênicos (FRIENDS OS THE EARTH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010).

Há mais de trinta anos foi definida a capacidade de intervenção dos xeno-estrógenos nas propriedades endócrinas de espécies animais em seu habitat natural. A pp'-DDE, metabolito do pesticida organoclorado dicloro difenil tricloroetano (DDT), foi associada à redução da população de pássaros, devido a problemas graves no sistema reprodutor. Esses pássaros se alimentavam de peixes de determinadas regiões dos EUA. Posteriormente, outros estudos relacionados a este meio ambiente sobre a exposição intensiva de populações de animais aos disruptores colaboraram para a compreensão do problema. Na Flórida, em 1980, o pesticida dicifol (Keltano) foi despejado por acidente no Lago Apopka, aumentando a quebra precoce dos ovos e morte das crias de jacarés, muitos antes mesmo dos dez dias de vida, diminuindo a população local dessa espécie significativamente. Anormalidades foram encontradas nos ovários de fêmeas adolescentes, que também apresentavam níveis de estrógenos no sangue duas vezes maiores que o normal. Os machos jovens por sua vez, apresentavam características afeminadas fortes, com um pênis anormalmente pequeno e níveis de estrógenos no sangue maiores que o normal (ARANDA, 2004; FRIENDS OF THE EARTH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010).

A observação referente à desordem de expressão do fenótipo sexual em peixes foi publicada só mais recentemente, em 1993. Nas proximidades de estações de tratamento de águas residuais na Inglaterra, os peixes capturados apresentavam características sexuais femininas. Foi observada também a produção de vitelogenina nos fígados desses peixes machos (ARANDA, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Além da vitelogenina, características hermafroditas passaram a ser observadas em peixes machos submetidos a ambientes estrogênicos. O rio *Hertfordshire*, durante os anos de 1978 e 1980, teve uma alta incidência de hermafroditismo na sua população de peixes, registrados por trabalho feitos em efluentes de água residual. Já nos efluentes de indústrias de papel na Flórida, o cenário foi diferente, onde foram encontrados, em muitos pontos do efluente, peixes com características masculinizadas. Outros sintomas também foram encontrados em peixes, como: diminuição da capacidade reprodutora, danos ao sistema da tireoide e uma alta incidência de deformidade embrionária no salmão no estudo dos Grandes Lagos, na América do Norte (FRIENDS OF THE EARTH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010).

## 2.5 EFEITOS DOS DISRUPTORES ENDÓCRINOS SOBRE A SAÚDE HUMANA

Alguns artigos científicos publicados sugerem que produtos químicos podem atuar como disruptores endócrinos não somente em animais, mas também em homens. Várias dessas substâncias químicas jogadas ao meio ambiente vêm sendo classificadas como disruptoras dos sistemas hormonais dos animais estudados em laboratório. Existe uma forte evidência que indica que esses produtos estão associados aos efeitos anormais de reprodução e desenvolvimento de peixes e animais em determinados locais (WARHURST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Os efeitos do dietilestilbestrol são um grande exemplo do poder devastador que a exposição de animais e seres humanos em desenvolvimento a um disruptor endócrino pode ter. No começo dos anos 1970, antes de ser proibido, o dietilestilbestrol foi prescrito pelas atividades sanitárias para evitar o aborto instantâneo de mulheres e promover o desenvolvimento fetal, em várias das cinco milhões de mulheres grávidas. Mais tarde foi descoberto que o dietilestilbestrol afetou o sistema reprodutivo na puberdade e causou câncer vaginal nas filhas das mulheres submetidas a esse tratamento. Após esse ocorrido, o Congresso aumentou a rigorosidade no processo de avaliação na regulamentação de novas drogas e de outras substâncias químicas. Esse aumento na importância e na criação de um programa para a proibição de substâncias disruptoras endócrinas é visto como um grande avanço.

A exposição humana a substâncias disruptoras endócrinas pode ocorrer pelas seguintes vias, segundo Aranda (2004) apud Castanheira (2010):

- Por meio da pele, absorvendo as substâncias de cosméticos, lubrificantes espermicidas, xampus e detergentes domésticos e industriais;
- Consumindo água potável contaminada, extraída de rios e fontes contaminadas;
- Contaminação de alimentos por campos enriquecidos por lodos de água residual que contém alquilfenóis; e
- Inalação e ingestão de pesticida em spray;

O conhecimento sobre os efeitos dos disruptores endócrinos em seres humanos ainda é muito escasso. A maioria das evidências sobre a toxicidade dos disruptores vem de experimentos e estudos realizados em cultivos de células, incluindo com células humanas, ou

animais. Porém, a impossibilidade de experimentação humana não permite uma coleta ampla de dados sobre esses efeitos. Mesmo assim, ainda existem algumas tendências preocupantes quanto à saúde de homens e mulheres (WARHURST, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Estudos médicos demonstram que, nos últimos anos, houve uma queda na saúde reprodutiva humana nos países mais industrializados. Essas observações abrangem diferentes sistemas hormonais e resultados próximos aos conceituais (ARANDA, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

1. Estudos epidemiológicos sugerem uma queda considerável na contagem de esperma em diferentes países, como a França, Bélgica, Dinamarca, Grã-Bretanha, Canadá e Holanda. Porém, esses resultados variam significativamente de região para região de um mesmo país.
2. O aumento na incidência de anormalidades no desenvolvimento da genitália e enfermidades, como a criptorquidía e hipospadias, são vistas cada vez mais frequentemente.
3. Em populações de locais industrializados, são observadas alterações funcionais do desenvolvimento, como a menstruação em idades cada vez mais precoces (puberdade precoce).
4. Enfermidades que eram desconhecidas, hoje em dia são diagnosticadas frequentemente, como a endometriose.
5. O aumento na incidência de tumores em órgãos que dependem do sistema hormonal, como a próstata, testículo, a mama e o ovário. O câncer é uma das principais causas de mortalidade no ocidente.

A sugestão de que essas enfermidades estejam ligadas a substâncias disruptoras presentes no meio ambiente é fortalecida pelo fato de essas enfermidades serem de origem hormonal e similares aos dados referentes às espécies animais (ARANDA, 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

### **2.5.1 Tendências Preocupantes a Respeito da Saúde do Homem**

A incidência de câncer testicular aumentou em 55% entre os anos de 1979 e 1991 no País de Gales e Inglaterra. O câncer de testículo ocorreu principalmente como consequência à exposição do indivíduo, ainda em desenvolvimento no útero, a disruptores endócrinos. Em 1991, segundo dados da Companhia de Investigação de Câncer (janeiro de 1998) foram

registrados 1137 novos casos de câncer testicular (SKAKKEBAEK et al, 1998 apud CASTANHEIRA, 2010).

Ao contrário do que ocorre com outros tipos de tumor, o câncer de testículo atinge a população jovem do sexo masculino, ou seja, o envelhecimento da população, que vêm ocorrendo nos últimos anos, não contribui para o aumento nas taxas de câncer de testículo. Durante os anos de 1945 e 1990, houve um aumento de 200% na incidência da enfermidade na Dinamarca e um crescimento anual de 2,3% nos Países Bálticos (IEH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010). A incidência de câncer de testículo varia entre os diferentes países, por exemplo, a Finlândia apresenta a menor taxa de incidência de câncer testicular e a maior contagem de esperma da Europa (JENSEN et al., 1995 apud CASTANHEIRA, 2010).

Muitas pesquisas recentes sugerem uma queda na contagem de esperma ao longo dos últimos 40 anos ou mais. Durante os anos de 1971 e 1990, estima-se uma redução na quantidade de esperma de até 3,1 milhões/mL/ano (SWANN et al., 1997 apud CASTANHEIRA, 2010). Outro dado preocupante é a correlação, constatada através de estudos, entre o ano de nascimento e essa contagem de esperma, onde homens nascidos mais recentemente apresentam uma menor contagem de esperma (LANCET, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010). Um estudo realizado na Escócia sugere que homens nascidos no ano de 1970 produzem 25% menos esperma do que os homens nascidos em 1950 (IRVINE et al., 1996 apud CASTANHEIRA, 2010). Porém, outro estudo realizado em Toulouse, na França, constata que não houve diminuição na contagem de esperma entre os anos de 1977 e 1992, contradizendo as afirmações dos outros estudos. Essas diferenças nos resultados podem ser explicadas pelas diferentes regiões e suas diferenças ambientais. (BUJAN et al., 1996 apud CASTANHEIRA, 2010).

Também se suspeita que disruptores endócrinos estejam ligados a mudança na taxa natural de nascimento entre homens e mulheres em alguns países. Nos últimos 20 a 40 anos, essa taxa de nascimento de homens em relação a mulheres declinou em países como a Dinamarca, Países Baixos, Suécia, Alemanha, Noruega, Finlândia, Canadá e Estados Unidos. Essa hipótese ganha força a partir de dados obtidos em Seveso, Itália, onde uma grande quantidade de dioxinas foi liberada após um acidente industrial. Oito anos após o acidente, de doze nascimentos registrados por nove casais altamente expostos a essas dioxinas, nasceram doze mulheres e nenhum homem (DAVIS et al., 1998; RALOFF, 1998 apud CASTANHEIRA, 2010).

### **2.5.2 Tendências Preocupantes a Respeito da Saúde da Mulher**

Nos Estados Unidos, estima-se que o aumento na incidência de câncer de mama chegou a 1% anualmente desde a década de 1940. Na Dinamarca, a incidência de câncer de mama chegou aos assustadores 50% entre os anos de 1945 e 1980, ou seja, aproximadamente 1,43% ao ano (IEH, 1995 apud CASTANHEIRA, 2010). Esse aumento também foi detectado no Reino Unido durante as últimas décadas. As investigações sugerem uma relação entre a exposição à disruptores endócrinos, como o DDT, dioxinas e PCB's, e esse aumento nas taxas de câncer de mama (WOLF et al., 1997 apud CASTANHEIRA, 2010).

Outros estudos sugerem que mulheres jovens dos Estados Unidos chegam à puberdade antes do que os anos obtidos de estudos anteriores (HERMAN-GIDDENS et al., 1997 apud CASTANHEIRA, 2010). Substâncias como os bisfenilos policlorados (PCB's) e os dicloro difenil dicloro etilenos (DDE's) são altamente persistentes, e o potencial endócrino que essas substâncias possuem fortalecem a teoria que essas substâncias foram herdadas das mães expostas a elas durante a gestação. As filhas dessas mães mais expostas aos PCBs e DDE's iniciaram a sua puberdade aproximadamente 11 meses antes do que filhas de mães menos expostas. Estudos também apontam que mulheres com essa puberdade precoce têm mais chance de apresentar câncer de mama. Apesar desses dados, a puberdade em homens não apresentou mudanças (BOYCE, 1997 apud CASTANHEIRA, 2010).

### **3.0 DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS DISRUPTORES ENDÓCRINOS NA ÁGUA**

Para uma eliminação eficiente dos disruptores endócrinos presentes na água, é necessário antes saber quais são as substâncias endócrinas presentes e suas concentrações (para isso existem várias técnicas de detecção). Algumas delas estão mostradas no subitem 3.1. O subitem 3.2 apresenta um conceito geral sobre a técnica de cromatografia líquida, que é o método escolhido para a detecção e quantificação de estrona nesse trabalho.

#### **3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE AS TÉCNICAS ANALÍTICAS**

Os métodos mais utilizados para o seguimento dos xeno-estrógenos em amostras ambientais são os métodos biológicos e os de separação. Entre os métodos biológicos, os principais são os imuno-ensaios, os quais produzem anticorpos e/ou receptores que isolam especificamente as substâncias estrogênicas. Existem também outros métodos biológicos para o seguimento dos xeno-estrógenos em amostras ambientais, como as linhas celulares e os ensaios de DNA, porém os biossensores se apresentam como uma melhor alternativa para a maioria dos casos (NOGUEIRA, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

Pelo fato de os métodos analíticos serem ágeis na identificação das substâncias, para os mais variados tipos de contaminantes, eles foram desenvolvidos para analisar traços de contaminantes em amostras ambientais. Porém, apesar de serem específicos, rápidos e sensíveis, os métodos biológicos apresentam limites de detecção relativamente baixos (0,1 ppb), e muitas vezes são muito caros para uma identificação imprecisa e com margens de erros, principalmente se o objetivo é identificar os contaminantes estrogênicos presentes na amostra ambiental. Como forma de vencer essas limitações, utilizam-se métodos de separação, sendo os principais: as técnicas cromatográficas e eletroforéticas, que por sua vez demonstram maior versatilidade e eficiência para detectar um grande grupo de xeno-estrógenos (NOGUEIRA, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

A cromatografia de gases acoplada a espectrometria de massas (GC/MS) é uma técnica muito geral, sensível e reprodutível para o traço de um grande grupo de xeno-estrógenos em amostras ambientais (NOGUEIRA, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

A cromatografia de gás acoplada ao espectrômetro de massa é o método mais utilizado para a determinação dos estrógenos e progestágenos presentes em águas residuais. Este



método utiliza o gás hélio como transportador, com temperaturas variando entre 45°C até 300°C. A detecção, seja ela pelo espectrômetro de massas (MS) ou o (MS/MS), utiliza o modo de traço do íon selecionado (SIM). O limite de detecção encontrado pela cromatografia de gás acoplada ao espectrômetro de massa (GC/MS) está na margem de 0,5 – 74 ng/L, enquanto a GC/MS/MS é de 0,1 – 2,4 ng/L (CASTANHEIRA, 2010).

De forma comparativa, a cromatografia de gás (GC) e a cromatografia líquida de alta precisão (HPLC), acopladas ao espectrômetro de massas, apresentam repetitividade e precisão satisfatórias, sendo a HPLC a que apresenta resultados um pouco mais sensíveis. Além disso, a cromatografia de gás requer a derivatização das amostras antes de passar pela GC/MS ou pela GC/MS/MS, o que consome mais tempo podendo também gerar dados imprecisos. Porém, a GC/MS dispõe de uma grande biblioteca de espectros de massa para a análise de picos desconhecidos de porções de estrógenos, o que não é possível com a HPLC/MS (LÓPEZ DE ALDA E BARCELÓ, 2001 apud CASTANHEIRA, 2010).

Pode-se dizer que a introdução do espectrômetro de massa trouxe um avanço considerável à tecnologia de determinação dos estrógenos, uma vez que, acoplado ao GC ou ao HPLC, melhora a eficácia desses métodos cromatográficos, colaborando na identificação do analito e reduzindo os limites de detecção (LÓPEZ DE ALDA E BARCELÓ, 2001 apud CASTANHEIRA, 2010).

Para a análise cromatográfica de xenoestrógenos, é necessário um preparo prévio das amostras ambientais, particularmente de amostras aquosas e sedimentares. Esse preparo prévio requer o uso de técnicas de extração e concentração, como a extração em fase sólida (SPE). A SPE é a técnica de extração com maior abrangência, sendo adequada para qualquer xenoestrógeno simultaneamente, muito seletiva e com a capacidade de analisar em grande escala, e fundamentalmente de forma automatizada, amostras ambientais (BARCELÓ, 2000, apud NOGUEIRA, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010). O uso da SPE permite o uso de vários tipos de fases estacionárias, permitindo, em casos de alta margem de polaridades de xenoestrógenos, o uso da extração em fase sólida sequencial (SSPE). É um método de fácil manipulação e permite a eliminação de compostos com potencial de interferência nas amostras mais sujas. O SPE permite uma certa segurança, sendo um método de derivação que atende às amostras a que é submetida. Mesmo com um aumento na manipulação, a SPE e a SPME (micro-extração em fase sólida), baseadas nos princípios de absorção seletiva, vêm substituindo a extração líquido-líquido convencional, pois possuem limites de detecção mais baixos, isolamento e recuperação dos analitos com diferentes polaridades, reduzindo assim ao

máximo a quantidade de dissolventes utilizados (NOGUEIRA, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

A combinação de métodos biológicos com ensaios de imuno-extração consiste no isolamento seletivo de classes restringidas de xenoestrógenos em amostras ambientais por meio da SPE, seguido de métodos cromatográficos. Essa combinação segue um rumo eficiente na análise de xenoestrógenos em amostras ambientais num futuro próximo (NOGUEIRA, 1999 apud CASTANHEIRA, 2010).

A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC/MS) e também em conjunto com a espectrometria de massas (LC/MS/MS) possibilita uma análise de muitos contaminantes ambientais de uma maneira rápida, mais conveniente e sensível. Através desses métodos, é possível uma análise de compostos no ambiente para níveis de ng/L e ng/g, podendo até analisar concentrações de pg/L e pg/g (LÓPEZ DE ALDA et al., 2003; PETROVIC et al., 2002 apud CASTANHEIRA, 2010).

A Tabela 3.1 mostra as principais vantagens e desvantagens de alguns métodos de detecção de disruptores endócrinos no meio aquático.

**Tabela 3.1**– Vantagens e desvantagens de alguns métodos para a detecção de disruptores endócrinos no meio aquático (CASTANHEIRA, 2010).

<b>Método</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Método biológico para xenoestrógenos, por exemplo: imuno-ensaios.</b>	.Os ensaios são rápidos, sensíveis e específicos.	.Possuem limites de detecção relativamente baixos (na ordem de 0,1 ppb). .Não respondem de maneira eficaz à identificação dos xenoestrógenos.
<b>Cromatografia de gases acoplada à espectrometria de massas (GC/MS)</b>	.Técnica evoluída, robusta, reprodutível, sensível. . Serve para o seguimento de um grande conjunto de xenoestrógenos em amostras ambientais (Nogueira, 1999).	.Requer a derivatização de compostos com baixa volatilidade, como é o caso do nonilfenol, dificultando as análises.
<b>Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC/MS)</b>	.Técnica rápida, robusta, mais conveniente e sensível. .Técnica mais adequada para analisar os disruptores endócrinos, como os alquilfenóis, os hormônios sexuais esteroides e os fármacos. Pode analisar os compostos para níveis de ng/L e até para pg/L	.Necessidade de desenvolver o método para cada analito específico.

### 3.2 A CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

A cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) é um método físico químico de separação. Essa separação ocorre em duas fases, estacionária e móvel. A fase estacionária ocorre no interior de uma coluna composta por um líquido polar ou apolar ligado por uma fase sólida fixa. A fase móvel é o bombeamento de um solvente através da fase estacionária. A distribuição do soluto entre as fases, estacionária e móvel, causa a separação do soluto (LEITE, 2002; e SNYDER et al., 1979 apud CASTANHEIRA, 2010). Em sequência à separação, segue a detecção, que pode ser feita utilizando: o detector espectrofotométrico de absorção ultravioleta e visível (UV-VIS), o detector por arranjo de diodos (DAD), o detector de fluorescência (FL) ou a técnica de detecção por massas (TERNES et al., 2001 apud CASTANHEIRA, 2010), em que a técnica de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC/MS/MS), devido a sua seletividade e especificidade, vem sendo muito indicada para a análise de compostos polares presentes em amostras ambientais (XIU-SHENG et al., 2002 apud SUCHARA, 2007 apud CASTANHEIRA, 2010).

Atualmente, para compostos considerados como contaminantes emergentes, como os compostos surfactantes alquilfenólicos, hormônios sexuais esteroides e os farmacêuticos, utiliza-se a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC/MS), ou acoplada à espectrometria de massas / massas (LC/MS/MS). Essa técnica vem experimentando um desenvolvimento de uso tecnológico notável, o que possibilita a análise de contaminantes ambientais de forma mais conveniente, rápida e sensível. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas permite a análise dos compostos mencionados no ambiente em níveis de ng/L e ng/g, podendo até frequentemente detectar níveis de pg/L e pg/g (LÓPEZ DE ALDA et al., 2003; PETROVIC et al., 2002 apud CASTANHEIRA, 2010).

Utilizando as técnicas de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, as interfaces utilizadas para as análises mudaram consideravelmente, tornando-se mais eficazes e sofisticadas. As interfaces mais utilizadas, atualmente, para análises em meio aquático de esteroides, drogas, surfactantes e contaminantes orgânicos em geral, são a ionização química à pressão atmosférica (APCI) e o *electrospray* (ESI). O *electrospray* é o mais indicado para a análise de compostos polares, uma vez que a APCI é mais eficiente para análises de substâncias com média e baixa polaridade (LÓPEZ DE ALDA et al., 2003; PETROVIC et al., 2002 apud CASTANHEIRA, 2010). A APCI, por sua vez, é uma interface que pode ser conectada a uma variedade de analisadores de massas, sendo eles: o “*ion-trap*”,

o “*single-and-triple-quadrupole*”, a “*orthogonal-acceleration-time-of-flight*” (oaTOF) (LÓPEZ DE ALDA et al., 2003 apud CASTANHEIRA, 2010).

Para as análises feitas por LC/MS, usam-se tanto o APCI quanto o ESI, sendo o ESI utilizado em maior proporção. As análises de estrógenos são realizadas, em diversos casos, com interface ESI em modo de ionização negativa (NI). A sensibilidade obtida pela técnica ESI-NI, para a maioria dos estrógenos, é consideravelmente melhor do que a técnica de interface ESI em modo de ionização positiva (PI) e com a interface APCI em modo NI (BARONTI, et al., 2000; LÓPEZ DE ALDA et al., 2000; apud LÓPEZ DE ALDA et al., 2003 apud CASTANHEIRA, 2010). Porém, estudos recentes sugerem que a interface APCI operando em modo PI possui sensibilidade semelhante à interface ESI operando em modo NI (LÓPEZ DE ALDA et al., 2003 apud CASTANHEIRA, 2010).

Para determinar os compostos com HPLC/MS, o modo de seguimento do íon selecionado (SIM) é a técnica mais aplicada. Porém, para a LC/MS/MS, o modo de seguimento mais utilizado é o da reação selecionada (REM), sendo a técnica por LC/MS/MS a que oferece uma maior seletividade e sensibilidade na análise de rastros de contaminantes ambientais. Outro método para aumentar a seletividade e evitar resultados falsos é o uso do TOF-MS. O ao-TOF-MS é um equipamento que está comercialmente disponível há pouco mais de 10 anos e possui excelente capacidade de determinação e sensibilidade de identificação dos compostos. Uma técnica que resulta em dados muito satisfatórios é a combinação de um quadrupolo como primeira interface e um ao-TOF como segunda interface para o MS-MS. Porém, esses avanços de técnica (LC-ao-TOF-MS e LC-Q-TOF-MS), devido ao seu alto preço com relação a outros instrumentos, como o “*ion-trap*” e do “*triple-quadrupole*”, não são utilizados frequentemente como detectores e quantificadores de drogas, surfactantes alquilfenólicos e esteroides (LÓPEZ DE ALDA et al., 2003 apud CASTANHEIRA, 2010).

Devido à complexidade das matrizes ambientais e concentrações geralmente muito baixas no ambiente, as análises de microcontaminantes no meio ambiente se torna de grande dificuldade. Em muitos casos, é necessário que se concentre os analitos para então isolá-los da matriz ambiental e chegar aos limites de detecção (LoDs) necessários. Um procedimento muito utilizado inclui várias etapas de preparação da amostra, como a filtração, extração, purificação e evaporação (LÓPEZ DE ALDA et al., 2003; DIAZ-CRUZ et al., 2003 apud CASTANHEIRA, 2010).

Para a filtração e retenção de material orgânico e matérias em suspensão, pode-se utilizar um filtro de fibra de vidro com poros com o diâmetro entre 0,22 e 1,2  $\mu\text{m}$ . Segundo Desbrow et al., (1998) apud López de Alda e Barceló (2001) apud Castanheira (2010) os compostos estrogênicos não ficaram retidos nos filtros e continuaram dissolvidos nas amostras, o que comprova que o processo de filtração das amostras não interfere nos resultados quantitativos. Outros investigadores, como Huang et al. (2001), apud López de Alda e Barceló (2001) apud Castanheira (2010) obtiveram resultados similares, no qual 99% do estradiol adicionado a um efluente de água residual submetido à filtração foram recuperados, mesmo passando por um filtro de polipropileno de 0,22  $\mu\text{m}$ .

Os estrógenos e as progesteronas são geralmente extraídos da água pela extração em fase sólida (SPE) “*offline*” com discos ou, mais frequentemente, com cartuchos. São utilizados cartuchos de adsorventes poliméricos e o grafite de carvão ativado, porém, o cartucho mais utilizado é o “*octadecyl (C18 – bonded silica)*” (LÓPEZ DE ALDA et al, 2003; PETROVIC et al, 2002 apud CASTANHEIRA, 2010). O *octadecyl (C18) bonded silica* é amplamente usado para a extração dos compostos alquilfenólicos, tanto ácidos como neutros, possuindo eficácia de extração de compostos da água residual e da água superficial investigada maior que 80%.

O uso da extração por imunosorvente é inadequada para a análise ambiental devido à dificuldade de conseguir enzimas e anticorpos para os contaminantes ambientais comuns (LÓPEZ DE ALDA et al, 2003 apud CASTANHEIRA, 2010). O modo online da SPE e a extração líquido-líquido raramente foi notificado (LÓPEZ DE ALDA E BARCELÓ, 2001 apud CASTANHEIRA, 2010).

A extração por fase sólida (SPE) é considerada a técnica mais apropriada para a pré-concentração de surfactantes e alquilfenóis em amostras de água, sendo sua velocidade, seletividade e taxa de recuperação muito satisfatórias. López de Alda et al. (2003) desenvolveram um método sequencial para a SPE utilizando cartuchos de diferentes materiais ( $\text{C}_{18}$  e polimérico) em série para extrair os surfactantes alquilfenólicos e seus produtos de degradação, sejam eles ácidos ou neutros. A dessorção desses contaminantes capturados pelos cartuchos é feita, geralmente, com acetona, metanol, di-cloro-metano ou com suas misturas.

A separação pela cromatografia líquida da progesterona e dos estrógenos (conjugados e não conjugados) acontece na fase estacionária da *silica octadecyl*, para depois seguir com a detecção pelo espectrômetro de massas (MS). Para a fase móvel, são utilizadas misturas de água-metanol e, de maneira mais frequente, água-acetonitrilo com solvente orgânico,

utilizando um gradiente de eluição de 10 a 50% ou 10 a 100% (LÓPEZ DE ALDA et al., 2003 apud CASTANHEIRA, 2010).

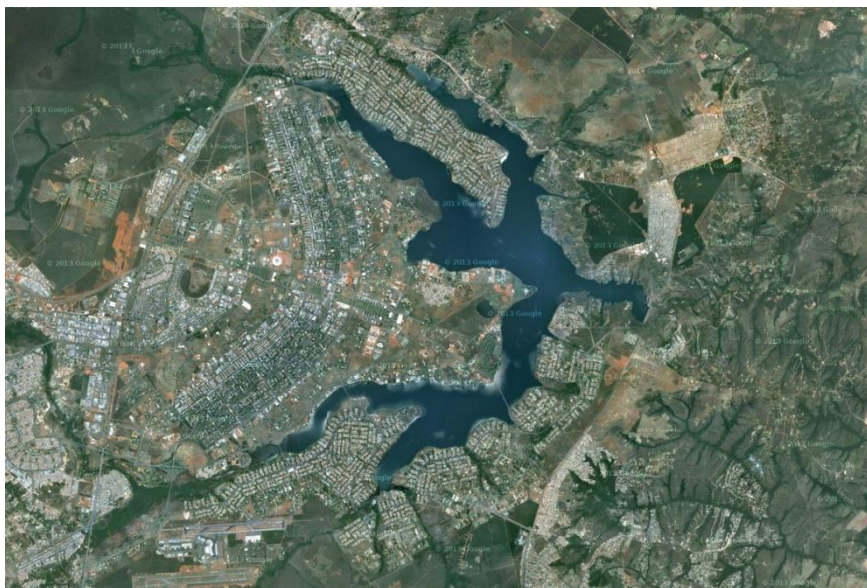
Segundo Castanheira, (2010), Para melhorar a sensibilidade da detecção pela espectrometria de massas (MS), pode-se modificar:

Fase móvel com ácido acético 0,1% (SEIFERT et al., 1999; apud LÓPEZ DE ALDA et al., 2003), com ácido fórmico 0,2% (ROSE et al., 2002, apud LÓPEZ DE ALDA et al., 2003), com acetato de amônia 10 mM (CROLEY et al., 2000, apud LÓPEZ DE ALDA et al., 2003) ou com a adição de uma pós-coluna de amônia (BARONTI et al., 2000; GENTILI et al., 2002; apud LÓPEZ DE ALDA, 2003).

#### 4.0 LAGO PARANOÁ

O Lago Paranoá foi criado com a principal função de servir como uma área de lazer, prática de esportes náuticos e embelezamento da região, além de criar um microclima ao seu redor (FONSECA, F., 2001).

A Figura 4.1 mostra a imagem superior da região da bacia do Lago Paranoá.



**Figura 4.1** – Foto de satélite da região do Lago Paranoá (Google Maps – Consultado em maio/2013)

É possível analisar pela figura acima a quantidade de construções que cercam o Lago Paranoá. No lado direito da figura há uma grande concentração de clubes, comércios e restaurantes, enquanto a margem direita é ocupada quase que exclusivamente por casas.

**Tabela 4.1** – Características gerais do Lago Paranoá.

Lago Paranoá Características Gerais	
Bacia de drenagem	1034,07 km <sup>2</sup>
Área superficial	37,5 km <sup>2</sup>
Volume total	498 x 10 <sup>6</sup> m <sup>3</sup>
Profundidade média	12,42 m
Profundidade máxima	38 m
Perímetro	111,87 km
Comprimento	40 km
Largura máxima	5 km
Vazão média afluente nos principais cursos d'água	11,29 m <sup>3</sup> /s
Vazão média efluente	19,80 m <sup>3</sup> /s
Tempo de retenção	299 dias

Fonte: Fonseca, F., 2001 – Olhares sobre o Lago Paranoá.

O Lago Paranoá é também um local muito agradável para a pesca esportiva e amadora. É bem comum encontrar moradores locais à beira do lago praticando a pesca durante os feriados e fins de semana, sendo alguns desses pescados consumidos ou até vendidos pelos pescadores. Porém, os peixes são especialmente vulneráveis às ações de contaminantes na água, tornando o consumo dos peixes das áreas mais poluídas não aconselhável. Peixes jovens, no caso de presença de disruptores endócrinos, apresentam consequências fortíssimas devido à exposição a essas substâncias desde sua fase embrionária e pelo fato de todo seu desenvolvimento ser em meio aquático. Existem diversas espécies de peixes no Lago Paranoá, sendo eles nativos ou exóticos.

Segundo Fernando Fonseca, as espécies de peixes no Lago Paranoá são as seguintes:

Acará Preto; Acará; Amarelo; Bagre; Cascudo; Lambaris Saguiru; Traíra; Trairão; Bluegill; Tambaqui; Tilápia do Nilo; Tilápia do Congo; Bagre africano; Tucunaré comum; Tucunaré Pima; Carpa Comum; Carpa prateada.

O Lago Paranoá vem sofrendo alguns efeitos decorrentes das ações antrópicas no processo de urbanização de sua orla. A Tabela 4.2 seguir mostra alguns desses efeitos.

**Tabela 4.2** – Efeitos hidrológicos da urbanização no Lago Paranoá.

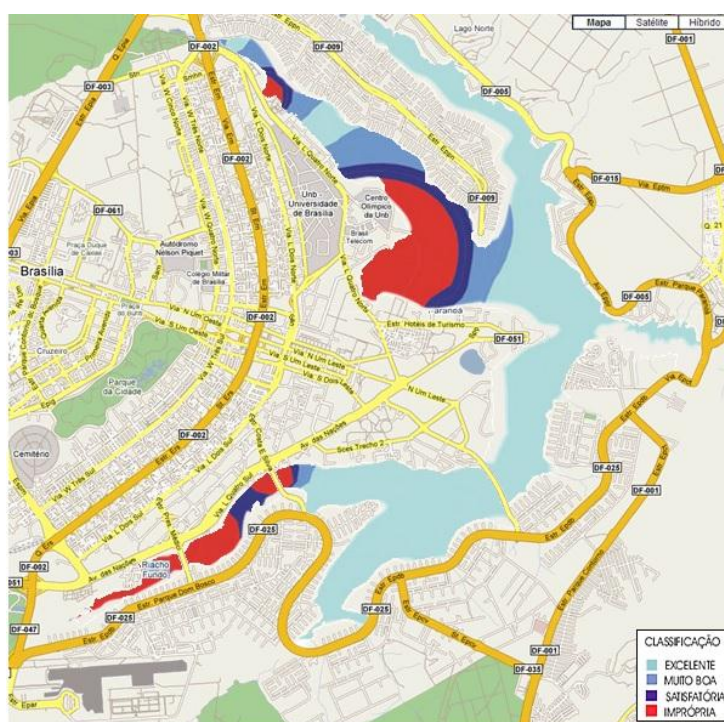
Efeitos hidrológicos - sequência de mudanças	
Mudanças no uso da terra e da água	Possíveis efeitos hidrológicos
Estágio de urbanização inicial	
Remoção de vegetação, construção de algumas casas de alvenaria com infraestrutura de saneamento básico eficiente	Decréscimo da transpiração e acréscimo do escoamento de água e sedimentos para os corpos d'água
Perfuração de poços.	Rebaixamento do nível do lençol freático
Construção de fossas sépticas e drenos sanitários.	Alguns acréscimos na umidade do solo e talvez uma subida do nível do lençol; provável encharcamento e contaminação de poços vizinhos ou corpos hídricos.
Estágio de urbanização mediano	
Terraplenagem para construção de casas e remoção dos horizontes superiores do solo	Erosão do terreno e sedimentação dos corpos acelerados, com o aumento das cheias.



Construção massificada de casas, pavimentação de ruas.	Infiltração decrescente resultando no aumento dos fluxos de cheia e rebaixamento do nível da água subterrânea.
Despejo de esgotos sem tratamento adequado em corpos hídricos receptores.	Poluição das águas, poços, rios etc.
	Mortandade de peixes e da vida aquática.
	Comprometimento da qualidade da água disponível para abastecimento e recreação.

Fonte: Inventário Hidrogeológico e dos Recursos Hídricos Superficiais do DF, IEMA/SEMATEC – 1998, apud Fonseca, F., 2001.

A Figura 4.2 mostra, segundo a CAESB (Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal), um levantamento feito em 04/11/2007, a balneabilidade do Lago Paranoá.



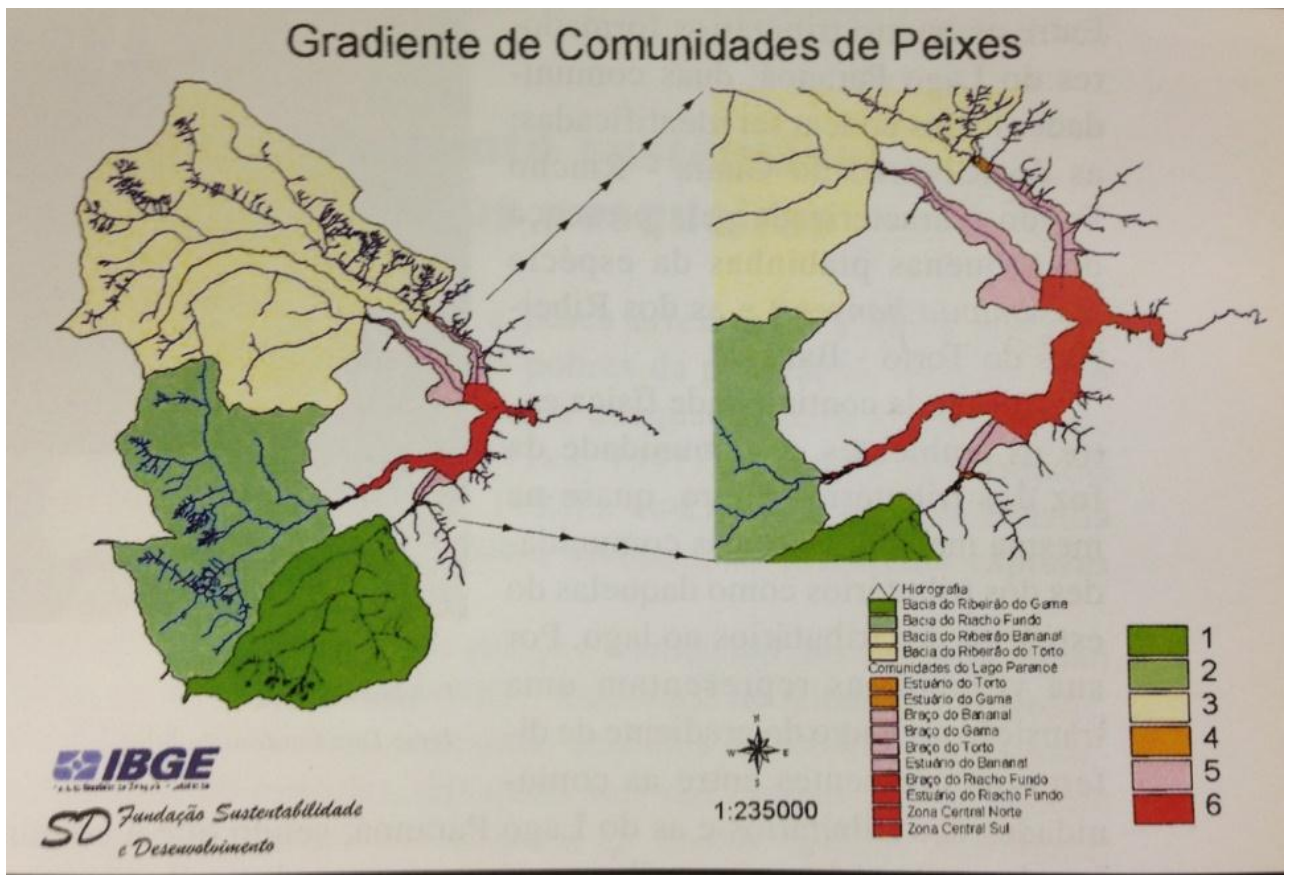
**Figura 4.2** – Qualidade da água do Lago Paranoá em 04/11/2007 (CAESB - [http://www3.caesb.df.gov.br/\\_conteudo/produtosServicos/qualidadeAgua.asp?id=1#Mapa](http://www3.caesb.df.gov.br/_conteudo/produtosServicos/qualidadeAgua.asp?id=1#Mapa) consultado em 05/2013.)

Segundo a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (2013):

Balneabilidade é a qualidade das águas destinadas à recreação de contato primário, sendo este entendido como um contato direto e prolongado com a água (natação, mergulho, esqui-aquático, etc), onde a possibilidade de ingerir quantidades apreciáveis de água é elevada.

Como já mencionado anteriormente nesse trabalho, os peixes são especialmente sensíveis aos disruptores endócrinos devido a todo seu desenvolvimento e fase adulta se passar em meio aquático. Peixes que vivam em águas contaminadas acabam absorvendo essas substâncias. Pelo fato das áreas em vermelho da Figura 4.2, analisadas em 2007, apresentarem altos índices de contaminantes dissolvidos, é possível que peixes capturados nessas regiões sejam impróprios para o consumo humano.

As áreas com maior concentração de peixes estão representadas na Figura 4.3



**Figura 4.3** – Mapa da Bacia Rio Paranoá mostrando o gradiente dos cinco tipos de comunidades de peixes associados aos diferentes ambientes físicos de sua área de drenagem. (FONSECA, F., 2001).

## **5.0 METODOLOGIA**

### **5.1 INTRODUÇÃO**

Esse trabalho visa detectar disruptores endócrinos, especificamente a estrona, nas proximidades de pontos de lançamento de águas residuais no Lago Paranoá. A estrona é um indicativo da presença de contaminantes na água, uma vez que geralmente é encontrada em efluentes de esgotos domésticos. Esses compostos se acumulam nas águas superficiais, podendo afetar o ecossistema e ainda afetar o abastecimento de água potável (BARCELÓ et al., 2004 apud CASTANHEIRA, 2010).

Foram coletadas 15 amostras de água do Lago Paranoá (conforme subitem 5.2.2) e levadas para análise no Laboratório Nacional Agropecuário – GO (LANAGRO-GO) utilizando o método da cromatografia líquida de alto desempenho ligado ao espectrômetro de massas / massas (HPLC/MS/MS), conforme o subitem 5.2.4, cujo método foi validado por Castanheira (2010). Essa análise foi realizada com assistência do Químico e Fiscal Agropecuário Nélio Fleury Filho, Técnico Responsável – Laboratório de Resíduos e Contaminantes, com o propósito exclusivamente educativo e para conclusão deste trabalho.

### **5.2 EXPERIMENTO**

#### **5.2.1 Preparo**

Para a coleta de amostras do Lago Paranoá, foram adquiridos quinze frascos de 30 ml da cor âmbar com tampas de plástico (Figura 5.1), ou seja, um frasco para cada ponto de coleta.

Antes da utilização desses frascos, foi necessária uma lavagem minuciosa dos mesmos, com água destilada, para eliminar qualquer resquício contaminante que pudesse interferir nos resultados do experimento. O laboratório utilizado para a limpeza dos frascos foi o Laboratório de Solos e Materiais do bloco 11 do Centro Universitário UniCEUB (Figura 5.2).



**Figura 5.1** – Frascos de vidro âmbar com tampas de plástico.

O Laboratório de Solos e Materiais do UniCEUB disponibilizou água destilada obtida através do Destilador de Água DeLeo modelo DL/DA, mostrado na Figura 5.2.



**Figura 5.2** – Destilador DeLeo do Laboratório de Solos e Materiais do UniCEUB.

Para facilitar o enxague, uma pisseta de capacidade máxima de 500 ml foi utilizada (Figura 5.3).



**Figura 5.3** – Pisseta de 500 ml

Cada frasco e suas tampas foram lavados cinco vezes com água destilada e dispostos sobre camadas de papel toalha por dez minutos para escorrer o excesso de água. (Figura 5.4)



**Figura 5.4** – Frascos limpos.

Para facilitar o manuseio dos frascos (colocada e retirada da estufa), os mesmos foram distribuídos, sem suas tampas, e igualmente espaçados em uma bandeja de ferro (Figuras 5.5 e 5.6). As tampas foram secas à temperatura ambiente.



**Figura 5.5** – Bandeja de ferro



**Figura 5.6** – Bandeja de ferro com os frascos distribuídos.

Para garantir a secagem total dos frascos de vidro, foi utilizada a estufa do Laboratório de Solos e Materiais do UniCEUB, sendo essa estufa da marca DeLeo (Figura 5.7) e regulada para sustentar a temperatura de 100°C em seu interior. Os frascos, junto com a bandeja de ferro, permaneceram por quatro horas na estufa.



**Figura 5.7** – Estufa DeLeo regulada a 100°C.

A fim de evitar a condensação durante o resfriamento dos frascos, estes foram deixados à temperatura ambiente durante trinta minutos. Quando a temperatura dos frascos já estava igual à do ambiente circundante, suas tampas foram colocadas e os frascos guardados para a futura coleta das amostras d'água.

### **5.2.2 Coleta de Amostras**

Para a coleta das amostras, foram escolhidos os pontos marcados com um círculo vermelho, mostrados nas Figuras 5.8 e 5.10. O motivo da escolha do local (Pontão do Lago Sul – Figura 5.8) é a suspeita de despejo de efluentes domésticos brutos no local. Segundo uma notícia lançada pelo Correio Braziliense no dia 15/02/2013, o local é um dos seis pontos que serão investigados pela 1ª Promotoria de Justiça de Defesa do Meio Ambiente (Prodema) pelo lançamento de esgoto sem tratamento no Lago Paranoá.



**Figura 5.8** – Local de coleta no Pontão do Lago Sul.

Foi escolhido um ponto central ao longo da margem (entre dois pontos de lançamento de esgoto, conforme Figura 5.9) e mais sete pontos de cada lado desse ponto central, cada um a três metros de distancia do seu antecessor, como mostra a Figura 5.10. Esses pontos foram marcados com uma fita branca na margem de concreto.



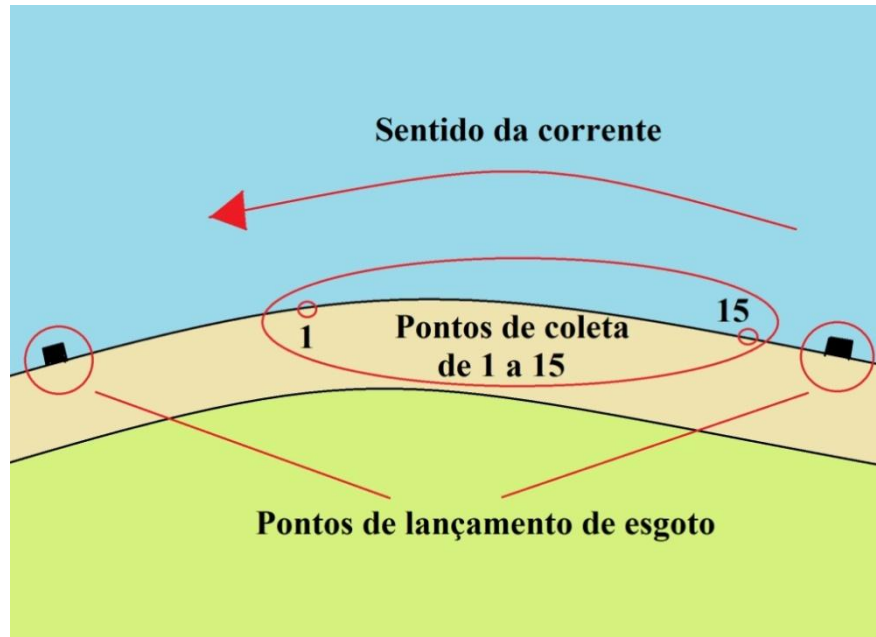
**Figura 5.9** – Ponto com características de lançamento de esgoto doméstico



**Figura 5.10** – Pontos marcados na margem.

A Figura 5.11 mostra a situação dos pontos de coleta das amostras com relação aos pontos de suspeita de lançamento de esgoto. A corrente normalmente esperada do Lago Paranoá segue em direção a barragem, localizada a direita do ponto de coleta, ou seja, uma corrente da esquerda para a direita. Porém, na hora da coleta, era perceptível uma leve corrente no sentido do ponto 15 para o ponto 1 da coleta, ou seja, da direita para a esquerda da margem.





**Figura 5.11** – Pontos de coleta das amostras em relação aos pontos de lançamento de esgoto e sentido da corrente.

O local das amostras começou a ser preparado às 7:00 horas do dia 02/06/2013, com a coleta começando às 7:20 h. Primeiro foram marcados todos os pontos com a fita adesiva branca, logo em seguida numerados conforme o esquema mostrado na Figura 5.10. As amostras foram coletadas com um copo de plástico preso a um bastão com 1,45m de comprimento, conforme a Figura 5.12. Para cada um dos quinze pontos de coleta foram retiradas duas amostras d'água a uma profundidade de aproximadamente 0,5 metro, sendo a primeira sempre descartada para lavar o copo e a segunda armazenada nos frascos.



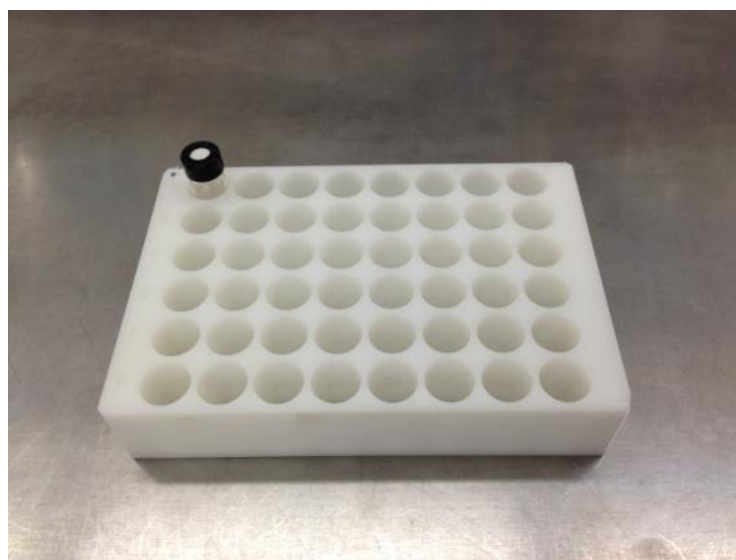
**Figura 5.12** – Equipamento e modo de coleta.

Depois de coletadas, as amostras foram armazenadas a uma temperatura de 4°C até o dia seguinte, que foi o momento das análises cromatográficas. Este armazenamento foi feito seguindo os procedimentos encontrados na literatura de Rissato, S. et al (2004), Gomes et al (2003) e López de Alda e Barceló (2000) apud Castanheira, 2010.

As amostras foram então retiradas dos vidros de 30 ml com uma seringa de capacidade de 80 ml acoplada a um Filtro de Seringa PTFE de 13 mm X 0,45 µm da marca FilterPRO (Figura 5.13), código i3114 do fabricante Lubitech, conforme Figura 5.13. Em seguida, as amostras de água foram colocadas em frascos de 1,5 ml e dispostas em uma bandeja (Figura 5.14) para serem levadas ao cromatógrafo líquido de alto desempenho acoplado ao espectrômetro de massas.



**Figura 5.13** – Seringa com Filtro de Seringa PTFE de 13 mm X 0,45 µm acoplado e frasco de 1,5 ml.

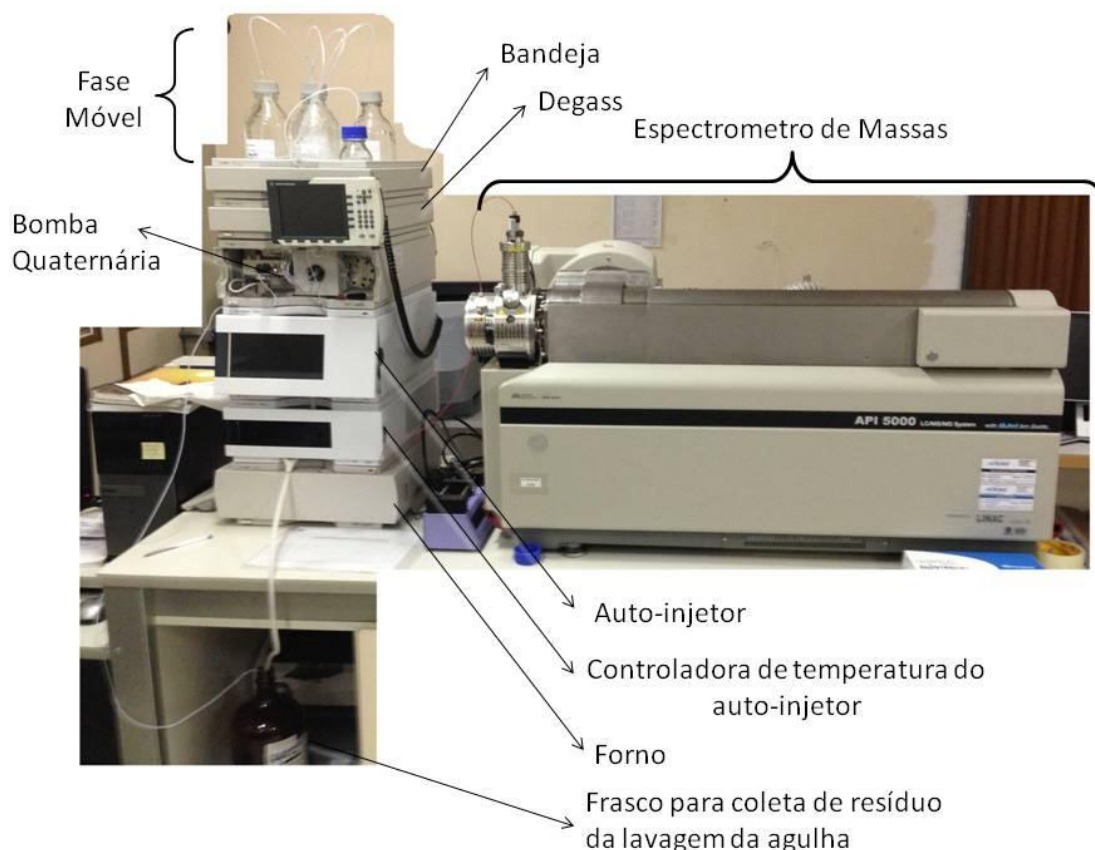


**Figura 5.14** – Bandeja com capacidade de 48 frascos a ser inserida no HPLC/MS/MS.

### 5.2.3 Equipamento Utilizado

O equipamento utilizado para analisar as amostras de água é o cromatógrafo líquido da Agilent Technologies acoplado ao espectrômetro de massa API 5000 LC/MS/MS System with QJet Ion Guide do fabricante AB Applied Biosystems/MDS SCIEX, de Toronto, Canadá, com chassi nº 027463 P e número de série 012835060224. O equipamento (Figura 5.15) é composto de:

- uma bandeja onde são dispostos os frascos com as fases móveis;
- um degaseificador, uma bomba quaternária (Quat Pump DE 43635437) modelo G1311A; um auto-injetor (HIP-ALS DE 64556071) modelo 61367B;
- um controlador de temperatura do auto-injetor (FC/ALS Therm DE 60558991) modelo G1330B; e
- um forno onde está a coluna (COLCOM de 43651123) modelo g1316A.



**Figura 5.15** – Foto esquemática do equipamento de cromatografia líquida acoplado ao espectrômetro de massas do Laboratório Nacional Agropecuário – Goiás (LANAGRO – GO).

#### 5.2.4 Condições Cromatográficas para as Análises

Utilizando o método analítico validado por Castanheira (2010), para as análises cromatográficas das amostras, foram obedecidas as seguintes condições:

- Utilizou-se o método da cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) e o espectrômetro de massas API 5000 (Figura 5.15) para a determinação da estrona.
- O intervalo de detecção para estrona é de 0,025 µg/L a 0,5 µg/L.
- O intervalo considerado está entre 0,025 µg/L a 50 µg/L porque este método foi validado para detectar e quantificar estrona e nonilfenol simultaneamente.
- Foi utilizado o modo isocrático e a ionização por electrospray (ESI) no modo negativo, com fase móvel constituída de metanol (D): água ultra-pura © (85:15), (v/v).
- O sistema HPLC descrito no início do subitem 5.2.3 permite um volume máximo de injeção de 100 µL, sendo que as injeções realizadas foram de 50 µL, com taxa de fluxo de 1mL/min.
- A separação cromatográfica realizou-se em uma coluna C<sub>18</sub> de fase reversa (ACE 5 C<sub>18</sub> – 50 x 4,6 mm – S/N – A56404, ACE – 121 – 0546, com diâmetro de partícula igual a 5 µm).
- O espectrômetro é operado no modo de seguimento múltiplo de reação (MRM) para a quantificação
- A temperatura da coluna foi de 30°C, e a do auto-injetor de 15°C.
- O tempo total da série foi de 4,0 min.
- As condições da fonte do espectrômetro de massas (MS) são as seguintes:
  - Pressão de nebulização = 50 psi (equivalente a 3,44 bar);
  - Voltagem de íon = 5500 V;
  - Fluxo de gás de secagem = 55 L/min;
  - Temperatura do gás de secagem = 500°C;
  - Potencial de entrada = 10 V;
  - Gás de colisão = 6 V;
  - Potencial de saída de colisão = 15 V.

## 6.0 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 INTRODUÇÃO

Este capítulo apresenta os resultados e discussões obtidos da análise das amostras aquosas coletas do Lago Paranoá para verificar a presença de estrona em ponto de lançamento de esgoto sem tratamento.

### 6.2 RESULTADOS

Os resultados obtidos para detecção de estrona das amostras aquosas coletas no Lago Paranoá, utilizando o cromatógrafo líquido de alto desempenho acoplado ao espectrômetro de massas (HPLC/MS/MS) estão mostrados na Tabela 6.4, fornecida pelo equipamento.

Confirmando os resultados obtidos pelo HPLC/MS/MS, os respectivos cromatogramas estão apresentados no Anexo A.

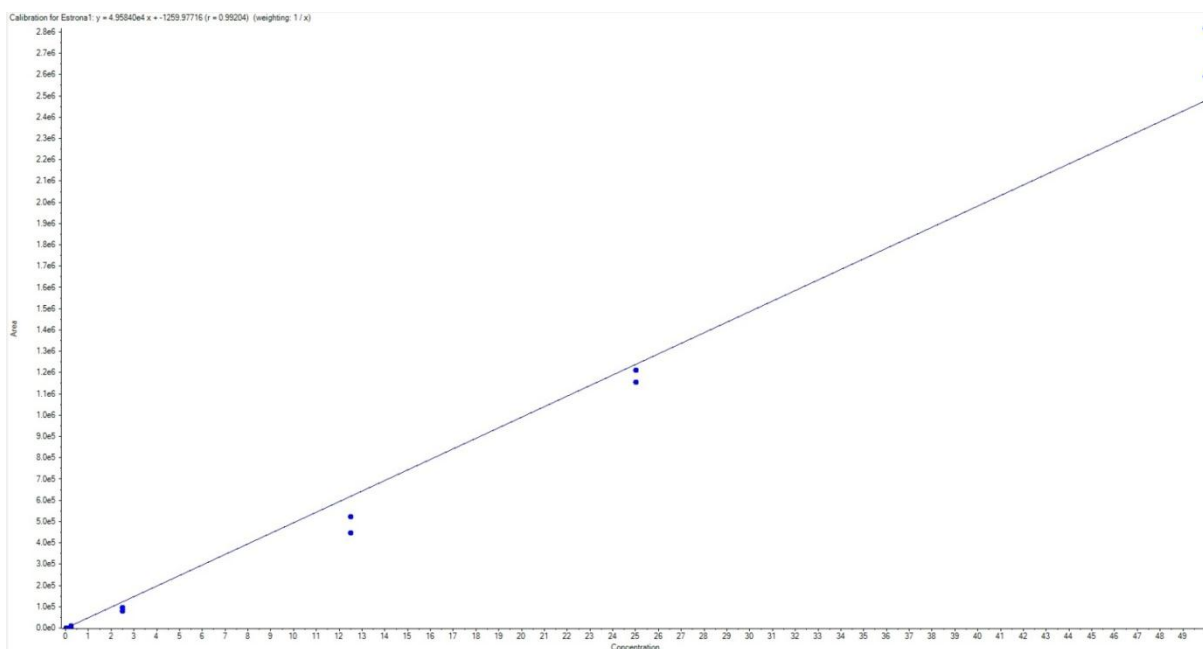
#### 6.2.1 Gráficos e Tabelas dos Resultados

**Tabela 6.1** – Concentrações referentes a injeções de do padrão de estrona para curva de calibração e controle de qualidade do método antes de injetar as amostras do Lago Paranoá.

Nome da Amostra	Tipo de Amostra	Nome do Componente	Concentração Atual (µg/L)	Concentração Calculada (µg/L)	Precisão
H2O inj1	Blank	Estrona1	N/A	0,048	N/A
E 0.025 ppb inj1	Standard	Estrona1	0,03	0,053	176,53
E 0.25 ppb inj1	Standard	Estrona1	0,25	0,189	75,48
E 2.5 ppb inj1	Standard	Estrona1	2,5	1,632	65,29
E 12.5 ppb inj1	Standard	Estrona1	12,5	9,065	72,52
E 25 ppb inj1	Standard	Estrona1	25	23,301	93,2
E 50 ppb inj1	Standard	Estrona1	50	52,273	104,55
CQ 2.5 ppb inj1	Quality Control	Estrona1	2,5	3,801	152,04

**Tabela 6.2** – Concentrações referentes a injeções de do padrão de estrona para curva de calibração e controle de qualidade do método depois de injetar as amostras do Lago Paranoá.

Nome da Amostra	Tipo de Amostra	Nome do Componente	Concentração Atual (µg/L)	Concentração Calculada (µg/L)	Precisão
CQ 25 ppb inj1	Quality Control	Estrona1	25	46,306	185,22
H2O inj1	Blank	Estrona1	N/A	0,067	N/A
E 0.025 ppb inj1	Standard	Estrona1	0,03	0,047	155,18
E 0.25 ppb inj1	Standard	Estrona1	0,25	0,208	83,02
E 2.5 ppb inj1	Standard	Estrona1	2,5	1,96	78,38
E 12.5 ppb inj1	Standard	Estrona1	12,5	10,538	84,3
E 25 ppb inj1	Standard	Estrona1	25	24,477	97,91
E 50 ppb inj1	Standard	Estrona1	50	56,819	113,64



**Figura 6.1** – Curva de calibração do método analítico.

**Tabela 6.3** - Cromatogramas referentes à média das concentrações encontradas nas injeções das amostras coletadas com cinco repetições.

Nome da Amostra	Tipo de Amostra	Nome do Componente	Concentração Atual (µg/L)	Concentração Calculada (µg/L)	Precisão
amostra 01	Unknown	Estrona1	N/A	0,143	N/A
amostra 02	Unknown	Estrona1	N/A	0,136	N/A
amostra 03	Unknown	Estrona1	N/A	0,155	N/A
amostra 04	Unknown	Estrona1	N/A	0,147	N/A

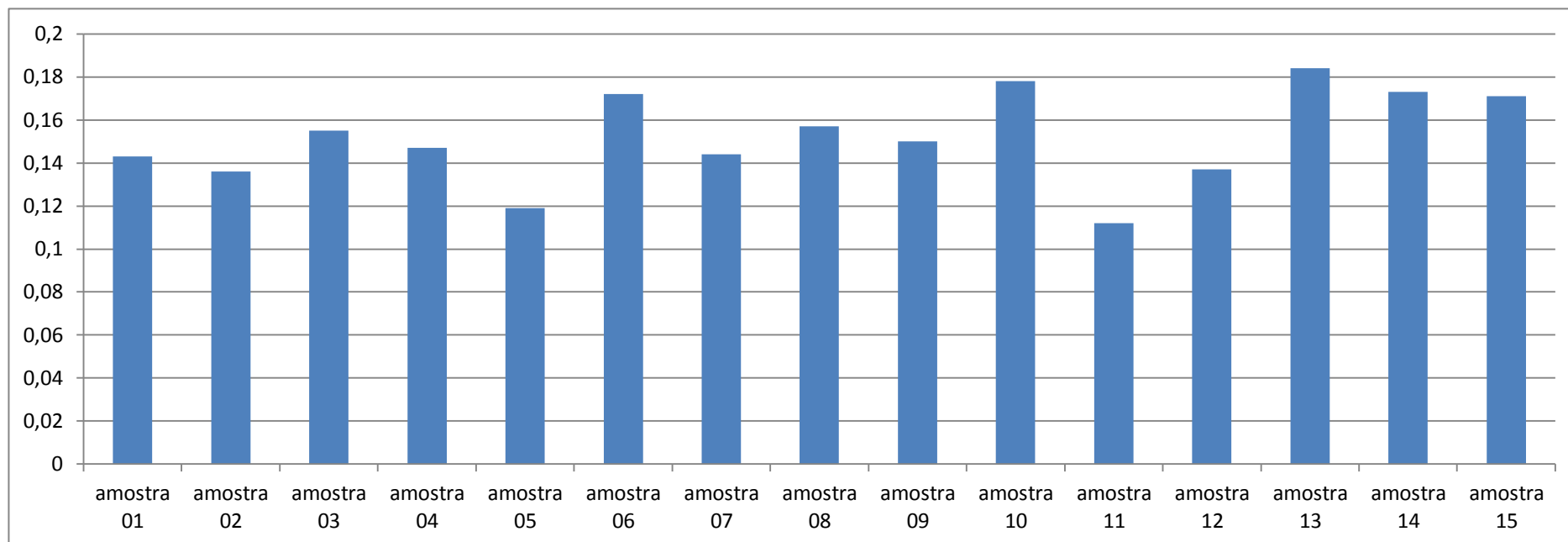
<b>Nome da Amostra</b>	<b>Tipo de Amostra</b>	<b>Nome do Componente</b>	<b>Concentração Atual (µg/L)</b>	<b>Concentração Calculada (µg/L)</b>	<b>Precisão</b>
amostra 05	Unknown	Estrona1	N/A	0,119	N/A
amostra 06	Unknown	Estrona1	N/A	0,172	N/A
amostra 07	Unknown	Estrona1	N/A	0,144	N/A
amostra 08	Unknown	Estrona1	N/A	0,157	N/A
amostra 09	Unknown	Estrona1	N/A	0,15	N/A
amostra 10	Unknown	Estrona1	N/A	0,178	N/A
amostra 11	Unknown	Estrona1	N/A	0,112	N/A
amostra 12	Unknown	Estrona1	N/A	0,137	N/A
amostra 13	Unknown	Estrona1	N/A	0,184	N/A
amostra 14	Unknown	Estrona1	N/A	0,173	N/A
amostra 15	Unknown	Estrona1	N/A	0,171	N/A

**Tabela 6.4 – Resultados HPLC/MS/MS**

Índice	Nome da Amostra	Tipo de Amostra	Nome do Componente	Concentração Atual (µg/L)	Área	Altura	Tempo de Retenção	Concentração Calculada (µg/L)	Precisão
1	H2O inj1	Blank	Estronal	N/A	1,12E+03	2,08E+02	1,04	0,048	N/A
6	E 0.025 ppb inj1	Standard	Estronal	0,03	1,37E+03	1,26E+02	1,29	0,053	176,53
11	E 0.25 ppb inj1	Standard	Estronal	0,25	8,10E+03	1,10E+03	1,04	0,189	75,48
16	E 2.5 ppb inj1	Standard	Estronal	2,5	7,97E+04	1,08E+04	1,04	1,632	65,29
21	E 12.5 ppb inj1	Standard	Estronal	12,5	4,48E+05	6,05E+04	1,04	9,065	72,52
26	E 25 ppb inj1	Standard	Estronal	25	1,15E+06	1,57E+05	1,04	23,301	93,2
31	E 50 ppb inj1	Standard	Estronal	50	2,59E+06	3,52E+05	1,04	52,273	104,55
36	CQ 2.5 ppb inj1	Quality Control	Estronal	2,5	1,87E+05	2,59E+04	1,04	3,801	152,04
41	amostra 01	Unknown	Estronal	N/A	5,85E+03	9,16E+02	0,67	0,143	N/A
46	amostra 02	Unknown	Estronal	N/A	5,48E+03	8,61E+02	0,67	0,136	N/A
51	amostra 03	Unknown	Estronal	N/A	6,41E+03	9,60E+02	0,67	0,155	N/A
56	amostra 04	Unknown	Estronal	N/A	6,02E+03	9,08E+02	0,67	0,147	N/A
61	amostra 05	Unknown	Estronal	N/A	4,66E+03	7,44E+02	0,67	0,119	N/A
66	amostra 06	Unknown	Estronal	N/A	7,26E+03	1,01E+03	0,67	0,172	N/A
71	amostra 07	Unknown	Estronal	N/A	5,88E+03	9,12E+02	0,67	0,144	N/A
76	amostra 08	Unknown	Estronal	N/A	6,51E+03	1,02E+03	0,67	0,157	N/A
81	amostra 09	Unknown	Estronal	N/A	6,19E+03	9,23E+02	0,67	0,15	N/A
86	amostra 10	Unknown	Estronal	N/A	7,55E+03	1,10E+03	0,67	0,178	N/A
91	amostra 11	Unknown	Estronal	N/A	4,30E+03	6,59E+02	0,68	0,112	N/A
96	amostra 12	Unknown	Estronal	N/A	5,53E+03	8,36E+02	0,68	0,137	N/A
101	amostra 13	Unknown	Estronal	N/A	7,88E+03	1,15E+03	0,67	0,184	N/A
106	amostra 14	Unknown	Estronal	N/A	7,31E+03	1,06E+03	0,67	0,173	N/A
111	amostra 15	Unknown	Estronal	N/A	7,21E+03	1,03E+03	0,68	0,171	N/A
116	CQ 25 ppb inj1	Quality Control	Estronal	25	2,30E+06	3,13E+05	1,05	46,306	185,22
121	H2O inj1	Blank	Estronal	N/A	2,07E+03	1,73E+02	1,37	0,067	N/A
126	E 0.025 ppb inj1	Standard	Estronal	0,03	1,05E+03	1,16E+02	1,06	0,047	155,18



Índice	Nome da Amostra	Tipo de Amostra	Nome do Componente	Concentração Atual (µg/L)	Área	Altura	Tempo de Retenção	Concentração Calculada (µg/L)	Precisão
131	E 0.25 ppb inj1	Standard	Estronal	0,25	9,03E+03	1,33E+03	1,04	0,208	83,02
141	E 12.5 ppb inj1	Standard	Estronal	12,5	5,21E+05	7,12E+04	1,05	10,538	84,3
146	E 25 ppb inj1	Standard	Estronal	25	1,21E+06	1,67E+05	1,05	24,477	97,91
151	E 50 ppb inj1	Standard	Estronal	50	2,82E+06	3,84E+05	1,05	56,819	113,64



**Figura 6.2** – Concentração de estrona nos pontos de coleta em µg/L

## **6.3 DISCUSSÃO**

### **6.3.1 Confiabilidade do Método de Análise**

O método analítico para detecção e quantificação de estrona apresentou-se com uma excelente confiabilidade para o intervalo de concentração entre 0,025 µg/L e 0,5 µg/L, conforme resultados obtidos mostrados nas Tabelas 6.1, 6.2 e 6.3 e Figura 6.1, onde as concentrações injetadas do padrão de Estrona ficaram dentro dos valores esperados, ou seja, muito próximas aos valores da curva de calibração.

Apesar do intervalo para quantificação da estrona estar entre 0,025 µg/L e 0,5 µg/L, utilizou-se, para a curva de calibração do método, o intervalo de 0,025 µg/L a 50 µg/L porque este método analítico foi validado para detectar e quantificar estrona e nonilfenol simultaneamente e não pode ser testado de outra maneira.

### **6.3.2 Discussão dos Resultados**

Os resultados obtidos demonstram, claramente, a presença de estrona nos pontos de lançamento irregular de esgoto doméstico no Lago Paranoá, com valores na faixa de 0,112 µg/L a 0,184 µg/L, que indicam concentrações muito pequenas, porém nocivas à saúde humana e aos animais existentes neste meio aquático.

Bila e Dezotti (2007) apud Stump, M. et al. (1999) e Ternes, T. A. et al. (1999) afirmam que para a maioria dos fármacos investigados nos efluentes das estações de tratamento de esgoto (ETE), a concentração média encontrada foi de 0,1 a 1,0 µg/. As concentrações de estrona encontradas nos efluentes da Estação de Tratamento de Esgoto da Penha/RJ estão dentro do intervalo de 0,02 a 0,04 µg/L. Nos rios brasileiros, a média está entre 0,02 e 0,05 µL. Porém, as concentrações encontradas no Lago Paranoá estiveram no intervalo de 0,112 µg/L a 0,184 µg/L, superiores aos mencionados por Bila e Dezotti (2007), provavelmente por se tratar de local de lançamento de esgoto irregular em água superficial.

Os resultados também apontam, muito levemente, uma maior concentração de estrona próxima ao ponto de lançamento de esgoto, decrescendo no sentido da corrente.

Os pontos 6, 10 e 13 foram os que apresentaram maior concentração de estrona, enquanto os pontos 5 e 11 forma os que apresentaram a menor concentração. Porém, torna-se de fundamental importância repetir as coletas para melhor interpretar o ocorrido.

## **7.0 CONCLUSÃO E RECOMENDAÇÕES**

A área de saneamento básico desenvolve um papel importantíssimo na engenharia, principalmente com o constante aumento na relevância de se adotar medidas sustentáveis ao meio ambiente. A presença de estrona em meio aquoso é um indicativo de que esgotos domésticos são lançados na região e sua presença, mesmo em pequenas quantidades, pode causar grandes impactos ao ambiente.

Apesar da estrona normalmente ser encontrada em quantidades muito pequenas na água e se agregar facilmente a sedimentos, o que torna sua quantificação muito difícil, no presente trabalho foi possível quantificá-la nas amostras aquosas coletadas dentro do intervalo do método analítico para HPLC/MS/MS (0,025 µg/L a 0,5 µg/L) utilizado.

Como o objetivo desse trabalho foi detectar e possivelmente quantificar a estrona na margem Lago Paranoá em Brasília – DF, este objetivo foi alcançado, obtendo-se concentrações de estrona em todas as amostras variando de 0,112 µg/L a 0,184 µg/L.

### **7.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Como sugestões para futuros trabalhos, as recomendações são:

- Novas coletas de amostras nestes pontos para compreender o comportamento das concentrações encontradas;
- Novas coletas de amostras nestes pontos, análises cromatográficas para quantificação da estrona e posterior tratamento com carvão ativado em grão e novas análises cromatográficas;
- Coletas de amostras de água do Lago Paranoá em vários outros pontos, como a área perto do Clube Asbac, do Batalhão dos Fuzileiros Navais, da Embaixada da Espanha, da QL 16 do Lago Norte e da Ponte do Bragueto; e
- Monitoramento mensal da concentração de estrona nos pontos considerados neste trabalho.

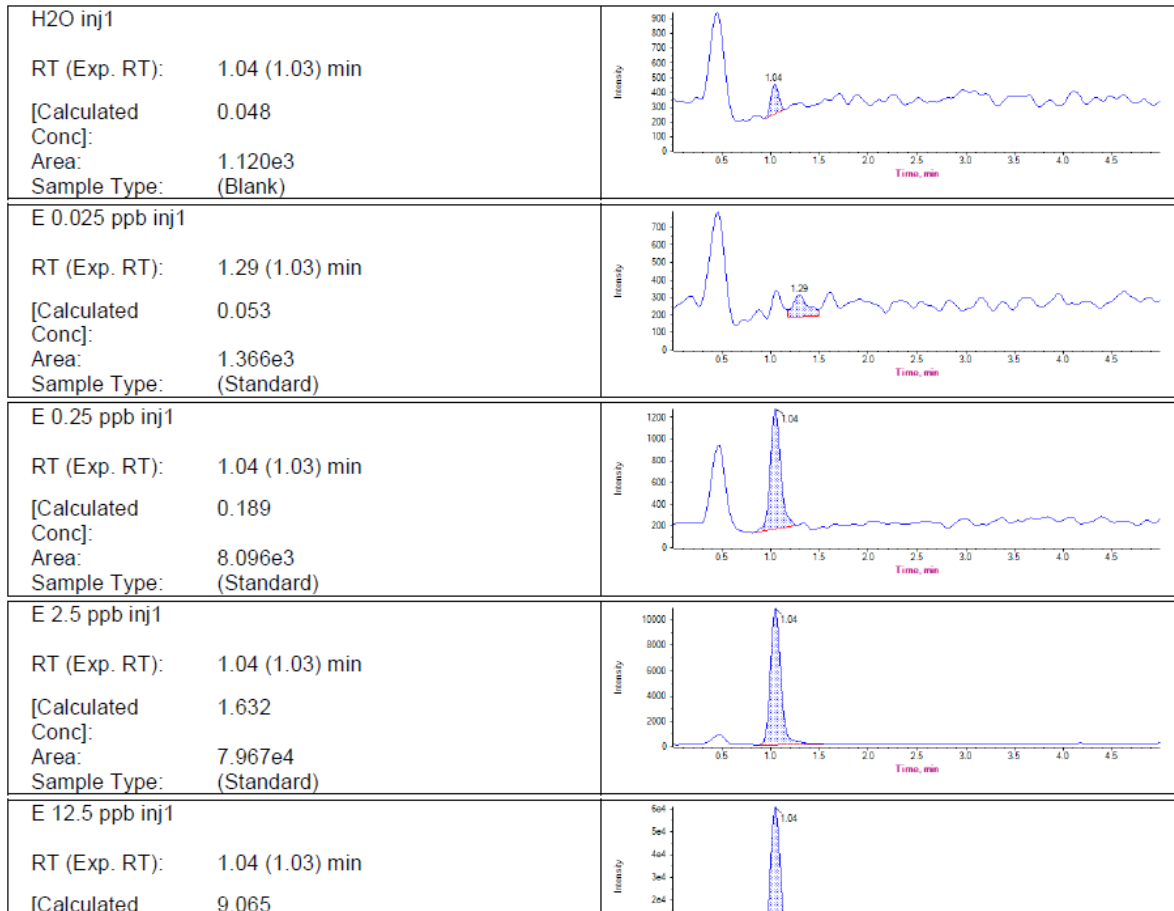
## 8.0 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bila e Dezotti, “**Desreguladores Endócrinos no Meio Ambiente: Efeitos e Consequências**” Coordenação dos Programas de Pós-graduação de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422007000300027&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422007000300027&script=sci_arttext)>. Acessado em: jun/2013
2. CAESB (Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal), “**Balneabilidade do Lago Paranoá**” Brasília, 2007, Disponível em: <[http://www3.caesb.df.gov.br/\\_conteudo/produtosServicos/qualidadeAgua.asp?id=1#Mapa](http://www3.caesb.df.gov.br/_conteudo/produtosServicos/qualidadeAgua.asp?id=1#Mapa)>. Acessado em: maio/2013.
3. Castanheira, “**Aplicación de Membrana de Nanofiltración para Eliminar Disruptores Endocrinos em la Potabilización del Agua**” Tese de Doutorado em Engenharia Ambiental, Universidade Politécnica da Catalunia, 2010.
4. CETESB (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo) – “**O que é balneabilidade**”, Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/praias/18-balneabilidade#>>. Acessado em Julho/2013
5. Correio Braziliense, “**Lançamento de esgoto sem tratamento no Lago Paranoá vai ser investigado.**”, Disponível em: <[http://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/cidades/2013/02/15/interna\\_cidadesdf,349824/lançamento-de-esgoto-sem-tratamento-no-lago-paranoa-vai-ser-investigado.shtml](http://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/cidades/2013/02/15/interna_cidadesdf,349824/lançamento-de-esgoto-sem-tratamento-no-lago-paranoa-vai-ser-investigado.shtml)>. Acessado em: junho/2013.
6. Fonseca, F., “**Olhares sobre o Lago Paranoá**”. Secretaria de Meio Ambiente e Recursos Hídricos. 1ª Edição, 425 p. 2001
7. Guimarães, J., “**Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional**”, Disponível em: <[http://www.acpo.org.br/disruptores\\_endocrinos.pdf](http://www.acpo.org.br/disruptores_endocrinos.pdf)>. Acessado em: maio/2013
8. Sanchez, Delia., “**Desreguladores endócrinos na indução da vitelogenina em peixes nativos**”, Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, 2006.

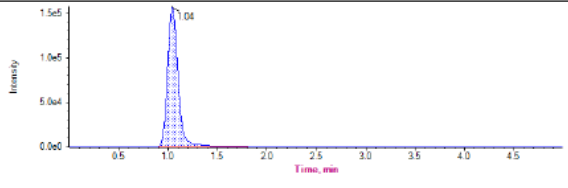
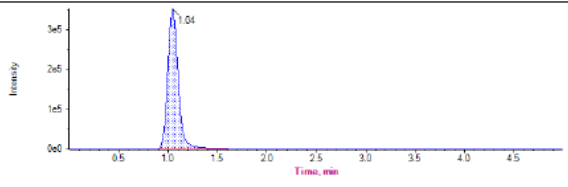
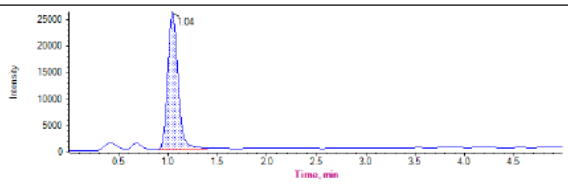
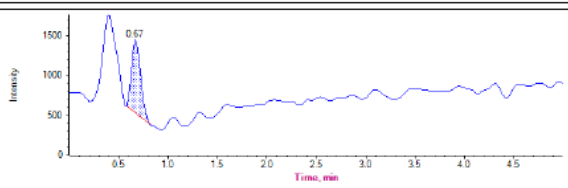
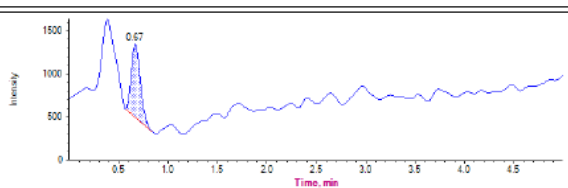
## ANEXO A – CROMATOGRAMAS OBTIDOS PELO HPLC/MS/MS



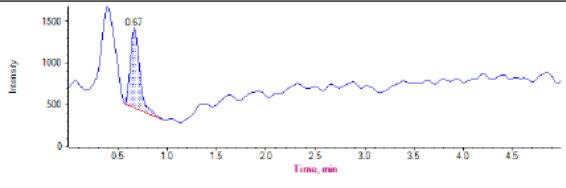
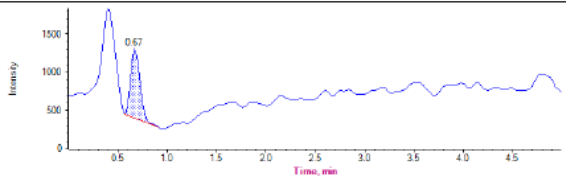
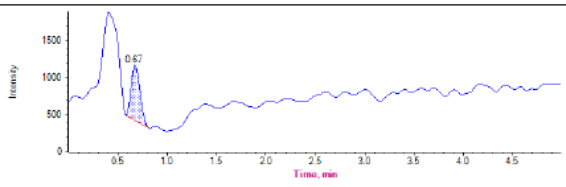
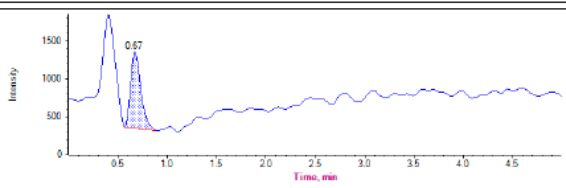
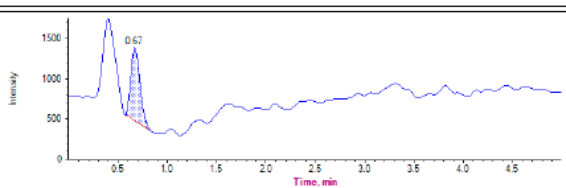
Created with Analyst Reporter  
Printed: 05/06/2013 8:55:30 AM



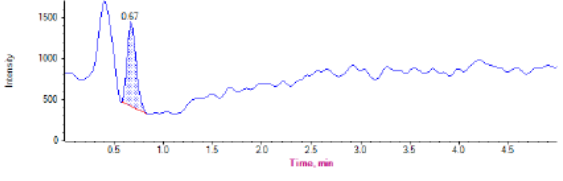
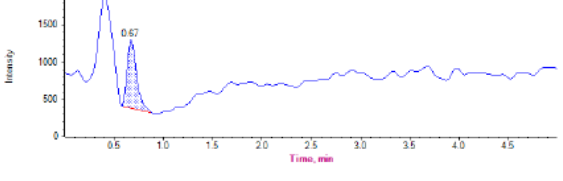
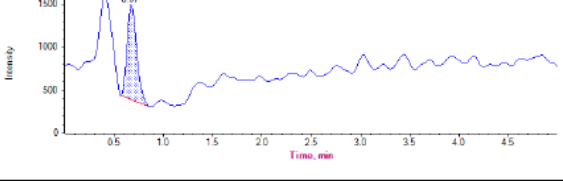
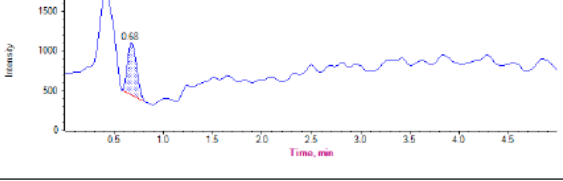
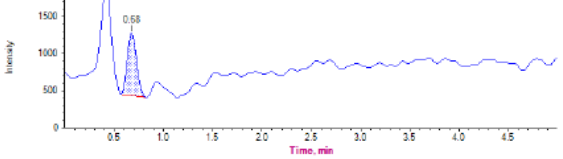
**Figura A1** – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa.

<p>E 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 23.301</p> <p>Area: 1.154e6</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 50 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 52.273</p> <p>Area: 2.591e6</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>CQ 2.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 3.801</p> <p>Area: 1.872e5</p> <p>Sample Type: (Quality Control)</p>	
<p>amostra 01</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.143</p> <p>Area: 5.852e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 02</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.136</p> <p>Area: 5.482e3</p>	

**Figura A2** – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa.

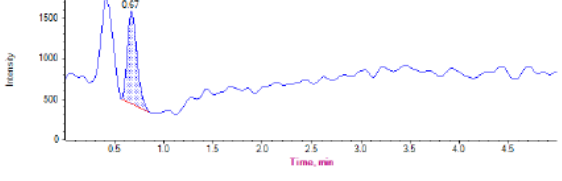
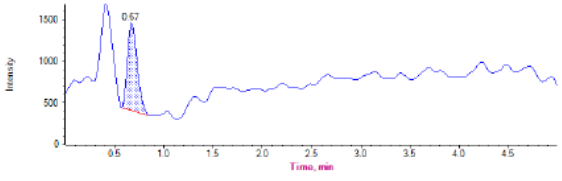
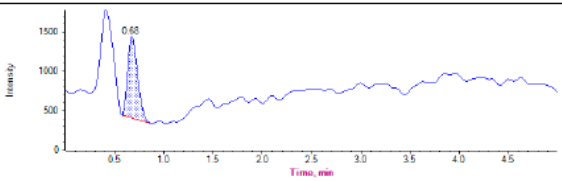
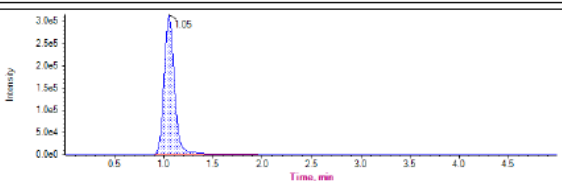
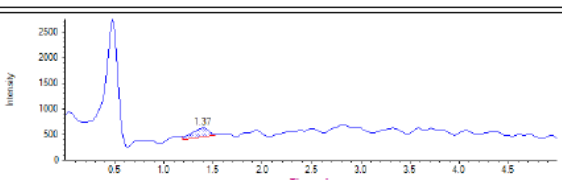
<p>amostra 03</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.155</p> <p>Area: 6.407e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 04</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.147</p> <p>Area: 6.017e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 05</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.119</p> <p>Area: 4.661e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 06</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.172</p> <p>Area: 7.261e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 07</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.144</p> <p>Area: 5.884e3</p>	

**Figura A3** – Cromatogramas n°3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa.

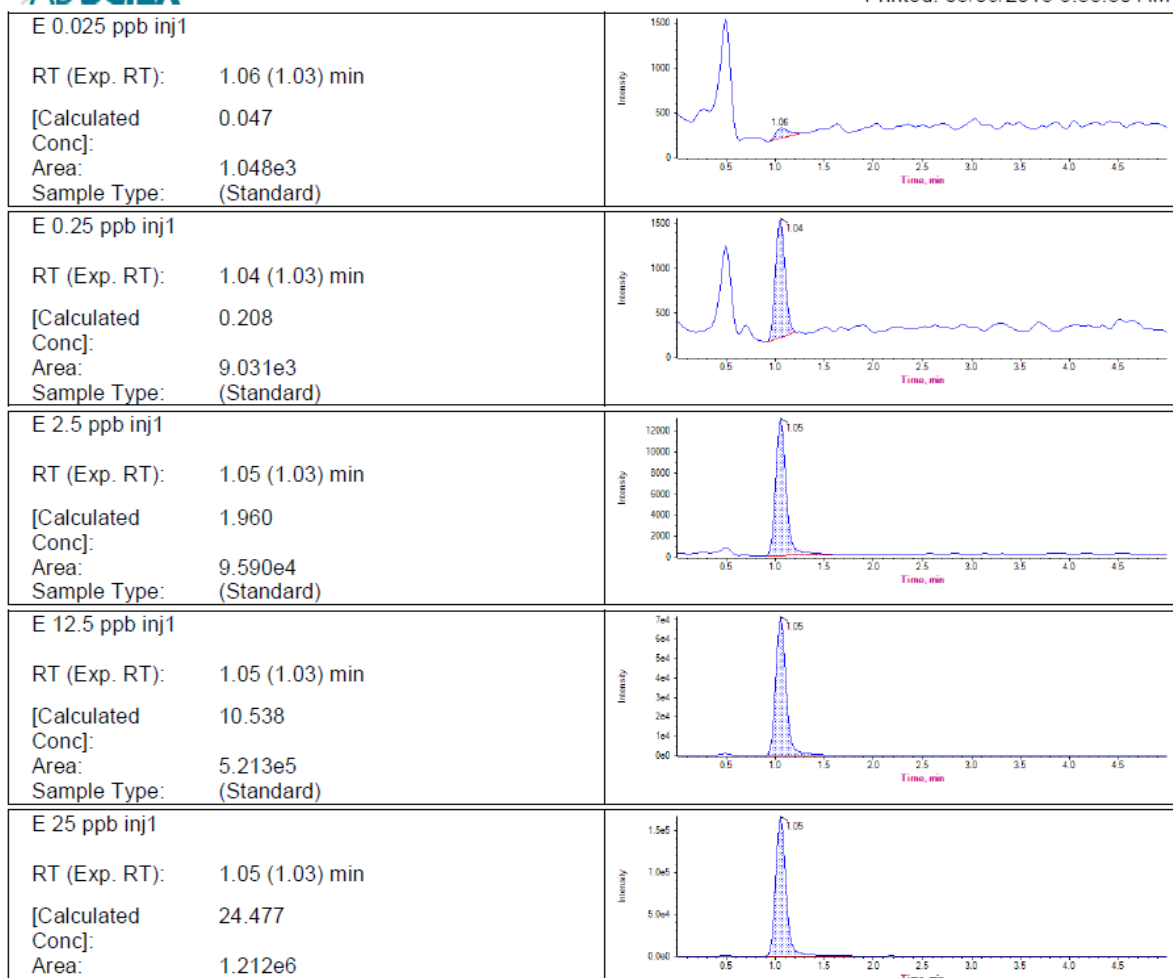
<p>amostra 08</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.157</p> <p>Area: 6.511e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 09</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.150</p> <p>Area: 6.188e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 10</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.178</p> <p>Area: 7.546e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 11</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.112</p> <p>Area: 4.301e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 12</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.137</p> <p>Area: 5.525e3</p>	

**Figura A4** – Cromatogramas nº4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa.



<p>amostra 13</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.184</p> <p>Area: 7.877e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 14</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.173</p> <p>Area: 7.310e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 15</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.171</p> <p>Area: 7.213e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>CQ 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.05 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 46.306</p> <p>Area: 2.295e6</p> <p>Sample Type: (Quality Control)</p>	
<p>H2O inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.37 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 0.067</p> <p>Area: 2.066e3</p>	

**Figura A5** – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa.



**Figura A6** – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa.

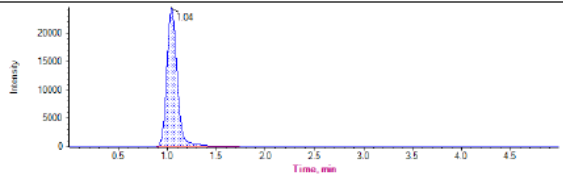
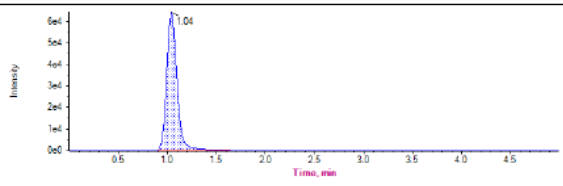
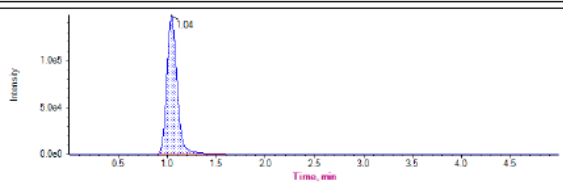
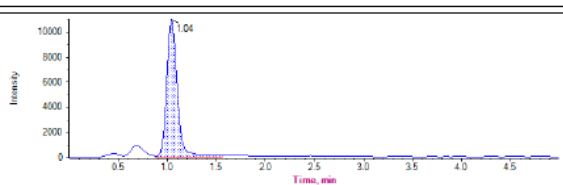
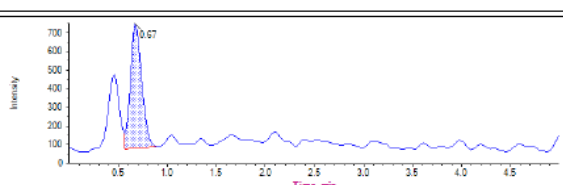


**Figura A7** – Cromatograma nº7 obtido pelo HPLC/MS/MS da primeira amostra aquosa.

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
E 50 ppb inj1	Standard	1.169e+06	1.05	50.00	53.778

<p>H2O inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.06 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.355</p> <p>Area: 8.824e2</p> <p>Sample Type: (Blank)</p>	
<p>E 0.025 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.03 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.332</p> <p>Area: 3.635e2</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 0.25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.484</p> <p>Area: 3.763e3</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 2.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 2.755</p> <p>Area: 3.209e4</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	

**Figura A8** – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa.

<p>E 12.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 9.397</p> <p>Area: 1.801e5</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 22.440</p> <p>Area: 4.707e5</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 50 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 49.642</p> <p>Area: 1.077e6</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>CQ 2.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.968</p> <p>Area: 8.138e4</p> <p>Sample Type: (Quality Control)</p>	
<p>amostra 01</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.557</p> <p>Area: 5.381e3</p>	

**Figura A9** – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa.

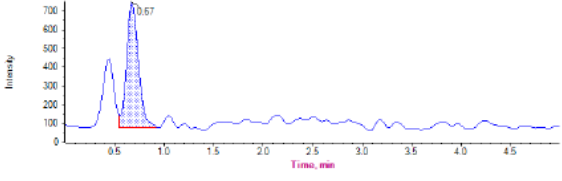
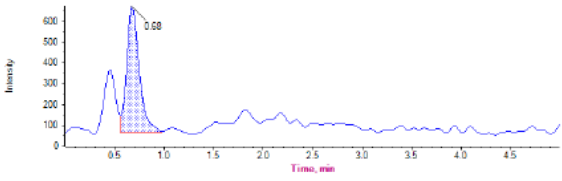
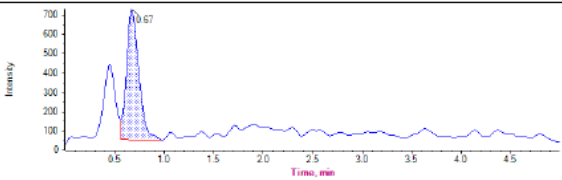
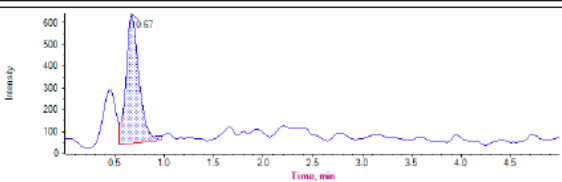
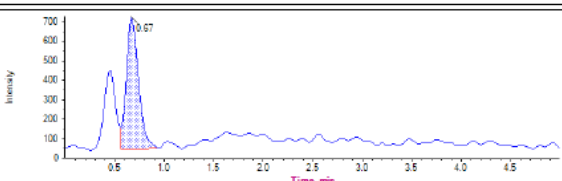
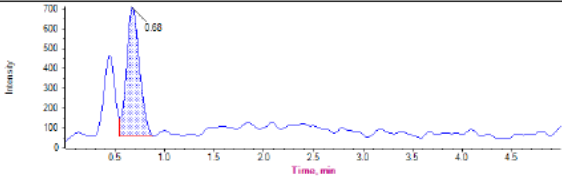
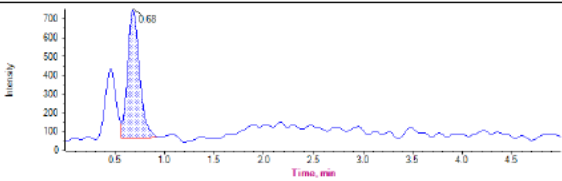
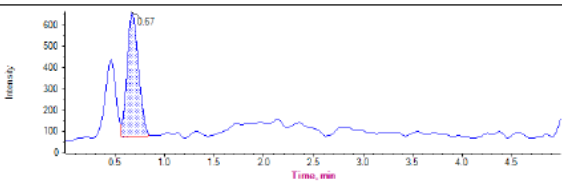
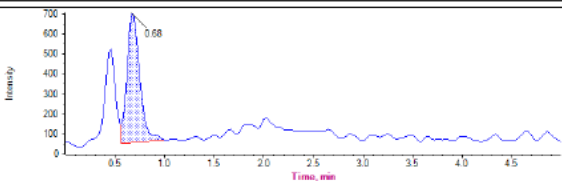
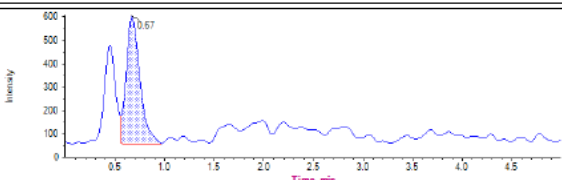
<p>amostra 02</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.565</p> <p>Area: 5.556e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 03</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.556</p> <p>Area: 5.356e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 04</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.579</p> <p>Area: 5.885e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 05</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.559</p> <p>Area: 5.436e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 06</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.577</p> <p>Area: 5.832e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	

Figura A10 – Cromatogramas n°3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa.

<p>amostra 07</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.582</p> <p>Area: 5.952e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 08</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.575</p> <p>Area: 5.781e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 09</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.525</p> <p>Area: 4.664e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 10</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.574</p> <p>Area: 5.776e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 11</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.550</p> <p>Area: 5.222e3</p>	

**Figura A11** – Cromatogramas nº4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa.

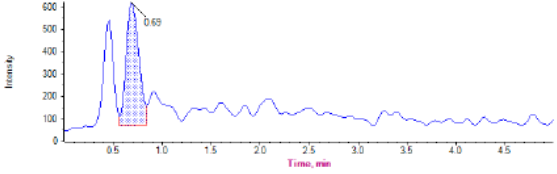
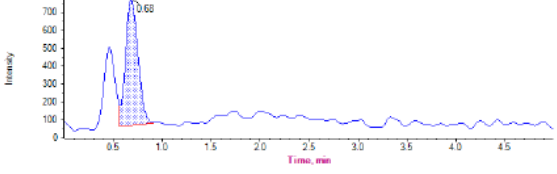
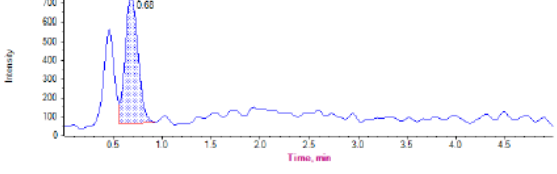
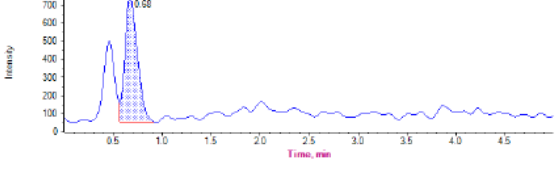
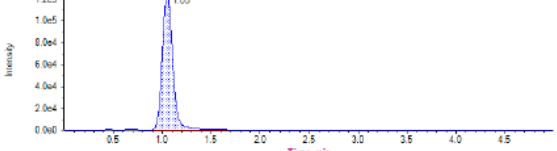
<p>amostra 12</p> <p>RT (Exp. RT): 0.69 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.539</p> <p>Area: 4.995e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 13</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.595</p> <p>Area: 6.227e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 14</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.593</p> <p>Area: 6.179e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 15</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 1.593</p> <p>Area: 6.180e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>CQ 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.05 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 43.182</p> <p>Area: 9.328e5</p>	

Figura A12 – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa.

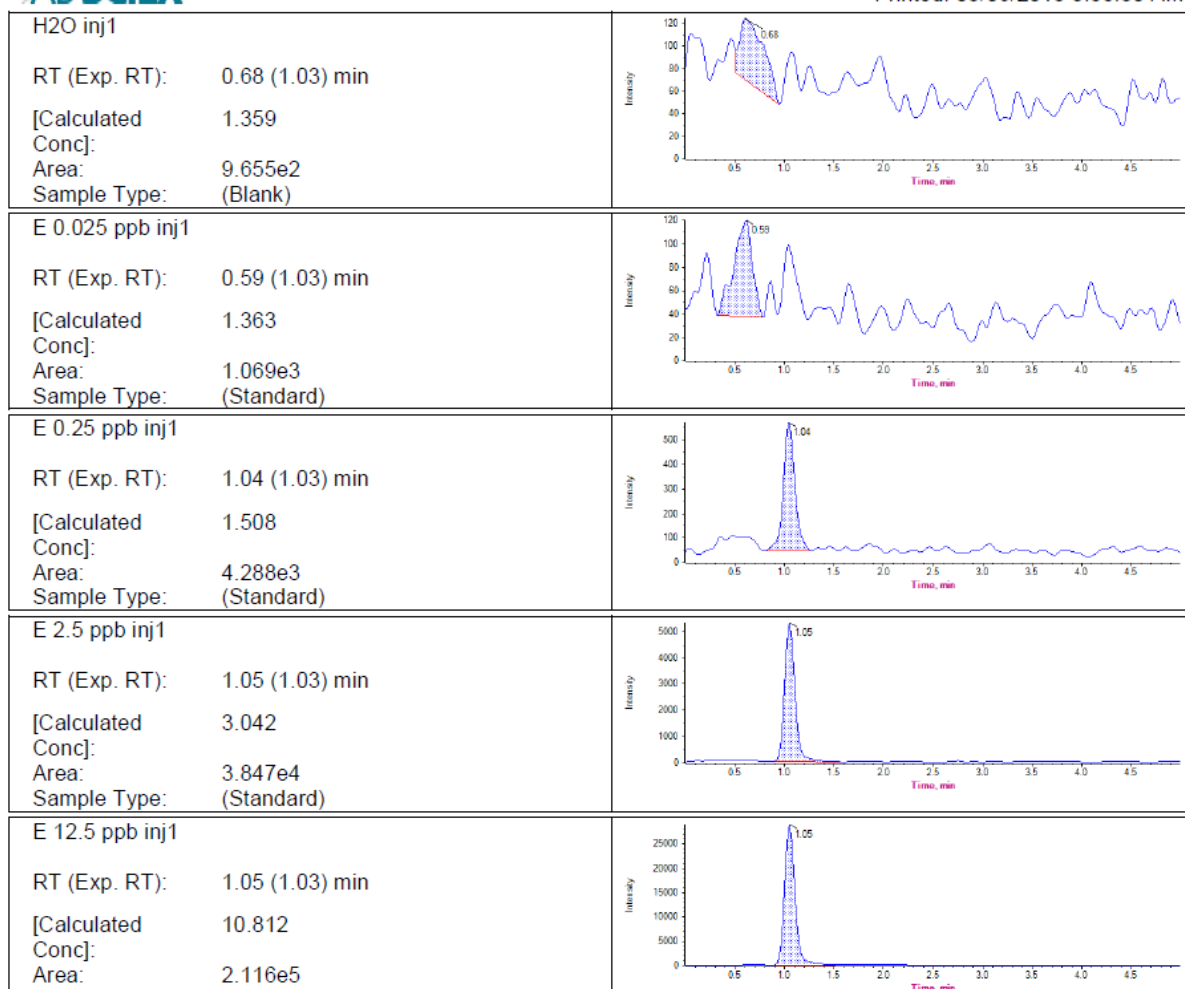


Figura A13 – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa.

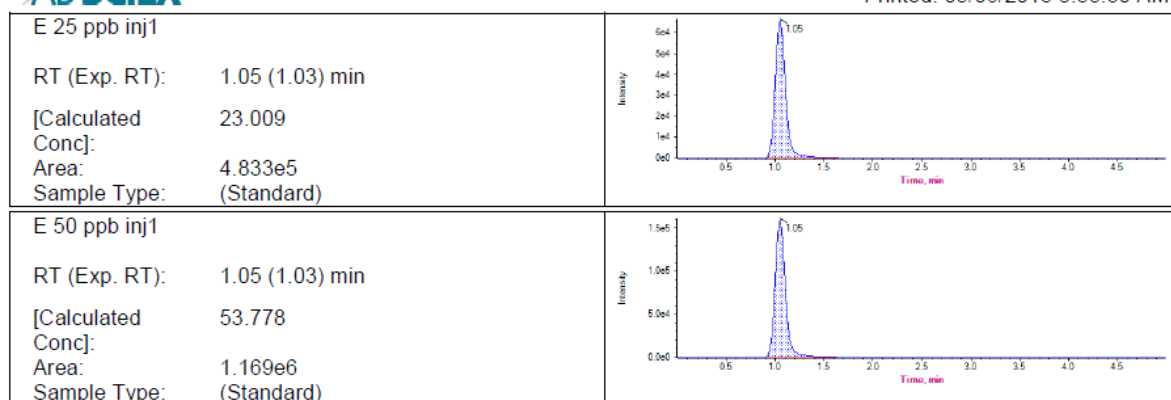
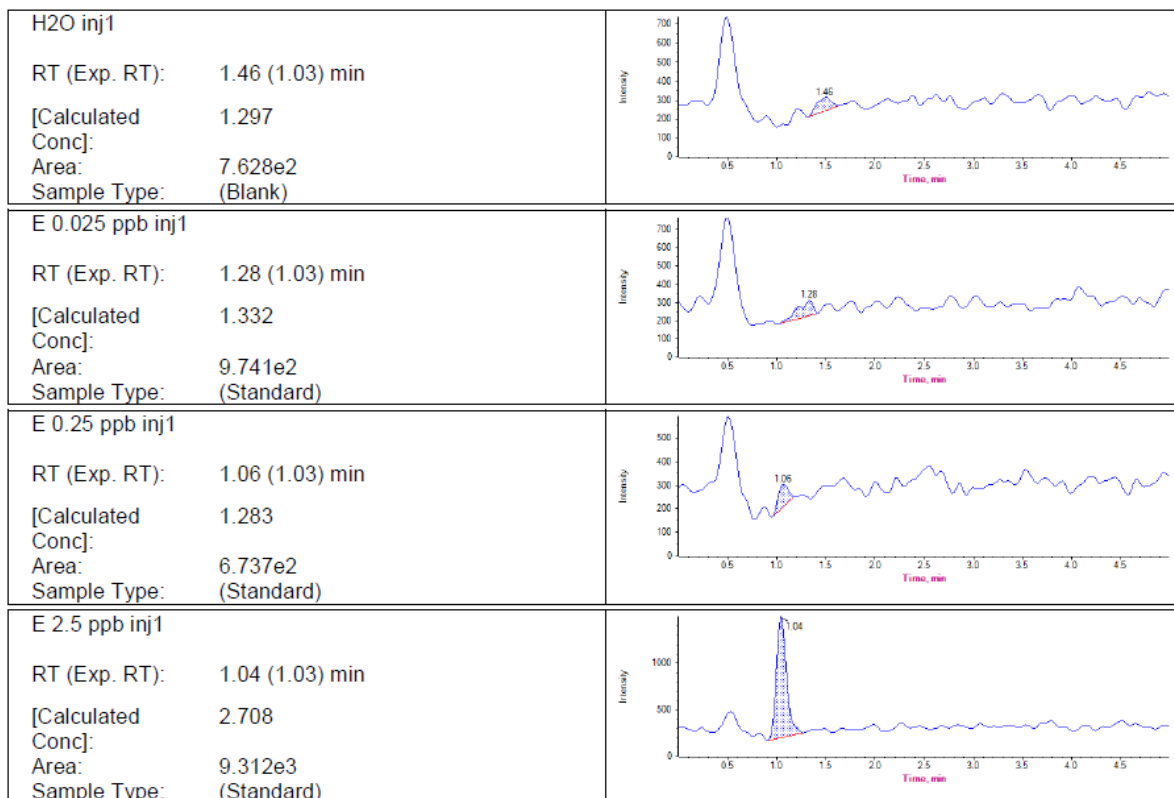


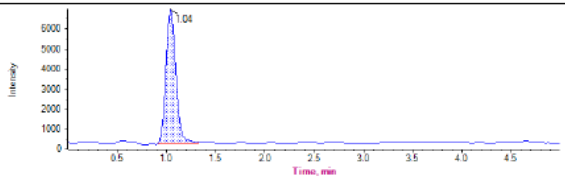
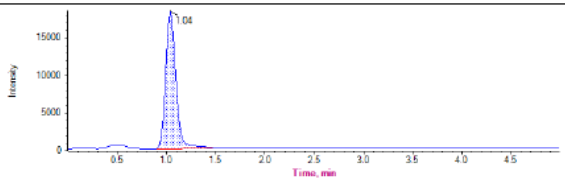
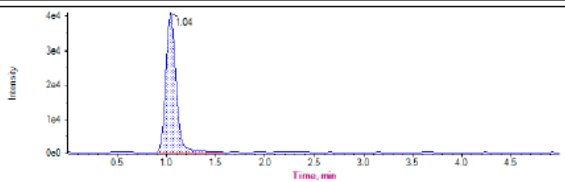
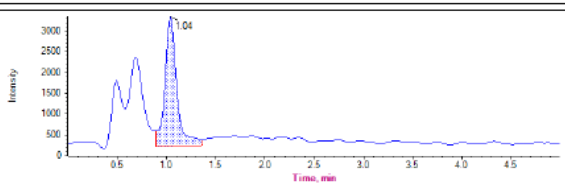
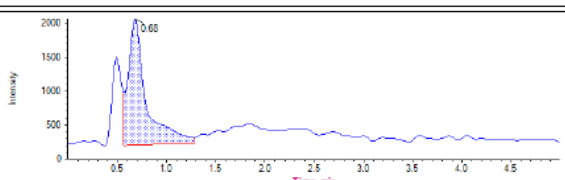
Figura A14 – Cromatogramas nº7 obtidos pelo HPLC/MS/MS da segunda amostra aquosa.



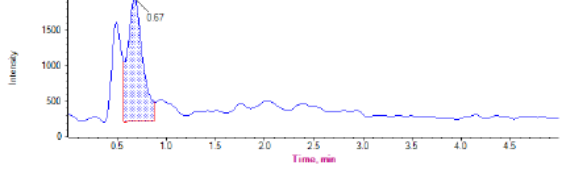
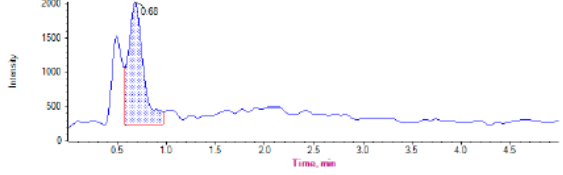
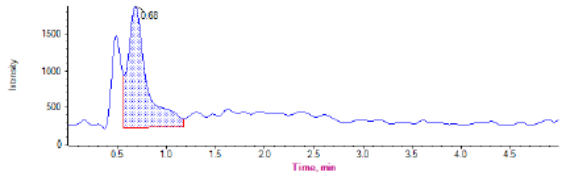
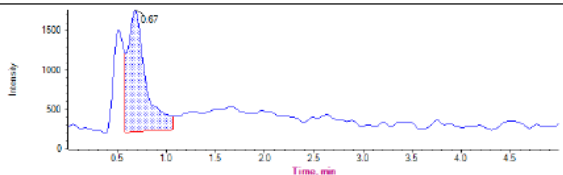
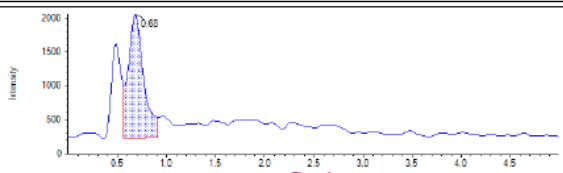
Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
E 50 ppb inj1	Standard	3.154e+05	1.04	50.00	53.204



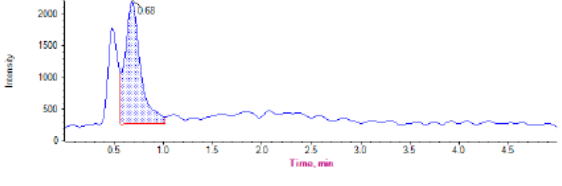
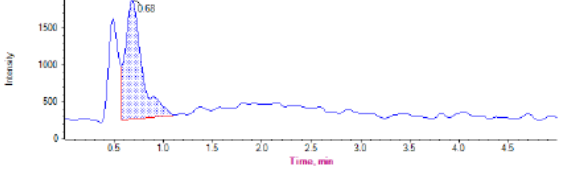
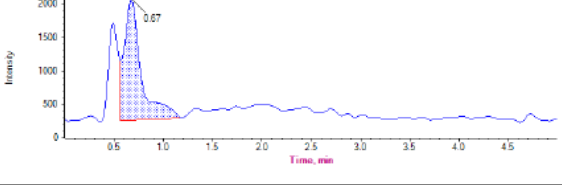
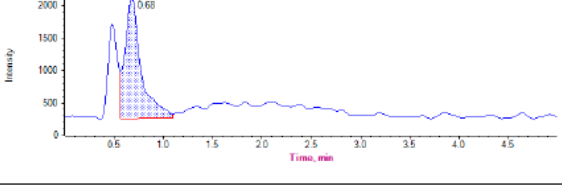
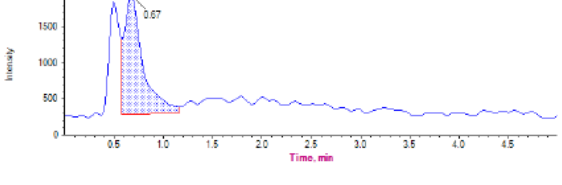
**Figura A15** – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa.

<p>E 12.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 9.044</p> <p>Area: 4.772e4</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 22.827</p> <p>Area: 1.313e5</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 50 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 50.096</p> <p>Area: 2.966e5</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>CQ 2.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.482</p> <p>Area: 2.613e4</p> <p>Sample Type: (Quality Control)</p>	
<p>amostra 01</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.133</p> <p>Area: 2.401e4</p>	

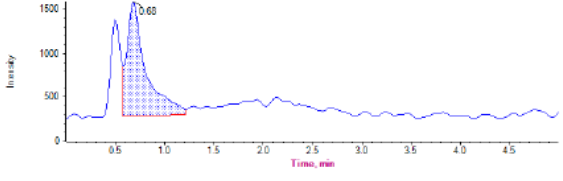
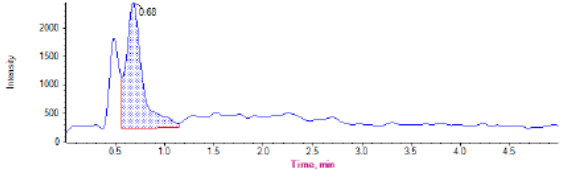
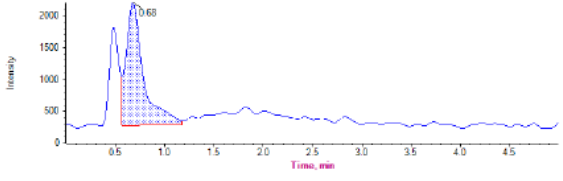
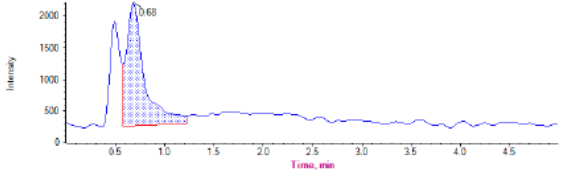
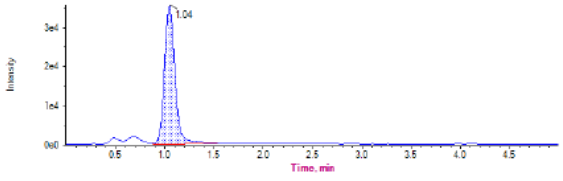
**Figura A16** – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa.

<p>amostra 02</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.258</p> <p>Area: 1.871e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 03</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.249</p> <p>Area: 1.866e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 04</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.843</p> <p>Area: 2.225e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 05</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.433</p> <p>Area: 1.977e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 06</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.484</p> <p>Area: 2.008e4</p>	

**Figura A17** – Cromatogramas nº3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa.

<p>amostra 07</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.723</p> <p>Area: 2.152e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 08</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.261</p> <p>Area: 1.872e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 09</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.800</p> <p>Area: 2.199e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 10</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.718</p> <p>Area: 2.150e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 11</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.744</p> <p>Area: 2.165e4</p>	

**Figura A18** – Cromatogramas n°4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa.

<p>amostra 12</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.078</p> <p>Area: 1.762e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 13</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.319</p> <p>Area: 2.514e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 14</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.142</p> <p>Area: 2.407e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 15</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.295</p> <p>Area: 2.500e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>CQ 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 45.304</p> <p>Area: 2.675e5</p>	

**Figura A19** – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa.

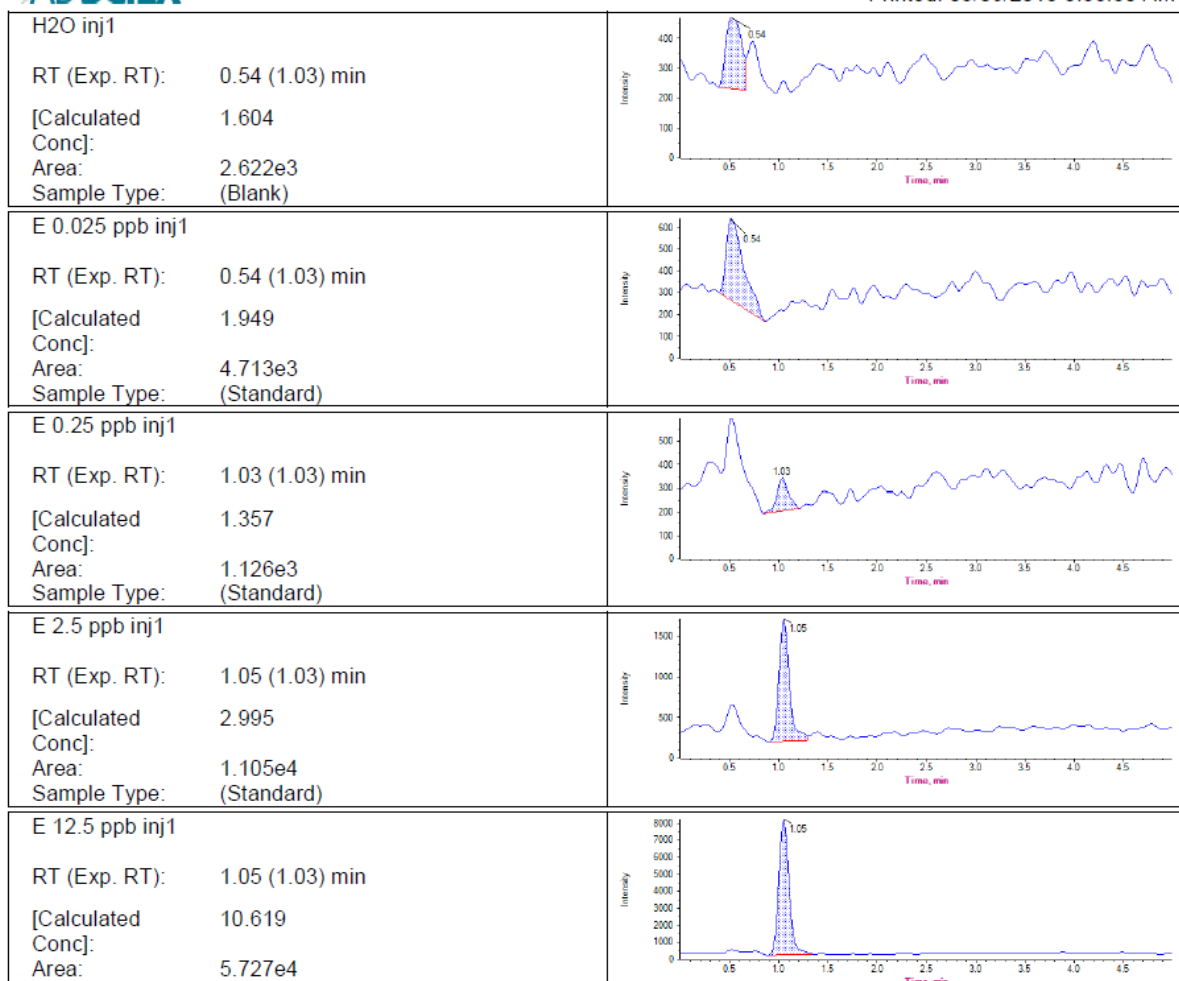


Figura A20 – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa.

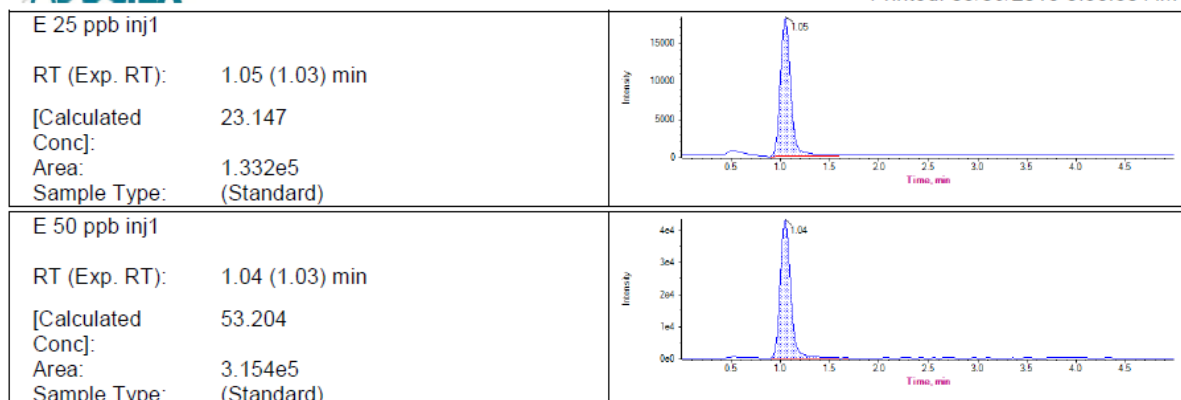
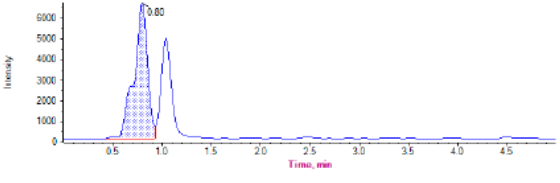
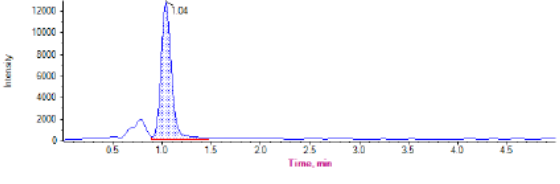
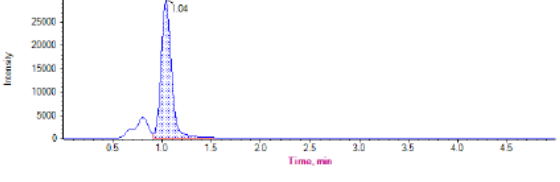
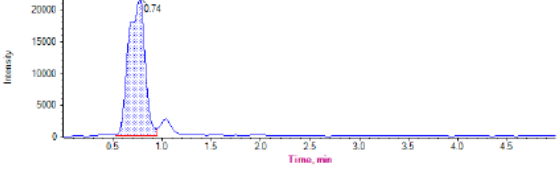
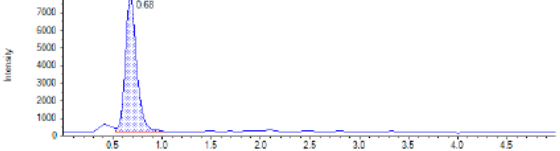


Figura A21 – Cromatogramas nº7 obtidos pelo HPLC/MS/MS da terceira amostra aquosa.

Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. (.)	[Calculated Conc]. (.)
E 50 ppb inj1	Standard	2.861e+05	1.04	50.00	58.268

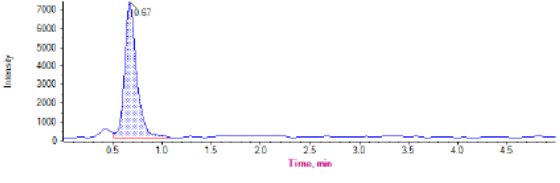
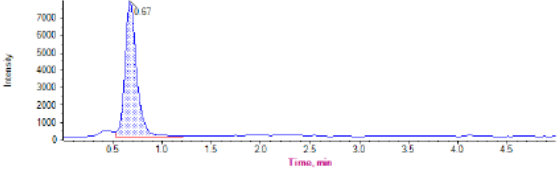
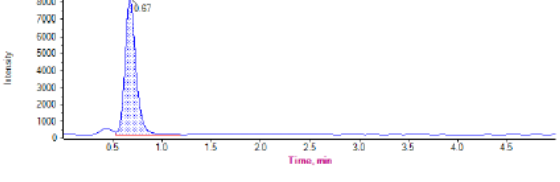
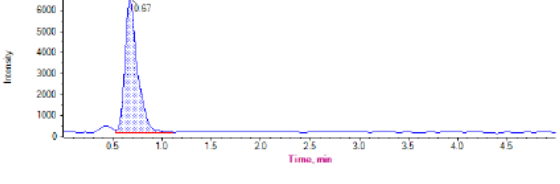
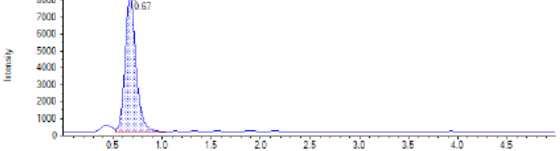
H2O inj1 RT (Exp. RT): 0.76 (1.03) min [Calculated Conc]: 0.124 Area: 1.808e4 Sample Type: (Blank)	
E 0.025 ppb inj1 RT (Exp. RT): 0.78 (1.03) min [Calculated Conc]: < 0 Area: 3.525e3 Sample Type: (Standard)	
E 0.25 ppb inj1 RT (Exp. RT): 0.79 (1.03) min [Calculated Conc]: < 0 Area: 8.046e3 Sample Type: (Standard)	
E 2.5 ppb inj1 RT (Exp. RT): 0.79 (1.03) min [Calculated Conc]: 0.471 Area: 1.968e4 Sample Type: (Standard)	

**Figura A22** – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa.

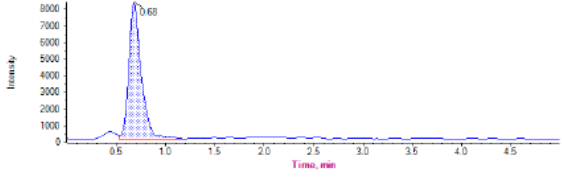
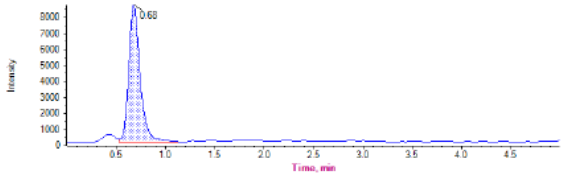
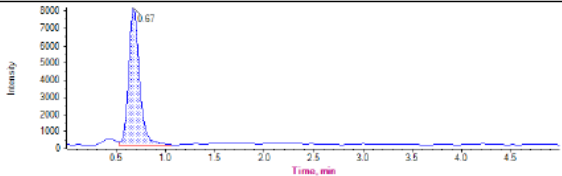
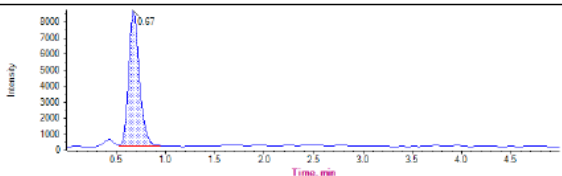
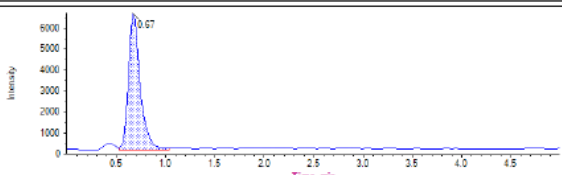
<p>E 12.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 0.80 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 9.953</p> <p>Area: 6.339e4</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 16.589</p> <p>Area: 9.398e4</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 50 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 42.738</p> <p>Area: 2.145e5</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>CQ 2.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 0.74 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 50.581</p> <p>Area: 2.507e5</p> <p>Sample Type: (Quality Control)</p>	
<p>amostra 01</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 9.765</p> <p>Area: 6.252e4</p>	

**Figura A23** – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa.



<p>amostra 02</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 9.405</p> <p>Area: 6.086e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 03</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 10.176</p> <p>Area: 6.442e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 04</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 10.025</p> <p>Area: 6.372e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 05</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 8.434</p> <p>Area: 5.639e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 06</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 9.859</p> <p>Area: 6.295e4</p>	

**Figura A24** – Cromatogramas nº3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa.

<p>amostra 07</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 11.771</p> <p>Area: 7.177e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 08</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 11.338</p> <p>Area: 6.977e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 09</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 9.626</p> <p>Area: 6.188e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 10</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 10.216</p> <p>Area: 6.460e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 11</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 7.903</p> <p>Area: 5.394e4</p>	

**Figura A25** – Cromatogramas nº4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa.

amostra 12 RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min [Calculated Conc]: 9.682 Area: 6.214e4 Sample Type: (Unknown)	
amostra 13 RT (Exp. RT): 0.69 (1.03) min [Calculated Conc]: 18.908 Area: 1.047e5 Sample Type: (Unknown)	
amostra 14 RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min [Calculated Conc]: 11.886 Area: 7.230e4 Sample Type: (Unknown)	
amostra 15 RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min [Calculated Conc]: 11.943 Area: 7.256e4 Sample Type: (Unknown)	
CQ 25 ppb inj1 RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min [Calculated Conc]: 38.212 Area: 1.936e5	

**Figura A26** – Cromatogramas nº5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa.

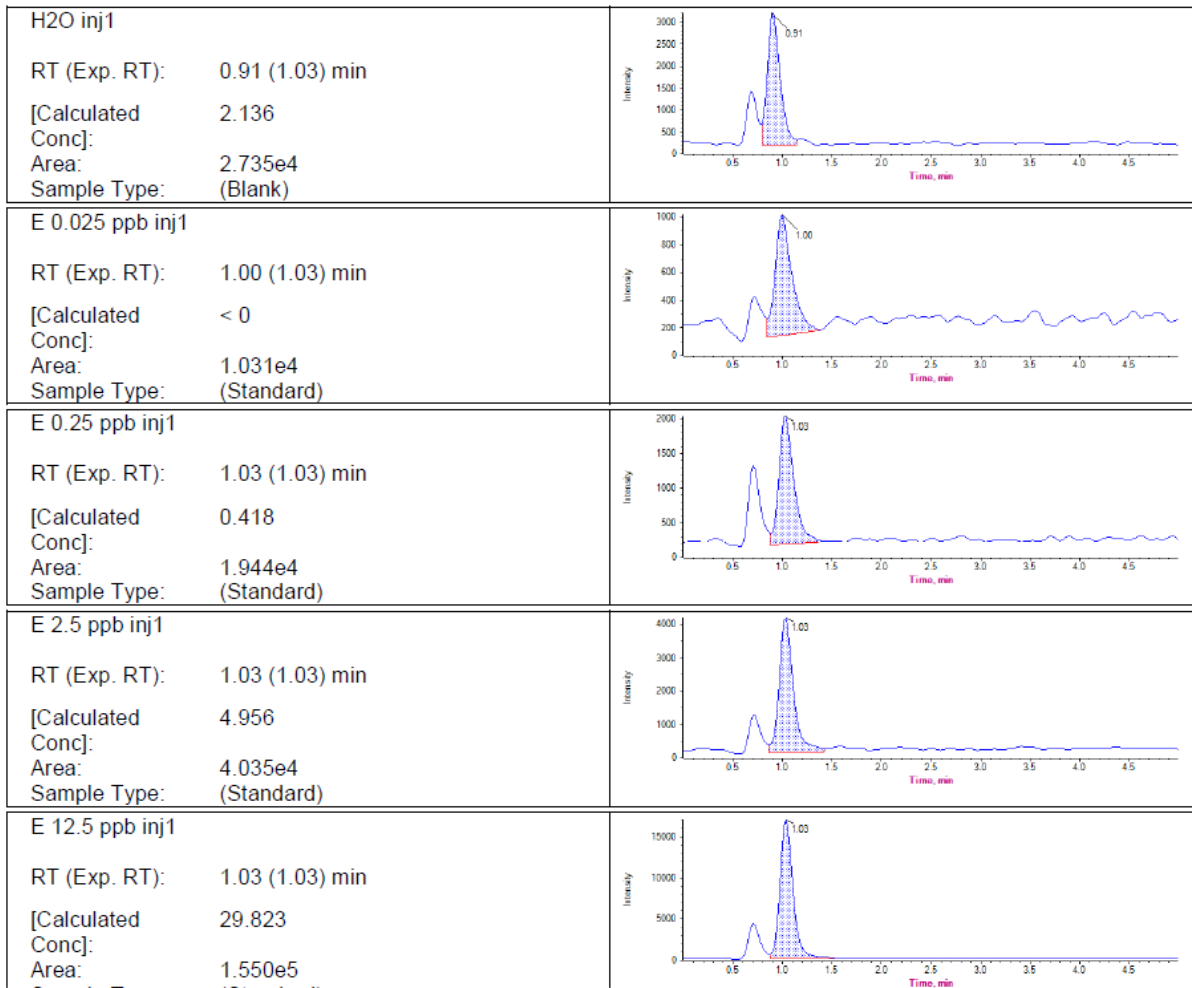


Figura A27 – Cromatogramas n°6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa.

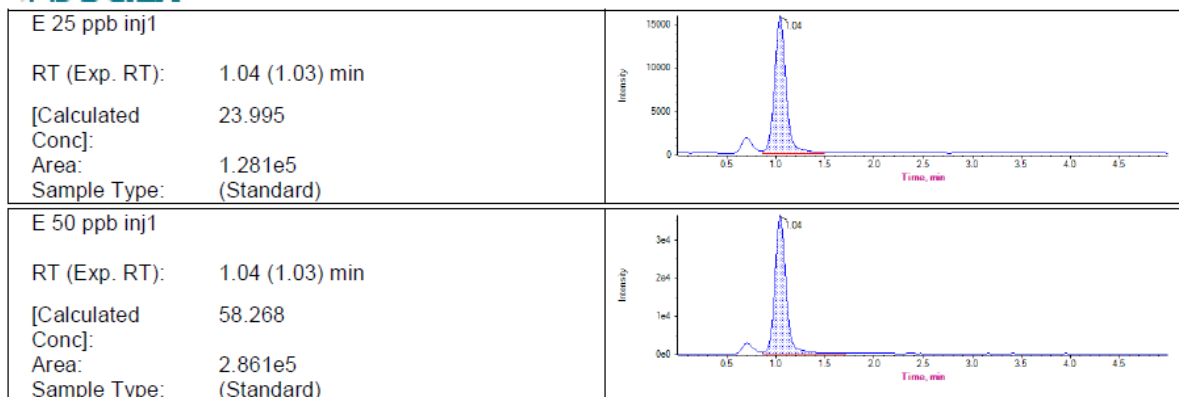
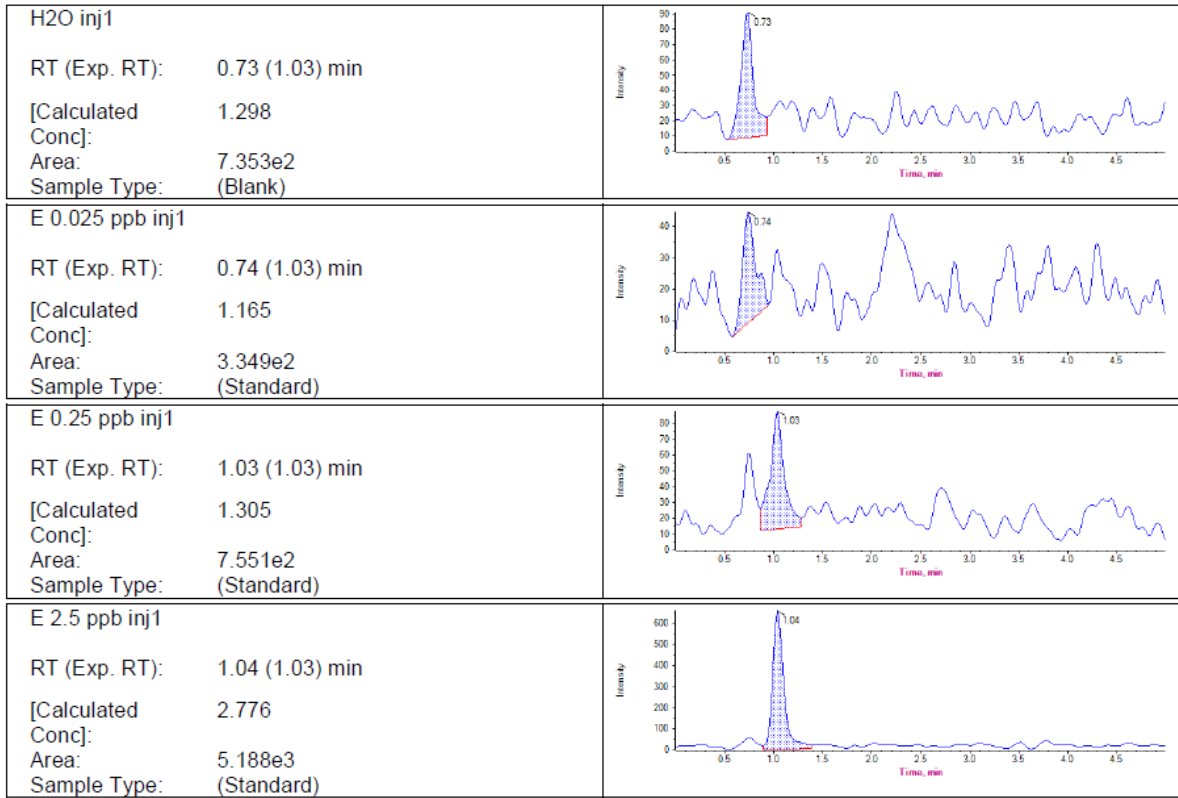
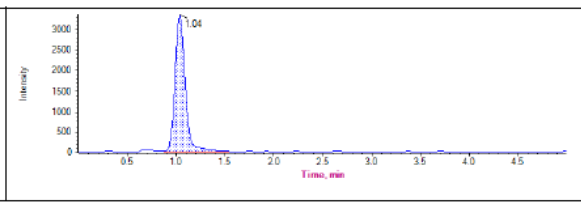
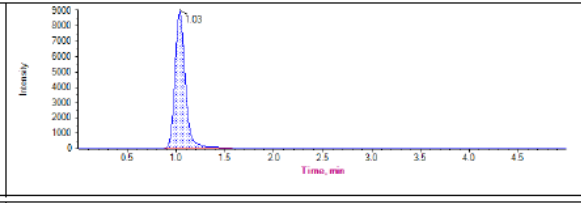
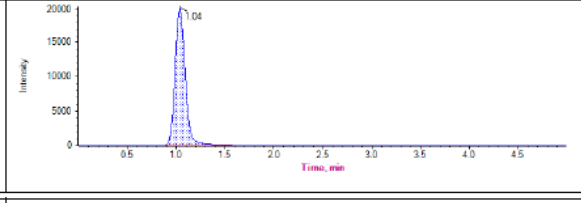
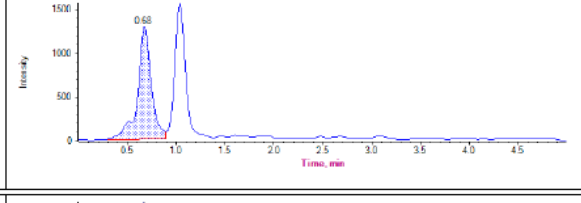
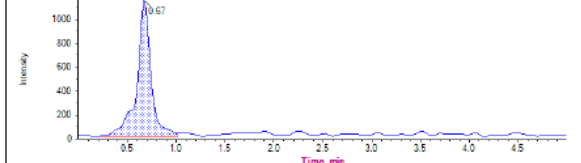


Figura A28 – Cromatogramas n°7 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quarta amostra aquosa.

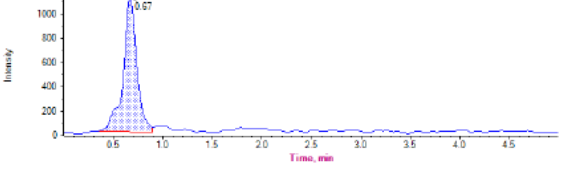
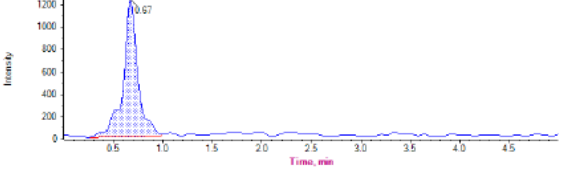
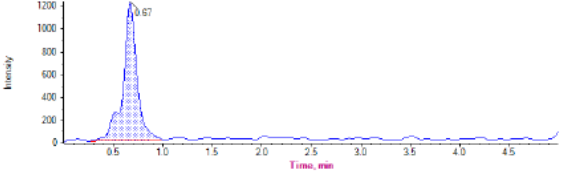
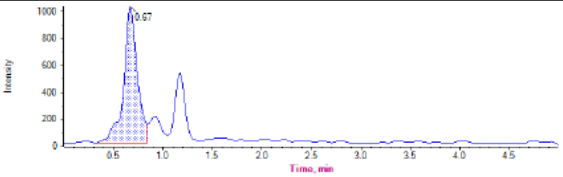
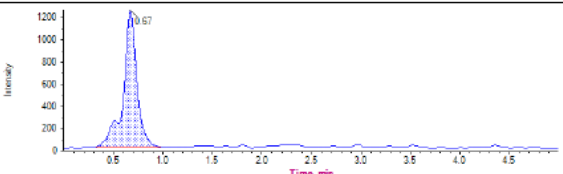
Sample Name	Sample Type	Area (cps)	RT (min)	Target [Conc]. ( )	[Calculated Conc]. ( )
E 50 ppb inj1	Standard	1.614e+05	1.04	50.00	54.622



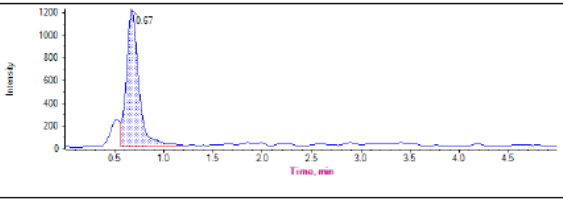
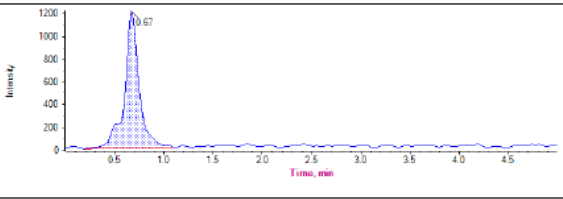
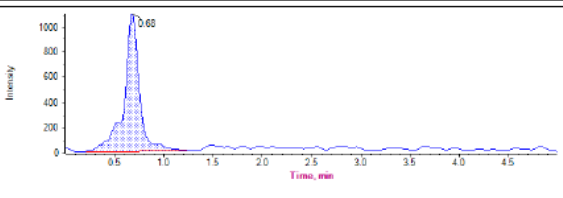
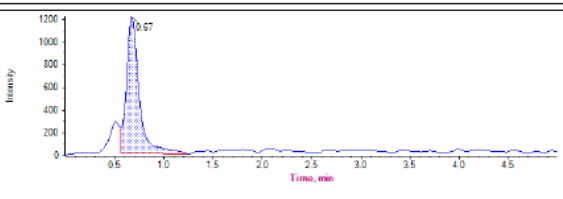
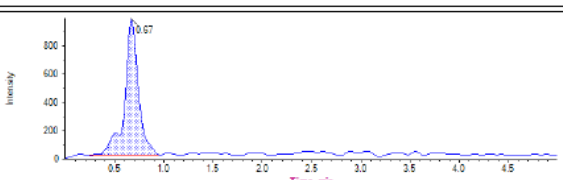
**Figura A29** – Cromatogramas nº1 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa.

<p>E 12.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 9.206</p> <p>Area: 2.456e4</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.03 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 22.681</p> <p>Area: 6.516e4</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>E 50 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 48.712</p> <p>Area: 1.436e5</p> <p>Sample Type: (Standard)</p>	
<p>CQ 2.5 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.260</p> <p>Area: 1.267e4</p> <p>Sample Type: (Quality Control)</p>	
<p>amostra 01</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.890</p> <p>Area: 1.156e4</p>	

**Figura A30** – Cromatogramas nº2 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa.

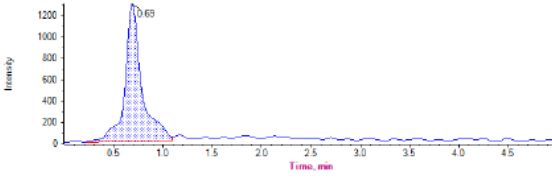
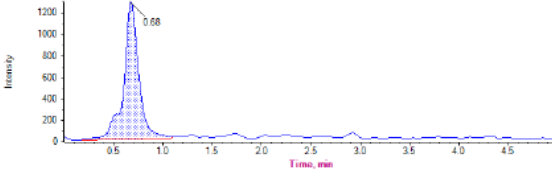
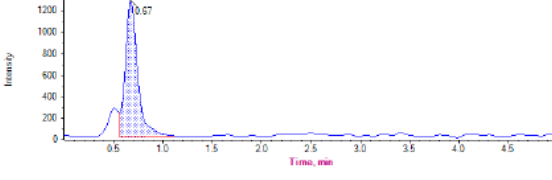
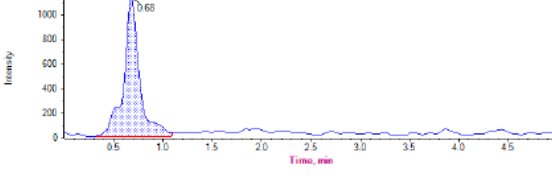
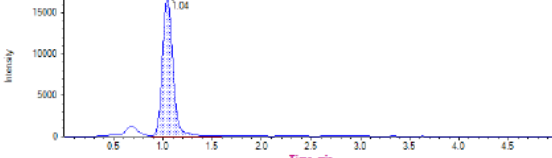
<p>amostra 02</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.621</p> <p>Area: 1.075e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 03</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.292</p> <p>Area: 1.277e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 04</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.043</p> <p>Area: 1.202e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 05</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.300</p> <p>Area: 9.780e3</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 06</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.009</p> <p>Area: 1.191e4</p>	

**Figura A31** – Cromatogramas nº3 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa.

<p>amostra 07</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.549</p> <p>Area: 1.053e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 08</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.201</p> <p>Area: 1.249e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 09</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.063</p> <p>Area: 1.208e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 10</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.670</p> <p>Area: 1.089e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 11</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.203</p> <p>Area: 9.486e3</p>	

**Figura A32** – Cromatogramas n°4 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa.



<p>amostra 12</p> <p>RT (Exp. RT): 0.69 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 6.198</p> <p>Area: 1.550e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 13</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.636</p> <p>Area: 1.380e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 14</p> <p>RT (Exp. RT): 0.67 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 4.749</p> <p>Area: 1.113e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>amostra 15</p> <p>RT (Exp. RT): 0.68 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 5.285</p> <p>Area: 1.275e4</p> <p>Sample Type: (Unknown)</p>	
<p>CQ 25 ppb inj1</p> <p>RT (Exp. RT): 1.04 (1.03) min</p> <p>[Calculated Conc]: 42.553</p> <p>Area: 1.250e5</p>	

**Figura A33** – Cromatogramas n°5 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa.

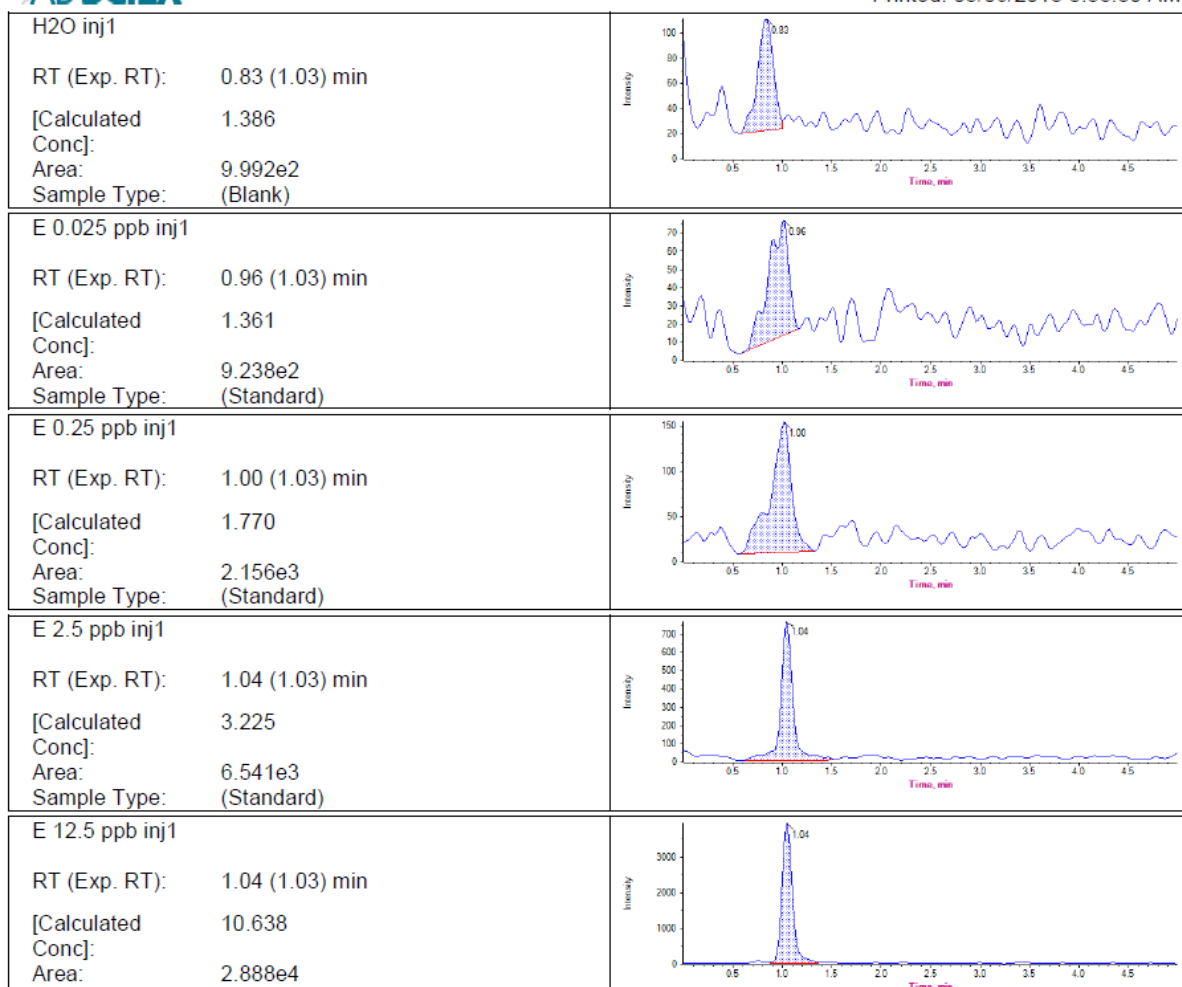


Figura A34 – Cromatogramas nº6 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa.

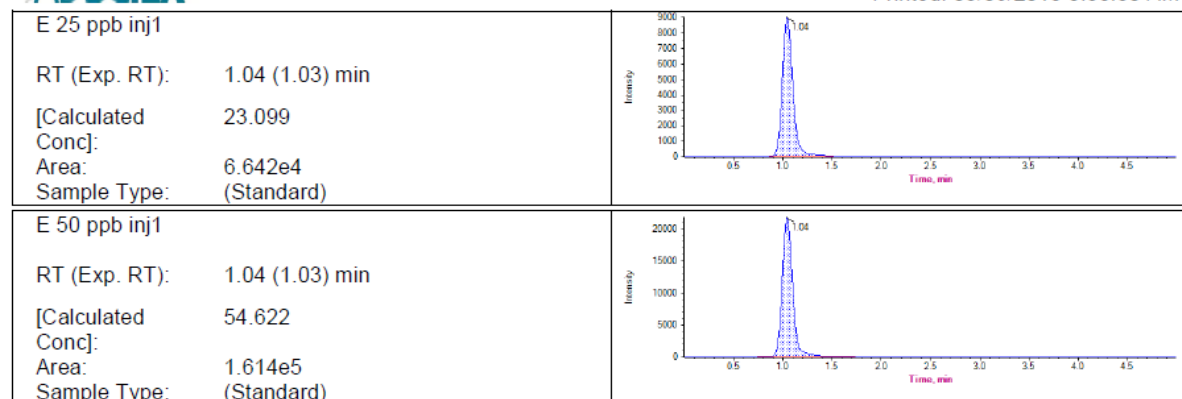


Figura A35 – Cromatogramas nº7 obtidos pelo HPLC/MS/MS da quinta amostra aquosa.