

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

RAFAEL DUARTE KRAMER

**BACIA HIDROGRÁFICA DO ALTO IGUAÇU: CARACTERIZAÇÃO
FÍSICA E QUÍMICA E DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO,
IBUPROFENO E PARACETAMOL**

DISSERTAÇÃO

CURITIBA
2012

RAFAEL DUARTE KRAMER

**BACIA HIDROGRÁFICA DO ALTO IGUAÇU: CARACTERIZAÇÃO
FÍSICA E QUÍMICA E DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO,
IBUPROFENO E PARACETAMOL**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Área de Concentração: Controle e Monitoramento Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo

CURITIBA
2012

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

K89 Kramer, Rafael Duarte
Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu: caracterização física e química e determinação de diclofenaco, ibuprofeno e paracetamol / Rafael Duarte Kramer. – 2012.
121 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Júlio César Rodrigues de Azevedo.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Curitiba, 2012.
Inclui bibliografias.

1. Controle de qualidade da água. 2. Bacias hidrográficas – Iguaçu, Rio (PR e Argentina). 3. Águas residuais – Análise – Curitiba, Região Metropolitana de (PR). 4. Físico-química. 5. Acetaminofeno. 6. Ibuprofeno. 7. Diclofenaco. 8. Tecnologia ambiental – Dissertações. I. Azevedo, Júlio César Rodrigues de, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. III. Título.

CDD (22. ed.) 363.7

Biblioteca Central da UTFPR, Campus Curitiba

TERMO DE APROVAÇÃO

BACIA HIDROGRÁFICA DO ALTO IGUAÇU: CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E QUÍMICA E DETECÇÃO DE DICLOFENACO, IBUROFENO E PARACETAMOL.

por

RAFAEL DUARTE KRAMER

Dissertação apresentada às 9 horas do dia 17 de agosto de 2012, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS, na área de concentração Tecnologias e Processos Ambientais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Banca examinadora:

Prof. Dr. *Júlio César Rodrigues de Azevedo* (Orientador)
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Prof. Dr. Fernando Fabriz Sodré
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade de Brasília - UnB

Prof. Dr. Thomaz Aurélio Pagioro
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. Thomaz Aurélio Pagioro
Coordenador do PPGCTA

Aos meus pais, Cláudio e Joseane,
pelo apoio e exemplo de vida.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho contou com a ajuda de muitas pessoas e instituições, que de uma forma ou de outra contribuíram com conhecimentos da área estudada, com o apoio financeiro e estrutural ou com uma palavra de incentivo nos momentos difíceis.

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, pela serenidade e sabedoria nos momentos difíceis e por sempre estar ao meu lado.

À minha família, que por mais que não soubessem exatamente o que eu estava fazendo, sempre confiaram em mim e estiveram ao meu lado para me apoiar e ajudar no que fosse preciso.

A minha namorada, Giovanna, por sempre me puxar a orelha nos momentos que foram necessários e principalmente pelo companheirismo.

Ao meu orientador, Prof. Júlio César Rodrigues de Azevedo, pelo conhecimento passado e pela amizade.

Aos colegas do LEAQUA, Alessandra, Alinne, Eliel, Fernanda, Luana, Mauricius, Mayara, Roberta e Rodrigo, pela ajuda nas diversas análises realizadas, pelas conversas e descontração no laboratório e principalmente pela amizade adquirida. E a todos os demais que passaram pelo laboratório.

Aos amigos Naiara, Eduardo, Clara, Luiz Ivanqui, Gustavo Takashi, Renan e Giancarlo pela amizade e apoio.

À CAPES, pela bolsa concedida.

Aos professores e colegas do PPGCTA, por toda a estrutura, apoio e conhecimento passado.

Peço desculpa se esqueci de alguém que participou de uma forma direta ou indireta deste trabalho, mas desde já sintam-se agradecidos e lembrados.

RESUMO

KRAMER, Rafael Duarte. Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu: caracterização física e química e determinação de diclofenaco, ibuprofeno e paracetamol. 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado acadêmico) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2012.

Uma das grandes preocupações atuais é referente à qualidade das águas dos corpos aquáticos. A Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu, considerada uma das mais significativas bacias do estado do Paraná, segundo a Secretaria Estadual do Meio Ambiente, tem sido apontada como um ambiente que está sofrendo marcantes alterações nas suas características físicas, biológicas e químicas. Isso ocorre, principalmente, devido à presença de águas residuárias industriais e domésticas incidindo na mesma, fazendo com que todo seu entorno e a população, dependente de suas águas, sejam afetadas. Este estudo teve por finalidade a caracterização física e química, da matéria orgânica dissolvida e a determinação de poluentes ambientais, como os fármacos, nas águas da Bacia do Alto Iguaçu. Os ambientes que foram monitorados localizam-se na Região Metropolitana de Curitiba e são os rios Belém, Barigui, Iguaçu, Iraí e Atuba. Esses rios sofrem grande influência da urbanização da Região Metropolitana de Curitiba e encontram-se em uma situação crítica, considerando a qualidade de suas águas. Foram realizadas quatro amostragens nestes rios, onde foi possível observar com o presente estudo a forte influência por esgoto não tratado devido aos altos valores dos nutrientes (N-amoniaco e ortofosfato) e matéria orgânica, com indício de fonte antrópica. Para a detecção e quantificação dos fármacos foi adaptada uma metodologia para a simultânea extração de ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco, tanto na forma dissolvida na água como na matriz sedimento. Os fármacos analisados foram detectados com frequência em todas as amostragens realizadas, principalmente na forma dissolvida aonde chegou a ter picos de concentração de 729 ng.L^{-1} de ibuprofeno e 369 ng.L^{-1} de paracetamol, respectivamente, ambos no rio Belém e na coleta 1. Já o diclofenaco chegou a 317 ng.L^{-1} na terceira coleta realizada no ponto do rio Iguaçu. Nos sedimentos a maior parte ficou abaixo dos limites de detecção, o que está de acordo, pois os compostos aqui avaliados apresentam propriedades hidrofílicas. De uma forma geral, o rio Iguaçu, o principal rio da Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu reflete o resultado de toda a contaminação encontrada nos rios Atuba, Iraí e Belém, devido à alta carga poluidora que esses rios despejam nele.

Palavras-chave: Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu. Esgoto doméstico. Paracetamol. Ibuprofeno. Diclofenaco

ABSTRACT

KRAMER, Rafael Duarte. Upper Iguau watershed: physical and chemical characterization and determination of diclofenac, ibuprofen and paracetamol. 2012. 121 f. Dissertação (Mestrado acadêmico) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2012.

A major concern today is related to water quality of water bodies. The Upper Iguau Watershed, one of the most significant watersheds in Paraná's state, according to State Department of Environment, has been appointed as an environment that is undergoing remarkable changes in their physical, biological and chemical characteristics. This occurs, mainly, by the incidence of domestic and industrial wastewater, affecting the entire surrounding environment and the population dependent on this water. This study aimed at the physical and chemical characterization, the dissolved organic matter and the determination of environmental pollutants such as pharmaceuticals, in the waters of the Upper Iguau. The environments that were monitored in the Metropolitan Region of Curitiba are the rivers Belém, Barigui, Iguau, Iraí and Atuba. These rivers are suffering significant influence of Metropolitan Region of Curitiba's urbanization and they are in a critical situation, considering the quality of their waters. Four sampling were taken in these rivers, where them were possible to observe the influence by untreated sewage with high nutrient values (N-ammoniacal and orthophosphate) and organic matter, with evidence of anthropogenic sources. For detection and quantification of pharmaceuticals were adjusted a method of simultaneous extraction of ibuprofen, paracetamol and diclofenac, as much in dissolved form in water as sediment matrix. These pharmaceuticals were frequently detected in all samples taken, especially dissolved were found maximum concentration of 729 ng.L⁻¹ and 369 ng.L⁻¹ of ibuprofen and paracetamol, respectively, both on Belém river and in first sampling. Already the diclofenac was found of 317 ng.L⁻¹ in the third sampling of the Iguau river's sites. In the sediments, most were below detection limits, what is in accordance, because the compounds evaluated have hydrophilic properties. In general, the problems found in the Iguau river, one of the major rivers of the state of Parana, are the result of contamination found in the rivers Atuba, Iraí and Belém, due to high pollution load in these rivers.

Key words: Upper Iguau watershed. Domestic sewage. Paracetamol. Ibuprofen. Diclofenac.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Bacia do Alto Iguaçu, em destaque, localização dos pontos de amostragem.	19
Figura 2. Níveis de precipitação, em mm, para as cidades de Curitiba (A) e Pinhais (B), durante o ano de 2011.....	21
Figura 3. Concentração de oxigênio dissolvido (OD) nos rios avaliados. As linhas horizontais da caixa representam 25, 50 (mediana) e 75% dos valores; barras de erro indicam 5 e 95%; (X) expressa 1 e 99% e (–) corresponde aos valores máximos e mínimos. A media aritmética é representada pelo símbolo □.....	22
Figura 4. Proporção das formas de nitrogênio dissolvido para os pontos amostrados na lagoa do rio Barigui, no rio Barigui e rio Belém.	25
Figura 5. Valores médios da concentração amônia para os cinco rios estudados nas 4 coletas realizadas, considerando todos os pontos amostrados nos rios.....	26
Figura 6. Concentração de Ortofosfato para cada rio amostrado e nas quatro coletas.	27
Figura 7. Bacia do Alto Iguaçu, em destaque, localização dos pontos de amostragem.	40
Figura 8. Variação sazonal nas concentrações de COD para os rios amostrados....	42
Figura 9. Valores de FR nos diferentes ambientes amostrados. Efeito da sazonalidade nos valores de FR.	45
Figura 10. Espectro de fluorescência sincronizado para as coletas dos rios Iraí (A), Belém (B), pontos IG1 (C) e IG2 (D) do rio Iguaçu.....	47
Figura 11. Gráfico de contorno da Matriz de Excitação e Emissão (MEE) dos segundos pontos do rio Atuba (AT2C3) na terceira amostragem e dos rios Iguaçu (IG2C4) e Belém (BL2C4), na quarta amostragem, todos representativos dos demais pontos e amostragens analisadas.....	48
Figura 12. MEE do primeiro ponto do rio Barigui na quarta coleta (BA1C4) e do rio Iraí na terceira coleta (IR1C3), ambos representativos dos demais pontos e amostragens analisadas.....	49

Figura 13. Cromatograma de uma solução padrão contendo os três compostos de interesse, em acetato de etila e derivatizados. 1: ibuprofeno; 2: paracetamol e; 3: diclofenaco. Foi realizado o deslocamento dos picos para melhor visualização.	65
Figura 14. Curvas analíticas para os três fármacos estudados.....	66
Figura 15. Gráfico da recuperação dos compostos para seis concentrações diferentes das amostras e a média entre todos, sendo A as amostras de água e B o sedimento.....	69
Figura 16. Estrutura molecular do Diclofenaco.....	80
Figura 17. Estrutura molecular do Ibuprofeno.	81
Figura 18. Estrutura molecular do Paracetamol.	83
Figura 19. Bacia do Alto Iguaçu, em destaque, localização dos pontos de amostragem.	86
Figura 20. Gráficos da concentração de paracetamol no ambiente, sendo o A na água e o B no sedimento. O LD e o LQ da água foram 22 e 73 ng.L ⁻¹ , respectivamente, e para o sedimento foram 0,38 e 1,26 µg.g ⁻¹ , respectivamente. Os resultados que ficaram abaixo do LD e LQ não foram apresentados no gráfico.	91
Figura 21. Gráfico da concentração de diclofenaco na água. Sendo o LD e o LQ, 9 ng.L ⁻¹ e 31 ng.L ⁻¹ , respectivamente. Os resultados que ficaram abaixo do LD e LQ não foram apresentados no gráfico.....	93
Figura 22. (A) Ordenação dos pontos das variáveis analisadas segundo as componentes 1 e 2. (B) Ordenação dos rios avaliados em função das variáveis analisadas, conforme as componentes 1 e 2.	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Localização dos pontos amostrados no estudo.....	18
Tabela 2. Média e o desvio padrão das concentrações de alguns parâmetros dos rios amostrados.....	23
Tabela 3. Média e desvios padrões das concentrações de fósforo total (P-total) para os rios amostrados, em mg.L ⁻¹ (n = 12).....	28
Tabela 4. Localização dos pontos amostrados no estudo.....	39
Tabela 5. Média das coletas e pontos dos rios amostrados para os valores de SUVA ₂₅₄ , E ₂ /E ₃ , E ₄ /E ₆ , ε ₂₈₀ e Aromaticidade.	43
Tabela 6. Valores da curva analítica e os respectivos coeficientes de correlação (r) de cada composto estudado e as suas sensibilidades.....	65
Tabela 7. Intervalo de trabalho, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) para os três fármacos analisados.....	67
Tabela 8. Coeficiente de variância em porcentagem do ensaio intradia dos compostos de estudo em três concentrações diferentes (n=5).	68
Tabela 9. Coeficiente de variância em porcentagem do ensaio interdia dos compostos de estudo em três concentrações diferentes (n=5).	68
Tabela 10. Características químicas dos fármacos analisados.....	80
Tabela 11. Localização dos pontos amostrados no estudo.....	86
Tabela 12. Frequência de detecção, em porcentagem (%), dos compostos determinados, nos pontos de cada rio amostrado.....	89
Tabela 13. Concentração de ibuprofeno de cada rio nas quatro campanhas amostrais.....	90
Tabela 14. Fatores de carregamento de componente (não rotacionada), considerando significativo os fatores acima de 0,7.	95

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
CAPÍTULO 1: ESTUDO DA POLUIÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DA ÁGUA DE PARTE DA BACIA DO ALTO IGUAÇU, CURITIBA-PR	13
RESUMO	13
1.1 INTRODUÇÃO	14
1.2 MATERIAIS E MÉTODOS	18
1.2.1 Área de estudo	18
1.2.2 Análises físicas e químicas.....	19
1.2.3 Análise Estatística	20
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
1.4 CONCLUSÃO	29
1.5 REFERÊNCIAS.....	30
CAPÍTULO 2: ESTUDO DA CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA AQUÁTICA DE PARTE DA BACIA DO ALTO IGUAÇU, CURITIBA-PR	33
RESUMO	33
2.1 INTRODUÇÃO	34
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS	39
2.2.1 Área de Estudo	39
2.2.2 Caracterização da Matéria Orgânica	40
2.2.3 Análises Estatísticas.....	41
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
2.4 CONCLUSÃO	50
2.5 REFERÊNCIAS.....	51
CAPÍTULO 3: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE IBUPROFENO, PARACETAOL E DICLOFENACO POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A FID	55
RESUMO	55
3.1 INTRODUÇÃO	56
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS	60
3.2.1 Reagentes	60
3.2.2 Extração dos fármacos	61
3.2.3 Validação do Método	62
3.2.4 Cromatografia Gasosa (CG-FID)	63
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
3.3.1 Seletividade	64

3.3.2	Gráfico analítico, linearidade e sensibilidade.....	65
3.3.3	Intervalo de trabalho e limites de detecção e quantificação	66
3.3.4	Precisão e Exatidão.....	67
3.4	CONCLUSÃO	70
3.5	REFERÊNCIAS.....	71
CAPÍTULO 4 : DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO, IBUPROFENO E PARACETAMOL NA BACIA DO ALTO IGUAÇU, CURITIBA-PR.....		76
	RESUMO.....	76
4.1	INTRODUÇÃO	77
4.1.1	Diclofenaco.....	79
4.1.2	Ibuprofeno	81
4.1.3	Paracetamol.....	83
4.1.4	Objetivo	85
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS	85
4.2.1	Área de estudo	85
4.2.2	Extração dos fármacos	87
4.2.3	Cromatografia Gasosa (CG-FID)	88
4.2.4	Análises Estatísticas.....	88
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
4.4	CONCLUSÃO	97
4.5	REFERÊNCIAS.....	98
CONSIDERAÇÕES FINAIS		105
REFERÊNCIAS.....		107

INTRODUÇÃO

O meio ambiente vem apresentando grandes mudanças em virtude do conflito ambiental que o planeta está sofrendo. No meio de toda essa problemática encontram-se as grandes cidades que são as principais causadoras dos impactos ambientais mais drásticos, como a poluição atmosférica, com os veículos a combustão, os despejos irregulares dos efluentes e a má gestão dos resíduos domésticos e industriais gerados. Todos esses problemas afetam os principais compartimentos ambientais, o ar, o solo e a água. Pesquisas realizadas até o momento ainda não conseguiram mensurar todas as consequências desse processo, porém muitas já estão nos noticiários: enchentes, erosões, fortes chuvas, terremotos, furacões, tsunamis, o aumento da temperatura global, a maior incidência de doenças carcinogênicas na população, escassez de água em determinadas regiões, desaparecimento de regiões litorâneas e outros ainda não estudados.

A água é um dos mais vitais e talvez um dos principais bens da população mundial, porém, a sua situação global é preocupante. Sabe-se que apenas 2,5% da água mundial é doce, estando a maior parte dessa água aprisionada na forma de gelo e neve, sobrando apenas 1% do total para o consumo humano. Outro fator a considerar é que parte desse percentual encontra-se contaminado pela ação antropogênica. Entre essas fontes antropogênicas estão: os esgotos não tratados, as descargas químicas, vazamentos e derramamentos de petróleo, o descarregamento de lixo irregular, a contaminação por agrotóxicos vindos da lixiviação do solo, entre outras fontes. É nesse contexto de contaminação hídrica que o presente estudo se insere.

A influência antrópica foi estudada em parte dos rios da Região Metropolitana de Curitiba (RMC). Este estudo foi dividido em quatro capítulos, na forma de artigos, para uma melhor compreensão dos assuntos. O capítulo 1 terá como objetivo caracterizar a qualidade da água de cinco rios da RMC através de análises físicas e químicas, verificando possíveis contaminações por esgoto doméstico. Também será avaliada a influência dos rios Atuba, Iraí e Belém no rio Iguaçu e no entorno das regiões amostradas. O capítulo 2 terá como foco o estudo da matéria orgânica presente no ambiente, estimando qual fonte predomina nos ambientes: autóctone

(pedogênica ou antropogênica) e/ou alóctone. Para isso será quantificado a concentração do carbono orgânico dissolvido e utilizado das técnicas de UV-Vis e fluorescência molecular na caracterização química. Já o capítulo 3 terá como finalidade o desenvolvimento de uma metodologia para detecção de paracetamol, ibuprofeno e diclofenaco tanto na água como no sedimento dos rios. Algumas etapas de validação de método serão seguidas: seletividade, linearidade, gráfico analítico, sensibilidade, estimativa dos limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão do método proposto. E por fim, no capítulo 4 será discutida a possível contaminação dos ambientes estudados, na RMC, com os fármacos determinados no capítulo 3, quantificando-os e estimando a possível fonte de entrada, utilizando-se de algumas análises estatísticas para a melhor compreensão dos resultados. Como fechamento desta dissertação, consta uma conclusão final e todas as referências citadas em cada capítulo.

CAPÍTULO 1: ESTUDO DA POLUIÇÃO FÍSICA E QUÍMICA DA ÁGUA DE PARTE DA BACIA DO ALTO IGUAÇU, CURITIBA-PR

RESUMO

A Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu, localizada na região Metropolitana de Curitiba, vem sofrendo severamente com a qualidade de suas águas. O crescimento desordenado da sua urbanização e a má gestão dos recursos hídricos são os principais fatores que contribuem para esse estado visível de degradação. Portanto, o presente estudo teve o objetivo de estudar a qualidade da água através de alguns parâmetros físicos e químicos, em cinco diferentes rios da Bacia do Alto Iguaçu que são eles: os rios Atuba, Belém, Iguaçu, Barigui e Iraí. Através de campanhas de amostragens trimestrais durante o ano de 2011, foi possível ver que as concentrações dos nutrientes N-amoniaco e ortofosfato foram significativas em todos os rios amostrados. O rio Atuba na quarta amostragem apresentou uma concentração de $60,80 \pm 3,01 \text{ mg.L}^{-1}$ de N-amoniaco e o rio Belém na terceira amostragem apresentou uma concentração de $3,50 \pm 1,37 \text{ mg.L}^{-1}$ de ortofosfato, essas concentrações são muito altas, o que reafirma a forte influência antrópica presente nesses rios. Os demais rios também apresentaram forte influência de parâmetros que denotam a entrada de esgoto doméstico, como os nutrientes já citados, o íon cloreto e as baixas concentrações de oxigênio dissolvido. Os resultados obtidos nesse estudo só reafirmaram o processo de deterioração que as águas da Bacia do Alto Iguaçu vêm sofrendo com, principalmente, a urbanização ao seu entorno.

Palavras-chave: Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu. Esgoto doméstico. Oxigênio dissolvido. N-amoniaco. Ortofosfato.

1.1 INTRODUÇÃO

Nos próximos 30 anos a situação global das reservas hídricas tende a piorar, caso não haja ações emergentes para a melhoria da gestão, da oferta e da demanda d'água. Os recursos hídricos superficiais são os primeiros a serem afetados pela poluição ambiental e os responsáveis pela alteração da qualidade de vida da população dele servida (COTRIM, 2006). O crescimento populacional desordenado, a expansão agrícola e a industrialização desenfreada são as principais fontes de poluição (BILA; DEZOTTI, 2003).

A degradação oriunda da industrialização e urbanização tem tornado crítica a questão de contaminação do meio ambiente, principalmente os ambientes aquáticos empregados para fins de abastecimento público ou industrial. Muitos desses se apresentam hoje eutrofizados ou mesmo hipereutrofizados, com significativas concentrações de substâncias de alta toxicidade à biota e à espécie humana (DORNFELD, 2002). A eutrofização, os metais tóxicos, a acidificação e os poluentes orgânicos tem degradado os ambientes aquáticos especialmente em áreas densamente povoadas.

A eutrofização artificial pode ser considerada um dos principais problemas de qualidade dos corpos aquáticos a partir da segunda metade do século XX (ESTEVES, 1998). As consequências dessa eutrofização podem ser drásticas para o ambiente, impedindo a utilização múltipla dos recursos hídricos, sobretudo, em regiões com maior densidade populacional, aumentando o custo do tratamento da água (BONETO, 2007).

Para entendimento dos ambientes aquáticos e determinação da qualidade da água, é necessária a obtenção de dados limnológicos relacionados às principais variáveis químicas, físicas e biológicas, como análises bacteriológicas – coliformes totais e termotolerantes, temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido, concentração de nutrientes, bem como quantidade de material em suspensão e as concentrações de clorofila-a (SILVEIRA, 2004). Aliados a essas características, tem-se a natureza do solo, as condições climáticas e o grau de poluição que foi conferido ao ambiente, especialmente, pelos despejos domésticos e industriais, que fazem com que a

quantidade e a natureza dos constituintes presentes na água variem constantemente (SETTI *et al.*, 2001).

Os teores de nutrientes em um ambiente aquático, normalmente, estão relacionados ao grau de poluição doméstica e agropecuária, e as altas concentrações destes nutrientes são, muitas vezes, interpretados como indicadores de meio poluído, apresentando um estado avançado de eutrofização (BELLOS; SAWIDIS; TSEKOS, 2004; ROCHA; THOMAZ, 2004)

O nitrogênio, um dos elementos mais importantes no metabolismo de ecossistemas aquáticos, encontra-se assimilável em apenas 2% para os organismos, mesmo sendo abundante na Terra (WETZEL, 2001), podendo, em baixas concentrações, atuar como fator limitante na produção primária (ESTEVES, 1998; TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008). O nitrogênio ocorre na água em diversas formas químicas, dentre as quais: nitrogênio molecular, compostos orgânicos a partir de aminoácidos, aminas, proteínas, compostos húmicos recalcitrantes, N-amoniacal, nitrito e nitrato (WETZEL, 2001). As principais origens antropogênicas desse elemento são o emprego de fertilizantes nitrogenados e os esgotos sanitários (MOTA; VON SPERLING, 2009).

A ocorrência de fósforo em águas naturais e em águas residuárias se dá quase que exclusivamente sob a forma de fosfato, que pode ser classificado como: ortofosfato, fosfatos condensados e fosfatos organicamente ligados (ESTEVES, 1998; APHA, 1998). O fósforo, assim como o nitrogênio, é um nutriente essencial para todas as formas de vida, atuando como fator limitante nos ecossistemas aquáticos. Em ambientes aquáticos urbanos, grandes concentrações de fósforo são originárias de descargas de esgotos domésticos, sendo que os detergentes fosfatados constituem a principal fonte de contaminação (MOTA; VON SPERLING, 2009). Outras fontes como os esgotos industriais e os fertilizantes agrícolas também são de grande relevância na contaminação por fósforo (ESTEVES, 1998; BELLOS; SAWIDIS; TSEKOS, 2004).

Em decorrência da atividade humana, os ciclos biogeoquímicos, especialmente do carbono, nitrogênio e fósforo, tem sofrido significativas alterações. O aumento do uso de fertilizantes na agricultura tem levado ao seu acúmulo no solo que através do escoamento superficial, acabam sendo carregados para corpos aquáticos (BELLOS; SAWIDIS; TSEKOS, 2004; MANSOR, 2005). O acréscimo da

carga de fósforo e nitrogênio, nesses ecossistemas, contribui com o crescimento excessivo de plantas, chegando a níveis que interferem na qualidade das águas, caracterizando um ambiente eutrofizado (ANJOS, 2003; VON SPERLING, 2005; AGUIAR, 2008).

Não muito distante dessa problemática ambiental, a cidade de Curitiba vem sofrendo com alguns danos em seus corpos hídricos. O aumento populacional da região metropolitana de Curitiba (RMC), que hoje representa aproximadamente 25% da população total do estado, causou uma ocupação desordenada em áreas de mananciais que abastecem a região, prejudicando a disponibilidade e qualidade hídrica (YAMAMOTO, 2011). A RMC está inserida na bacia do Alto Iguaçu, subdividida em Altíssimo Iguaçu e Alto Iguaçu e os impactos causados pela população já estão sendo refletidos nas águas de abastecimento de milhões de pessoas nelas servidas (ANDREOLI *et al.*, 2000).

A RMC está situada na região leste do estado, limita-se ao norte pelo estado de São Paulo, ao sul pelo estado de Santa Catarina, ao leste a Serra do Mar e a oeste pelo segundo planalto paranaense (CASTRO, 2005). É composta pelos municípios de Adrianópolis, Agudos do Sul, Almirante Tamandaré, Araucária, Balsa Nova, Bocaiúva do Sul, Campina Grande do Sul, Campo Largo, Campo Magro, Cerro Azul, Colombo, Contenda, Curitiba, Doutor Ulisses, Fazenda Rio Grande, Itaperuçu, Lapa, Mandirituba, Pinhais, Quatro Barras, Quitandinha, Rio Branco do Sul, São José dos Pinhais, Tijucas do Sul e Tunas do Paraná (SEMA, 2010).

A bacia hidrográfica do Alto Iguaçu faz parte da bacia do Iguaçu e esta pertence à bacia do Paraná. A Bacia do Alto Iguaçu abrange 30 sub-bacias, contemplando uma área total de aproximadamente 2881,73 km² (SUDERHSA, 2007). Sua hidrografia é composta por diferentes rios, sendo os principais: Iguaçu, Barigui, Palmital, Atuba, Passaúna, Iraí, Belém, Itaqui, Piraquara e Pequeno (SEMA, 2010), sendo que muitos destes rios já estão degradados. O rio Iguaçu ao longo de sua trajetória pela bacia do Alto Iguaçu recebe as cargas dos rios Belém, Barigui, Atuba, Iraí, Palmital, entre outros, diminuindo consideravelmente a qualidade da água (CASTRO, 2005). Muitos desses rios cortam a cidade de Curitiba e lançam toda a sua carga proveniente da poluição difusa, efluentes domésticos, lançamentos pontuais e efluentes resultantes das indústrias na bacia do Alto Iguaçu (FRANÇA, 2009).

A principal carga poluidora na RMC está relacionada com os esgotos domésticos. O serviço de coleta de esgoto não atende a todas as sub-bacias e quando atende possui algumas falhas na rede, sendo que estas nem sempre contemplam todos os domicílios. Mesmo algumas regiões tendo a rede de coleta de esgoto, muitas casas são ligadas erroneamente na rede de águas pluviais ou ainda diretamente nos rios (YAMAMOTO, 2011).

Segundo Castro (2005), as principais atividades hoje consideradas como grandes geradoras de passivos ambientais, em Curitiba, são: as estações de tratamento de esgotos (ETEs CIC/Xisto, Padilha Sul, Atuba Sul e Belém) e a extração de argila e areia. A autora afirma ainda que os lançamentos *in natura* pelas redes de coleta de esgoto da SANEPAR, os locais que ainda não foram implantados os emissários, as ligações clandestinas que lançam seus efluentes diretamente nos rios ou nas galerias de águas pluviais representam passivos ambientais com relação aos recursos hídricos.

Estudo de Andreoli *et al.* (2000), faz menção a três cenários futuros de uma estimativa do potencial hídrico disponível na RMC, de acordo com a deterioração de mananciais, corpos hídricos ou bacias, devido aos efeitos da ocupação urbana. O cenário mais próximo à situação real considera a perda de parte da bacia do Altíssimo Iguaçu (rios Iraí, Iraizinho, do Meio, Itaqui, Pequeno e toda a bacia situada a jusante das barragens Iraí e Piraquara II). A capacidade de vazão seria reduzida para 29,3 m³/s (de 42,0 m³/s) e a capacidade disponível de todos os mananciais esgotariam no ano de 2040. Em outro cenário, em menos de 20 anos haverá grandes possibilidades de ocorrer uma série de racionamentos no abastecimento de água, que poderiam ser evitados com a ajuda de instrumentos capazes de controlar a dinâmica urbana.

Este estudo visa avaliar esta poluição proveniente dos esgotos em alguns rios da Bacia do Alto Iguaçu através de alguns parâmetros físicos e químicos analisados.

1.2 MATERIAIS E MÉTODOS

1.2.1 Área de estudo

Neste estudo foram realizadas quatro amostragem no período de abril a novembro de 2011. A primeira foi realizada nos dias 11, 12 e 13 de abril; a segunda foi nos dias 15, 16 e 17 de junho; a terceira nos dias 14, 15 e 16 de setembro; e a última foi feita nos dias 8, 9 e 10 de novembro. Foram amostrados água superficial e sedimento de 11 pontos em 5 diferentes rios da RMC (Tabela 1).

Tabela 1. Localização dos pontos amostrados no estudo.

Rio	Latitude (S)	Longitude (O)	Sigla do ponto empregada
Belém	25° 26' 51.93"	49° 15' 04.10"	BL1
Belém	25° 30' 26.58"	49° 12' 54.22"	BL2
Barigui	25° 25' 34.43"	49° 18' 24.66"	BA1
Barigui	25° 25' 52.46"	49° 18' 47.51"	BA2
Barigui	25° 27' 54.09"	49° 19' 12.81"	BA3
Barigui	25° 30' 53.21"	49° 20' 18.85"	BA4
Atuba	25° 27' 53.73"	49° 11' 25.56"	AT1
Atuba	25° 28' 25.76"	49° 11' 07.87"	AT2
Iguaçu	25° 29' 03.73"	49° 11' 25.01"	IG1
Iguaçu	25° 31' 42.10"	49° 13' 08.50"	IG2
Iraí	25° 27' 16.61"	49° 10' 17.11"	IR1

Todos os pontos pertencem à bacia hidrográfica do Alto Iguaçu e são eles: rio Belém (dois pontos, o primeiro na vila Torres e o segundo no deságue no rio Iguaçu); rio Barigui (quatro pontos, os dois primeiros na lagoa do parque Barigui, um terceiro após a ETE Santa Quitéria e o último na entrada da cidade industrial de Curitiba); rio Atuba (dois pontos, um montante e outro jusante a saída da ETE Atuba

Sul); rio Iraí (um ponto, próximo ao rio Iguaçu) e rio Iguaçu (um ponto, no encontro do rio Atuba com o rio Iraí e outro após o encontro com rio Belém) (Figura 1).

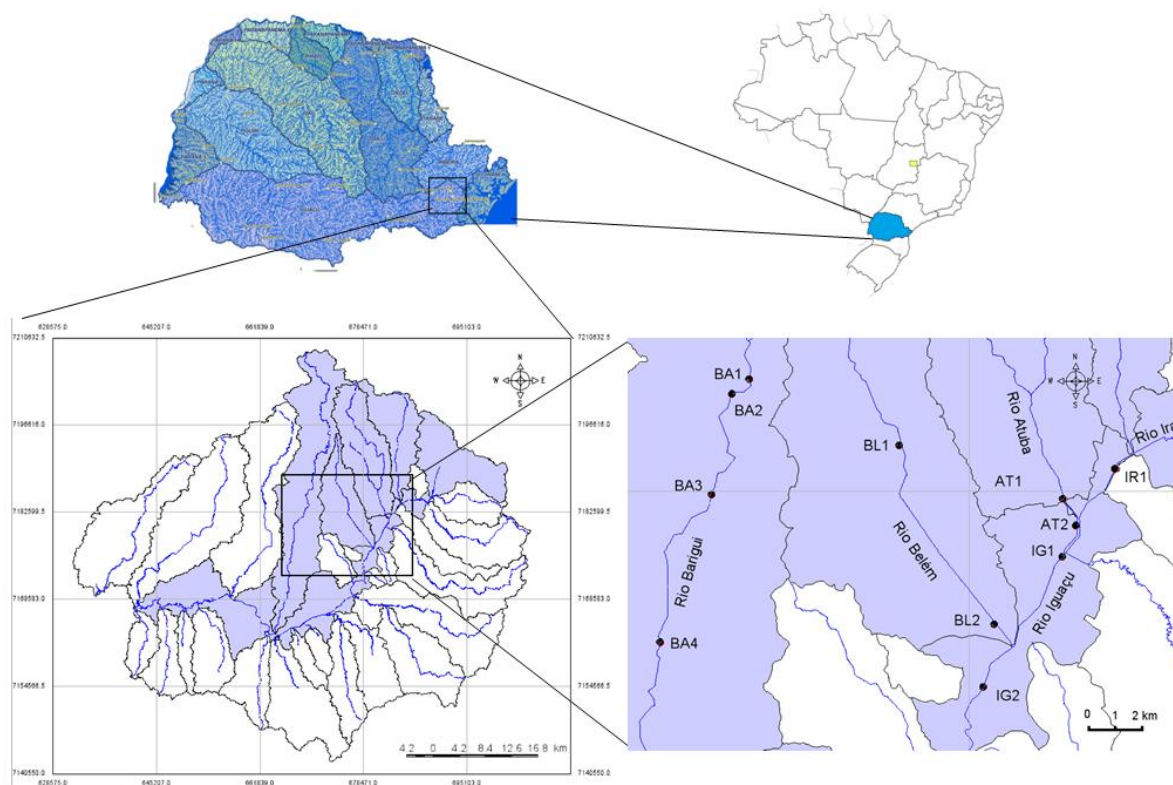


Figura 1. Bacia do Alto Iguaçu, em destaque, localização dos pontos de amostragem.

Fonte: ÁGUAS PARANÁ.

1.2.2 Análises físicas e químicas

Foram coletados 1,5 L de água superficial dos rios para a realização das análises físicas e químicas. As amostras foram preservadas com gelo até a chegada no laboratório e conservadas sob refrigeração, sendo algumas análises realizadas no dia (nitrito, ortofosfato, alcalinidade, N-amoniaco) e as demais em até 3 dias. A amostragem em campo foi feita com o uso da garrafa de Van Dorn de 5 litros. As amostras foram armazenadas em frascos plásticos (politereftalato de etileno) descontaminados.

Em campo foram obtidos os valores da temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$), do oxigênio

dissolvido (mg.L^{-1}), do pH, da condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}$), do potencial redox (mV) e dos sólidos totais dissolvidos (mg.L^{-1}), todos com a sonda multiparâmetro Hanna. A turbidez (NTU) foi estimada utilizando um turbidímetro digital Hanna. Os níveis de precipitação foram obtidos com o Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR) das subestações de Curitiba e Pinhais.

Para realização das análises físicas e químicas, as amostras foram filtradas com membranas Millipore de éster de celulose, $0,45 \mu\text{m}$ e foi determinado o N-nitrito (método colorimétrico), N-nitrato (método da redução do Cádmio), N-amoniacoal (método de fenato), N-orgânico (soma das demais determinações de nitrogênio e subtração do N-total), ortofosfato (método do ácido ascórbico) e o íon cloreto (método titulométrico do nitrato de mercúrio) (APHA, 1998). Nas amostras *in natura* foram quantificadas a concentração de fósforo total (digestão ácida) e N-total (digestão por persulfato) ambas as metodologias descritas em APHA (1998). A determinação da alcalinidade total foi realizada com o método Gran (CARMOUZE, 1994).

1.2.3 Análise Estatística

Foram utilizadas as correlações de Pearson para verificar possíveis relações significativas entre os parâmetros analisados.

1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de amostragem a temperatura da água variou de acordo com as estações do ano. As menores temperaturas médias foram encontradas durante o período do inverno ($15,7^{\circ}\text{C}$) e as máximas foram no período próximo ao verão ($21,5^{\circ}\text{C}$).

Na Figura 2 constam os valores dos índices de pluviosidade para as cidades de Curitiba e Pinhais no ano de 2011. Os rios Atuba e Iraí encontram-se em Pinhais

e os demais rios (Belém, Barigui, Iguaçu) em Curitiba. A diferença de precipitação entre as cidades nos períodos amostrados foi pequena e apenas na primeira campanha choveu em Curitiba (1 mm). Porém, em Pinhais as chuvas foram mais constantes nos dias das coletas (abril, 10,8 mm; junho, 0,2 mm; setembro, 0,4 mm; e novembro, 0,2 mm). Considerando os níveis de chuva uma semana antes das amostragens, a segunda campanha apresentou-se com chuvas mais intensas (Curitiba, 64,4 mm e Pinhais, 67,8 mm) e a quarta coleta com chuvas menos intensas (Curitiba, 3,2 mm e Pinhais, 2 mm). As amostragens de junho e setembro, que tiveram as menores temperaturas (18,7 °C e 18,8 °C, respectivamente) foram os períodos de maior precipitação (66,1 mm e 32 mm, respectivamente). Já as de abril e novembro, período de maior temperatura (22,2 °C e 22,0°C, respectivamente), tiveram valores inferiores de precipitação (26,1 mm e 2,6 mm, respectivamente).

Esta variação na precipitação entre as campanhas pode provocar alterações nos parâmetros analisados, ocorrendo diluição de poluentes pontuais ou, em amostragens no início da precipitação, pode provocar aumento na concentração de alguns poluentes, através da carga difusa.

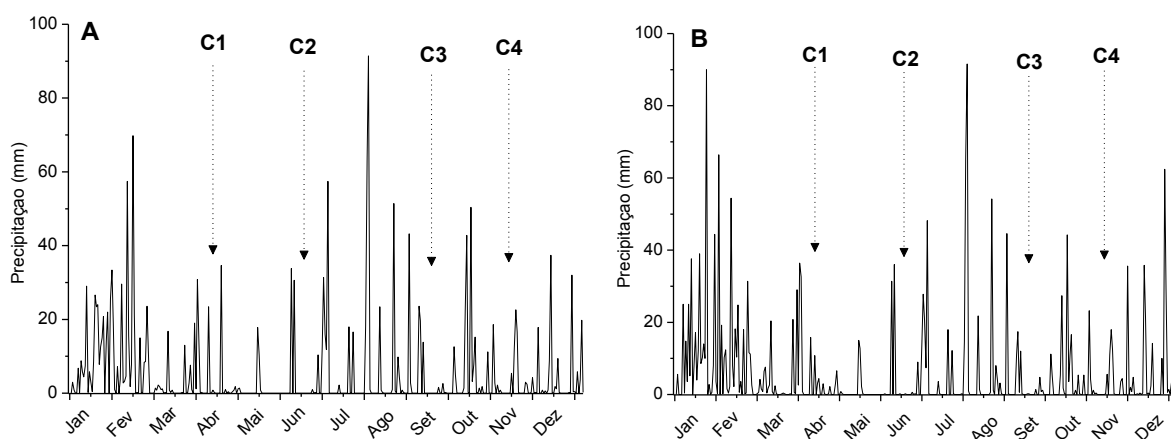


Figura 2. Níveis de precipitação, em mm, para as cidades de Curitiba (A) e Pinhais (B), durante o ano de 2011.

Na Figura 3 observa-se que as menores concentrações do oxigênio dissolvido (OD) foram encontradas no rio Belém, tendo uma concentração máxima de 1,61 mg.L⁻¹, em junho no ponto BL2, e mínima igual a zero em algumas campanhas, abril

no ponto BL1 e em setembro nos dois pontos amostrados. Os rios Atuba e Barigui apresentaram muitas semelhanças nesse parâmetro, ambos tiveram média de concentração de aproximadamente $4,1 \text{ mg.L}^{-1}$, porém no rio Barigui, o ponto BA1, apresentou média de $5,7 \pm 0,3 \text{ mg.L}^{-1}$, valor superior apresentado na média do rio Barigui. Já o rio Atuba, mesmo com a influência da ETE Atuba Sul não apresentou diferença significativa, sendo, na média das coletas, antes da ETE $4,6 \pm 2,7 \text{ mg.L}^{-1}$ e no ponto da saída da ETE $3,5 \pm 1,2 \text{ mg.L}^{-1}$. O rio Iguaçu apresentou uma concentração máxima de $3,92 \text{ mg.L}^{-1}$ e também obteve valores igual a zero nas coletas de junho e novembro, no ponto IG2. Por fim, o rio Irai apresentou as maiores concentrações de OD entre todos os rios amostrados, sendo $5,8 \pm 2,8 \text{ mg.L}^{-1}$, chegando a atingir $9,7 \text{ mg.L}^{-1}$ na primeira coleta.

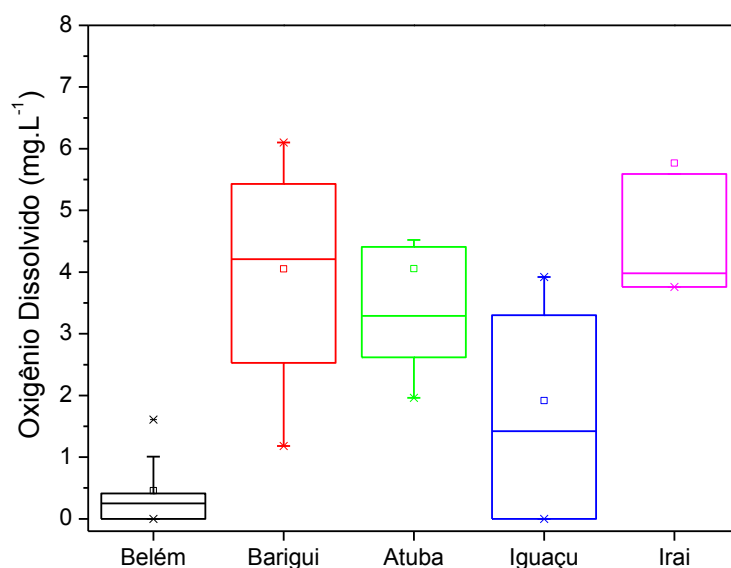


Figura 3. Concentração de oxigênio dissolvido (OD) nos rios avaliados. As linhas horizontais da caixa representam 25, 50 (mediana) e 75% dos valores; barras de erro indicam 5 e 95%; (X) expressa 1 e 99% e (–) corresponde aos valores máximos e mínimos. A media aritmética é representada pelo símbolo □.

Sabe-se que o oxigênio dissolvido é essencial para a manutenção da vida na água e representa a qualidade de um corpo aquático (ESTEVES, 1998). Segundo Sodré (2005), um curso de água não poluído tem concentra o de OD variando na faixa de 8 a 11 mg.L^{-1} a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Muitos organismos aquáticos passam a apresentar

problemas respiratórios se o teor de OD cair para valores abaixo de 5 mg.L^{-1} , sendo que as espécies mais resistentes podem suportar até 2 mg.L^{-1} . Considerando esses valores, os rios analisados apresentam-se em estado alarmante, pois apenas o rio Iraí e o ponto 1 do rio Barigui apresentaram concentrações superiores a 5 mg.L^{-1} . Os baixos valores encontrados estão de acordo com outros estudos na região (SODRÉ, 2005; SCHEFFER; SODRÉ; GRASSI, 2007; YAMAMOTO, 2011) e todos afirmam haver influência antrópica, principalmente, aporte de esgotos domésticos, como a principal responsável por essas baixas concentrações de OD.

Na Tabela 2 são apresentados os valores de pH, turbidez, cloreto, sulfato e alcalinidade total. Os valores médios do pH nos diferentes rios analisados esteve entre 7 e 8, o que indica que a influência antrópica nesses locais não afetou os valores de pH, provavelmente devido as maiores concentrações de alcalinidade encontradas nos rios amostrados. Considerando apenas os pontos coletados na lagoa do parque Barigui, temos uma média de $\text{pH } 8,16 \pm 0,40$, indicando um ambiente com características mais básicas, diferenciando-se do rio Barigui ($7,55 \pm 0,24$). Este aumento na lagoa pode estar relacionado à produtividade primária, elevando o pH do meio aquático (ESTEVEZ, 1998).

Tabela 2. Média e o desvio padrão das concentrações de alguns parâmetros dos rios amostrados.

	Belém	Barigui	Atuba	Iguaçu	Iraí
pH	$7,44 \pm 0,30$	$7,86 \pm 0,25$	$7,30 \pm 0,24$	$7,32 \pm 0,10$	$7,38 \pm 0,09$
Turbidez (NTU)	$49,4 \pm 28,1$	$30,5 \pm 9,8$	$48,5 \pm 10,0$	$44,8 \pm 13,2$	$65,5 \pm 44,9$
Cl⁻ (mg.L⁻¹)	$35,5 \pm 5,1$	$17,1 \pm 3,1$	$34,9 \pm 4,3$	$22,9 \pm 4,5$	$14,8 \pm 2,5$
SO₄²⁻ (mg.L⁻¹)	$32,1 \pm 7,1$	$10,7 \pm 4,5$	$23,5 \pm 8,5$	$21,8 \pm 6,9$	$24,0 \pm 22,3$
Alcalinidade total (meq.L⁻¹)	$823,1 \pm 354,6$	$824,0 \pm 362,4$	$515,7 \pm 139,2$	$1106,8 \pm 454,7$	$926,2 \pm 722,3$

O rio Iraí apresentou os maiores valores de turbidez tendo na segunda amostragem uma concentração de 127 NTU. Confrontando os resultados obtidos para a lagoa do parque Barigui e para o rio Barigui, encontramos para o primeiro

uma média de $32,9 \pm 12,3$ NTU e para o segundo, $28,1 \pm 8,3$ NTU. A diferença entre os valores da turbidez obtidos na lagoa em relação ao rio Barigui, vão ao encontro dos obtidos por Rocha e Thomaz (2004), que também obtiveram valores maiores para as lagoas em comparação com os rios e afirmam que o vento e a baixa profundidade dos lagos ocasionaram este resultado, assim como a biomassa fitoplanctônica.

Os íons cloreto e sulfato apresentaram as maiores concentrações no rio Belém ($35,5 \pm 5,1$ mg.L⁻¹ e $32,1 \pm 7,1$ mg.L⁻¹, respectivamente). Esses parâmetros tiveram uma forte correlação positiva ($r=0,91$; $p<0,0001$; $n=12$), indicando que ambos os íons podem ter entrado nesse ambiente pela mesma fonte. Sabe-se que altos valores de cloreto e sulfato em ambientes naturais indicam contaminação por esgoto doméstico e mineração, respectivamente (RIGHETTO, 2009). Suas fontes naturais são dissolução de sais de cloreto e rochas sulfatadas (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008). Neste ambiente foi há indícios que estes íons são provenientes de fontes antropogênicas, com fortes suspeitas de esgotos domésticos.

Em relação aos valores de alcalinidade total, observou-se que o rio Iguaçu apresenta a maior capacidade de tamponamento ($1106 \pm 454,7$ meq.L⁻¹). Já o rio Atuba apresentou os menores valores de alcalinidade ($515,7 \pm 139,2$ meq.L⁻¹).

Na Figura 4 constam os valores das diferentes formas de nitrogênio determinadas neste estudo. Na amostra da lagoa do rio Barigui o N-orgânico foi encontrado em maior proporção (43%, $1,99 \pm 2,52$ mg.L⁻¹) em relação ao nitrato (30%, $1,37 \pm 0,39$ mg.L⁻¹), a amônia (23%, $1,05 \pm 0,55$ mg.L⁻¹) e por último o nitrito (4%, $0,18 \pm 0,05$ mg.L⁻¹). Esses resultados estão coerentes por se tratar de um ambiente com predominância de organismos aquáticos como macrófitas e fitoplâncton. Já o nitrito, encontrado em baixas concentrações, é a forma intermediária da oxidação da amônia em nitrato, por isso foi detectado em pequenas concentrações em lagos com baixa profundidade.

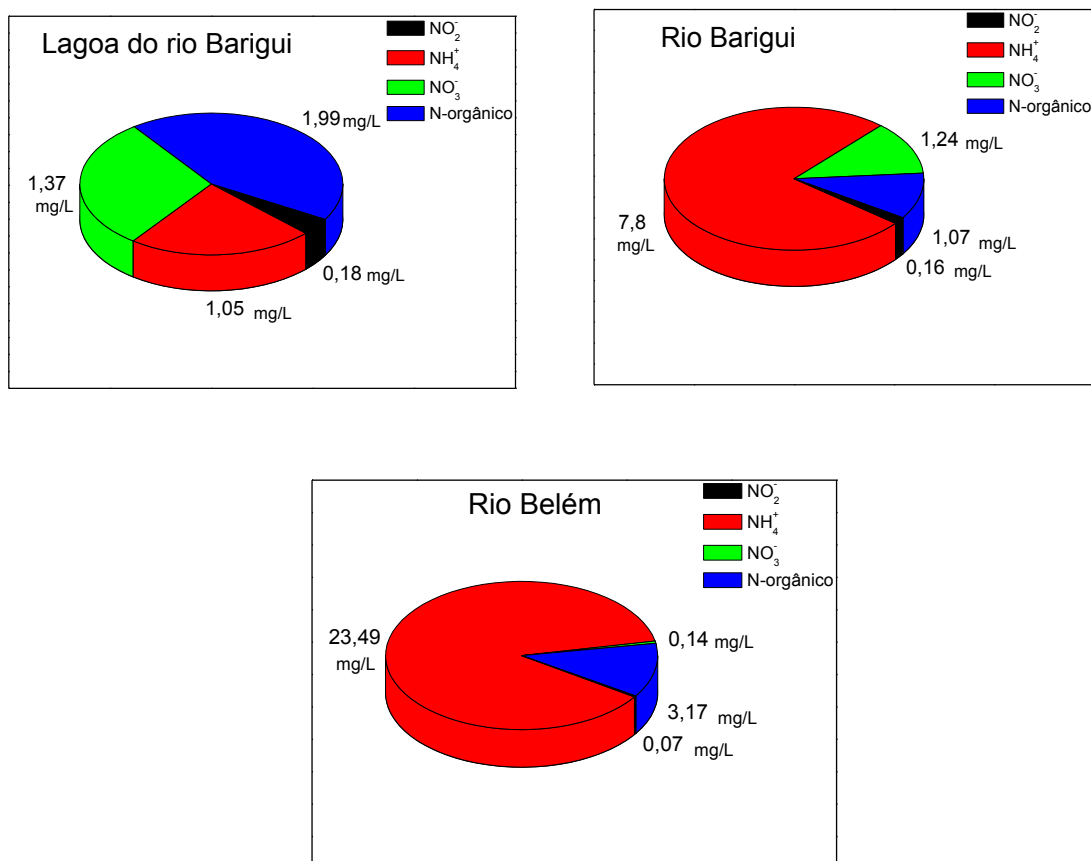


Figura 4. Proporção das formas de nitrogênio dissolvido para os pontos amostrados na lagoa do rio Barigui, no rio Barigui e rio Belém.

O comportamento do rio Barigui, após a lagoa, apresentou características diferentes, tendo um claro predomínio de N-amoniaco (76%, $7,80 \pm 4,43 \text{ mg.L}^{-1}$). A amônia é a forma reduzida do nitrogênio em ambientes aquáticos, e o seu íon amônio (NH_4^+) é a forma de nitrogênio de mais fácil assimilação pelos organismos aquáticos (ESTEVEZ, 1998). Após a lagoa, pode-se afirmar que esse rio apresenta grande influência de esgotos domésticos, pois quando é encontrado N-amoniaco em grandes concentrações nos ambientes aquáticos de regiões urbanas, é possível caracterizar como proveniente da entrada de esgoto doméstico (MOTA; VON SPERLING, 2009). Outro aspecto que corrobora com os resultados obtidos no rio Barigui foi a forte correlação com o cloreto ($r=0,90$; $p<0,0001$; $n=12$), confirmando a origem do N-amoniaco de esgotos domésticos. As baixas concentrações de OD neste rio estão correlacionadas com o grande aporte de N-amoniaco ($r=-0,52$;

$p < 0,048$; $n=12$), pois tem-se a provável entrada de matéria orgânica lábil nestes esgotos, ocorrendo consumo de OD na sua oxidação.

Já para no rio Belém, o N-amoniacoal foi a forma predominante de nitrogênio (87%, $23,45 \pm 15,30 \text{ mg.L}^{-1}$), sendo que na amostragem do mês de setembro, o ponto BL2 atingiu uma concentração de $50,30 \text{ mg.L}^{-1}$, confirmando a contaminação deste rio por esgoto doméstico. As demais formas de nitrogênio apresentaram-se insignificantes, exceto o N-orgânico, que teve uma concentração máxima de $13,06 \text{ mg.L}^{-1}$ e foi ausente em algumas amostragens. Os demais rios seguiram o padrão apresentado pelo rio Belém, tendo a predominância de N-amoniacoal, principalmente o rio Atuba que teve quase 79% do seu nitrogênio na forma amoniacoal.

A sazonalidade foi fator importante na variação da concentração do N-amoniacoal nos rios estudados (Figura 5). Os rios Atuba, Irai e Iguaçú apresentaram as mesmas características de sazonalidade para amônia, tendo um decréscimo nas concentrações nas campanhas 2 e 3 e as maiores concentrações nas campanhas 1 e 4, o que pode estar relacionado com as precipitações antes das coletas, que causam o carreamento desse composto para dentro do rio.

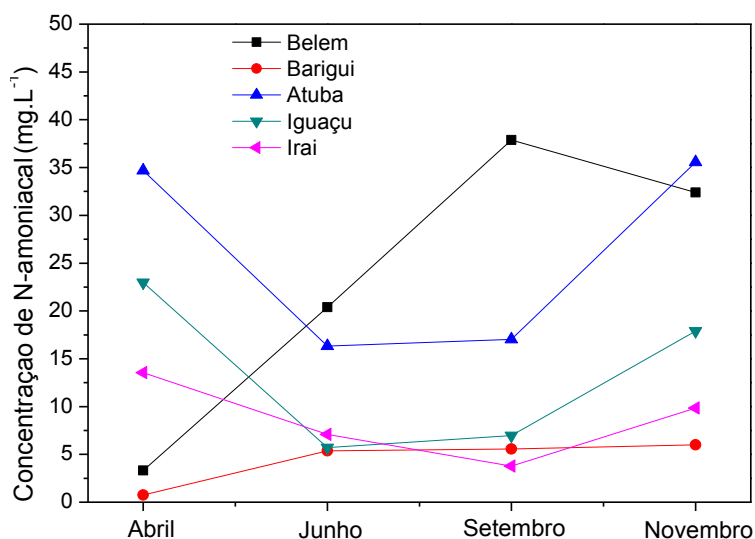


Figura 5. Valores médios da concentração amônia para os cinco rios estudados nas 4 coletas realizadas, considerando todos os pontos amostrados nos rios.

O rio Iguaçu, por ter influência dos rios Atuba e Iraí, tem as mesmas variações que estes e, na primeira e quarta amostragem, obteve os maiores valores de N-amoniacoal ($22,98 \pm 3,67 \text{ mg.L}^{-1}$ e $17,91 \pm 8,97 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente). Coincidentemente, em abril, o rio Iraí teve sua maior concentração de N-amoniacoal ($13,54 \pm 0,72 \text{ mg.L}^{-1}$) e em novembro o ponto AT2 teve a maior concentração entre todos os rios ($60,80 \pm 3,01 \text{ mg.L}^{-1}$). As maiores concentrações de N-amoniacoal encontradas no ponto AT2 podem estar relacionadas com o efluente da ETE Atuba Sul que produz esta forma de nitrogênio ao degradar a matéria orgânica no seu processo (processo RALF aplicado no sistema). No rio Iguaçu ficou evidente a diferença entre os dois pontos coletados, pois as maiores médias de N-amoniacoal foram detectadas no ponto IG2, que é o ponto com influência do rio Belém. O rio Barigui apresentou as menores concentrações de N-amoniacoal, com pouca variação, exceto na coleta 1 na qual a concentração foi de $0,74 \pm 0,53 \text{ mg.L}^{-1}$, a menor concentração observada entre todos os pontos e amostragens.

Na Figura 6 são apresentados as concentrações médias de ortofosfato para cada rio amostrado. No mês de setembro foram quantificadas as maiores concentrações, tendo as maiores concentrações no rio Belém ($3,50 \pm 1,37 \text{ mg.L}^{-1}$).

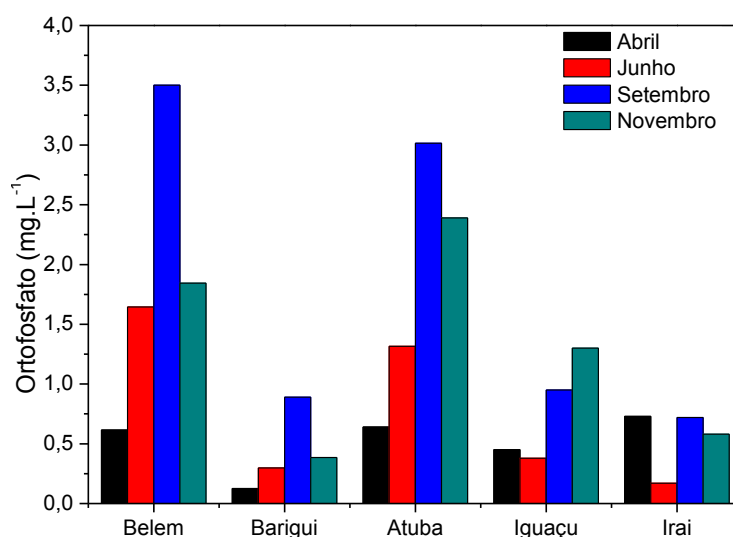


Figura 6. Concentração de Ortofosfato para cada rio amostrado e nas quatro coletas.

O rio Iraí apresentou um comportamento diferente dos demais, tendo a primeira e terceira amostragem com as maiores concentrações ($0,72 \pm 0,04 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,72 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente) e a segunda com a menor concentração ($0,17 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$). Se comparar as concentrações de ortofosfato com as de fósforo total (Tabela 3), nota-se que o rio Iraí tem a maior proporção de ortofosfato que os demais rios, sendo que na coleta 1 quase 100% do fósforo total está na forma de ortofosfato e os demais rios numa média geral apresentaram apenas 39%. Porém, no mês de junho, o ortofosfato representou somente 18% do P-total do rio Iraí, indicando uma recente descarga de esgoto ainda não degradada e transformada na forma mais assimilável. Esse fato foi confirmado pelo maior índice de precipitação nesta coleta, o que acaba limpando as galerias pluviais contaminadas com esgoto e também pela correlação existente entre o ortofosfato e o N-amoniaco ($r=0,96$; $p<0,0001$; $n=21$) e com o íon cloreto ($r=0,96$; $p<0,0001$; $n=11$) na segunda amostragem.

Tabela 3. Média e desvios padrões das concentrações de fósforo total (P-total) para os rios amostrados, em mg.L^{-1} ($n = 12$).

	C1	C2	C3	C4
Belém	$6,76 \pm 7,25$	$4,92 \pm 1,49$	$5,39 \pm 1,52$	$2,17 \pm 0,06$
Barigui	$2,30 \pm 1,52$	$1,03 \pm 0,78$	$0,95 \pm 0,82$	$2,52 \pm 0,43$
Atuba	$2,87 \pm 0,08$	$4,25 \pm 4,22$	$5,63 \pm 5,31$	$2,82 \pm 2,96$
Iguaçu	$2,24 \pm 1,84$	$1,07 \pm 0,29$	$3,03 \pm 1,22$	$1,65 \pm 0,23$
Iraí	$0,72 \pm 0,05$	$0,92 \pm 0,10$	$0,77 \pm 0,11$	$0,52 \pm 0,05$

Para os demais rios, as concentrações de P-total foram superiores, tendo o rio Belém com a maior concentração média ($4,81 \pm 3,37 \text{ mg.L}^{-1}$), atingindo em abril, no ponto BL2, uma concentração de $11,88 \pm 0,12 \text{ mg.L}^{-1}$. No rio Atuba houve uma diferença de concentração entre os pontos antes e depois da ETE, sendo $1,70 \pm 0,95 \text{ mg.L}^{-1}$ para o primeiro e $6,08 \pm 2,84 \text{ mg.L}^{-1}$ para o segundo ponto. O rio Iguaçu teve em sua média uma concentração de P-total de $2,00 \pm 1,15 \text{ mg.L}^{-1}$, não havendo diferença entre os pontos IG1 ($2,20 \pm 0,97 \text{ mg.L}^{-1}$) e IG2 ($1,79 \pm 1,43 \text{ mg.L}^{-1}$), sendo contrário ao ocorrido com o N-amoniaco. Esse fato mostra que tanto o rio Belém

como os rios Atuba e Iraí interferem negativamente nas concentrações de P-total no rio Iguaçu. O rio Barigui teve mais uma vez uma diferença nas concentrações encontradas na lagoa e no rio. O P-total foi maior no rio ($1,44 \pm 0,41 \text{ mg.L}^{-1}$) do que na lagoa ($0,96 \pm 1,33 \text{ mg.L}^{-1}$), porém, na primeira amostragem, o ponto BA1 (entrada da lagoa) apresentou uma concentração de $4,56 \pm 0,51 \text{ mg.L}^{-1}$, indicando uma entrada de fósforo anormal na lagoa do parque Barigui.

1.4 CONCLUSÃO

Com os resultados físicos e químicos obtidos nas quatro coletas realizadas, de uma maneira geral, observou-se a provável influência antrópica em que os rios da RMC apresentam. Alguns desses rios por influência de despejos irregulares de esgotos e outros por aportes de efluentes mal tratados nas ETE's.

O rio Belém apresentou uma forte influência de esgoto doméstico, caracterizado pelas altas concentrações de N-amoniaco, ortofosfato e cloreto. Essa influência foi ainda mais evidente no ponto BL2, antes do encontro com o rio Iguaçu, com as maiores concentrações dos parâmetros citados. O rio Barigui se distingue dos demais, devido à presença do lago, que foi um fator atenuante da degradação. Porém, a ETE Santa Quitéria contribui fortemente para a alta dos nutrientes e a passagem pela CIC (cidade industrial de Curitiba) torna o rio Barigui um rio poluído. O rio Atuba tem uma nítida influência na sua qualidade da água pela descarga do efluente da ETE Atuba Sul, da mesma maneira que no rio Barigui, a ETE contribui consideravelmente na poluição do rio e ela se encontra a poucos metros antes da nascente do rio Iguaçu. O rio Iraí foi, entre os rios estudados, o que apresentou os menores valores de nutrientes, porém ainda assim sofre muito com as entradas de esgoto clandestino provenientes das invasões próximas das suas margens, acabando por influenciar, também, a nascente do rio Iguaçu. Por fim, o rio Iguaçu apresentou maior influência antrópica na RMC, principalmente, pelo fato de receber o aporte das cargas poluidoras dos seus afluentes Belém, Barigui e Atuba.

Com esse trabalho de monitoramento das águas constatou-se um panorama de contaminação por efluentes domésticos nos rios da região metropolitana de

Curitiba. Porém ainda não se sabe ao certo o alcance e a periculosidade dessa contaminação nos corpos aquáticos e que tipo de contaminantes podemos encontrar nesses ambientes, tais como os poluentes emergentes que estão sendo estudados exaustivamente nos últimos anos.

1.5 REFERÊNCIAS

ÁGUAS PARANÁ. Disponível em: <<http://www.aguasparana.pr.gov.br/>> Acesso em: 20 jan. 2012.

AGUIAR, M. R. **Análise das alterações ambientais na lagoa negra, Viamão/RS: Enfoque na qualidade da água.** 2008. 92 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Geografia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

ANDREOLI, C. V.; DALARMI, D.; LARA, A. I.; ANDREOLI, F. N. **Limites ao desenvolvimento da região metropolitana de Curitiba, impostos pela escassez de água.** 9º SILUBESA - Simpósio Brasileiro De Engenharia Sanitária E Ambiental. Porto Seguro: 185-195 p. 2000.

ANJOS, J. Â. S. A. D. **Avaliação da eficiência de uma zona alagadiça (*Wetland*) no controle da poluição por metais pesados: o caso da plumbum em Santo Amaro da Purificação/BA.** 2003. 301 (Doutorado). Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo, Universidade de São Paulo, São Paulo.

APHA, A. P. H. A.-. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20. Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation, 1998.

BELLOS, D.; SAWIDIS, T.; TSEKOS, I. Nutrient chemistry of River Pinios (Thessalia, Greece). **Environment International**, v. 30, n. 1, p. 105-115, 2004.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no Meio Ambiente. **Química Nova.** São Paulo. v 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

BONETO, R. M. C. G. **Aspectos limnológico-sanitários das águas do rio Calium na região metropolitana de São Paulo.** 2007. 127 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CARMOUZE, J. P. **O metabolismo dos ecossistemas aquáticos- Fundamentos teóricos, métodos de estudo e análise químicas**. São Paulo: FAPESP, 1994. 253

CASTRO, L. C. **A gestão dos recursos hídricos na bacia hidrográfica do alto iguaçu – PR**. 2005. 96 (Mestrado). Setor de Ciências da Terra Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente. 23 p. 2005.

COTRIM, M. E. B. **Avaliação na Qualidade da água na Bacia Hidrográfica do Ribeira do Iguape com vistas ao abastecimento público**. 2006. 236 (Doutorado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.

DORNFELD, C. B. **Utilização de análises limnológicas, bioensaio de toxicidade e macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana, SP)**. . 2002. 117 (Mestrado). Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo, São Carlos.

ESTEVES, F. D. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 1998. 602

FRANÇA, M. S. **Análise estatística multivariada dos dados de monitoramento de qualidade de água da bacia do alto iguaçu: uma ferramenta para a gestão de recursos hídricos** 2009. 150 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

MANSOR, M. T. C. **Potencial de poluição de águas superficiais por fontes não pontuais de fósforo na bacia hidrográfica do ribeirão do pinhal, limeira-sp**. 2005. 189 (Doutorado). Engenharia Agrícola, UNICAMP, Campinas.

MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: ABES, 2009. 428

RIGHETTO, A. M. **Manejo de Águas Pluviais Urbanas**. Rio de Janeiro: ABES, 2009. 396

ROCHA, R. R. D. A.; THOMAZ, S. M. **Variação temporal de fatores limnológicos em ambientes da planície de inundação do alto rio Paraná (PR/MS – Brasil)**. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, Maringá, v. 26, n. 3, p. 10, Sep 2004.

SCHEFFER, E. W.; SODRÉ, F. F.; GRASSI, M. T. Fatores que governam a especiação do cobre em ambientes aquáticos urbanos: evidências da contribuição de sulfetos solúveis. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 332-338, Jan 2007.

SEMA. **Bacias hidrográficas do Paraná - Série histórica. HÍDRICOS**, S. D. E. D. M. A. E. R. Curitiba: SEMA: 138 p. 2010.

SETTI, A. A; LIMA, J. E. F. W.; CHAVES, A. G. M.; PEREIRA, I. C. **Introdução ao gerenciamento de recursos hídricos** Brasília: Agência Nacional de Energia Elétrica, Superintendência de Estudos e Informações Hidrológicas 2001. 207

SILVEIRA, M. P. **Aplicação do biomonitoramento para avaliação da qualidade da água em rios** Jagariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 68

SODRÉ, F. F. **Especiação do cobre em águas naturais: influência de fatores associados à urbanização** 2005. 165 (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Química Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SUDERHSA. **Plano da bacia do Alto Iguaçu e afluentes do Alto Ribeira - Relatório diagnóstico**. Curitiba: SUDERHSA: 93 p. 2007.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008. 632

VON SPERLING, M. **Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos - Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2005. 452

WETZEL, R. G. **Limnology. Lake and River Ecosystems**. San Diego: Academic Press, 2001. 1006

YAMAMOTO, C. R. G. **Wetlands na região metropolitana de Curitiba – PR: diagnóstico, conflitos socioeconômicos e desafios de gestão**. 2011. 197 (Doutorado). Programa de pós graduação em geografia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CAPÍTULO 2: ESTUDO DA CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA AQUÁTICA DE PARTE DA BACIA DO ALTO IGUAÇU, CURITIBA-PR

RESUMO

A região Metropolitana de Curitiba sofre com a descontrolada urbanização que, por conseguinte, tem reflexo em seus corpos hídricos, sendo grande parte visivelmente degradada por isso. A caracterização da matéria orgânica aquática é um importante estudo para a observação da influência antrópica em um dado corpo hídrico e este tipo de estudo foi feito em cinco diferentes rios da Bacia do Alto Iguaçu, localizada na região Metropolitana de Curitiba. Para as análises da matéria orgânica foi utilizada a caracterização por espectroscopia de Ultravioleta e Visível e a espectroscopia de fluorescência molecular, que ajudam a diferenciar a possível fonte e estrutura molecular do carbono orgânico presente no meio aquático. Com o estudo feito foi observado uma forte influência por carbono orgânico lábil, de fácil degradação, em quatro dos cinco rios estudados, sendo eles o rio Iguaçu, Belém, Atuba, Barigui. Isso confirmou a estrada de esgoto doméstico nesses ambientes, que é composto basicamente por carbono orgânico mais lábil. Já o rio Iraí apresentou um carbono orgânico mais refratário, de mais complexidade, que foi julgado como sendo de possível influência da erosão das margens do rio e da ressuspensão dos sedimentos. Essa caracterização ajudou a confirmar o estado de deterioração dos rios estudados e reafirmou a forte influência de esgotos domésticos sofridos pela Bacia do Alto Iguaçu.

Palavras-chave: Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu. Esgoto doméstico. Carbono orgânico. Espectroscopia de UV-Vis. Fluorescência molecular.

2.1 INTRODUÇÃO

A matéria orgânica natural (MON) desempenha um papel importante nos ecossistemas aquáticos como na especiação e biodisponibilidade de metais, solubilidade de poluentes orgânicos e a atenuação da radiação ultravioleta (WU *et al.*, 2007), tornando-se um parâmetro relevante para a determinação da poluição desses ambientes (THOMAS *et al.*, 1999).

Em ambientes aquáticos, a matéria orgânica pode ser encontrada sob a forma de carbono orgânico dissolvido (COD) e carbono orgânico particulado (COP) (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 2008). A sua quantidade e origem podem estar entre os fatores mais significativos para funcionamento biótico dos ecossistemas, sendo sua fração dissolvida a mais abundante (até 90% do total em lagos) e a mais importante no entendimento dos fluxos de energia (MCDONALD *et al.*, 2004; NGUYEN; HUR; SHIN, 2010). A MON é formada por uma mistura de moléculas de diferentes tamanhos, estruturas e funções, como carboidratos, aminoácidos, peptídeos, proteínas, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos que formam a fração (20 a 30%) mais simples (THURMAN, 1985; BUFFLE *et al.*, 1987). Já as substâncias húmicas (SHs, 60 a 70%), formadas por ácido húmico (AH), ácido fúlvico (AF) e humina, representam a fração mais complexa da MON (THURMAN, 1985; THOMAS, 1997). Na caracterização destas substâncias húmicas, os AH apresentam estruturas mais complexas, tendo maior massa molecular e quantidade de anéis aromáticos que os AF, podendo assim serem diferenciados (CHIN; AIKEN; OLOUGHLIN, 1994).

A massa molecular e a distribuição de tamanho molecular são propriedades importantes para o entendimento das características físicas e químicas da MON, e mais especificamente, do carbono orgânico dissolvido (COD) (MCKNIGHT *et al.*, 2001). Em função dessas características moleculares, a espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível e a de emissão de fluorescência molecular são ferramentas importantes na caracterização da matéria orgânica dissolvida (MOD), pois, por meio destas técnicas é possível estimar o grau de complexidade molecular e a predominância da fonte (autóctone ou alóctone) (PEURAVUORI; PIHLAJA, 1997).

A origem do COD pode ser tanto alóctone, advindo de ambientes exteriores, como autóctone, produzido pelo próprio ambiente (ESTEVES, 1998). As fontes alóctones, que podem ser originárias do solo (pedogênicas) ou de águas residuárias (domésticas ou industriais), apresentam maior contribuição nos períodos de intensas precipitações, aumentando a proporção de substâncias húmicas dissolvidas, devido ao escoamento superficial ou a lixiviação do solo (NGUYEN; HUR; SHIN, 2010). Também é observado um acréscimo da matéria orgânica quando ocorrem ligações clandestinas de esgotos, alterando as características da matéria orgânica natural (MON) e conseqüentemente seus espectros (AHMAD; REYNOLDS, 1995). Já as fontes autóctones são formadas por processos internos dos corpos d'água, como a produção fitoplanctônica e de macrófitas aquáticas. Há processos naturais que interferem na estrutura da MON, como as transformações do carbono pela atividade biológica e/ou fotoquímica (WETZEL; HATCHER; BIANCHI, 1995), o transporte de matéria orgânica particulada e dissolvida para o sedimento e sua remobilização (FRIMMEL, 1998; WESTERHOFF; ANNING, 2000; CHEN *et al.*, 2002), e ainda as modificações causadas por processos limnológicos básicos, como estratificação térmica e hipoxia (THURMAN, 1985).

Uma das características do COD que permite identificar sua fonte é seu grau de humificação. Isso é possível porque os processos de formação das SHs são diferentes nos meios terrestres e aquáticos. Nos solos, há pelo menos quatro rotas de formação de substâncias húmicas e duas delas envolvem modificações da lignina (THURMAN, 1985), gerando moléculas húmicas com grande quantidade de anéis aromáticos e grupos contendo oxigênio. Já nos ambientes aquáticos, as SH são formadas por outras rotas, como a decomposição de produtores primários (THURMAN, 1985), dando origem a moléculas mais simples, com uma maior quantidade de carbono alifático (WETZEL, 2001). Estas diferenças estruturais são as principais responsáveis pelas diferenças nas análises espectroscópicas nas regiões do ultravioleta e visível e por emissão de fluorescência.

A espectroscopia na região do ultravioleta visível foi utilizada por diversos pesquisadores para caracterizar a composição estrutural do COD e identificar suas possíveis fontes nos ecossistemas estudados (CHIN; AIKEN; OLOUGHLIN, 1994; PEURAVUORI ; PIHLAJA, 1997; ARTINGER *et al.*, 2000; MCKNIGHT *et al.*, 2001; CHEN *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2006). Algumas substâncias comumente

encontradas em águas naturais e efluentes, tais como taninos, ligninas, substâncias húmicas e vários outros compostos aromáticos têm alta capacidade de absorver luz ultravioleta (WETZEL; HATCHER; BIANCHI, 1995). A matéria orgânica natural absorve luz em uma extensa faixa do espectro, enquanto que substâncias inorgânicas, típicas de águas naturais, não absorvem luz de maneira significativa em comprimento de onda maiores que 230 nm. Assim, a absorção da luz por águas naturais pode ser um indicador qualitativo da composição da matéria orgânica em um ecossistema aquático (KORSHIN; LI ; BENJAMIN, 1997).

A escolha dos comprimentos de onda utilizados nas análises varia em função do material a ser analisado (APHA, 1998). Korshin, Li e Benjamin (1997) citaram o estudo da absorção em um único comprimento de onda, principalmente para análises de correlação com outros parâmetros, como COD. Para esses estudos, usualmente foram utilizados os comprimentos de onda de 254 nm e 285 nm. Azevedo *et al.* (2008) encontraram correlação linear significativa entre a absorvância em $\lambda = 254$ nm e o COD. Segundo Westerhoff e Anning (2000), o espectro de absorvância pode também ser normalizado em termos do COD e do caminho ótico da amostra e ser avaliado em função da absorvância específica, SUVA (Absorvância Específica no UV). De acordo com os autores, os valores normalizados permitem uma estimativa da abundância relativa de absorção de luz ultravioleta e visível e pode fornecer informações sobre a composição da matéria orgânica e indícios sobre suas fontes. Já Artinger *et al.* (2000) utilizaram uma razão dos comprimentos de onda de 300 nm e 400 nm (E_3/E_4) para caracterizar o grau de humificação do COD. Chen *et al.* (2002) propuseram a razão 465 nm por 665 nm (E_4/E_6) e a razão 265 nm por 465 nm (E_2/E_4) para caracterizar como AF ou AH e McDonald *et al.* (2004) afirmaram que essas duas relações ajudam a encontrar relações inversas com o aumento da humificação e também o aumento da condensação da MON. Porém, Peuravuori e Pihlaja (1997) e Ma, Allen e Yin (2001) afirmaram que, para águas superficiais, a razão E_4/E_6 não apresenta resultados satisfatórios, sendo mais recomendada para estudos com solos. Outra relação feita para caracterizar a MON é a absorvância molar no comprimento de onda de 280 nm (ϵ_{280}) (CHIN; AIKEN; OLOUGHLIN, 1994; MCKNIGHT *et al.*, 2001), na qual Chin, Aiken e Oloughlin (1994) obtiveram uma boa correlação entre a ϵ_{280} com o tamanho molecular e a aromaticidade. Já Peuravuori e Pihlaja (1997) estimaram a

aromaticidade da MON por meio de uma correlação existente com a relação E_2/E_3 , afirmando que essa correlação apresentou-se surpreendentemente boa e com significativa importância para a limnologia.

Outra técnica muito utilizada para caracterizar a MON é a espectroscopia de fluorescência molecular de emissão, excitação, sincronizados e matrizes excitação-emissão (MEE) (SENESI, 1990; COBLE, 1996; BAKER, 2001; BAKER, 2002; PEURAVUORI; KOIVIKKO; PIHLAJA, 2002; CHEN *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2006; AZEVEDO; TEIXEIRA; NOZAKI, 2006; HUDSON; BAKER; REYNOLDS, 2007). Essa técnica de análise pode ser utilizada em função da capacidade de absorção da energia radiante em um comprimento de onda e da emissão da radiação em um comprimento de onda maior encontrada em diversos compostos orgânicos e inorgânicos (SAWYER; MCCARTY; PARKIN, 1994). Um dos objetivos de se utilizar o ensaio de fluorescência molecular como complemento de outros parâmetros de qualidade de água é a possibilidade de identificar a origem da matéria orgânica, seja ela alóctone ou autóctone. Vários autores realizaram estudos para caracterizar e identificar a MON de diferentes origens (SENESI, 1990; FRIMMEL, 1998; PEURAVUORI; KOIVIKKO; PIHLAJA, 2002; CHEN *et al.*, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2006), ou para diferenciar a MON da matéria orgânica dissolvida (MOD) proveniente de efluentes domésticos (AHMAD; REYNOLDS, 1995; CHEN *et al.*, 2002).

Westerhoff e Anning (2000) utilizaram os espectros de emissão (λEm), aplicando o comprimento de onda de excitação (λExc) de 370 nm, para a caracterização do COD em termos de compostos aromáticos. Estes autores empregaram, para distinguir a fonte da matéria orgânica, o comprimento de onda que apresenta o máximo de intensidade emitida (PW): caso essa intensidade máxima seja em comprimentos de onda menores que 450 nm, predomina COD de fonte autóctones; caso a máxima intensidade seja obtida em comprimentos de onda maiores que 450 nm, predomina COD de fonte alóctone. Esses mesmos autores também aplicaram a relação de fluorescência (FR) da intensidade de emissão nos comprimentos de onda de 450 e 500 nm.

Os espectros de fluorescência de emissão sincronizada são frequentemente utilizados para determinar algumas bandas de absorção da MON e apresentam maiores informações do que os espectros de emissão ou excitação de fluorescência.

Algumas bandas são características de determinados compostos e alguns picos comumente encontrados nos espectros sincronizados ($\Delta\lambda = 18 \text{ nm}$) da MON são: para as substâncias húmicas temos bandas próximo de 450nm relacionadas aos AFs e bandas entre 465 e 500nm relacionadas aos AHs (SENESI, 1990; PEURAVUORI; KOIVIKKO; PIHLAJA, 2002). Alguns estudos (AHMAD; REYNOLDS, 1995; MA; ALLEN; YIN, 2001; CHEN *et al.*, 2002) evidenciaram presença de bandas de intensidade de fluorescência na região de $\lambda_{\text{Exc}} = 280 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{Em}} = 298 \text{ nm}$, durante a caracterização de esgotos domésticos, porém, também é atribuído a essas bandas os aminoácidos aromáticos e outros ácidos voláteis contendo estruturas altamente conjugadas (PEURAVUORI; KOIVIKKO; PIHLAJA, 2002).

Um dos primeiros estudos a utilizar a técnica de fluorescência MEE na avaliação de MOD foi realizado por Coble (1996). A autora comprovou a presença de cinco picos principais de fluorescência que podem estar relacionados com a matéria orgânica, sendo eles: pico T (Ex/Em 275/340 nm) às substâncias simples e semelhantes a proteínas (Triptofano); pico B (Ex/Em 225 e 275/310 nm) a materiais lábeis e semelhantes a proteínas (Tirosina); pico M (Ex/Em 312/380-420 nm) às substâncias húmicas aquáticas; pico A (Ex/Em 260/380-460 nm) e o pico C (Ex/Em 350/420-480 nm) referentes às substâncias húmicas terrestres. Hudson, Baker e Reynolds (2007) referenciaram também outro pico de intensidade de fluorescência para o Triptofano (pico T₂) que está na região de Ex/Em 225/340 nm, indicando ser de material de rápida e fácil biodegradação, sendo reduzidos em até 90% nas estações de tratamento de esgotos.

Alguns autores consideraram os picos T e B, das proteínas Triptofano e Tirosina, não somente como material lábil fitoplanctônico, mas também como bandas originárias da emissão de fluorescência de substâncias lábeis, provenientes de esgotos domésticos, podendo caracterizar regiões afetadas por ações antrópicas (BAKER, 2001; HUDSON; BAKER; REYNOLDS, 2007, HENDERSON *et al.* 2009).

Este estudo teve como objetivo caracterizar a fonte da MON encontrada nos ambientes aquáticos estudados, podendo ser ela alóctone, autóctone ou ainda de fonte antropogênica, de esgotos domésticos.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Área de Estudo

Neste estudo foram realizadas quatro amostragem no período de abril a novembro de 2011. A primeira foi realizada nos dias 11, 12 e 13 de abril; a segunda foi nos dias 15, 16 e 17 de junho; a terceira nos dias 14, 15 e 16 de setembro; e a última foi feita nos dias 8, 9 e 10 de novembro. Foram amostrados água superficial e sedimento de 11 pontos em 5 diferentes rios da RMC (Tabela 4).

Tabela 4. Localização dos pontos amostrados no estudo.

Rio	Latitude (S)	Longitude (O)	Sigla do ponto empregada
Belém	25° 26' 51.93"	49° 15' 04.10"	BL1
Belém	25° 30' 26.58"	49° 12' 54.22"	BL2
Barigui	25° 25' 34.43"	49° 18' 24.66"	BA1
Barigui	25° 25' 52.46"	49° 18' 47.51"	BA2
Barigui	25° 27' 54.09"	49° 19' 12.81"	BA3
Barigui	25° 30' 53.21"	49° 20' 18.85"	BA4
Atuba	25° 27' 53.73"	49° 11' 25.56"	AT1
Atuba	25° 28' 25.76"	49° 11' 07.87"	AT2
Iguaçu	25° 29' 03.73"	49° 11' 25.01"	IG1
Iguaçu	25° 31' 42.10"	49° 13' 08.50"	IG2
Iraí	25° 27' 16.61"	49° 10' 17.11"	IR1

Todos os pontos pertencem à bacia hidrográfica do Alto Iguaçu e são eles: rio Belém (dois pontos, o primeiro na vila Torres e o segundo no deságue no rio Iguaçu); rio Barigui (quatro pontos, os dois primeiros na lagoa do parque Barigui, um terceiro após a ETE Santa Quitéria e o último na entrada da cidade industrial de Curitiba); rio Atuba (dois pontos, um montante e outro jusante a saída da ETE Atuba

Sul); rio Iraí (um ponto, próximo ao rio Iguaçu) e rio Iguaçu (um ponto, no encontro do rio Atuba com o rio Iraí e outro após o encontro com rio Belém) (Figura 7).

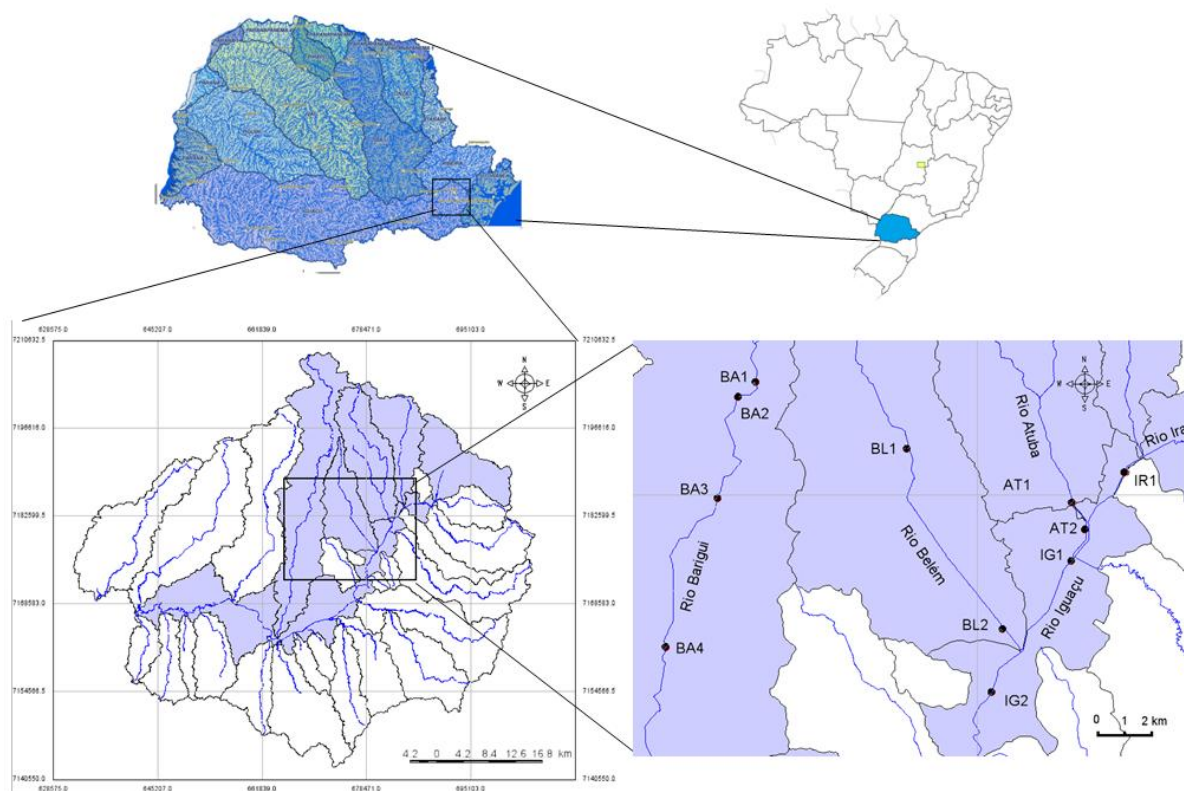


Figura 7. Bacia do Alto Iguaçu, em destaque, localização dos pontos de amostragem.

Fonte: ÁGUAS PARANÁ.

2.2.2 Caracterização da Matéria Orgânica

As análises por UV-Vis foram realizadas no dia da coleta com a fração dissolvida (0,45µm), fazendo-se um espectro na faixa de 200 a 700 nm com o espectrofotômetro Cary 50 – Varian, utilizando-se uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico e água ultrapura como branco. Amostras para fluorescência molecular (~30mL) e COD (~30mL, pH<2, H₂SO₄) foram obtidas da fração dissolvida (filtração com membranas Millipore de éster de celulose, 0,45 µm), armazenada em frascos de polietileno de alta densidade (PEAD) e mantidas congeladas (<20°C),

para posterior leitura. O COD foi determinado empregando o equipamento Hiper TOC Thermo Scientific na UTFPR.

A análise por fluorescência molecular foi realizada em equipamento Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer utilizando lâmpada de xenônio e voltagem de 900 V. Foram obtidos espectros de emissão, com excitação em 314 nm e 370 nm e espectros de varredura sincronizada, com excitação de 250 a 600 nm ($\Delta\lambda = 18 \text{ nm}$). Nos espectros de MEE as medidas foram realizadas nos comprimentos de onda de 250 a 600 nm para excitação e de 250 a 700 nm para emissão. Todos os espectros de fluorescência foram obtidos aplicando-se $240 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$, fenda de 5 nm, cubeta de quartzo de 1 cm e água Milli-Q como branco. Determinações do espectro de água ultrapura foram realizadas para um controle do sinal analítico e eliminação do espalhamento Raman dos espectros.

2.2.3 Análises Estatísticas

Foram utilizadas correlações de Pearson para verificar possíveis relações significativas entre os parâmetros avaliados neste estudo. Também foram utilizados resultados das análises físicas e químicas obtidas no capítulo 1 desta dissertação.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variações na concentração do COD estão ilustradas na Figura 8. Foi observado que na segunda amostragem houve um aumento nas concentrações de COD para todos os pontos amostrados. Nas amostragens 2 e 3 foram observados os maiores valores de precipitação na semana da coleta, sendo 66,1 mm e 32 mm, respectivamente e segundo Nguyen, Hur e Shin (2010), em períodos de intensa precipitação ocorre um aumento significativo nas concentrações do COD, fato este que ocorreu na segunda coleta realizada. Na segunda campanha foi encontrada uma correlação do COD com os nutrientes N-amoniacoal ($r=0,65$; $p<0,0001$; $n=33$) e

ortofosfato ($r=0,71$; $p<0,0001$; $n=33$), indicando que esse COD, provavelmente, é de origem antrópica, principalmente de esgotos domésticos.

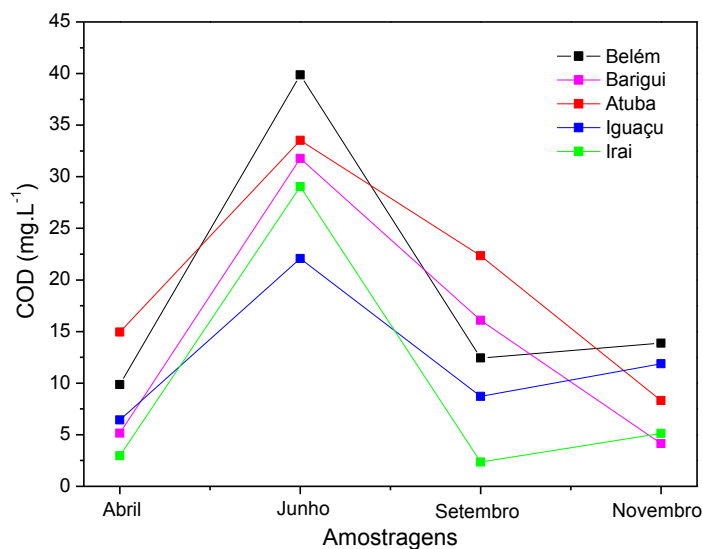


Figura 8. Variação sazonal nas concentrações de COD para os rios amostrados.

O rio Belém apresentou a maior concentração de COD entre todos os pontos que foi $42,93 \text{ mg.L}^{-1}$ na segunda amostragem e no ponto BL1 e o rio Iraí apresentou a menor média de concentração, tendo a menor concentração na terceira amostragem ($2,35 \text{ mg.L}^{-1}$). O COD do rio Atuba teve uma correlação com o ortofosfato ($r=0,69$; $p<0,0120$; $n=12$) indicando que o COD pode ser proveniente do lançamento do efluente da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Atuba Sul, principalmente pela diferença existente na concentração do COD do ponto AT1 ($15,91 \pm 11,40 \text{ mg.L}^{-1}$) e do ponto AT2 ($22,05 \pm 12,03 \text{ mg.L}^{-1}$). Essa influência das estações de tratamento de esgoto também foi perceptível no rio Barigui, pois o ponto BA3, que sofre influência da ETE Santa Quitéria, também possui as maiores concentrações de COD, entre os pontos amostrados do mesmo rio ($16,21 \pm 13,81 \text{ mg.L}^{-1}$).

Na Tabela 5 constam os valores de algumas relações de espectroscopia de UV-Vis para identificar a origem do COD dos rios amostrados. Segundo Westerhoff e Anning (2000), valores de SUVA_{254} próximos a $4,4 \text{ L.}(\text{mg.m})^{-1}$ indicam COD com predomínio de AF dissolvido e valores próximos a $1,2 \text{ L.}(\text{mg.m})^{-1}$ indicam COD com

predomínio de matéria orgânica de fonte autóctone, mais lábil. Assim, considerando os valores de $SUVA_{254}$, temos que para todos os pontos, exceto rio Iraí, os valores foram próximos a $1,5 \text{ L.}(\text{mg.m})^{-1}$, indicando que o COD apresenta características predominante de carbono orgânico mais lábil, fato esse já correlacionado com a entrada de esgoto recente no ambiente.

Tabela 5. Média das coletas e pontos dos rios amostrados para os valores de $SUVA_{254}$, E_2/E_3 , E_4/E_6 , ϵ_{280} e Aromaticidade.

	$SUVA_{254}^a$	E_2/E_3	E_4/E_6	ϵ_{280}^b	Arom. ^c
Belém	$1,48 \pm 0,71$	$3,64 \pm 0,41$	$2,72 \pm 1,12$	$142,4 \pm 69,3$	28 ± 4
Barigui	$1,91 \pm 0,54$	$4,15 \pm 0,67$	$1,91 \pm 0,54$	$107,2 \pm 85,6$	24 ± 6
Atuba	$1,07 \pm 0,55$	$4,08 \pm 0,40$	$3,82 \pm 2,41$	$99,5 \pm 49,7$	25 ± 3
Iguaçu	$1,79 \pm 0,64$	$3,55 \pm 0,64$	$3,56 \pm 2,16$	$169,2 \pm 59,5$	28 ± 5
Iraí	$21,64 \pm 36,27$	$3,28 \pm 1,60$	$2,19 \pm 1,25$	$2190,7 \pm 3723,2$	30 ± 11

^aL/mg.m; ^bL/(mol de C).cm; ^cAromaticidade em porcentagem (%)

O rio Iraí apresentou um valor discrepante para o $SUVA_{254}$ ($21,64 \pm 36,27 \text{ L.}(\text{mg.m})^{-1}$), valor esse devido a primeira coleta, que foi de $75,92 \text{ L.}(\text{mg.m})^{-1}$, período com maior chuva (10,8 mm em Pinhais), diferentemente das demais amostragens que ficaram numa média de $3,54 \pm 3,04 \text{ L.}(\text{mg.m})^{-1}$. Segundo alguns autores (CHIN; AIKEN; OLOUGHLIN, 1994; KORSHIN; LI; BENJAMIN, 1997; FRIMMEL, 1998; CHEN *et al.*, 2002), nos comprimentos de onda entre 250 e 280 nm têm-se uma maior excitação das ligações π - π , ou seja, das duplas ligações entre carbonos ou carbonos e oxigênio, tendo valores superiores de absorvâncias nesses comprimentos de onda. Neste caso, existe grande indício de que o COD no rio Iraí apresenta maior complexidade, um maior número de ligações duplas, resultando numa maior absorvidade no comprimento de onda 254 nm, que caracteriza a $SUVA_{254}$, principalmente, proveniente de SHs com alto grau de humificação. Conclui-se então que o COD do rio Iraí é mais refratário, provavelmente vindo do solo arrastados no período de chuvas ou erosão das margens do rio, fato comprovado pelo maior valor de aromaticidade ($30 \pm 11 \%$). Os resultados da relação E_2/E_3 obtidos se encaixam com o que foi discutido com o $SUVA_{254}$ anteriormente, pois o rio Iraí novamente apresenta os menores valores e isso representa uma maior

aromaticidade e grau de humificação, podendo ser considerado como um AF ou AH dissolvidos, segundo Wang *et al.* (2009). Os demais valores, se comparados com os apresentados por Oliveira *et al.* (2006), apresentam-se semelhantes, porém esses autores estudaram um ambiente sem interferência antrópica, sugerindo que seus resultados mais altos foram devido à ressuspensão do sedimento que pode provocar o aumento da proporção de ácido húmicos. De uma forma geral, E_2/E_3 correlacionou-se com a turbidez de todos os ambientes amostrados ($r=0,49$; $p<0,0001$; $n=120$), o que pode indicar que a complexidade da MON pode estar relacionada com AHs, que são pouco solúveis e podem estar alterando a turbidez do ambiente. Segundo Chen *et al.* (2002) e Chin, Aiken e Oloughlin (1994), a relação E_4/E_6 tem correlação significativa com a aromaticidade da MON, porém esse fator não foi observado no presente estudo. Peuravuori e Pihlaja (1997) e Ma, Allen e Yin (2001), também não observaram correlações da relação E_4/E_6 com nenhum parâmetro físico ou químico e afirmam que essa relação é mais propícia para SH pedogênicas. Nos rios estudados da região Metropolitana de Curitiba predominam substâncias lábeis, podendo ser autóctones ou alóctones, provenientes de esgotos. Porém por se tratar de rios, onde a produtividade primária é baixa, pode-se indicar que o COD seja alóctone proveniente de esgotos domésticos.

Utilizou-se também o coeficiente de absorvidade para o comprimento de onda 280 nm (ϵ_{280}). Chin, Aiken e Oloughlin (1994) encontraram valores para os rios próximos a $500 \text{ L.}((\text{mol de C}).\text{cm})^{-1}$ e para os lagos próximo de $100 \text{ L.}((\text{mol de C}).\text{cm})^{-1}$, discutindo haver uma maior aromaticidade do COD nos resultados dos rios amostrados. Já no presente estudo, os valores dos rios encontram-se bem inferiores, chegando a ter $99,5 \pm 49,7 \text{ L.}((\text{mol de C}).\text{cm})^{-1}$ no rio Atuba. Isto pode ser explicado pelo fato da estrutura química do COD, proveniente da produtividade primária e de esgotos, apresentar menor quantidade de estruturas aromáticas e, conseqüentemente, menor absorbância na região do ultravioleta. A aromaticidade (Arom.) foi calculada por meio de uma relação apresentada por Peuravuori e Pihlaja (1997), a qual se faz o uso apenas da relação de absorbâncias E_2/E_3 e assim tem-se estimado a aromaticidade do COD analisado. Os resultados apresentados foram muito similares, apenas o rio Iraí, na coleta 1, teve um maior valor (41,25% do COD), acontecimento já explicado com os parâmetros anteriores.

Outra técnica que permitiu investigar a origem do COD foi a emissão de fluorescência molecular. Na Figura 9 constam os valores de FR determinados para os ambientes estudados. Alguns autores (WESTERHOFF; ANNING, 2000; MCKNIGHT *et al.*, 2001; JAFFÉ *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2008) que trabalharam com rios urbanos e bacias hidrográficas, apontaram valores abaixo de 1,5 como de fonte alóctone, normalmente pedogênicas, que são caracterizadas pela maior aromaticidade, e valores acima de 1,8 como MO proveniente de fonte autóctone. Porém, Westerhoff e Anning (2000) encontraram valores acima de 1,8 para material orgânico vindo de ETE's.

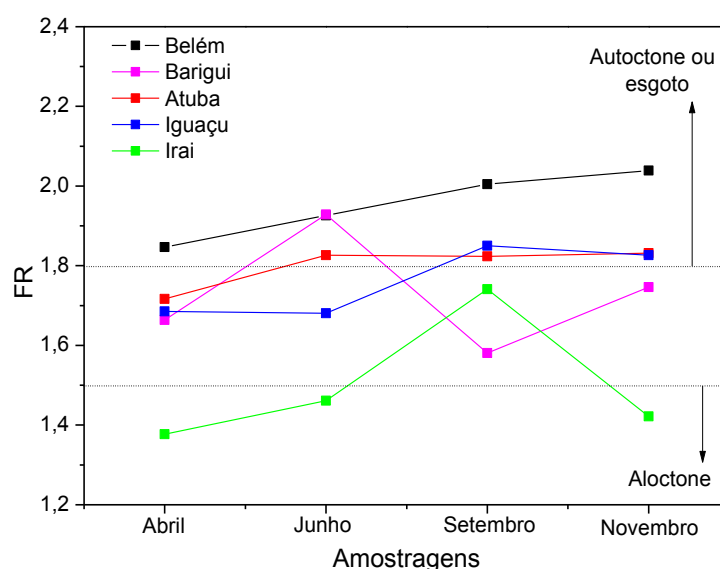


Figura 9. Valores de FR nos diferentes ambientes amostrados. Efeito da sazonalidade nos valores de FR.

O rio Belém, em todas as amostragens, caracterizou-se com o predomínio de COD lábil, provavelmente de origem de esgoto doméstico, tendo o maior valor de FR em novembro ($2,04 \pm 0,04$) e o menor em abril ($1,85 \pm 0,01$). O lago do parque Barigui, apenas em junho teve seu COD caracterizado com o predomínio de fonte autóctone ($1,93 \pm 0,25$), em grande parte devido ao valor apresentado pelo ponto BA2 (2,22), que é saída da lagoa, que neste caso é comum à existência de fitoplâncton. Mcknight *et al.* (2001) e Battin (1998), em seus estudos, encontraram valores mais altos de FR para lagos em comparação com rios; porém, os valores

médios obtidos nas amostras do lago do rio Barigui e nas amostras de água do rio Barigui, foram próximos, sendo de $1,69 \pm 0,19$ e $1,77 \pm 0,12$, respectivamente. Era esperado que na água do rio Barigui os valores fossem mais próximos de 1,50, o que não foi observado, sendo um indicativo da influência do carbono lábil existente nos esgoto doméstico, o que afeta a característica do COD, aumentando o FR, que pode ser comprovado pela correlação entre o FR e o íon cloreto nos pontos do rio ($r=0,83$; $p<0,0000$; $n=18$).

Os rios Atuba e Iguaçu apresentaram semelhança na variação sazonal dos valores do FR. Nas três últimas amostragens realizadas no rio Atuba e nas duas últimas do rio Iguaçu, os valores de FR indicaram o predomínio de COD proveniente de esgoto doméstico. O rio Atuba tem sua fonte caracterizada como de esgoto devido ao efluente da ETE Atuba Sul, ponto AT2, que teve uma média de FR de $1,90 \pm 0,11$. O rio Iguaçu é formado pela influência dos rios Atuba e Iraí sendo, nas duas últimas coletas, mais fortemente influenciado pelo rio Atuba.

O rio Iraí se destaca dos demais pela característica do seu COD, que foi, segundo a relação FR, dito como alóctone, possivelmente de material pedogênico. Esse COD pedogênico é caracterizado como mais aromático (MCKNIGHT *et al.*, 2001; JAFFÉ *et al.*, 2004) e foi observada uma correlação inversa entre o FR e a aromaticidade no rio Iraí ($r=-0,87$; $p<0,0001$; $n=9$), indicando de fato que os baixos valores de FR estão atrelados com a alta aromaticidade encontrada neste rio.

Também foram determinados os espectros sincronizados nas amostras de água dos rios aqui estudados. Na Figura 10 constam os espectros normalizados pela concentração de COD.

Na Figura 10A estão plotados os espectros das quatro campanhas do rio Iraí e observa-se que esse rio apresenta uma banda característica na região de 400 nm, nas coletas 1, 2 e 3, principalmente na primeira, na qual a intensidade foi maior. Essa banda na região dos 400 nm indica, segundo Peuravuori, Koiviko, Pihlaja (2002), a presença de policíclicos aromáticos com 5 anéis de benzeno. Segundo esse autor, com o aumento do comprimento de onda, há também o aumento das insaturações das moléculas. No caso do rio Iraí, comprova-se, novamente que o COD apresenta maior aromaticidade, indicando predomínio de substâncias húmicas dissolvidas, principalmente ácido fúlvico. Este dado pode ser comprovado pela

correlação positiva da aromaticidade com a intensidade de fluorescência emitida em 390 nm ($r=0,99$; $p<0,0000$; $n=9$).

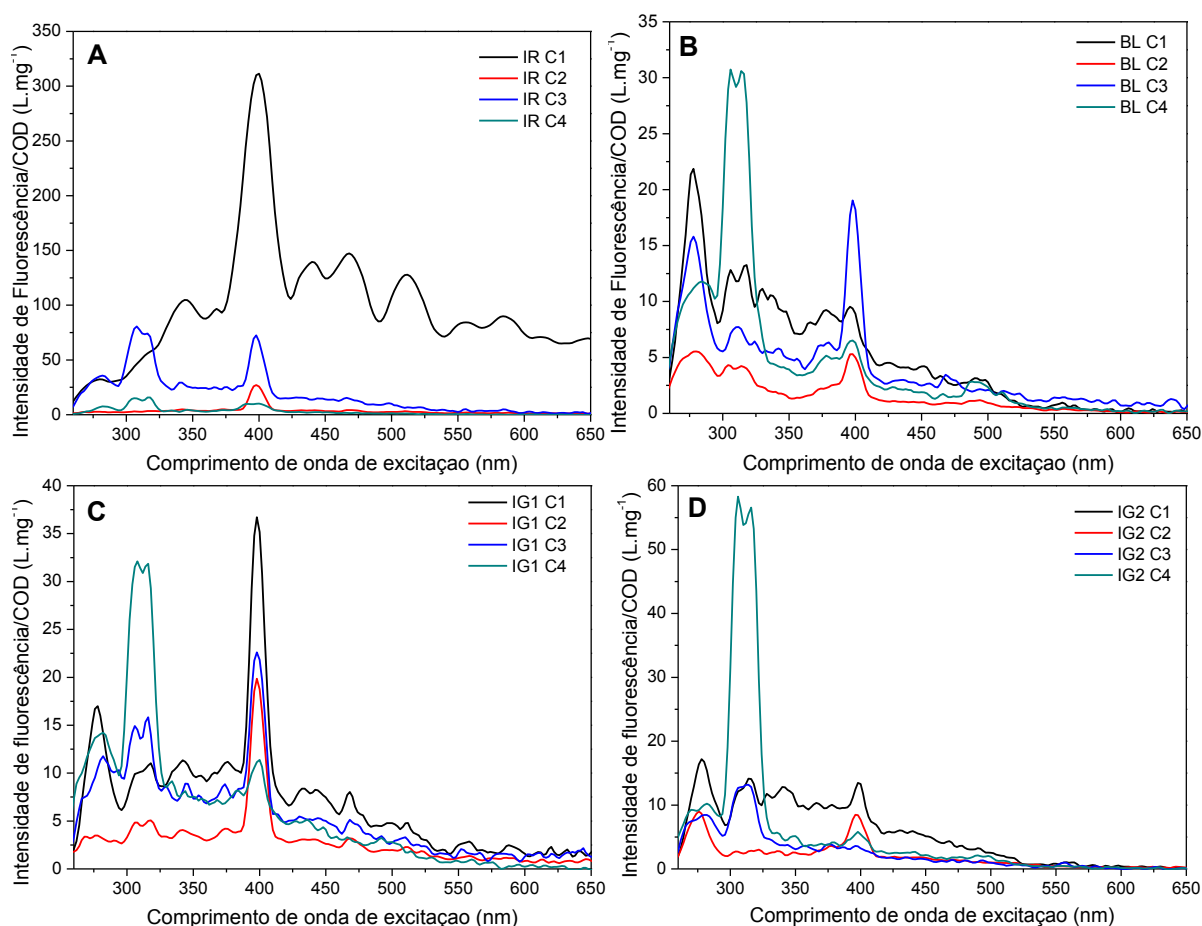


Figura 10. Espectro de fluorescência sincronizado para as coletas dos rios Iraí (A), Belém (B), pontos IG1 (C) e IG2 (D) do rio Iguaçu.

O rio Belém também possui a banda na região de 400 nm evidente, mas somente na terceira amostragem. Outra banda que se destaca foi próxima de 300 nm, caracterizada por materiais mais alifáticos e de origem da decomposição microbiana (LU *et al.*, 2003; PEURAVUORI; KOIVIKKO; PIHLAJA, 2002; OLIVEIRA *et al.*, 2006). Somente em junho, a banda em 300 nm não foi evidente e, devido a forte presença de esgoto doméstico, esse pico remete a um COD de origem de esgoto, semelhante ao da degradação microbiana.

Nas Figura 10C e 4D tem-se os espectros dos pontos IG1 e IG2 do rio Iguaçu, respectivamente. Sabe-se que o ponto IG1 é de influência das águas dos rios Atuba e Iraí e o ponto IG2 tem influência das águas do rio Belém. Observa-se que ambos os pontos do rio Iguaçu apresentam influência de carbono orgânico dissolvido de

fonte alóctone, principalmente esgoto. Porém no ponto IG1, é possível ver a influência do COD do rio Iraí, devido a presença da banda de 400nm, ligada a aromaticidade, nas três primeiras amostragens.

O rio Barigui apresenta espectros semelhantes aos do rio Belém, com a banda de 300 nm mais marcante e somente no ponto BA2, saída da lagoa do parque, foi encontrada a banda de 400 nm. Esse fato pode ser explicado pelo carregamento do sedimento na saída da lagoa, apresentando um COD mais refratário, possivelmente de origem pedogênica.

Na Figura 11 são mostrados os espectros de contorno das Matrizes de Excitação e Emissão (MEE). Através destes espectros foi possível verificar as bandas características de esgotos ou material autóctone e dos pontos com influência alóctone pedogênica.

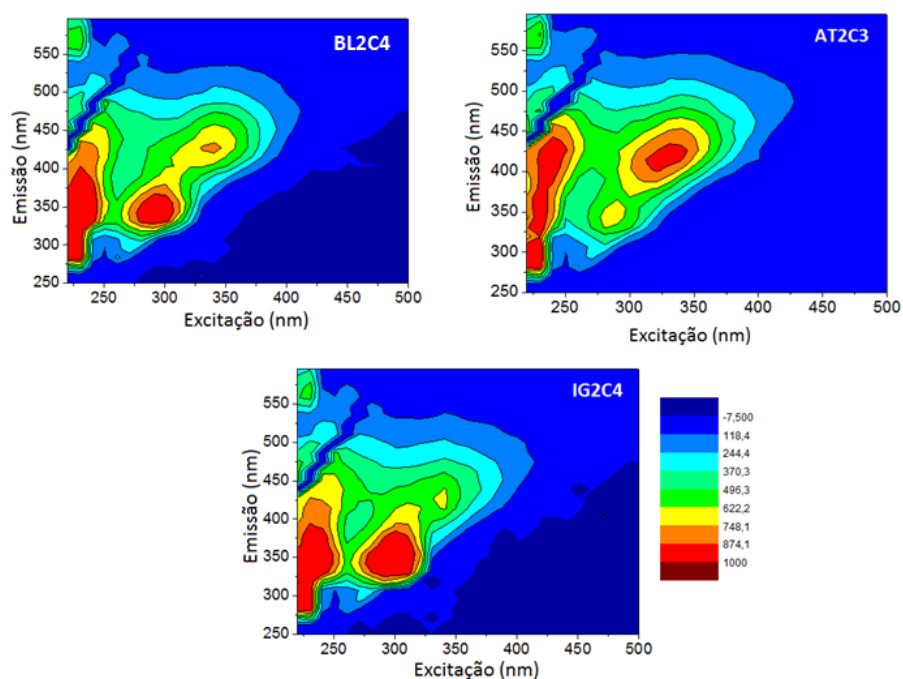


Figura 11. Gráfico de contorno da Matriz de Excitação e Emissão (MEE) dos segundos pontos do rio Atuba (AT2C3) na terceira amostragem e dos rios Iguazu (IG2C4) e Belém (BL2C4), na quarta amostragem, todos representativos dos demais pontos e amostragens analisadas.

Na Figura 11, foi possível verificar as bandas de emissão semelhantes das proteínas Triptofano (T_1 , Ex/Em, 275/340 nm; T_2 , Ex/Em, 225/340 nm) e da Tirosina

(B, Ex/Em, 225/310) ou de compostos com estruturas menos complexas, com características mais lábeis, o que denota influência de COD proveniente de esgotos domésticos. Foi encontrado no rio Belém uma correlação dos picos das proteínas com o N-amoniaco: T_1 ($r=0,86$; $p<0,0000$; $n=12$), T_2 ($r=0,69$; $p=0,013$; $n=12$) e B ($r=0,81$; $p=0,001$; $n=12$), reafirmando a entrada de esgoto doméstico nessa região. Baker e Inverarity (2004) encontraram correlações significativas entre o pico T_2 (Ex/Em, 280/340 nm) e a presença de ortofosfato e nitrato, comprovando assim a entrada de esgoto não tratado nos rios urbanos ingleses por eles estudados. Essa correlação também foi encontrada tanto no rio Atuba ($r=0,64$; $p=0,001$; $n=24$) quanto no rio Iguaçu ($r=0,86$; $p<0,0001$; $n=21$), porém apenas com o ortofosfato. Com o nitrato não foram encontradas correlações significativas em nenhum dos rios estudados. O rio Atuba também apresenta um pico de intensa fluorescência na região que é dita como C (Ex/Em, 350/425 nm), que, segundo Coble, Del Castillo e Avril (1998), é uma região que caracteriza a entrada de ácido fúlvico.

A influência de uma ETE nas características do COD de um rio foi também comprovada pelo estudo de Baker (2001), no qual o autor afirma haver uma assinatura característica na emissão de fluorescência pelos compostos dissolvidos em esgotos domésticos, ocorrendo o mesmo fato no rio Atuba dividido à ETE Atuba Sul.

A Figura 12 representa as MEE dos rios Iraí e Barigui, que possuem resultados um pouco diferentes dos demais rios.

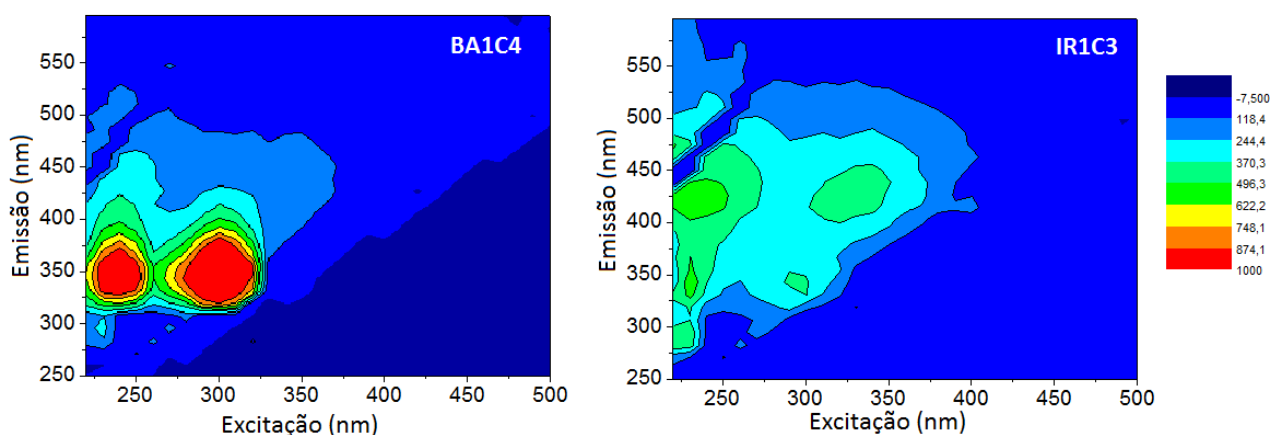


Figura 12. MEE do primeiro ponto do rio Barigui na quarta coleta (BA1C4) e do rio Iraí na terceira coleta (IR1C3), ambos representativos dos demais pontos e amostragens analisadas.

Com relação ao rio Barigui, são observados os picos B, T₁ e T₂, sendo os dois últimos mais intensos e assim caracterizam o COD desse ambiente como lábil, porém não necessariamente de esgoto, pois, segundo Coble (1996), os picos das proteínas Triptofano e Tirosina podem também ser advindos da atividade microbiana do ambiente, dependendo das características do corpo aquático estudado. Já o rio Iraí apresenta os picos das proteínas (T₁, T₂ e B), mas com menores intensidades e se caracteriza, principalmente, por apresentar o pico na região dos ácidos fúlvicos (A, Ex/Em, 250/425 nm; C, Ex/Em, 350/425 nm) (HUDSON; BAKER; REYNOLDS, 2007; COBLE; DEL CASTILLO; AVRIL, 1998). Fato este que confirma a presença de ácidos fúlvicos na composição do COD do rio Iraí.

2.4 CONCLUSÃO

A matéria orgânica encontrada nos ambientes aquáticos estudados mostrou-se semelhante para os rios Belém, Atuba, Iguaçu e Barigui, porém muito diferente do rio Iraí. Essa diferença acontece, principalmente, pelas distintas fontes que esses rios tem de COD, sendo os primeiros influenciados por despejo de efluente doméstico e o segundo por carbono orgânico de origem pedogênica.

Os rios de influência de esgoto apresentaram uma baixa aromaticidade e maior labilidade do COD, sendo bem características as respostas das análises feitas: baixo SUVA₂₅₄, baixa aromaticidade do COD, menores valores de ϵ_{280} , maiores valores da relação E_2/E_3 , maiores valores da FR, bandas características do espectro sincronizado próximo de 300 nm e nos espectros de MEE os picos das proteínas Triptofano e Tirosina. Resultados contrários foram obtidos na MOD do rio Iraí que, diferentemente, tem a maior aromaticidade do COD, fator que foi explicado e evidenciado por todas as análises feitas, principalmente os picos característicos de ácidos fúlvicos com maior intensidade que os demais. Essa aromaticidade, em virtude das características do rio Iraí, pode ter relação com a entrada do material pedogênico. Porém esse fato não exclui a influência da ação antropogênica neste rio, que é menor se comparado com os demais.

Esta predominância de MOD proveniente de fonte alóctone, principalmente de efluentes domésticos fornece indícios da existência de compostos emergentes dissolvidos, compondo esta matéria orgânica.

2.5 REFERÊNCIAS

ÁGUAS PARANÁ. Disponível em: <<http://www.aguasparana.pr.gov.br/>> Acesso em: 20 jan. 2012.

AHMAD, S. R.; REYNOLDS, D. M. Synchronous fluorescence spectroscopy of wastewater and some potential constituents. **Water Research**, v. 29, n. 6, p. 4, Oct 1995.

APHA, A. P. H. A.-. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20. Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation, 1998.

ARTINGER, R.; BUCKAU, G.; GEYER, S.; FRITZ, P.; WOLF, M.; KIM, J.F. Characterization of groundwater humic substances: influence of sedimentary organic carbon. **Applied Geochemistry**, v. 15, n. 1, p. 97-116, Jan 2000.

AZEVEDO, J. C. R.; TEIXEIRA, M. C.; NOZAKI, J. Estudo espectroscópico de substâncias húmicas extraídas da água, solos e sedimentos da Lagoa dos Patos – MS, Brasil. **Revista Saúde e Biologia**, v. 1, n. 2, p. 59-71, Dez 2006.

AZEVEDO, J. C. R.; TEIXEIRA, M. C.; SANTOS, A. M.; LEANDRINI, J. A.; PAGIORO, T. A. Caracterização espectroscópica da matéria orgânica dissolvida da planície de inundação do Alto Rio Paraná. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 1, p. 66-77, Jul 2008.

BAKER, A. Fluorescence excitation-emission matrix characterization of some sewage-impacted rivers. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 5, p. 948-953, Mar 2001.

_____. Spectrophotometric discrimination of river dissolved organic matter. **Hydrological Processes**, v. 16, n. 16, p. 3203-3213, Nov 2002.

BAKER, A.; INVERARITY, R. Protein-like fluorescence intensity as a possible tool for determining river water quality. **Hydrological Processes**, v. 18, n. 15, p. 2927-2945, Oct 2004.

BATTIN, T. J. Dissolved organic matter and its optical properties in a blackwater tributary of the upper Orinoco river, Venezuela. **Organic Geochemistry**, v. 28, n. 9-10, p. 561-569, Mar 1998.

BUFFLE, J.; ZALI, O.; ZUMSTEIN, J.; DE VITRE, R. Analytical methods for the direct determination of inorganic and organic-species - seasonal-changes of iron, sulfur, and pedogenic and aquogenic organic-constituents in the eutrophic lake bret, Switzerland. **Science of the Total Environment**, v. 64, n. 1-2, p. 41-59, Jun 1987.

CHEN, J.; GU, B. LEBOEUF, E.J.; PAN, H.; DAI, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, v. 48, n. 1, p. 59-68, Jul 2002.

CHIN, Y. P.; AIKEN, G.; OLOUGHLIN, E. Molecular-weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Environmental Science & Technology**, v. 28, n. 11, p. 1853-1858, Oct 1994.

COBLE, P. G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation emission matrix spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 325-346, Jan 1996.

COBLE, P. G.; DEL CASTILLO, C. E.; AVRIL, B. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. **Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography**, v. 45, n. 10-11, p. 2195-2223, Jun 1998.

ESTEVEZ, F. D. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 1998. 602

FRIMMEL, F. H. Characterization of natural organic matter as major constituents in aquatic systems. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 35, n. 1-3, p. 201-216, Dec 1998

HENDERSON, R. K. et al. Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review. **Water Research**, v. 43, n. 4, p. 863-881, Mar 2009.

HUDSON, N.; BAKER, A.; REYNOLDS, D. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - A review. **River Research and Applications**, v. 23, n. 6, p. 631-649, Jul 2007.

JAFFÉ, R.; BOYER, J. N.; LU, X.; MAIE, N.; YANG, C.; SCULLY, N. M.; MOCK, S. Source characterization of dissolved organic matter in a subtropical mangrove-dominated estuary by fluorescence analysis. **Marine Chemistry**, v. 84, n. 3-4, p. 195-210, Jan 2004.

KORSHIN, G. V.; LI, C. W.; BENJAMIN, M. M. Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: A consistent theory. **Water Research**, v. 31, n. 7, p. 1787-1795, Jul 1997.

LI, H. Y.; ZHANG, Q.; ZHU, C.; WANG, X. Assessment of phytoplankton class abundance using in vivo synchronous fluorescence spectra. **Analytical Biochemistry**, v. 377, n. 1, p. 40-45, Jun 2008.

LU, X. Q.; MAIE, N.; HANNA, J. V.; CHILDERS, D. L.; JAFFÉ, R. Molecular characterization of dissolved organic matter in freshwater wetlands of the Florida Everglades. **Water Research**, v. 37, n. 11, p. 2599-2606, Jun 2003.

MA, H. Z.; ALLEN, H. E.; YIN, Y. J. Characterization of isolated fractions of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. **Water Research**, v. 35, n. 4, p. 985-996, Mar 2001.

MCDONALD, S.; BISHOP, A. G.; PRENZLER, P. D.; ROBARDS, K. Analytical chemistry of freshwater humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 527, n. 2, p. 105-124, Dec 2004.

MCKNIGHT, D. M.; BOYER, E. W.; WESTERHOFF, P. K.; DORAN, P. T.; KULBE, I.; ANDERSEN, D. T. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. **Limnology and Oceanography**, v. 46, n. 1, p. 38-48, Jan 2001.

NGUYEN, H. V.-M.; HUR, J.; SHIN, H.-S. Changes in Spectroscopic and Molecular Weight Characteristics of Dissolved Organic Matter in a River During a Storm Event. **Water Air and Soil Pollution**, v. 212, n. 1-4, p. 395-406, Oct 2010.

OLIVEIRA, J. L.; BOROSKI, M.; AZEVEDO, J. C. R.; NOZAKI, J. Spectroscopic investigation of humic substances in a tropical lake during a complete hydrological cycle. **Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica**, v. 34, n. 6, p. 608-617, Dec 2006.

PEURAVUORI, J.; KOIVIKKO, R.; PIHLAJA, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Water Research**, v. 36, n. 18, p. 4552-4562, Nov 2002.

PEURAVUORI, J.; PIHLAJA, K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 337, n. 2, p. 133-149, Jan 1997.

SAWYER, C. N.; MACCARTY, P. L.; PARKIN, G. F. **Chemistry for environmental engineering**. New York: McGraw-Hill, 658 p, 1994.

SENESE, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic-acid and its interactions with metal-ions and organic-chemicals .2. The fluorescence spectroscopy approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 232, n. 1, p. 77-106, May 1990.

THOMAS, J. D. The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances, in freshwater ecosystems. **Freshwater Biology**, v. 38, n. 1, p. 1-36, Aug 1997.

THOMAS, O.; EL KHORASSANI, H.; TOURAUD, E.; BITAR, H. TOC versus UV spectrophotometry for wastewater quality monitoring. **Talanta**, v. 50, n. 4, p. 743-749, Nov 1999

THURMAN, E. M. **Organic geochemistry of natural waters**. M. Nijhoff, 1985.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008. 632

WANG, L.; WU, F.; ZHANG, R.; LI, W.; LIAO, H. Characterization of dissolved organic matter fractions from Lake Hongfeng, Southwestern China Plateau. **Journal of Environmental Sciences-China**, v. 21, n. 5, p. 581-588, Oct 2009.

WESTERHOFF, P.; ANNING, D. Concentrations and characteristics of organic carbon in surface water in Arizona: influence of urbanization. **Journal of Hydrology**, v. 236, n. 3-4, p. 202-222, Sep 2000.

WETZEL, R. G. **Limnology. Lake and River Ecosystems**. San Diego: Academic Press, 2001. 1006

WETZEL, R. G.; HATCHER, P. G.; BIANCHI, T. S. Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism. **Limnology and Oceanography**, v. 40, n. 8, p. 1369-1380, Dec 1995.

WU, F. C.; KOTHAWALA, D. N.; EVANS, R. D.; DILLON, P. J.; CAI, Y. R. Relationships between DOC concentration, molecular size and fluorescence properties of DOM in a stream. **Applied Geochemistry**, v. 22, n. 8, p. 1659-1667, Aug 2007.

CAPÍTULO 3: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE IBUPROFENO, PARACETAOL E DICLOFENACO POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A FID

RESUMO

Com os recentes avanços das tecnologias de análises químicas, hoje é possível detectar compostos químicos a níveis de $\mu\text{g.L}^{-1}$ e ng.L^{-1} , o que se torna uma importante ferramenta para o estudo de contaminação ambiental. Assim, para o desenvolvimento de novos métodos analíticos que alcancem as baixas concentrações dos contaminantes no meio ambiente, é preciso seguir alguns passos que são intitulados como validação de método analítico. Este trabalho teve como foco o desenvolvimento de um método analítico para a determinação de ibuprofeno, diclofenaco e paracetamol em água e sedimento de rios através de cromatografia gasosa acoplada a FID. Para isso foram feitos os testes de seletividade, linearidade, gráfico analítico, sensibilidade, intervalo de trabalho, limites de detecção e quantificação e os testes de precisão e exatidão. Os resultados obtidos foram considerados satisfatórios, pois na metodologia de determinação em águas superficiais os níveis de recuperação de cada composto ficaram acima de 80% e os limites de detecção e quantificação foram na faixa de ng.L^{-1} . Os limites de detecção foram de 14, 22 e 9 ng.L^{-1} , para o ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco, respectivamente. Já para as determinações no sedimento os resultados de recuperação foram de 51%, 28% e 62%, para o ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco, respectivamente, e os limites de detecção e quantificação ficaram na faixa de $\mu\text{g.g}^{-1}$. Os resultados obtidos tanto para a água como para o sedimento demonstraram-se aceitáveis e todos seguiram o estabelecido por diretrizes da ANVISA e do INMETRO.

Palavras-chave: Ibuprofeno. Paracetamol. Diclofenaco. Cromatografia gasosa.

3.1 INTRODUÇÃO

Mais de 3000 produtos químicos diferentes, com distintas estruturas químicas, são usados na medicina humana e veterinária (ANDREOZZI; RAFFAELE; NICKLAS, 2003). O número de substâncias prescritas, principalmente antibióticos e antidepressivos, é muito alto, e o uso de medicamentos sem prescrição médica, por exemplo, anti-inflamatórios e anti-histamínicos tende a ser muito maior (TOGOLA; BUDZINSKI, 2007). Quando estes produtos farmacêuticos são consumidos, 80% ou mais da droga pode ser eliminado pelo organismo sem sofrer grandes alterações (ANDREOZZI; RAFFAELE; NICKLAS, 2003; FATTA *et al.*, 2007). Devido a essa eliminação e a ineficiência das estações de tratamento de esgotos (ETE's), os resíduos de substâncias farmacêuticas e seus metabólitos têm sido encontrados nos ambientes aquáticos (TOGOLA; BUDZINSKI, 2007). A maior parte dessas drogas são lançadas no ambiente continuamente, por sistemas de tratamento de esgoto doméstico e industrial, por ligações clandestinas de esgotos e até mesmo pelo descarte irregular, sendo estes detectados em águas residuárias, águas superficiais, subterrâneas e até mesmo em amostras de água potável (BUSER; POIGER; MULLER, 1998; OLLERS, *et al.*, 2001; CALAMARI *et al.*, 2003; MIAO; METCALFE, 2003; TIXIER *et al.*, 2003).

Embora as concentrações desses compostos sejam relativamente baixas na água (ng.L^{-1} e/ou $\mu\text{g.L}^{-1}$), a liberação contínua e exposição crônica podem resultar em efeitos adversos e até mesmo ser um risco a saúde humana (LIN; CHEN; DING, 2005). Portanto, é importante desenvolver métodos analíticos para a detecção de produtos farmacêuticos em pequenas concentrações e em matrizes complexas, para estudar a sua ocorrência, comportamento e destino. Atualmente existem diferentes métodos analíticos que são utilizados para detectar essas substâncias no organismo humano, em amostras complexas como o sangue, o plasma e a urina. Porém as concentrações detectadas nestas amostras são maiores, diferentemente das amostras de ambientes naturais (KOLPIN *et al.*, 2002; TAUXE-WUERSCH *et al.*, 2005). As baixas concentrações de fármacos nestas amostras não permitem a injeção direta em um sistema cromatográfico, então, algumas etapas de pré-concentração são adotadas.

O procedimento de preparação das amostras é um passo importante na detecção de poluentes traços em matrizes complexas. No caso de produtos farmacêuticos contendo grupos ácidos em suas estruturas e em grande parte tendo o pH neutro na sua forma ionizada, a acidificação das amostras é necessária, pois ajuda a controlar a dissociação dos compostos polares, afetando a hidrofobicidade e a posterior interação com o cartucho adsorvente (RENEW; HUANG, 2004; WU; SPONGBERG; WITTER, 2008). No estudo de Togola e Budzinski (2007) muitos dos produtos farmacêuticos extraídos de amostras aquáticas tiveram a sua melhor recuperação com pH ácido ($\text{pH} \leq 3$).

O método mais popular e eficaz de pré-concentração das amostras, tanto de matrizes aquáticas como sólidas, é a extração em fase sólida (SPE) (KOLPIN *et al.*, 2002; CALAMARI *et al.*, 2003; MIAO; METCALFE, 2003; LIN; CHEN; DING, 2005; TAUXE-WUERSCH *et al.*, 2005; XU *et al.*, 2008; VARGA *et al.*, 2010; VAZQUEZ-ROIG *et al.*, 2010) com diferentes sorventes para analitos específicos. Pesquisas também foram desenvolvidas com a extração líquido-líquido (LLE) (STACKELBERG *et al.*, 2004; MOMPÉLAT; LE BOT; THOMAS, 2009; BARANOWSKA; KOWALSKI, 2011) microextração em fase sólida (SPME) e microextração em fase líquida, (LPME) (HIRSCH *et al.*, 1998; TERNES, 2001), porém estas técnicas são menos utilizadas para esses tipos de poluentes. A SPE consegue concentrar amostras até 2000 vezes e ainda reduz o efeito da matriz das amostras ambientais. A presença de matéria orgânica particulada e dissolvida pode reduzir a eficiência de extração, devido a isso, as amostras de água são filtradas através de membranas de acetato de celulose ou de fibra de vidro (FATTA *et al.*, 2007).

Para os sedimentos as metodologias aplicadas são recentes. Os principais métodos na detecção de compostos farmacêuticos nas matrizes de solos encontradas na literatura fazem o uso de extrações por ultrassom (LÖFFLER e TERNES, 2003; LÖFFLER *et al.*, 2005; XU *et al.*, 2008; MARTIN *et al.*, 2010; MINTEN; ADOLFSSON-ERICI; ALSBERG, 2011; YU e WU, 2012), por micro-ondas (VARGA *et al.*, 2010), líquido pressurizado (VAZQUEZ-ROIG *et al.*, 2010), extração acelerada por solvente (KINNEY *et al.*, 2006; LANGFORD e THOMAS, 2010) entre outras. Xu *et al.* (2008) fizeram testes de recuperação em solos, usando diferentes solventes e extração assistida por ultrassom, para se obter a melhor recuperação possível. Ficou claro que a extração utilizando acetona e acetato de etila apresentou

os melhores resultados para dez compostos diferentes (na média de 87% de recuperação). Já Vazquez-Roig *et al.* (2010) utilizaram uma técnica de extração por líquido pressurizado para dezessete compostos farmacêuticos diferentes. Esta técnica faz o uso de pouco solvente (somente 11 mL de metanol), tem baixos limites de detecção e boas recuperações, geralmente acima de 70%, sendo então considerada uma técnica analítica de pouco impacto ambiental e boa resolução. De todas as metodologias de extração em matrizes sólidas citadas anteriormente, apenas a extração acelerada por solvente não faz o uso da etapa de limpeza da amostra (clean up), todas as demais seguem os mesmos passos aplicados para a extração na água.

Na determinação das amostras com os poluentes emergentes tem-se utilizado equipamentos com métodos rápidos e reprodutíveis, mas com maiores limites de detecção ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) e, em grande parte, são específicos para um composto, ou para compostos com estruturas químicas similares (TOGOLA; BUDZINSKI, 2007). Porém novos detectores de espectrometria de massa (MS) acoplados, por exemplo, com Cromatografia Líquida (CL) (HIRSCH *et al.*, 1998; ANDREOZZI; RAFFAELE; NICKLAS, 2003; CALAMARI *et al.*, 2003; RENEW; HUANG, 2004; WU; SPONGBERG; WITTER, 2008) ou Cromatografia Gasosa (CG) (LIN; CHEN; DING, 2005; KADIOGLU; DEMIRKAYA, 2007; ES'HAGHI, 2009; YU; WU, 2011) são mais sensíveis e permitem a redução dos limites de detecção para a faixa de ng L^{-1} . Entretanto, nem todos os pesquisadores podem pagar o custo de CL-MSMS e equipamentos como um CG-MS são mais baratos, comuns em laboratórios e funcionalmente mais simples (TOGOLA; BUDZINSKI, 2007; YU; WU, 2011). As colunas cromatográficas mais utilizadas para a determinação de fármacos a partir de amostras de água e sedimento em um CG são 5% difenil, 95% dimetilpolissiloxano (TOGOLA; BUDZINSKI, 2007; TOGOLA; BUDZINSKI, 2008; YU; WU, 2011) e (5% fenil)-metilpolissiloxano (BUSER; POIGER; MULLER, 1998; OLLERS *et al.*, 2001; LIN; CHEN; DING, 2005; RICE; MITRA, 2007).

A principal dificuldade na análise de produtos farmacêuticos utilizando CG é a polaridade elevada dos analitos devido aos grupos funcionais com hidrogênios ativos, tais como hidroxilas, aminas, amidas, entre outros que diminuem a volatilidade dos compostos. Portanto, a derivatização torna-se uma etapa importante a ser realizada antes da injeção das amostras, para reduzir a polaridade e melhorar

a mobilidade na coluna cromatográfica (XU *et al.*, 2008; YU; WU, 2011). A etapa de derivatização envolve algumas variáveis importantes: o agente derivatizante, o solvente, a temperatura de reação e o tempo de reação (RICE; MITRA, 2007). Alguns dos agentes derivatizantes mais utilizados são: MSTFA (N-metil-N-(trimetilsilil) trifluoroacetamida) + 1% TMCS (trimetilclorossilano), TMSI (Trimetilsililimidazol) e BSTFA (N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida) + 1% TMCS (SEBOK *et al.*, 2008).

A maior dificuldade atual é extrair simultaneamente diferentes compostos e analisá-los, tendo todos eles propriedades físicas e químicas distintas. Nem sempre se consegue obter uma melhor condição e um bom resultando de todos os analitos (TOGOLA; BUDZINSKI, 2008).

Para determinar os resíduos farmacêuticos nos compartimentos ambientais é preciso usufruir de um método analítico que atinja as necessidades do pesquisador e ter uma estrutura física disponível. Para isso, muitas adaptações em metodologias já usadas são feitas, porém, para que estas metodologias adaptadas sejam coerentes cientificamente é preciso que se faça uma avaliação e estime a eficiência. Esse processo é conhecido como validação de método (BRITO *et al.*, 2003).

Segundo ANVISA (2005), a validação de método indica que as características da metodologia produzem resultados de acordo com o problema analítico requerido, através de estudos sistemáticos no laboratório. Os principais parâmetros requisitados para esta avaliação são:

- (a) Seletividade e especificidade, capacidade de detectar o analito de interesse na presença de outros componentes da matriz;
- (b) Curva analítica, dados da equação da regressão linear, o coeficiente de correlação e a concentração dos calibradores (soluções-padrão);
- (c) Intervalo de trabalho, faixa que proporciona a determinação do menor e maior valor com exatidão e precisão, dentro da linearidade do método;
- (d) Linearidade, capacidade de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito;
- (e) Sensibilidade, capacidade da metodologia em diferenciar duas concentrações próximas de um mesmo analito;
- (f) Exatidão, concordância entre o valor real da amostra e o calculado pelo método analítico;

(g) Precisão, avaliação do desvio padrão das medidas de uma mesma amostra através da reprodutibilidade (interdia) e repetitividade (intradia).

(h) Limite de detecção, menor concentração do analito passível de detecção;

(i) Limite de quantificação, menor concentração do analito quantificável com exatidão e precisão aceitáveis;

(j) E robustez, medida da capacidade de um método em manter-se inalterado sob pequenas modificações.

Ao atingir todas essas etapas, a metodologia sugerida está apta a ser utilizada para a finalidade proposta.

Este estudo teve como objetivo adaptar uma metodologia para a determinação simultânea de três anti-inflamatórios não esteroidais: ibuprofeno, paracetamol (acetaminofeno) e diclofenaco, em água e sedimento de ambientes naturais. Para isto, fez-se uso de cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização por chama (CG-FID), extração em fase sólida (SPE) e posterior derivatização. Para estimar a eficiência da metodologia proposta foram seguidos alguns passos da validação de método: seletividade, linearidade, curva analítica, sensibilidade, estimativa dos limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão do método.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Reagentes

Os estudos foram iniciados com padrões de paracetamol, diclofenaco e de ibuprofeno doados, na forma de princípios ativos, por uma farmácia de manipulação até a chegada dos padrões certificados da marca Sigma Aldrich. As soluções padrão foram preparadas e armazenadas a uma temperatura de -4°C . Utilizou-se HCl $6\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (Merck) para a acidificação das amostras. Foram utilizados os solventes: metanol, acetato de etila, acetonitrila e acetona, todos de grau UV/HPLC (J.T. Barker, Tedia Brazil e os dois últimos Vetec, respectivamente). Para a derivatização

foi usado o BSTFA + 1% de TMCS (Sigma Aldrich). Para a SPE utilizou-se cartuchos de extração em fase sólida (6 mL, 1 g de C18, Chromabond). A água utilizada foi de grau ultra puro.

3.2.2 Extração dos fármacos

Para todas as etapas de validação do método analítico foram utilizadas a seguinte extração: nas amostras de água foram preparadas seis padrões cada um com diferentes concentrações ($1\mu\text{g.L}^{-1}$, $5\mu\text{g.L}^{-1}$, $10\mu\text{g.L}^{-1}$, $15\mu\text{g.L}^{-1}$, $20\mu\text{g.L}^{-1}$ e $30\mu\text{g.L}^{-1}$) e mais uma amostra isenta de padrão (branco). As amostras de branco foram feitas em triplicata e as demais em replicatas simples. Fez-se a acidificação das amostras com HCl $6,0\text{ mol.L}^{-1}$ até o $\text{pH} \leq 3$. Os 1000 mL foram passados pelos cartuchos de C18 há uma velocidade de 8 a 10 mL.min^{-1} , que posteriormente foram secados no fluxo de nitrogênio. Os cartuchos foram eluídos com 20 mL de acetonitrila e rotaevaporados a 40°C e o conteúdo foi redissolvido em 1 mL de metanol com o auxílio de um ultrassom e colocado em frascos vials de 2 mL, totalizando uma pré-concentração de 1000 vezes. Estes frascos foram deixados em estufa a 30°C para total evaporação do solvente e posterior foi redissolvido em 0,98 mL de acetato de etila. Por final, a amostra foi derivatizada com 0,02 mL de BSTFA + 1% de TMCS em estufa a 60°C durante 30 minutos. Só depois disso a amostra foi levada para análise no CG-FID.

As amostras de sedimento usadas na validação do método foram todas do mesmo ponto amostrado. Nestas amostras foram adicionados padrões com diferentes concentrações dos fármacos, em replicatas simples (1 mg.g^{-1} , 2 mg.g^{-1} , 3 mg.g^{-1} , 6 mg.g^{-1} , 10 mg.g^{-1} e 20 mg.g^{-1}) e mais uma triplicata de uma amostra sem adição do padrão. As análises do sedimento seguiram parcialmente as descritas por Xu *et al.* (2008). Inicialmente foram medidos 5 g de sedimento e neles foram feitas 4 extrações sucessivas com dois diferentes solventes, sendo: as duas primeiras com 5 mL de acetona e as duas últimas com 5 mL de acetato de etila. Em cada adição de solvente as amostras foram sonificadas durante 10 minutos e depois centrifugada durante 10 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante resultante foi acumulado e no final

rotaevaporado a 40 °C até a secura. Após sua secura foram adicionados 3mL de metanol para a reconstituição da amostra e avolumados para 25 ml com água ultra pura. A etapa seguinte consistiu na extração em fase sólida igualmente a utilizada na extração na água, tal como uma etapa de limpeza (clean up) da amostra extraída do sedimento.

3.2.3 Validação do Método

Alguns pontos da validação do método foram avaliados, seguindo os critérios da ANVISA e do INMETRO. Para a seletividade, um cromatograma foi obtido com a injeção de padrões analíticos feitos com a injeção de padrão em amostras coletadas. O gráfico analítico, a linearidade e a sensibilidade foram obtidos através da plotagem dos pontos da curva realizada e a regressão linear dos pontos, sendo que a sensibilidade é o coeficiente angular da curva analítica.

Para atestar a precisão do método usado na detecção do ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco foi realizado o teste de repetitividade, considerando a interdia e a intradia. A precisão intradia foi feita analisando três concentrações diferentes, porém conhecidas dos fármacos, cinco vezes cada concentração de cada fármaco, pelo mesmo analista, no mesmo instrumento, no mesmo local, com o mesmo método e no mesmo dia, levando poucas horas para finalizar. Para o teste interdia foram seguidas as mesmas condições anteriores, porém foram feitas as análises em dois dias diferentes, por um mesmo analista, no mesmo instrumento, no mesmo local e com o mesmo método. A repetitividade foi avaliada através do coeficiente de variância das replicatas do mesmo padrão.

Para a obtenção do intervalo de trabalho foram feitos testes com diversas concentrações próximas aos limites de detecção e quantificação. Os limites de detecção foram determinados pela equação 1, na qual é calculado por um fator de 3 vezes do desvio padrão (s) das amostras em branco divididos pela sensibilidade (S). Os limites de quantificação foram calculados com a equação 2, da mesma maneira que os limites de detecção, porém utilizando-se um fator de 10 vezes o desvio

padrão do branco (CURRIE, 1999; AMARANTE JR *et al.*, 2001; RIBANI *et al.*, 2004; ANVISA, 2005).

$$LD = \frac{3 \times s}{S} \quad (1)$$

$$LQ = \frac{10 \times s}{S} \quad (2)$$

A exatidão foi medida por meio dos ensaios de recuperação, através da análise de um padrão de concentração já conhecido e determinando quanto foi possível detectar do composto, utilizando-se da curva extraída dos fármacos. A exatidão foi calculado pela equação 3, sendo: Rec% - Recuperação; V_m - Valor medido; V_r - Valor real.

$$\text{Rec\%} = \frac{V_m \times 100}{V_r} \quad (3)$$

3.2.4 Cromatografia Gasosa (CG-FID)

Para as análises foi utilizado um cromatógrafo gasoso com um detector de ionização por chama (Varian 450-GC) e amostrador automático (Varian CP-8410). A separação cromatográfica foi feita com uma coluna capilar HP-5MS, 50 m x 0,25 mm, 5% difenil-dimetilpolissiloxano (0,25 μm). O modo Split/Splitless foi usado com o gás de arraste nitrogênio com um fluxo de $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. O gás hidrogênio e o ar sintético foram utilizados como auxiliares para o detector (FID). As temperaturas do injetor e detector foram fixadas em 250°C . O programa de temperatura do forno foi: temperatura inicial de 70°C durante 1 minuto, subindo para 120°C a uma taxa de

20°C.min⁻¹, depois foi a 250°C na taxa de 10°C.min⁻¹ e foi a 270°C em uma taxa menor de 5°C.min⁻¹, permanecendo nesta temperatura por 4,5 minutos, totalizando uma corrida de 25 minutos. Foi injetado no equipamento 1µL de amostra.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Seletividade

A separação cromatográfica para os compostos testados foi eficiente e demonstrou uma boa resolução. Na Figura 13 consta o cromatograma com os compostos testes, ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco e seus respectivos picos. A seletividade pode ser observada pelo aumento no tamanho dos picos de cada composto em seus respectivos tempos de retenção tanto para as amostras da água como para o sedimento. Também foram testados os compostos nifedipina, dipirona e eritromicina, porém com a metodologia proposta esses compostos não foram passíveis de determinação.

Durante as diversas análises, foi possível ver que o tempo de retenção de cada composto foi bem estável, tendo poucas alterações. No caso do ibuprofeno, o tempo de retenção foi 13,235 ± 0,001 minutos, para o paracetamol foi 14,643 ± 0,003 minutos e o diclofenaco teve tempo de retenção de 20,592 ± 0,002 minutos. Nas análises na matriz sólida os tempos de retenção foram semelhantes sendo 13,212 ± 0,006, 15,883 ± 0,004 e 20,611 ± 0,043 minutos, respectivamente.

Foi possível verificar que os três compostos tiveram baixos desvios padrão no tempo de retenção, facilitando a sua identificação nos cromatogramas e nas amostras assim mostrando a seletividade da metodologia para os compostos testados. Em comparação entre as duas matrizes, apenas o paracetamol apresentou diferença no tempo de retenção, cerca de aproximadamente 1 minuto, mas este fato ocorre em virtude da interferência da matriz no analito (GIBBONS; WANG; MA, 2011).

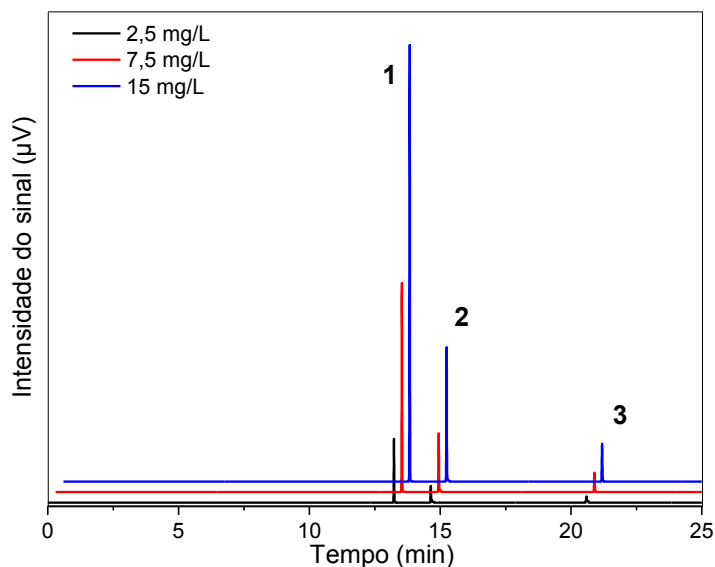


Figura 13. Cromatograma de uma solução padrão contendo os três compostos de interesse, em acetato de etila e derivatizados. 1: ibuprofeno; 2: paracetamol e; 3: diclofenaco. Foi realizado o deslocamento dos picos para melhor visualização.

3.3.2 Gráfico analítico, linearidade e sensibilidade

O gráfico analítico foi representado pelos valores do coeficiente de correlação (r) e pela equação da curva analítica (Tabela 6). A linearidade foi medida pelo coeficiente de regressão linear e para os fármacos estudados foram obtidas boas regressões. No caso do ibuprofeno, o coeficiente de correlação foi de 0,993, para o paracetamol foi 0,99 e para o diclofenaco foi de 0,98. Os resultados encontrados para esses compostos foram muito bons. Estes resultados foram válidos segundo o INMETRO (2003) e ANVISA (2002), que estipulam coeficientes de correlação acima de 0,90 e 0,95 como aceitáveis, respectivamente.

Tabela 6. Valores da curva analítica e os respectivos coeficientes de correlação (r) de cada composto estudado e as suas sensibilidades.

Compostos	Curva analítica	Coefficiente de correlação (r)	Sensibilidade
Ibuprofeno	$y = -9,021 + 82,632x$	0,993	82,6
Paracetamol	$y = 25,532 + 30,131x$	0,993	30,1
Diclofenaco	$y = 8,396 + 8,573x$	0,985	8,6

A sensibilidade foi medida pelo coeficiente angular da curva de calibração, dependendo da equação da reta. Na Figura 14 pode ser observada a diferença entre os compostos analisados. O ibuprofeno apresentou melhor resultado para esse parâmetro, seguido do paracetamol e depois o diclofenaco. Porém a maior sensibilidade não garante limites de detecção inferiores e sim, uma melhor precisão na quantificação de valores de concentrações próximas.

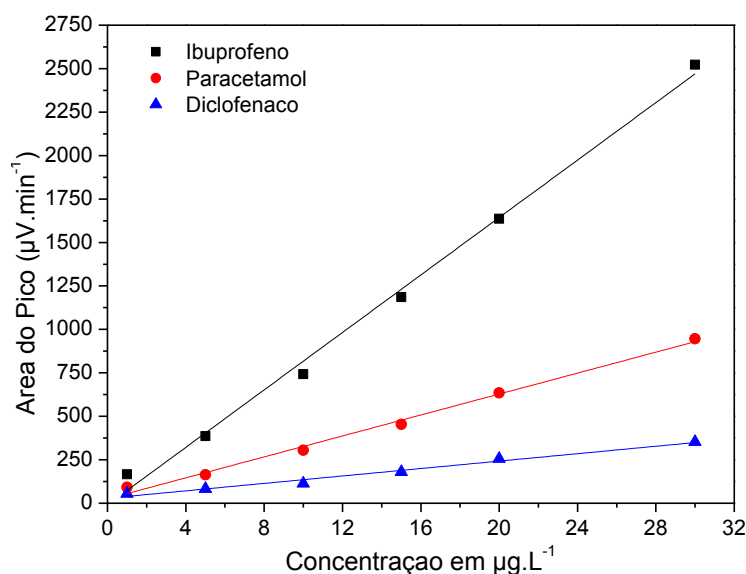


Figura 14. Curvas analíticas para os três fármacos estudados.

3.3.3 Intervalo de trabalho e limites de detecção e quantificação

O intervalo de trabalho foi estabelecido por análises de soluções padrões feitas em acetato de etila e derivatizadas. Foram preparadas soluções de 500 mg.L⁻¹ de ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco, através da pesagem dos padrões sólidos. Depois, por diluição direta, foi feita uma solução contendo os três fármacos em concentrações de 50 mg.L⁻¹ e foram realizadas as devidas diluições para cada ponto analisado posteriormente no CG-FID.

Os valores dos limites de detecção e quantificação, determinados através das equações 2 e 3, respectivamente, constam na Tabela 7. Os menores LD e LQ foram encontrados para o diclofenaco (9 e 31 ng.L⁻¹, respectivamente) e os maiores para o

paracetamol (22 e 73 ng.L⁻¹), considerando a matriz aquática. Já para o sedimento os menores valores de LD e LQ foram para o paracetamol (0,4 e 1 µg.g⁻¹, respectivamente) e os maiores para o diclofenaco (19 e 65 µg.g⁻¹, respectivamente). Nota-se que para o sedimento os resultados ficaram quase 1000 vezes maiores, isso se deve em virtude da concentração de 1000 vezes feitas nas amostras de água. Em amostras de água superficial Raimundo (2007) em seu trabalho encontrou LD de 51 ng.L⁻¹, 33 ng.L⁻¹ e 13 ng.L⁻¹ para o ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco, respectivamente, porém utilizando-se de um HPLC-UV/DAD. Já Gómez *et al.* (2007) com um CG-MSMS obteve LD de 23, 32 e 100 ng.L⁻¹ para o ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco, respectivamente. Os valores foram mais altos principalmente em virtude dos autores utilizarem amostras de efluentes de ETE, o que proporciona um maior efeito da matriz. Togola e Budzinski (2007) obtiveram limites de detecção para o ibuprofeno e para o diclofenaco de 0,4 e 0,5 ng.L⁻¹, respectivamente, com o uso de CG-MS e em água. Nas amostras de sedimento, Löffler e Ternes (2003) conseguiram LD de 8 e 0,4 ng.g⁻¹ para os fármacos diclofenaco e ibuprofeno, com o uso de um CG-MS e Yu e Wu (2012) tiveram LD e LQ de 11 e 37 ng.g⁻¹, respectivamente, para o diclofenaco e 11 e 39 ng.g⁻¹, respectivamente, para o paracetamol.

Tabela 7. Intervalo de trabalho, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) para os três fármacos analisados.

Compostos	Intervalo de trabalho (mg.L ⁻¹)	Água ^a		Sedimento	
		LD (ng.L ⁻¹)	LQ (ng.L ⁻¹)	LD (µg.g ⁻¹)	LQ (µg.g ⁻¹)
Ibuprofeno	0,05 – 5	14	47	12	39
Paracetamol	0,5 – 10	22	73	0,4	1
Diclofenaco	0,25 – 7,5	9	31	19	65

^a Considerando um fator de concentração de 1000 vezes.

3.3.4 Precisão e Exatidão

Os resultados repetitividade e reprodutibilidade obtidos estão, respectivamente, presentes nas Tabela 8 e Tabela 9. No teste intradia para o ibuprofeno foi obtido

valor médio de 1,8% de variância entre as amostras e concentrações, sendo de 2,4% para a concentração de 15 mg.L⁻¹ e de 1,0% para 7,5 mg.L⁻¹. Esses resultados foram os melhores entre os fármacos estudados, sendo na média 4,2% para o paracetamol e 8,2% para o diclofenaco.

Tabela 8. Coeficiente de variância em porcentagem do ensaio intradia dos compostos de estudo em três concentrações diferentes (n=5).

Concentração	Ibuprofeno	Paracetamol	Diclofenaco
2,5 mg.L ⁻¹	2,0	2,9	12,5
7,5 mg.L ⁻¹	1,0	5,1	5,1
15 mg.L ⁻¹	2,4	4,6	7,1
Média	1,8	4,2	8,2

Já para o teste interdia, o ibuprofeno manteve-se com os melhores resultados, sendo na média 1,5% de variância. Mas agora o diclofenaco teve um coeficiente menor que o paracetamol, sendo 5,1% contra 8,8% na média, respectivamente.

Tabela 9. Coeficiente de variância em porcentagem do ensaio interdia dos compostos de estudo em três concentrações diferentes (n=5).

Concentração	Ibuprofeno	Paracetamol	Diclofenaco
2,5 mg.L ⁻¹	1,7	9,8	6,2
7,5 mg.L ⁻¹	1,3	9,9	5,6
15 mg.L ⁻¹	1,4	7,1	3,6
Média	1,5	8,8	5,1

Segundo ANVISA (2003), não são admissíveis valores de coeficiente de variância maiores que 5% para detecção de fármacos em medicamentos, demonstrando um maior rigor perante os fármacos produzidos, porém não aplicáveis em amostras ambientais. Em ANVISA (2002) foi relatado que para amostras mais

complexas como sangue, soro ou plasma é permitido valores de coeficiente de variância de até 15% na detecção de fármacos e para o INMETRO (2003) são aceitáveis até 20%. Considerando isto, todos os valores encontrados encontram-se enquadrados abaixo dos 15% de variância. Tendo no ensaio intradia o diclofenaco com 12,5% de variância na menor concentração ($2,5 \text{ mg.L}^{-1}$) e o paracetamol, no ensaio interdia, com 9,9% na concentração intermediária ($7,5 \text{ mg.L}^{-1}$).

A exatidão foi determinada através do teste de recuperação dos padrões nas amostras. Foi realizado o teste com seis níveis diferentes de concentrações em matrizes aquáticas ($1 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, $5 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, $10 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, $15 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, $20 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ e $30 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) e nas amostras sólidas dos sedimentos (1 mg.g^{-1} , 2 mg.g^{-1} , 3 mg.g^{-1} , 6 mg.g^{-1} , 10 mg.g^{-1} e 20 mg.g^{-1}). Na Figura 15 constam os valores das respectivas porcentagens de recuperação e a média entre todas as recuperações feitas para cada anti-inflamatório e matriz analisada.

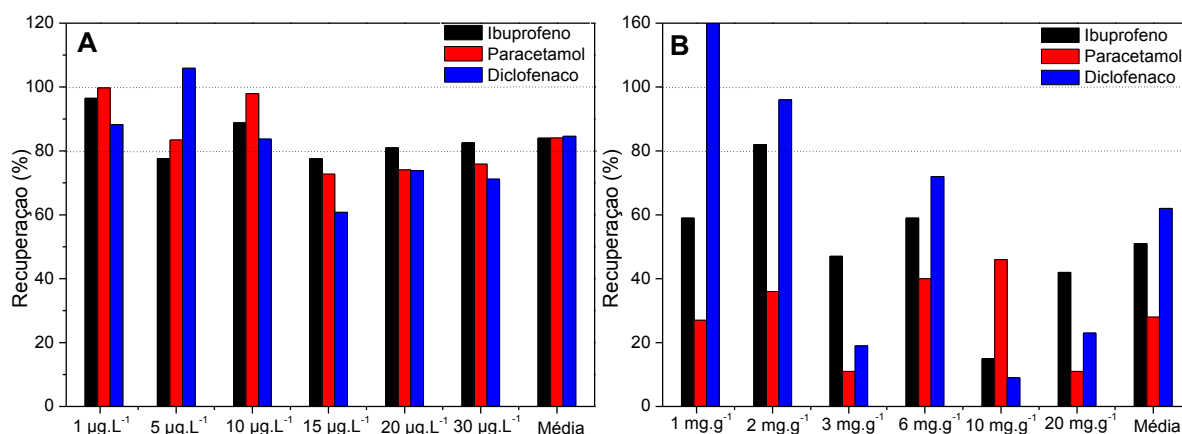


Figura 15. Gráfico da recuperação dos compostos para seis concentrações diferentes das amostras e a média entre todos, sendo A as amostras de água e B o sedimento.

Em uma média geral, notou-se que os resultados obtidos para a água foram satisfatórios, encontrando uma recuperação acima de 80% para os três compostos, sendo para o ibuprofeno 84%, para o paracetamol 88% e para o diclofenaco 81%. As menores concentrações ($1 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, $5 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ e $10 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) apresentaram os melhores resultados de recuperação ao comparar com as demais concentrações avaliadas ($15 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, $20 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ e $30 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$). A maior recuperação observada foi na concentração de

5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ do diclofenaco onde alcançou 105% e a menor também foi para o diclofenaco que obteve 61% na concentração de 15 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Outros estudos como o de Montagner e Jardim (2011) tiveram uma recuperação semelhante para os mesmos compostos, 88% para o ibuprofeno, 68% para o paracetamol e 83% para o diclofenaco. Öllers *et al.* (2001) tiveram recuperações para o ibuprofeno de 95% e para o diclofenaco 89%.

No sedimento as recuperações foram menores, devido a maior complexidade da amostra e também ao maior número de etapas da metodologia de extração utilizada. O ibuprofeno teve uma recuperação média de 51%, chegando a ter um máximo de 82% (2 mg.g^{-1}) e um mínimo de 15% (10 mg.g^{-1}). O paracetamol teve a menor recuperação, sendo 28%, tendo como ápice 46% (10 mg.g^{-1}) e o menor valor 11% (3 mg.g^{-1}). Diferentemente dos demais o diclofenaco obteve as maiores recuperações com 62% na média, porém para a concentração de 1 mg.g^{-1} foi extrapolada a recuperação, 152%, e para a concentração de 2 mg.g^{-1} foi de 96%. Em um estudo de Yu e Wu (2012) as recuperações foram maiores, sendo de 86% para o diclofenaco, 88% para o ibuprofeno e 67% para o paracetamol, porém utilizando uma extração diferente com metanol como solvente e um CG-MS na leitura da amostra. Varga *et al.* (2010) com uma extração do sedimento em micro-ondas obteve recuperações de 77-97% para o ibuprofeno e 73-97% para o diclofenaco, variando com o tempo de extração.

3.4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos pela validação do método foram satisfatórios, tendo em vista a finalidade das metodologias, detecção do ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco em águas superficiais e sedimento. Os coeficientes de regressão linear foram bons ficando acima de 0,99, exceto para o diclofenaco que foi 0,98, porém também sendo um bom resultado, aceito pela resolução da ANVISA de 2002 e do INMETRO de 2003. Já os limites de detecção e quantificação se apresentaram satisfatórios, sendo baixos e interessantes para a quantificação de traços em ambientes aquáticos, em comparação com demais metodologias. Na matriz sólida

os limites ficaram um pouco altos se comparados com outras metodologias, provavelmente, relacionado com a complexidade desta matriz. A recuperação, em amostras de água, obtida ficou acima de 80% para os três anti-inflamatórios analisados, resultado que demonstra segurança na extração dos compostos. Para os sedimentos as recuperações obtidas foram baixas, porém foi possível detectar os componentes na matriz, o que viabiliza a metodologia. Nos ensaios de repetitividade, todas as variâncias ficaram abaixo do limite proposto pela ANVISA (2002) e INMETRO (2003), mostrando mais uma vez a confiabilidade nos resultados.

Por fim, em virtude dos recursos disponíveis, as metodologias propostas se aplicam perfeitamente no propósito estabelecido inicialmente, detecção de ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco em águas superficiais e sedimentos.

3.5 REFERÊNCIAS

AMARANTE JR, O. P. D.; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R.; VALE, M. L. B F. Validação de Métodos Analíticos: uma breve revisão. **Caderno de Pesquisas**, v. 12, n. 1-2, p. 15, 2001.

ANDREOZZI, R.; RAFFAELE, M.; NICKLAS, P. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. **Chemosphere**, v. 50, n. 10, p. 1319-1330, Mar 2003.

ANVISA. **Resolução - RE nº 475, de 19 de março ANVISA 2002.**

_____. **Resolução - RE nº 899, de 29 de maio ANVISA 2003.**

_____. **Guia para Qualidade em Química Analítica: Uma Assistência à Habilitação ANVISA.** Brasília/DF: 46 p. 2005.

BARANOWSKA, I.; KOWALSKI, B. Using HPLC Method with DAD Detection for the Simultaneous Determination of 15 Drugs in Surface Water and Wastewater. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 20, n. 1, p. 21-28, Aug 2011

BRITO, N. M.; AMARANTE JR, O. P. D.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de Métodos Analíticos: Estratégia e Discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. v.13, p. 17, Jan-Dez 2003.

BUSER, H. R.; POIGER, T.; MULLER, M. D. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: Rapid photodegradation in a lake. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 22, p. 3449-3456, Nov 1998.

CALAMARI, D.; ZUCCATO, E.; CASTIGLIONE, S.; BAGNATI, R.; FANELLI, R. Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in northern Italy. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 7, p. 1241-1248, Apr 2003.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**, v. 391, n. 2, p. 105-126, May 1999.

ES'HAGHI, Z. Determination of widely used non-steroidal anti-inflammatory drugs in water samples by in situ derivatization, continuous hollow fiber liquid-phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detector. **Analytica Chimica Acta**, v. 641, n. 1-2, p. 83-88, May 2009.

FATTA, D.; NIKOLAOU, A.; ACHILLEOS, A.; MERIÇ, S. Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 515-533, Jun 2007.

GIBBONS, S. E.; WANG, C.; MA, Y. F. Determination of pharmaceutical and personal care products in wastewater by capillary electrophoresis with UV detection. **Talanta**, v. 84, n. 4, p. 1163-1168, May 2011.

GOMEZ, M. J.; BUENO, M. J. M.; LACORTE, S.; FERNANDEZ-ALBA, A. R.; AGUERA, A. Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. **Chemosphere**, v. 66, n. 6, p. 993-1002, Jan 2007.

HIRSCH, R.; TERNES, T. A.; HABERER, K.; MEHLICH, A.; BALLWANZ, F.; KRATZ, K. Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 815, n. 2, p. 213-223, Jul 1998.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**; DOQ-CGCRE-008, março de 2003.

KADIOGLU, Y.; DEMIRKAYA, F. Determination of carbamazepine in pharmaceutical dosage form using GC-FID. **Chromatographia**, v. 66, p. S169-S172, Aug 2007.

KINNEY, C. A.; FURLONG, E. T.; WERNER, S. L.; CAHILL, J., D. Presence and distribution of wastewater-derived pharmaceuticals in soil irrigated with reclaimed water. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 317-326, Feb 2006.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 6, p. 1202-1211, Mar 2002.

LANGFORD, K.; THOMAS, K. V. Input of selected human pharmaceutical metabolites into the Norwegian aquatic environment. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 2, p. 416-421, Feb 2011.

LIN, W. C.; CHEN, H. C.; DING, W. H. Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1065, n. 2, p. 279-285, Feb 2005.

MARTIN, J.; SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 12, p. 1760-1766, Jun 2010.

MIAO, X. S.; METCALFE, C. D. Determination of carbamazepine and its metabolites in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 15, p. 3731-3738, Aug 2003.

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

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal Variations of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Atibaia River, Sao Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, Apr 2011.

ÖLLERS, S.; SINGER, H. P.; FÄSSLER, P.; MÜLLER, S. R. Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. **Journal of Chromatography A**, v. 911, n. 2, p. 225-234, Mar 2001.

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

RENEW, J. E.; HUANG, C. H. Simultaneous determination of fluoroquinolone, sulfonamide, and trimethoprim antibiotics in wastewater using tandem solid phase extraction and liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1042, n. 1-2, p. 113-121, Jul 2004.

RIBANI, M.; BOTOLLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Quimica Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, Sep-Oct 2004.

RICE, S. L.; MITRA, S. Microwave-assisted solvent extraction of solid matrices and subsequent detection of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) using gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 589, n. 1, p. 125-132, Apr 2007.

SEBOK, A.; VASANITS-ZSIGRAI, A.; PALKO, G.; ZARAY, G.; MOLNAR-PERL, I. Identification and quantification of ibuprofen, naproxen, ketoprofen and diclofenac present in waste-waters, as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography mass spectrometry. **Talanta**, v. 76, n. 3, p. 642-650, Jul 2008.

STACKELBERG, P. E.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; HENDERSON, A. K.; REISSMAN, D. B. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-watertreatment plant. **Science of the Total Environment**, v. 329, n. 1-3, p. 99-113, Aug 2004.

TAUXE-WUERSCH, A.; DE ALENCASTRO, L. F.; GRANDJEAN, D.; TARRADELLAS, J. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. **Water Research**, v. 39, n. 9, p. 1761-1772, May 2005.

TERNES, T. A. Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 419-434, Aug 2001.

TIXIER, C.; SINGER, H. P.; ÖLLERS, S.; MÜLLER, S. D. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 6, p. 1061-1068, Mar 2003.

TOGOLA, A.; BUDZINSKI, H. Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC-MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 3, p. 627-635, Jun 2007.

_____. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1177, n. 1, p. 150-158, Jan 2008.

WU, C. X.; SPONGBERG, A. L.; WITTER, J. D. Use of solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of various pharmaceuticals in surface water. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 88, n. 14, p. 1033-1048, Sep 2008.

XU, J.; WU, Z.; CHEN, W.; CHANG, A. C. Simultaneous determination of pharmaceuticals, endocrine disrupting compounds and hormone in soils by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1202, n. 2, p. 189-195, Aug 2008.

YU, Y.; WU, L. S. Comparison of four extraction methods for the analysis of pharmaceuticals in wastewater. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 18, p. 2483-2489, May 2011.

YU, Y.; WU, L. S. Analysis of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, v. 89, p. 258-263, Jan 2012.

CAPÍTULO 4 : DETERMINAÇÃO DE DICLOFENACO, IBUPROFENO E PARACETAMOL NA BACIA DO ALTO IGUAÇU, CURITIBA-PR

RESUMO

A contaminação ambiental por poluentes emergentes tem sido explorada por muitas pesquisas na área ambiental. Isso deve, em grande parte, pela má eficiência do tratamento de efluentes municipais e pelo alto consumo de produtos químicos pela população, especialmente produtos farmacêuticos. A bacia hidrográfica do Alto Iguaçu que sofre com a densa urbanização em seu entorno, foi o foco deste estudo que abrangeu cinco rios pertencentes a esta bacia. Este estudo explorou a contaminação pelos anti-inflamatórios ibuprofeno, paracetamol e diclofenaco na água superficial e nos sedimentos durante um ano, totalizando quatro campanhas amostrais. O ibuprofeno pelo seu baixo consumo pela população brasileira foi determinado somente na primeira amostragem, porém em altas concentrações no rio Belém (729 ng.L^{-1}) e não foi detectado nos sedimentos. Já o diclofenaco foi amplamente detectado na água chegando a concentrações de 285 ng.L^{-1} na terceira coleta no rio Iguaçu, porém nos sedimentos não foi encontrado. Ao contrário dos demais, o paracetamol foi frequentemente quantificado na água tendo os rios Iguaçu e Belém com mais presença deste fármaco. Porém foi determinado não somente na água, mas também nos sedimentos que no rio Barigui chegou a apresentar $6,896 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$, no ponto de saída da lagoa do parque Barigui. A presença desses compostos nos rios amostrados confirma a interferência que antrópica que a bacia do Alto Iguaçu sofre da desordenada urbanização.

Palavras-chave: Bacia hidrográfica do Alto Iguaçu. Esgoto doméstico. Ibuprofeno. Paracetamol. Diclofenaco.

4.1 INTRODUÇÃO

Atualmente, existem cerca de mais de 23 milhões de substâncias químicas conhecidas no mundo, das quais aproximadamente 11 milhões estão registradas no CAS (*Chemical Abstracts Service*), sendo que destas, quase 200 mil são usadas mundialmente (RAIMUNDO, 2007). Essas substâncias estão presentes em muitas das nossas atividades cotidianas, por serem usadas para prevenir e controlar doenças, em alimentos, enfim, em inúmeras atividades que facilitam e até permitem o nosso padrão de vida. Americanos e japoneses produzem deliberadamente cerca de 100.000 compostos que são utilizados para diversos fins, sendo que nos Estados Unidos são registrados um montante de 1.200 a 1.500 substâncias químicas por ano. No mundo são produzidos, em grande escala, 3.000 compostos diferentes, aproximadamente 500.000 kg por ano. Desse total, menos de 45% foram submetidos a algum tipo de ensaio toxicológico e menos de 10% foram estudados quanto aos efeitos tóxicos sobre organismos em desenvolvimento, sendo muito desses compostos classificados como contaminantes no meio ambiente (MELLO-DASILVA; FRUCHTENGARTEN, 2005).

Os produtos farmacêuticos vêm ganhando cada vez mais espaço nas pesquisas ambientais, devido ao grande progresso que a medicina vem tendo no desenvolvimento de novas drogas, as quais são substâncias ativas no tratamento de doenças humanas e animais. Esses medicamentos humanos e veterinários representam mais de 4.000 moléculas, e 10.000 produtos diferentes, em sua grande maioria comercializados (BEAUSSE, 2004). O grande consumo de remédios pela população mundial tem fomentado pesquisas sobre contaminação ambiental por fármacos (KASPRZYK-HORDERN; DINSDALE; GUWY, 2009). No caso do Brasil, que é o quarto maior consumidor mundial de medicamentos, chega-se a um uso de 11 caixas de remédios por pessoa/ano (EICKHOFF; HEINECK; SEIXAS, 2009). Esses produtos farmacêuticos chegam ao meio ambiente, não só por causa do uso indevido, mas também em virtude do uso cotidiano e descarte inapropriado.

Desenvolvidas para um fim terapêutico, as estruturas químicas dos medicamentos tendem a ser persistentes no ambiente, sendo que, aproximadamente 75% de algumas classes de remédios são excretadas pelo corpo

humano e animal sem sofrerem alterações (KUMMERER, 2010). A outra parte é metabolizada, transformando-se em outros compostos (metabólitos), podendo ter uma alteração das suas características e até mesmo uma maior acumulação no ambiente (KASPRZYK-HORDERN, 2010). Há uma preocupação com o uso excessivo dos remédios, porém quando esses medicamentos não são utilizados, eles quase sempre são: descartados através de vasos sanitários, escoados com a chuva, ou tratados como resíduos sólidos comuns, não seguindo um procedimento de descarte adequado (KUMMERER, 2010).

Outra forma de entrada dos remédios, e dos seus metabólitos, no ambiente é através de várias fontes pontuais e não pontuais, tais como: plantas de fabricação; efluentes das Estações de Tratamento de Esgoto; resíduos domésticos; aterros sanitários e excreção animal (DAUGHTON; TERNES, 1999). Uma quantidade significativa dos fármacos originais e seus metabólitos são excretados na urina, fezes ou esterco animal e posteriormente chegam às Estações de Tratamento de Esgoto (ETE's) para serem degradados (HUERTA-FONTELA; GALCERAN; VENTURA, 2008). Há três rotas principais para os medicamentos nas ETE's (RICHARDSON; BOWRON, 1985):

- Pode ser mineralizado a gás carbônico e água (biodegradado), como por exemplo a biodegradação do ácido acetilsalicílico;
- Pode ser metabolizado ou ser degradado parcialmente, como as penicilinas;
- Ou então ser persistente, como os clofibratos.

Apesar de existirem modernas Estações de Tratamento de Esgotos (ETE's), publicações indicam que diferentes compostos orgânicos de interesse ambiental não são biodegradados ou eliminados completamente por estes procedimentos de tratamento, persistindo então nos sistemas aquáticos em que os efluentes são lançados (DAUGHTON; TERNES, 1999).

Ainda é desconhecido o caminho percorrido por um fármaco no meio ambiente, desde a sua produção até sua total degradação (PEREZ; BARCELO, 2007). Os compartimentos ambientais com maior incidência de contaminação são o sedimento e a água, tanto superficial como no subsolo (KASPRZYK-HORDERN; DINS DALE; GUWY, 2009). A possível presença de compostos farmacêuticos em águas superficiais e subterrâneas e nos sedimentos acarreta na necessidade de

mais estudos que determinem suas concentrações e seus efeitos tóxicos no meio ambiente (STUMPF *et al.*, 1999).

Uma das classes dos produtos farmacêuticos muito presente no nosso cotidiano são os anti-inflamatórios, que consistem, basicamente, em um grupo variado de ativos com uma comum capacidade de controlar a inflamação, promover a analgesia, e combater a hipertermia – não sendo muito utilizados para este fim. Grandes quantidades de analgésicos são prescritas em atendimento médico humano, mas geralmente eles são vendidos em quantidades muito mais elevadas sem receita (HEBERER, 2002a). No Brasil, os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) são medicamentos que não precisam de prescrições médicas para serem comprados e fazem parte da composição de diversos medicamentos a venda. Assim, caracterizando esta classe de medicamentos como a mais prescrita por médicos e dentistas, e conseqüentemente, uma das mais consumidas (EMERENCIANO *et al.*, 2008). Nesta extensa classe podemos encontrar: ácido acetilsalicílico, cetoprofeno, fenoprofeno, flurbiprofeno, ácido tiaprofenico, carprofeno, loxoprofeno, indometacina, ibuprofeno, diclofenaco e acetaminofeno (paracetamol), entre outros, sendo os três últimos citados, alvo do presente estudo.

4.1.1 Diclofenaco

O diclofenaco é um dos anti-inflamatórios mais prescritos no Brasil. Pode se apresentar tanto na forma sódica como potássica. Tem sua estrutura molecular relativamente pequena (Figura 16), apresenta alto poder de dissociação em meio aquoso (Tabela 10) e é de natureza hidrofílica, sendo encontrado mais facilmente em matrizes aquáticas (DAUGHTON; TERNES, 1999; RAIMUNDO, 2007).

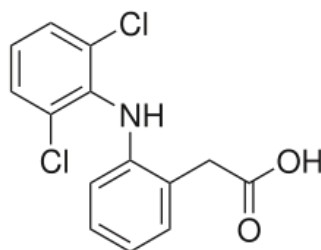


Figura 16. Estrutura molecular do Diclofenaco.

Tabela 10. Características químicas dos fármacos analisados.

Composto	Fórmula Molecular	Número CAS	Peso Molecular	log K _{ow}	pK _a
Diclofenaco	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	15307-86-5	296,15	4,51	4,15
Ibuprofeno	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	15687-27-1	206,28	3,97	4,9 - 5,2
Paracetamol	C ₈ H ₉ NO ₂	103-90-2	151,16	0,46	9,38

Fonte: <http://toxnet.nlm.nih.gov>

É indicado para combater inflamações e doenças reumáticas e dolorosas de origem não reumática. De acordo com informações contidas na bula, o diclofenaco é rapidamente absorvido pelo sistema digestivo. Atinge concentrações máximas a partir de 1 hora após a ingestão ou 20 minutos após a aplicação intramuscular. Sua meia vida plasmática é em média, de 2 horas. Segundo Ternes (1998) apenas 15% do diclofenaco ingerido sai inalterado e o restante é absorvido e metabolizado pelo corpo humano. Quando chega ao meio ambiente é facilmente fotodegradado, não sendo persistente (ASHTON; HILTON; THOMAS, 2004), com meia vida em sistemas aquáticos de pouco mais de 4 horas (BUSER; POIGER; MULLER, 1998).

Tem sido detectado por muitos pesquisadores em matrizes ambientais como efluentes de ETE municipais e de hospitais (TERNES, 1998; STUMPF *et al.*, 1999; OLLERS *et al.*, 2001; HEBERER, 2002b; METCALFE *et al.*, 2003; ASHTON; HILTON; THOMAS, 2004; WEIGEL *et al.*, 2004; TAUXE-WUERSCH *et al.*, 2005; RABIET *et al.*, 2006; THOMAS *et al.*, 2007; CHEN; WANG; DING, 2008), rios e águas subterrâneas (BUSER; POIGER; MULLER, 1998; TERNES, 1998; STUMPF *et al.*, 1999; OLLERS *et al.*, 2001; SACHER *et al.*, 2001; HEBERER, 2002b; TIXIER *et al.*, 2003; RAIMUNDO, 2007; CHEN; WANG; DING, 2008). Segundo Ternes

(1998), em estação de tratamento de esgoto na Alemanha, a eficiência para a remoção média de diclofenaco foi de aproximadamente 69%.

Sua toxicidade no meio ambiente pode afetar diversos organismos. Em estudo de Oaks *et al.* (2004) foi relatada uma diminuição de mais de 95% da população de abutres no Paquistão em virtude da insuficiência renal e gota visceral causada pela contaminação por doses de diclofenaco. Em ambientes aquáticos, o diclofenaco tende a ser fotodegradado, porém os produtos da degradação aumentam a toxicidade desse composto (SCHMITT-JANSEN *et al.*, 2007). Dietrich *et al.* (2010) mostraram que a exposição crônica de diclofenaco ao organismo *Daphnia magna* causa um atraso no período de reprodução e também um aumento no tamanho das gerações seguintes.

4.1.2 Ibuprofeno

O ibuprofeno (Figura 17) é um anti-inflamatório muito usado no mundo inteiro, sendo a terceira droga mais vendida, porém no Brasil o seu uso não é tão difundido (RAIMUNDO, 2007). Assim como o diclofenaco, é uma molécula hidrofílica com pequena massa molecular e com boa capacidade de dissociação em meio aquoso (Tabela 10)

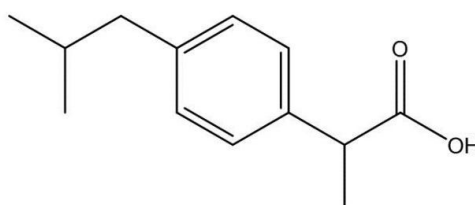


Figura 17. Estrutura molecular do Ibuprofeno.

O ibuprofeno é utilizado para o alívio sintomático da cefaleia, odontalgia, dores musculares, moléstias da menstruação, febre e dores pós-cirúrgicas. Também

é indicado para tratar quadros inflamatórios, hemorroidas e os sintomas que apresentam em quadros de artrites, artrite reumatoide (AR) e artrite gotosa. De acordo com a bula, seu efeito começa 30 minutos após a ingestão e prolonga-se de 4 a 6 horas, sendo metabolizado no fígado. A eliminação é completa 24 horas após a última dose e sua meia vida no corpo humano é de 1,8 a 2 horas, necessitando então de elevadas doses terapêuticas (600-1200 mg.d⁻¹) para o combate dos sintomas desejados (BUSER; POIGER; MULLER, 1999). Pode ser encontrado em duas formas enantioméricas, porém seu efeito farmacológico é conseguido somente com forma S, mesmo sendo administrado como uma mistura racêmica (RAIMUNDO, 2007; KASPRZYK-HORDERN, 2010). Mesmo a forma S sendo excretada em maior quantidade que a forma R, ela degrada mais rapidamente em efluentes domésticos e em águas superficiais (BUSER; POIGER; MULLER, 1999). Segundo Ternes (1998) apenas 1 a 8% do ibuprofeno não é metabolizado no corpo e é eliminado na sua forma original e o restante é metabolizado em hidroxí e carboxi-ibuprofeno, representando cerca de 70%.

Este medicamento tem sido intensivamente pesquisado em ambientes aquáticos, sendo frequentemente detectado em rios (TERNES, 1998; BUSER; POIGER; MULLER, 1999; STUMPF *et al.*, 1999; ZUCCATO *et al.*, 2000; OLLERS *et al.*, 2001; KOLPIN *et al.*, 2002; CALAMARI *et al.*, 2003; TIXIER *et al.*, 2003; ASHTON; HILTON; THOMAS, 2004; RABIET *et al.*, 2006; RAIMUNDO, 2007; CHEN; WANG; DING, 2008; BIDWELL *et al.*, 2010). Há também estudos que estimam a eficiência de remoção do ibuprofeno nas estações de tratamento de esgoto municipais (TERNES, 1998; BUSER; POIGER; MULLER, 1999; OLLERS *et al.*, 2001; KOLPIN *et al.*, 2002; METCALFE *et al.*, 2003; ASHTON; HILTON; THOMAS, 2004; WEIGEL *et al.*, 2004; TAUXE-WUERSCH *et al.*, 2005; THOMAS *et al.*, 2007; CHEN; WANG; DING., 2008; MOLDOVAN; CHIRA; ALDER, 2009) e de uma forma geral a eficiência encontrada variou de 32 (METCALFE *et al.*, 2003) a 90% (TERNES, 1998).

O estudo toxicológico de Richards *et al.* (2004) a respeito do ibuprofeno apontou que este medicamento, em misturas com outros pode causar a morte de peixes, um aumento na abundância de fitoplâncton e zooplâncton, porém com uma diminuição da diversidade. Um estudo com o crustáceo *Daphnia magna* aponta que apenas concentrações acima de 10 mg de ibuprofeno.L⁻¹ afetam significativamente

as suas populações, causando então efeitos no crescimento, na reprodução e até inibição do organismo (HECKMANN *et al.*, 2007). Pomati *et al.* (2004), mostraram que o ibuprofeno estimula o crescimento da cianobactéria *Synechocystis sp.* em uma concentração de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ do fármaco e inibe o crescimento da macrófita *Lemna gibba* a 1mg.L^{-1} .

4.1.3 Paracetamol

O paracetamol ou acetaminofeno (Figura 18) é comumente usado para alívio de dores crônicas, podendo fazer parte da composição de muitos medicamentos, como por exemplo, os indicados para gripes e sintomas de dengue. O paracetamol é usado principalmente para ser analgésico, antipirético e antitérmico e em alguns casos até como anti-inflamatório (BRITO FILHO, 1988). É um composto básico com baixa massa molecular e com valores de pK_a elevado, acima de 9 e $\log K_{ow}$ abaixo de 0,5 (Tabela 10), apresentando então relativa solubilidade em água, assim tendendo a ser encontrado em maiores concentrações nas matrizes aquáticas (RAIMUNDO, 2007).

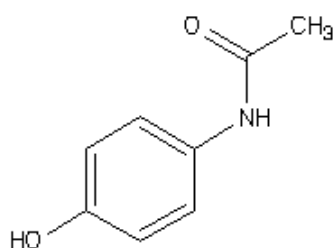


Figura 18. Estrutura molecular do Paracetamol.

De acordo com informações encontradas na bula do medicamento, após administração oral, o paracetamol é rapidamente e quase completamente absorvido pelo trato gastrointestinal. A concentração plasmática atinge seu pico em 30 a 60 minutos após a ingestão, sendo biotransformado no fígado. Sua meia-vida

plasmática é de cerca de 2 a 4 horas após doses terapêuticas e seu metabólito hidroxilado é tido como responsável por sua hepatotoxicidade. Após ser metabolizado pelo organismo, apenas 3% da dose sai pela urina na forma livre, inalterado (BRITO FILHO, 1988).

Estudos relatam a presença deste fármaco em rios (TERNES, 1998; KOLPIN *et al.*, 2002; ASHTON; HILTON; THOMAS, 2004; RABIET *et al.*, 2006; VANDERFORD; SNYDER, 2006; RAIMUNDO, 2007; YARGEAU; LOPATA; METCALFE, 2007; TOGOLA; BUDZINSKI, 2008; BARANOWSKA; KOWALSKI, 2011; GRACIA-LOR; SANCHO; HERNANDEZ, 2011) em concentrações muito baixas e também tem sido detectado em efluentes de ETE (TERNES, 1998; KOLPIN *et al.*, 2002; ASHTON; HILTON; THOMAS, 2004; RABIET *et al.*, 2006; ROBERTS; THOMAS, 2006; GOMEZ *et al.*, 2007; THOMAS *et al.*, 2007; TOGOLA; BUDZINSKI, 2008; BARANOWSKA; KOWALSKI, 2011; GRACIA-LOR; SANCHO; HERNANDEZ, 2011; SOUSA *et al.*, 2011; YU; WU, 2011). Grande parte dos autores encontrou remoção de paracetamol acima 98% nas ETE's, sendo explicada pela alta degradabilidade pela luz, pelo tempo de meia vida de 56 horas (YAMAMOTO *et al.*, 2009) e pela degradabilidade microbiana, tendo neste caso um tempo de meia vida de 0,68 a 11 dias (BENOTTI; BROWNAWELL, 2009).

A toxicidade desse remédio em ambientes naturais ainda não é muito explorada, porém em estudo de Henschel *et al.* (1997) foi encontrada para o crustáceo *Daphnia magna*, uma dose letal de 50% dos indivíduos para 50 mg.L⁻¹ de paracetamol. Outro estudo demonstrou um aumento de 17% de machos do crustáceo *Hyaella azteca* numa mistura de sete compostos farmacêuticos, entre eles o paracetamol (BORGMANN *et al.*, 2007). Kim *et al.* (2007) afirma que o paracetamol apresenta um alto risco de toxicidade em ambientes aquáticos e afirma também que ainda é necessário mais estudo para saber o real impacto deste fármaco.

4.1.4 Objetivo

Neste estudo foram realizadas amostragens da água e sedimento dos rios Atuba, Barigui, Belém, Iraí e Iguaçu, na Região Metropolitana de Curitiba, com a finalidade de verificar possíveis contaminações no meio ambiente por diclofenaco, ibuprofeno e paracetamol, provavelmente proveniente de fontes de esgoto doméstico.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Área de estudo

Foram realizadas quatro amostragens: abril, junho, setembro e novembro de 2011; e amostradas a água superficial e sedimento de 11 pontos em 5 diferentes rios da RMC, todos pertencentes a bacia hidrográfica do Alto Iguaçu, são eles: rio Belém (dois pontos, o primeiro na vila Torres e o segundo no deságue no rio Iguaçu); rio Barigui (quatro pontos, os dois primeiros na lagoa do parque Barigui, um terceiro após a ETE Santa Quitéria e o último na entrada da cidade industrial de Curitiba); rio Atuba (dois pontos, montante e jusante a saída da ETE Atuba Sul); rio Iraí (um ponto, próximo ao rio Iguaçu) e rio Iguaçu (um ponto, no encontro do rio Atuba com o rio Iraí e outro após o encontro com rio Belém) (Figura 19). Na Tabela 11 encontram-se as localizações dos pontos amostrados.

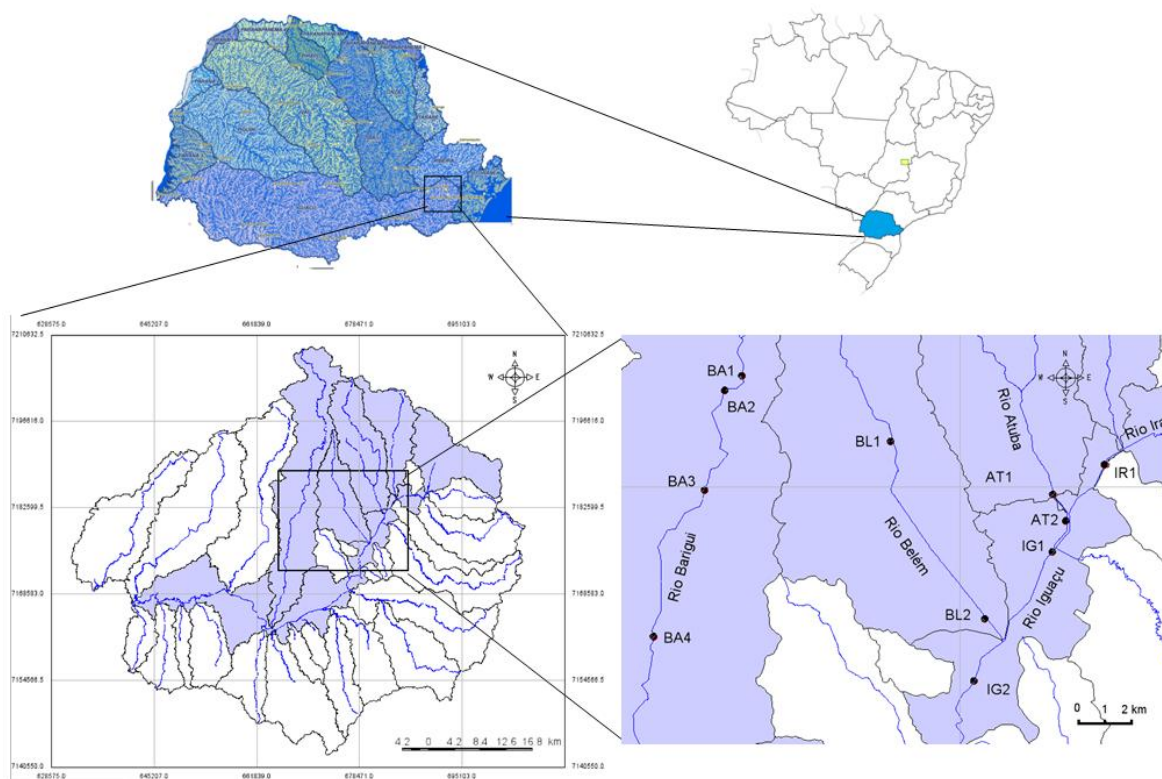


Figura 19. Bacia do Alto Iguaçu, em destaque, localização dos pontos de amostragem.

Fonte: ÁGUAS PARANÁ.

Tabela 11. Localização dos pontos amostrados no estudo.

Rio	Latitude (S)	Longitude (O)	Sigla do ponto empregada
Belém	25° 26' 51.93"	49° 15' 04.10"	BL1
Belém	25° 30' 26.58"	49° 12' 54.22"	BL2
Barigui	25° 25' 34.43"	49° 18' 24.66"	BA1
Barigui	25° 25' 52.46"	49° 18' 47.51"	BA2
Barigui	25° 27' 54.09"	49° 19' 12.81"	BA3
Barigui	25° 30' 53.21"	49° 20' 18.85"	BA4
Atuba	25° 27' 53.73"	49° 11' 25.56"	AT1
Atuba	25° 28' 25.76"	49° 11' 07.87"	AT2
Iguaçu	25° 29' 03.73"	49° 11' 25.01"	IG1
Iguaçu	25° 31' 42.10"	49° 13' 08.50"	IG2
Iraí	25° 27' 16.61"	49° 10' 17.11"	IR1

4.2.2 Extração dos fármacos

Foi coletado 1 L de amostra de água superficial de cada ponto com o auxílio de uma garrafa de Van Dorn e armazenados em frascos âmbar. Esses foram previamente descontaminados com Extran® e posteriormente aquecidos a 450°C durante 3 horas. Com a chegada ao laboratório, as amostras foram filtradas com membrana de acetato de celulose 0,45 µm. As amostras coletadas foram acidificadas com HCl 6,0 mol.L⁻¹ até o pH ≤ 3. O litro de amostra foi passado pelos cartuchos de C18 há uma velocidade de 8 a 10 mL.min⁻¹, que posteriormente foram secados no fluxo de nitrogênio. Os cartuchos foram eluidos com 20 mL de acetonitrila e rotaevaporados a 40°C e o conteúdo foi redissolvido em 1 mL de metanol com o auxílio de um ultrassom e colocado em frascos vials de 2 mL, totalizando uma diluição de 1000 vezes. Então estes frascos foram deixados em estufa a 30°C para total evaporação do solvente e posterior dissolução em 0,93 mL de acetato de etila e adição de 0,05 mL de um padrão previamente conhecido para fortificação do sinal analítico. Por final, a amostra foi derivatizada com 0,02 mL de BSTFA + 1% de TMCS em estufa a 60°C durante 30 minutos. Posteriormente as amostras foram analisadas por cromatografia gasosa (CG-FID).

As amostras de sedimento foram coletadas com o auxílio da draga de Petersen modificada, transferidas para pacotes plásticos e conservadas a temperatura de 4°C, até a posterior armazenagem no freezer. Foram feitas 3 campanhas de amostragem (abril, junho e novembro) de sedimento que coincidiram com as amostragens da água. As análises do sedimento seguiram parcialmente a metodologia descrita por Xu *et al.* (2008). Inicialmente foram medidos 5 g de sedimento e neles foram feitas 4 extrações sucessivas com dois diferentes solventes, sendo: as duas primeiras com 5 mL de acetona e as duas últimas com 5 mL de acetato de etila. Em cada adição de solvente a amostra foi sonificada durante 10 minutos e depois centrifugada durante 10 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante resultante foi acumulado e no final rotaevaporado a 40 °C até a secura. Foram adicionados 3mL de metanol para a reconstituição da amostra e avolumados para 25 ml com água ultra pura. A etapa seguinte consistiu na extração em fase sólida

igualmente a utilizada na extração na água, tal como uma etapa de limpeza (clean up) da amostra extraída do sedimento.

4.2.3 Cromatografia Gasosa (CG-FID)

Para as análises foi utilizado um cromatógrafo gasoso com um detector de ionização por chama (Varian 450-GC) e amostrador automático (Varian CP-8410). A separação cromatográfica foi feita com uma coluna capilar HP-5MS, 50 m x 0,25 mm, 5% difenil-dimetilpolissiloxano (0,25 μm). O modo Split/Splitless foi usado com o gás de arraste nitrogênio com um fluxo de $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. O gás hidrogênio e o ar sintético foram utilizados como auxiliares para o detector (FID). As temperaturas do injetor e detector foram fixadas em 250°C . O programa de temperatura do forno foi: temperatura inicial de 70°C durante 1 minuto, subindo para 120°C a uma taxa de $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, depois foi a 250°C na taxa de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e foi a 270°C em uma taxa menor de $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, permanecendo nesta temperatura por 4,5 minutos, totalizando uma corrida de 25 minutos. Foi injetado no equipamento $1\mu\text{L}$ de amostra.

4.2.4 Análises Estatísticas

Foram utilizadas as correlações de Pearson para verificar possíveis relações significativas entre os parâmetros avaliados e também a Análise de Componentes Principais (ACP), utilizando as duas primeiras componentes dadas pelo software. Para a realização dessas análises estatísticas utilizou-se o software STATÍSTICA 6.0. Foram utilizados resultados dos parâmetros físicos e químicos e da caracterização da matéria orgânica obtidos nos capítulos 1 e 2 dessa dissertação, para a melhor discussão e compreensão dos resultados obtidos nesse capítulo.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os resultados obtidos tanto na água como no sedimento para os fármacos estudados podemos encontrar na Tabela 12 a frequência de detecção de cada composto em cada rio e matriz analisada.

Tabela 12. Frequência de detecção, em porcentagem (%), dos compostos determinados, nos pontos de cada rio amostrado.

Rios	Pontos	Ibuprofeno		Paracetamol		Diclofenaco	
		Água	Sedimento	Água	Sedimento	Água	Sedimento
Atuba	AT1	0	0	100	0	100	0
	AT2	50	0	100	0	100	0
Barigui	BA1	0	0	25	0	75	0
	BA2	0	0	50	33	75	0
	BA3	0	0	75	66	75	0
	BA4	0	0	100	0	100	0
Iguaçu	IG1	0	0	100	33	100	0
	IG2	0	0	100	66	100	0
Belém	BL1	25	0	100	33	100	0
	BL2	0	0	100	33	100	0
Iraí	IR1	0	0	100	0	75	0

Os rios Atuba e Belém se destacam por ter constante presença dos três compostos em suas águas. O rio Atuba se caracteriza pela entrada do efluente da ETE Atuba Sul o que ajuda a confirmar a frequência desses compostos, porém apenas o ibuprofeno não é detectado no ponto anterior à ETE, os demais todos tiveram 100% de frequência antes da descarga da ETE, mas nos seus sedimentos não foram detectados a presença de nenhum dos três compostos. A elevada frequência no rio Belém está associada à densa urbanização que afeta as margens desse rio, causando sérios impactos nas características da sua água, com grande quantidade de esgotos domésticos. Já os rios Barigui e Iraí apresentaram as menores frequências e, portanto demonstram ter um menor impacto por esses compostos. O rio Iguaçu teve uma presença constante de paracetamol e

diclofenaco, mas o que se destaca é a maior presença de paracetamol em seu sedimento (33% no ponto IG1 e 66% no ponto IG2).

O ibuprofeno foi o fármaco com o menor índice de detecção e quantificação entre todos analisados, em grande parte das amostragens teve suas concentrações abaixo do limite de detecção, como é possível observar na Tabela 13.

Tabela 13. Concentração de ibuprofeno de cada rio nas quatro campanhas amostrais.

Rios Amostrados	1ª Campanha		2ª Campanha		3ª Campanha		4ª Campanha	
	A ^a	S ^b	A	S	A	S	A	S
Atuba	0,102	<LD ^e	<LD	<LD	<LQ ^d	<LD	<LD	<LD
Barigui	<LD ^c	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Belém	0,729	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Iguaçu	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Iraí	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD

^aA – amostras de água; ^bS – amostras de sedimento; ^cLD – 14 ng.L⁻¹; ^dLQ – 47 ng.L⁻¹; ^eLD – 11,8 µg.g⁻¹.

Apenas na primeira campanha foi possível quantificar o ibuprofeno e somente em dois rios, no rio Atuba e no rio Belém. No rio Atuba a concentração encontrada foi de 102 ng.L⁻¹, no ponto após a saída da ETE Atuba Sul, coincidentemente o único rio nas outras amostragens em que foi detectada a presença de ibuprofeno foi no rio Atuba e novamente após a saída da ETE. Este fato pode ser confirmado pela correlação encontrada entre o ibuprofeno e o N-amoniacoal ($r=0,58$; $p<0,004$; $n=24$), indicando o provável lançamento desse poluente pela estação de tratamento de esgoto. As concentrações determinadas no rio Belém foram maiores que os do rio Atuba e por não terem sido detectado esse fármaco em outras coletas, deduz-se que ocorreu uma contaminação pontual e não contínua naquele ambiente, sendo provavelmente próxima a amostragem feita.

Essa baixa frequência de detecção já era esperada, devido ao pouco consumo desse medicamento no Brasil, a baixa eliminação na sua forma inalterada e ainda trabalhos anteriores realizados nas cidades de Campinas (RAIMUNDO, 2007) e Rio de Janeiro (STUMPF et al., 1999) também não detectaram a presença desse fármaco. Porém, em outros países, o ibuprofeno é altamente consumido e segundo Ternes (1998), na Alemanha no ano de 1995 foi prescrito um total de 105

toneladas desse componente. Nesse mesmo trabalho, o autor afirma ter encontrado na saída de uma das ETE estudadas uma concentração de 370 ng.L^{-1} e em um dos rios da região 70 ng.L^{-1} . Buser, Poiger e Muller (1999) encontraram, em rios da Suíça, concentrações que variaram de 20 a 1660 ng.L^{-1} . No Reino Unido, Ashton, Hilton e Thomas (2004) encontraram concentrações em rios que ficaram em uma média de 400 ng.L^{-1} . A não detecção de ibuprofeno nos sedimento se deve principalmente, ao fato de ser uma molécula química hidrofílica e segundo trabalho experimental realizado por Löffler *et al.* (2005), o ibuprofeno possui uma meia vida de 8 dias em ambientes aquáticos e não é encontrado em sedimentos, tanto ele quanto o seu metabolito principal, o 2-hidroxi-ibuprofeno.

O paracetamol foi um dos fármacos estudados que apresentou as maiores concentrações, tanto no ambiente aquático como também nos sedimentos, como é possível observar na Figura 20.

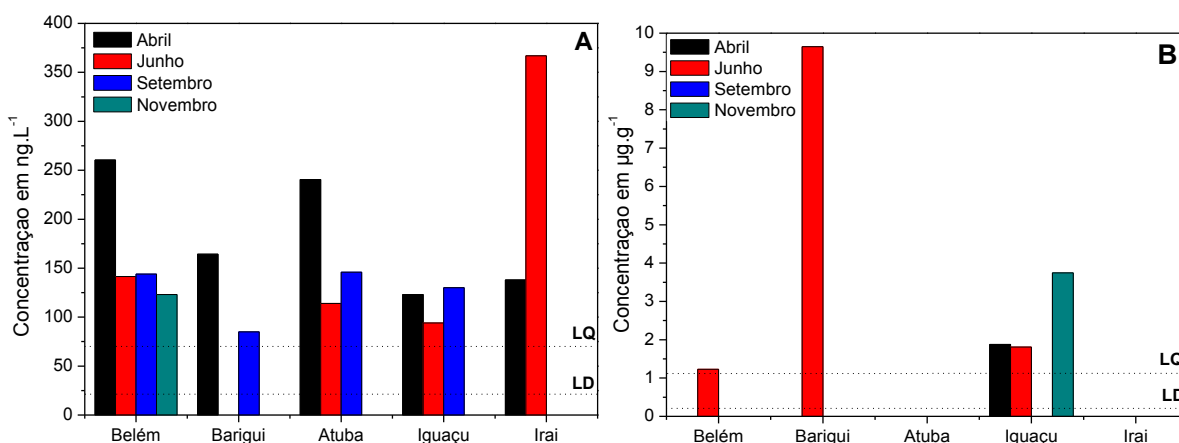


Figura 20. Gráficos da concentração de paracetamol no ambiente, sendo o A na água e o B no sedimento. O LD e o LQ da água foram 22 e 73 ng.L^{-1} , respectivamente, e para o sedimento foram $0,38$ e $1,26 \text{ µg.g}^{-1}$, respectivamente. Os resultados que ficaram abaixo do LD e LQ não foram apresentados no gráfico.

Grande parte dos rios apresentaram tendências semelhantes na concentração de paracetamol na água, tendo a primeira amostragem com maiores concentrações (abr/2011), seguida da terceira (set/2011), a segunda (jun/2011) e por fim a última (nov/2011). O rio Iraí foi discrepante nessa análise, pois teve um

ápice de concentração na segunda amostragem (367 ng.L⁻¹). Isso pode estar relacionado com a entrada de material alóctone, pois este rio apresenta um COD de característica alóctone e o paracetamol apresentou uma significativa correlação com esse parâmetro ($r=0,96$; $p<0,0001$; $n=12$), o que ajuda a confirmar a entrada desse contaminante no ambiente. O rio Belém novamente apresentou-se como o rio mais impactado por ter sido mensurado paracetamol em todas as amostragens realizadas, chegando a ter 261 ng.L⁻¹ na de abr/2011. O fato interessante é a forte correlação encontrada neste ambiente entre o paracetamol e o ibuprofeno ($r=0,99$; $p<0,0001$; $n=18$), o que infere uma mesma entrada desses dois fármacos, principalmente por esgotos domésticos. O rio Atuba apresentou concentrações próximas do rio Belém, porém ao contrário do que se imaginava a contaminação já vem antes da saída da ETE, apenas na terceira campanha há um acréscimo de concentração na saída da ETE (141 ng.L⁻¹ para 150 ng.L⁻¹), o que caracteriza que esse composto pode estar sendo degradado na estação de tratamento, confirmado dados da literatura que afirmam encontrar uma remoção de até 98% desse fármaco em ETE's (TERNES, 1998). Mesmo sendo altas as concentrações de paracetamol obtidas nesse estudo, ainda assim ficaram abaixo das encontradas por Montagner e Jardim (2011) na cidade de Campinas, que chegou ao valor 13440 ng.L⁻¹ na bacia hidrográfica do Atibaia.

Löffler et al. (2005) afirmaram que o paracetamol é totalmente transformado em 14 dias na água e quando vai para o sedimento se transforma em um produto não extraível e portanto não é detectado em altas concentrações. Contrariando o que foi dito, os rios Barigui e Iguazu apresentaram concentrações de paracetamol no sedimento. O rio Barigui apresentou na coleta de junho uma concentração de 9,648 µg.g⁻¹, sendo 6,896 µg.g⁻¹ na saída da lagoa do parque, nas demais amostragens não foram observadas concentrações, fato este que pode ser influenciado pela dragagem da lagoa do parque Barigui, que ocorreu durante todo o período de amostragem. Yu e Wu (2012) detectou paracetamol em lodo de ETE na concentração de 0,119 µg.g⁻¹, confirmando a possível presença e extração desse fármaco em matrizes sólidas. No rio Iguazu a detecção desse poluente foi constante, sendo quantificado na primeira (1,879 µg.g⁻¹), segunda (1,807 µg.g⁻¹) e quarta amostragens (3,743 µg.g⁻¹). Nesse mesmo rio foi observada uma correlação negativa entre as concentrações de paracetamol na água e no sedimento ($r=-0,52$;

$p < 0,046$; $n = 15$) o que prova que pode estar havendo uma sorção desse fármaco no sedimento, com provável degradação posteriormente.

O diclofenaco apresentou a peculiaridade de ter sido detectado com frequência na água, porém no sedimento não foi encontrada a sua presença em nenhuma das três amostragens. Esse fato pode estar relacionado ao seu valor de $\log K_{ow}$ (4,51), que mostra uma maior tendência de estar presente na coluna d'água e não incorporada nos sedimentos. Até mesmo na água em muitos dos pontos amostrados ficou abaixo dos limites de detecção e quantificação, o que pode indicar uma alta degradabilidade. Essa degradabilidade é constatada no estudo de Buser, Poiger e Muller (1998), no qual os autores afirmam que em lagos naturais, 90% do diclofenaco detectado na entrada é fotodegradado, confirmando que em experimentos em laboratório o tempo de meia vida com a incidência da luz foi menos de uma hora. Os valores das concentrações quantificadas de diclofenaco constam na Figura 21.

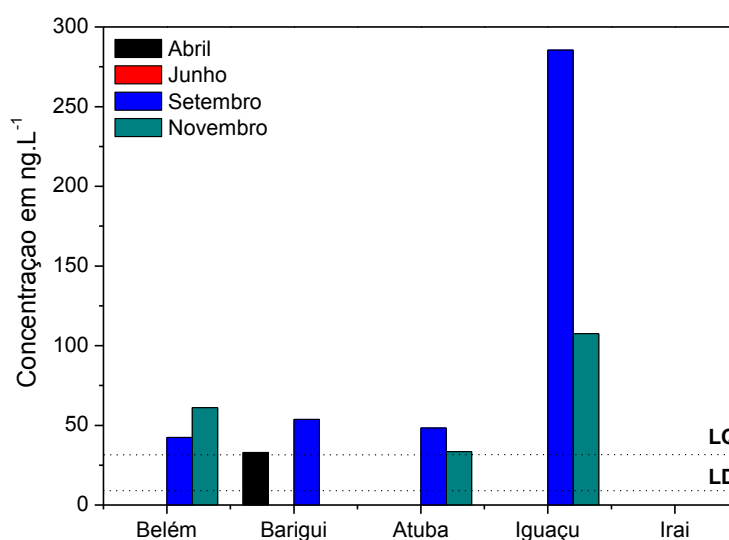


Figura 21. Gráfico da concentração de diclofenaco na água. Sendo o LD e o LQ, 9 ng.L^{-1} e 31 ng.L^{-1} , respectivamente. Os resultados que ficaram abaixo do LD e LQ não foram apresentados no gráfico.

A terceira amostragem (setembro de 2011) apresentou as maiores concentrações de diclofenaco nos rios analisados, especialmente no rio Iguaçu que foi detectado uma concentração de 285 ng.L^{-1} . Essa concentração foi pertinente nos

dois pontos amostrados, sendo no primeiro 317 ng.L⁻¹ e no segundo 253 ng.L⁻¹, mostrando que a contaminação por este poluente foi constante neste rio. Ainda no rio Iguaçu foram observadas correlações entre as concentrações de diclofenaco e o ortofosfato ($r=0,74$; $p<0,001$; $n=15$) e diclofenaco e o N-amoniaco ($r=0,55$; $p<0,0032$; $n=15$), o que sugere a possível entrada desse fármaco no ambiente por esgoto doméstico. No rio Barigui foi quantificado diclofenaco na primeira coleta, porém somente no ponto BA4 que fica na entrada do município de Araucária, região de forte industrialização. Nos pontos do rio Barigui foram observadas correlações com o íon cloreto ($r=0,84$; $p<0,0001$; $n=15$) e com o paracetamol ($r=0,53$; $p<0,040$; $n=15$), podendo mais uma vez caracterizar contaminação por ação antrópica e conjunta desses dois contaminantes. O rio Atuba possui a peculiaridade do efluente da ETE e isso fica evidente na concentração de diclofenaco no meio, pois a concentração na terceira amostragem é maior no ponto da saída da estação (AT1, 43 ng.L⁻¹ e AT2, 54 ng.L⁻¹) e na quarta amostragem somente no ponto AT2 foi quantificada a presença de diclofenaco (34 ng.L⁻¹). Além disso, no rio Atuba o diclofenaco correlacionou-se positivamente com o ortofosfato ($r=0,64$; $p<0,001$; $n=24$) indicando a influência da ETE, que lança em seu efluente esse tipo de nutriente no rio. O rio Belém que sofre com a influência antrópica também apresentou diclofenaco em suas águas, principalmente na quarta amostragem, a qual foi quantificada a concentração de 61 ng.L⁻¹, no ponto que posteriormente deságua no rio Iguaçu. Neste rio as correlações encontradas com o diclofenaco novamente sugerem a influência por esgoto doméstico (íon cloreto: $r=0,79$; $p<0,0001$; $n=18$; e com N-amoniaco: $r=0,52$; $p<0,028$; $n=18$).

Por mais significativas que pareçam as concentrações encontradas nesses rios, em um estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro (STUMPF *et al.*, 1999) foram quantificadas concentrações de até 60 ng.L⁻¹ e em Campinas (RAIMUNDO, 2007) as concentrações foram de 115 ng.L⁻¹. Já na Europa as concentrações encontradas são superiores, especialmente na Alemanha, aonde a quantificação nos rios chegou a até 600 ng.L⁻¹ (TERNES, 1998; SACHER *et al.*, 2001; HEBERER, 2002b), que deve estar relacionado com o maior consumo desse medicamento, que, segundo Ternes (1998), no ano de 1995 foram prescritos 75 toneladas de diclofenaco.

Com os resultados anteriores e os obtidos nos capítulos 1 e 2 dessa dissertação foi utilizada uma técnica estatística que é a Análise de Componentes Principais (ACP) através de uma matriz de dados. Para a escolha das componentes a serem plotadas nos gráficos da ACP, foi feita uma análise de carregamento de componente para saber em quais componentes os resultados são mais significativos. Esses resultados estão presentes na Tabela 14.

Tabela 14. Fatores de carregamento de componente (não rotacionada), considerando significativo os fatores acima de 0,7.

	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4
OD	-0,81456	0,254590	-0,521216	-0,001301
Turbidez	-0,25974	0,927535	0,203335	-0,175692
TDS	0,78061	-0,254199	-0,525462	-0,223433
Fósforo total	0,98447	-0,072928	-0,152829	0,046310
Ortofosfato	0,95491	0,216431	-0,198383	-0,044221
Nitrito	-0,72196	-0,243098	-0,584248	-0,279885
N-amoniaco	0,81080	0,530696	-0,095214	0,227801
Nitrato	-0,63993	-0,505938	-0,578314	-0,008010
Nitrogênio total	0,88238	0,122742	-0,450265	0,059985
Cloreto	0,97690	0,009646	-0,188937	0,099425
Sulfato	0,87987	0,429181	0,157240	0,130004
COD	0,80134	-0,230669	-0,534858	-0,136266
SUVA ₂₅₄	-0,45556	0,771185	0,233608	-0,378376
Aromaticidade	0,15428	0,674914	0,718614	0,065446
FR	0,15048	-0,423150	0,853273	-0,265001
S ₂₉₈	0,98840	0,091241	-0,058246	-0,106515
Ibuprofeno	0,78364	-0,066033	0,337855	-0,517106
Diclofenaco	0,01798	-0,825162	0,499751	-0,262742
Paracetamol	0,74248	-0,611278	0,268698	-0,053478
S-Paracetamol	-0,02094	-0,616630	0,608781	0,498713

A partir disso, foi observado que as duas primeiras componentes apresentam um maior número de fatores significativos para a ACP. Então, com as duas primeiras componentes foram plotados dois gráficos, um com a dispersão das análises realizadas e outro com a dispersão dos rios amostrados em função dos parâmetros avaliados (Figura 22). A explicação total obtida foi de 74,62% da variância, sendo 51,78% para a primeira componente e 22,84% para a segunda componente.

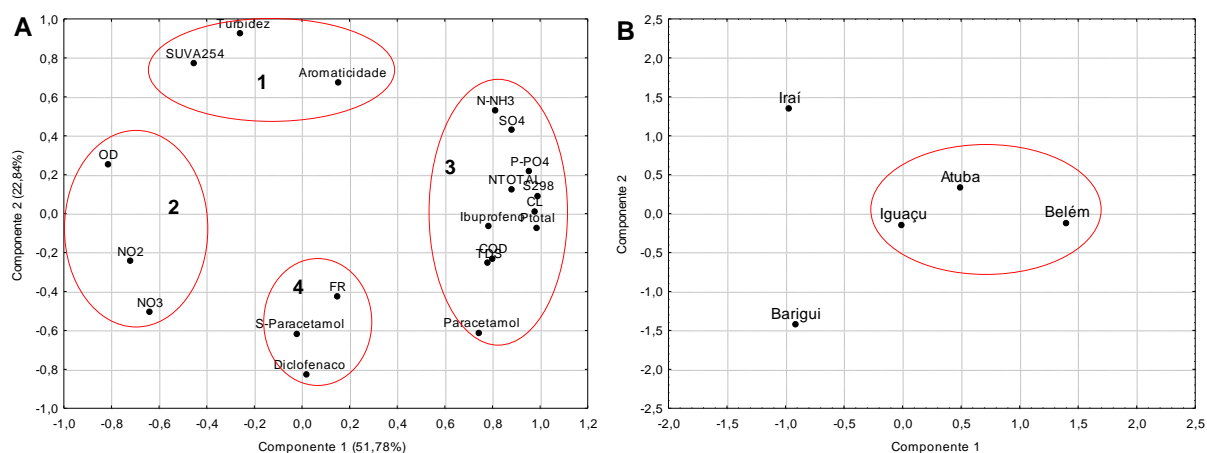


Figura 22. (A) Ordenação dos pontos das variáveis analisadas segundo as componentes 1 e 2. (B) Ordenação dos rios avaliados em função das variáveis analisadas, conforme as componentes 1 e 2.

A dispersão das variáveis analisadas separou-as em quatro grupos com diferentes características: grupo 1, matéria orgânica com predomínio de fonte pedogênica ou ressuspensão do sedimento (SUVA₂₅₄, turbidez e aromaticidade); grupo 2, materiais oxidados com maiores concentrações de oxigênio (OD, Nitrato e Nitrito), ou seja, ambientes com menor influência pontual de esgotos; grupo 3, materiais de origem antrópica, de efluentes domésticos com maior carga de nutrientes e contaminantes ambientais (N-amoniaco, N-total, ortofosfato, P-total, sulfato, íon cloreto, COD, TDS, S₂₉₈, ibuprofeno e paracetamol); e o grupo 4, que tem como característica a presença de materiais nos sedimentos e de rápida degradação (FR, paracetamol no sedimento e diclofenaco). Com base nas mesmas componentes os rios amostrados se separaram de acordo com as suas particularidades, tendo como referência a separação das características das variáveis anteriores.

Segundo a Figura 22, temos que os rios Iguaçu, Atuba e Belém apresentaram maior influência de substâncias provenientes de esgotos domésticos, principalmente em função das maiores concentrações dos nutrientes, do paracetamol e do ibuprofeno, o que comprova a mesma fonte de poluição para os três rios, a ação antropogênica da população ao seu entorno, com despejos de esgotos clandestino, tratamentos ineficientes ou até mesmo coletas de esgotos inadequadas. Em virtude

da maior turbidez, aromaticidade e também menor ação antrópica apresentada, o rio Iraí se adequou no grupo 1 e no grupo 2. O rio Barigui se mostrou influenciado pelas concentrações de paracetamol encontradas no sedimento, que foram as mais altas entre todos os rios amostrados, podendo ser um indicativo de poluição recente e pontual.

4.4 CONCLUSÃO

Foi possível detectar e quantificar os três produtos farmacêuticos propostos neste trabalho, tendo como destaque, o paracetamol que foi quantificado em todos os pontos em pelo menos uma das amostragens de água realizada. O diclofenaco também foi detectado nos rios, porém em menores concentrações e frequência, ao contrário do ibuprofeno que foi quantificado e detectado apenas na primeira amostragem em dois dos rios analisados. Esses contaminantes aportam nos rios, na maior parte das vezes, pela entrada de esgotos clandestinos vindos de regiões de invasão das margens dos rios.

Outro aspecto que pode ser considerado foi à baixa persistência do ibuprofeno e do diclofenaco nos sedimentos, pois não foram detectados, mostrando não haver um efeito acumulativo nesta matriz. Este fato pode estar relacionado com a propriedade de serem compostos hidrofílicos ou, até mesmo, por serem degradados em meio anóxico, porém, podendo originar subprodutos ainda não estudados, que poderia ou não ser mais tóxicos para a biota. No caso do paracetamol, a toxicidade nos sedimentos deve ser investigada, pois em alguns pontos foram encontradas concentrações elevadas.

Foi possível concluir neste estudo que os rios Iguaçu, Atuba e Belém se destacam negativamente com a forte presença de contaminantes ambientais e os rios Barigui e Iraí ainda não atingiram os mesmos níveis de deterioração, mas também apresentam influência desse tipo de degradação. As concentrações encontradas são baixas, na ordem de ng.L^{-1} , com provavelmente poucos efeitos imediatos na biota, porém a ação crônica e a biomagnificação desses contaminantes pode ter um grande impacto nos organismos presentes nos ambientes estudados.

De um modo geral essa contaminação acontece não só pelo fato do alto consumo desses fármacos sem prescrição médica, mas principalmente pela ineficiência de captação e tratamento dos esgotos gerados pela população na Região Metropolitana de Curitiba.

4.5 REFERÊNCIAS

ÁGUAS PARANÁ. Disponível em: <<http://www.aguasparana.pr.gov.br/>> Acesso em: 20 jan. 2012.

ASHTON, D.; HILTON, M.; THOMAS, K. V. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. **Science of the Total Environment**, v. 333, n. 1-3, p. 167-184, Oct 2004.

BARANOWSKA, I.; KOWALSKI, B. Using HPLC Method with DAD Detection for the Simultaneous Determination of 15 Drugs in Surface Water and Wastewater. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 20, n. 1, p. 21-28, Aug 2011

BEAUSSE, J. Selected drugs in solid matrices: a review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10-11, p. 753-761, Nov-Dec 2004

BENOTTI, M. J.; BROWNAWELL, B. J. Microbial degradation of pharmaceuticals in estuarine and coastal seawater. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 3, p. 994-1002, Mar 2009.

BIDWELL, J. R.; BECKER, C.; HENSLEY, S.; STARK, R.; MEYER, M. T. Occurrence of Organic Wastewater and Other Contaminants in Cave Streams in Northeastern Oklahoma and Northwestern Arkansas. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 2, p. 286-298, Feb 2010.

BORGMANN, U.; BENNIE, D. T.; BALL, A. L.; PALABRICA, V. Effect of a mixture of seven pharmaceuticals on *Hyalella azteca* over multiple generations. **Chemosphere**, v. 66, n. 7, p. 1278-1283, Jan 2007.

BRITO FILHO, D. **Toxicologia humana e geral**. 2ª. Rio de Janeiro: Atheneu, 1988. 678

BUSER, H. R.; POIGER, T.; MULLER, M. D. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: Rapid photodegradation in a lake. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 22, p. 3449-3456, Nov 1998.

_____. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. **Environmental Science & Technology**, v. 33, n. 15, p. 2529-2535, Aug 1999.

CALAMARI, D.; ZUCCATO, E.; CASTIGLIONE, S.; BAGNATI, R.; FANELLI, R. Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in northern Italy. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 7, p. 1241-1248, Apr 2003.

CHEN, H. C.; WANG, P. L.; DING, W. H. Using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry to determine pharmaceutical residues in Taiwanese rivers and wastewaters. **Chemosphere**, v. 72, n. 6, p. 863-869, Jun 2008.

DAUGHTON, C. G.; TERNES, T. A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? **Environmental Health Perspectives**, v. 107, p. 907-938, Dec 1999.

DIETRICH, S.; PLOESSL, F.; BRACHER, F.; ZAFORSCH, C. Single and combined toxicity of pharmaceuticals at environmentally relevant concentrations in *Daphnia magna* - A multigenerational study. **Chemosphere**, v. 79, n. 1, p. 60-66, Mar 2010

EICKHOFF, P.; HEINECK, I.; SEIXAS, L. J. Gerenciamento e destinação final de medicamentos: uma discussão sobre o problema. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 1, p. 64-68, Mar 2009.

EMERENCIANO, D. P.; SILVA, H. F. O.; CARVALHO, G. C.; SOUZA, J. M.; CRUZ, M. F. C.; RIBEIRO, L. P. D.; MOURA, F. V. **Controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco sódico e potássico utilizando a espectroscopia no Infravermelho próximo NIR**. Congresso Brasileiro de Química, 48. Rio de Janeiro 2008.

GOMEZ, M. J.; MARTÍNEZ BUENO, M. J.; LACORTE, S.; FERNANDEZ-ALBA, A. R.; AGÜERA, A. Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. **Chemosphere**, v. 66, n. 6, p. 993-1002, Jan 2007.

GRACIA-LOR, E.; SANCHO, J. V.; HERNANDEZ, F. Multi-class determination of around 50 pharmaceuticals, including 26 antibiotics, in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 16, p. 2264-2275, Apr 2011.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology Letters**, v. 131, n. 1-2, p. 5-17, May 2002a.

_____. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. **Journal of Hydrology**, v. 266, n. 3-4, p. 175-189, Sep 2002b.

HECKMANN, L. H.; CALLAGHAN, A.; HOOPER, H. Z.; CONNON, R.; HUTCHINSON, T. H.; MAUND, S. J.; SIBLY, R. M. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. **Toxicology Letters**, v. 172, n. 3, p. 137-145, Aug 2007.

HENSCHER, K. P.; WENZEL, A.; DIEDRICH, M.; FLIEDNER, A. Environmental hazard assessment of pharmaceuticals. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 25, n. 3, p. 220-225, Jun 1997.

HUERTA-FONTELA, M.; GALCERAN, M. T.; VENTURA, F. Stimulatory drugs of abuse in surface waters and their removal in a conventional drinking water treatment plant. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 18, p. 6809-6816, Sep 2008.

KASPRZYK-HORDERN, B. Pharmacologically active compounds in the environment and their chirality. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 11, p. 4466-4503, Aug 2010.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment - Forensic applications of environmental data. Part 1: Estimation of the usage of drugs in local communities. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 6, p. 1773-1777, Jun 2009.

KIM, Y.; CHOI, K.; JUNG, J.; PARK, S.; KIM, P.; PARK, J. Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. **Environment International**, v. 33, n. 3, p. 370-375, Apr 2007.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, Z. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 6, p. 1202-1211, Mar 2002

KUMMERER, K. Pharmaceuticals in the Environment. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 35, p. 57, Aug 2010.

LOFFLER, D.; ROMBKE, J.; MELLER, M.; TERNES, T. A. Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 14, p. 5209-5218, Jul 2005.

MELLO-DA-SILVA, C. A.; FRUCHTENGARTEN, L. Riscos químicos ambientais à saúde da criança. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n. suppl 5, p. 205-211, 2005

METCALFE, C. D.; KOENIG, B. G.; BENNIE, D. T.; SERVOS, M.; TERNES, T. A.; HIRSH, R. Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 12, p. 2872-2880, Dec 2003.

MOLDOVAN, Z.; CHIRA, R.; ALDER, A. C. Environmental exposure of pharmaceuticals and musk fragrances in the Somes River before and after upgrading the municipal wastewater treatment plant Cluj-Napoca, Romania. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, p. 46-54, Aug 2009.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal Variations of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Atibaia River, Sao Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, Apr 2011.

OAKS, J. L.; GILBERT, M.; VIRANI, M. Z.; WATSON, R. T.; METEYER, C. U.; RIDEOUT, B. A.; SHIVAPRASAD, H. Z.; AHMED, S.; CHAUDHRY, M. J. I.; ARSHAD, M.; MAHMOOD, S.; ALI, A.; KHAN, A. A. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. **Nature**, v. 427, n. 6975, p. 630-633, Feb 2004.

OLLERS, S.; SINGER, H. P.; FÄSSLER, P.; MÜLLER, S. R. Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. **Journal of Chromatography A**, v. 911, n. 2, p. 225-234, Mar 2001.

PEREZ, S.; BARCELO, D. Application of advanced MS techniques to analysis and identification of human and microbial metabolites of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 494-514, Jun 2007.

POMATI, F.; NETTING, A. G.; CALAMARI, D.; NEILAN, B. A. Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp and *Lemna minor*. **Aquatic Toxicology**, v. 67, n. 4, p. 387-396, May 2004.

RABIET, M.; TOGOLA, A.; BRISSAUD, F.; SEIDEL, J.; BUDZINSKI, H.; ELBAZ-POULICHET, F. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 17, p. 5282-5288, Sep 2006.

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

RICHARDS, S. M.; WILSON, C. J.; JOHNSON, D. J.; CASTLE, D. M.; LAM, M.; MABURY, S. A.; SIBLEY, P. L.; SOLOMON, K. R. Effects of pharmaceutical mixtures in aquatic microcosms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 4, p. 1035-1042, Apr 2004.

RICHARDSON, M. L.; BOWRON, J. M. The Fate of Pharmaceutical Chemicals in the Aquatic Environment. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 37, n. 1, p. 1-12, 1985.

ROBERTS, P. H.; THOMAS, K. V. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. **Science of the Total Environment**, v. 356, n. 1-3, p. 143-153, Mar 2006.

SACHER, F.; LANGE, F. T.; BRAUCH, H.; BLANKENHORN, I. Pharmaceuticals in groundwaters - Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. **Journal of Chromatography A**, v. 938, n. 1-2, p. 199-210, Dec 2001.

SCHMITT-JANSEN, M.; BARTELS, P.; ADLER, N.; ATENBURGER, R. Phytotoxicity assessment of diclofenac and its phototransformation products. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1389-1396, Feb 2007.

SOUSA, M. A.; GONÇALVES, C.; CUNHA, E.; HAJLSLOVA, J.; ALPENDURADA, M. F. Cleanup strategies and advantages in the determination of several therapeutic classes of pharmaceuticals in wastewater samples by SPE-LC-MS/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, n. 2, p. 807-822, Jan 2011.

STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 135-141, Jan 1999.

TAUXE-WUERSCH, A.; DE ALENCASTRO, L. F.; GRANDJEAN, D.; TARRADELLAS, J. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. **Water Research**, v. 39, n. 9, p. 1761-1772, May 2005.

TERNES, T. A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. **Water Research**, v. 32, n. 11, p. 3245-3260, Nov 1998.

THOMAS, K. V.; DYE, C.; SCHLABACH, M.; LANGFORD, K. H. Source to sink tracking of selected human pharmaceuticals from two Oslo city hospitals and a wastewater treatment works. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 9, n. 12, p. 1410-1418, Sep 2007.

TIXIER, C.; SINGER, H. P.; ÖLLERS, S.; MÜLLER, S. R. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibrac acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 6, p. 1061-1068, Mar 2003.

TOGOLA, A.; BUDZINSKI, H. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1177, n. 1, p. 150-158, Jan 2008.

VANDERFORD, B. J.; SNYDER, S. A. Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 23, p. 7312-7320, Dec 2006.

WEIGEL, S.; BERGER, U.; JENSEN, E.; KALLENBORN, R.; THORENSEN, H.; HÜHNERFUSS, H. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. **Chemosphere**, v. 56, n. 6, p. 583-592, Aug 2004.

XU, J.; WU, L. S.; CHEN, W. P.; CHANG, A. C. Simultaneous determination of pharmaceuticals, endocrine disrupting compounds and hormone in soils by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1202, n. 2, p. 189-195, Aug 2008.

YAMAMOTO, H.; NAKAMURA, Y.; MORIGUCHI, S.; NAKAMURA, Y.; HONDA, Y.; TAMURA, I.; HIRATA, Y.; HAYASHI, A.; SEKIZAWA, J. Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. **Water Research**, v. 43, n. 2, p. 351-362, Feb 2009.

YARGEAU, V.; LOPATA, A.; METCALFE, C. Pharmaceuticals in the Yamaska River, Quebec, Canada. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 42, n. 4, p. 231-239, Dec 2007.

YU, Y.; WU, L. S. Comparison of four extraction methods for the analysis of pharmaceuticals in wastewater. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 18, p. 2483-2489, May 2011.

YU, Y.; WU, L. S. Analysis of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, v. 89, p. 258-263, Jan 2012.

ZUCCATO, E.; CALAMRAI, D.; NATANGELO, M.; FANELLI, R. Presence of therapeutic drugs in the environment. **Lancet**, v. 355, n. 9217, p. 1789-1790, May 2000.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma situação de degradação dos corpos hídricos foi observada na Região Metropolitana de Curitiba, segundo o presente estudo. Vê-se em todas as áreas estudadas uma forte influência do esgoto doméstico. Essa presença descaracteriza a qualidade ambiental dos rios e afeta diretamente a população que ali reside e se serve dessas águas. Isso tudo está ocorrendo em virtude da má gestão dos recursos hídricos em Curitiba e Região Metropolitana.

Em muitos pontos amostrados foi possível observar a ausência da mata ciliar nas margens dos rios, áreas de invasão próximas, presença de lixo na correnteza e alguns pontos com a presença de indústrias nas suas margens. Todos esses fatores aumentam a certeza da ação antropogênica nessas regiões.

O rio Belém mostrou-se em todas as suas características um rio fortemente impactado pela entrada irregular ou não de esgoto doméstico. Quando esse rio encontra as águas do rio Iguaçu no parque Iguaçu, já na entrada da cidade de São José dos Pinhais, ele acaba por lançar toda a sua carga poluidora no rio Iguaçu, contribuindo para a perpetuação da contaminação. No rio Atuba foi observada a influência da ETE Atuba Sul na qualidade de suas águas. A ETE age como uma fonte pontual de poluição e se por um lado contribui com a entrada de nutrientes, por outro, dilui as concentrações de alguns poluentes emergentes e ao contrário do que se pensava, a entrada desses poluentes acontece no rio antes mesmo da descarga do efluente da ETE. Da mesma forma que o rio Belém, o Atuba quando deságua no rio Iguaçu, despeja também toda a sua carga poluidora. O rio Iraí nas quatro coletas realizadas foi caracterizado pela forte influência das margens ao seu redor, com presença de materiais pedogênicos. A proximidade de áreas de invasão também contribui para a sua qualidade e que juntamente com o rio Atuba, influencia nas características do rio Iguaçu. Nesse contexto, o rio Iguaçu tem suas águas, na RMC, altamente contaminadas, não só pelo seu curso, mas principalmente pelos seus afluentes que carregam altas cargas poluidoras para ele. Somente em regiões mais distantes da urbanização o rio Iguaçu volta a ter uma melhor qualidade. O rio Barigui, de uma forma diferente, apresenta as características mais distintas, por apresentar a lagoa no parque Barigui. Essa lagoa pode estar atuando como um

reservatório de poluentes e nutrientes que são despejados a montante da mesma. Após a lagoa do Parque Barigui, o rio, no seu trajeto até a cidade industrial de Curitiba, sofre diferentes influências antropogênicas, alterando novamente a qualidade da água.

De uma forma geral, foi possível concluir que os rios estudados foram caracterizados, principalmente, pela presença de nutrientes em suas águas, que segundo a legislação pertinente estão muitas vezes acima do permitido. Com relação aos poluentes emergentes estudados, foi detectada sua presença em grande parte das amostragens feitas, indicando que estes ambientes apresentam uma forte influência antropogênica e que a presença destes compostos emergentes pode ter impactos ainda não estimados na biota.

Para futuros trabalhos seria interessante estudar a dinâmica desses poluentes no meio aquático e nos sedimentos, que em alguns casos atuam como reservatório de contaminação. Dentro desta área tem-se a toxicidade dos poluentes emergentes, que é um fator ainda pouco explorado e de muita relevância no estudo de contaminação ambiental.

REFERÊNCIAS

ÁGUAS PARANÁ. Disponível em: <<http://www.aguasparana.pr.gov.br/>> Acesso em: 20 jan. 2012.

AGUIAR, M. R. **Análise das alterações ambientais na lagoa negra, Viamão/RS: Enfoque na qualidade da água.** 2008. 92 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Geografia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

AHMAD, S. R.; REYNOLDS, D. M. Synchronous fluorescence spectroscopy of wastewater and some potential constituents. **Water Research**, v. 29, n. 6, p. 1599-1602, Oct 1995.

AMARANTE JR, O. P. D.; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N. M.; SANTOS, T. C. R.; VALE, M. L. B F. Validação de Métodos Analíticos: uma breve revisão. **Caderno de Pesquisas**, v. 12, n. 1-2, p. 15, 2001.

ANDREOLI, C. V.; DALARMI, D.; LARA, A. I.; ANDREOLI, F. N. **Limites ao desenvolvimento da região metropolitana de Curitiba, impostos pela escassez de água.** 9º SILUBESA - Simpósio Brasileiro De Engenharia Sanitária E Ambiental. Porto Seguro: 185-195 p. 2000.

ANDREOZZI, R.; RAFFAELE, M.; NICKLAS, P. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. **Chemosphere**, v. 50, n. 10, p. 1319-1330, Mar 2003.

ANJOS, J. Â. S. A. D. **Avaliação da eficiência de uma zona alagadiça (Wetland) no controle da poluição por metais pesados: o caso da plumbum em Santo Amaro da Purificação/BA.** 2003. 301 (Doutorado). Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ANVISA. **Resolução - RE nº 475, de 19 de março** ANVISA 2002.

_____. **Resolução - RE nº 899, de 29 de maio** ANVISA 2003.

_____. **Guia para Qualidade em Química Analítica: Uma Assistência à Habilitação** ANVISA. Brasília/DF: 46 p. 2005.

APHA, A. P. H. A.-. **Standard methods for the examination of water and wastewater.** 20. Washington, DC: American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation, 1998.

ARTINGER, R.; BUCKAU, G.; GEYER, S.; FRITZ, P.; WOLF, M.; KIM, J.F. Characterization of groundwater humic substances: influence of sedimentary organic carbon. **Applied Geochemistry**, v. 15, n. 1, p. 97-116, Jan 2000.

ASHTON, D.; HILTON, M.; THOMAS, K. V. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. **Science of the Total Environment**, v. 333, n. 1-3, p. 167-184, Oct 2004.

AZEVEDO, J. C. R.; TEIXEIRA, M. C.; NOZAKI, J. Estudo espectroscópico de substâncias húmicas extraídas da água, solos e sedimentos da Lagoa dos Patos – MS, Brasil. **Revista Saúde e Biologia**, v. 1, n. 2, p. 59-71, Dez 2006.

AZEVEDO, J. C. R.; TEIXEIRA, M. C.; SANTOS, A. M.; LEANDRINI, J. A.; PAGIORO, T. A. Caracterização espectroscópica da matéria orgânica dissolvida da planície de inundação do Alto Rio Paraná. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 1, p. 66-77, Jul 2008.

BAKER, A. Fluorescence excitation-emission matrix characterization of some sewage-impacted rivers. **Environmental Science & Technology**, v. 35, n. 5, p. 948-953, Mar 2001.

_____. Spectrophotometric discrimination of river dissolved organic matter. **Hydrological Processes**, v. 16, n. 16, p. 3203-3213, Nov 2002.

BAKER, A.; INVERARITY, R. Protein-like fluorescence intensity as a possible tool for determining river water quality. **Hydrological Processes**, v. 18, n. 15, p. 2927-2945, Oct 2004.

BARANOWSKA, I.; KOWALSKI, B. Using HPLC Method with DAD Detection for the Simultaneous Determination of 15 Drugs in Surface Water and Wastewater. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 20, n. 1, p. 21-28, Aug 2011

BATTIN, T. J. Dissolved organic matter and its optical properties in a blackwater tributary of the upper Orinoco river, Venezuela. **Organic Geochemistry**, v. 28, n. 9-10, p. 561-569, Mar 1998.

BEAUSSE, J. Selected drugs in solid matrices: a review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 10-11, p. 753-761, Nov-Dec 2004

BELLOS, D.; SAWIDIS, T.; TSEKOS, I. Nutrient chemistry of River Pinios (Thessalia, Greece). **Environment International**, v. 30, n. 1, p. 105-115, Mar 2004.

BENOTTI, M. J.; BROWNAWELL, B. J. Microbial degradation of pharmaceuticals in estuarine and coastal seawater. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 3, p. 994-1002, Mar 2009.

BIDWELL, J. R.; BECKER, C.; HENSLEY, S.; STARK, R.; MEYER, M. T. Occurrence of Organic Wastewater and Other Contaminants in Cave Streams in Northeastern Oklahoma and Northwestern Arkansas. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 58, n. 2, p. 286-298, Feb 2010.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no Meio Ambiente. **Química Nova**. São Paulo. v 26, n. 4, p. 7, 2003.

BONETO, R. M. C. G. **Aspectos limnológico-sanitários das águas do rio Calium na região metropolitana de São Paulo**. 2007. 127 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo.

BORGMANN, U.; BENNIE, D. T.; BALL, A. L.; PALABRICA, V. Effect of a mixture of seven pharmaceuticals on *Hyalella azteca* over multiple generations. **Chemosphere**, v. 66, n. 7, p. 1278-1283, Jan 2007.

BRITO, N. M.; AMARANTE JR, O. P. D.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de Métodos Analíticos: Estratégia e Discussão **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. v.13, p. 17, 2003.

BRITO FILHO, D. **Toxicologia humana e geral**. 2ª. Rio de Janeiro: Atheneu, 1988. 678

BUFFLE, J.; ZALI, O.; ZUMSTEIN, J.; DE VITRE, R. Analytical methods for the direct determination of inorganic and organic-species - seasonal-changes of iron, sulfur, and pedogenic and aquogenic organic-constituents in the eutrophic lake bret, Switzerland. **Science of the Total Environment**, v. 64, n. 1-2, p. 41-59, Jun 1987.

BUSER, H. R.; POIGER, T.; MULLER, M. D. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: Rapid photodegradation in a lake. **Environmental Science & Technology**, v. 32, n. 22, p. 3449-3456, Nov 1998.

_____. Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater. **Environmental Science & Technology**, v. 33, n. 15, p. 2529-2535, Aug 1999.

CALAMARI, D.; ZUCCATO, E.; CASTIGLIONE, S.; BAGNATI, R.; FANELLI, R. Strategic survey of therapeutic drugs in the rivers Po and Lambro in northern Italy. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 7, p. 1241-1248, Apr 2003.

CARMOUZE, J. P. **O metabolismo dos ecossistemas aquáticos- Fundamentos teóricos, métodos de estudo e análise químicas**. São Paulo: FAPESP, 1994. 253

CASTRO, L. C. **A gestão dos recursos hídricos na bacia hidrográfica do alto iguaçu – PR**. 2005. 96 (Mestrado). Setor de Ciências da Terra Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CHEN, H. C.; WANG, P. L.; DING, W. H. Using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry to determine pharmaceutical residues in Taiwanese rivers and wastewaters. **Chemosphere**, v. 72, n. 6, p. 863-869, Jun 2008.

CHEN, J.; GU, B. LEBOEUF, E.J.; PAN, H.; DAI, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. **Chemosphere**, v. 48, n. 1, p. 59-68, Jul 2002.

CHIN, Y. P.; AIKEN, G.; OLOUGHLIN, E. Molecular-weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Environmental Science & Technology**, v. 28, n. 11, p. 1853-1858, Oct 1994.

COBLE, P. G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation emission matrix spectroscopy. **Marine Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 325-346, Jan 1996.

COBLE, P. G.; DEL CASTILLO, C. E.; AVRIL, B. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. **Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography**, v. 45, n. 10-11, p. 2195-2223, Jun 1998.

CONAMA. **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente. 23 p. 2005.

COTRIM, M. E. B. **Avaliação na Qualidade da água na Bacia Hidrográfica do Ribeira do Iguape com vistas ao abastecimento público**. 2006. 236 (Doutorado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**, v. 391, n. 2, p. 105-126, May 1999.

DAUGHTON, C. G.; TERNES, T. A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? **Environmental Health Perspectives**, v. 107, p. 907-938, Dec 1999.

DIETRICH, S.; PLOESSL, F.; BRACHER, F.; ZAFORSCH, C. Single and combined toxicity of pharmaceuticals at environmentally relevant concentrations in *Daphnia magna* - A multigenerational study. **Chemosphere**, v. 79, n. 1, p. 60-66, Mar 2010

DORNFELD, C. B. **Utilização de análises limnológicas, bioensaio de toxicidade e macroinvertebrados bentônicos para o diagnóstico ambiental do reservatório de Salto Grande (Americana, SP)**. . 2002. 117 (Mestrado). Engenharia Ambiental, Universidade de São Paulo, São Carlos.

EICKHOFF, P.; HEINECK, I.; SEIXAS, L. J. Gerenciamento e destinação final de medicamentos: uma discussão sobre o problema. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 90, n. 1, p. 64-68, Mar 2009.

EMERENCIANO, D. P.; SILVA, H. F. O.; CARVALHO, G. C.; SOUZA, J. M.; CRUZ, M. F. C.; RIBEIRO, L. P. D.; MOURA, F. V. **Controle de qualidade de medicamentos contendo diclofenaco sódico e potássico utilizando a espectroscopia no Infravermelho próximo NIR**. Congresso Brasileiro de Química, 48. Rio de Janeiro 2008.

ESTEVES, F. D. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência/FINEP, 1998. 602

ES'HAGHI, Z. Determination of widely used non-steroidal anti-inflammatory drugs in water samples by in situ derivatization, continuous hollow fiber liquid-phase microextraction and gas chromatography-flame ionization detector. **Analytica Chimica Acta**, v. 641, n. 1-2, p. 83-88, May 2009.

FATTA, D.; NIKOLAOU, A.; ACHILLEOS, A.; MERIÇ, S. Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 515-533, Jun 2007.

FRANÇA, M. S. **Análise estatística multivariada dos dados de monitoramento de qualidade de água da bacia do alto iguaçu: uma ferramenta para a gestão de recursos hídricos** 2009. 150 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

FRIMMEL, F. H. Characterization of natural organic matter as major constituents in aquatic systems. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 35, n. 1-3, p. 201-216, Dec 1998

GIBBONS, S. E.; WANG, C.; MA, Y. F. Determination of pharmaceutical and personal care products in wastewater by capillary electrophoresis with UV detection. **Talanta**, v. 84, n. 4, p. 1163-1168, May 2011.

GOMEZ, M. J.; BUENO, M. J. M.; LACORTE, S.; FERNANDEZ-ALBA, A. R.; AGUERA, A. Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast. **Chemosphere**, v. 66, n. 6, p. 993-1002, Jan 2007.

GRACIA-LOR, E.; SANCHO, J. V.; HERNANDEZ, F. Multi-class determination of around 50 pharmaceuticals, including 26 antibiotics, in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 16, p. 2264-2275, Apr 2011.

HEBERER, T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. **Toxicology Letters**, v. 131, n. 1-2, p. 5-17, May 2002a.

_____. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. **Journal of Hydrology**, v. 266, n. 3-4, p. 175-189, Sep 2002b.

HECKMANN, L. H.; CALLAGHAN, A.; HOOPER, H. Z.; CONNON, R.; HUTCHINSON, T. H.; MAUND, S. J.; SIBLY, R. M. Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. **Toxicology Letters**, v. 172, n. 3, p. 137-145, Aug 2007.

HENDERSON, R. K. et al. Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review. **Water Research**, v. 43, n. 4, p. 863-881, Mar 2009.

HENSCHEL, K. P.; WENZEL, A.; DIEDRICH, M.; FLIEDNER, A. Environmental hazard assessment of pharmaceuticals. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 25, n. 3, p. 220-225, Jun 1997.

HIRSCH, R.; TERNES, T. A.; HABERER, K.; MEHLICHI, A.; BALLWANZ, F.; KRATZ, K. Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 815, n. 2, p. 213-223, Jul 1998.

HUERTA-FONTELA, M.; GALCERAN, M. T.; VENTURA, F. Stimulatory drugs of abuse in surface waters and their removal in a conventional drinking water treatment plant. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 18, p. 6809-6816, Sep 2008.

HUDSON, N.; BAKER, A.; REYNOLDS, D. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters - A review. **River Research and Applications**, v. 23, n. 6, p. 631-649, Jul 2007.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial; **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**; DOQ-CGCRE-008, março de 2003.

JAFFÉ, R.; BOYER, J. N.; LU, X.; MAIE, N.; YANG, C.; SCULLY, N. M.; MOCK, S. Source characterization of dissolved organic matter in a subtropical mangrove-dominated estuary by fluorescence analysis. **Marine Chemistry**, v. 84, n. 3-4, p. 195-210, Jan 2004.

KADIOGLU, Y.; DEMIRKAYA, F. Determination of carbamazepine in pharmaceutical dosage form using GC-FID. **Chromatographia**, v. 66, p. S169-S172, 2007.

KASPRZYK-HORDERN, B. Pharmacologically active compounds in the environment and their chirality. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 11, p. 4466-4503, Aug 2010.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. Illicit drugs and pharmaceuticals in the environment - Forensic applications of environmental data. Part 1: Estimation of the usage of drugs in local communities. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 6, p. 1773-1777, Jun 2009.

KIM, Y.; CHOI, K.; JUNG, J.; PARK, S.; KIM, P.; PARK, J. Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. **Environment International**, v. 33, n. 3, p. 370-375, Apr 2007.

KINNEY, C. A.; FURLONG, E. T.; WERNER, S. L.; CAHILL, J., D. Presence and distribution of wastewater-derived pharmaceuticals in soil irrigated with reclaimed water. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 317-326, Feb 2006.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 6, p. 1202-1211, Mar 2002.

KORSHIN, G. V.; LI, C. W.; BENJAMIN, M. M. Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: A consistent theory. **Water Research**, v. 31, n. 7, p. 1787-1795, Jul 1997.

KUMMERER, K. Pharmaceuticals in the Environment. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 35, p. 57-75, Aug 2010.

LANGFORD, K.; THOMAS, K. V. Input of selected human pharmaceutical metabolites into the Norwegian aquatic environment. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 2, p. 416-421, Feb 2011.

LI, H. Y.; ZHANG, Q.; ZHU, C.; WANG, X. Assessment of phytoplankton class abundance using in vivo synchronous fluorescence spectra. **Analytical Biochemistry**, v. 377, n. 1, p. 40-45, Jun 2008.

LIN, W. C.; CHEN, H. C.; DING, W. H. Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1065, n. 2, p. 279-285, Feb 2005.

LOFFLER, D.; ROMBKE, J.; MELLER, M.; TERNES, T. A. Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 14, p. 5209-5218, Jul 2005.

LU, X. Q.; MAIE, N.; HANNA, J. V.; CHILDERS, D. L.; JAFFÉ, R. Molecular characterization of dissolved organic matter in freshwater wetlands of the Florida Everglades. **Water Research**, v. 37, n. 11, p. 2599-2606, Jun 2003.

MA, H. Z.; ALLEN, H. E.; YIN, Y. J. Characterization of isolated fractions of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. **Water Research**, v. 35, n. 4, p. 985-996, Mar 2001.

MARTIN, J.; SANTOS, J. L.; APARICIO, I.; ALONSO, E. Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination. **Journal of Separation Science**, v. 33, n. 12, p. 1760-1766, Jun 2010.

MANSOR, M. T. C. **Potencial de poluição de águas superficiais por fontes não pontuais de fósforo na bacia hidrográfica do ribeirão do pinhal, limeira-sp.** 2005. 189 (Doutorado). Engenharia Agrícola, UNICAMP, Campinas.

MCDONALD, S.; BISHOP, A. G.; PRENZLER, P. D.; ROBARDS, K. Analytical chemistry of freshwater humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 527, n. 2, p. 105-124, Dec 2004.

MCKNIGHT, D. M.; BOYER, E. W.; WESTERHOFF, P. K.; DORAN, P. T.; KULBE, I.; ANDERSEN, D. T. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. **Limnology and Oceanography**, v. 46, n. 1, p. 38-48, Jan 2001.

MELLO-DA-SILVA, C. A.; FRUCHTENGARTEN, L. Riscos químicos ambientais à saúde da criança. **Jornal de Pediatria**, v. 81, n. suppl 5, p. 205-211, 2005

METCALFE, C. D.; KOENIG, B. G.; BENNIE, D. T.; SERVOS, M.; TERNES, T. A.; HIRSH, R. Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 12, p. 2872-2880, Dec 2003.

MIAO, X. S.; METCALFE, C. D. Determination of carbamazepine and its metabolites in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 15, p. 3731-3738, Aug 2003.

MOLDOVAN, Z.; CHIRA, R.; ALDER, A. C. Environmental exposure of pharmaceuticals and musk fragrances in the Somes River before and after upgrading the municipal wastewater treatment plant Cluj-Napoca, Romania. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, p. 46-54, Aug 2009.

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

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal Variations of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Atibaia River, Sao Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, Apr 2011.

MOTA, F. S. B.; VON SPERLING, M. **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. Rio de Janeiro: ABES, 2009. 428

NGUYEN, H. V.-M.; HUR, J.; SHIN, H.-S. Changes in Spectroscopic and Molecular Weight Characteristics of Dissolved Organic Matter in a River During a Storm Event. **Water Air and Soil Pollution**, v. 212, n. 1-4, p. 395-406, Oct 2010.

OLIVEIRA, J. L.; BOROSKI, M.; AZEVEDO, J. C. R.; NOZAKI, J. Spectroscopic investigation of humic substances in a tropical lake during a complete hydrological cycle. **Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica**, v. 34, n. 6, p. 608-617, Dec 2006.

OAKS, J. L.; GILBERT, M.; VIRANI, M. Z.; WATSON, R. T.; METEYER, C. U.; RIDEOUT, B. A.; SHIVAPRASAD, H. Z.; AHMED, S.; CHAUDHRY, M. J. I.; ARSHAD, M.; MAHMOOD, S.; ALI, A.; KHAN, A. A. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. **Nature**, v. 427, n. 6975, p. 630-633, Feb 2004.

OLLERS, S.; SINGER, H. P.; FÄSSLER, P.; MÜLLER, S. R. Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. **Journal of Chromatography A**, v. 911, n. 2, p. 225-234, Mar 2001.

PEREZ, S.; BARCELO, D. Application of advanced MS techniques to analysis and identification of human and microbial metabolites of pharmaceuticals in the aquatic environment. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 494-514, Jun 2007.

PEURAVUORI, J.; KOIVIKKO, R.; PIHLAJA, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. **Water Research**, v. 36, n. 18, p. 4552-4562, Nov 2002.

PEURAVUORI, J.; PIHLAJA, K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. **Analytica Chimica Acta**, v. 337, n. 2, p. 133-149, Jan 1997.

POMATI, F.; NETTING, A. G.; CALAMARI, D.; NEILAN, B. A. Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp and *Lemna minor*. **Aquatic Toxicology**, v. 67, n. 4, p. 387-396, May 2004.

RABIET, M.; TOGOLA, A.; BRISSAUD, F.; SEIDEL, J.; BUDZINSKI, H.; ELBAZ-POULICHET, F. Consequences of treated water recycling as regards pharmaceuticals and drugs in surface and ground waters of a medium-sized Mediterranean catchment. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 17, p. 5282-5288, Sep 2006.

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

RENEW, J. E.; HUANG, C. H. Simultaneous determination of fluoroquinolone, sulfonamide, and trimethoprim antibiotics in wastewater using tandem solid phase extraction and liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1042, n. 1-2, p. 113-121, Jul 2004.

RIBANI, M.; BOTOLLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, Sep-Oct 2004.

RICE, S. L.; MITRA, S. Microwave-assisted solvent extraction of solid matrices and subsequent detection of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) using gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 589, n. 1, p. 125-132, Apr 2007.

RICHARDS, S. M.; WILSON, C. J.; JOHNSON, D. J.; CASTLE, D. M.; LAM, M.; MABURY, S. A.; SIBLEY, P. L.; SOLOMON, K. R. Effects of pharmaceutical mixtures in aquatic microcosms. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 4, p. 1035-1042, Apr 2004.

RICHARDSON, M. L.; BOWRON, J. M. The Fate of Pharmaceutical Chemicals in the Aquatic Environment. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 37, n. 1, p. 1-12, 1985.

RIGHETTO, A. M. **Manejo de Águas Pluviais Urbanas**. Rio de Janeiro: ABES, 2009. 396

ROBERTS, P. H.; THOMAS, K. V. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. **Science of the Total Environment**, v. 356, n. 1-3, p. 143-153, Mar 2006.

ROCHA, R. R. D. A.; THOMAZ, S. M. Variação temporal de fatores limnológicos em ambientes da planície de inundação do alto rio Paraná (PR/MS – Brasil). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 10, Sep 2004.

SACHER, F.; LANGE, F. T.; BRAUCH, H.; BLANKENHORN, I. Pharmaceuticals in groundwaters - Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Wurttemberg, Germany. **Journal of Chromatography A**, v. 938, n. 1-2, p. 199-210, Dec 2001.

SAWYER, C. N.; MACCARTY, P. L.; PARKIN, G. F. **Chemistry for environmental engineering**. New York: McGraw-Hill, 658 p, 1994.

SCHEFFER, E. W.; SODRÉ, F. F.; GRASSI, M. T. Fatores que governam a especiação do cobre em ambientes aquáticos urbanos: evidências da contribuição de sulfetos solúveis. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 332-338, Jan 2007.

SCHMITT-JANSEN, M.; BARTELS, P.; ADLER, N.; ATENBURGER, R. Phytotoxicity assessment of diclofenac and its phototransformation products. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1389-1396, Feb 2007.

SEBOK, A.; VASANITS-ZSIGRAI, A.; PALKO, G.; ZARAY, G.; MOLNAR-PERL, I. Identification and quantification of ibuprofen, naproxen, ketoprofen and diclofenac present in waste-waters, as their trimethylsilyl derivatives, by gas chromatography mass spectrometry. **Talanta**, v. 76, n. 3, p. 642-650, Jul 2008.

SEMA. **Bacias hidrográficas do Paraná - Série histórica**. HÍDRICOS, S. D. E. D. M. A. E. R. Curitiba: SEMA: 138 p. 2010.

SENESE, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic-acid and its interactions with metal-ions and organic-chemicals .2. The fluorescence spectroscopy approach. **Analytica Chimica Acta**, v. 232, n. 1, p. 77-106, May 1990.

SETTI, A. A.; LIMA, J. E. F. W.; CHAVES, A. G. M.; PEREIRA, I. C. **Introdução ao gerenciamento de recursos hídricos** Brasília: Agência Nacional de Energia Elétrica, Superintendência de Estudos e Informações Hidrológicas 2001. 207

SILVEIRA, M. P. **Aplicação do biomonitoramento para avaliação da qualidade da água em rios** Jagariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 68

SODRÉ, F. F. **Especiação do cobre em águas naturais: influência de fatores associados à urbanização** 2005. 165 (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Química Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SOUSA, M. A.; GONÇALVES, C.; CUNHA, E.; HAJLSLOVA, J.; ALPENDURADA, M. F. Cleanup strategies and advantages in the determination of several therapeutic classes of pharmaceuticals in wastewater samples by SPE-LC-MS/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, n. 2, p. 807-822, Jan 2011.

STACKELBERG, P. E.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; HENDERSON, A. K.; REISSMAN, D. B. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-watertreatment plant. **Science of the Total Environment**, v. 329, n. 1-3, p. 99-113, Aug 2004.

STUMPF, M.; TERNES, T. A.; WILKEN, R.; RODRIGUES, S. V.; BAUMANN, W. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of the Total Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 135-141, Jan 1999.

SUDERHSA. **Plano da bacia do Alto Iguaçu e afluentes do Alto Ribeira - Relatório diagnóstico**. Curitiba: SUDERHSA: 93 p. 2007.

TAUXE-WUERSCH, A.; DE ALENCASTRO, L. F.; GRANDJEAN, D.; TARRADELLAS, J. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. **Water Research**, v. 39, n. 9, p. 1761-1772, May 2005.

TERNES, T. A. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. **Water Research**, v. 32, n. 11, p. 3245-3260, Nov 1998.

_____. A. Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 8, p. 419-434, Aug 2001.

THOMAS, J. D. The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances, in freshwater ecosystems. **Freshwater Biology**, v. 38, n. 1, p. 1-36, Aug 1997.

THOMAS, K. V.; DYE, C.; SCHLABACH, M.; LANGFORD, K. H. Source to sink tracking of selected human pharmaceuticals from two Oslo city hospitals and a wastewater treatment works. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 9, n. 12, p. 1410-1418, Sep 2007.

THOMAS, O.; EL KHORASSANI, H.; TOURAUD, E.; BITAR, H. TOC versus UV spectrophotometry for wastewater quality monitoring. **Talanta**, v. 50, n. 4, p. 743-749, Nov 1999

THURMAN, E. M. **Organic geochemistry of natural waters**. M. Nijhoff, 1985.

TIXIER, C.; SINGER, H. P.; ÖLLERS, S.; MÜLLER, S. D. Occurrence and fate of carbamazepine, clofibrac acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 6, p. 1061-1068, Mar 2003.

TOGOLA, A.; BUDZINSKI, H. Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC-MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 388, n. 3, p. 627-635, Jun 2007.

_____. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1177, n. 1, p. 150-158, Jan 2008.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008. 632

VANDERFORD, B. J.; SNYDER, S. A. Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 23, p. 7312-7320, Dec 2006.

VON SPERLING, M. **Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos - Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias**. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2005. 452

WANG, L.; WU, F.; ZHANG, R.; LI, W.; LIAO, H. Characterization of dissolved organic matter fractions from Lake Hongfeng, Southwestern China Plateau. **Journal of Environmental Sciences-China**, v. 21, n. 5, p. 581-588, Oct 2009.

WEIGEL, S.; BERGER, U.; JENSEN, E.; KALLENBORN, R.; THORENSEN, H.; HÜHNERFUSS, H. Determination of selected pharmaceuticals and caffeine in sewage and seawater from Tromsø/Norway with emphasis on ibuprofen and its metabolites. **Chemosphere**, v. 56, n. 6, p. 583-592, Aug 2004.

WESTERHOFF, P.; ANNING, D. Concentrations and characteristics of organic carbon in surface water in Arizona: influence of urbanization. **Journal of Hydrology**, v. 236, n. 3-4, p. 202-222, Sep 2000.

WETZEL, R. G. **Limnology. Lake and River Ecosystems**. San Diego: Academic Press, 2001. 1006

WETZEL, R. G.; HATCHER, P. G.; BIANCHI, T. S. Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism. **Limnology and Oceanography**, v. 40, n. 8, p. 1369-1380, Dec 1995.

WU, F. C.; KOTHAWALA, D. N.; EVANS, R. D.; DILLON, P. J.; CAI, Y. R. Relationships between DOC concentration, molecular size and fluorescence properties of DOM in a stream. **Applied Geochemistry**, v. 22, n. 8, p. 1659-1667, Aug 2007.

WU, C. X.; SPONGBERG, A. L.; WITTER, J. D. Use of solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of various pharmaceuticals in surface water. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 88, n. 14, p. 1033-1048, Dec 2008.

XU, J.; WU, L. S.; CHEN, W. P.; CHANG, A. C. Simultaneous determination of pharmaceuticals, endocrine disrupting compounds and hormone in soils by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1202, n. 2, p. 189-195, Aug 2008.

YAMAMOTO, H.; NAKAMURA, Y.; MORIGUCHI, S.; NAKAMURA, Y.; HONDA, Y.; TAMURA, I.; HIRATA, Y.; HAYASHI, A.; SEKIZAWA, J. Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments. **Water Research**, v. 43, n. 2, p. 351-362, Feb 2009.

YAMAMOTO, C. R. G. **Wetlands na região metropolitana de Curitiba – PR: diagnóstico, conflitos socioeconômicos e desafios de gestão**. 2011. 197 (Doutorado). Programa de pós graduação em geografia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

YARGEAU, V.; LOPATA, A.; METCALFE, C. Pharmaceuticals in the Yamaska River, Quebec, Canada. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 42, n. 4, p. 231-239, Dec 2007.

YU, Y.; WU, L. S. Comparison of four extraction methods for the analysis of pharmaceuticals in wastewater. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 18, p. 2483-2489, May 2011.

YU, Y.; WU, L. S. Analysis of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products in sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, v. 89, p. 258-263, Jan 2012.

ZUCCATO, E.; CALAMRAI, D.; NATANGELO, M.; FANELLI, R. Presence of therapeutic drugs in the environment. **Lancet**, v. 355, n. 9217, p. 1789-1790, May 2000.