

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

CAMILA FERNANDA PADILHA
FILIPE LEONARDO DOS SANTOS LEITZKE

DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS NA BACIA
DO ALTO RIO IGUAÇU NA REGIÃO DE CURITIBA-PR

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Curitiba
2013

CAMILA FERNANDA PADILHA
FILIPE LEONARDO DOS SANTOS LEITZKE

DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS NA BACIA
DO ALTO RIO IGUAÇU NA REGIÃO DE CURITIBA-PR

Projeto de trabalho de conclusão de curso apresentado à disciplina de TCC 2, do curso de Bacharelado em Química Tecnológica com ênfase ambiental do departamento acadêmico de Química e Biologia – DAQBI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR.

Orientador: Prof. Dr. Júlio César Rodrigues de Azevedo

Curitiba
2013

TERMO DE APROVAÇÃO

CAMILA FERNANDA PADILHA

FILIPPE LEONARDO DOS SANTOS LEITZE

DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS NA BACIA DO ALTO RIO IGUAÇU NA REGIÃO DE CURITIBA-PR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de BACHAREL EM QUÍMICA do Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBi) do Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR e **APROVADO** pela seguinte banca:

Membro 1 – Me. Rafael Duarte Kramer

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Membro 2 – Prof^a. Dr^a. Erika Pereira Felix

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Orientador - Prof. Dr. Júlio César R. de Azevedo

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

Coordenadora de Curso - Prof^a. Dr^a. Danielle Caroline Schnitzler (UTFPR)

Curitiba, 2 de outubro de 2013.

RESUMO

PADILHA, Camila F.; LEITZKE, Filipe L. S.. Determinação de Hormônios sexuais femininos na bacia do Alto Rio Iguaçu na região de Curitiba – Pr. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica com ênfase Ambiental) – Departamento Acadêmico de Química e Biologia – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

Devido a um aumento na quantidade de anticoncepcionais usados nas últimas décadas pelas mulheres, foi possível observar um aumento de hormônios sexuais femininos nos despejos domésticos. Esses compostos são classificados em uma nova classe de poluentes, os chamados poluentes emergentes. Esses poluentes possuem carência de dados em relação à avaliação dos seus efeitos, assim como conhecimento de suas fontes, o comportamento no ambiente e níveis tóxicos de concentração. Nesse trabalho foi determinada a concentração de hormônios sexuais femininos nas águas superficiais e sedimentos da bacia do Alto Iguaçu, assim como foi feita a análise de fósforo e nitrogênio nos locais analisados. Com o trabalho foi possível perceber a influência antrópica na região, principalmente nos rios Atuba e Belém, que apresentaram resultados significativos para os três hormônios analisados, chegando a uma concentração de 6,80 µg/L de Estradiol na coleta de junho de 2011 realizada no primeiro ponto do rio Atuba. Já no rio Belém a coleta de abril de 2011 foi a que apresentou maiores valores de hormônios, chegando a uma concentração de 5,83 µg/L de Etinilestradiol no primeiro ponto coletado, que recebe alta carga de esgotos domésticos da região. Essa influência da atividade antrópica pode ainda ser evidenciada com os resultados das análises de fósforo e nitrogênio, que apresentam altas concentrações nesses rios.

Palavras-chave: Hormônios Sexuais Femininos. Bacia do Alto Iguaçu. Contaminantes Emergentes. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

ABSTRACT

PADILHA, Camila F.; LEITZKE, Filipe L. S.. Determination of female sex hormones in the Alto Iguaçu River Basin in the region of Curitiba- Pr. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica com ênfase Ambiental) – Departamento Acadêmico de Química e Biologia – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

Because of an increase in the amount of contraceptives used by women in recent decades, was possible to observe an increase of female sex hormones in domestic effluents. These compounds are classified into a new class of pollutants, called emerging pollutants. These pollutants have a failure of data regarding the evaluation of its effects, as well as knowledge of their sources, environmental behavior and toxic levels of concentration. In this work was determined the concentration of female sex hormones in surface waters and sediments in the basin of Alto Iguaçu, as well as the analysis was made of phosphorus and nitrogen in the locations analyzed. With the work we could perceive the anthropogenic influence in the region, mainly in the rivers Atuba and Belém, which showed significant results for the three hormones analyzed, reaching a concentration of 6,80 µg/L of estradiol in collecting made in June 2011 in the first point at Atuba river. In Belém river, the collection at April 2011 showed the highest values of hormones, reaching a concentration of 5,83 µg/L of ethinylestradiol in the first point collected, which receives high load of domestic sewage from the region. This influence of anthropogenic activity can be further evidenced by the results of the analysis of phosphorus and nitrogen, which have high concentrations in these rivers.

Keywords: Female Sex Hormones. Basin of Alto Iguaçu. Emerging Contaminants. High Performance Liquid Chromatography.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas químicas dos principais esteróides sexuais e fitoesteróides	17
Figura 2: Representação esquemática da principal via de entrada de disruptores endócrinos hormonais em sistemas aquáticos.....	20
Figura 3: Bacia do Alto Iguaçu e pontos de análise.....	25
Figura 4: Fluxograma para preparação de amostras de água na determinação de hormônios sexuais femininos.....	28
Figura 5: Fluxograma para preparação de amostras de sedimentos na determinação de hormônios sexuais femininos.....	30
Figura 6: Cromatograma que contém a sequência de retenção dos analitos pela coluna cromatográfica utilizada. Os três últimos picos caracterizam o E2, o EE2 e o E1, respectivamente.....	34
Figura 7: Curva analítica utilizada para determinação dos hormônios sexuais femininos.....	35

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos dois pontos coletados do rio Atuba.....	41
Gráfico 2: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos três pontos coletados do rio Barigui.....	42
Gráfico 3: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos dois pontos coletados do rio Belém.....	43
Gráfico 4: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos dois pontos coletados do rio Iguaçu.....	44
Gráfico 5: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos três pontos coletados do rio Palmital.....	45
Gráfico 6: Concentração dos hormônios sexuais femininos em sedimento na coleta de abril de 2012.....	46

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Substâncias emergentes que têm sido reportadas como desreguladores endócrinos ou com potencial de ação desreguladora.....	15
Quadro 2: Pontos monitorados no estudo.....	26
Quadro 3: Condições cromatográficas na determinação dos HSFs.....	31
Quadro 4: Análises físico-químicas e suas metodologias.....	31
Quadro 5: Concentrações dos estrogênios E1, E2, e EE2 no afluente e no efluente de ETEs, em água superficial e potável de vários países.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características dos principais estrógenos.....	18
Tabela 2: Quantidade média de estrógenos diariamente excretada na urina de humano.....	19
Tabela 3: Limites de detecção e quantificação de HSFs do equipamento (HPLC) e dos métodos analíticos de cada matriz.....	35
Tabela 4: Concentração de estradiol encontrada nos pontos analisados.....	36
Tabela 5: Concentração de etinilestradiol encontrada nos pontos analisados.....	37
Tabela 6: Concentração de estrona encontrada nos pontos analisados.....	38
Tabela 7: Concentração dos hormônios sexuais femininos em sedimento na coleta de abril de 2012.....	46
Tabela 8: Concentração de fósforo total encontrado nas águas superficiais.....	48
Tabela 9: Concentração de ortofosfato encontrado nas águas superficiais.....	48
Tabela 10: Concentração de nitrito encontrado nas águas superficiais.....	49
Tabela 11: Concentração nitrogênio amoniacal encontrado nas águas superficiais.....	50
Tabela 12: Concentração de nitrato encontrado nas águas superficiais.....	50

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	JUSTIFICATIVA	13
3	OBJETIVOS	13
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
4.1	POLUENTES EMERGENTES	14
4.1.1	Interferentes endócrinos	14
4.2	HORMÔNIOS	16
4.2.1	Aporte e interações com o meio ambiente.....	18
4.2.2	Efeitos aos seres humanos e ao meio ambiente	21
4.3	ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	22
5	METODOLOGIA	25
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	25
5.2	COLETA.....	26
5.3	ANÁLISES	27
5.3.1	Hormônios sexuais femininos em água	27
5.3.2	Hormônios sexuais femininos em sedimento.....	29
5.3.3	Quantificação cromatográfica dos Hormônios sexuais femininos	30
5.3.4	Parâmetros físicos e químicos	31
5.3.4.1	<i>Nitrogênio Amoniacal</i>	31
5.3.4.2	<i>Nitrito</i>	32
5.3.4.3	<i>Nitrato</i>	32
5.3.4.4	<i>Ortofosfato</i>	32
5.3.4.5	<i>Fósforo total</i>	33
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6.1	HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS EM ÁGUA.....	34
6.2	HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS EM SEDIMENTOS	46
6.3	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	47
7	CONCLUSÃO	52
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Lei Federal Nº 6938, de 31 de agosto de 1981, poluição é a degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; que criem condições adversas às atividades sociais e econômicas; que afetem desfavoravelmente a biota, as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente ou lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos.

A poluição ambiental antropogênica pode ter origem por “numerosas fontes de produção, aplicação e resíduos, envolvendo uma multiplicidade de produtos químicos que afetam a biosfera”. (BLASCO; PICÓ, 2009). Por isso a preocupação com os problemas ambientais tem sido lugar comum em vários setores da sociedade mundial. Dentre os setores afetados pela poluição, talvez o que gere maior preocupação é o ambiente aquático, pois o aumento desordenado dos processos de urbanização, industrialização e expansão agrícola acarretou em um crescimento exagerado das demandas localizadas e na degradação da qualidade das águas (RAIMUNDO, C., 2007).

A contaminação e poluição da água podem ocorrer através de fontes pontuais ou difusas, sendo que as primeiras são mais encontradas próximas a centros urbanos e constituem-se principalmente do despejo de esgoto doméstico e industrial não tratado, além de serem identificadas no meio rural pelo descarte de dejetos de animais, especialmente em áreas com confinamento (BERWANGER, 2006). Como fonte difusa cita-se basicamente a agricultura, que contribui com nutrientes e agrotóxicos e é responsável por grande parte do impacto ambiental inculido sobre a água (WICKHAM et al., 2008).

Os principais constituintes dos efluentes domésticos são os contaminantes orgânicos, nutrientes e microrganismos, que podem ser patogênicos. Já a contaminação por efluentes industriais ocorre pelas matérias-primas e processos industriais utilizados, podendo ser uma forma complexa de poluição, devido à natureza, concentração e volume dos resíduos produzidos (MERTEN; MINELLA, 2002).

Nos últimos anos, com o aprimoramento de técnicas analíticas que permitiram a detecção e a quantificação de substâncias em nível traço, mais substâncias passaram a ser detectadas nos ambientes aquáticos, bem como foram

descobertos diversos micropoluentes nesses ambientes, os chamados contaminantes emergentes (GAMA, 2010). Esses contaminantes, aportados aos compartimentos aquáticos, geralmente são oriundos de processos industriais, agricultura e decorrentes do crescimento populacional (BLASTO; PICÓ, 2009).

Mesmo estando presentes em pequenas concentrações, os contaminantes podem desencadear diversos efeitos sobre os sistemas em que são introduzidos. Dentro deste grupo de compostos, os interferentes endócrinos têm sido considerados de grande importância (REIS FILHO et al., 2006).

A legislação CONAMA vigente não estabelece limites da concentração destes contaminantes no ambiente, já que passaram a ser detectados há poucos anos. Atualmente, existem estudos na ocorrência, efeitos produzidos em organismos expostos a estes contaminantes e alternativas na remoção dos mesmos do ambiente (BOLONG et al., 2009).

Dentre os interferentes endócrinos que mais vêm recebendo atenção estão os hormônios sexuais femininos (HSFs), devido à maior demanda de anticoncepcionais. No Brasil este aumento está relacionado com o crescimento no poder aquisitivo, com a maior participação da mulher no mercado de trabalho e o controle da fertilidade (PERSHE, 2000).

Dentre os HSFs, os estrógenos são os mais preocupantes, sendo considerados os responsáveis pela maioria dos efeitos disruptores desencadeados pela disposição de efluentes contaminados, são extremamente ativos biologicamente e estão relacionados à etiologia de vários tipos de cânceres. Os estrógenos introduzidos no ambiente podem ser naturais, como 17β -estradiol (E2), estriol (E3), estrona (E1) ou o sintético 17α -etinilestradiol (EE2), desenvolvido para uso em terapias de reposição hormonal e métodos contraceptivos (REIS FILHO et al 2006).

2 JUSTIFICATIVA

O monitoramento de interferentes endócrinos como os hormônios em águas superficiais deve ser realizado pela potencialidade desses poluentes emergentes em afetar os humanos e o ecossistema.

O ambiente monitorado sofre influência antrópica direta, principalmente de efluentes domésticos, que podem conter e vir a ser um aporte de hormônios sexuais femininos constante e considerável, conforme já comentado anteriormente, sobre as águas superficiais em ambientes urbanos. Portanto, o presente trabalho visa avaliar se existe a presença HSFs nesses corpos hídricos em concentrações relevantes e com potencial de interferir na saúde dos seres vivos.

3 OBJETIVOS

Determinar a concentração de 17β -estradiol, estrona e 17α -etinilestradiol, em alguns ambientes da bacia Hidrográfica do Alto Rio Iguaçu.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar alguns parâmetros físicos e químicos na água superficial da bacia do Alto Rio Iguaçu;
- Monitorar e determinar a concentração dos HSFs nas águas superficiais e sedimento da bacia do Alto Iguaçu, observando a variação da concentração com o passar do tempo;
- Avaliar a qualidade das águas com base nos dados obtidos a partir das análises realizadas.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 POLUENTES EMERGENTES

Contaminantes naturais e sintéticos presentes em concentrações na faixa de pgL^{-1} a ngL^{-1} apresentam um risco à saúde dos ecossistemas, pois existe uma carência na avaliação dos seus efeitos, conhecimento de suas fontes, comportamento no ambiente e níveis tóxicos de concentração. Tais contaminantes vêm chamando a atenção, sendo denominados contaminantes emergentes (FERNANDES et al., 2011).

Contaminantes emergentes referem-se a compostos químicos ou microrganismos, encontrados em matrizes ambientais e biológicas, que não são normalmente monitorados ou que ainda não possuem legislação regulatória correspondente, mas que podem apresentar risco à saúde humana e ao meio ambiente (SILVA; COLLINS, 2011). Alguns contaminantes emergentes, mesmo em baixas concentrações, podem interferir no sistema endócrino de humanos e animais (FERNANDES et al., 2011).

Ao contrário dos poluentes orgânicos persistentes, os poluentes emergentes podem ter potencial para causar efeitos negativos, sem ser persistentes, devido à entrada contínua desses compostos no meio ambiente, seja por processos industriais, descarte de produtos comerciais ou ainda por sua excreção, sendo lançados diretamente nos corpos hídricos, redes de esgoto, solos ou sedimentos (SILVA; COLLINS, 2011).

4.1.1 Interferentes endócrinos

O sistema endócrino tem a função de coordenar e regular a comunicação entre as células, através de um mecanismo complexo. Ele é constituído pela combinação de glândulas e hormônios, responsáveis por funções biológicas como reprodução, desenvolvimento embrionário, crescimento e metabolismo (REIS FILHO et al, 2006).

Algumas substâncias, quando presentes no meio ambiente, podem vir a interferir no sistema endócrino de seres humanos e animais, sendo por imitar ou antagonizar os efeitos de hormônios endógenos, perturbar a síntese e metabolismo

desses hormônios e perturbar a síntese de receptores hormonais específicos. Esses compostos são os chamados "compostos de desregulação endócrina" (CDE), e a preocupação associada a essas substâncias está relacionada aos riscos de magnitudes imprevisíveis que as mesmas podem causar (CAMPBELL et al, 2006).

Entre os sinônimos para os compostos de desregulação endócrinos pode-se citar: “xenoestrógenos, xeno-hormônios, perturbadores endócrinos, estrógenos ambientais, moduladores endócrinos, hormônios ambientais, agentes hormonalmente ativos e desreguladores” (REIS FILHO et al, 2007).

Os CDEs podem incluir uma grande variedade de produtos químicos, entre os quais se encontram os hormônios esteróides, que são sintetizados a partir do colesterol e possuem propriedades biologicamente ativas (CAMPBELL et al, 2006). Os principais grupos de CDEs estão discriminados no Quadro 1.

Quadro 1: Substâncias emergentes que têm sido reportadas como desreguladores endócrinos ou com potencial de ação desreguladora

Grupo	Exemplos de substâncias
Pesticidas	Atrazina, lindano, triclosan, DBCP (dibromocloropropano), PCP (pentaclorofenol), rifuralin
Esteróides naturais	Androgênios, estrogênios, fitoestrogênios
Fármacos	Fluoxetina, tamoxifan, fluvastatina, medetomidina, propranolol, hormônios sintéticos
Produtos químicos industriais	Alquifenóis, ftalatos, bisfenol-A, estireno, retardantes de chama bromados (PBDEs), surfactantes (incluindo perfluorocanosulfonatos)

Fonte: REIS FILHO et al 2007

Os CDEs “permanecerão por muito tempo na natureza devido a sua alta estabilidade e, mesmo em pequenas quantidades, seu efeito poderá ser biomagnificado através da ascensão na cadeia alimentar” (ALVES et al, 2007). Devido às distintas classes dos interferentes existe uma variedade de mecanismos para explicar a sua ação nos organismos, sendo que essas interferências são influenciadas por fatores como dose, duração do contato e via de exposição (ALVES et al, 2007).

4.2 HORMÔNIOS

Os hormônios têm a função de mensageiros químicos e são responsáveis pela comunicação entre células de diferentes tipos. As células possuem receptores que são capazes de identificar os hormônios. As respostas biológicas vêm através de reações bioquímicas oriundas da interação hormônio-receptor (REIS FILHO et al, 2006).

Esteróides são encontrados em materiais biológicos como sangue e urina, e compreendem substâncias como os hormônios e seus precursores. O grupo dos esteróides compreende três classes principais, de acordo com suas funções: esteróides hormonais, como os androgênios, corticóides, estrogênios e progestagênios; colesterol e derivados e os fitoesteróides (GHISELLI; JARDIM, 2007).

Os estrogênios mais comumente encontrados em águas residuárias são os naturais, estrona (E1), 17β -estradiol (E2) e estriol (E3), e o sintético, 17α -etinilestradiol (EE2). “E1, E2 e E3 são hormônios predominantemente femininos, importantes para a manutenção da saúde dos tecidos reprodutivos, seios, pele e do cérebro, enquanto EE2 é um esteróide sintético, usado como contraceptivo” (CAMPBELL et al, 2006). As estruturas dos principais hormônios estão apresentadas na Figura 1.

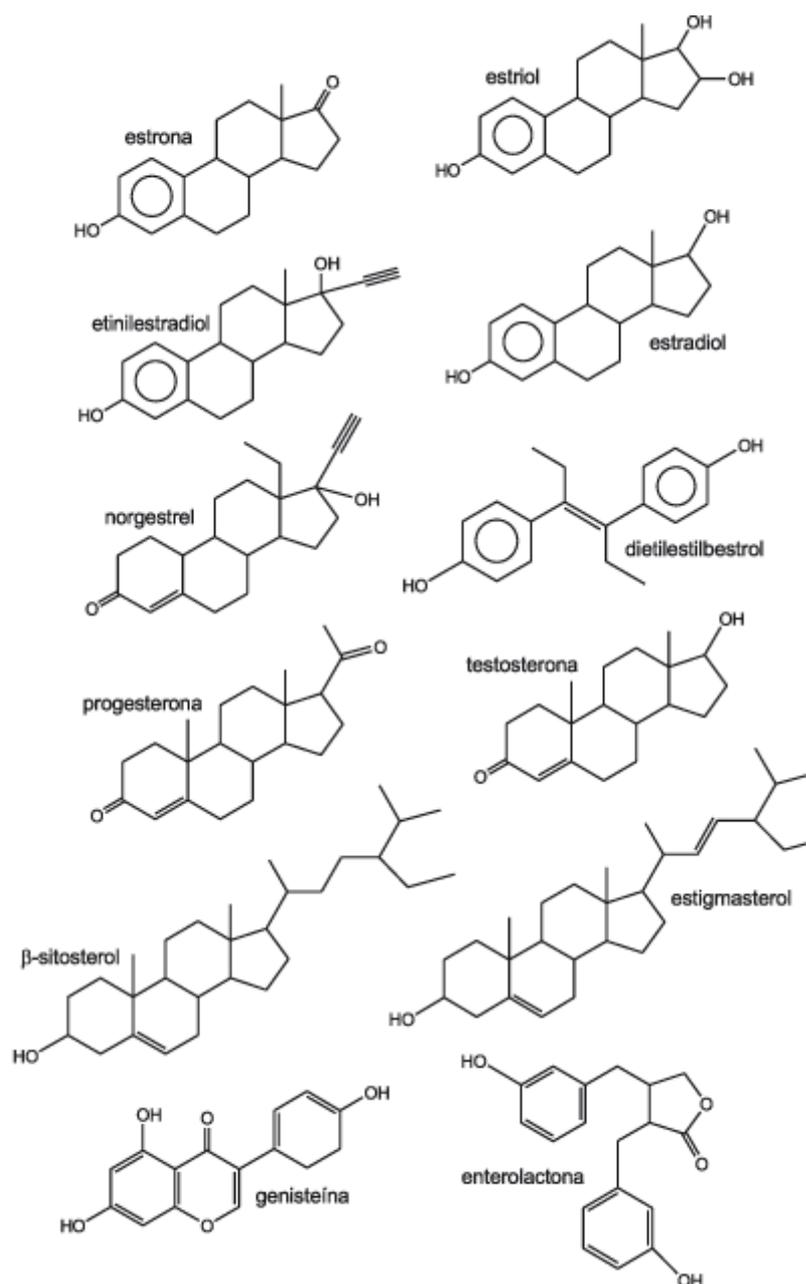


Figura 1: Estruturas químicas dos principais esteróides sexuais e fitoesteróides
 Fonte: GHISELLI; JARDIM (2007)

“Os estrogênios apresentam em sua estrutura um grupo fenólico e em alguns casos um grupo hidroxila alifático, enquanto que nos progestagênios este grupo fenólico é substituído por um grupo cetona” (GHISELLI; JARDIM, 2007). Algumas propriedades dos hormônios estudados são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Características dos principais estrógenos

Nome comum	Número CAS	Fórmula	γ_{sat} ($\mu\text{g L}^{-1}$ 25°C)	log K_{ow}	Pressão de Vapor (mm Hg)	K_{oc}	Meia- vida	pK_{a}
17 β-Estradiol	50-28-2	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$	12960	4,01	$2,3 \cdot 10^{-10}$	3300	2 – 3; 0,2 – 9	10,4 6
Estrona	53-16-7	$\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_2$	12420	3,13	$2,3 \cdot 10^{-10}$	4882	2 – 3	10,5
Estriol	50-27-1	$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$	13250	2,45	$6,7 \cdot 10^{-15}$	1944	NR	NR
17 α-Etinilestradiol	57-63-6	$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_2$	483	3,67	$4,5 \cdot 10^{-11}$	4770	4 – 6	10,4

γ_{sat} : solubilidade em água; K_{ow} : coeficiente de partição octanol/água; K_{oc} : constante de sorção; pK_{a} : constante de dissociação ácida; NR: não relatado.

Fonte: Adaptado de REIS FILHO et al., 2006.

O destino e comportamento dos hormônios no ambiente são influenciados por suas propriedades físico-químicas. Compostos com baixa solubilidade e alto coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}), geralmente tendem a bioacumular na cadeia alimentar. O K_{ow} também pode determinar a afinidade dessas substâncias pela matéria orgânica. Podem ocorrer dois mecanismos de sorção: a absorção, que está relacionada com as interações hidrofóbicas caracterizadas pelo valor de K_{ow} ; e a adsorção que trata de interações eletrostáticas e a tendência da substância de se dissociar no meio aquoso, a qual é caracterizada pela sua constante de dissociação, pK_{a} . Para que ocorra uma facilidade no transporte desses hormônios pelos corpos d'água os mesmos devem apresentar alta solubilidade em água (γ_{sat}) (RAIMUNDO, 2007).

Conforme observado através das características da tabela 1 e da figura 1, pode-se ver que as estruturas comuns dos hormônios, tais como os grupos fenólicos e as hidroxilas alifáticas, são responsáveis para suas principais propriedades, que podem explicar alguns comportamentos desses no ambiente aquático. Por exemplo, a pressão de vapor dessas substâncias auxiliam a observar que a volatilidade não é tão significativa; também nota-se a lipofilidade através do $\log K_{\text{ow}}$ a saturação dos compostos na água; a biodegradabilidade dos compostos pela meia-vida e a ionização conforme o pK_{a} .

4.2.1 Aporte e interações com o meio ambiente

Os hormônios esteróides são excretados por humanos e animais, em diferentes quantidades, dependendo do estado de saúde, idade, alimentação ou

gravidez. Esses hormônios acabam sendo carregados para o ambiente e conseqüentemente para as águas superficiais através de eliminação de resíduos animais e descarga de águas residuárias (CAMPBELL et al, 2006). A Tabela 2 apresenta a média dos valores excretados diariamente na urina de humanos.

Tabela 2: Quantidade média de estrógenos diariamente excretada na urina de humano

Estrógeno	Excreção	Excreção Feminina		
	Masculina ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	Menstruação ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	Gravidez ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)	Menopausa ($\mu\text{g}/24\text{ h}$)
17 β -Estradiol	1,6	3,5	259	2,3
Estrona	3,9	8,0	600	4,0
Estriol	1,5	4,8	6000	1,0

Fonte: REIS FILHO et al., 2006

Embora os estrogênios possam ser biologicamente degradados, eles acabam não sendo totalmente removidos em estações de tratamento de esgoto (ETEs), sendo descarregados em águas superficiais, e quantificados em concentrações de ng L^{-1} (CHEN; KOU; DING, 2009).

A Figura 2 apresenta a via de entrada dos estrogênios em corpos hídricos.

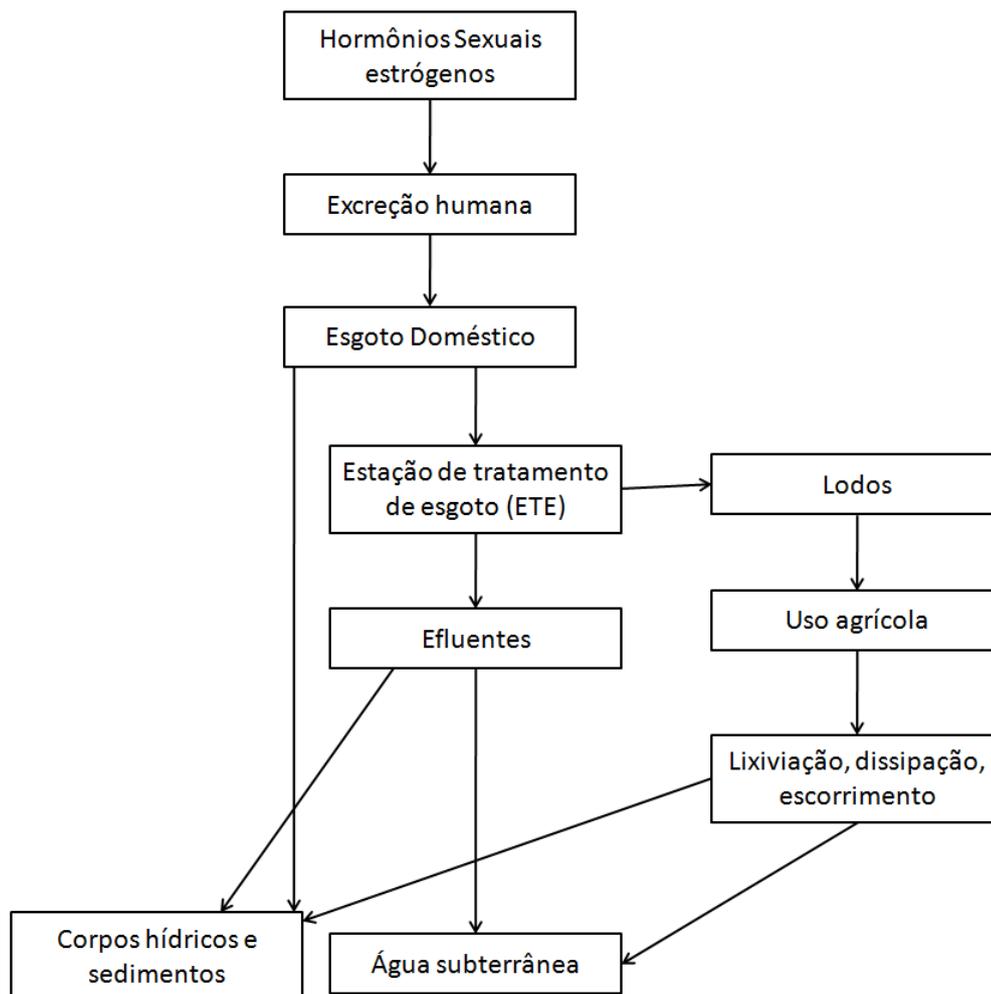


Figura 2: Representação esquemática da principal via de entrada de disruptores endócrinos hormonais em sistemas aquáticos

Fonte: Adaptado de REIS FILHO et al. (2006)

Conforme observado através da figura 2, a principal via de entrada dos HSFs nos sistemas aquáticos é através da excreção humana, as quais os valores eliminados podem variar nos humanos, e tais valores foram explicados na tabela 2. Conforme ilustrado independe se o despejo passar por um tratamento ou não, ele acaba chegando aos corpos hídricos, já que os mesmo não são totalmente removidos nas ETEs, conforme já comentado anteriormente. Também é possível que através do processo de lixiviação, dissipação e escoamento pode haver a entrada desses poluentes nas águas, quando o lodo é reutilizado em uso agrícola; isso porque quando o material é depositado em forma de lodo ele arrasta HSFs presente na água que está sendo tratada.

4.2.2 Efeitos aos seres humanos e ao meio ambiente

Estrogênios e progestagênios já foram administrados como opção à terapia de substituição hormonal visando o tratamento de distúrbios hormonais durante a menopausa (SÁNCHEZ et al, 2008). Os estrogênios podem ser administrados no controle de distúrbios fisiológicos e no tratamento do câncer de próstata e de mama, os derivados sintéticos dos estrogênios também são empregados como contraceptivos (GHISELLI; JARDIM, 2007). Em alguns casos os estrogênios têm sido aplicados no tratamento ou prevenção de doenças como Alzheimer, que afetam as mulheres em uma grande extensão, já os progestagênios são utilizados em tratamentos de infertilidade e descontrole do ciclo menstrual (SÁNCHEZ et al, 2008).

Um dos efeitos mais negativos da administração desses hormônios exógenos é sua contribuição para o desenvolvimento e evolução do câncer de mama e câncer do endométrio (SÁNCHEZ et al, 2008).

Um meio ideal para se estudar os efeitos das substâncias endócrinas em animais é o ambiente aquático, pois tal ambiente contém os peixes, que são um dos grupos mais estudados em relação aos efeitos dos produtos químicos nos processos de desenvolvimento e reprodução (JOBILING et al, 1998). “A interação entre um composto estrogênico e seu receptor provoca uma série de reações que podem eventualmente levar a efeitos sobre a reprodução e desenvolvimento” (VETHAAK et al., 2005).

Os estrogênios exercem efeitos nos peixes em baixos níveis de concentração e estão cada vez mais se tornando um tema de grande preocupação mundial por seu risco potencial para os seres humanos e para a vida selvagem. (CHEN; KUO; DING, 2009). Já foram observados problemas ambientais decorrentes desses compostos no ambiente aquático, como a feminização de peixes do sexo masculino (VETHAAK et al., 2005) pela indução de síntese e secreção de vitelogenina (VTG), uma proteína específica de peixes do sexo feminino, por peixes do sexo oposto (JOBILING et al, 1998). Além da feminização, podem ocorrer casos de hermafroditismo, inibição no desenvolvimento das gônadas e declínio na reprodução (BILA; DEZOTTI, 2007).

A indução da síntese de VTG não ocorre só em espécies de peixes. Estudos mostraram alterações nos sistemas reprodutivos de espécies como tartarugas,

mexilhões, espécies de jacarés jovens, alguns moluscos como caramujos e lesmas, pássaros e alguns mamíferos (BILA; DEZOTTI, 2007).

As evidências observadas nessas espécies sugerem que possíveis alterações na saúde humana envolvendo o sistema reprodutivo, como os cânceres de mama e de testículo podem estar relacionadas à exposição aos estrogênios (GHISELLI; JARDINS, 2006). Alguns esteróides podem estar envolvidos com a indução de tumores e sua progressão maligna, devido à exposição inadequada ou prolongada. A indução de estrogênios aumenta a proliferação celular, o que leva ao aumento da probabilidade de ocorrerem mutações durante a síntese de DNA (BILA; DEZOTTI, 2007).

Um dos possíveis efeitos destas substâncias em seres humanos pode ser evidenciado a partir da administração do estrogênio sintético dietilestilbestrol, no período entre 1948 a 1971, por mulheres grávidas, prescrito para evitar o aborto espontâneo e promover o crescimento do feto. Muitas das filhas dessas mulheres são hoje estéreis e algumas têm desenvolvido um tipo raro de câncer vaginal. Os homens mostraram uma grande incidência de anomalias em seus órgãos sexuais, apresentaram contagem de espermatozoides diminuída e um risco maior de desenvolver câncer de testículos (GHISELLI; JARDIM, 2007).

4.3 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

A cromatografia líquida de alta eficiência e a cromatografia gasosa são bastante utilizadas quando se trata de separações em química ambiental. A técnica de separação é escolhida pelas propriedades físico-químicas, volatilidade e polaridade do analito (SILVA; COLLINS, 2011).

Um dos parâmetros que deve ser levado em conta é o pH da amostra, pois no caso de poluentes orgânicos emergentes, o pH determina a forma química do analito, ou sua degradação, interferindo assim na eficiência de extração (SILVA; COLLINS, 2011).

Para a análise de compostos orgânicos em água, como na análise de carbono na forma não volátil, percebem-se vantagens ao se utilizar a cromatografia líquida, pois o material pode ser diretamente analisado (REIS FILHO et al., 2006).

As etapas de extração, limpeza e concentração dos analitos são de grande importância para a determinação de poluentes emergentes, pois esses são

encontrados em baixas concentrações em matrizes ambientais (SILVA; COLLINS, 2011). A extração de estrógenos em água é usualmente realizada utilizando-se extração em fase sólida em cartuchos, sendo que o octadecilsilano (C18) quimicamente ligado à sílica é o adsorvente normalmente empregado (REIS FILHO et al., 2006).

A extração em fase sólida é normalmente usada por requerer pequenos volumes de solvente orgânico, quando comparado com extração líquido-líquido; os cartuchos são pequenos e práticos para amostragem em campo; raramente ocorre formação de emulsão; os cartuchos são descartáveis, que juntamente com o fato de usar menos solventes, diminui os custos e evita contaminações por material que não foi devidamente limpo (SLACK; SNOW, 2007).

Para a extração o cartucho deve ser condicionado, o que consiste na passagem de solventes com polaridade crescente, para promover o arranjo das cadeias de carbono e assim possibilitar a recuperação do analito de forma eficiente. Após o condicionamento, a amostra é passada pelo cartucho contendo o adsorvente, e ocorre a retenção dos HSFs; depois é feita a lavagem, para eliminar substâncias indesejáveis que ficaram retidas, e por fim é feita a eluição do analito com solvente adequado (MACHADO, 2010).

No caso de matrizes sólidas, a extração pode ser por dissolução da amostra no solvente apropriado ou passando o solvente pela amostra para a remoção do analito. Pode ocorrer perda de amostra durante a amostragem, moagem, transferência, dissolução, filtração ou ainda na injeção da amostra, o que afeta a precisão do método (SLACK; SNOW, 2007).

Após a preparação da amostra, quando for injetada ao cromatógrafo ela deve ser representativa da amostra original; o analito deve estar em um solvente compatível com a fase móvel; o analito deve ser estável nesse solvente; a amostra deve estar livre de partículas que possam danificar o cromatógrafo; o analito deve estar em concentração adequada para o método de detecção utilizado e a forma química do mesmo também deve ser compatível com o modo de detecção (SLACK; SNOW, 2007).

As fases estacionárias mais comumente usadas em cromatografia líquida para esse caso são do tipo fase reversa com base de sílica com grupos C18, com fases móveis de metanol:água ou acetonitrila:água. Utilizam-se normalmente

detectores ultravioleta e por fluorescência, porém espectrômetros de massa conseguem atingir limites de detecção bem mais baixos (SILVA; COLLINS, 2011).

5 METODOLOGIA

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado em alguns rios da bacia do Alto Iguaçu, que compreende a cidade de Curitiba e alguns municípios da Região Metropolitana de Curitiba (RMC), no estado do Paraná. A bacia do Alto Iguaçu possui uma área de 3130,22 km² e está localizada entre a Serra do Mar e a Escarpa Devoniana, sendo constituída por 30 sub-bacias, conforme apresentado na Figura 3.

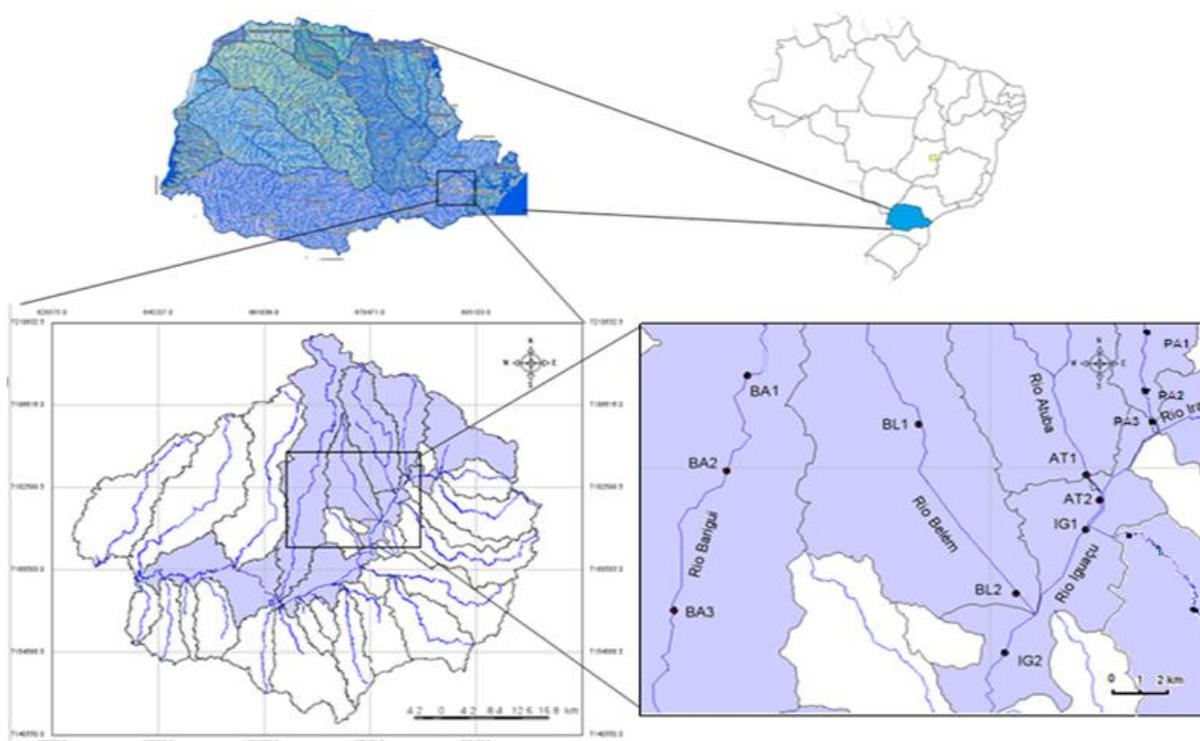


Figura 3: Bacia do Alto Iguaçu e pontos de análise
 Fonte: Adaptado de KRAMER, 2012.

A bacia do Alto Iguaçu compreende total ou parcialmente 15 municípios, sendo que população média dessa região é de três milhões de habitantes, ou seja, representa aproximadamente 25% da população total e 30% da população urbana do estado do Paraná, e apresenta baixos índices de atendimento e tratamento de esgoto (PORTO *et al.*, 2007). Segundo as informações da SANEPAR, nessa área existem 79 estações de tratamento de esgotos em funcionamento (SUDERHSA, 2004).

Essa região possui um alto potencial para abastecimento humano, assim como uma crescente ocupação antrópica (ANDREOLI *et al.*, 2000). No presente trabalho, foram monitorados cinco rios dessa região, em 12 locais diferentes, que são apresentados no Quadro 2.

Quadro 2: Pontos monitorados no estudo.

SIGLA	NOME	LATITUDE	LONGITUDE
AT1	Rio Atuba 1 (Ponte)	25°26'33,2" S	49°12'00,3" W
AT2	Rio Atuba 2 (Saída da ETE)	25°28'17,0" S	49°11'06,0" W
BA1	Rio Barigui 1	25°25'36,9" S	49°18'38,4" W
BA2	Rio Barigui 2 (Próximo ETE Sta. Quitéria)	25°27'47,0" S	49°19'11,4" W
BA3	Rio Barigui 3 (Ponte CTBA/Araucária)	25°33'20,9" S	49°20'32,7" W
BL1	Rio Belém 1 (PUC)	25°27'01,1" S	49°14'55,7" W
BL2	Rio Belém 2	25°30'37,8" S	49°12'44,4" W
IG1	Rio Iguazu 1	25°27'14,0" S	49°10'17" W
IG2	Rio Iguazu 2	25°29'01,0" S	49°11'22" W
PA1	Rio Palmital 1 (Embrapa)	25°23'36,1" S	49°10'23,5" W
PA2	Rio Palmital 2 (Alphaville)	25°24'54,2" S	49°10'12,4" W
PA3	Rio Palmital 3 (Vargem Grande)	25°26'35,8" S	49°10'02,5" W

Fonte: autoria própria

O principal critério para a escolha da localização dos pontos avaliados no trabalho foi a intensa atividade poluidora próximo à eles.

5.2 COLETA

As coletas foram realizadas nos dias 03 de agosto e 16 de novembro de 2010; 11 de abril, 13 de junho e 13 de setembro de 2011 e 09 de abril e 25 de junho de 2012.

As amostras líquidas foram coletadas superficialmente com uma garrafa Van Dorn e então preservadas em garrafas do tipo âmbar descontaminadas previamente com ácido clorídrico 5%, e mantidas a uma temperatura de 4 °C, para evitar a degradação dos compostos de interesse. Já as amostras de sedimento foram coletadas com draga do tipo Petersen modificada, e conservadas em sacos plásticos, a 0°C até o momento da análise. Além disso, em campo foram

determinadas as temperaturas do ar e da água e oxigênio dissolvido (OD), através de uma sonda multiparâmetros.

5.3 ANÁLISES

Para a análise dos HSFs, a metodologia usada foi baseada na descrita por MACHADO (2010) e os parâmetros físico-químicos foram baseados segundo APHA (1998). Os materiais utilizados nas análises foram primeiramente lavados com água corrente e detergente Extran 8% (v/v), utilizando ultrassom para potencializar o efeito do detergente, e depois enxaguados com água destilada. Para a diminuição de interferentes orgânicos, as vidrarias não-volumétricas foram submetidas à secagem em estufa, por um período de 4 horas.

Para as análises cromatográficas, foram usados padrões analíticos de 17α -etinilestradiol, 17β -estradiol e estrona, com graus de pureza maiores que 98% e gás nitrogênio comercial 4.5. Os solventes orgânicos usados (acetona, acetonitrila, diclorometano, etanol, metanol e hexano) possuíam grau HPLC de pureza.

5.3.1 Hormônios sexuais femininos em água

Para concentrar os hormônios 17β -estradiol (E2), estrona (E1) e 17α -etinilestradiol (EE2), presentes nas amostras de água, foi utilizado o método de extração por fase sólida (SPE), conforme descrito por Machado (2010), baseado em Falone (2007). Primeiramente as amostras foram filtradas em uma membrana de acetato de celulose (0,45 μ m de porosidade), para reter o material particulado presente. Em seguida, ajustou-se o pH das amostras para 3,0, para dessa forma obter um aumento da afinidade dos compostos pelo cartucho de extração em fase sólida (MACHADO, 2010). O condicionamento do cartucho de extração em fase sólida de volume 6 mL, contendo 1 g de octadecilsilano, C18, foi realizado com a passagem seguida de solventes com polaridade em ordem crescente, no caso, metanol e água ultra pura, em uma vazão de 8 a 10 mL por minuto. “Dessa forma, os HSFs não polares ficaram retidos na fase sólida não polar, enquanto as impurezas que são polares foram eluídas” (MACHADO, 2010). Após o condicionamento dos cartuchos, extraiu-se um litro de amostra com o pH ajustado para 3,0 e após a

extração os cartuchos foram secos em atmosfera de nitrogênio para garantir que os cartuchos ficassem livres de umidade.

Os HSFs retidos no cartucho foram eluídos com 4 porções de 3 mL de acetonitrila. O solvente foi evaporado em um rotaevaporador, a 40 °C e o conteúdo redissolvido em 1 mL de metanol. Para solubilização eficiente utilizou-se o ultrassom. O extrato obtido ficou então concentrado 1000 vezes. A Figura 4 apresenta o processo simplificado.

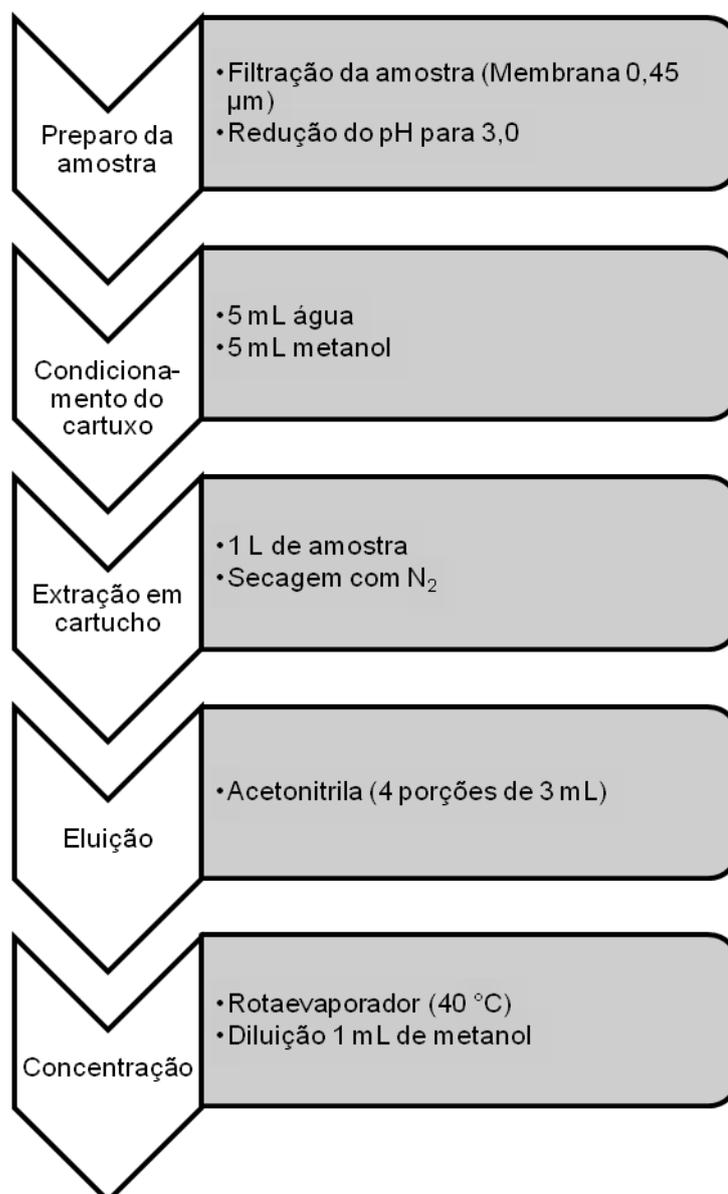


Figura 4: Fluxograma para preparação de amostras de água na determinação de hormônios sexuais femininos
Fonte: autoria própria

5.3.2 Hormônios sexuais femininos em sedimento

A metodologia para extração de estrogênios da amostra sólida foi baseada em Machado (2010) e em Alda e Barceló (2002). Para o preparo das amostras, as mesmas foram secas em liofilizador, seguido da desagregação em almofariz e peneiramento, até obter-se uma alíquota de 20 g. Para a extração, a amostra foi ultrassonificada por 5 minutos com 30 mL da mistura de solventes hexano e acetona (1:1). Esse processo foi repetido mais uma vez, totalizando 60 mL de solventes. Os extratos foram então filtrados em papel filtro, transferidos para um balão de fundo redondo e rotaevaporados até a completa secagem dos solventes presentes no balão. Em seguida, redissolveu-se os HSFs em 2 mL de mistura de metanol e acetona (1:1) e 18mL de água ultrapura, com o auxílio de um ultrassom. A extração da amostra foi realizada em cartucho de octadecilsilano, previamente condicionado (conforme descrito na seção 5.3.1) e após a extração os cartuchos foram secos em atmosfera de nitrogênio para garantir que os cartuchos ficassem livres de umidade.

Os HSFs retidos no cartucho foram eluídos com 4 porções de 3 mL de acetonitrila. O solvente foi evaporado em um rotaevaporador, a 40 °C e o analito foi redissolvido em 0,5mL de metanol. A Figura 5 apresenta uma esquematização do processo.

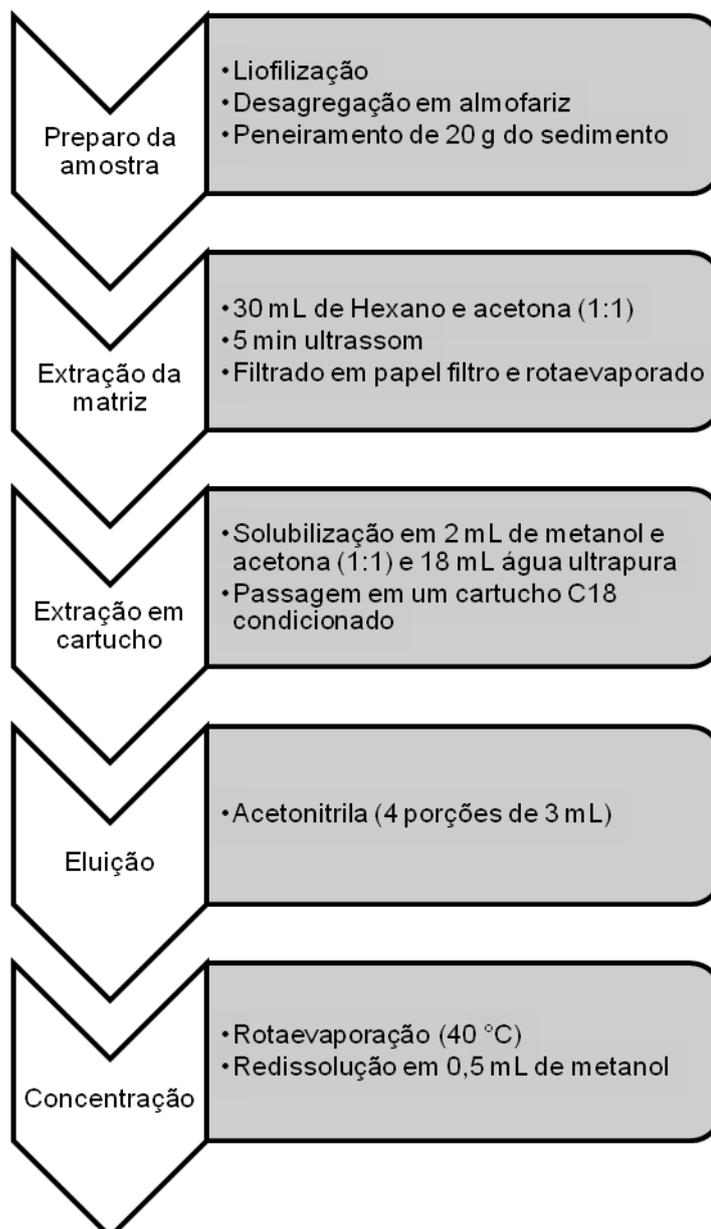


Figura 5: Fluxograma para preparação de amostras de sedimentos na determinação de hormônios sexuais femininos

Fonte: autoria própria

5.3.3 Quantificação cromatográfica dos Hormônios sexuais femininos

Fez-se a quantificação dos HSFs utilizando um cromatógrafo de fase líquida da Shimadzu, equipado com bomba modelo LC 20AT, degaseificador modelo DGU-20A e detector de ultravioleta com arranjo de diodos modelo SPD M20A, que se encontra no Laboratório de Engenharia Ambiental (LABEAM), da Universidade Federal do Paraná (UFPR). As especificações para o funcionamento do cromatógrafo, na determinação dos HSFs, são apontadas no Quadro 3.

Quadro 3: Condições cromatográficas na determinação dos HSFs

Variável	Condição
Volume de injeção	20 µL
Coluna cromatográfica	ODS C18 (octadecilsilano)
Dimensões da coluna	4,6 mm x 15 cm
Fluxo	1,4 mL/min
Comprimento de onda (UV)	200 nm
Fase móvel	Isocrática – acetonitrila:água (1:1)

Fonte: autoria própria

5.3.4 Parâmetros físicos e químicos

Os parâmetros físicos e químicos da água foram avaliados no Laboratório de Estudos Avançados em Química Ambiental (LEAQUA) da UTFPR. As análises das espécies menos estáveis nas amostras de água, como amônia, foram realizadas no dia. Enquanto as demais análises foram realizadas no máximo nas primeiras 48 horas, para que o resultado não fosse comprometido.

O Quadro 4, apresenta a metodologia utilizada para cada parâmetro analisado, e a referência segundo o Standard Methods from the Examination of Water and Wastewater.

Quadro 4: Análises físico-químicas e suas metodologias.

Análise	Método	Referência
Fósforo total	Método com digestão com persulfato	APHA, 1998
Nitrito	Método colorimétrico	APHA, 1998
Nitrato	Método de redução por Cd	APHA, 1998
Nitrogênio amoniacal	Método do fenato	APHA, 1998
Ortofosfato	Método do ácido ascórbico	APHA, 1998

Fonte: autoria própria

5.3.4.1 Nitrogênio Amoniacal

O nitrogênio amoniacal foi determinada pelo método do fenol, pela reação da amônia com hipoclorito e fenol, catalisada por nitroprussiato de sódio. Para cada 10 mL de amostra, adicionou-se 0,4 mL da solução de fenol (11,1 mL de fenol líquido diluídos em 100 mL de álcool etílico 95%), 0,4 mL da solução de nitroprussiato (0,5 g de nitroprussiato de sódio dissolvido em 100 mL de água deionizada) e 1 mL da

solução oxidante (100 mL de solução de citrato alcalino com 25 mL de solução de hipoclorito de sódio comercial). Deixou-se em ambiente escuro por 30 minutos e realizou-se a leitura em espectrofotômetro em 640 nm.

5.3.4.2 Nitrito

O nitrito foi determinado pelo método colorimétrico, no qual há formação de uma cor vermelho púrpura produzida entre pH 2 e 2,5 depois da adição de sulfanilamida e N-(1-naftil) etilenodiamino a amostra. Para cada 10 mL de amostra, adicionou-se 0,4 mL de reativo colorido (adição de 100 mL de ácido fosfórico, a 800 mL de água deionizada, seguido da adição de 10 g de sulfanilamida; após a dissolução completa adiciona-se 1 g de N-(1-naftil) etilenodiamino e avolumou-se a solução para 1 L e realizou-se a leitura em espectrofotômetro em 543 nm.

5.3.4.3 Nitrato

O nitrato foi determinado utilizando-se o método de redução por cádmio, no qual o nitrato é reduzido a nitrito na presença do metal cádmio, numa coluna, previamente tratado com CuSO_4 . Posteriormente, o nitrito foi quantificado pela reação com sulfanilamida e N-(1-naftil) etilenodiamino. Passou-se a amostra filtrada por uma coluna de cádmio e para cada 10 mL de amostra, adicionou-se 0,4 mL de reativo colorido e realizou-se a leitura em espectrofotômetro em 543 nm.

5.3.4.4 Ortofosfato

Para a determinação de ortofosfato utilizou-se o método do ácido ascórbico. Para cada 10 mL de amostra, adicionou-se 1,6 mL do reagente combinado (50 mL de H_2SO_4 5N, 5 mL da solução de tartarato de antimônio e potássio, 15 mL da solução de molibdato de amônio e 30 mL da solução de ácido ascórbico), aguardou-se 20 minutos e realizou-se a leitura em espectrofotômetro em 880 nm.

5.3.4.5 *Fósforo total*

Para a determinação de fósforo total, realizou-se a digestão fechada em autoclave de 5 mL de amostra com 2,5 mL da solução de persulfato de potássio a 120 °C por 30 minutos. Transferiu-se a solução para balão volumétrico de 25 mL, adicionou-se 2 gotas de fenolftaleína e gotas da solução de NaOH até o pH tornar-se básico e avolumou-se o balão, para uma alíquota de 10 mL, utilizou-se 1,6 mL de reagente combinado, aguardou-se 20 minutos e realizou-se leitura em espectrofotômetro em 880 nm.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS EM ÁGUA

A Figura 6 representa um cromatograma nos quais são mostrados os picos cromatográficos referentes aos HSF's analisados durante a pesquisa. Estes são evidenciados entre os tempos de 5,5 à 8,5 minutos, e representam, respectivamente, 17β -estradiol (E2), o 17α -etinilestradiol (EE2) e a estrona (E1). Os picos de maior intensidade, que ocorrem nos tempos de 1,5 a 5,0 minutos representam os solventes utilizados nas análises.

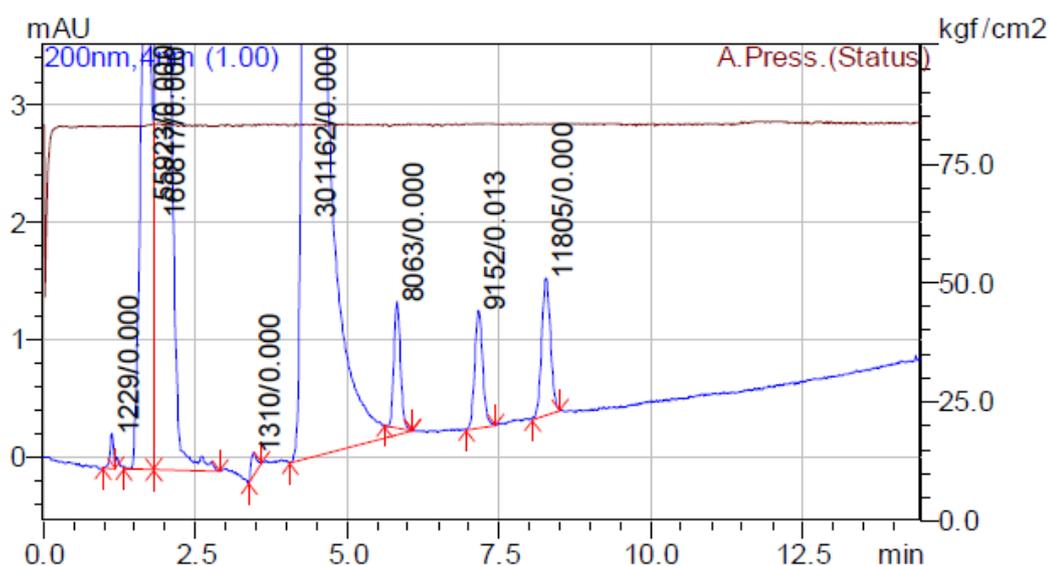


Figura 6: Cromatograma que contém a sequência de retenção dos analitos pela coluna cromatográfica utilizada. Os três últimos picos caracterizam o E2, o EE2 e o E1, respectivamente.

Fonte: CARDOSO, 2011.

A Figura 7 representa um modelo realizado de curva analítica para os HSFs, na qual as concentrações dos hormônios variaram de 0,5 até $5 \mu\text{g L}^{-1}$. Para o preparo da curva utilizou-se o método de calibração utilizando padrão externo.

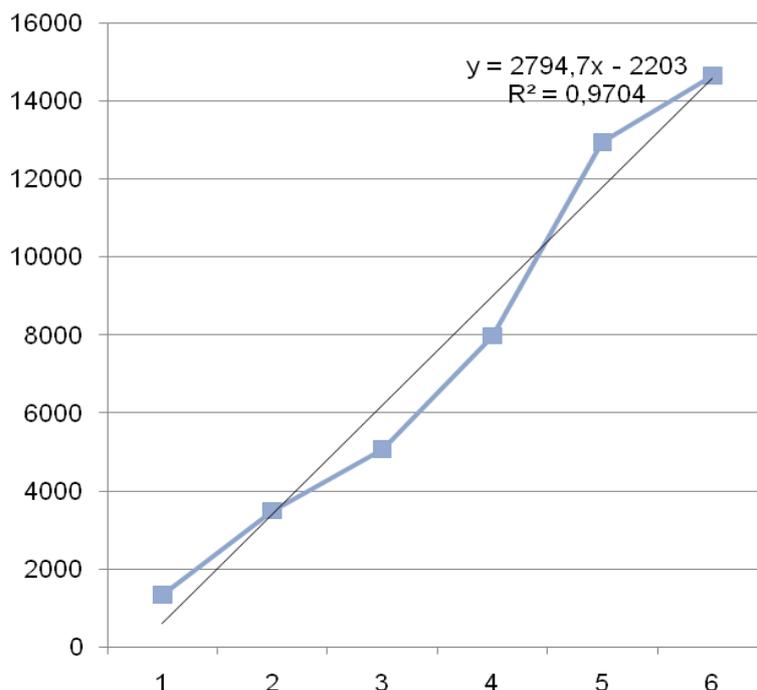


Figura 7: Curva analítica utilizada para determinação dos hormônios sexuais femininos
Fonte: Autoria própria.

A Tabela 3 apresenta os resultados das condições cromatográficas dos parâmetros analíticos do método. O limite de detecção é a menor concentração que se pode distinguir com certo nível de confiança um composto, para determiná-lo usou-se a fórmula $LD = 3.3 (SD/S)$. Já o limite de quantificação é determinado pela equação $LQ=10(SD/S)$, e é definido como a mais baixa concentração que pode ser quantificada dentro dos limites de precisão e exatidão do método durante as operações de rotina do laboratório. Sendo que o SD é o desvio padrão da resposta e S equivale ao declive da curva.

Tabela 3: Limites de detecção e quantificação de HSFs do equipamento (HPLC) e dos métodos analíticos de cada matriz

Composto	Limites do Equipamento		Limites dos Métodos	
	LD _{HPLC} (ng.L ⁻¹)	LQ _{HPLC} (µg.L ⁻¹)	LD _{ÁGUA} (µg.L ⁻¹)	LD _{SED.} (µg.L ⁻¹)
E2	27	98	0,09	2,6
EE2	43	122	0,12	3,0
E1	29	100	0,11	2,2

Fonte: Autoria própria.

Os valores referentes à cada analito são dispostos à seguir separadamente, inicialmente através das tabelas 4, 5 e 6, conforme o ponto analisados, durante o período do estudo. A Tabela 4 apresenta a concentração de Estradiol.

Tabela 4: Concentração de estradiol encontrada nos pontos analisados

Ponto	Estradiol (µg/L)						
	Ago/10	Nov/10	Abr/11	Jun/11	Set/11	Abr/12	Jun/12
AT1	<LD	<LD	<LD	6,80	<LD	NA	0,90
AT2	<LD	0,36	<LD	1,02	<LD	NA	1,06
BA1	NA	NA	<LD	<LD	NA	<LD	<LD
BA2	NA	NA	<LD	2,24	NA	<LD	1,30
BA3	NA	NA	<LD	7,35	NA	NA	<LD
BL1	NA	NA	2,53	1,71	0,84	1,46	<LD
BL2	NA	NA	4,72	1,17	0,42	1,20	1,83
IG1	<LD	3,57	0,26	2,10	4,69	<LD	<LD
IG2	NA	NA	<LD	4,47	1,66	<LD	1,20
PA1	<LD	<LD	0,67	NA	1,43	<LD	<LD
PA2	<LD	2,42	1,40	<LD	1,28	NA	<LD
PA3	<LD	1,92	<LD	2,43	<LD	<LD	<LD

<LD – Valor abaixo do limite de detecção

NA – Não analisado

Fonte: autoria própria

Dentre os hormônios pesquisados, o 17 β -Estradiol (E2) foi o que apareceu com maior frequência, sendo encontrado 31 vezes. Sua concentração variou de 0,26 a 7,35 µg/L, respectivamente nos pontos IG1, na coleta de abril de 2011 e BA3 na coleta de julho de 2011. Por exercer um importante papel no controle do ciclo menstrual, esse é um dos principais estrogênios produzidos pelo corpo humano, além de ser também utilizado na formulação de anticoncepcionais (RAIMUNDO, 2007). Sendo assim, o E2 pode ser de origem natural ou sintética, então a presença desse hormônio nas águas superficiais analisadas pode ser devido principalmente a possíveis contaminações provenientes do aporte de esgotos domésticos na região estudada.

A Tabela 5 apresenta a concentração de 17 α -Ethinilestradiol encontrada nos pontos de coleta analisados.

Tabela 5: Concentração de etinilestradiol encontrada nos pontos analisados.

Ponto	Etinilestradiol ($\mu\text{g/L}$)						
	Ago/10	Nov/10	Abr/11	Jun/11	Set/11	Abr/12	Jun/12
AT1	<LD	0,58	<LD	<LD	0,95	NA	1,12
AT2	<LD	0,05	<LD	<LD	1,23	NA	1,17
BA1	NA	NA	<LD	<LD	NA	<LD	<LD
BA2	NA	NA	<LD	<LD	NA	<LD	1,18
BA3	NA	NA	<LD	<LD	NA	NA	<LD
BL1	NA	NA	5,83	1,71	0,30	1,94	<LD
BL2	NA	NA	3,54	0,67	<LD	1,68	1,7
IG1	<LD	2,92	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
IG2	NA	NA	<LD	<LD	<LD	<LD	1,16
PA1	<LD	0,34	3,85	NA	<LD	<LD	<LD
PA2	<LD	1,92	7,76	<LD	<LD	NA	<LD
PA3	<LD	0,89	9,52	<LD	<LD	<LD	<LD

<LD – Valor abaixo do limite de detecção

NA – Não analisado

Fonte: autoria própria

O 17 α -Etinilestradiol (EE2) foi o segundo hormônio encontrado em maior quantidade e frequência, aparecendo 23 vezes durante o período de análises. Conforme a literatura, outros autores obtiveram resultados semelhantes, no qual o EE2 foi encontrado em valores menores que o E2 (BARONTI et al., 2000; DESBROW et al., 1998; KUCH & BALLSCHMITER, 2001; GHISELLI, 2006; PICCIONI, 2010; MACHADO, 2010; CARDOSO, 2011). Os valores de concentração desse estrogênio variaram de 0,05 até 9,52 $\mu\text{g/L}$, referentes, respectivamente, aos meses de novembro de 2010 e abril de 2011 nos pontos AT2 e PA3. O 17 α -etilnilestradiol é um estrogênio sintético utilizado principalmente na formulação de anticoncepcionais, nos quais aproximadamente 15% são absorvidos pelo organismo humano (JOHNSON; WILLIAMS, 2004), enquanto o restante é eliminado na urina, caracterizando também uma possível contaminação por esgotos nesses rios.

A Tabela 6 apresenta a concentração de estrona encontrada nos pontos de coleta analisados.

Tabela 6: Concentração de estrona encontrada nos pontos analisados

Ponto	Estrona ($\mu\text{g/L}$)						
	Ago/10	Nov/10	Abr/11	Jun/11	Set/11	Abr/12	Jun/12
AT1	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	NA	0,98
AT2	<LD	0,05	<LD	0,54	<LD	NA	1,14
BA1	NA	NA	<LD	<LD	NA	<LD	<LD
BA2	NA	NA	0,72	<LD	NA	<LD	1,17
BA3	NA	NA	<LD	<LD	NA	NA	0,58
BL1	NA	NA	0,74	<LD	<LD	0,66	<LD
BL2	NA	NA	2,42	1,31	<LD	1,03	0,98
IG1	<LD	1,94	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
IG2	NA	NA	<LD	<LD	<LD	<LD	1,07
PA1	<LD	<LD	<LD	NA	<LD	<LD	<LD
PA2	<LD	0,13	<LD	<LD	<LD	NA	0,67
PA3	<LD	0,02	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD

<LD – Valor abaixo do limite de detecção

NA – Não analisado

Fonte: autoria própria

A Estrona (E1), tem fonte exclusivamente natural e se apresenta 12 vezes menos ativo que o E2 (RAIMUNDO, 2007), portanto apresentou as menores concentrações entre os estrogênios analisados. Seus valores variaram de 0,02 até 2,42 $\mu\text{g/L}$. Assim como o EE2 esses valores são referentes aos meses de novembro de 2010 e abril de 2010, contudo referem-se aos pontos PA3 e BL3, respectivamente.

Os estrogênios tem sido alvo de estudo de vários pesquisadores em diferentes partes do mundo. Há estudo, em águas superficiais, afluentes e efluentes de estações de tratamento. Alguns desses estudos em corpos aquáticos são mostrados no Quadro 5.

Quadro 5: Concentrações dos estrogênios E1, E2, e EE2 no afluente e no efluente de ETEs, em água superficial e potável de vários países.

Origem	Estrogênio (ng.L ⁻¹)			Fonte
	E2	EE2	E1	
Afluente ETE				
Canadá	15	NC	41	Lee & Peart (1998)
Brasil (RJ, ETE Penha)	21	NC	40	Ternes et al. (1999)
Alemanha	15	NC	27	Ternes et al. (1999)
Itália	12	3,0	52	Baronti et al. (2000)
Brasil (Campinas)	6.700	NC	4.800	Ghiselli (2006)
Brasil (Araraquara)	31	NC	NC	Araújo (2006)
Efluente ETE				
Canadá	< 5	NC	14	Lee & Peart (1998)
Inglaterra	10	4,3	76	Desbrow et al. (1998)
Canadá	6	9	3	Ternes et al. (1999)
Brasil (RJ, ETE Penha)	< 1	NC	7	Ternes et al. (1999)
Holanda	0,9	< LD*	4,5	Belfroid et al. (1999)
Alemanha	< 1	1	9	Ternes et al. (1999)
Itália	1,0	0,45	9,3	Baronti et al. (2000)
Brasil (Campinas)	5.600	NC	4.100	Ghiselli (2006)
Água Superficial				
Inglaterra	NC	2 a 15	NC	Aherne & Briggs (1989)
Holanda	NC	NC	0,3	Belfroid et al. (1999)
Alemanha	3,6	5,1	4,1	Kuch & Ballschmiter (2001)
EUA	< 0,1	NC	< 0,3	Boyd et al. (2003)
Espanha	< 2,5	< 2,5	22	Rodriguez-Mozaz et al. (2004)
Israel	NC	6,1	NC	Barel-Cohen et al. (2006)
Brasil (Campinas)	5.000	NC	5.000	Ghiselli (2006)
Brasil (Jaboticabal)	30,6	NC	600	Lopes (2007)
Brasil (São Carlos)	1,5	NC	NC	Guimarães (2008)
Água Potável				
Inglaterra	NC	< 1 a 4	NC	Aherne & Briggs (1989)
Alemanha	2,1	0,50	0,6	Kuch & Ballschmiter (2001)
EUA	< 0,1	NC	< 0,3	Boyd et al. (2003)
Espanha	< 2,5	< 2,5	< 2,5	Rodriguez-Mozaz et al. (2004)
Brasil (Campinas)	2.600	NC	< 1,059	Ghiselli (2006)
Brasil (Jaboticabal)	6,9	NC	NC	Lopes (2007)
Brasil (São Carlos)	1,5	NC	NC	Guimarães (2008)

* LD: 0,3 a 1,8 ng.L⁻¹

NC – Não citado na literatura

Fonte: LOPES et al., 2008.

Através de comparação entre as quatro últimas tabelas é possível observar que as concentrações de estrogênios são superiores no Brasil, em comparação com os países desenvolvidos. Provavelmente esse resultado se deve às melhores condições de saneamento encontradas e aos sistemas utilizados no tratamento de efluentes mais eficientes. Contudo, deve-se levar em conta as diferenças de datas desses trabalhos, além de diferenças populacionais e demográficas, acarretando em diferenças das concentrações dos HSF's encontrados.

As concentrações de estrogênios se apresentaram com valores bem distintos nas sete coletas realizadas, o que pode estar relacionado com diversos

fatores, pois as amostras ambientais se mostram matrizes muito complexas. Podem interferir nos resultados fatores como temperatura, pH, sais dissolvidos, materiais suspensos, substâncias húmicas, dentre outros (SANTOS, 2011). Além disso, outro interferente que pode ser citado são as condições climáticas. Por exemplo, “Sob condições aeróbias, o EE2 tem meia vida entre 20 e 40 dias, enquanto que o E2 tem meia vida de um dia. Em dias ensolarados a degradação do EE2 pode aumentar devido à fotólise, reduzindo a meia vida de 20 dias para 1,5 dia” (SANTOS, 2011).

Em Curitiba e na região metropolitana, localidade em que se realizou o estudo, o período de maior chuva ocorre nos meses de janeiro e fevereiro e vai diminuindo até o mês de abril; os meses entre abril e agosto apresentam as menores precipitações do ano, e tornam a aumentar entre o mês de setembro até o mês de dezembro (BEZERRA; AKSHINO; FARAHBAKHS, 2010). Pode-se constatar então uma influência dessa sazonalidade nos resultados encontrados.

Não foi realizada nenhuma coleta no período de maior chuva, somente no período de transição entre os meses mais secos e o período chuvoso, no caso as coletas de novembro de 2010 e setembro de 2011. Nesses casos observou-se que a variação da concentração do E2 foi de 0,36 à 4,69 µg/L, enquanto o EE2 variou de 0,05 à 2,92 µg/L e o E1 oscilou de 0,02 à 1,94 µg/L. Enquanto que no período de menor chuva, nas demais coletas, as concentrações de E2 variaram de 0,26 à 7,35 µg/L, o EE2 0,67 à 9,52 µg/L e o E1 0,54 à 2,42 µg/L. Portanto, nesse caso nota-se uma influência marcante da sazonalidade pluviométrica nas variações das concentrações, ou seja, ocorre uma menor concentração de estrogênios no final do período chuvoso, devido ao aumento no volume de água nos rios, o que acarreta em uma diluição dos analitos (SANTANA, 2013). Esse período em que há um aumento dos índices pluviométricos também coincide com o período da primavera e verão, nos quais há maior incidência de luz solar, que auxilia na degradação dos compostos, resultando em uma menor concentração desses nas águas superficiais (SANTOS, 2011; LOPES et al., 2010).

Observa-se através dos dados que na primeira coleta realizada, em agosto de 2010, não foi observada a quantificação dos HSF's em nenhum dos pontos analisados, por se encontrarem em uma concentração abaixo dos limites de detecção e quantificação. Na coleta seguinte, no caso em novembro de 2010, metade dos pontos amostrados já apresentaram respostas para os HSFs.

Separando os resultados por rios pode-se observar o comportamento da região sobre a concentração dos analitos encontrados. O Gráfico 1 apresenta os valores de concentração encontrados no rio Atuba.

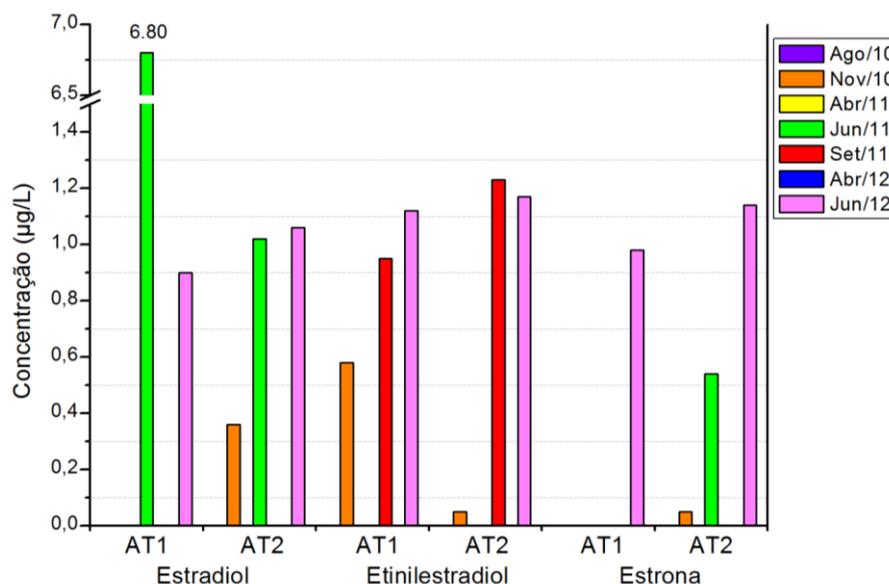


Gráfico 1: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos dois pontos coletados do rio Atuba.

Fonte: Autoria própria.

Constatou-se que as concentrações encontradas no rio do Atuba são uma das mais altas, quando comparados com os demais pontos analisados. Segundo Machado (2010), essa região é um canal de lançamento de efluente doméstico sem tratamento, proveniente de ocupações irregulares ao longo do rio Atuba.

O ponto AT2 localiza-se a jusante da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Atuba Sul, e esperava-se que houvesse a remoção dos compostos orgânicos, tais como os estrogênios, dos efluentes nas ETE's através da "(1) adsorção em sólidos suspensos, (2) a associação dos compostos com ácidos graxos e óleos, (3) a biodegradação aeróbica ou anaeróbica, (4) a degradação química por processos de hidrólise ou nitrificação e (5) a volatilização" (RAIMUNDO, 2007). Com exceção da amostragem de novembro de 2010 para o EE2, todos os resultados apresentaram um aumento na quantidade dos estrogênios do ponto AT1 para o AT2.

Cardoso (2011) e Rodrigues (2013) mostraram uma certa ineficiência da remoção desse hormônio do efluente pela ETE, e o mesmo acaba sendo lançado no rio, pois devido as características físico-químicas dos HSF's, há um favorecimento na sua permanência no efluente final, podendo não haver remoção significativa

destes compostos nas ETEs. (RAIMUNDO, 2007; ARNON *et al.*, 2008; MACHADO, 2010; CARDOSO, 2011; RODRIGUES, 2013).

O Gráfico 2 apresenta os valores de concentração encontrados no rio Barigui.

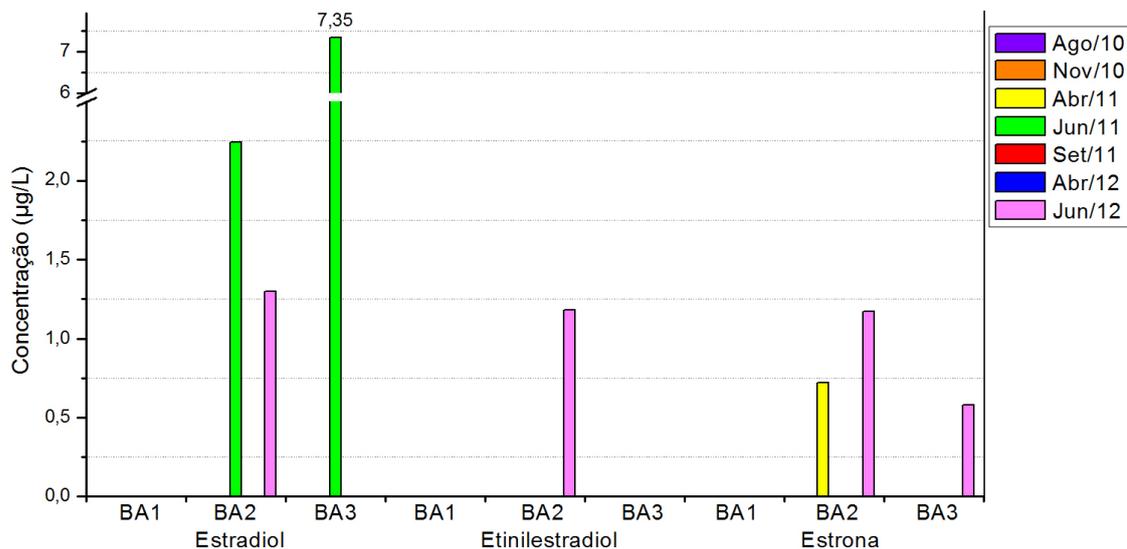


Gráfico 2: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos três pontos coletados do rio Barigui.
Fonte: Autoria própria.

No primeiro ponto analisado no percurso do rio Barigui, BA1, não foi observado traço de nenhum estrogênio em nenhuma das coletas realizadas, devido à proximidade com a nascente do rio, não apresentando ainda interferência antrópica significativa.

Contudo o segundo ponto do percurso, devido à proximidade com a ETE Santa Quitéria, foi o ponto que apresentou a maior frequência dos analitos e nas maiores concentrações. Mesmo assim, esses resultados só foram encontrados nos períodos de estiagem, no qual, conforme já foi discutido, tendem a apresentar as maiores concentrações. Esse ponto mostra satisfatoriamente a influência da sazonalidade pluviométrica no estudo em questão.

No terceiro ponto do rio Barigui, as concentrações dos poluentes tenderam a diminuir, devido à autodepuração dos analitos no decorrer do rio, chegando no terceiro ponto em valores significativamente menores, em alguns casos, inclusive abaixo do limite de detecção. O Gráfico 3 apresenta os valores de concentração encontrados no rio Belém.

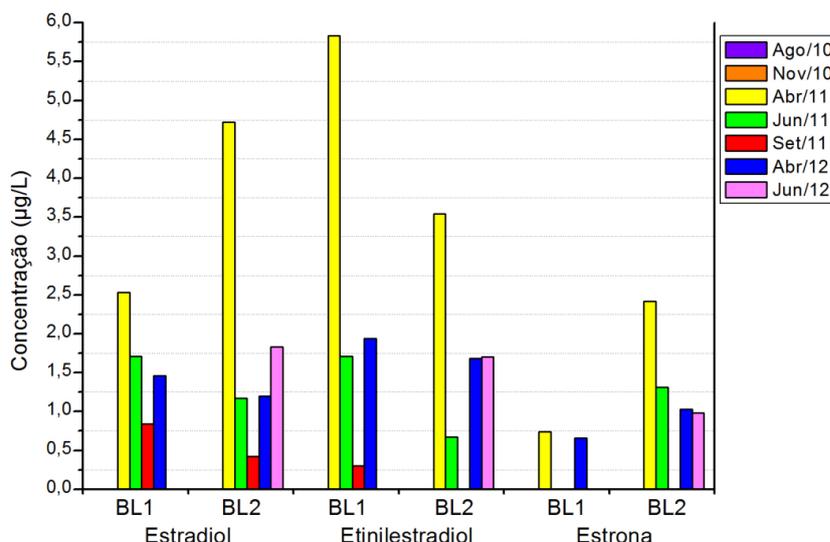


Gráfico 3: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos dois pontos coletados do rio Belém.

Fonte: Autoria própria.

A região do rio Belém é outra na qual se observa altos valores para os poluentes analisados, já que a área está contaminada e poluída, primordialmente, por esgotos domésticos clandestinos e resíduos sólidos dispostos inadequadamente. A carga poluidora é resultante de uma poluição difusa, cerca de 90% da poluição das águas do rio Belém é originária de esgotos domésticos, e 10% se origina a partir de efluentes industriais (BOLLMANN, 2008). Além disso, devido à intensa atividade urbana, caracterizada por uma ocupação ilegal no ponto BL1, não há controle dos despejos lançados no rio (BOLLMANN, 2008). O ponto BL2, segundo Bollmann, também apresenta uma intensa atividade antrópica na região, contudo com valores menores quando comparando ao ponto BL1, resultando em um índice de qualidade da água melhor, mas ainda inaceitável.

Todos os estrógenos foram encontrados nos dois pontos estudados no rio Belém. No caso, de maneira geral o E2 e EE2 apresentaram uma diminuição dos valores de concentração do ponto BL1 para o ponto BL2, devido à biodegradação dos compostos no curso do rio; com exceção da coleta de junho de 2012, para ambos os compostos e na coleta de abril de 2011 para o E2. Contudo, o E1 se apresentou em todas as campanhas com valores maiores para o ponto BL2 do que BL1, isso pode ser devido à biodegradação do 17β -Estradiol ser acompanhada do aumento da concentração de Estrona (CARBALLA et al., 2008), a degradação do E2 em E1 pode ocorrer por microrganismos e por fotocatalise com óxido de titânio (MACHADO, 2010).

O Gráfico 4 apresenta os valores de concentração encontrados no rio Iguaçu.

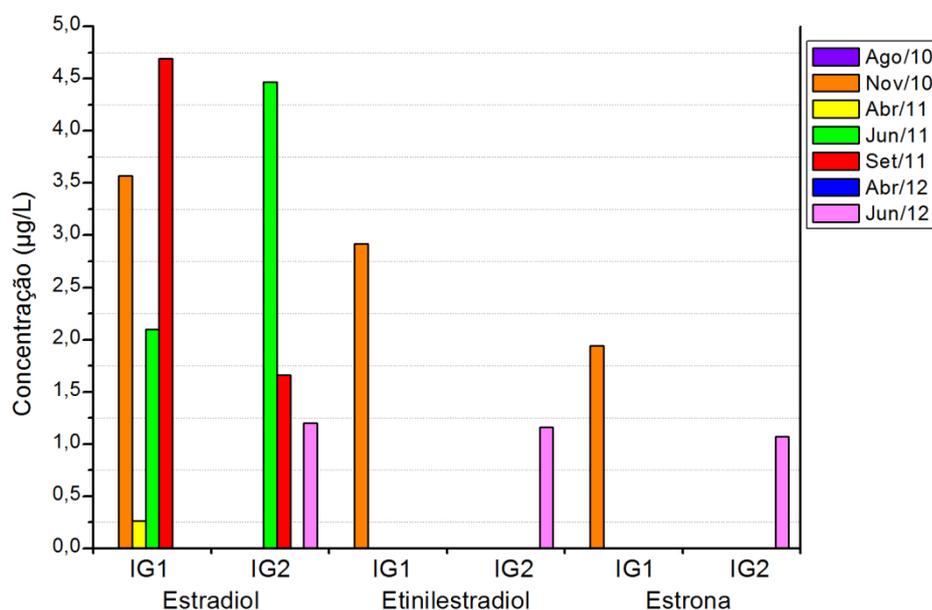


Gráfico 4: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos dois pontos coletados do rio Iguaçu.

Fonte: Autoria própria.

No rio Iguaçu, o ponto IG1 está localizado na nascente do rio Iguaçu, na confluência dos rios Atuba e Iraí (AKISHINO, TAKAHASHI, 2010; MACHADO, 2010). Portanto as características desse ponto estão intrinsecamente relacionadas com a confluência dos seus rios oriundos. No ponto IG2, além da carga oriunda do ponto IG1, e de despejos de esgoto doméstico, ocorre ainda a confluência entre os rios Belém e Iguaçu, sendo que esse ponto acaba recebendo a influencia de toda a bacia do Alto Iguaçu, incluindo além de Curitiba, os municípios de Pinhais, Piraquara e São José dos Pinhais (MACHADO, 2010).

Nesses pontos não é possível estabelecer uma relação clara com o percurso do rio, ou seja, os valores das concentrações não obedecem a um padrão no percurso do rio. Os valores de maneira geral obedecem à diluição das concentrações dos valores encontrados nos rios de origem, quando se afastam desses valores pode ser explicado pelos despejos inadequados realizados no decorrer do rio.

O Gráfico 5 apresenta os valores de concentração encontrados no rio Palmital.

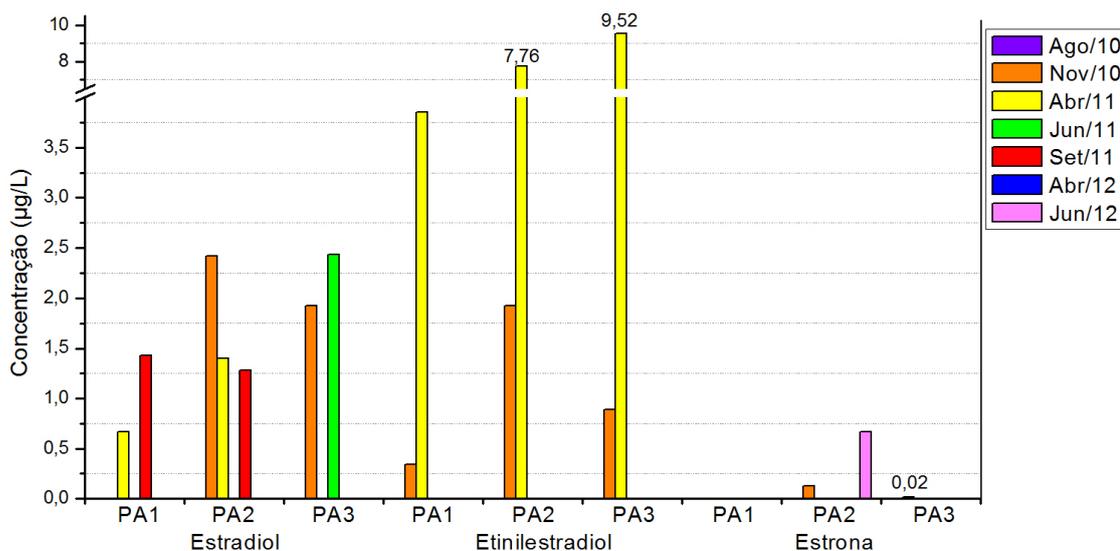


Gráfico 5: Variação na concentração dos estrogênios nas sete coletas realizadas durante o estudo nos três pontos coletados do rio Palmital.

Fonte: Autoria própria.

O rio Palmital nasce no município de Curitiba, resultante da junção dos afluentes vindos de Colombo e Almirante Tamandaré e percorre o município de Pinhais de norte a sul, desaguando no Rio Iraí (CHEPAK, 2008; AKISHINO, TAKAHASHI, 2010). O ponto PA1 localiza-se próximo a nascente, no município de Colombo, em uma região rural com pouca influência antrópica; o segundo ponto encontra-se degradado principalmente por receber “diversas contribuições de esgotos de áreas densamente povoadas, tais como a Vila Zumbi” (AKISHINO, TAKAHASHI, 2010, p. 13); e o ponto 3 foi considerado o mais poluído por estar localizado numa região de alta densidade populacional, sendo muito afetado por despejos domésticos sem tratamento (OSAWA et al., 2012).

O primeiro ponto do rio Palmital, de maneira geral, apresenta os menores valores de concentração e frequência na ocorrência dos estrogênios, sendo que seu aporte é resultante principalmente dos dejetos de animais da área rural.

A presença dos hormônios em diferentes épocas nos pontos PA2 e PA3 sugere a influência da atividade antrópica na região, com a inserção de despejos de esgoto doméstico. Além disso, conforme Andreoli et al. (2000), o Rio Palmital é susceptível a inundações no período de chuvas, ocorrendo um carreamento da carga poluidora, resultando em um grande aporte dos estrogênios ao rio. Essa situação torna-se evidente principalmente ao passar pelo município de Pinhais, onde localizam-se o segundo e o terceiro pontos de amostragem deste rio.

6.2 HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS EM SEDIMENTOS

A Tabela 7 apresenta os valores de concentração dos hormônios analisados em sedimento na coleta de abril de 2012, e o Gráfico 6 foi construído a partir desses dados.

Tabela 7: Concentração dos hormônios sexuais femininos em sedimento na coleta de abril de 2012

	Concentração ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	Estradiol	Etinilestradiol	Estrona
AT1	87,95	42,98	284,47
AT2	< LD	< LD	25,14
BA1	NA	NA	NA
BA2	NA	NA	NA
BA3	NA	NA	NA
BL1	16,69	33,89	128,08
BL2	12,71	31,65	58,08
IG1	187,43	< LD	309,89
IG2	< LD	49,98	191,16
PA1	11,17	57,08	232,79
PA2	18,47	17,72	28,46
PA3	< LD	17,64	30,56

Fonte: Autoria própria

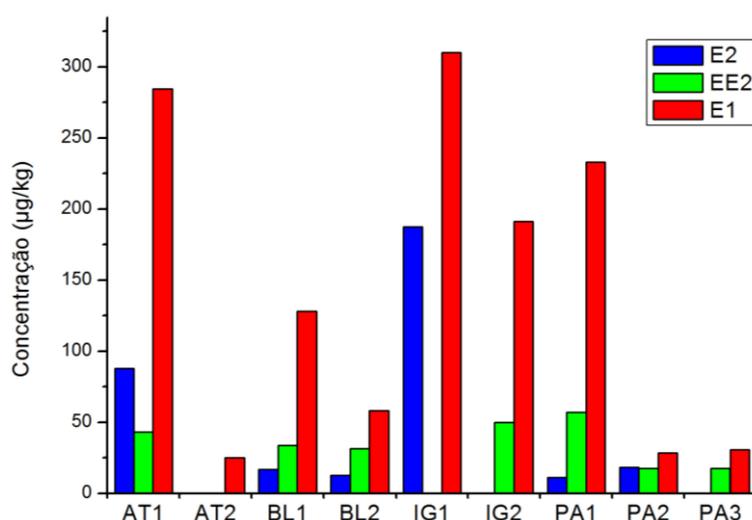


Gráfico 6: Concentração dos hormônios sexuais femininos em sedimento na coleta de abril de 2012

Fonte: Autoria própria

O coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$) é maior que 3 para todos os compostos estudados. Substâncias com $\log K_{ow} > 3$ são consideradas hidrofóbicas,

tendo maior capacidade de sorção nos sedimentos e, conseqüentemente, maior tendência a bioacumular (MACHADO, 2010).

Observa-se que o estrógeno presente em maiores concentrações no sedimento é a estrona, com concentrações chegando a 309,9 µg/kg de sedimento no ponto IG1. Além da inserção direta desse hormônio no ambiente, essas altas concentrações desse hormônio, acompanhada dos baixos valores de 17β-Estradiol pode estar relacionada com a biodegradação de E2 em E1.

6.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Um curso de água não poluído tem concentração de OD variando na faixa de 8 a 11 mg L⁻¹ a 25 °C. (SODRÉ, 2005), sendo que as perdas ocorrem por consumo pela decomposição de matéria orgânica, perdas para a atmosfera, respiração de organismos aquáticos e oxidação de íons metálicos (ESTEVES, 1998). Devido a isso, baixos valores encontrados podem significar influência antrópica, principalmente por aporte de esgotos domésticos, como a principal responsável por essas baixas concentrações de OD (SODRÉ, 2005; KRAMER, 2012). O rio Atuba, conhecido por ser altamente poluído, apresentou valores de 3,1 ± 1,2 e 3,4 ± 1,4 mg.L⁻¹, para os pontos AT1 e AT2, respectivamente. Já o Palmital, no PA1 apresentou 7,5 ± 0,6 mg.L⁻¹, no PA2 5,7 ± 0,8 mg.L⁻¹ e 5,4 ± 1,0 mg.L⁻¹ para o PA3. Portanto foi possível perceber que os padrões de poluições encontrados pelos pontos no que se refere aos estrogênios foram mantidos.

As distintas formas de fósforo oriundas de origem antrópicas aparecem em águas naturais devido principalmente às descargas de esgotos sanitários; os detergentes empregados em larga escala domesticamente constituem a principal fonte, além disso a própria matéria fecal é rica em proteínas, que constituem um fonte de fósforo (SOUZA et al., 2009). A Tabela 8 apresenta os valores de fósforo total na água.

Tabela 8: Concentração de fósforo total encontrado nas águas superficiais.

P - Total							
Ponto	Ago/10	Nov/10	Abr/11	Jun/11	Set/11	Abr/12	Jun/12
AT1	0,626 ± 0,019	2,090 ± 0,496	2,932 ± 0,256	1,257 ± 0,123	1,872 ± 0,039	0,390 ± 0,010	NA
AT2	2,634 ± 0,039	3,943 ± 0,475	2,806 ± 0,073	6,441 ± 1,372	9,385 ± 0,006	1,760 ± 0,060	NA
BA1	NA	NA	5,069 ± 1,435	0,621 ± 0,122	0,413 ± 0,007	0,220 ± 0,040	NA
BA2	NA	NA	1,809 ± 1,332	0,412 ± 0,216	0,210 ± 0,021	1,180 ± 0,130	NA
BA3	NA	NA	1,874 ± 0,420	1,808 ± 0,038	2,026 ± 0,120	0,830 ± 0,030	NA
BL1	NA	NA	1,631 ± 0,098	5,974 ± 0,354	6,461 ± 0,146	0,760 ± 0,020	NA
BL2	NA	NA	11,88 ± 0,164	3,864 ± 0,185	4,313 ± 0,248	2,280 ± 0,02	NA
IG1	2,113 ± 0,196	NA	3,541 ± 0,359	1,272 ± 0,017	NA	0,620 ± 0,010	NA
IG2	NA	NA	1,104 ± 0,484	0,984 ± 0,229	NA	0,670 ± 0,010	NA
PA1	NA	NA	0,637 ± 0,448	0,247 ± 0,076	0,132 ± 0,020	0,100 ± 0,000	NA
PA2	0,580 ± 0,409	NA	0,361 ± 0,035	0,973 ± 0,112	0,659 ± 0,051	0,130 ± 0,010	NA
PA3	0,421 ± 0,589	NA	0,632 ± 0,004	1,264 ± 0,232	1,054 ± 0,053	0,790 ± 0,020	NA

Fonte: Autoria própria.

A tabela 9 apresenta os valores de concentração de ortofosfato nas águas superficiais, a forma mais assimilável pelos organismos presentes no meio.

Tabela 9: Concentração de ortofosfato encontrado nas águas superficiais

P-PO ₄ ⁻³							
Ponto	Ago/10	Nov/10	Abr/11	Jun/11	Set/11	Abr/12	Jun/12
AT1	0,045 ± 0,119	0,547 ± 0,059	0,837 ± 0,274	0,329 ± 0,016	1,123 ± 0,091	0,240 ± 0,010	0,270 ± 0,030
AT2	2,504 ± 0,066	5,279 ± 0,244	0,604 ± 0,071	2,151 ± 0,022	4,909 ± 0,373	0,330 ± 0,010	3,420 ± 0,030
BA1	NA	NA	0,034 ± 0,002	0,079 ± 0,002	0,255 ± 0,004	0,170 ± 0,010	0,267 ± 0,005
BA2	NA	NA	0,031 ± 0,014	0,083 ± 0,003	0,176 ± 0,005	1,000 ± 0,020	3,761 ± 0,103
BA3	NA	NA	0,234 ± 0,014	0,564 ± 0,140	1,969 ± 0,071	0,390 ± 0,010	1,892 ± 0,011
BL1	NA	NA	0,519 ± 0,015	1,927 ± 0,074	4,474 ± 0,049	0,610 ± 0,000	0,288 ± 0,005
BL2	NA	NA	0,722 ± 0,040	1,359 ± 0,046	2,530 ± 0,033	0,060 ± 0,000	0,053 ± 0,001
IG1	2,202 ± 0,241	1,452 ± 0,034	0,475 ± 0,019	0,497 ± 0,001	0,781 ± 0,032	0,410 ± 0,010	0,220 ± 0,000
IG2	NA	NA	0,454 ± 0,011	0,257 ± 0,002	1,117 ± 0,088	0,550 ± 0,000	3,180 ± 0,110
PA1	0,028 ± 0,002	0,011 ± 0,002	NA	0,015 ± 0,001	0,102 ± 0,005	0,020 ± 0,000	NA
PA2	1,902 ± 0,262	0,981 ± 0,014	0,937 ± 0,035	0,208 ± 0,020	0,643 ± 0,026	0,110 ± 0,00	NA
PA3	1,724 ± 0,043	1,540 ± 0,066	0,777 ± 0,061	0,194 ± 0,002	0,694 ± 0,017	0,770 ± 0,020	NA

Fonte: Autoria própria.

Comparando correlação de fósforo total com o ortofosfato, tem-se o indicativo de rios com uma relação baixa entre essas concentrações, tais como os pontos BA1 e PA1, não sofreram grande influência humana, estabelecendo valores próximos aos naturais do ambiente. Em alguns casos com o BL1, com relações próxima à 100%, indica “uma recente descarga de esgoto ainda não degradada e transformada na forma mais assimilável” (KRAMER, 2012, p. 28).

A relação dos valores de fósforo e nitrogênio, principalmente o N_{NH_3} , quando em altas concentrações indicam contaminação recente, provavelmente por esgotos (BUHVESTOVA, 2011). Kramer (2012), em seu trabalho também na bacia do Alto Iguaçu, obteve a correlação entre esses dois nutrientes $r=0,96$; $p<0,0001$; $n=21$. Nesse caso, pontos que apresentaram altas concentrações de N_{NH_3} , também apresentaram altas concentrações de P_{Total} ; por exemplo o AT2, nos quais as médias dessas concentrações são respectivamente iguais à $58,04 \pm 31,57 \text{ mg.L}^{-1}$ e $1,84 \pm 0,09 \text{ mg.L}^{-1}$.

“O nitrogênio pode ser encontrado nas águas nas formas de nitrogênio orgânico, amoniacal, nitrito e nitrato [...] pode-se associar as etapas de degradação da poluição por meio da relação entre as formas de nitrogênio” (CETESB, 2009, p. 25). Nesse caso a forma do nitrogênio, indica a zona de autodepuração natural do rio em que se encontra: nitrogênio orgânico representa a zona de degradação, ou seja, tem início logo após o lançamento de águas residuárias; nitrogênio amoniacal na zona de decomposição ativa; nitrito na zona de recuperação e o nitrato na zona de águas limpas (CETESB, 2009, p. 25). Pela forma do nitrogênio pode-se afirmar a distância entre a região em que a fonte de poluição se encontra do ponto analisado. A Tabela 10 apresenta as concentrações de nitrito.

Tabela 10: Concentração de nitrito encontrado nas águas superficiais

Ponto	N-NO ²⁻						
	Ago/10	Nov/10	Abr/11	Jun/11	Set/11	Abr/12	Jun/12
AT1	0,417 ± 0,001	0,130 ± 0,005	0,226 ± 0,002	0,134 ± 0,011	0,222 ± 0,005	0,423 ± 0,008	0,272 ± 0,002
AT2	2,101 ± 0,152	0,074 ± 0,001	0,031 ± 0,000	0,075 ± 0,002	0,072 ± 0,001	0,057 ± 0,001	0,086 ± 0,002
BA1	NA	NA	0,212 ± 0,003	0,140 ± 0,001	0,138 ± 0,002	0,266 ± 0,001	0,208 ± 0,001
BA2	NA	NA	0,207 ± 0,001	0,135 ± 0,000	0,148 ± 0,005	0,277 ± 0,001	0,198 ± 0,001
BA3	NA	NA	0,197 ± 0,005	0,123 ± 0,000	0,152 ± 0,001	0,157 ± 0,000	0,214 ± 0,000
BL1	NA	NA	0,081 ± 0,005	0,087 ± 0,002	0,048 ± 0,000	0,131 ± 0,000	0,288 ± 0,005
BL2	NA	NA	0,077 ± 0,001	0,056 ± 0,001	0,067 ± 0,005	0,61 ± 0,001	0,053 ± 0,001
IG1	0,063 ± 0,001	0,053 ± 0,002	0,094 ± 0,002	0,100 ± 0,001	0,117 ± 0,002	0,188 ± 0,001	0,152 ± 0,001
IG2	NA	NA	0,089 ± 0,001	0,0414 ± 0,000	0,027 ± 0,000	0,039 ± 0,001	0,131 ± 0,001
PA1	0,004 ± 0,001	0,007 ± 0,001	0,011 ± 0,001	0,009 ± 0,000	0,060 ± 0,000	0,025 ± 0,003	0,013 ± 0,001
PA2	0,552 ± 0,087	0,041 ± 0,001	0,013 ± 0,001	0,116 ± 0,007	0,194 ± 0,009	0,235 ± 0,004	0,139 ± 0,001
PA3	0,042 ± 0,001	0,082 ± 0,007	0,237 ± 0,022	0,117 ± 0,003	0,198 ± 0,003	0,253 ± 0,007	0,150 ± 0,000

Fonte: Autoria própria.

A tabela 11 apresenta a quantidade de nitrogênio amoniacal nos pontos analisados.

Tabela 11: Concentração nitrogênio amoniacal encontrado nas águas superficiais

Ponto	N-NH ₃						
	Ago/10	Nov/10	Abr/11	Jun/11	Set/11	Abr/12	Jun/12
AT1	1,759 ± 0,023	9,795 ± 1,033	12,96 ± 1,908	4,641 ± 0,422	6,138 ± 0,487	3,364 ± 0,068	11,07 ± 2,095
AT2	5,979 ± 0,211	50,80 ± 2,941	56,42 ± 2,844	26,68 ± 2,836	27,92 ± 0,150	95,53 ± 5,748	55,52 ± 1,045
BA1	NA	NA	0,309 ± 0,011	1,595 ± 0,028	1,041 ± 0,041	2,825 ± 0,334	1,008 ± 0,085
BA2	NA	NA	1,226 ± 0,116	9,022 ± 0,772	10,54 ± 0,575	19,99 ± 1,965	16,12 ± 0,935
BA3	NA	NA	1,169 ± 0,213	9,492 ± 0,638	9,708 ± 0,416	12,10 ± 0,594	10,87 ± 0,705
BL1	NA	NA	3,886 ± 0,156	19,83 ± 1,162	25,45 ± 0,529	17,55 ± 2,380	21,63 ± 0,215
BL2	NA	NA	2,571 ± 0,414	20,93 ± 0,243	50,29 ± 0,942	26,13 ± 1,591	24,96 ± 1,597
IG1	3,844 ± 0,107	19,97 ± 0,472	20,36 ± 0,007	5,033 ± 0,558	5,924 ± 1,189	16,76 ± 0,225	4,907 ± 0,615
IG2	NA	NA	25,57 ± 1,181	5,755 ± 0,582	8,009 ± 0,436	18,28 ± 1,567	14,03 ± 0,921
PA1	0,093 ± 0,028	0,013 ± 0,005	NA	0,027 ± 0,001	0,691 ± 0,112	0,131 ± 0,004	NA
PA2	1,123 ± 0,099	16,32 ± 0,252	16,08 ± 1,142	4,917 ± 0,227	3,500 ± 0,301	3,963 ± 0,235	1,860 ± 0,276
PA3	11,51 ± 0,215	22,38 ± 1,718	26,67 ± 2,438	6,293 ± 0,649	3,437 ± 0,399	3,653 ± 0,129	2,310 ± 0,288

Fonte: Aatoria própria.

A tabela 12 apresenta os valores de nitrato

Tabela 12: Concentração de nitrato encontrado nas águas superficiais

Ponto	N-NO ₃ ⁻						
	Ago/10	Nov/10	Abr/11	Jun/11	Set/11	Abr/12	Jun/12
AT1	1,678 ± 0,323	0,677 ± 0,061	1,881 ± 0,424	1,260 ± 0,007	1,325 ± 0,101	7,652 ± 0,092	12,834 ± 0,284
AT2	0,506 ± 0,159	0,201 ± 0,024	0,422 ± 0,134	0,219 ± 0,005	0,301 ± 0,035	0,516 ± 0,021	2,931 ± 0,089
BA1	NA	NA	1,053 ± 0,249	1,382 ± 0,091	2,197 ± 0,179	4,040 ± 0,030	16,251 ± 0,722
BA2	NA	NA	1,145 ± 0,029	1,195 ± 0,144	1,794 ± 0,009	4,740 ± 0,210	17,047 ± 0,005
BA3	NA	NA	NA	1,049 ± 0,020	1,526 ± 0,132	2,397 ± 0,049	15,308 ± 0,549
BL1	NA	NA	0,130 ± 0,033	0,128 ± 0,003	0,199 ± 0,004	2,117 ± 0,085	4,654 ± 0,044
BL2	NA	NA	0,146 ± 0,029	0,037 ± 0,027	0,206 ± 0,002	0,574 ± 0,023	1,232 ± 0,077
IG1	0,314 ± 0,039	0,113 ± 0,010	0,555 ± 0,040	0,389 ± 0,007	0,974 ± 0,028	3,150 ± 0,120	6,071 ± 0,083
IG2	NA	NA	0,366 ± 0,031	0,325 ± 0,008	0,166 ± 0,003	0,364 ± 0,008	4,684 ± 0,296
PA1	1,165 ± 0,039	0,398 ± 0,012	0,682 ± 0,154	0,866 ± 0,048	0,679 ± 0,053	1,183 ± 0,045	5,450 ± 0,156
PA2	1,961 ± 0,024	0,171 ± 0,010	0,547 ± 0,093	1,347 ± 0,045	1,751 ± 0,068	3,930 ± 0,475	9,407 ± 0,218
PA3	0,862 ± 0,078	0,203 ± 0,011	3,305 ± 0,056	0,989 ± 0,024	1,389 ± 0,096	6,009 ± 0,014	8,368 ± 0,126

Fonte: Aatoria própria.

Pode-se determinar a quantidade de fontes poluidoras antes dos pontos analisados pela concentração das distintas formas de nitrogênio encontrados no rio, conforme seu estado de oxidação.

Quando a concentração do nitrogênio amoniacal se mostrou relativamente maior que as demais, agrupando nessas características os pontos BA2, BA3 e IG2, nos quais não há influência antrópica no ponto propriamente, e sim na proximidade. Nesses pontos o nitrogênio orgânico já começou o processo de degradação. Por

exemplo, o BA2, que se encontra próximo à ETE Santa Quitéria, apresenta uma concentração de até $19,996 \pm 1,965 \text{ mg.L}^{-1}$ de N_{NH_3} .

O ponto PA2 apresenta concentrações semelhantes para as diferentes formas de nitrogênio, mostrando concentrações semelhantes para esses três casos, indicando que a carga poluidora é lançada no rio em uma grande extensão anterior ao ponto analisado. O mesmo acontece para o PA3. Por exemplo na coleta de abril de 2012, as concentrações de N_{NH_3} e $\text{N}_{\text{NO}_3^-}$ no ponto PA2 são respectivamente, $3,930 \pm 0,475$ e $3,963 \pm 0,235 \text{ mg.L}^{-1}$.

Pelas concentrações das espécies de nitrogênio, pode-se afirmar que os pontos PA1 e BA1 não apresentam influência antrópica. Pela concentração pode-se afirmar que as concentrações dos compostos de nitrogênio reduzidos, são oriundas de substâncias autóctones naturais, por exemplo, fezes de animais.

7 CONCLUSÃO

Foi possível observar a presença significativa dos hormônios sexuais femininos nos pontos analisados, demonstrando uma atividade antrópica intensa nas regiões onde foram realizadas as coletas, nas quais efluentes domésticos acabam chegando aos rios sem nenhum sistema de tratamento.

Foi possível observar que os hormônios estudados são compostos complexos, e as suas concentrações encontradas nos locais estão relacionadas com diversos fatores, tais como biodegradação, interferência, ou mascaramento por outras substâncias.

A sazonalidade pluviométrica, bem como as diferentes estações do ano são fatores muito importantes na região de estudo, na qual é possível observar claramente as variações que ocorrem em diferentes períodos.

Nos rios Atuba e Belém foi possível observar picos com altas concentrações tanto de hormônios quanto das formas de fósforo e nitrogênio estudadas, devido à forte influência antrópica na região e a presença da ETE Atuba Sul. Foi possível também observar um aumento da concentração de contaminantes à medida que se afasta da nascente do rio, bem como a degradação de 17β -Estradiol em Estrona também pode ser evidenciada.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKISHINO, Jéssica K.; TAKAHASHI, Karen M.. **Planejamento de ações do projeto de extensão vida à água no município de Pinhais-Pr**. 2010. 71 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Curso Superior em Tecnologia Processos Ambientais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná Campus Curitiba. 2010.

ALDA, Maria J. L.; GIL, Asunción; PAZ, Esther; BARCELO, Damià. Occurrence and analysis of estrogens and progestogens in river sediments by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry. **Analyst**, v. 127, p.1299–1304, 2002.

ALVES Crésio; FLORES Lindiana C.; CERQUEIRA Taís S.; TORALLES Maria B. P.. Exposição ambiental a interferentes endócrinos com atividade estrogênica e sua associação com distúrbios puberais em crianças. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 5, p. 1005-1014, maio, 2007

ANDREOLI, Cleverson V.; DALARMI, Oosvaldo; LARA, Aderlene I.; ANDREOLI, Fabiana N. Limites ao Desenvolvimento da Região Metropolitana de Curitiba, Impostos pela Escassez de Água. **SANARE – Revista Técnica da Sanepar**, 2000.

APHA - **STANDARD METHODS FROM THE EXAMINATION OF WATER END WASTWATER**, 20. Ed. Washington, 1998.

ARNON, S.; DAHAN, O.; ELHANANY, S.; COHEN, K.; PANKRATOV, I.; GROSS, A.;RONEN, Z.; BARAM, S. AND SHORE, L. Transport of Testosterone and Estrogen from Dairy-Farm Waste Lagoons to Groundwater. **Environmental, Sciences and Technology**, v. 42, p. 5521–5526, 2008.

BARONTI, C.; CURINI, R.; D’ASCENZO, G.; DI CORCIA, A.; GENTILI, A.; SAMPERI, R. Monitoring natural and synthetic estrogens at activated sludge sewage treatment plants and in a receiving river water. **Environmental Science and Technology**, v. 34, n. 24, p. 5049-5066, 2000.

BERWANGER, Alexandre L.. **Alterações e transferências de fósforo do solo para o meio aquático com o uso de dejetos líquidos de suínos**. 2006. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

BEZERRA, Stella M. C.; AKSHINO, Jéssica K.; FARAHBAKHSH, Khosrow. Investigação do índice pluviométrico em Curitiba-Pr entre 1924 e 2008. XIV SICITE – UTFPR, v. 1, 2010

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

BLASCO, Cristina; PICÓ, Yolanda. Prospects for combining chemical and biological methods for integrated environmental assessment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 6, p 745-757, 2009.

BOLLMANN, Harry A.; EDWIGES, Thiago. Avaliação da qualidade das águas do rio Belém, Curitiba-Pr, com o emprego de indicadores quantitativos e perceptivos. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 13, n. 4, p. 443 – 452, 2008.

BOLONG, N.; ISMAIL, A. F.; SALIM, M. R.; MATSUURA, T.. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. **Desalination**, v. 239, p. 229-246, 2009.

BUHVESTOVA, Olga; KANGUR, Küilli; Maldna, Marina; Möls Tõnu. Nitrogen and phosphorus in Estonian rivers discharging into Lake Peiosi: estimation of loads and seasonal and spatial distribution of concentrations. **Estonian Journal of Ecology**, v. 60, n1, p. 18 – 38, 2011.

CAMPBELL, Chris G.; BORGLIN, Sharon E.; GREEN, F. Bailey; GRAYSON, Allen; WOZEI, Eleanor; STRINGFELLOW, William T.. Biologically directed environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic endocrine disrupting compounds in water: A review. **Chemosphere**, v. 65, n. 8, p. 1265-1280, novembro 2006.

CARBALLA, M.; OMIL, F.; LEMA, J.M.. Comparison of predicted and measured concentrations of selected pharmaceuticals, fragrances and hormones in Spanish sewage. **Chemosphere**, v 72, p. 1118–1123, 2008.

CARDOSO, Fernanda Dittmar. Eficiência de remoção de estrogênios por uma estação de tratamento de esgotos. 2011. 47 f. Trabalho de conclusão de curso (Tecnologia em Processos Ambientais), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2011.

CHEN, Hsin-Chang; KUO, HAN-Wen; DING, Wang-Hsien. Determination of estrogenic compounds in wastewater using liquid chromatography–tandem mass spectrometry with electrospray and atmospheric pressure photoionization following desalting extraction. **Chemosphere**, v.74, n. 4, p. 508-514, janeiro 2009.

CHEPAK, Miria F. de Assis. **Atlas Geográfico do Município de Pinhais**. 2008. Disponível em:
<http://200.189.113.123/diaadia/diadia/arquivos/File/conteudo/mapas/atlas_comentados/pinhais_2.pdf?PHPSESSID=fda67ba3314d3780c535fb148675ef08> Acessado: 21 de agosto de 2013

CETESB – “Significado Ambiental e Sanitário das Variáveis de Qualidade das Águas e dos Sedimentos e Metodologias Analíticas e de Amostragem” in Série Relatórios – Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo. CETESB, São Paulo – SP, 2009.

DESBROW, C.; ROUTLEDGE, E. J.; BRIGHTY, G. C.; SUMPTER, J. P.; WALDOCK, M. Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemical fractionation and in vitro biological screening. **Environmental Science and Technology**, v. 32, n. 11, p. 1549-1565, 1998.

ESTEVEES, Francisco de A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998.

FALONE, Sandra Z.. **Desenvolvimento de métodos para determinação do hormônio 17 α -metiltestoterona em amostras de água e sedimento de piscicultura: ensaios toxicológicos com Cladóceros**. 2007. 179f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

FERNANDES, Andreia N. et al. Remoção dos hormônios 17 β -estradiol e 17 α -etinilestradiol de soluções aquosas empregando turfa decomposta como material adsorvente. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 34, n. 9, setembro 2011.

GAMA, Mariana R.. **Degradação de hormônios por processos Fenton mediados por ciclodextrina**. 2010. 116 f. Dissertação (Mestre em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

GHISELLI, G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. 2006. 190 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

GHISELLI, Gislaíne; JARDIM, Wilson F.. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 3, junho 2007.

JOBLING, Susan; NOLAN, Monique; TYLER, Charles R.; BRIGHTY, Geoff; SUMPTER, John P.. Widespread Sexual Disruption in Wild Fish. **Environmental Science & Technology**, v. 32, p. 2498-2506, 1998.

JOHNSON E WILLIAMS. A Model to Estimate Influent and Effluent Concentrations of Estradiol, Estrone, and Ethinylestradiol at Sewage Treatment Works. **Environmental. Sciences. Technology**, v. 38, p. 3649-3658, 2004.

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

KUCH, H. M.; BALLSCHMITER, K. Determination of endocrine disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCl)-MS in the picogram per liter range. **Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 15, p. 3201-3206, 2001.

Lei Federal Nº 6938. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L6938.htm>. Acesso em: 12 de abril de 2012.

LOPES, Laudicéia G.; MARCHI, Mary R. R.; SOUZA, João B. G.; MOURA, José A. Hormônios estrogênicos no ambiente e eficiência das tecnologias de tratamento para

remoção em água e esgoto. **RBRH – Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 13, n. 4, p. 123 – 131, 2008.

LOPES, L. G.; MARCHI, M. R. R.; SOUZA, J. B. G.; MOURA, J. A.; LORENZON, C. S.; CRUZ, C.; AMARAL, L. A. Estrogênios em águas naturais e tratadas da Região de Jaboticabal – São Paulo. **Quim. Nova**, v. 33, n. 3, p. 639-643, 2010.

MACHADO, Karina S.. **Determinação de hormônios sexuais femininos na bacia do Alto Iguaçú, Região Metropolitana de Curitiba-PR**. 2010. 116 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

MERTEN, Gustavo. H.; MINELLA, Jean P.. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Revista Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v. 3, n. 4, 2002.

OSAWA, Rodrigo A.; IDE, Alessandra H.; KRAMER, Rafael D. SANTOS, Maurício M. dos; MARCANTE, Luana J. O. AZEVEDO, Júlio C. R. de. Avaliação da contaminação por efluentes domésticos ao longo do rio palmital por meio de ferramentas estatísticas. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE ECOTOXICOLOGIA, 12., 2012. Porto de Galinhas. **Anais**. 2012.

PERSHE, L. Aumenta o Consumo de Anticoncepcionais no Brasil. **Revista Health Latin América**, 2000. Disponível em: <<http://boasaude.uol.com.br/lib/ShowDoc.cfm?LibDocID=3823&ReturnCatID=690>>. Acessado em: 4 de maio de 2012.

PICCIONI, W. J. **Estudo da presença e remoção de micropoluentes em estações de tratamento de esgoto**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia Ambiental) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, 2010.

PORTO, M. F. **Bacias Críticas: Bases Técnicas para a definição de Metas progressivas para seu Enquadramento e a Integração com os demais Instrumentos de Gestão**. Curitiba: UFPR – Departamento de Hidráulica e Saneamento, 2007. (FINEP/ CT-HIDRO). Projeto concluído.

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

REIS FILHO, Ricardo W.; SANTOS, R. Luvizotto; VIEIRA, E. M.. Poluentes Emergentes como Desreguladores Endócrinos. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 2, n. 3, p. 283-288, 2007.

REIS FILHO, Ricardo W.; ARAUJO, Juliana C.; VIEIRA, Eny M.. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, julho 2006.

RODRIGUES, Fernando. **Remoção de hormônios em sistemas de tratamento de esgotos aeróbio e anaeróbio**. 2013. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

SÁNCHEZ, B. Álvarez; CAPOTE, F. Priego; JIMÉNEZ, J. Ruiz; CASTRO, M. D. Luque; Automated solid-phase extraction for concentration and clean-up of female steroid hormones prior to liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry: An approach to lipidomics. **Journal of Chromatography A**, v. 1207, n. 1–2, p. 46-54, outubro 2008.

SANTOS, Eliane, P. C. C. dos. **Remoção de etinilestradiol no tratamento de água para consumo humano**. 2011. 150 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharias, 2011.

SANTANA, Joyce da S.; **Determinação de contaminantes emergentes em mananciais de água bruta e na água para consumo humano do Distrito Federal**. 2013 118 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, 2013.

SILVA, Carla G. A.; COLLINS, Carol H.. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 4, 665-676, 2011.

SLACK, Gregory C.; SNOW, Nicholas H.. **HPLC Method Development for Pharmaceuticals**. 8 ed., Academic Press, 2007.

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.

SOUZA, Denise C. M.; BONTURIM, Everton; OZEDA, Márcia A.; DOMINGUES, Rosely J.. Coleta e análise de fósforo total de amostra de água da represa Billings pelo método da espectrometria de absorção, 2009. 57 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Ibirapuera, São Paulo, 2009.

SUDERHSA, 2004. Disponível em: <http://www.aguasparana.pr.gov.br/arquivos/File/rel_final_sig.pdf>. Acesso em: 15 de maio de 2012.

TERNES, T. A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R.-D.; SERVOS, M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. **The Science of Total Environment**, v. 225, n. 1/2, p. 81-90, 1999.

TOMŠÍKOVÁ, Helena; AUFARTOVÁ, Jana; SOLICH, Petr; NOVÁKOVÁ, Lucie; SOSA-FERRERA, Zoraida; SANTANA-RODRÍGUEZ, José J.. High-sensitivity analysis of female-steroid hormones in environmental samples, **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 34, p. 35-58, abril 2012.

VETHAAK, A. Dick et al. An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the aquatic environment of The Netherlands. **Chemosphere**, v. 59, n. 4, p. 511-524, abril 2005.

WICKHAM, James D.; WADE, Timothy G.; RIITTERS, Kurt H.; Detecting temporal change in watershed nutrient yields. **Environmental Management**, Washington, v. 42, n. 2, p. 223-231, 2008.