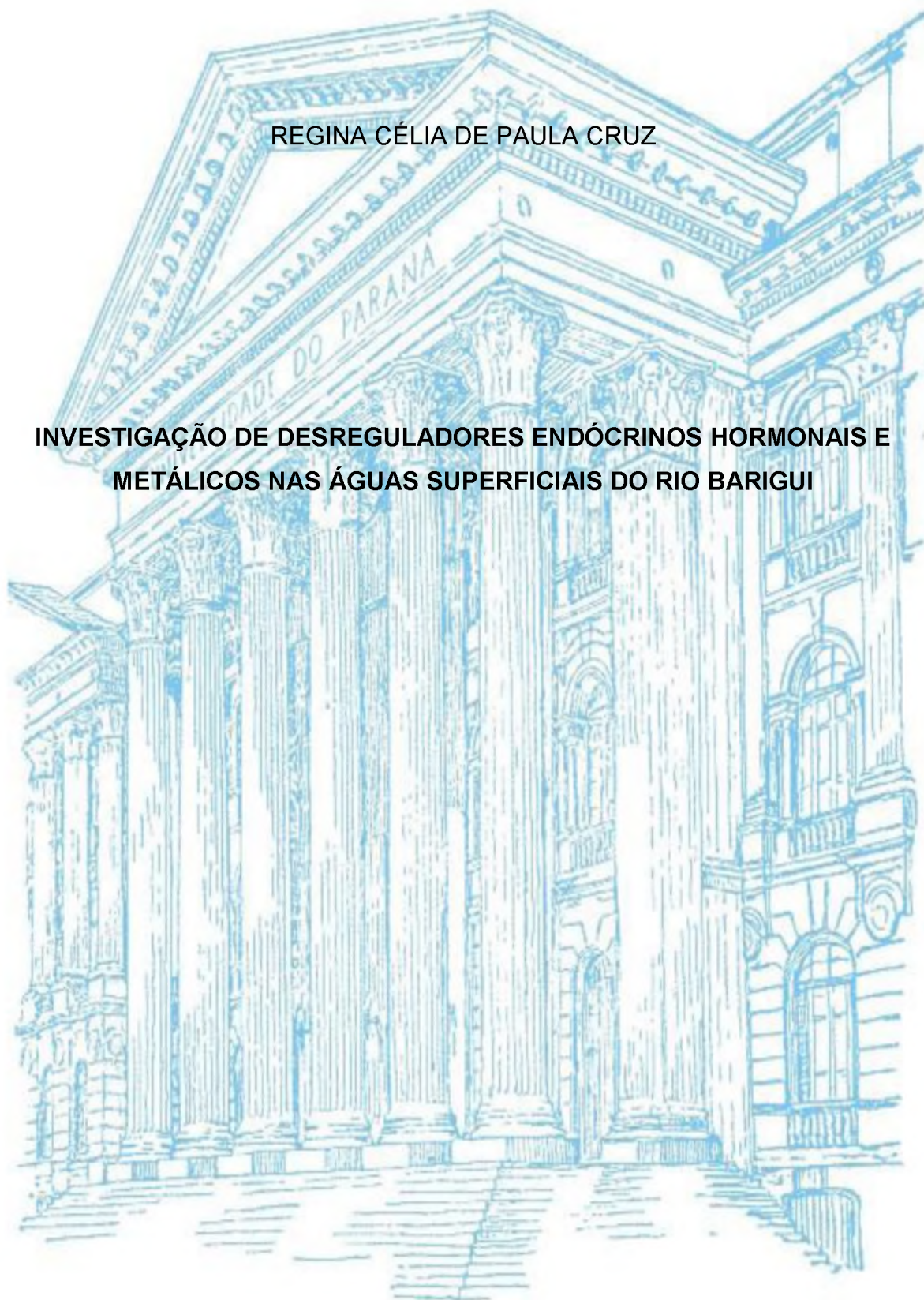


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

REGINA CÉLIA DE PAULA CRUZ

**INVESTIGAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS HORMONAIIS E
METÁLICOS NAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DO RIO BARIGUI**



CURITIBA
2015

REGINA CÉLIA DE PAULA CRUZ

**INVESTIGAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS HORMONAIS E
METÁLICOS NAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DO RIO BARIGUI**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial, parceria Universidade Federal do Paraná, SENAI e universidade de Stuttgart, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Jorg Wolfgang Metzger

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Margarete Casagrande Lass Erbe

CURITIBA
2015

C957i

Cruz, Regina Célia de Paula

Investigação de desreguladores endócrinos hormonais e metálicos nas águas superficiais do rio Barigui / Regina Célia de Paula Cruz. – Curitiba, 2015.

90 f ; il. color : 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente Urbano e Industrial, 2015.

Orientador: Jorg Wolfgang Metzger – Co-orientador: Margarete Casagrande Lass Erbe

Bibliografia: p. 73-78.

1. Hormônios. 2. Produtos químicos perturbadores endócrinos na água. 3. Água – Poluição. 4. Metais. 5. Rio Barigui – Paraná. 6. Rio Iguaçu – Paraná . I. Universidade Federal do Paraná. II. Metzger, Jorg Wolfgang. III. Erbe, Margarete Casagrande Lass . IV. Título.

CDD: 573.4

TERMO DE APROVAÇÃO

REGINA CELIA DE PAULA CRUZ

**INVESTIGAÇÃO DE DESREGULADORES ENDÓCRINOS HORMONAIS E
METÁLICOS NAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DO RIO BARIGUI**

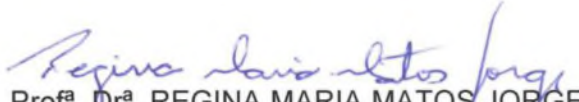
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Mestrado Profissional em Meio Ambiente Urbano e Industrial, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná em parceria com SENAI/PR e a *Universität Stuttgart*, Alemanha, pela seguinte banca examinadora:




Prof^a. Dr^a. MARGARETE CASAGRANDE LASS ERBE
PPGMAUI/ DEQ/ UFPR



Prof^a MsC MARIELLE FEILSTRECHER
PPGMAUI/ SENAI-PR



Prof^a. Dr^a. REGINA MARIA MATOS JORGE
PPGMAUI/ DEQ/ UFPR



Prof^a. Dr^a. CINTIA MARA RIBAS DE OLIVEIRA
UNIVERSIDADE POSITIVO - UP



Prof^a. Dr^a. MARGARETE CASAGRANDE LASS ERBE
Coordenadora do TC/ PPGMAUI-UFPR

Curitiba, 05 de agosto de 2015.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela proteção e força para realizar este trabalho.

Aos meus pais, Onézia e Waldomiro Cruz (*in memorian*) pelo amor e companheirismo.

Em especial ao meu marido Agostinho (*in memorian*) pelo apoio e espera.

Ao Prof. Dr. Jörg Wolfgang Metzger pela orientação inicial da pesquisa.

À Prof^a Dr^a Margarete Casagrande Lass Erbe, pela orientação em todo o desenvolvimento deste trabalho.

À Química Cláudia Lange e a Universidade de Stuttgart pela realização das análises de atividade estrogênica.

Aos professores do PPGMAUI, pelo incentivo e profissionalismo.

À SANEPAR, pela doação de equipamentos, reagentes e laboratórios para o desenvolvimento da pesquisa.

À Química Lina Amely Jagher Lopes, coordenadora da USAV, Laboratório Central de Curitiba da SANEPAR, pelo apoio durante a pesquisa.

À Eloize Motter, gerente da USAV-SANEPAR, pelo incentivo aos estudos.

Aos colegas de trabalho da SANEPAR, José Carlos dos Santos, Rafael Nascimento e André Luiz de Faria, pela ajuda nas tarefas envolvidas na pesquisa.

À empresa SCIEX pela parceria e realização das análises cromatográficas.

A todos aqueles que, de alguma forma, ajudaram a produzir este trabalho.

*“Eis que estou convosco todos os dias,
até o fim do mundo”.*

Mt 28,20

RESUMO

A contaminação dos corpos hídricos por compostos desreguladores endócrinos é um problema ambiental que tem preocupado muitos pesquisadores e empresas de saneamento. A principal via de contaminação dos mananciais é por meio do lançamento de efluentes *in natura* ou processados, que são introduzidos no meio ambiente pela falta de infraestrutura de saneamento básico e ineficácia das estações de tratamento de esgoto na remoção destes compostos. Os desreguladores endócrinos podem interferir no sistema endócrino e afetar a saúde da população aquática e do homem. A qualidade da água superficial do rio Barigui, afluente da margem direita do rio Iguaçu no Paraná, foi investigada em cinco pontos. Os hormônios 17β -estradiol, estrona, testosterona, progesterona, 17α -etinilestradiol e os metais cádmio, chumbo, manganês e mercúrio fazem parte do grupo dos desreguladores endócrinos pesquisados neste trabalho. Além destes, os parâmetros de atividade estrogênica, temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade e fósforo auxiliaram na avaliação proposta. Os resultados obtidos evidenciaram atividade estrogênica nos pontos coletados, baixa concentração de oxigênio dissolvido na confluência do rio Barigui e rio Iguaçu e alto teor de fósforo, manganês, ferro e alumínio em todos os pontos, com exceção da nascente do rio Barigui. O hormônio sintético 17α -etinilestradiol foi evidenciado em três dos cinco pontos pesquisados e as concentrações encontradas indicaram alta contaminação no rio Barigui, quando comparado a limites da comissão européia para este composto. Sugere-se que os desreguladores endócrinos e demais parâmetros pesquisados sejam provenientes dos efluentes domésticos descartados neste manancial e da atividade industrial existente na região.

Palavras chave: Atividade estrogênica, hormônios, metais, rio Barigui.

ABSTRACT

Contamination of water bodies by compounds EDs is an environmental problem that has preoccupied many researchers and sanitation companies. The major route of contamination of water sources is through the sewage discharge raw or processed, that are introduced into the environment by the lack of sanitation infrastructure and ineffectiveness of sewage treatment plants in removing these compounds. Endocrine disrupters can interfere with the endocrine system and affect the health of aquatic population and man. The quality of surface water from the river Barigui, a tributary on the right bank of the Iguaçu River in Paraná, was investigated in five points. The 17β -estradiol, estrone, testosterone, progesterone, 17α -ethinyl estradiol and cadmium metals, lead, manganese and mercury are among the group of EDs studied in this work. Apart from these, the parameters of estrogenic activity, temperature, pH, dissolved oxygen, conductivity and phosphorus helped in the evaluation proposal. The results showed estrogenic activity in the collected points, low dissolved oxygen concentration at the confluence of the river Barigui and Iguaçu river and high in phosphorus, manganese, iron and aluminum in all points, except for the Barigui river's source. The synthetic hormone 17α -ethinyl estradiol was evident in three of the five points surveyed and indicated high concentrations found contamination in Barigui river, compared to limits of the European Commission for this compound. It is suggested that endocrine disrupters and other studied parameters come from domestic effluents discharged this spring and existing industrial activity in the region.

Keywords: estrogenic activity, hormones, metals, River Barigui

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FONTES DE ENTRADA DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS NO MEIO	20
FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DA PROVÁVEL ROTA DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS EM SISTEMAS AQUÁTICOS.....	22
FIGURA 3 - ESTRUTURA BASE DOS ESTERÓIDES	23
FIGURA 4 - ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS PRINCIPAIS ESTRÓGENOS.....	24
FIGURA 5 - ESTRUTURA QUÍMICA DA TESTOSTERONA	26
FIGURA 6 - ESTRUTURA QUÍMICA DA PROGESTERONA	27
FIGURA 7 - A) RESPOSTA NATURAL, B) EFEITO AGONISTA, C) EFEITO ANTAGONISTA	31
FIGURA 8 - CURSO DO RIO IGUAÇU NO ESTADO DO PARANÁ.....	34
FIGURA 9 - BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO IGUAÇU	35
FIGURA 10 - LOCALIZAÇÃO DA BACIA DO RIO BARIGUI NO ESTADO DO PARANÁ	37
FIGURA 11 - BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO BARIGUI	42
FIGURA 12 - PONTOS DE COLETA NO RIO BARIGUI E IGUAÇU.....	44
FIGURA 13 - PONTO DE COLETA 1 NA NASCENTE DO RIO BARIGUI.....	45
FIGURA 14 - PONTO DE COLETA 2 NO PARQUE BARIGUI.....	45
FIGURA 15 - PONTO DE COLETA 3, NO RIO BARIGUI APÓS ETE	46
FIGURA 16 - PONTO DE COLETA 4, NA CONFLUÊNCIA	46
FIGURA 17 - PONTO DE COLETA 5, NO RIO IGUAÇU	47
FIGURA 18 - A- BALDE DE COLETA, B- FRASCOS ÂMBAR DE COLETA.	48
FIGURA 19 - SISTEMA DE EXTRAÇÃO SPE	50
FIGURA 20 - EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS EM SPE	51
FIGURA 21 - GRÁFICO DA TEMPERATURA DO RIO BARIGUI E IGUAÇU.....	56
FIGURA 22 - GRÁFICO DO PH DA ÁGUA DO RIO BARIGUI E IGUAÇU	57

FIGURA 23 - GRÁFICO DO OXIGÊNIO DISSOLVIDO NOS PONTOS DE COLETA DO RIO BARIGUI.....	58
FIGURA 24 - QUEDA D'ÁGUA NA PONTE RIO BARIGUI.....	59
FIGURA 25 - CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DO RIO BARIGUI E IGUAÇU.....	60
FIGURA 26 - GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO DO 17B-ESTRADIOL NA ANÁLISE DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA.....	61
FIGURA 27 - GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO DO 17 α -ETINILESTRADIOL NO RIO BARIGUI E IGUAÇU.....	65
FIGURA 28 - CONCENTRAÇÃO DE MANGANÊS NO RIO BARIGUI E IGUAÇU ...	67
FIGURA 29 - CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU	68
FIGURA 30 - CONCENTRAÇÃO DE FERRO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU	69
FIGURA 31 - CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU	70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS	25
TABELA 2 - RESULTADO DAS ANÁLISES DA COLETA DO DIA 26/09/2013	55
TABELA 3 - RESULTADO DAS ANÁLISES DA COLETA DO DIA 09/12/2014	55
TABELA 4 - RESULTADOS DA ATIVIDADE ESTROGENICA DAS AMOSTRAS	61
TABELA 5 - CONCENTRAÇÃO DOS HORMÔNIOS INVESTIGADOS	63
TABELA 6 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE METAIS E FÓSFORO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU	66

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - EXCREÇÃO DIÁRIA DE ESTRÓGENOS EM HUMANOS.....	24
QUADRO 2 - CONCENTRAÇÕES DA PROGESTERONA EM DIFERENTES MATRIZES.....	27
QUADRO 3 - USO E OCORRÊNCIA DE DESREGULADORES METÁLICOS.....	28
QUADRO 4 - DESREGULADORES ENDÓCRINOS METÁLICOS E OS EFEITOS EM.....	29
QUADRO 5 - COORDENADAS GEOGRÁFICAS E VAZÃO NOS PONTOS DE COLETA.....	43
QUADRO 6 - HORÁRIO DA COLETA DAS AMOSTRAS NO DIA 26/09/2013.....	47
QUADRO 7 - HORÁRIO DA COLETA DAS AMOSTRAS NO DIA 09/12/2014.....	48
QUADRO 8 - GRADIENTE DA ANÁLISE CROMATOGRÁFICA	54

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 OBJETIVO GERAL	16
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 DESREGULADORES ENDÓCRINOS	17
2.1.1 Hormônios Sexuais.....	23
2.1.1.1 Hormônios Sexuais Femininos (HSFs)	23
2.1.1.2 Hormônio Sexual Testosterona	26
2.1.1.3 Hormônio Sexual Progesterona	26
2.1.2 Metais Desreguladores Endócrinos	28
2.2 AÇÃO DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS SOBRE O SISTEMA ENDÓCRINO	30
2.3 REGULAMENTAÇÃO INTERNACIONAL E NACIONAL	32
2.4 MANACIAIS DE ESTUDO.....	33
2.4.1 Rio Iguaçu	33
2.4.2 Rio Barigui	36
2.5 Parâmetros da qualidade da água.....	38
2.5.1 Temperatura	38
2.5.2 Potencial Hidrogeniônico - pH	38
2.5.3 Oxigênio Dissolvido (OD)	39
2.5.4 Condutividade	39
2.5.5 Fósforo Total.....	40
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
3.1 VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA	41
3.1.1 Caracterização da Área de Estudo	41
3.1.1.1 Determinação dos Pontos de Coleta	43
3.1.2 Coleta das Amostras.....	47
3.1.3 Análises dos Parâmetros: Temperatura, pH, Oxigênio Dissolvido e Condutividade.	49

3.1.4 Avaliação da Atividade Estrogênica pelo Método E-screen Assay	49
3.1.4.1 Extração das Amostras para Análise da Atividade Estrogênica	50
3.1.4.2 Análise E-Screen Assay	51
3.1.5 Análise de Hormônios por Cromatografia Líquida	52
3.1.5.1 Extração das Amostras para Análise Cromatográfica	52
3.1.5.2 Análise Cromatográfica dos Hormônios na Empresa AB Sciex	53
3.1.6 Análise de Metais por Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma ...	54
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	55
4.1 VERIFICAÇÕES DA QUALIDADE DA ÁGUA.....	55
4.1.1 Temperatura.....	56
4.1.2 Potencial Hidrogeniônico (pH)	57
4.1.3 Oxigênio Dissolvido (OD).....	57
4.1.4 Condutividade Elétrica.....	60
4.1.5 Resultado da Atividade Estrogênica pelo método E-Screen Assay	61
4.1.6 Resultados das análises de hormônios	63
4.1.7 Resultado da Análise dos Metais descrito no CONAMA 357/2005.....	66
4.1.8 Fósforo Total	69
5. CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS	73
ANEXO	79

LISTA DE SIGLAS

CE	- Contaminante Emergente
DE	- Desregulador Endócrino
HSFs	- Hormônio Sexual Feminino
ICP-OES	- Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado
LQ	- Limite de Quantificação
RMC	- Região Metropolitana de Curitiba
RMA	- Região Metropolitana de Araucária
SANEPAR	- Companhia de Saneamento do Paraná
SEMMA/PR	- Secretaria Municipal do Meio Ambiente
SUDERHSA	- Superintendência de Desenvolvimento de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental
USEPA	- Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

1 INTRODUÇÃO

Para atender a demanda de água, muitos mananciais são direcionados ao abastecimento das populações, indústrias, irrigação, navegação, recreação, energia elétrica, e a manutenção da sua qualidade é de fundamental importância à saúde e ao desenvolvimento socioeconômico.

Problemas ambientais causados pelo lançamento de esgotos sanitários, tratados ou *in naturas*, em águas superficiais, têm sido motivo de grande preocupação acerca da contaminação por micropoluentes emergentes.

Os micropoluentes emergentes são substâncias que se encontram no meio ambiente em baixas concentrações, microgramas por litro ($\mu\text{g.L}^{-1}$) e nanogramas por litro (ng.L^{-1}) e, mesmo assim, são capazes de desencadear sérios efeitos sobre os sistemas em que estão presentes (BILA, 2005).

Os estrogênios naturais e sintéticos, muito utilizados na reposição hormonal, em diversos tratamentos de câncer e como contraceptivos, são exemplos de micropoluentes. Muitas dessas substâncias são chamadas pela USEPA (*United States Environmental Protection Agency*) como desreguladores endócrinos, substâncias exógenas capazes de causar efeitos adversos à saúde, interferindo no sistema endócrino de espécies aquáticas e do ser humano (USEPA, 1997). Estes são encontrados em produtos farmacêuticos, de uso pessoal, pesticidas, antioxidantes plásticos, industrializados, tensoativos e em efluentes industriais.

Segundo Nogueira (2003) os compostos orgânicos desreguladores endócrinos, em geral, são lipofílicos e semivoláteis, o que facilita sua dispersão no ambiente, principalmente por meio da água. São persistentes no ambiente aquático e não sofrem degradação completa nas estações de tratamento convencionais de efluentes.

Algumas substâncias inorgânicas como os metais cádmio, chumbo, manganês e mercúrio, também são classificados como desreguladores endócrinos. Esses metais fazem ligações com os grupos funcionais das enzimas inibindo sua ação no organismo (FERREIRA, 2003).

A verificação da qualidade da água dos mananciais de abastecimento é um trabalho preventivo e fundamental para conhecimento dos contaminantes, e orientação para a escolha de técnicas eficientes de tratamento, como também de iniciativas de programas de recuperação do meio.

O Rio Barigui, situado em Curitiba e região metropolitana, foi determinado como objeto de estudo pelo fato de ser manancial de captação da Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR), para abastecimento da cidade de Almirante Tamandaré com 103 mil habitantes. O rio Barigui passa por regiões de crescente ocupação industrial e populacional, e tem como consequência a queda da qualidade de seus corpos d'água, somado ao agravamento das condições socioambientais.

Este trabalho baseia-se na investigação da qualidade da água superficial do rio Barigui, verificando os parâmetros de temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade, concentração dos hormônios 17 β -estradiol, estrona, 17 α -etinilestradiol, progesterona, testosterona, e concentração dos metais cádmio, chumbo, manganês e mercúrio, como também os demais metais descritos na Resolução CONAMA 357/2005 para rios de águas doces de classe II.

1.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a presença de desreguladores endócrinos hormonais e metálicos nas águas superficiais do rio Barigui, no Paraná.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a qualidade da água superficial do rio Barigui utilizando as análises de: temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade e atividade estrogênica.

- Determinar a concentração dos hormônios 17 β -estradiol, estrona, 17 α -etinilestradiol, testosterona, progesterona, a concentração dos metais descritos no CONAMA 357/2005 classe II, e a concentração de fósforo.

- Comparar os resultados obtidos com os limites da legislação brasileira e internacional, relacionando às fontes potenciais do rio Barigui.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DESREGULADORES ENDÓCRINOS

Os compostos utilizados no cotidiano da população, que em sua maioria não apresentam dados ecotoxicológicos e pouco se conhece do impacto ao ambiente e à saúde humana, são chamados de Contaminantes Emergentes (CE) (DEBLONDE; COSSUE-LEGUILLE; HARTEMANN, 2011).

Dentre os CE, aqueles que têm potencial de causar perturbação endócrina, apresentam grande efeito maléfico às diferentes formas de vida e tem sido motivação de muitas pesquisas.

Essas substâncias presentes no meio ambiente têm o potencial de perturbar o funcionamento normal do sistema endócrino dos animais e seres humanos. O termo “Desregulador Endócrino” (DE) é sinônimo de interferentes endócrinos, disruptores endócrinos e agentes hormonalmente ativos, que na literatura internacional corresponde aos “*Endocrine Disrupting Compounds or Chemicals*” (EDCs).

Segundo Birkett e Lester (2003) os primeiros relatos de substâncias químicas DE foram sobre o medicamento Dietilestilbestrol (DES), usado por mulheres na gravidez, entre os anos de 1940 a 1970, causando o aparecimento de câncer no sistema reprodutivo das filhas nascidas dessas mulheres.

Muitas definições foram apresentadas para os DE, e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), propôs a definição “DE é um agente exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais no corpo, causando efeitos adversos sobre um organismo e sua descendência, como também em populações de organismos”.

Os DE são classificados como produtos naturais e sintéticos. Os hormônios estrógenos, progestógenos e andrógenos presentes no corpo humano e nos animais, como também os fitoestrógenos muito comum em alimentos de origem vegetal, são classificados como produtos naturais. Os sintéticos ou de origem antrópica incluem os hormônios sintéticos como o 17α -etinilestradiol, utilizado como contraceptivo, bem como os xenoestrógenos, produzidos para utilização na indústria, solventes clorados, aditivos alimentares, constituintes de produtos de limpeza, aditivos plásticos, pesticidas, cosméticos, compostos de organoestanho,

metais, alquilfenóis, as bifenilas policloradas, retardantes de chama, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, dioxinas, furanos (SOLÉ et al., 2003; VERAS, 2006; MASTERS, 2001).

Uma das fontes de contato mais frequente com os DE, é por meio da água contaminada, em rios e águas subterrâneas.

Segundo Berwanger (2006), a contaminação das águas pode ocorrer por fontes pontuais, com efluentes de estações de tratamento de águas residuais, despejo de esgoto doméstico e industrial *in natura*, efluentes de indústrias, efluentes da atividade agrícola, e lixiviados. E por fontes difusas, como infiltrações no solo de compostos utilizados na agricultura e indústrias, atingindo lençol freático, recarga de aquíferos com água contaminada e fossas sépticas.

A crescente preocupação, entre as companhias de saneamento e pesquisadores, com estas substâncias, tornou-se um assunto importante, de como poderão ser retiradas do meio ambiente e como evitar pontos de contaminação dos mananciais (DINIZ et al., 2010).

Por muitos anos a verificação da poluição em corpos hídricos era baseada no monitoramento da demanda bioquímica de oxigênio (DBO), na demanda química de oxigênio (DQO), nitratos, fosfatos e sólidos suspensos totais (CIRJA et al., 2008). Atualmente, a detecção dos compostos DE em rios, lagos, estuários e sedimentos tem sido assunto de muita relevância, mas ainda não estão suficientemente estudadas as características do movimento ou a degradação de cada um dos compostos DE nos sistemas de tratamento de águas residuais (BRAGA et al., 2005).

A legislação vigente CONAMA 357/2005 que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento e as condições e padrões de lançamento de efluentes, não estabelece limites da concentração para uma grande maioria dos DE no ambiente, já que passaram a ser detectados apenas há poucos anos. A determinação da temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade, fósforo, é de fundamental importância, pois influenciam na forma de disposição dos DE no meio ambiente (LAI et al., 2000).

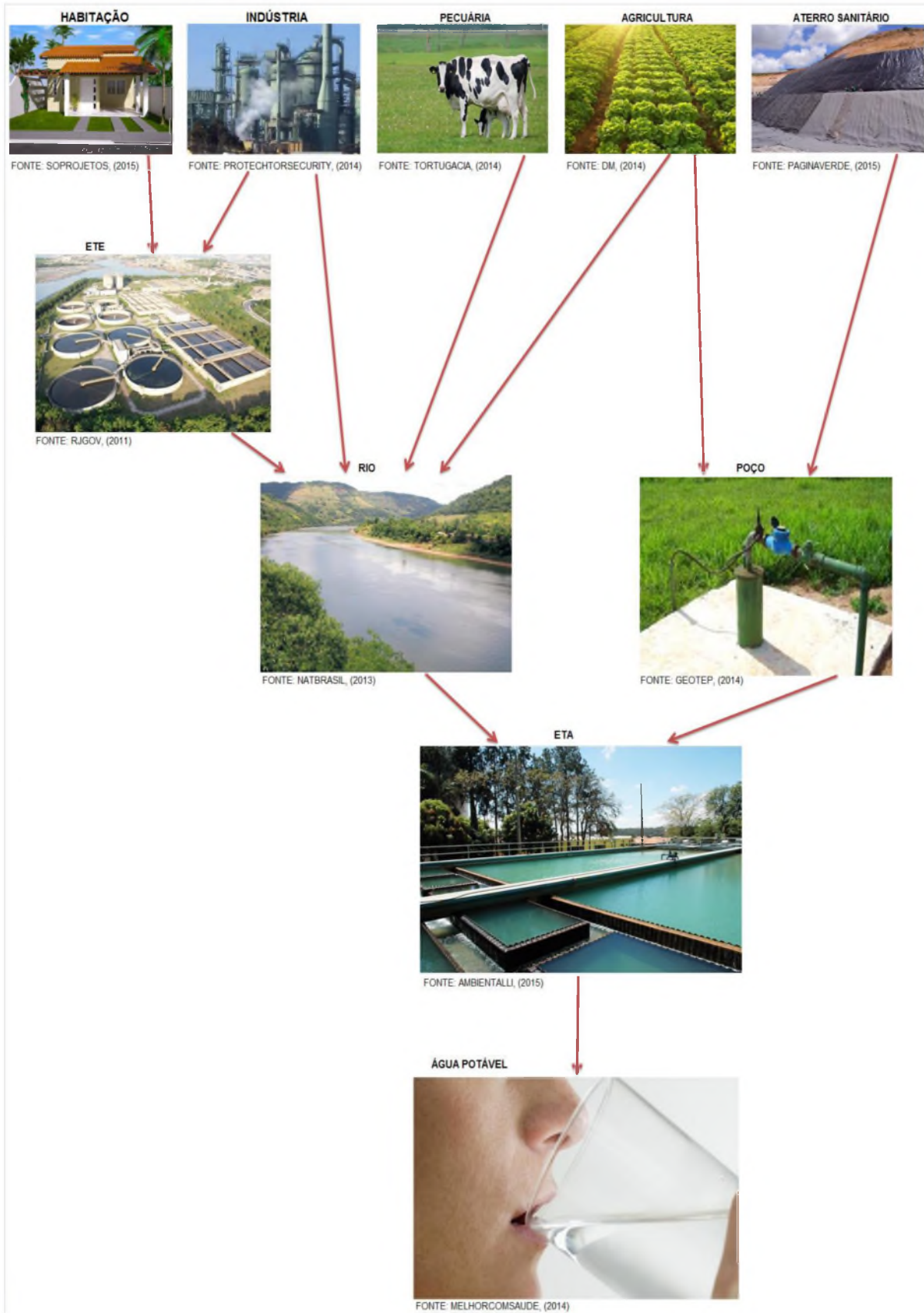
Existem várias fontes de DE que contribuem para a contaminação do ambiente, afetando tanto o homem quanto os demais organismos. A (FIGURA 1) ilustra vários pontos de entrada dos DE no meio aquático. Os diversos compostos provenientes de indústrias, como por exemplo, os metais, os provenientes das residências como os hormônios naturais e sintéticos e produtos de limpeza, chegam

aos rios por meio dos efluentes industriais e domésticos destinados às estações de tratamento de esgoto e são considerados os maiores contribuintes na contaminação dos rios por micropoluentes (LIU et al., 2009).

Nos casos da agricultura, agropecuária e aterros, os micropoluentes chegam aos rios e poços pro meio do escoamento e infiltração. E dessas fontes de água são encaminhados milhares de metros cúbicos às Estações de Tratamento de Água (ETA) para produção de água potável (LIU et al., 2009).

Nos processos de tratamento de efluentes urbanos, os reatores anaeróbios e aeróbios, as lagoas de estabilização, e a utilização de lodo ativado, estão entre os processos mais empregados, e a taxa de degradação e remoção de compostos são influenciadas pela vazão volumétrica de entrada na estação e pela estrutura química de cada composto. As técnicas convencionais, processos físico-químicos ou biológicos são incapazes de remover totalmente as substâncias DE, tornando-as persistentes no ambiente (DALLEGRAVE, 2012).

FIGURA 1 - FONTES DE ENTRADA DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS NO MEIO AMBIENTE



FONTE: Esquema adaptado de LIU et al. (2009)

Bila (2005) descreve que os DE, quando presentes no meio aquático, provocam diversos efeitos e alteram a homeostase dos hormônios esteroidais, causando distúrbios no sistema reprodutivo, feminização, anomalias morfológicas nas gônadas, diminuição na eclosão de ovos, e alguns casos podem conduzir a diminuição de populações.

Os efeitos causados pelos estrogênios em ambientes aquáticos apontam resultados alarmantes. Kashiwada et al. (2002) realizaram um estudo no Japão no qual avaliaram o efeito da exposição de peixes *medaka* ao 17β -estradiol. Nesta pesquisa os peixes foram expostos a concentrações de 0,005 e $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ nas quais verificaram o aumento de proteínas específicas do sexo feminino no sangue dos peixes machos adultos. Esses resultados demonstraram a real possibilidade de feminização de peixes em ambientes contaminados com o 17β -estradiol.

Segundo Virkutyte et al. (2010), os estrogênios podem causar efeitos adversos em peixes e em outros animais como os anfíbios, répteis e invertebrados.

Palmer e Palmer (1995) constataram que uma dose de 17β -estradiol equivalente a $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ foi suficiente para induzir em uma semana um aumento na síntese de vitelogenina em sapos africanos *Xenopus laevis*.

Nos seres humanos, Cunha (2014) relata que o efeito dos DE tem várias associações comprovadas sobre alterações na saúde humana:

- a) Problemas no sistema reprodutivo feminino, aumento do risco de câncer de mama e vagina, endometriose e ovários policísticos.
- b) No sistema reprodutivo masculino, pode ocorrer redução na produção de esperma, alterações nos níveis hormonais da tireoide, aumento do risco de câncer testicular, de próstata e infertilidade.

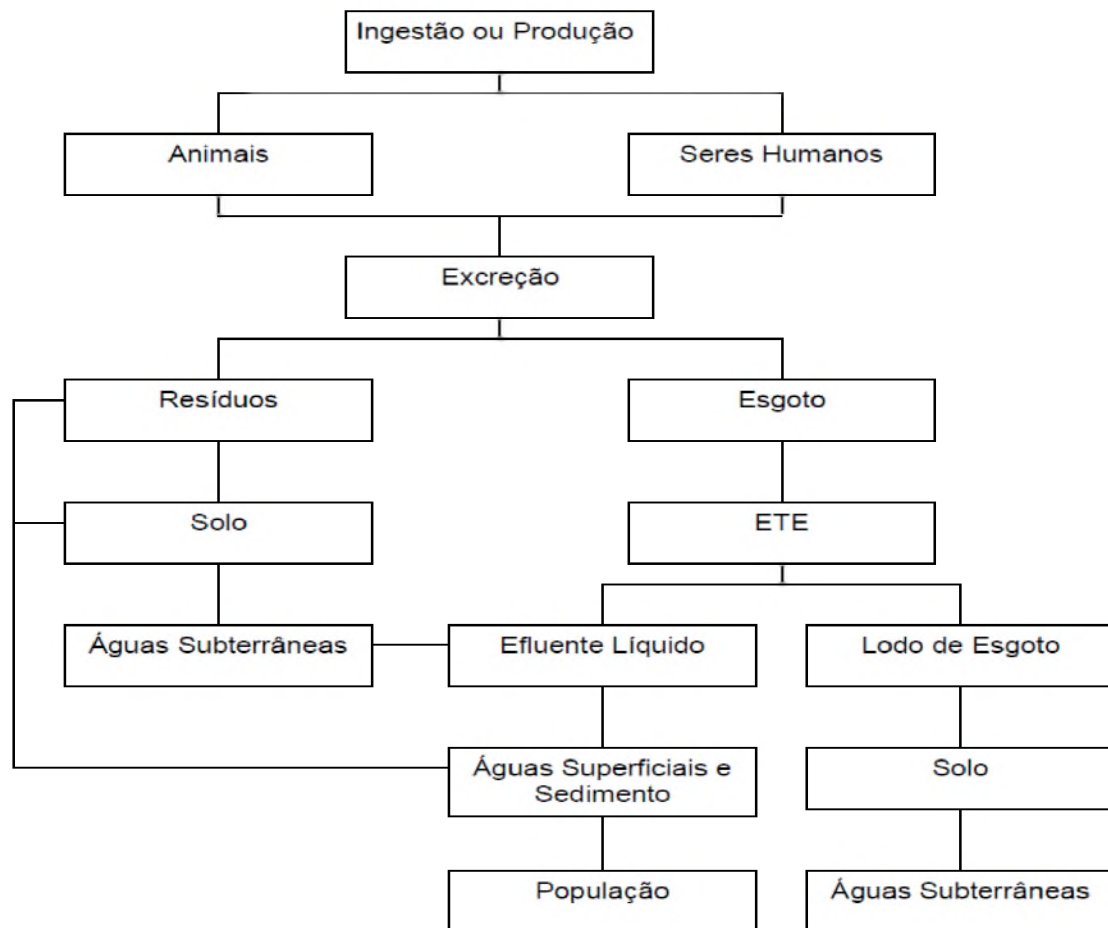
Segundo Chambel (2011), diante das variadas vias de exposição, o contato direto com estes compostos pode acontecer de várias formas, como entrar em contato com pesticidas, utilização de compostos químicos industriais, por inalação de compostos voláteis, provenientes de detergentes e cosméticos, uso de pílulas anticoncepcionais e na dieta diária por ingestão de água e alimentos contaminados.

Dentre os DE, os que mais vêm recebendo atenção são os Hormônios Sexuais Femininos (HSFs), devido à grande demanda de contraceptivos utilizados pela população feminina (PERSHE, 2000), como também por se tratarem de

compostos muito ativos, tendo uma potência mil vezes maior que outros desreguladores endócrinos (SARAVANABHAVAN, 2009).

A principal via de entrada dos HSFs nos sistemas aquáticos é através da excreção animal e humana (FIGURA 2), que independente de passar por tratamento chegam aos rios, pois não são totalmente removidos pelas ETEs.

FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DA PROVÁVEL ROTA DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS EM SISTEMAS AQUÁTICOS.



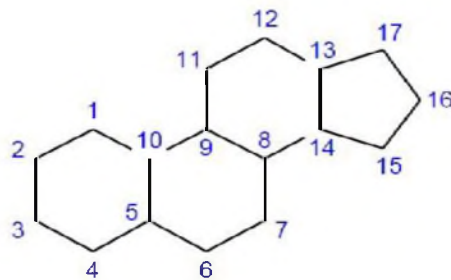
FONTE: MACHADO (2010)

A contaminação dos sistemas aquáticos também pode ocorrer pelo processo de lixiviação, escoamento e dissipação, quando o lodo de estações de tratamento de água e esgoto contaminados com os HSFs é reutilizado na agricultura (PADILHA e LEITZKE, 2013).

2.1.1 Hormônios Sexuais

De acordo com Raimundo (2007) os hormônios são proteínas derivadas de aminoácidos ou esteroides. O ciclo-pentano-peridro-fenantreno (FIGURA 3) é a estrutura básica dos esteroides, na qual pode ocorrer ligações duplas, radicais metilas, hidroxilas, carbonilas, originando diversos hormônios esteroidais.

FIGURA 3 - ESTRUTURA BASE DOS ESTERÓIDES



FONTE: DALLEGRAVE, (2012)

Segundo Solomons e Fryhle (2000), os hormônios sexuais são divididos em três grupos:

- a) Hormônios sexuais femininos, ou estrógenos;
- b) Hormônios sexuais masculinos, ou andrógenos;
- c) Hormônios da gravidez, ou progestógenos.

2.1.1.1 Hormônios Sexuais Femininos (HSFs)

Do grupo dos estrógenos, os mais comuns encontrados em águas residuárias são a Estrona, 17β -estradiol, Estriol e 17α -etinilestradiol. Estes são eliminados diariamente na urina e fezes por mulheres e em menor quantidade por homens (QUADRO 1). Grande parte dos estrógenos é metabolizada e excretada na forma inativa, como glicuronídeos e sulfatos (ARIE et al., 2004). Bactérias encontradas em efluentes produzem enzimas que biotransformam as formas inativas dos estrógenos em compostos biologicamente ativos e passíveis de causar efeitos sobre o sistema endócrino (TYLER e ROUTLEDGE, 1998).

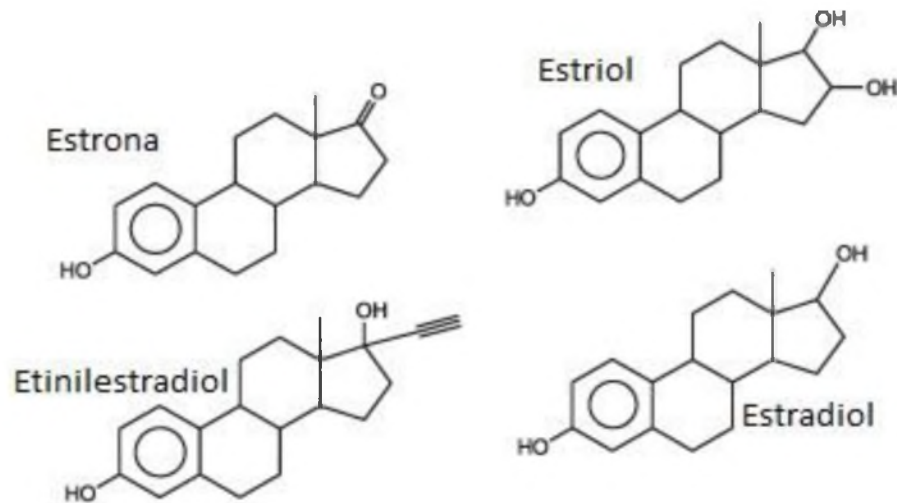
QUADRO 1 - EXCREÇÃO DIÁRIA DE ESTRÓGENOS EM HUMANOS

CATEGORIA	ESTRONA (μg)	17 β -ESTRADIOL (μg)	ESTRIOL (μg)	17 α - ETINILESTRADIOL (μg)
Homens	3,9	1,6	2,5	-----
Mulheres menstruando	8	3,5	4,8	-----
Mulheres na menopausa	4	2,3	1	-----
Mulheres grávidas	600	259	6000	-----
Mulheres que usam anticoncepcional oral	-----	-----	-----	35

FONTE: Adaptado de DALLEGRAVE (2012)

A diferença na estrutura molecular desses hormônios está nos radicais ligados a estrutura base esteroidal (FIGURA 4).

FIGURA 4 - ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS PRINCIPAIS ESTRÓGENOS



FONTE: GHISELLI; JARDIM (2007)

Muitos estrógenos são compostos extremamente ativos, acumulam nos sedimentos dos rios, solo e cadeia trófica tornando-se persistente no meio ambiente (YING; KOOKANA, 2002).

Os estrógenos naturais estrona, 17 β -estradiol, estriol, como também o sintético 17 α -etinilestradiol possuem a melhor conformação reconhecida pelos receptores hormonais e resultam respostas máximas, sendo ativos em concentrações muito baixas, na faixa ng/L (GHISELLI, 2006).

Segundo Raimundo (2007), o destino e comportamento de substâncias no ambiente dependem das propriedades físico-químicas que determinam a partição na água, solo ou biota. Algumas propriedades físico-químicas dos hormônios 17 β -estradiol, Estrona e 17 α -etinilestradiol descritos na (TABELA 1) ajudam a compreender a disponibilidade dessas substâncias nos corpos hídricos.

TABELA 1 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS

NOME COMUM	FÓRMULA	Y SAT (ugL ⁻¹ 25°C)	Log K _{ow}	Pressão de Vapor (mm Hg)	K _{oc}	pK _a
17 β -ESTRADIOL	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	12960	4,01	2,3.10 ⁻¹⁰	3300	10,23
ESTRONA	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	12420	3,13	2,3.10 ⁻¹⁰	4882	10,5
17 α -ETINILESTRADIOL	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	483	3,67	4,5.10 ⁻¹¹	4770	10,4

Y_{SAT}: SOLUBILIDADE EM ÁGUA; K_{ow}: COEFICIENTE DE PARTIÇÃO OCTANOL/ÁGUA; K_{oc}: CONSTANTE DE SORÇÃO; pK_a: CONSTANTE DE DISSOCIAÇÃO ÁCIDA
 FONTE: Adaptado de REIS FILHO et al. 2006

Raimundo (2007) também comenta que as substâncias com baixa solubilidade e alto coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}) passam a bioacumular na cadeia alimentar. A afinidade desses hormônios pela matéria orgânica e sorção efetiva é determinada pelo K_{ow}.

A sorção desses compostos podem ocorrer por dois mecanismos:

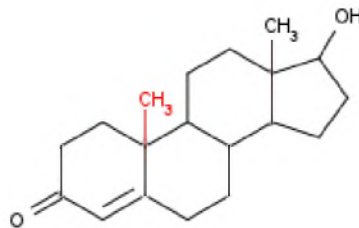
- Absorção, que depende das interações hidrofóbicas caracterizadas pelo valor de K_{ow};
- Adsorção que trata da tendência da substância se dissociar no meio aquoso, dependendo do valor de sua constante de dissociação pK_a.

A pressão de vapor (10⁻¹¹ a 10⁻¹⁰) indica que a volatilidade não é tão significativa, e que o log K_{ow} (entre 3 e 4) o processo de adsorção em sedimentos suspensos pode ser um fator significativo na redução dos estrogênios na fase aquosa. A interação com a matéria orgânica é favorecida e a infiltração e percolação são limitadas (LOPEZ, 2007).

2.1.1.2 Hormônio Sexual Testosterona

É o principal hormônio sexual masculino, e um esteróide anabolizante produzido naturalmente pelo organismo. A testosterona (FIGURA 5) é segregada pelos testículos, ovários, como também pelas glândulas suprarrenais. É responsável pelas características sexuais masculinas, embora seja produzida nos dois sexos, o homem apresenta cerca de trinta vezes mais testosterona que a mulher (GHISELLI e JARDIM,2007).

FIGURA 5 - ESTRUTURA QUÍMICA DA TESTOSTERONA



FONTE: SBQ (2014)

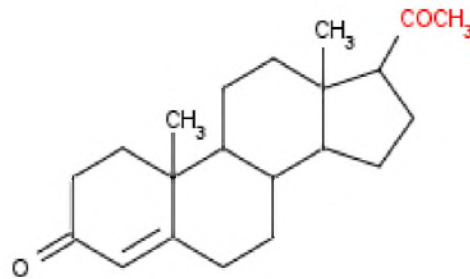
O caminho da testosterona até o meio ambiente também ocorre pela contaminação dos rios por efluentes domésticos. Poucos estudos demonstram a presença de testosterona em águas superficiais, mas este pode chegar aos rios e provocar distúrbios a população aquática e ao homem (RAIMUNDO, 2007).

2.1.1.3 Hormônio Sexual Progesterona

Esteróide feminino produzido a partir da puberdade e durante a gravidez. Tem fundamental importância na menstruação, fecundação, desenvolvimento da gravidez e lactação (RAIMUNDO, 2011).

A progesterona tem fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_2$ e fórmula estrutural conforme (FIGURA 6).

FIGURA 6 - ESTRUTURA QUÍMICA DA PROGESTERONA



FONTE: SBQ (2014)

A contaminação ambiental por este hormônio é proveniente da quantidade liberada naturalmente pelo corpo humano e da utilização em reposição hormonal. O (QUADRO 2) mostra o histórico da concentração de progesterona em matrizes aquosas encontrados em alguns países (DALLEGRAVE, 2012).

QUADRO 2 - CONCENTRAÇÕES DA PROGESTERONA EM DIFERENTES MATRIZES

MATRIZ	CONCENTRAÇÕES DA PROGESTERONA (ng/L)	LOCAL
Água Superficial	n.d. - 0,4	Koréia
Rio	n.d. - 3,0	Canadá
Rio	0,5 - 2,5	China
Rio	0,5 - 47,2	Brasil

FONTE: DALLEGRAVE (2012)
n.d. não detectado

Segundo Lopez (2007) compostos com log Kow acima de 3,0 possuem natureza lipofílica. A progesterona tem log kow 3,62 e sua interação com a matéria orgânica é favorecida, facilitando a sorção no solo e sedimentos, que pode reduzir a concentração em fases aquosas.

2.1.2 Metais Desreguladores Endócrinos

O estado natural de metais em corpos hídricos é em concentrações abaixo dos limites especificados nas legislações vigentes para águas superficiais. As altas concentrações são provenientes de despejos de origem industrial, uso de fertilizantes e pesticidas, e escoamento urbano. A contaminação de rios ocorre em sua maioria em áreas urbanizadas, e os metais comumente encontrados são o zinco, chumbo, cobre, cádmio, cromo e níquel (PUSCH, 2007).

A origem de alguns metais em águas (QUADRO 3) é resultante da industrialização de ligas de ferro e aço, baterias e da industrialização de tintas, corantes e fertilizantes (FREITAS GUIMARÃES, 2010).

QUADRO 3 - USO E OCORRÊNCIA DE DESREGULADORES METÁLICOS

DESREGULADOR ENDÓCRINO	USO E OCORRÊNCIA
Cádmio	Ligas metálicas; solda; pigmentos; estabilizante de plásticos; baterias; cinzas de incineradores; chapas galvanizadas.
Chumbo	Baterias, pigmentos, soldagem, ligas, tintas, gasolina de aviação.
Manganês	Produção de ferro e aço, eletrodos para solda, tintas, fertilizantes.
Merúrio	Indústria de cloro-soda, aparelhos de medição, garimpos, agrotóxicos, tintas e lâmpadas.

FONTE: Adaptado de FREITAS GUIMARÃES, (2010)

Quando utilizados produtos e materiais contendo esses metais, assim como nas atividades de produção, eles podem ser liberados para o ambiente, seja por desgaste, corrosão ou emissões atmosféricas. Há diferentes formas dos metais chegarem aos corpos de água superficial, seja por lançamento direto ou escoamento superficial, também sendo significativa a entrada por deposição atmosférica e erosão (FREITAS GUIMARÃES, 2010).

O Potencial Hidrogeniônico (pH) da água e Oxigênio Dissolvido (OD) têm grande influência sobre a disponibilidade dos metais em corpos hídricos. Segundo Gonçalves (2008), a solubilidade de certos metais ocorre em baixos valores de pH, e na falta de OD, pode ocorrer a liberação de metais precipitados para a coluna de água. Portanto as verificações do pH, oxigênio dissolvido e temperatura, como

também a condutividade são importantes na investigação de metais em corpos hídricos.

Os metais desreguladores endócrinos agem sobre o organismo por meio das enzimas. O cádmio, por exemplo, tem afinidade pelo grupo sulfidrila (-SH) das enzimas e inibe sua ação no organismo (FERREIRA, 2003). O (QUADRO 4) mostra alguns efeitos causados por metais DE.

QUADRO 4 - DESREGULADORES ENDÓCRINOS METÁLICOS E OS EFEITOS EM HUMANOS

DESREGULADOR ENDÓCRINO	EFEITOS EM SERES HUMANOS
Cádmio	Câncer de próstata; Concentra-se no pâncreas, nos testículos, tireóide e glândulas salivares; Acumula no leite materno; Causa atrofia testicular, redução no volume do esperma e tumores nos testículos.
Chumbo	Reduz a qualidade do esperma; Causa hipotireoidismo de corrente de alterações funcionais da hipófise; Acumula no leite materno; Causa atrofia testicular, redução no volume do esperma; Causa aborto espontâneo; Acumula na tireóide, adrenais, pituitária, testículos e ovários; Passa pela placenta e atinge o cérebro do feto; aumenta a taxa de aborto.
Manganês	Causa danos ao DNA dos linfócitos; Mal de Parkinson; Impotência sexual; Concentra-se na tireóide, adrenais, pituitária, supra-renais e pâncreas.
Mercúrio	Causa ciclo menstrual irregular, menos ovulação. Acumula no leite materno; Acumula no pâncreas, testículos e próstata; Causa aborto espontâneo.

FONTE: Adaptado de VERAS (2006)

Choi et al. (2004) comentam que dependendo da estrutura química do contaminante, pode apresentar diferentes ações, os hormônios estrogênicos e pesticidas apresentam em sua maioria, o efeito estrogênico, enquanto os metais como cádmio, chumbo e mercúrio desregulam a tireóide.

A legislação CONAMA 357/2005 determina o limite máximo permissível para 21 metais em águas superficiais. O cádmio, chumbo, manganês e mercúrio estão

incluídos nesta legislação e foram verificados neste trabalho de investigação de desreguladores endócrinos.

2.2 AÇÃO DOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS SOBRE O SISTEMA ENDÓCRINO

O sistema endócrino é um dos reguladores das funções corporais e trabalha transportando informações, de um tecido para outro através dos hormônios (RAIMUNDO, 2007).

É composto por várias glândulas: o hipotálamo, a hipófise, tireóide, paratireoide, adrenais ou suprarrenais, o pâncreas, os ovários e testículos.

Segundo Moreira (2008), o hipotálamo controla a hipófise por meio das conexões neurais, a hipófise produz hormônios denominados tróficos por atuarem sobre outras glândulas endócrinas, a tireóide produz os hormônios triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) que elevam a taxa metabólica e geração de calor, as paratireóides são glândulas que fazem a secreção do hormônio paratormônio que distribui o cálcio absorvido dos alimentos para o sangue e ossos, as adrenais são duas glândulas localizadas sobre os rins, que secretam estimulantes e regulam o nível de água e sal, o pâncreas é uma glândula mista, que apresenta regiões endócrinas e exócrinas. Suas células secretam os hormônios insulina e glucagon, os ovários e testículos são glândulas sexuais responsáveis pela reprodução.

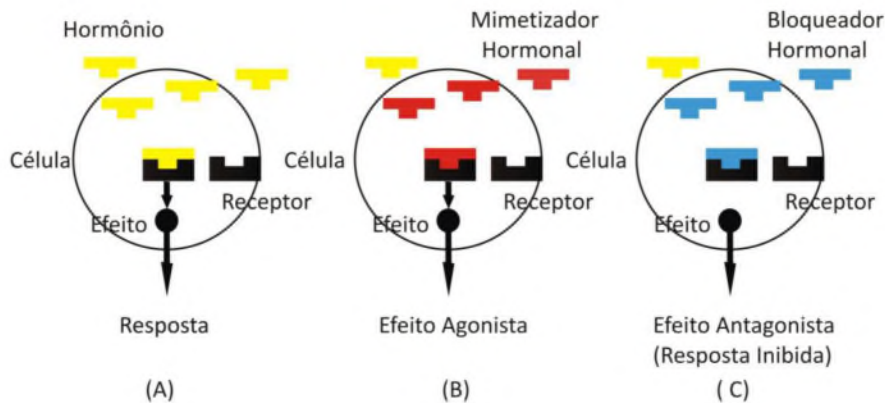
Essas glândulas endócrinas produzem e secretam os hormônios, lançando-os na corrente sanguínea. Elas coordenam o funcionamento do organismo, atividades dos órgãos, níveis de sais e açúcares no sangue, a energia armazenada, o desenvolvimento, reprodução e características sexuais (GHISELLI e JARDIM, 2007).

Nos diversos órgãos e tecidos, os hormônios se ligam a receptores específicos. A ligação do hormônio e seu receptor é baseada no mecanismo chave-fechadura (LISBOA FILHO, 2012).

Um receptor hormonal possui grande afinidade por um hormônio específico, gerando uma resposta quando exposto a concentrações de um determinado hormônio. Entretanto, estes receptores também podem se ligar a outras substâncias químicas como os DE.

Segundo Ghiselli (2006), o efeito de substâncias como pesticidas, esteróides sexuais, metais e outros DE, sobre o sistema endócrino acontece quando uma substância interage com os receptores hormonais, causando uma resposta diferente. Existem basicamente três formas de ação biológica que podem ocorrer frente a um receptor hormonal (FIGURA 7):

FIGURA 7 - A) RESPOSTA NATURAL, B) EFEITO AGONISTA, C) EFEITO ANTAGONISTA



FORNE: BIRKETT E LESTER (2003)

Na forma (A), o receptor hormonal tem afinidade por um hormônio específico, produzido no organismo, e liga-se a este gerando uma resposta natural entre hormônio e seu receptor específico. Na forma (B) um DE pode se ligar ao receptor hormonal e produzir uma resposta, imitando a ação de um hormônio, mimetizando, causando o efeito Agonista. Na forma (C), o efeito antagonista é causado quando um DE se liga a um receptor hormonal e nenhuma resposta é produzida, impedindo a interação entre um hormônio natural e o seu respectivo receptor (LINTELMANN et al.,2003).

Algumas variáveis são muito importantes para avaliar os efeitos adversos ocasionados por um desregulador endócrino, como a concentração, duração da exposição e fase de desenvolvimento do organismo afetado. Os efeitos causados podem ser reversíveis ou irreversíveis, agudos ou crônicos (USEPA, 1997).

De acordo com Turini (2005), os efeitos podem ser entendidos como:

- i. Efeito reversível é aquele que desaparece quando cessa a exposição, enquanto o irreversível persiste mesmo após o término da exposição.

- ii. O efeito agudo aparece ou se desenvolve logo após a exposição, única ou repetida, e o efeito crônico se desenvolve durante uma exposição em longo prazo.

2.3 REGULAMENTAÇÃO INTERNACIONAL E NACIONAL

A perda da biodiversidade é uma consequência dos efeitos tóxicos da poluição dos corpos hídricos, que acumulam poluentes no ecossistema. Em alguns países têm sido criadas normas e legislações que visam a melhoria da qualidade da água dos mananciais, a proteção da vida aquática e da saúde humana.

Apesar dos esforços de muitos países no estudo de micropoluentes e seus efeitos sobre a saúde dos seres humanos, ainda não existe regulamentação que limite as concentrações de micropoluentes nos mananciais e na água potável.

A União Europeia (UE) regulamentou a lei nº 596/2009 com o principal objetivo de proteger a saúde humana dos efeitos nocivos que a contaminação das águas podem causar. Esta lei lista 48 contaminantes que devem ser monitorados e testados. Dentre essas substâncias, 26 são metais e agrotóxicos (CUNHA, 2014).

Em agosto de 2013 a Comissão do Meio Ambiente do Parlamento Europeu regulamentou a LEI nº 39/2013, aprovando a inclusão de 15 substâncias na lista de produtos químicos regulamentados na legislação das águas superficiais. A escolha dessas substâncias foi baseada numa lista de 2000 substâncias consideradas potencialmente perigosas, na qual se encontram alguns desreguladores endócrinos. Com o objetivo de alcançar o bom estado químico das águas superficiais na UE, os Estados Membros têm a responsabilidade de monitorar e atender aos padrões de qualidade ambiental no prazo estabelecido de 2015 a 2021.

Nos Estados Unidos, a Lei da água Potável nº 104-182 de 1996 regulamentada pelo órgão responsável pela qualidade da água USEPA, autoriza a EPA a estabelecer normas relativas à água de abastecimento.

Em relação às águas superficiais, os Estados têm a responsabilidade de promover audiências públicas para revisar os padrões de qualidade da água, com intuito de garantir que as normas estejam sendo cumpridas e correspondam com o uso adequado dos corpos hídricos.

No Brasil, o enquadramento dos corpos d'água em classes, está descrito na Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Nesta legislação estão

definidos limites de concentração para diversas substâncias químicas, para que os corpos d'água apresentem padrões de qualidade compatíveis com seus usos previstos (PROSAB, 2009).

Na relação de parâmetros de qualidade descritos na Resolução CONAMA nº 357/2005, estão presentes os compostos químicos, orgânicos e inorgânicos, algas e microrganismos, e as propriedades físico-químicas da água. Na relação dos compostos orgânicos estão os agrotóxicos e pesticidas, onde alguns são considerados desreguladores endócrinos, mas os hormônios naturais e sintéticos não foram relacionados.

A resolução CONAMA 430 de 13 de maio de 2011 dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução CONAMA 357/2005. Nesta legislação, também é definida uma relação de compostos orgânicos e metálicos com seus limites para o lançamento de efluentes em corpos hídricos. Dentre estes compostos encontram-se alguns desreguladores endócrinos, mas os hormônios não são citados nesta legislação.

Segundo Gilbert (2012), a Comissão Europeia propôs, em janeiro de 2012, devido à crescente preocupação relativa aos efeitos adversos do hormônio sintético 17α -etinilestradiol sobre organismos aquáticos, um limite de $0,035 \text{ ng.L}^{-1}$ para a concentração deste estrogênio nos corpos hídricos. Para a proposição deste limite levou-se em consideração uma série de estudos dos efeitos ecotoxicológicos desta substância.

2.4 MANACIAIS DE ESTUDO

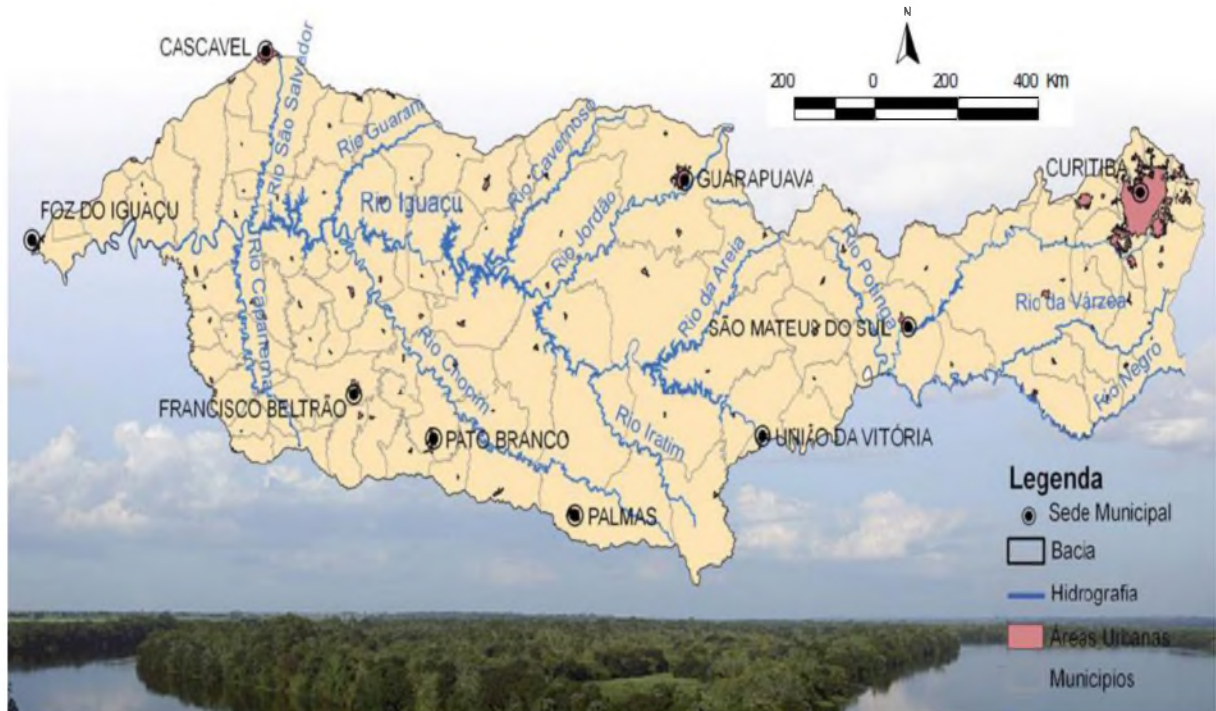
Os rios que fazem parte deste estudo são o rio Iguaçu e seu afluente da margem direita, o rio Barigui.

2.4.1 Rio Iguaçu

O rio Iguaçu é o principal curso fluvial do Estado do Paraná com extensão de 910 km (FIGURA 8). Sua nascente é localizada na região leste do município de Curitiba, com o encontro dos rios Irai e Atuba. Seu percurso se estende até Foz de Iguaçu, quando se encontra com o rio Paraná. Os seus principais rios afluentes são Iraí, Atuba, Passaúna, Verde, Passa Dois, da Várzea, Chopin, Palmital, Cavernoso,

Adelaide, Gonçalves Dias, Castro Alves, Ampére, Silva Jardim e o rio Barigui (GONÇALVES, 2008; SEMA, 2010).

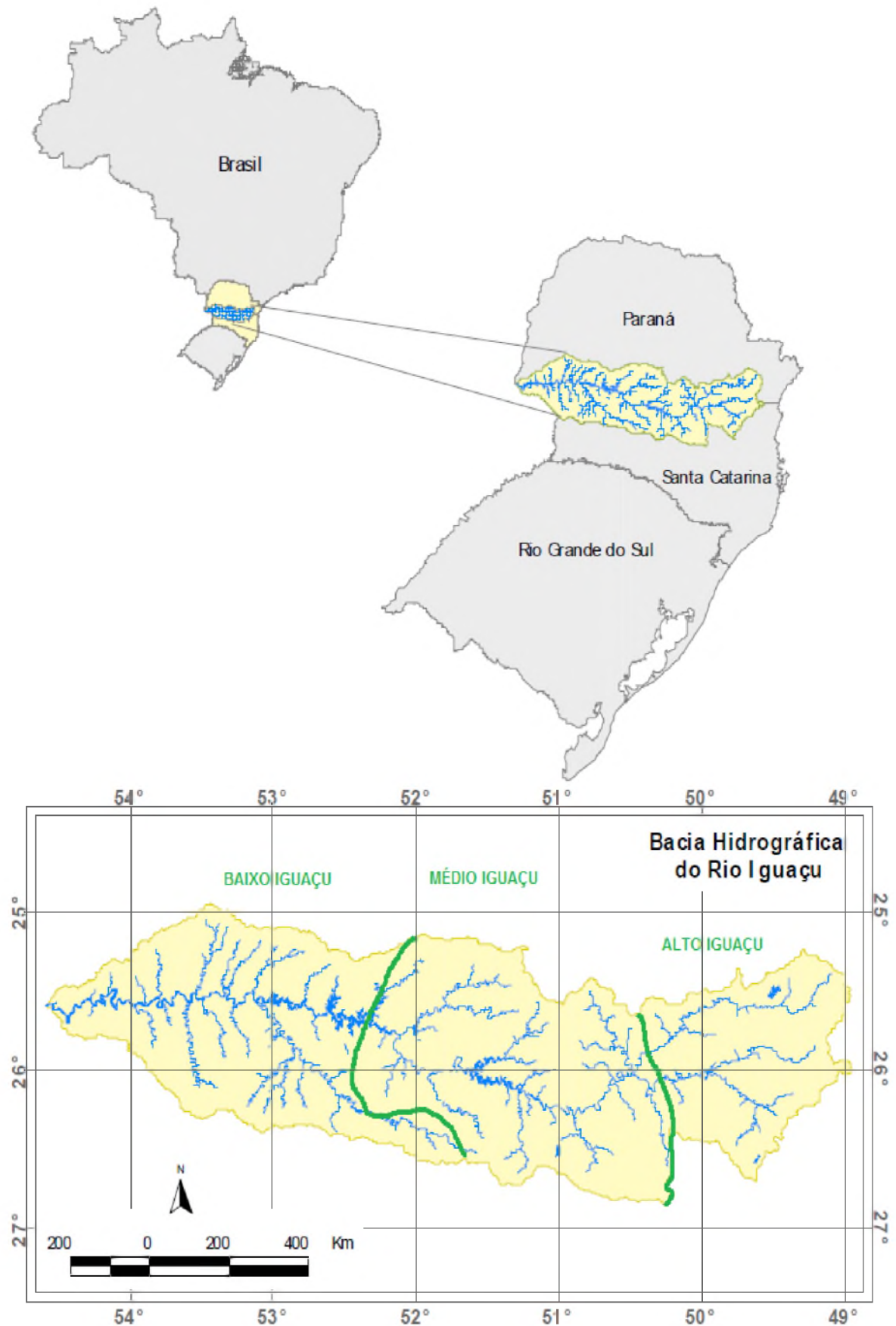
FIGURA 8 - CURSO DO RIO IGUAÇU NO ESTADO DO PARANÁ



FONTE: ADAPTADO DE SEMA (2010)

Segundo a SEMA (2010) a bacia hidrográfica do Iguaçu (FIGURA 9) possui uma área total de 54.820,4 Km², e esta dividida em: Baixo Iguaçu, Médio Iguaçu e Alto Iguaçu. A demanda hídrica é de aproximadamente 16 mil L/s, sendo 81% provenientes de mananciais superficiais e 19% de águas subterrâneas, e a distribuição aos setores usuários é de 62% para o abastecimento público, 18% para uso industrial, 10% para o setor agrícola, 9% para o setor pecuário e o setor minerário com menos de 1%.

FIGURA 9 - BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO IGUAÇU



FONTE: Adaptado de GONÇALVES, (2007)

A região da bacia do Iguaçu é ocupada com áreas de agricultura intensiva, concentração de cobertura florestal na região do Médio e Baixo Iguaçu e áreas de uso urbano com intensa atividade industrial, no Alto Iguaçu. Em regiões rurais, há uma grande vulnerabilidade de contaminação da unidade aquífera costeira e, em áreas urbanas, a baixa infraestrutura de esgotos e drenagem, juntamente com a existência dos lixões para descarte dos resíduos sólidos domésticos são os principais potenciais contaminantes da bacia (SEMA, 2010).

Segundo Porto (2007) as principais causas da deterioração da qualidade da água na bacia do Alto Iguaçu são os efluentes domésticos e industriais, com altas cargas de matéria orgânica, acarretando a poluição dos corpos de água em níveis muito acima dos limites críticos aceitáveis pela legislação SUREHMA N° 20/1992, que enquadra os cursos d'água da bacia do rio Iguaçu, de domínio do Estado do Paraná, na classe II.

Uma das causas da baixa qualidade da água no corpo principal do Alto Rio Iguaçu é a influência dos afluentes da margem direita, que drenam a cidade de Curitiba, como os Rios Belém, Ivo, Atuba, Bacacheri, Padilha, Barigüi, Água Verde, Fanny e Parolin com altos teores de coliformes fecais, de matéria orgânica e baixa concentração de oxigênio dissolvido. Nas áreas rurais do baixo Iguaçu, há um grande potencial de contaminação por defensivo agrícola devido ao alto volume de agrotóxicos comercializados na região (SEMA, 2010).

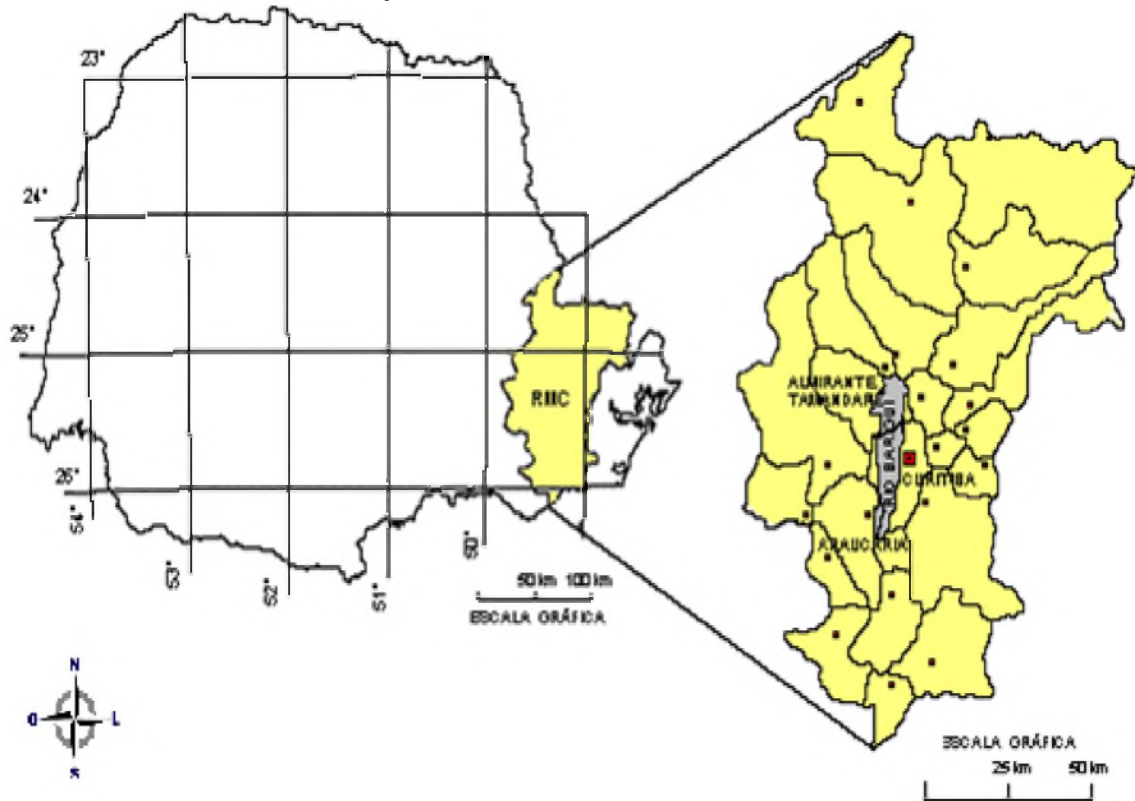
O ponto de coleta no rio Iguaçu foi determinado na região do alto Iguaçu, no município de Araucária, logo após a confluência do rio Barigüi.

2.4.2 Rio Barigüi

A bacia do rio Barigüi situada no Paraná, é uma das principais bacias hidrográficas da região metropolitana de Curitiba (FIGURA 10). Sua nascente encontra-se no município de Almirante Tamandaré e sua foz no rio Iguaçu, na divisa dos municípios de Araucária e Curitiba (GONÇALVES, 2008).

O rio Barigüi é um dos afluentes da margem direita do rio Iguaçu, e segundo Fill *et al.*, (2002) a bacia do rio Barigüi se localiza no primeiro planalto paranaense entre as coordenadas 25°13'24" e 25°38'23" sul e 49°15'00" e 49°22'29" oeste, tem área aproximada de 279 km² e uma extensão de 66 km, passando pelos municípios de Almirante Tamandaré, Curitiba e Araucária.

FIGURA 10 - LOCALIZAÇÃO DA BACIA DO RIO BARIGUI NO ESTADO DO PARANÁ



FONTE: Adaptado de FILL et al. (2002)

No município de Almirante Tamandaré é predominante o uso rural do solo, com ocorrência de alguns grupos urbanos dispersos. Na região de Curitiba, parte média da bacia, prevalece a ocupação urbana com residências, comércio e serviços. Ao sul da bacia, ainda no município de Curitiba, ao longo da margem esquerda, e em Araucária, ao longo da margem direita, predomina o uso industrial, destacando-se a Cidade Industrial de Curitiba (CIC), a Cidade Industrial de Araucária (CIA) e a refinaria da Petrobras (REPAR) entre outras empresas (SUDHERSA, 2002).

As atividades primárias da bacia são a agricultura, a pecuária, a extração mineral, exploração de areia, argila e caulim. As Atividades secundárias são as industriais com diversos gêneros como produtos de minerais não metálicos, metalúrgica, mecânica, material elétrico e de comunicações, material de transporte, madeira, mobiliário, papel e papelão, borracha, couros, peles e produtos similares, química, produtos farmacêuticos e veterinários, perfumaria, sabões e velas, produtos de matérias plásticas, têxtil, vestuário, calçados e artefatos de tecidos, produtos alimentares, bebidas, fumo, editorial e gráfica (GONÇALVES, 2008).

O rio Barigui é manancial de captação da SANEPAR para tratamento da água e abastecimento do município de Almirante Tamandaré. Diante da grande urbanização e as diversificadas atividades primárias e secundárias da bacia do rio Barigui justifica-se a verificação da qualidade da água e investigação da presença de desreguladores endócrinos hormonais e metálicos.

2.5 PARÂMETROS DA QUALIDADE DA ÁGUA

A poluição dos corpos d'água é causada por diferentes fontes de origem urbana, rural e industrial. Este fato conduz à necessidade de verificação da qualidade da água para obtenção de dados que possam orientar à necessidade de planos de prevenção e recuperação ambiental, garantindo condições de uso dos mananciais para diversos fins (SANTOS, 2001).

Neste trabalho, foram verificados os parâmetros de temperatura, pH, condutividade e oxigênio dissolvido no rio Iguaçu e Barigui para auxiliar na investigação dos desreguladores endócrinos hormonais e metálicos, visto que a disponibilidade dessas substâncias no meio hídrico estão relacionadas com estes parâmetros.

2.5.1 Temperatura

A temperatura dos corpos hídricos é verificada para avaliar a transferência de calor por radiação, condução e convecção. Elevações da temperatura podem aumentar a taxa das reações químicas e biológicas e diminuir a solubilidade dos gases. Sua origem antropogênica pode ser de torres de refrigeração e processos industriais (USP, 2015).

2.5.2 Potencial Hidrogeniônico - pH

O pH é uma medida que determina a acidez e alcalinidade da água. Os sólidos e gases dissolvidos são os constituintes do meio aquático responsáveis por este parâmetro. Sua origem natural é da dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica e fotossíntese. A origem antropogênica

é de esgotos domésticos e despejos industriais. Valores de pH baixo promovem a solubilização de metais e a corrosão, valores altos promovem a precipitação de incrustações e está associado a proliferação de algas. Valores longe da neutralidade podem afetar a vida aquática (USP, 2015).

Segundo Branco et al. (2005), o parâmetro pH tem grande influência sobre a solubilização dos metais. Valores de pH em torno de 2,0 a 3,0 a solubilização da maioria dos metais é de 100%. Alguns estão sujeitos a solubilização na faixa de 40% na água até cerca de pH 8,0.

2.5.3 Oxigênio Dissolvido (OD)

O oxigênio dissolvido refere-se ao oxigênio molecular (O_2) dissolvido na água. A concentração de OD nos cursos d'água depende da temperatura, pressão atmosférica, salinidade, das atividades biológicas, de características hidráulicas, e das interferências antrópica, como lançamento de efluentes nos cursos d'água. A unidade de OD utilizada é mg/L. (CPRM, 2007).

A resolução CONAMA 357/2005 tem como limite valor de OD não inferior a 5mg/L, para rios de águas doces classe II, a qual pertence o rio Barigui e Iguaçu.

2.5.4 Condutividade

Condutividade elétrica é uma medida da habilidade de uma solução aquosa de conduzir uma corrente elétrica devido à presença de íons. Depende da concentração total de substâncias ionizadas dissolvidas na água, com a temperatura, com a valência dos íons e com as concentrações real e relativa de cada íon. A unidade de medida utilizada em medições realizadas em amostras de água é microSiemens por centímetros ($\mu S/cm$) (CPRM, 2007).

Está diretamente relacionada à concentração de espécies iônicas dissolvidas. A legislação CONAMA 357/2005 não determina limites para a condutividade das águas superficiais, mas este parâmetro também indica fontes poluidoras, ou por fatores geológicos ou por micropoluentes inorgânicos. Esta medida pode ser relacionada com a concentração de sólidos dissolvidos totais, parâmetro muito sensível ao lançamento de efluentes, o que facilita avaliar a qualidade do corpo hídrico

2.5.5 Fósforo Total

O fósforo é um elemento indispensável para o crescimento de vegetais e algas, mas quando se encontra no meio ambiente em elevadas concentrações pode conduzir a um crescimento exagerado desses organismos causando a eutrofização.

A origem natural do fósforo é da dissolução de solos e decomposição da matéria orgânica. A origem antropogênica é dos esgotos domésticos, despejos industriais fertilizantes e detergentes. Ambientes em que a concentração de fósforo total está na faixa de 0,01- 0,02 mg/L, o ambiente é considerado não eutrófico. Para concentrações de fósforo maior que 0,02 mg/L e menor que 0,05 mg/L, o ambiente é considerado intermediário. E para concentrações de fósforo total maior que 0,05 mg/L, o ambiente é eutrófico (USP, 2015).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA

Na primeira etapa deste trabalho, foram determinados os pontos de coleta e realizadas as análises de campo: temperatura, pH, condutividade e oxigênio dissolvido. As amostras coletadas nos cinco pontos foram submetidas à extração para análise da atividade estrogênica.

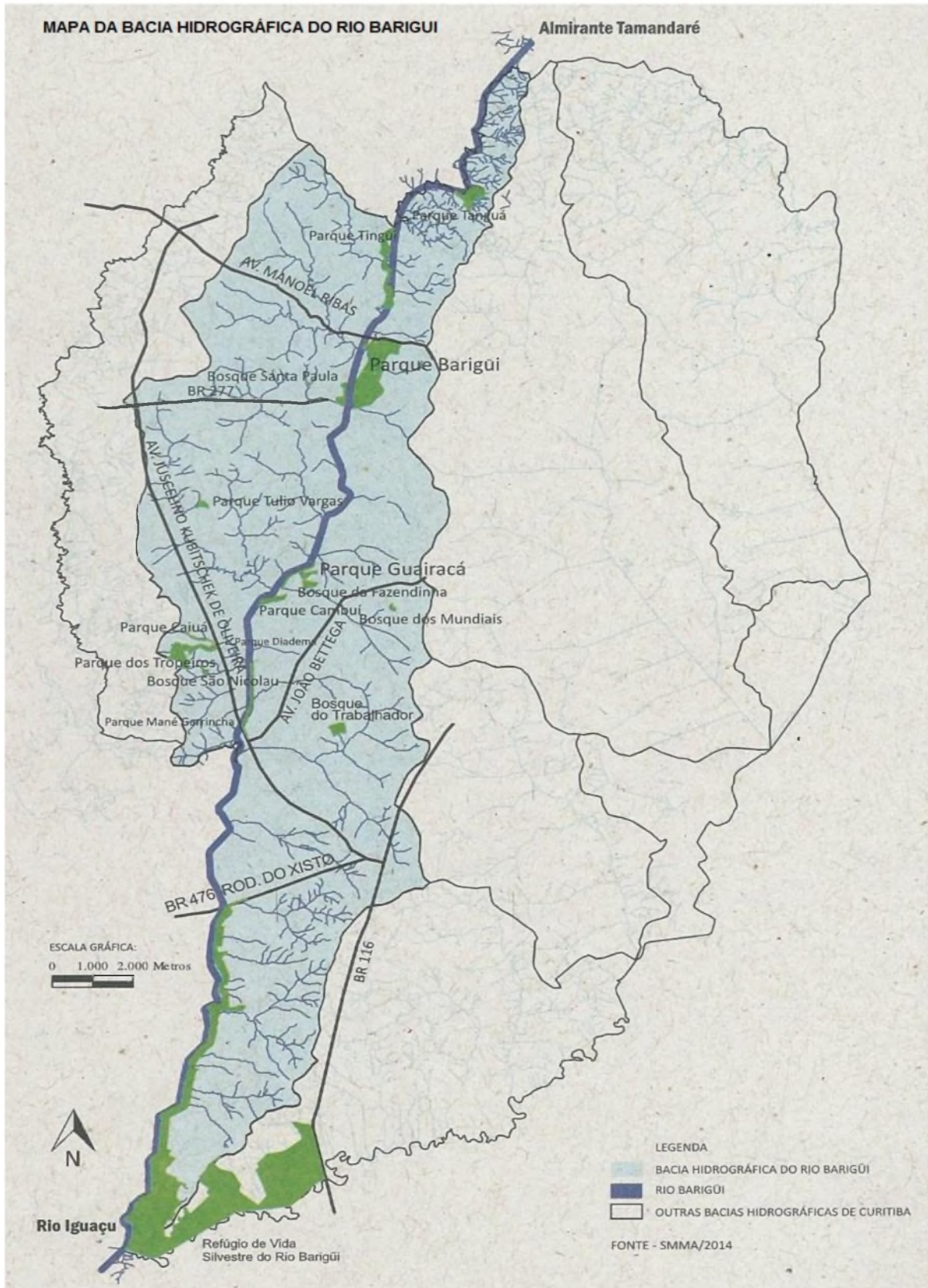
Na segunda etapa foram coletadas novas amostras, considerando os mesmos pontos de coleta, para análise de hormônios, metais e fósforo. As análises de temperatura, pH, condutividade e oxigênio dissolvido foram novamente efetuadas.

Os resultados das análises obtidos foram comparados às legislações brasileira CONAMA 357/2005 e internacional União Européia (EU), no que se refere à qualidade da água superficial, em função dos parâmetros verificados.

3.1.1 Caracterização da Área de Estudo

O rio Barigui foi determinado como objeto de estudo, devido a sua localização, que se estende por diversos pontos das áreas urbanas e industriais da cidade de Curitiba e região metropolitana (FIGURA 11), como também por ser manancial de captação para tratamento e abastecimento da região de Almirante Tamandaré, município vizinho a Curitiba, com população estimada de aproximadamente 103 mil habitantes.

FIGURA 11 - BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO BARIGUI



FONTE: SMMA, (2014)

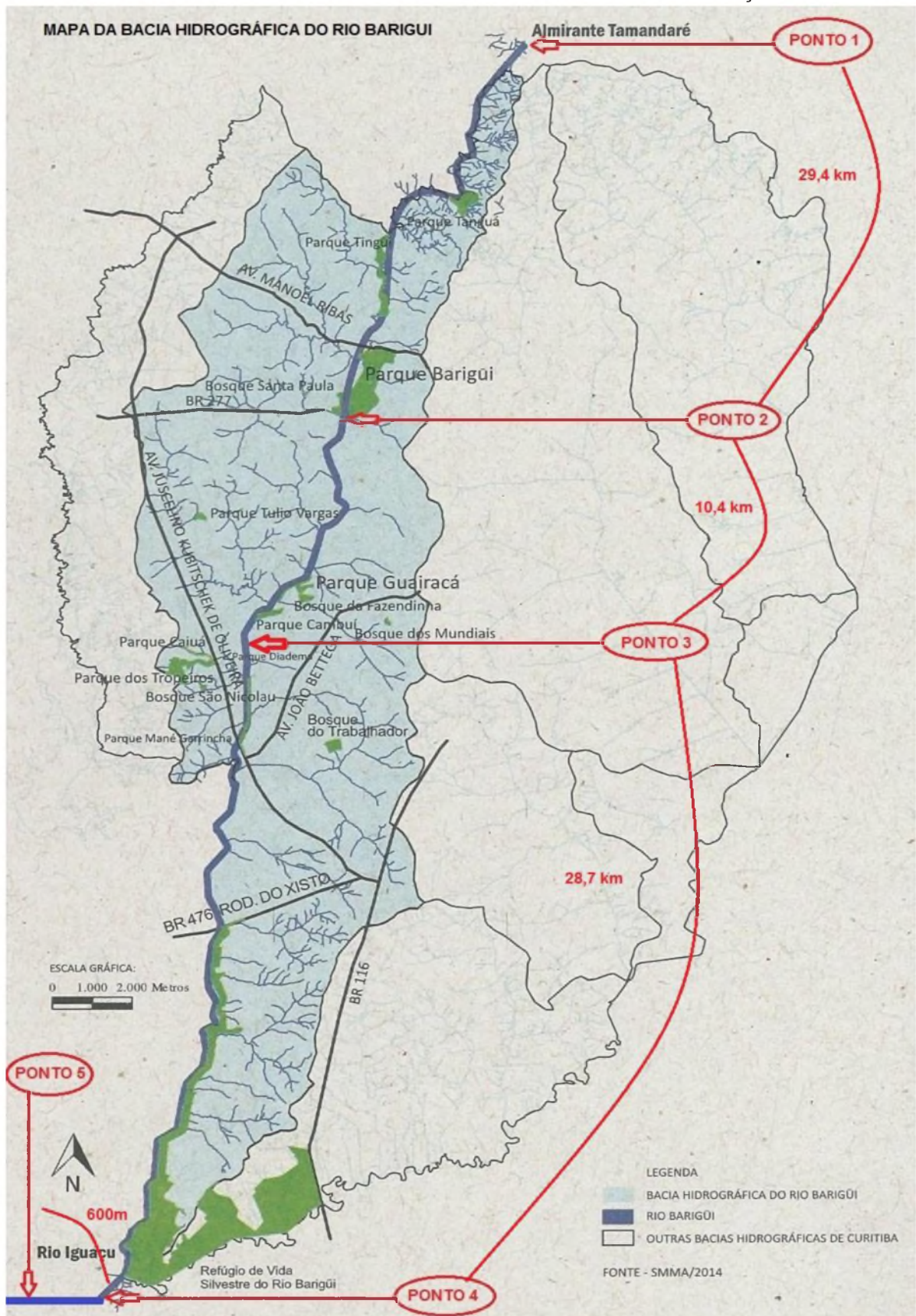
3.1.1.1 Determinação dos Pontos de Coleta

Os pontos de coleta (QUADRO 5) foram determinados considerando a nascente do rio Barigui, regiões urbanas, industriais, próximo à estação de tratamento de esgoto (ETE), confluência do rio Barigui com Iguaçu e por último no rio Iguaçu, logo após a confluência (FIGURA 12).

QUADRO 5 - COORDENADAS GEOGRÁFICAS E VAZÃO NOS PONTOS DE COLETA

AMOSTRA	LOCAL	DISTÂNCIA ENTRE PONTOS DE COLETA (KM)	COORDENADAS GEOGRÁFICAS	VAZÃO MÉDIA (m ³ /s)
Ponto 01	Nascente do Rio Barigui - Almirante Tamandaré	-----	S 25 13.925' W 49 17.317'	0,010
Ponto 02	Rio Barigui - Parque Barigui – Curitiba	29,4	S 25 25.894' W 49 18.822'	3,510
Ponto 03	Rio Barigui - Após ETE - Sta Quitéria	10,4	S 25 28.205' W 49 19.314'	4,080
Ponto 04	Rio Barigui – Confl. Rio Iguaçu - Araucária	28,7	S 25 38.447' W 49 21.945'	6,850
Ponto 05	Rio Iguaçu - Araucária	0,6	S 25 38.506' W 49 22.323'	37,500

FIGURA 12 - PONTOS DE COLETA NO RIO BARIGUI E IGUAÇU



FONTE: adaptado de SMMA, (2014)

O ponto 1 localizado na nascente do rio Barigui foi escolhido para avaliação da qualidade da água que não está sujeita às influências das atividades antrópicas (FIGURA 13). A nascente está situada na divisa dos municípios de Almirante Tamandaré e Rio Branco do sul, região metropolitana norte de Curitiba.

FIGURA 13 - PONTO DE COLETA 1 NA NASCENTE DO RIO BARIGUI



FONTE: O autor (2013)

O Ponto 2 situado a 29,4 km da nascente do rio Barigui, foi determinado para avaliação da influência da atividade antrópica na região dos municípios de Almirante Tamandaré e Curitiba chegando até o parque Barigui (FIGURA 14).

FIGURA 14 - PONTO DE COLETA 2 NO PARQUE BARIGUI



FONTE: O autor (2013)

Após a ETE Santa Quitéria foi determinado o ponto 3 (FIGURA 15), 39,8 km após a nascente do rio. Este ponto foi escolhido para avaliar o impacto na qualidade da água após a disposição no rio Barigui de efluentes tratados.

FIGURA 15 - PONTO DE COLETA 3, NO RIO BARIGUI APÓS ETE



FONTE: O autor (2013)

O ponto 4 (FIGURA 16) foi determinado para verificar a carga de poluentes que o rio Barigui leva à margem direita do rio Iguaçu, após percorrer 68,5 km na região de Curitiba e região metropolitana até o município de Araucária.

FIGURA 16 - PONTO DE COLETA 4, NA CONFLUÊNCIA DO RIO BARIGUI E IGUAÇU



FONTE: O autor (2013)

O ponto 5 foi determinado no rio Iguaçu (FIGURA 17) para avaliar a qualidade da água deste rio após 600 m da confluência com o rio Barigui.

FIGURA 17 - PONTO DE COLETA 5, NO RIO IGUAÇU



FONTE: O autor (2013)

3.1.2 Coleta das Amostras

A coleta das amostras para análise da atividade estrogênica (1ª etapa), foi realizada em 26/09/2013, nos horários descritos no (QUADRO 6), começando pela nascente do rio Barigui até o rio Iguaçu.

QUADRO 6 - HORÁRIO DA COLETA DAS AMOSTRAS NO DIA 26/09/2013

Horário	Ponto	Local
09:30	1	Nascente rio Barigui
10:50	2	Parque Barigui
14:00	3	Rio Barigui após ETE
16:00	4	Confluência Rio Barigui e Iguaçu
17:00	5	Rio Iguaçu

As amostras para análise de hormônios, metais e fósforo foram realizadas no dia 09/12/2014, nos horários descritos no (QUADRO 7), começando também pela nascente do rio Barigui até o rio Iguaçu.

QUADRO 7 - HORÁRIO DA COLETA DAS AMOSTRAS NO DIA 09/12/2014

Horário	Ponto	Local
09:10	1	Nascente rio Barigui
10:30	2	Parque Barigui
13:40	3	Rio Barigui após ETE
15:00	4	Confluência Rio Barigui e Iguaçu
16:00	5	Rio Iguaçu

As coletas foram realizadas com balde metálico, e as amostras adicionadas aos frascos de vidro âmbar limpos e secos (FIGURA 18). Os frascos de coleta foram previamente lavados com a própria amostra e reservados com 4 litros da amostra de cada ponto.

FIGURA 18 - A- BALDE DE COLETA, B- FRASCOS ÂMBAR DE COLETA.



FONTE: O autor (2013)

As amostras foram acidificadas com ácido sulfúrico concentrado ISO MERCK até a faixa de pH 2,5-3,0 e preservadas em temperatura 4°C até o momento da extração, 24 horas após coleta.

3.1.3 Análises dos Parâmetros: Temperatura, pH, Oxigênio Dissolvido e Condutividade.

As análises dos parâmetros temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade foram realizadas em triplicatas, em campo, a uma profundidade de 40 cm nas duas coletas realizadas. Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- a) Oxímetro marca HACH modelo HQ 40 D Multi com verificação prévia segundo ASTM D888, para verificação da temperatura e oxigênio dissolvido.
- b) pH-metro marca DIGIMED modelo DM 20, com verificação prévia de padrões pH 4 e pH 7 rastreáveis ao NIST (ANEXO 1), para verificação do pH
- c) Condutímetro marca DIGIMED modelo DM 32, com célula de condutividade modelo DMC 010M $K= 1\text{cm}^{-1}$, com verificação prévia de padrão de condutividade rastreável ao NIST (ANEXO 2), para verificação da condutividade.

Para expressão dos resultados foi calculado a média e desvio padrão das triplicatas.

Os equipamentos, pH-metro, oxímetro e condutímetro foram disponibilizados pela Empresa de Saneamento do Paraná (SANEPAR).

3.1.4 Avaliação da Atividade Estrogênica pelo Método E-screen Assay

A extração das amostras foi realizada no laboratório de cromatografia da SANEPAR, na rua engenheiro Antônio Batista Ribas 151, em Curitiba.

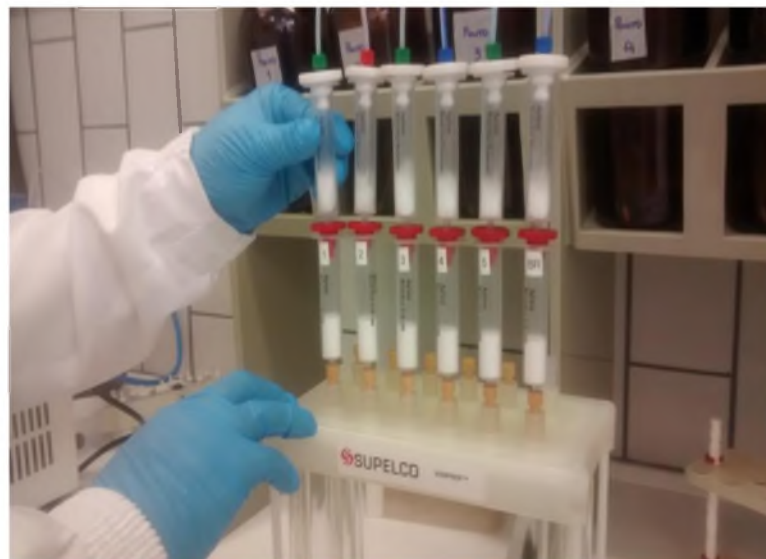
A análise da atividade estrogênica foi realizada no departamento de hidrobiologia e análise de traços na Universidade de Stuttgart, Alemanha, na responsabilidade da química Dr^a Claudia Lange.

3.1.4.1 Extração das Amostras para Análise da Atividade Estrogênica

O método de extração utilizado foi segundo EPA 3535A, Extração por Fase Sólida (SPE) em triplicata.

Os cartuchos utilizados na extração foram SPE Mega Bond Elut C18 OH 6 mL 1 g marca Agilent, que foram condicionados 2 vezes com 5 mL de acetona grau pesticida (BIOTEC) e 2 vezes com 5 mL de água ultrapura (FIGURAS 19). Para reter impurezas, foi adicionado lã de vidro pré-lavada com n-Hexano VETEC, no interior dos cartuchos.

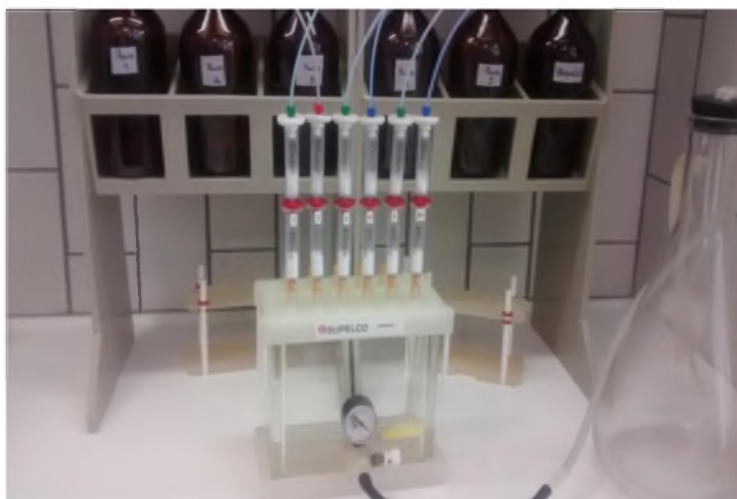
FIGURA 19 - SISTEMA DE EXTRAÇÃO SPE



FONTE: O autor (2013)

Considerando que os desreguladores endócrinos encontram-se no meio ambiente em baixas concentrações, as amostras foram concentradas mil vezes (x1000), passando pelos cartuchos 1 litro da amostra (FIGURA 20).

FIGURA 20 - EXTRAÇÃO DAS AMOSTRAS EM SPE



FONTE: O autor (2013)

Os cartuchos contendo os extratos foram submetidos a uma corrente de gás nitrogênio (N₂) com vazão 5 mL/min por 20 minutos.

As amostras adsorvidas nos cartuchos foram mantidas por dois dias em temperatura de 4°C e enviadas à Universidade de Stuttgart, para eluição e análise da atividade estrogênica pelo método E-screen Assay.

3.1.4.2 Análise E-Screen Assay

Segundo Zacharewski (1997), o ensaio E-Screen Assay é baseado no aumento da proliferação de células humanas de cancro da mama (MCF-7), em resposta à presença de substâncias desreguladoras endócrinas.

Neste ensaio, utiliza-se um soro inserido no meio de análise para inibir a replicação das células MCF-7. As substâncias com atividade estrogênica anulam esse efeito inibitório e estimulam a proliferação dessas células tumorais. A mensuração da proliferação das células é determinada pela contagem do número de células, ou núcleos ou por método colorimétrico (KÖRNER et al., 1998).

Os ensaios *in vitro* avaliam a atividade estrogênica total de uma amostra, mas não permitem a identificação dos compostos responsáveis por essa atividade. No ensaio, é feita a comparação da atividade estrogênica da amostra com a atividade do estrogênio 17β-estradiol, que representa o padrão pelo qual a atividade é medida (ROUTLEDGE et al., 1998).

No laboratório da Universidade de Stuttgart, os cartuchos foram eluidos com metanol MERCK (2 x 5 mL) e adicionado 50 mL de dimetil-sulfóxido (DMSO) como agente solubilizante. Os extratos foram concentrados por uma corrente suave de azoto a 40°C até um volume de 50 µL. Logo após as amostras foram diluídas em meio experimental (5 mL), 9 diluições por amostra na faixa de $2,5 \cdot 10^{-14}$ mol/L a $2,5 \cdot 10^{-10}$ mol/L, para análise da atividade estrogênica.

Células MCF-7 foram armazenadas umedificadas em meio de soro fetal bovino e vermelho de fenol. A suspensão de células foi distribuída em placas de 96 poços e armazenada em incubadora por 24 horas. As diluições das amostras foram adicionadas às células (8 poços para cada concentração). Para proporcionar um controle positivo (curva de dose-resposta padrão), as células foram expostas ao padrão 17β -estradiol, 8 poços por placa.

As células foram incubadas por cinco dias e depois de vários procedimentos de lavagem e adição de corantes, foi realizada a medida da atividade estrogênica a 550 nm por leitor de placas de microtitulação (MRX DYNATECH). A análise da curva de dose-resposta foi realizada utilizando o *Software Table Curve 2D* (JANDEL). O resultado da atividade estrogênica foi expresso em concentração equivalente ao 17β -estradiol, para cada ponto de coleta realizado (ANEXO 3).

3.1.5 Análise de Hormônios por Cromatografia Líquida

A extração das amostras foi realizada no laboratório de cromatografia da SANEPAR, na rua engenheiro Antônio Batista Ribas 151, em Curitiba.

As análises dos hormônios foram realizadas na Empresa AB SCIEX Comércio de Instrumentos Laboratoriais Ltda, situada na rua Verbo Divino nº 1488, conjunto 64D, Chácara Stº Antônio em São Paulo.

A empresa AB SCIEX, que é especialista em cromatografia e detectores de massa, utilizou na análise dos hormônios um Cromatógrafo Líquido de Alta Performance (HPLC) Agilent 1260 com sistema (LC/MS/MS) TripleTOF®.

3.1.5.1 Extração das Amostras para Análise Cromatográfica

Para análise de hormônios, as amostras foram submetidas à Extração em Fase Sólida (SPE), segundo método EPA 3535 A.

Os cartuchos utilizados na extração foram SPE Mega Bond Elut C18 OH 6 mL 1g (marca Agilent), específicos para extração de hormônios e fármacos.

Para reter impurezas contidas na água, foi adicionado lã de vidro pré-lavada com n-Hexano VETEC, no interior dos cartuchos.

O condicionamento dos cartuchos foi realizado com acetona grau pesticida (BIOTEC) 2 vezes de 5 mL e água ultrapura 2 vezes de 5 mL.

Considerando a baixa concentração (ng.L^{-1}) dos DE o volume de amostra extraída foi de 1L. Após a extração, os cartuchos foram submetidos a uma corrente de gás nitrogênio (N_2) com vazão 5 mL/min por 20 minutos e eluídos com 2 vezes de 3 mL de metanol grau HPLC (JT Baker). A solução resultante da eluição foi submetida a 40°C e concentrada até volume final de 1mL.

As amostras extraídas foram mantidas por 24 horas em temperatura de 4°C e enviadas à empresa AB SCIEX em São Paulo, para realização das análises.

3.1.5.2 Análise Cromatográfica dos Hormônios na Empresa AB Sciex

As condições cromatográficas utilizadas na separação dos estrógenos foram por meio da eluição dos analitos 17 β -estradiol, estrona, 17 α -etinilestradiol, progesterona e testosterona frente a duas diferentes fases móveis:

- a) Fase móvel A: Água ultrapura 99,9% + 0,1% ácido fórmico 98% (Sigma-Aldrich).
- b) Fase móvel B: Acetonitrila 99,9% grau HPLC (JT Baker) + ácido fórmico 0,1% (Sigma-Aldrich).

O gradiente utilizado na separação dos compostos foi determinado experimentalmente com 75% da fase orgânica (fase móvel B) de 0,0 até 0,5 minuto. De 0,5 até 5,0 minutos o percentual aumentou de 75% a 98 % da fase móvel B, mantendo-se neste gradiente até 6,5 minutos. A partir dos 6,6 minutos o percentual foi diminuído aos 75% até o final dos 8 minutos (QUADRO 8).

QUADRO 8 - GRADIENTE DA ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

TEMPO (min)	FLUXO (µL/min)	A%	B%
0.0	300	25	75
0.5	300	25	75
5.0	300	2	98
6.5	300	2	98
6.6	300	25	75
8.0	300	25	75

Os hormônios foram separados empregando-se coluna Synergi 2,5µ Fusion-RP (100 A, 50 x 2 mm, 2,5 µ, Phenomenex) com temperatura de 35°C e 10µL de injeção da amostra.

O padrão de hormônios utilizado na análise foi *Steroids and Mixed Pharmaceuticals* mix RESTEK certificado ISO GUIDE 34 e ISO/IEC 17025 (ANEXO 4).

3.1.6 Análise de Metais por Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma

A digestão e análise de metais foi realizada no laboratório de metais da SANEPAR, na rua engenheiro Antônio Batista Ribas 151, em Curitiba.

A preparação das amostras foi baseada no método 3030E *Standard Methods*, que orienta para digestão ácida das amostras e filtração em membrana 0,45 µm.

As análises foram realizadas por Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP), segundo método 3120B *Standard Methods* utilizando equipamento ICP-OES Vista MPX da marca Varian.

As análises foram realizadas em triplicatas e para expressão dos resultados foi calculado a média e desvio padrão, expresso como incerteza da concentração em mg/L.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 VERIFICAÇÕES DA QUALIDADE DA ÁGUA

Os resultados das análises de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade, realizadas durante a coleta do dia 26/09/2013 (TABELA 2) e dia 09/12/2014 (TABELA 3) foram expressos pela média das triplicatas verificadas e o desvio padrão, expresso como incerteza.

TABELA 2 – RESULTADO DAS ANÁLISES DA COLETA DO DIA 26/09/2013

PARÂMETROS VERIFICADOS	PONTO 1 NASCENTE RIO BARIGUI	PONTO 2 PARQUE BARIGUI	PONTO 3 RIO BARIGUI APÓS ETE	PONTO 4 CONFL. RIO BARIGUI E IGUAÇU	PONTO 5 RIO IGUAÇU	RESOLUÇÃO CONAMA 357/2005
TEMPERATURA (°C)	17,1 ± 0,4	17,3 ± 0,2	18,4 ± 0,2	18,2 ± 0,4	16,5 ± 0,2	-----
pH	6,81 ± 0,2	6,95 ± 0,2	6,74 ± 0,1	6,54 ± 0,1	6,75 ± 0,2	6,0 - 9,0
OD (mg/L de O ₂)	6,97 ± 0,06	8,00 ± 0,06	5,00 ± 0,05	2,93 ± 0,03	3,14 ± 0,03	≥ 5,0
CONDUTIVIDADE (µS/cm)	352,8 ± 1,5	349,9 ± 1,7	520,3 ± 1,9	633,3 ± 1,4	427,6 ± 1,6	-----

TABELA 3 – RESULTADO DAS ANÁLISES DA COLETA DO DIA 09/12/2014

PARÂMETROS VERIFICADOS	PONTO 1 NASCENTE RIO BARIGUI	PONTO 2 PARQUE BARIGUI	PONTO 3 RIO BARIGUI APÓS ETE	PONTO 4 CONFL. RIO BARIGUI E IGUAÇU	PONTO 5 RIO IGUAÇU	RESOLUÇÃO CONAMA 357/2005
TEMPERATURA (°C)	16,8 ± 0,2	18,7 ± 0,2	19,6 ± 0,3	21,8 ± 0,2	20,4 ± 0,4	-----
pH	6,95 ± 0,1	7,26 ± 0,1	6,94 ± 0,1	7,07 ± 0,1	7,18 ± 0,1	6,0 - 9,0
OD (mg/L de O ₂)	7,19 ± 0,04	7,32 ± 0,06	4,04 ± 0,06	2,25 ± 0,05	2,75 ± 0,05	≥ 5,0
CONDUTIVIDADE (µS/cm)	367,5 ± 1,9	357,1 ± 1,4	590,2 ± 1,5	672,7 ± 1,6	484,9 ± 1,7	-----

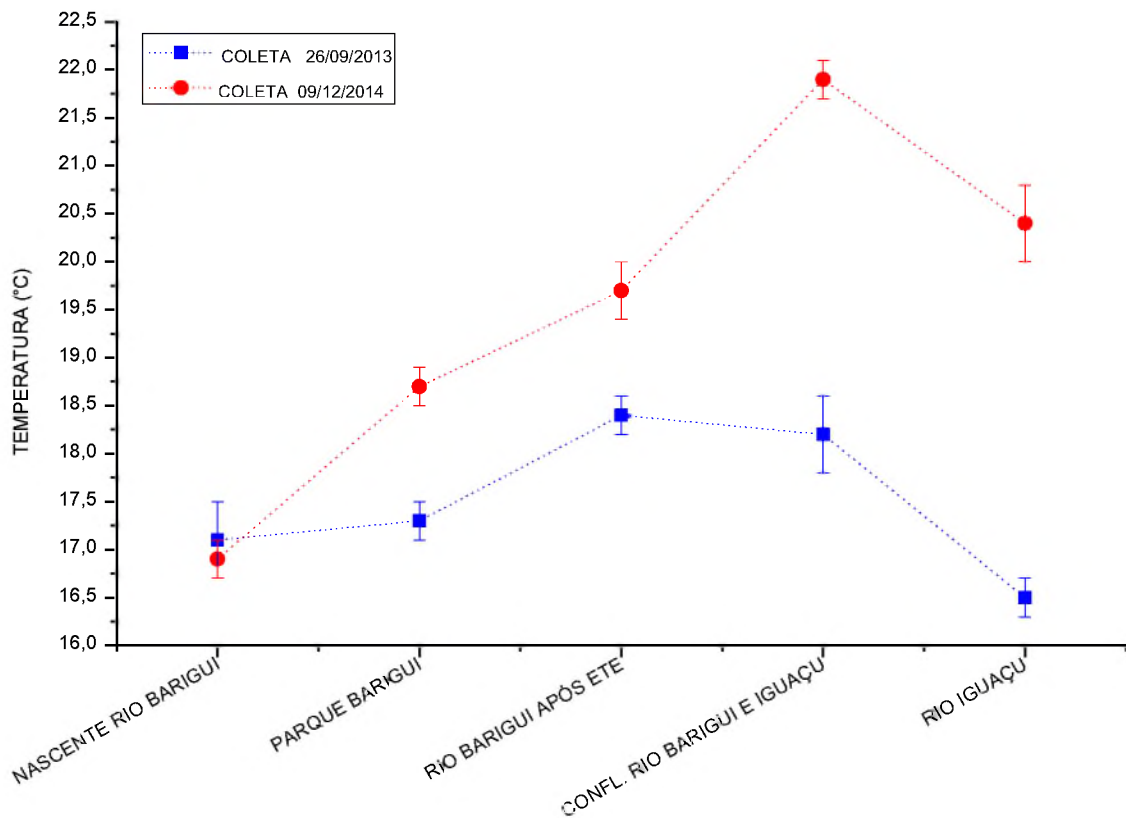
Os dados das tabelas 3 e 4 estão discutidos nos itens que seguem, considerando os resultados de cada parâmetro nos dois dias de coleta.

4.1.1 Temperatura

A temperatura dos rios Barigui e Iguaçu, em todo percurso realizado no dia 26/09/2013, esteve entre $16,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ e $18,4 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. Verificou-se temperaturas mais baixas na nascente do rio Barigui, pela manhã e no rio Iguaçu, no final da tarde, horários em que o sol apresenta temperaturas menores. A temperatura ambiente esteve, durante o dia, em torno de 26°C .

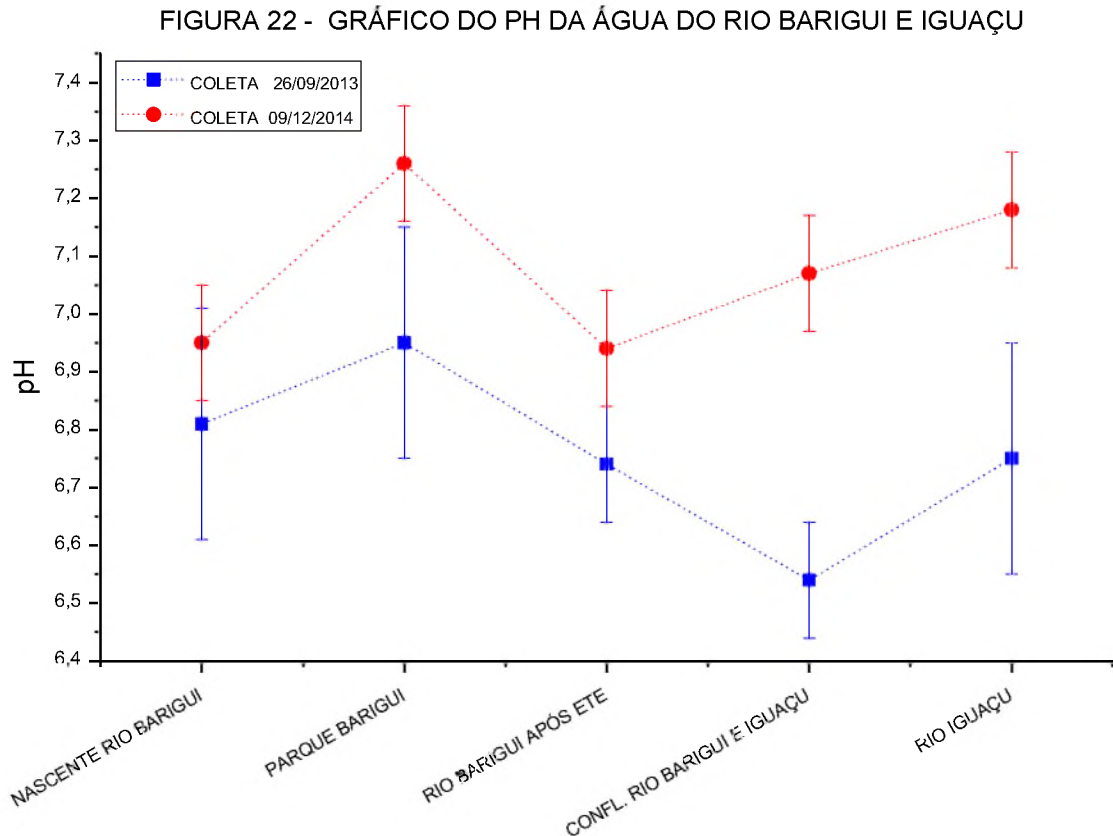
Na coleta realizada no dia 09/12/2014, as temperaturas das amostras apresentaram-se mais altas variando de $16,8 \pm 0,2$ a $21,8 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$. A primeira coleta, na nascente do rio Barigui e a segunda, no parque Barigui foram as mais baixas. A temperatura ambiente no dia 09/12/2014 esteve em torno de 30°C , ocasionando temperaturas mais altas nos rios (FIGURA 21).

FIGURA 21 - GRÁFICO DA TEMPERATURA DO RIO BARIGUI E IGUAÇU



4.1.2 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Os valores de pH verificados (FIGURA 22) apresentaram-se dentro dos limites da legislação CONAMA 357/2005, que determina para águas doces classe II, pH de 6,0 a 9,0.



Características de pH neutro se mantiveram em todos os pontos de coleta analisados, e nas duas verificações, 26/09/2015 e 09/12/2014.

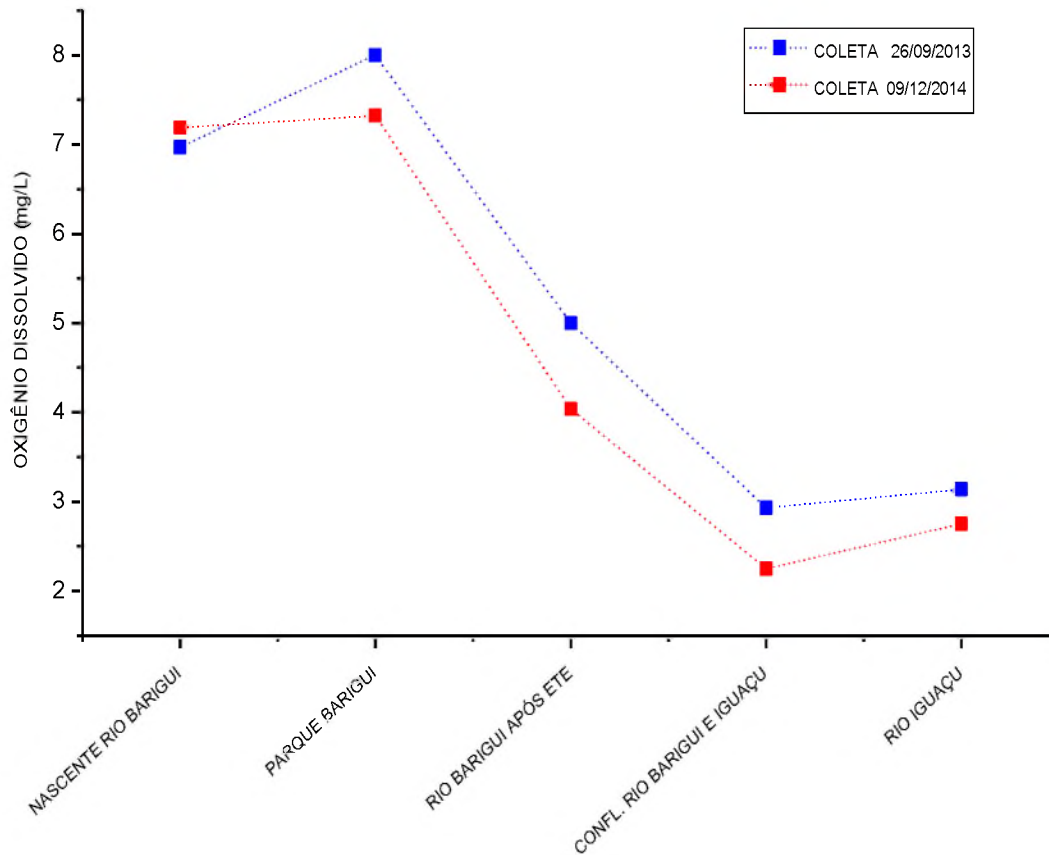
Com os resultados obtidos para pH, as condições de neutralidade verificadas não são favoráveis a solubilização dos metais.

4.1.3 Oxigênio Dissolvido (OD)

Os resultados obtidos do oxigênio dissolvido (FIGURA 23) evidenciaram pontos de alta contaminação por matéria orgânica. A resolução CONAMA 357/2005 tem como limite valor de OD não inferior a 5mg/L, para rios de águas doces classe II, a qual pertence o rio Barigui e Iguaçu.

O resultado obtido na nascente $6,97 \pm 0,06$ mg/L e $7,19 \pm 0,04$ mg/L de O_2 , encontra-se dentro dos limites da legislação CONAMA 357/2005, mas já indica interferências antrópica pois, segundo Sodré (2005), águas doces que não são poluídas, tem concentração de oxigênio dissolvido de 8 a 11 mg/L a 25°C .

FIGURA 23 - GRÁFICO DO OXIGÊNIO DISSOLVIDO NOS PONTOS DE COLETA DO RIO BARIGUI E IGUAÇU



O ponto 2 que fica no parque Barigui, está a 29,4 km após a nascente. Durante este percurso, o rio passa por regiões urbanas e industriais das cidades de Almirante Tamandaré e Curitiba. Mesmo com a influência das atividades industriais, e da grande urbanização desta região, o valor da concentração de oxigênio dissolvido foi $8,00 \pm 0,06$ mg/L no dia 26/09/2013 e $7,32 \pm 0,06$ mg/L no dia 09/12/2014. Este resultado foi resultante da oxigenação da água realizada a partir da queda d'água existente em uma ponte dentro do parque Barigui, antes do ponto de coleta (FIGURA 24). A turbulência causada na água introduz oxigênio, melhorando os valores da concentração de oxigênio dissolvido.

FIGURA 24 - QUEDA D'ÁGUA NA PONTE RIO BARIGUI



FONTE: O autor (2013)

A partir do ponto 03, após a ETE Santa Quitéria, os valores de OD começaram a decrescer devido a contribuição de carga orgânica liberada pela ETE, do efluente tratado no curso do rio Barigui. Os valores obtidos foram $5,00 \pm 0,05$ mg/L e $4,04 \pm 0,06$ mg/L.

O ponto 4, no rio Barigui em Araucária, após 68,5 km da nascente, no limite da confluência com o rio Iguaçu, apresentou o resultado mais crítico de oxigênio dissolvido de $2,93 \pm 0,03$ mg/L e $2,25 \pm 0,05$ mg/L. Baixos teores de OD podem ser provocadas por despejos de origem orgânica, como esgotos e efluentes industriais, como também elevada temperatura, que pode diminuir a solubilidade do oxigênio na água.

A temperatura da água neste ponto estava $18,2 \pm 0,4^\circ\text{C}$ no dia 26/09/2013 e $21,8 \pm 0,2^\circ\text{C}$ no dia 09/12/2014, abaixo de 25°C . Portanto, a concentração de OD é resultante da grande influência das indústrias e urbanização na região, ocasionando a contaminação por matéria orgânica no rio Barigui. As bactérias que necessitam de oxigênio nos seus processos respiratórios, durante a degradação da matéria orgânica, utilizam o oxigênio da água e causam a redução de sua concentração no meio.

O ponto 5, localizado no rio Iguaçu, 600 m após a confluência do Barigui, evidenciou também resultados de qualidade crítica em relação ao OD com valores de $3,14 \pm 0,03$ mg/L e $2,75 \pm 0,05$ mg/L. O rio Iguaçu tem maior extensão e conseqüentemente maior volume de água, com vazão aproximada de $37,500 \text{ m}^3/\text{s}$

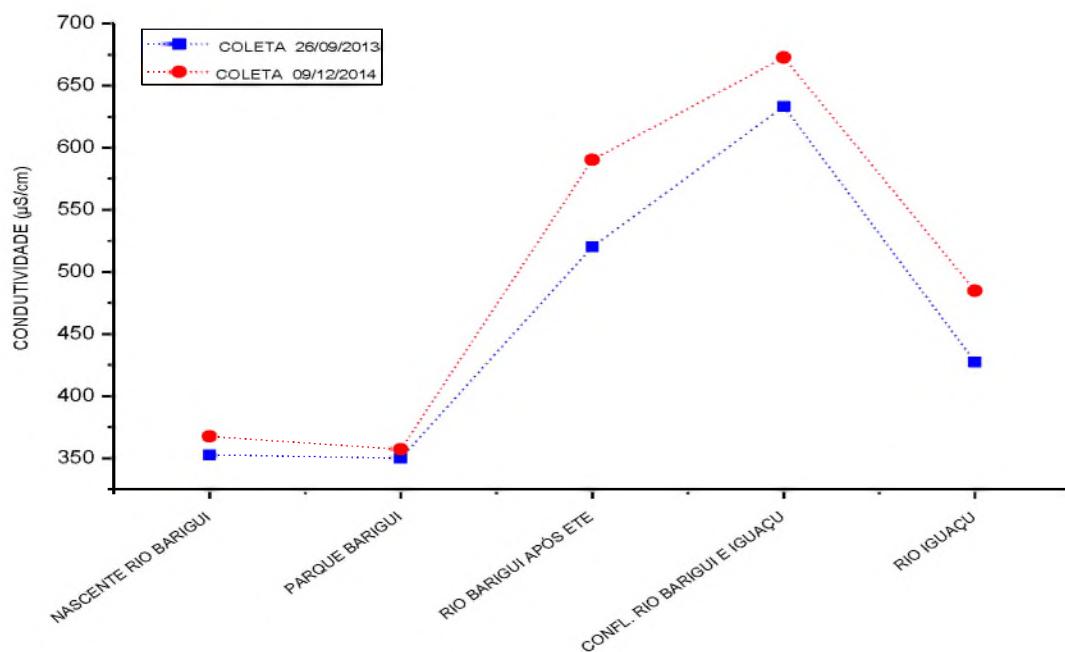
frente a $6,850 \text{ m}^3/\text{s}$ do rio Barigui. Segundo Nagashima (2015) (ANEXO 5) a vazão do rio Iguaçu é aproximadamente 5,5 vezes maior que a vazão do rio Barigui, e este fato contribui para diluição da matéria orgânica e uma pequena contribuição no aumento do oxigênio dissolvido na água.

Constatou-se que a diminuição da concentração do OD tornou-se mais crítica entre o ponto 3 (após a ETE Santa Quitéria) e o ponto 4 (confluência do rio Barigui com o rio Iguaçu), num percurso de 28,7 km, evidenciando grande carga de matéria orgânica, que podem ser provenientes de indústrias da região e de esgotos domésticos, impossibilitando a sobrevivência da população aquática, nos pontos determinados.

4.1.4 Condutividade Elétrica

Os maiores valores encontrados de condutividade elétrica foram no ponto 3, rio Barigui após a ETE e antes da confluência com o Iguaçu (FIGURA 25), com resultados de $633,3 \pm 1,4 \mu\text{S}/\text{cm}$ no dia 26/09/2013 e $672,7 \pm 1,6 \mu\text{S}/\text{cm}$, no dia 09/12/2014. A condutividade expressa a quantidade de sais existentes na coluna d'água, representando uma medida indireta da concentração de poluentes. Em geral, níveis superiores a $100 \mu\text{S}/\text{cm}$ indicam ambientes impactados.

FIGURA 25 - CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DAS ÁGUAS SUPERFICIAIS DO RIO BARIGUI E IGUAÇU



4.1.5 Resultado da Atividade Estrogênica pelo método E-Screen Assay

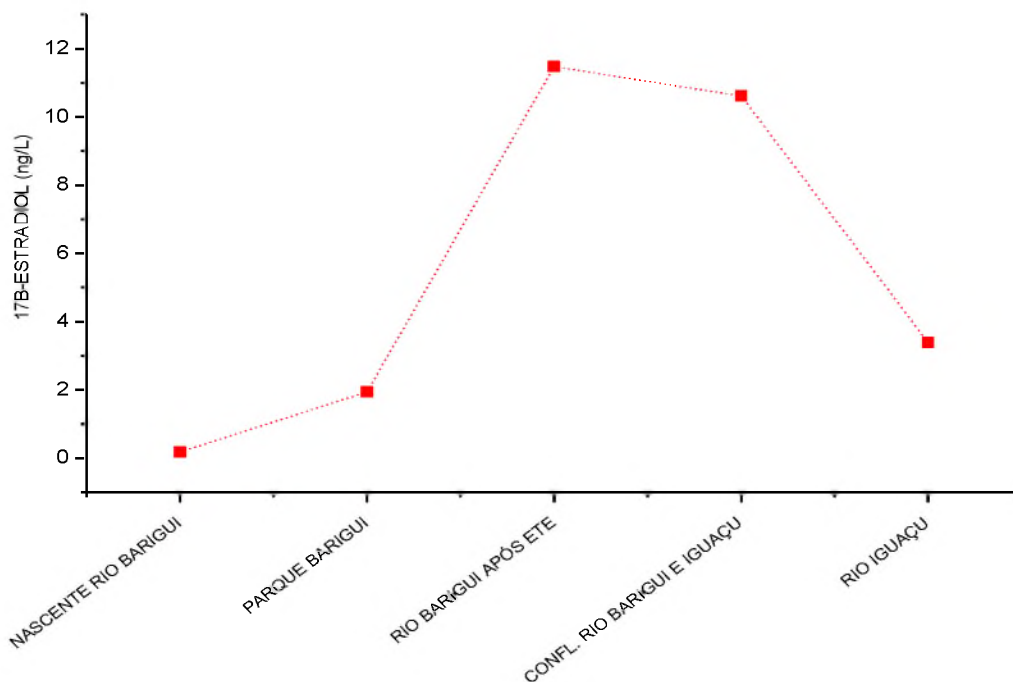
Os resultados do teste biológico E-Screen Assay (TABELA 4), com valores expressos em concentração equivalente de 17 β -estradiol (ng/L), indicaram a presença de substâncias com atividade estrogênica desde a nascente do rio Barigui até o rio Iguaçu.

TABELA 4 - RESULTADOS DA ATIVIDADE ESTROGENICA DAS AMOSTRAS

PONTO N°	LOCAL	CONCENTRAÇÃO EQUIVALENTE 17 β -estradiol (ng/L)
1	Nascente do Rio Barigui	0,18
2	Rio Barigui (parque Barigui)	1,94
3	Rio Barigui (Após ETE)	11,47
4	Rio Barigui confluência com Rio Iguaçu	10,61
5	Rio Iguaçu	3,39

A (FIGURA 26) ilustra os valores obtidos no teste E-Screen Assay para todos os pontos coletados.

FIGURA 26 - GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO DO 17B-ESTRADIOL NA ANÁLISE DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA



A nascente do rio Barigui apresentou concentração equivalente de 0,18 ng/L de 17 β -estradiol evidenciando a presença de substâncias desreguladoras endócrinas. O local onde se encontra a nascente, em Almirante Tamandaré, próximo a divisa com o município de Rio Branco do Sul tem atividades relacionadas com extração de areia, e urbanização nas proximidades. O ponto onde foi realizada a coleta da nascente se encontra em local aberto, possibilitando a presença de animais, pessoas e possíveis contaminações.

No ponto 2, parque Barigui, foi detectado 1,94 ng/L de 17 β -estradiol, indicando a atividade estrogênica aproximadamente 10 vezes o valor encontrado na nascente. Este resultado evidencia a entrada de substâncias desreguladoras endócrinas no rio Barigui, no percurso de 29,4km, distância entre a nascente e o parque Barigui, onde se encontram indústrias, área rural e urbana.

No ponto 3, rio Barigui após a ETE Santa Quitéria, foi quantificado 11,47 ng/L de concentração equivalente a 17 β -estradiol. Neste ponto, é lançado efluente tratado com características domiciliar. A atividade estrogênica encontrada pode ser oriunda de hormônios sintéticos e naturais, como também produtos de higiene e limpeza.

Este resultado confirma a dificuldade de eliminação de desreguladores endócrinos em tratamentos convencionais em estações de tratamento de esgoto, conforme cita Dalegrave (2012).

O ponto 4, confluência do rio Barigui com o rio Iguaçu, apresentou resultado de 10,61ng/L de 17 β -estradiol. Este fato evidencia a persistência dos desreguladores endócrinos no decorrer do percurso de 28,7 km, a dificuldade da autodepuração, ocasionada pela constante inserção destes micropoluentes no rio ou em seus afluentes.

O ponto 5, rio Iguaçu, apresentou uma concentração de 3,39 ng/L de 17 β -estradiol, demonstrando que a maior extensão e vazão reflete na diluição dos micropoluentes no curso do rio.

Muito embora a presença de desreguladores endócrinos no rio Barigui e Iguaçu tenha sido confirmada através do teste da atividade estrogênica E-Screen Assay, para identificação dos possíveis compostos que estejam causando esta atividade é necessária a análise de cromatografia. A atividade estrogênica das amostras pode ser causada por diversas substâncias desreguladoras endócrinas, e

neste estudo investigou-se a presença de alguns hormônios e metais desreguladores endócrinos.

4.1.6 Resultados das análises de hormônios

As concentrações dos hormônios no rio Barigui e Iguazu estão descritas na (TABELA 5). Os resultados obtidos indicaram a presença do hormônio 17 α -etinilestradiol, variando de 0,69 a 7,66ngL⁻¹.

TABELA 5 - CONCENTRAÇÃO DOS HORMÔNIOS INVESTIGADOS

AMOSTRA		HORMÔNIOS INVESTIGADOS (ng/L)				
		17 β -estradiol	Estrona	17 α -etinilestradiol	Testosterona	Progesterona
Ponto 01	Nascente do Rio Barigui - Almirante Tamandaré	< 3,00	< 3,00	< 0,30	ND	<4,00
Ponto 02	Rio Barigui - Parque Barigui – Curitiba	< 3,00	< 3,00	< 0,30	ND	<4,00
Ponto 03	Rio Barigui - Após ETE - Sta Quitéria	< 3,00	< 3,00	7,66 \pm0,14	ND	<4,00
Ponto 04	Rio Barigui – Confl. Rio Iguazu - Araucária	< 3,00	< 3,00	0,69 \pm0,15	ND	<4,00
Ponto 05	Rio Iguazu - Araucária	< 3,00	< 3,00	3,63 \pm0,10	ND	<4,00

17 β -estradiol LQ= 3,00 ng/L Progesterona LQ= 4,00 ng/L Testosterona LQ=7,00ng/L ND: Não Detectável
Estrona LQ= 3,00 ng/L 17 α -etinilestradiol LQ= 0,30 ng/L

Os hormônios 17 β -estradiol, Estrona, testosterona e progesterona não foram quantificados em nenhum dos pontos de coleta. O 17 β -estradiol e Estrona apresentaram concentrações abaixo do limite de quantificação do método (LQ 3,00 ng/L). A progesterona também apresentou resultados abaixo do limite de quantificação (LQ 4,00 ng/L). No caso da testosterona, o íon deste hormônio não foi identificado pelo detector de massas, indicando a ausência do composto.

Em estudos nacionais e internacionais, foi possível a identificação desses hormônios em corpos hídricos, como por exemplo, o trabalho de Machado (2010),

que fez a quantificação na bacia do rio Iguaçu, ponto comum ao ponto 5 deste estudo, para estes mesmos compostos DE, com exceção da testosterona.

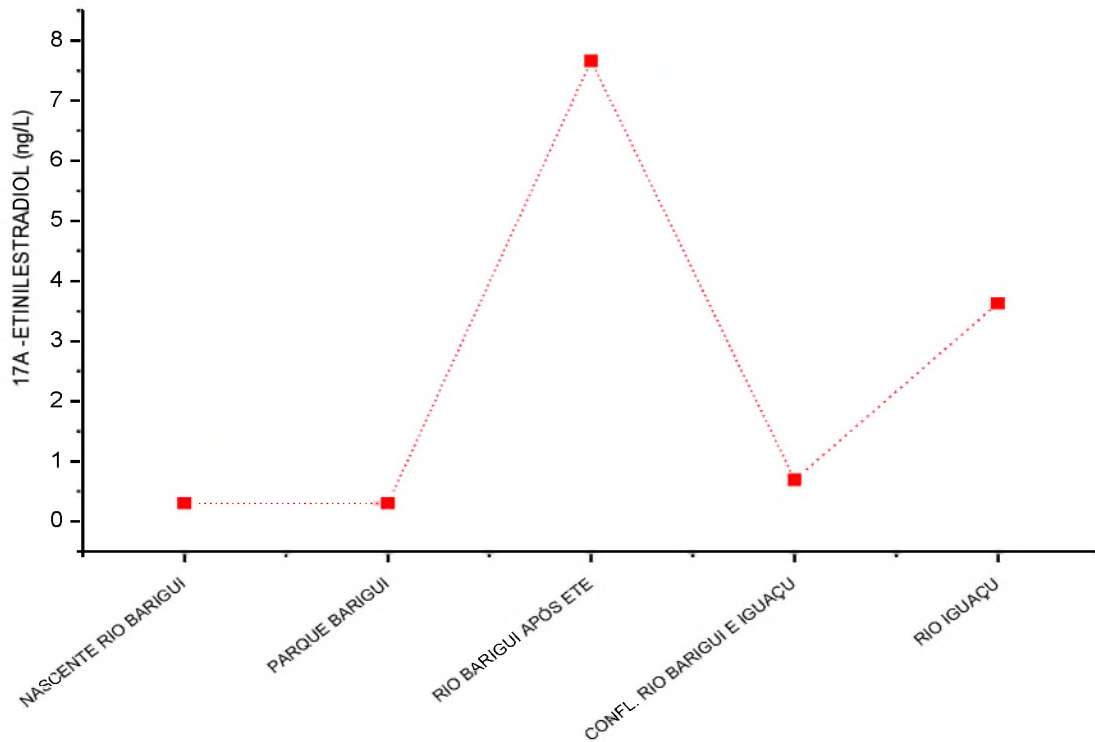
Tanto o estudo de Machado (2010) como os resultados apresentados por Ghiselli (2006) indicaram concentrações de 17β -estradiol e 17α -etinilestradiol acima daquela geralmente encontrada em águas superficiais internacionais. Os trabalhos internacionais apresentaram valores de 34 ngL^{-1} para o 17β -estradiol e $5,5 \text{ ngL}^{-1}$ para 17α -etinilestradiol (Moreira, 2008), e nos trabalhos brasileiros realizados na bacia do rio Atibaia em Campinas (Ghiselli, 2006) chegaram a concentrações máximas de $6,0 \times 10^3 \text{ ngL}^{-1}$ de 17β -estradiol e $3,5 \times 10^3 \text{ ngL}^{-1}$ para o 17α -etinilestradiol. Os valores máximos encontrados por Machado (2010) para o 17β -estradiol foi $6,28 \times 10^3 \text{ ngL}^{-1}$ e para o 17α -etinilestradiol foi $4,53 \times 10^3 \text{ ngL}^{-1}$, visto que uma das 5 coletas realizadas não foram detectados nenhum destes compostos.

Para um melhor entendimento da presença ou ausência dos hormônios nas águas superficiais, é importante considerar os parâmetros da qualidade da água verificados previamente, temperatura, pH, oxigênio dissolvido e fósforo, como também as propriedades físico-químicas dos hormônios descritos anteriormente na (TABELA 1).

Lopez (2007) comenta que a baixa volatilidade e o coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$), com valores entre 3 e 4, que é o caso desses hormônios, pode ter influenciado o processo de adsorção em sedimentos suspensos, visto que altos valores de condutividade e fósforo foram identificados nas amostras coletadas e baixo valores de OD indicam alta concentração de matéria orgânica.

Os resultados obtidos do hormônio 17α -etinilestradiol (FIGURA 27), evidenciaram a presença deste estrogênio no rio Barigui. Segundo Cunha (2014), este hormônio é mais estável em água e possui a mais alta atividade estrogênica, comparada aos estrogênios naturais.

FIGURA 27 – GRÁFICO DA CONCENTRAÇÃO DO 17 α -ETINILESTRADIOL NO RIO BARIGUI E IGUAÇU



A maior concentração do hormônio 17 α -etinilestradiol, verificada no rio Barigui no ponto de coleta 3, após a ETE Santa Quitéria ($7,66 \pm 0,66$ ng/L), evidencia a presença deste hormônio nos efluentes domésticos e confirma a necessidade de processos avançados no tratamento de esgoto para eliminação dos micropoluentes, antes de serem descartados nos mananciais.

O ponto 4 apresentou diminuição significativa do 17 α -etinilestradiol no rio Barigui. Este fato pode estar associado à degradação do hormônio durante o percurso do ponto 3 até o ponto 4 ou à sorção deste composto em matéria orgânica presente no rio, visto que tem solubilidade de 483 $\mu\text{g/L}$ (TABELA 1) bem menor que os hormônios naturais, que é 12420 $\mu\text{g/L}$ de estrona e 12960 $\mu\text{g/L}$ do 17 β -estradiol.

Comparando os valores de concentrações do 17 α -etinilestradiol encontrados no rio Barigui e Iguaçu, com os limites que a Comissão Europeia propôs, em janeiro de 2012, de 0,035 ng/L, o valor encontrado após a ETE está 218 vezes maior, a confluência do rio Barigui está com concentração quase 20 vezes maior que a determinada pela Comissão Europeia, e o rio Iguaçu 103 vezes mais. Esta comparação demonstra a situação crítica para o ecossistema aquático.

4.1.7 Resultado da Análise dos Metais descrito no CONAMA 357/2005

Os resultados obtidos na análise de metais (TABELA 6) demonstraram que a maioria dos compostos estão em concentrações abaixo do valor máximo permissível pela legislação CONAMA 357/2005 para águas doces de rio classe II.

Com exceção do manganês, ferro e alumínio, os resultados obtidos demonstram que as águas superficiais do rio Barigui, nos pontos coletados, estavam em concentrações não nocivas à vida aquática.

Dentre os compostos metálicos desreguladores endócrinos (DE), Manganês, Cadmio, chumbo e mercúrio, apenas o manganês apresentou resultado acima do limite, os demais, que também estão incluídos na legislação CONAMA 357/2005, foram quantificados e apresentaram-se dentro dos limites desta legislação.

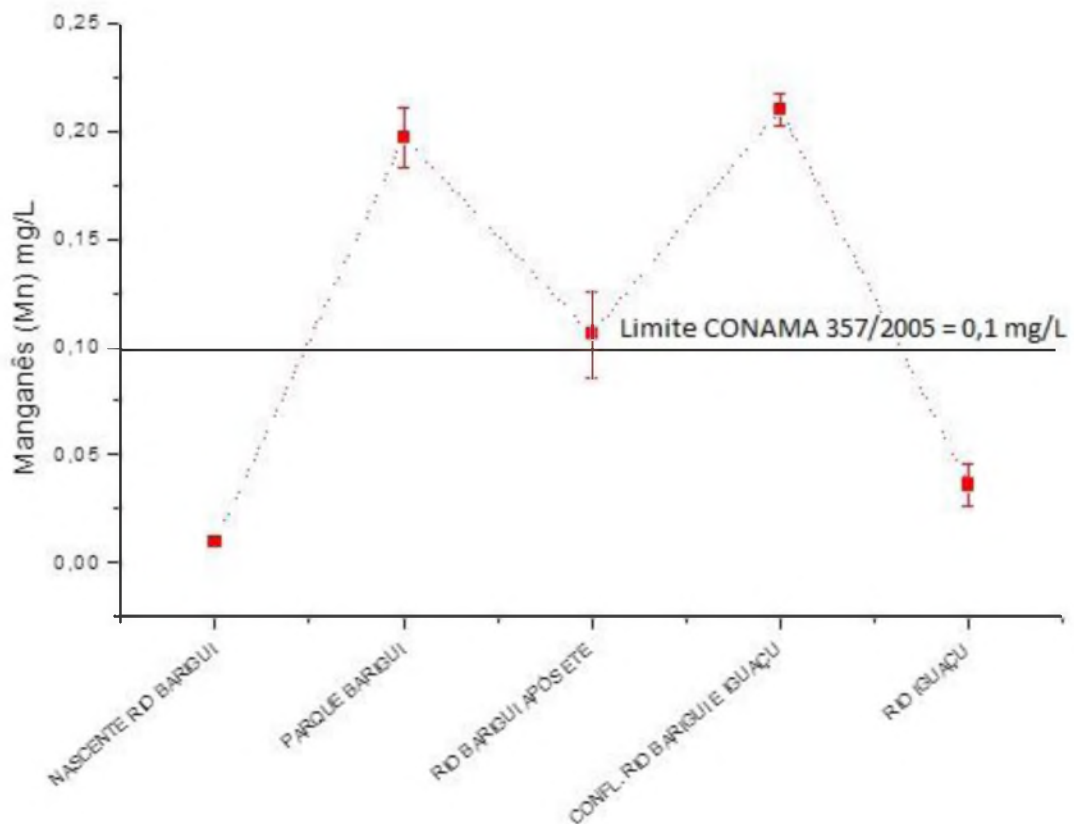
TABELA 6 - RESULTADOS DA ANÁLISE DE METAIS E FÓSFORO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU

PARAMETRO	PONTO 1 (mg/L)	PONTO 2 (mg/L)	PONTO 3 (mg/L)	PONTO 4 (mg/L)	PONTO 5 (mg/L)	LQ (mg/L)	VMP CONAMA 357/2005 (mg/L)
Al	< 0,025	0,265 ± 0,010	0,136 ± 0,012	0,114 ± 0,002	0,113 ± 0,009	0,025	0,1
As	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,01	0,01
Mn	< 0,010	0,197 ± 0,014	0,106 ± 0,020	0,210 ± 0,007	0,036 ± 0,010	0,01	0,1
Ba	< 0,050	0,067 ± 0,008	0,052 ± 0,005	0,061 ± 0,010	0,034 ± 0,016	0,05	0,7
Cd	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,001	0,001
Pb	< 0,005	< 0,005	< 0,005	0,009 ± 0,003	< 0,005	0,005	0,01
Zn	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,02 ± 0,003	0,011 ± 0,002	0,01	0,18
Cu	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	0,008	0,009
Cr	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	0,008	0,05
Co	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	0,008	0,05
Fe	0,023 ± 0,001	1,199 ± 0,009	1,354 ± 0,009	0,946 ± 0,012	0,501 ± 0,002	0,02	0,3
B	< 0,100	< 0,100	< 0,100	< 0,100	< 0,100	0,1	0,5
Li	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,01	2,5
Ni	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,01	0,025
Be	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	0,008	0,04
Sb	< 0,005	< 0,005	< 0,005	< 0,005	< 0,005	0,005	0,005
Se	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,01	0,01
U	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	< 0,010	0,01	0,02
V	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	< 0,008	0,008	0,1
Hg	< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002	< 0,0002	0,0002	0,0002
P	< 0,025	1,534 ± 0,022	3,253 ± 0,055	6,085 ± 0,010	4,479 ± 0,003	0,025	0,05

VMP: VALOR MÁXIMO PERMISSÍVEL

O metal desregulador endócrino manganês apresentou-se no ponto 2 (vazão $3,510\text{m}^3/\text{s}$), 3 (vazão $4,080\text{m}^3/\text{s}$) e 4 (vazão $6,850\text{m}^3/\text{s}$) acima do limite da legislação CONAMA 357/2005. Na confluência do rio Barigui com o rio Iguaçu, a concentração passou de $0,106 \pm 0,020 \text{ mg/L}$ para $0,210 \pm 0,007 \text{ mg/L}$, evidenciando a contaminação do rio por este metal (FIGURA 28), que pode ser por meio de efluentes industriais de fábricas de fertilizantes, tintas e eletrodos existentes na região. No ponto 5, rio Iguaçu após 600 m da confluência com o Barigui, a concentração foi diminuída para $0,036 \pm 0,010 \text{ mg/L}$ e este fato pode ser atribuído a vazão de $37,500\text{m}^3/\text{s}$ na diluição do manganês no rio Iguaçu, como também pelo processo de sedimentação deste metal.

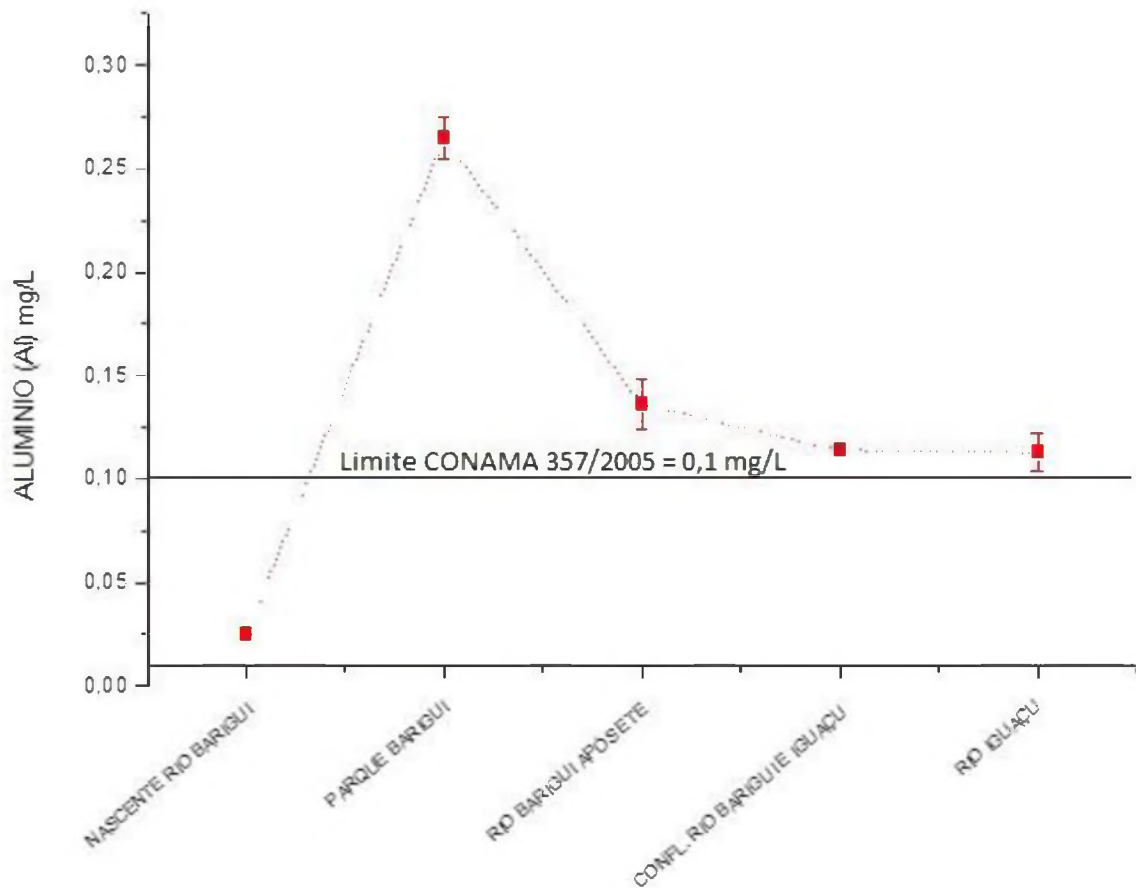
FIGURA 28 - CONCENTRAÇÃO DE MANGANÊS NO RIO BARIGUI E IGUAÇU



Em relação ao metal alumínio, observou-se que a concentração na nascente ($< 0,025\text{mg/L}$ - LQ) passou a $0,265 \pm 0,010\text{mg/L}$, no ponto 2 no parque Barigui (FIGURA 29). Este aumento de concentração se deve as atividades industriais de extração mineral, exploração de areia, argila e caulim (silicatos de alumínio), existentes no percurso do rio entre Almirante Tamandaré e Curitiba. Com o

aumento da vazão no rio Barigui, a concentração diminuiu aproximadamente pela metade e se mantém acima do limite do CONAMA 357/2005 até o rio Iguaçu. A diminuição da concentração também pode ser atribuída à sedimentação em sólidos e matéria orgânica existente em grande quantidade no rio. O alumínio pode estar em média e alta profundidade, aonde não foi pesquisado, pois as amostras foram de águas da superfície do rio Barigui e Iguaçu.

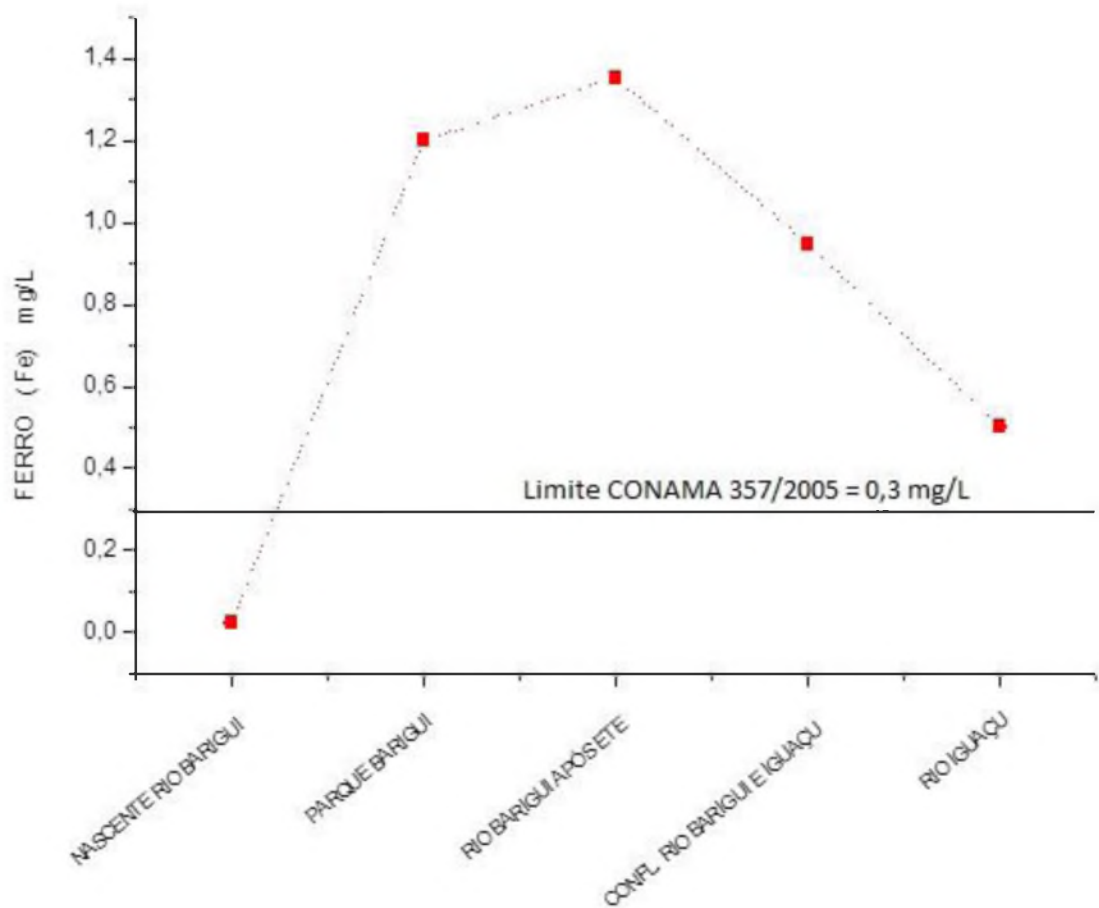
FIGURA 29 - CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU



Os valores da concentração do metal ferro encontrados, estavam acima do limite do CONAMA 357/2005 a partir do ponto 2 (vazão $3,510\text{m}^3/\text{s}$), no parque Barigui. Esta contaminação pode estar relacionada com as atividades de extração mineral no município de Almirante Tamandaré, no percurso do rio. A concentração de ferro no rio Barigui aumenta após a ETE Santa Quitéria, e neste ponto, pode ser atribuído ao efluente doméstico tratado. Ao longo do rio Barigui, até o rio Iguaçu (vazão $37,500\text{m}^3/\text{s}$), a concentração de ferro diminuiu e este fato pode estar relacionado com a sedimentação deste metal em reações de precipitação e por

processos de adsorção em sólidos, matéria orgânica, que estão em alta concentração nos rios Barigui e Iguaçu.

FIGURA 30 - CONCENTRAÇÃO DE FERRO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU



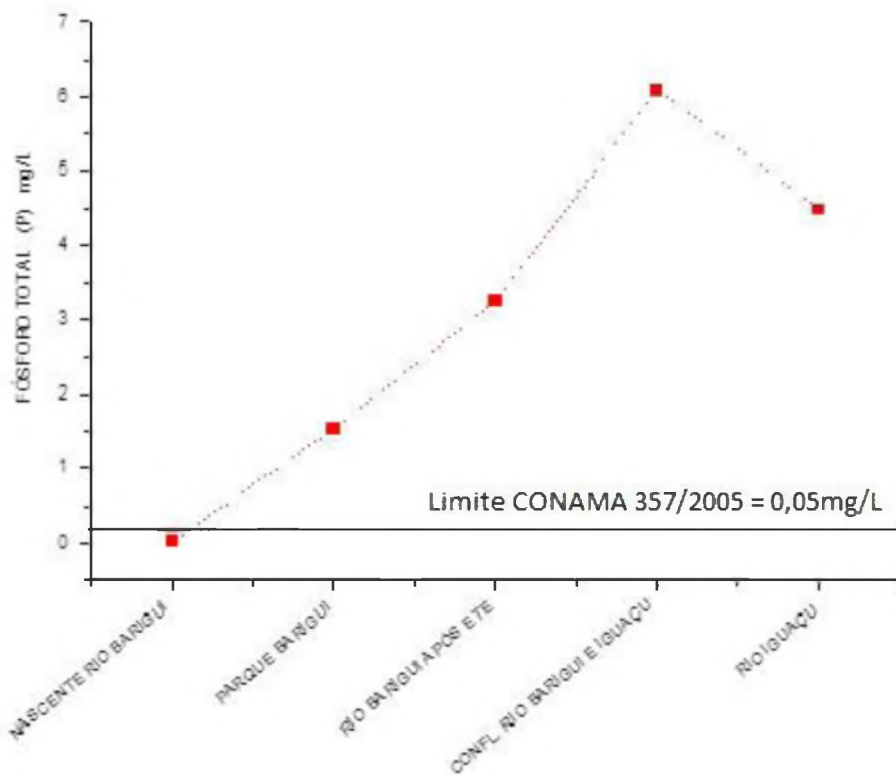
Estudos adicionais da contaminação por metais no rio Barigui são necessários para as águas de superfície, média profundidade, altas profundidades e de sedimentos. Dessa forma será possível investigar a concentração dos metais que são de superfície e aqueles que sedimentam.

4.1.8 Fósforo Total

A concentração de fósforo determinada no ICP-OES foi na forma de fósforo total (TABELA 6). Os valores encontrados evidenciaram alto teor de fósforo total no rio Barigui e Iguaçu, com valores acima do limite máximo permissível pelo CONAMA 357/2005, que é 0,05 mg/L (FIGURA 31). Apenas no ponto da nascente do rio

Barigui, a concentração de fósforo apresentou-se abaixo do LQ ($<0,025\text{mg/L}$) e menor que o VMP da legislação.

FIGURA 31 - CONCENTRAÇÃO DE FÓSFORO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU



No parque Barigui, a concentração de fósforo total apresentou valor de $1,534 \pm 0,022 \text{ mg/L}$, correspondente a 3 vezes o valor máximo permitido pela legislação CONAMA 357/2005, evidenciando ambiente propício à eutrofização pela contaminação do rio Barigui, no percurso de 29,4 km que vai de sua nascente, em Almirante Tamandaré, até o parque Barigui em Curitiba. Segundo Souza *et al.*, (2009), as formas de fósforo resultantes da atividade antrópica surgem nos mananciais principalmente pela descarga de esgoto sanitário e detergentes. A matéria orgânica fecal e os detergentes em pó empregados em larga escala em residências constituem a principal fonte.

Após a ETE Santa Quitéria, e na confluência com o rio Iguaçu, foi possível constatar valores mais altos de fósforo total, devido a influência da descarga do efluente tratado disperso e de efluentes das indústrias de fertilizantes, pesticidas, químicas em geral, conservas alimentícias, abatedouros, frigoríficos e laticínios existentes na região.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas análises realizadas em campo indicam como a qualidade da água superficial do rio Barigui está comprometida em relação aos parâmetros de oxigênio dissolvido, condutividade, fósforo, manganês, ferro, alumínio e hormônio sintético 17 α -etinilestradiol. As concentrações de oxigênio dissolvido encontradas nas amostras a partir do terceiro ponto de coleta evidenciaram grande contaminação por matéria orgânica e as concentrações de fósforo também demonstraram valores que causam eutrofização. O teste biológico E-Screen Assay permitiu verificar a presença de desreguladores endócrinos no rio Barigui e Iguaçu.

A presença do hormônio 17 α -etinilestradiol e do metal manganês confirmaram a presença de compostos com atividade estrogênica. Visto que a atividade estrogênica de um meio é a soma da atividade estrogênica de todos os desreguladores endócrinos, além do hormônio encontrado e do manganês, a atividade verificada pelo método E-Screen Assay está relacionada possivelmente com a atividade de vários outros compostos desreguladores endócrinos presentes no rio.

Em relação à ETA Almirante Tamandaré, situada a 8,13 km da nascente, a água proveniente do rio Barigui apresenta boa qualidade, pois a concentração de oxigênio dissolvido está acima de 5 mg/L, a concentração de fósforo total é baixa e isenta do hormônio 17 α -etinilestradiol.

Os resultados de metais comparados com a legislação CONAMA 357/2005, demonstraram que as águas da superfície estão com concentrações permissíveis à vida aquática para a maioria dos parâmetros analisados, com exceção do manganês, alumínio e ferro que apresentaram concentrações altas na maioria dos pontos coletados. Esses metais também podem ser provenientes de efluentes industriais. Analisando as diferentes regiões urbanas e industriais pelas quais passa o rio Barigui, desde a nascente até sua confluência com o rio Iguaçu, a quantidade do hormônio 17 α -etinilestradiol encontrada foi extremamente alta, com base nos limites que a Comissão Europeia propôs, em janeiro de 2012, de 0,035 ng.L⁻¹. O rio Barigui apresentou concentração deste hormônio sintético aproximadamente 20 vezes maior que o limite da comissão europeia, e o rio Iguaçu 104 vezes maior. Esta situação chama a atenção à necessidade de legislações que determinem limites

para esses compostos, como também à necessidade de pesquisas para determinação da toxicidade, persistência e eliminação desses micropoluentes nos efluentes. Alguns trabalhos já foram desenvolvidos na tentativa de eliminação dos micropoluentes, mas enquanto não houver legislações que determinem o controle, a busca por tecnologias de eliminação dos desreguladores endócrinos será lenta e a contaminação cada vez maior devido ao aumento da população, e utilização exagerada de hormônios e a persistência destes desreguladores endócrinos hormonais e metálicos.

REFERÊNCIAS

APHA; AWWA; WEF. "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater". American Public Health Association, 22nd ed., Washington, 2012

AGRICULTURA GENEROSA. Acervo fotográfico disponível em: www.dm.com.br/2015/01agricultura-generosa-generosa-agricultura.html Acesso em: 15/06/2015

AMBIENTALLI MONITORAMENTO E SANEAMENTO. Acervo fotográfico disponível em: www.ambientalli.com.br/product_detail/product_name Acesso em 29/06/2015.

AMIGOS DA TERRA BRASIL. Acervo Fotográfico. Disponível em: www.natbrasil.org.br

ARIE, W. M. Y.; Arie, M. H. A.; Da Fonseca, A. M.; Halbe, H. W.; Bagnoli, V. R. Em *Estrogênios em Ginecologia Endócrina Manual de Normas*; Pinotti, J. A., eds.; Roca: São Paulo, 2004..

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.

BILA, D. M. **Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17 β -estradiol pelo Processo de Ozonização**. Tese de Doutorado em Ciências em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2005. (1)

BIRKETT, J. W., LESTER, J. N., ***Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes***, 1^a edition, IWA Publishing, Lewis Publishers CRC Press LLC:USA, 2003. (5)

BRAGA, O., SMYTHE, G. A., SCHÄFER, A. I., FEITZ, A. J. Fate of Steroid Estrogens in Australian Inland and Coastal Wastewater Treatment Plants. ***Environmental Science Technology***, 39: 3351-3358, 2005.

BRANCO, M.A.C. *et al.* **Efeito da variação do pH na solubilidade de uma cinza volante de uma estação de incineração de resíduos sólidos urbanos**, 2005.

BRANDT, E. M. F. **Avaliação da Remoção de Fármacos e Desreguladores Endócrinos em Sistemas Simplificados de Tratamento de Esgoto** (Reatores UASB seguidos de pós-tratamento). Programa de Pós-Graduação em saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, UFMG, Belo Horizonte, 2012.

BRASIL. RESOLUÇÃO CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes.

Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>
Acessado em 13 de maio de 2015.

CHAMBEL, J. H. M. **Contribuição para o estudo da remoção em ETAR de 17 β -estradiol e de 17 α -etinilestradiol no tratamento biológico.** Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia do Ambiente – Perfil Engenharia Sanitária, 2011.

CIRJA, M., IVASHECHKIN, P., SCHÄFFER, A., CORVINI, P. F. X. Factors affecting the removal of organic micropollutants from wastewater in conventional treatment plants (CTP) and membrane bioreactors (MBR). *Environmental Science Biotechnology*, 7: 61–78, 2008.

CHOI, S.M.; YOO, S. D.; LEE, B. M. Journal of toxicology and environmental Health – Parte B - Critical Reviews, v.7, n.1, p. 1-32, jun 2004.

CPRM - Companhia de Pesquisa e Recursos Minerais - Serviço Geológico do Brasil, Manual medição *in loco*: Temperatura, Condutividade Elétrica, Oxigênio Dissolvido, 2007.

CUNHA, D.L. **Avaliação do padrão de consumo do 17 α – etinilestradiol no município de Santa Maria Madalena – RJ.** Dissertação apresentada com vistas à obtenção do título de Mestre em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente. FIOCRUZ- Fundação Oswaldo Cruz, 2014.

DINIZ, M. S., MAURÍCIO, R., PETROVIC, M., DE ALDA, M. J. L., AMARAL, L., PERES, I., BARCELÓ, D., SANTANA, F. (2010). Assessing the estrogenic potency in a Portuguese wastewater treatment plant using an integrated approach. *Journal of Environmental Sciences*, 22(10): 1613–1622.

DALLEGRAVE, A.; **Determinação de Hormônios Estrógenos e Progestágenos em amostras ambientais por GC-MS.** Tese de mestrado; 2012

DEBLONDE, T.; COSSUE-LEGUILLE, C; HARTEMANN, P. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, V.214, n.6, p.442-448, Nov 2011. (4)

ETE- Estação de Tratamento de Esgoto. Acervo Fotográfico disponível em: www.rj.gov.br. Acesso em: 25/06/2015.

FERREIRA, Carlos Parada. **Bioquímica Básica.** 5.ed., rev. e ampl., São Paulo: MNP, 2003, 453 p.

FILL, H. D.; SANTOS, I.; FERNANDES, C. V. S.; GOMES, J.; DZIEDZIC, M.; KISHI, R. T. (2002). PEN-04 – **Modelagem hidrológica e ambiental de bacias hidrográficas: Relatório Técnico.** Curitiba: CEHPAR.

FREITAS GUIMARÃES, J. R. P. **Disruptores Endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional,** 2010. Disponível em: <http://www.sonimage.com.br/index.php?t=112> Acesso em: 22/01/2015.

GHISELLI, G.; **Avaliação 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)**. Tese de Doutorado; 2006.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. (2007). Interferentes Endócrinos no Ambiente. **Quim. Nova**, in press.

GEOTEP POÇOS ARTESIANOS. Acervo Fotográfico disponível em: www.geotep.com.br/pocos_artesianos.php. Acesso em: 24/06/2015.

GILBERT, N. Drug-pollution law all washed up. **Nature**, v. 491, n. 7425, p. 503–504, 2012.

GONÇALVES, M. F. **Variação Temporal e Espacial da presença dos metais pesados (Cd, Cr, Ni, Pb, Zn) na Bacia do Rio Barigui e suas Fontes Potenciais**. Dissertação de Mestrado; UFPR, 2008.

HATEF, A.; ALAVI, S. M. H.; ABDULFATAH, A.; FONTAIN E, P.; RODINA, M.; LINHART, O. Adverse effects of bisphenol A on reproductive physiology in male goldfish at environmentally relevant concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety* v. 76, p. 56-62, 2012.

KASHIWADA, S.; ISHIKAWA, H.; MIYAMOTO, N.; OHNISHI, Y.; MAGARA, Y. Fish test for endocrine-disruption and estimation of water quality of Japanese rivers. *Water Research*, v. 36, p. 2161-2166, 2002.

KÖMER, W. W., BOLZ, U., SÜBMUTH, W., HILLER, G., SCHULLER, W., HANF, V., HAGENMAIR, H. (2000). Input/output balance of estrogenic active compounds in a major municipal sewage plant in Germany. ***Chemosphere***, 40: 1131-1142.

KÖRNER, W.; HANF, V.; SCHULLER, W.; BARTSCH, H.; ZWIRNER, M.; HAGENMAIER, H. **Validation and application of a rapid in vitro assay for assessing the estrogenic potency of halogenated phenolic chemicals**. *Chemosphere*, v. 37, p. 2395-2407, 1998.

LAI, K.M.; JOHNSON, K. L.; SCRIMSHAW, M. D. & LESTER, J.N. 2000. **Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems**. *Environment Science & Technology*, 34:3890-3894.

LISBOA FILHO, N.S. **Desenvolvimento e Validação de Método Analítico para Determinação de Interferentes Endócrinos: Aplicação em Amostras de água da Baía de Todos os Santos, BA**. Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

LIU, Z., KANJO, Y., MIZUTANI, S. Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (EDCs) in wastewater treatment — physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review. ***The Science of the Total Environment***, 407: 731-748, 2009.

LOPES, L. **Estudo sobre a Ocorrência de Estrogênios em Águas Naturais e Tratadas da Região de Jaboticabal – SP**, 1227f, Tese (Doutorado em Química), Instituto de Química – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2007.

MACHADO, K.S. **Determinação de Hormônios femininos na Bacia do Alto Iguaçu, região metropolitana de Curitiba-PR**. Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental da Universidade Federal do Paraná, 2010.

MASTERS, B. Emerging Contaminants – Drugs on Tap. **Water & Wastewater International** 16 (4), 11-12, 2001.

MELHOR COM SAÚDE. Acervo fotográfico disponível em: www.melhorcomsaude.com Acesso em: 15/06/2015

MOREIRA, D. S. (2008). **Desenvolvimento de Metodologia Analítica por Cromatografia/Espectrometria de Massas para Avaliação da Ocorrência de Perturbadores Endócrinos em Mananciais de Abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte**. Dissertação apresentada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Ambiental, área de concentração: Saneamento Ambiental. Universidade Federal de ouro Preto, Minas Gerais.

NAGASHIMA, E. Vazão Barigui e Iguaçu e-mail. Mensagem recebida por:edson-nagashima@aguasparana.pr.gov.br, em (17/07/2015)

NOGUEIRA, J. M. F. **Desreguladores Endócrinos: Efeitos Adversos e Estratégias para Monitoração dos Sistemas Aquáticos**. Química, 88, 65-71, 2003. (3)

PAGINA VERDE. Acervo fotográfico disponível em: www.paginaverde.uncisal.edu.br Acesso em: 20/06/2015

PALMER, B. D.; PALMER, S. K. Vitellogenin induction by xenobiotic estrogens in the red-eared turtle and African clawed frog. *Environmental Health Perspectives*, v. 103, p. 19-25, 1995.

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: 25 de janeiro de 2014.

PROSAB - PROGRAMA DE PESQUISAS EM SANEAMENTO BÁSICO. **Remoção de microrganismos emergentes e microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano**. Valter Lúcio de Pádua. Rio de Janeiro: ABES, 392p., 2009.

PROTECTOR SECURITY. Acervo fotográfico disponível em: www.protectorsecurity.com.br/especialidade_para_industrias

PUSCH, P. B., GUIMARÃES, J.R, e GRASSI, M.T. **Estimativa de Cargas de Metais a partir de fontes difusas de poluição urbana**. XVII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos. São Paulo-SP, 2007.

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

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

ROUTLEDGE, E. J. D. SHEAHAN, C. DESBROW, G. C. BRIGHTY, M. WALDOCK and J. P. SUMPTER, "Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 2. *In Vivo* Responses in Trout and Roach," *Environmental Science & Technology*, Vol. 32, No. 11, 1998, pp. 1559-1565.

SANTOS, K. P.; FLORENCIO, L., 2001. Aplicação de modelo simplificado para avaliação do estado trófico no reservatório de Duas Unas, Pernambuco, Brasil. 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental:1-9.

SARAVANABHAVAN,G.; HELLEUR, R.; HELLOU, J. *Chemosphere*, v.76, n°8 p.1156-1162, 2009.

SEMA- Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. **Bacias Hidrográficas do Paraná, Curitiba**, 2010.

SMMA - Secretaria Municipal do Meio Ambiente. Educação Ambiental para Comunidades - Guia para Multiplicadores: **Projeto Viva Barigui**, 2014

SBQ-SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA: **Química Nova Interativa**. Disponível em: http://qnint.s bq.org.br/qni/popup_visualizarMolecula.php Acesso em: 02/02/15

SOLÉ, M., RALDUA, D., BARCELÓ, D., PORTE, C. Long-term exposure effects in vitellogenin, sex hormones, and biotransformation enzymes in female carp in relation to a sewage treatment works. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.56, p.373-380, 2003. Disponível em <http://www.epa.gov/opptintr/opptindo/finalrept/html> acessada em 14/11/2013

SOLOMONS, G.; FRYHLE, C.; **Química Orgânica**, 7ªed., LCT: Rio de Janeiro, 2000.

SOPROJETOS. Acervo fotográfico disponível em: www.soprojetos.com.br Acesso em: 13/06/2015

SOTO, A. M., C. Sonenschein, K. L. Chung, M. F. Fernandez, N. Olea, and F. O. Serrano. 1995. The E-Screen assay as a tool to identify estrogens: an update on

estrogenic environmental pollutants. **Environment Health Perspect.** 103(7):113-122.

SUDERHSA. Plano de Despoluição Hídrica da Bacia do Alto Iguaçu. **Relatório Técnico** vol. 2. Curitiba, 2002.

TORTUGA Cia de Zootecnia_Agrária. Acervo fotográfico disponível em: www.tortuga.com.br/canal_tortuga_noticias.asp?categoria=3 Acesso: 15/06/2015

TURINI, C. A. **Fundamentos de toxicologia.** Módulo III. Disponível em < <http://itc.nutes.ufrj.br/toxicologia/modIII.htm> > Acessado em 10 de outubro de 2014.

TYLER, C. R.; ROUTLEDGE, E. J.; *Pure Appl. Chem.* 1998, 70, 1795; Panter, G. H.; Thompson, R. S.; Beresford, N.; Sumpter, J. P.; *Chemosphere* 1999, 38, 3579.

USEPA- ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Special report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis**, report N°EPA/630/R-96/012, Washington D. C., 1997. (2)

USP - Universidade de São Paulo. Parâmetros de Qualidade. Disponível em http://www.usp.br/gpqa/Disciplinas/qfl3201/aula6_2403.pdf Acesso em: 03/07/2015

VIRKUTYTE, J.; VARMA, R. S.; JEGATHEESAN, V. (Eds.). *Treatment of Micropollutants in Water and Wastewater.* Londres: IWA Publishing, 2010. 483 p.

VERAS, D. F. **Remoção dos perturbadores endócrinos 17 β -estradiol e p-nonilfenol por diferentes tipos de carvão ativado em pó (CAP) produzido no Brasil - Avaliação em escala de bancada.** Dissertação de mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos, v. Universidade de Brasília, 2006.

YING, G.G; KOOKANA, R.S.; RU, Y.J. **Environment International**, v. 28, n.6, p.545-551, Dec 2002.

ZACHAREWSKI, T. *In vitro* bioassays for assessing estrogenic substances. **Environmental Science & Technology**, Easton, v.31, p. 613-623, 1997.

ANEXO

ANEXO 1 - CERTIFICADO DE SOLUÇÕES PADRÃO DE pH 4 E 7

ANEXO 2 - CERTIFICADO DE SOLUÇÃO PADRÃO DE CONDUTIVIDADE

ANEXO 3 - RESULTADO DE ANÁLISE DA ATIVIDADE ESTROGÊNICA DA
UNIVERSIDADE DE STUTTGART

ANEXO 4 - CERTIFICADO DE PADRÃO MIX DE HORMÔNIOS

ANEXO 5 - EMAIL SOBRE VAZÃO NO RIO BARIGUI E IGUAÇU



Certificate of Analysis

Certipur[®] Certified Reference Material

Producer:	Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany.
Accreditation:	Merck KGaA is accredited as calibration laboratory according to DIN EN ISO/IEC 17025.
Description of CRM:	Buffer solution pH 4.00 (20°C) Certified Reference Material for measurement of pH value
Ord. No.:	1.09435.1000
Lot No.:	HC41446635
Composition:	citric acid / sodium hydroxide / hydrogen chloride
Certified value and uncertainty:	pH value 4.00 ± 0.01 (20°C) pH value with expanded measurement uncertainty The expanded measurement uncertainty U is calculated as $U = k \cdot u_{\text{characterisation}}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and $u_{\text{characterisation}}$ is the combined measurement uncertainty in accordance to DIN EN ISO/IEC 17025.
Method of Analysis:	pH value is measured with a combined glass electrode after 5-point calibration according to DIN 19268 with reference buffer solutions according to DIN 19266.
Traceability:	This certified buffer solution is directly traceable to primary certified reference materials from Merck (characterised by PTB) and from NIST. NIST 189c, 188, 185i, 186 lg, 186 llg, 187e PTB OX-179/10, TA-212/11, PHT-232/12, PHO-243/12, BO-211/11 PTB: <i>Physikalisch Technische Bundesanstalt, Braunschweig, Germany</i> NIST: <i>National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.</i>
Preparation:	This reference material is prepared gravimetrically from citric acid, sodium hydroxide, hydrogen chloride and high purity water.
Storage:	Store at +15°C to +25°C tightly closed in the original container.
Date of release:	2014/02/28
Minimum shelf life:	2017/02/28

A. Yildirim

Dipl.-Ing. Ayfer Yildirim
(Laboratory manager)

Merck KGaA · Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Germany: +49 6151 72-0

EMD Millipore Corp. · 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA: +1-781-533-6000

Application and correct use: This reference material is intended for use as a calibration standard for pH instruments or pH electrodes or as a control sample for measuring the pH value. The pH value is strongly dependent on the temperature. It is therefore necessary to keep the temperature constant within the measurement. Details concerning the nature of any hazard and appropriate precautions to be taken are provided in the material safety data sheet.

Further information:

Temperature dependence (example):

Temperature [°C]	Δ pH
0	+ 0.13
5	+ 0.07
10	+ 0.05
15	+ 0.02
20	\pm 0
25	- 0.02
30	- 0.02
35	- 0.04
40	- 0.05
50	- 0.05

Merck KGaA · Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Germany: +49 6151 72-0

EMD Millipore Corp. · 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA: +1-781-533-6000



Certificate of Analysis

Certipur[®] Certified Reference Material

Producer:	Merck KGaA, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany.
Accreditation:	Merck KGaA is accredited as calibration laboratory according to DIN EN ISO/IEC 17025.
Description of CRM:	Buffer solution pH 7.00 (20°C) Certified Reference Material for measurement of pH value
Ord. No.:	1.09439.1000
Lot No.:	HC307155
Composition:	di-sodium hydrogen phosphate / potassium dihydrogen phosphate
Certified value and uncertainty:	pH value 6.99 ± 0.01 (20°C) pH value with expanded measurement uncertainty The expanded measurement uncertainty U is calculated as $U = k \cdot u_{\text{characterisation}}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and $u_{\text{characterisation}}$ is the combined measurement uncertainty in accordance to DIN EN ISO/IEC 17025.
Method of Analysis:	pH value is measured with a combined glass electrode after 5-point calibration according to DIN 19268 with reference buffer solutions according to DIN 19266.
Traceability:	This certified buffer solution is directly traceable to primary certified reference materials from Merck (characterised by PTB) and from NIST. NIST 189c, 188, 185h, 186 Ig, 186 Iig, 187e PTB OX-179/10, TA-212/11, PHT-232/12, PHO-243/12, BO-211/11 PTB: <i>Physikalisch Technische Bundesanstalt, Braunschweig, Germany</i> NIST: <i>National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.</i>
Preparation:	This reference material is prepared gravimetrically from di-sodium hydrogen phosphate / Potassium dihydrogen phosphate and high purity water.
Storage:	Store at +15°C to +25°C tightly closed in the original container.
Date of release:	2013/11/11
Minimum shelf life:	2016/11/30

A. Yildirim

Dipl.-Ing. Ayfer Yildirim
(Laboratory manager)

Merck KGaA · Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Germany: +49 6151 72-0

EMD Millipore Corp. · 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA: +1-781-533-6000

Application and correct use: This reference material is intended for use as a calibration standard for pH instruments or pH electrodes or as a control sample for measuring the pH value. The pH value is strongly dependent on the temperature. It is therefore necessary to keep the temperature constant within the measurement. Details concerning the nature of any hazard and appropriate precautions to be taken are provided in the material safety data sheet.

Further information:

Temperature dependence (example):

Temperature [°C]	Δ pH
0	+ 0.05
5	+ 0.04
10	+ 0.02
15	+ 0.01
20	\pm 0
25	+ 0.01
30	+ 0.01
35	+ 0.01
40	+ 0.01
50	\pm 0

Merck KGaA · Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Germany: +49 6151 72-0

EMD Millipore Corp. · 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA: +1-781-533-6000



CERTIFICADO DE ANÁLISE

NÚMERO: 059465

Padrão: Condutividade 1412 $\mu\text{S/cm}$
Código Produto: PC1412U
Data de Expedição: 10/2014
Densidade (20 °C): 0,9988 g/mL

Número de Lote: F14H0314J
Validade: 12 meses
Matriz: Água

Valor Certificado: 1412 $\mu\text{S/cm}$ +/- 7 $\mu\text{S/cm}$ a 25,0 °C +/- 0,2°C

1 – Informações

Esta solução padrão de condutividade foi preparada a partir de cloreto de potássio (KCl) com pureza analítica, dissolvido em água Tipo 1 (>18 Mohms) e deve ser utilizada para ajuste das constantes de células de condutivímetros. O coeficiente de variação da condutividade para esta solução em função da temperatura no intervalo de 0 a 50°C é de aproximadamente 1,9% por °C. Sua formulação está definida no NIST Special Publication 260-142 Primary Standards and Standards Reference Materials for Electrolytic Conductivity. Sua certificação foi realizada de acordo com o método POPANFQ-02.

Correlação de temperatura versus condutividade para padrões de KCl em água

Temperatura (°C)	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	Temperatura (°C)	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)	Temperatura (°C)	Condutividade ($\mu\text{S/cm}$)
20	1279	24	1381	29	1518
21	1304	26	1435	30	1547
22	1329	27	1462	31	1576
23	1355	28	1490	35	1700

2 – Incertezas

A incerteza calculada é dada pela seguinte expressão: $U = (2 u_c)$

Onde u_c é a incerteza combinada calculada de acordo com o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição, ISBN 85-07-00251-X, 3ª Ed. INMETRO (2003) e incorpora as incertezas dos padrões utilizados na rastreabilidade. O valor de U reportado corresponde a duas vezes o desvio padrão das incertezas combinadas, associadas a fatores gravimétricos, volumétricos, pureza do sal e equipamento utilizado.

3 – Rastreabilidade

As grandezas de massa, volume e condutividade relacionadas com a calibração do condutivímetro são rastreadas a Rede Brasileira de Calibração (RBC). A concentração de cloreto de potássio deste padrão de condutividade é rastreada ao SRM 999b NIST via titulação potenciométrica com AgNO_3 0,1N.

4 – Utilização

Ajustar o coeficiente de variação de temperatura do equipamento para 1,9% por °C.
Termostatizar a solução padrão à 25°C por 20 minutos em recipiente de vidro e fechado ou verificar sua temperatura.
Lavar a célula com água destilada e rinsar com um pouco da solução padrão. Mergulhar a célula na solução padrão e aguardar a estabilização da leitura.
Ajustar o valor da condutividade no botão de ajuste da constante de célula com base na temperatura medida e a condutividade descrita na tabela acima.
Quando o valor da constante estiver discrepante do valor fornecido pelo fabricante, efetuar a limpeza ou replatinização da célula.
Armazenar em temperatura ambiente (15°C a 30°C).

Este certificado restringe-se apenas ao número de lote fornecido.

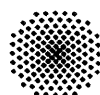
5 – Aprovação

Data de aprovação: 10/2014

Elaborado por: Gislaine Rodrigues da Cruz – Técnica Assistente – CRQ 04474649 – 4ª Região

Aprovado por: Msc. Nilton Pereira Alves – Responsável Técnico – CRQ 04428809 – 4ª Região

1/1



Universität Stuttgart

Institut für Siedlungswasserbau,
Wassergüte und Abfallwirtschaft

Lehrstuhl für Hydrochemie
und Hydrobiologie in der
Siedlungswasserwirtschaft

Abteilung Hydrobiologie und org.
Spurenanalytik

Ansprechpartner/in
Dipl.-Chem. Claudia Lange

Telefon
0711/685-65741

Telefax
0711/685-67809

E-Mail
Claudia.Lange@iswa.uni-stuttgart.de

Internet
www.iswa.uni-stuttgart.de/ch/

Datum
Stuttgart, 05.09.2014

Universität Stuttgart
ISWA • CH • Bandtäle 2 • 70569 Stuttgart

Quím. Regina Célia de Paula Cruz

Área de HPLC

SANEPAR/USAV-Curitiba

41 3330-7123

Analysis Report

Determination of the estrogenic activity in surface water samples

Reference: Samples from November 2013
Sample matrix: Surface water
Analysis: E-Screen-Assay

Results:

Sample number	Description	Estradiol equivalent concentration (EEQ) in ng/L
01	Source Barigui River	0,18
02	Barigui River before ETE	1,94
03	Barigui River after ETE	11,47
04	Confluence Barigui River and Iguaçu River	10,61
05	River Iguaçu	3,39

ISWA
Dipl.-Chem. Claudia Lange



CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

110 Benner Circle
Bellefonte, PA 16823-8812
Tel: (800)356-1688
Fax: (814)353-1309

Certificate of Analysis



www.restek.com

FOR LABORATORY USE ONLY-READ SDS PRIOR TO USE.

This Reference Material is intended for Laboratory Use Only as a standard for the qualitative and/or quantitative determination of the analyte(s) listed.

Catalog No. : 31117 **Lot No.:** A0101273

Description : Steroids and Mixed Pharmaceuticals Mix

Steroids and Mixed Pharmaceuticals Mix 200µg/ml, Acetonitrile, 1ml/ampul

Container Size : 2 mL **Pkg Amt:** > 1 mL

Expiration Date : February 29, 2016 **Storage:** 10°C or colder

Handling: Sonicate prior to use.

CERTIFIED VALUES

Elution Order	Compound	Grav. Conc. (weight/volume)	Expanded Uncertainty (95% C.L.; K=2)			
1	Bisphenol A	201.0 µg/mL	+/-	1.4253	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 80-05-7 (Lot LB82211V)		+/-	3.6653	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%		+/-	18.2409	µg/mL	Stressed
2	17-alpha-Ethynylestradiol	201.0 µg/mL	+/-	1.4253	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 57-63-6 (Lot 11721AA)		+/-	3.6653	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%		+/-	18.2409	µg/mL	Stressed
3	17-beta-Estradiol	200.0 µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 50-28-2 (Lot SLBB9733V)		+/-	3.6470	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%		+/-	18.1502	µg/mL	Stressed
4	Estrone	200.0 µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 53-16-7 (Lot 091M1732V)		+/-	3.6470	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%		+/-	18.1502	µg/mL	Stressed
5	Diclofenac Sodium Salt	198.7 µg/mL	+/-	1.4091	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 15307-79-6 (Lot 127K1220)		+/-	3.6237	µg/mL	Unstressed
	Purity 92%		+/-	18.0340	µg/mL	Stressed
6	Primidone	199.9 µg/mL	+/-	1.4176	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 125-33-7 (Lot 48F0043)		+/-	3.6456	µg/mL	Unstressed
	Purity 98%		+/-	18.1429	µg/mL	Stressed
7	Testosterone	200.0 µg/mL	+/-	1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 58-22-0 (Lot 39H0638)		+/-	3.6470	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%		+/-	18.1502	µg/mL	Stressed
8	Progesterone	200.9 µg/mL	+/-	1.4245	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 57-83-0 (Lot 10611BA)		+/-	3.6634	µg/mL	Unstressed
	Purity 98%		+/-	18.2319	µg/mL	Stressed

9	4-tert-Octylphenol	(Lot 08118JHV)	201.0 µg/mL	+/- 1.4253	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 140-66-9			+/- 3.6653	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%			+/- 18.2409	µg/mL	Stressed
10	4-para-Nonylphenol	(Lot FGE01)	200.0 µg/mL	+/- 1.4182	µg/mL	Gravimetric
	CAS # 84852-15-3			+/- 3.6470	µg/mL	Unstressed
	Purity 99%			+/- 18.1502	µg/mL	Stressed

Solvent: Acetonitrile
CAS # 75-05-8
Purity 99%

Column:
150mm x 4.6mm
Allure C18 (cat.# 9164565)

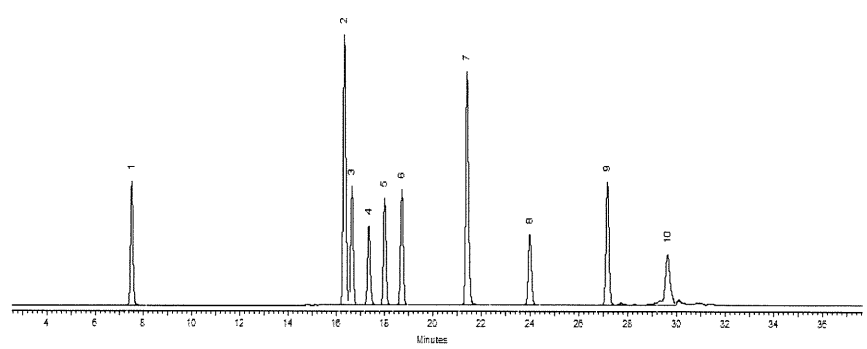
Flow Rate:
1 ml/min.

Mobile Phase A:
H3PO4

Mobile Phase B:
Acetonitrile

Mobile Phase Composition:
0 min.-10%B; 30 min.-90%B; 40 min- 90%B

Det. Type:
Wavelength: 220 & 254nm



This chromatogram represents a general set of testing conditions chosen for product acceptance. For optimal results in your lab, conditions should be adjusted for your specific instrument, method, and application.

Kendra Swope
Kendra Swope - Mix Technician

Date Mixed: 11-Feb-2014 **Balance:** 1125113331

Diane Shaffer
Diane Shaffer - QA Analyst

Date Passed: 19-Feb-2014

Manufactured under Restek's ISO 9001:2008
Registered Quality System
Certificate #FM 80397

General Certified Reference Material Notes

Expiration Notes:

- Expiration date valid for unopened ampul stored in compliance with the recommended conditions.
- Uncertainty, concentration, and expiration of the CRM are based on the unopened product being stored according to the recommended condition found in the storage field.

Purity Notes:

- Purity and/or chemical identity are determined by one or more of the following techniques: GC/FID, HPLC, GC/μECD, GC/MS, LC/MS, RI, and/or melting point.
- Compounds with a listed purity of less than 99% have been weight corrected to compensate for impurities and/or salts. A correction factor is used to calculate the amount of compound necessary to achieve the desired concentration of the parent compound in solution.
- Purity of isomeric compounds is reported as the sum of the isomers.
- Purity values are rounded to the nearest whole number.

Certified Uncertainty Value Notes:

- The uncertainties are determined in accordance with ISO Guides 34 and 35. The certified combined stressed uncertainty value (includes gravimetric uncertainty, homogeneity between-ampul uncertainty, storage stability uncertainty and shipping stability uncertainty and were combined using the following formula:

$$U_{combined\ stressed} = k \sqrt{U_{gravimetric}^2 + U_{homogeneity}^2 + U_{storage\ stability}^2 + U_{shipping\ stability}^2}$$

k is a coverage factor of 2, which gives a level of confidence of approximately 95%.

- It is important to note that the shipping stability uncertainty was obtained under temperature extremes for specific time intervals; therefore, the certified combined stressed uncertainty value should only be applied to the product if it was stored at non-standard temperature conditions up to and including 7 days. Contact Restek Technical Service at www.restek.com/Contact-Us for use recommendations if your shipment was in-transit for more than 7 days at non-standard temperature conditions.
- Apply the certified combined unstressed uncertainty value if the product was received under standard shipping conditions. Apply the certified combined stressed uncertainty value if the product was received under non-standard conditions as specified below.

Label Conditions	Standard Conditions	Non-Standard Conditions
25°C Nominal (Room Temperature)	< 60°C	≥ 60°C up to 7 days
10°C or colder (Refrigerate)	< 40°C	≥ 40°C up to 7 days
0°C or colder (Freezer)	< 25°C	≥ 25°C up to 7 days

- Separate (not combined) uncertainty values for gravimetric uncertainty are also displayed on the certificate, if needed, separate homogeneity between-ampul uncertainty, storage stability uncertainty and shipping stability uncertainty values are available by contacting Restek Technical Service at www.restek.com/Contact-Us.
- The packaged amount is the minimum sample size for which uncertainty is valid. The ampules are over-filled to ensure that the minimum packaged amount can be sufficiently transferred.



Manufacturing Notes:

- Concentration is based upon gravimetric preparation using either a balance whose calibration has been verified daily using NIST traceable weights, and/or dilutions with Class A glassware.

Handling Notes:

- Samples should be transferred into deactivated vials for handling and storage. Restek supplies deactivated vials along with most standards packed in 2 mL ampules. Due to space constraints, Restek does not supply vials for larger volume ampules. Restek sells DMDCS for the purpose of glassware deactivation as catalog number 31840, which includes complete instructions. Restek will also deactivate larger volume vials from our inventory as a custom ordered item. Contact your Restek sales or customer service representative for details.
- If any undissolved material is visible inside the ampul, sonicate the unopened ampul until the material is completely dissolved.

ExpressoLivre - ExpressoMail

Enviado por: "Edson Sakae Nagashima" <edson-nagashima@aguasparana.pr.gov.br>
De: edson-nagashima@aguasparana.pr.gov.br
Para: "Regina Celia de Paula Cruz" <reginacpc@sanepar.com.br>
Data: 17/07/2015 12:15
Assunto: Re: vazão Barigui e iguaçu  

Bom Dia Regina,

Foram determinadas as áreas de contribuição dos pontos de amostragens, e as vazões foram calculadas em função dos dados de estações vizinhas.

Ponto 1

área = 0,371 km²

Vazão média = 0,010 m³/s = 10 litros/s

Ponto 2

Area = 136,57 km²

Vazão média = 3,510 m³/s

Ponto 3

Área = 158,78 km²

Vazão média = 4,080 m³/s

Ponto 4

Área = 266,70 km²

Vazão média = 6,850 m³/s

Ponto 5

Área = 1823,47 km²

Vazão média = 37,500 m³/s

As vazões dos pontos 1, 2, 3 e 4 foram baseadas nos dados da estação de Ponte do Caximba no rio Barigui, e o Ponto 5 na estação de Guajuvira no rio Iguaçu.

Att.,

Edson Nagashima

Em 16/07/2015 às 12:35 horas, "Regina Celia de Paula Cruz" <reginacpc@sanepar.com.br> escreveu:

Sr. Edson, boa tarde!

Hoje pela manhã fiz contato para saber da vazão média do rio Barigui e Iguaçu.

Trabalho na Sanepar com análises de amostras ambientais e estou terminando a dissertação de mestrado sobre hormônios e fármacos no Rio Barigui. A coleta foi realizada em cinco pontos:

PONTO 1 -Nascente Rio Barigui (Divisa Almirante Tamandaré/Rio Branco do Sul)

(S 25 13.925' W 49 17.317')

PONTO 2 - Parque Barigui após a ponte que tem a queda d'água dentro do parque.

(S 25 25.894' W 49 18.822')

PONTO 3 - Rio Barigui após a ETE Santa Quitéria

(S 25 28.205' W 49 19.314')

PONTO 4 - Na confluência do rio Barigui com Iguaçu

(S 25 38.447' W 49 21.945')

PONTO 5 - No rio Iguaçu após 600m da confluência com Barigui.

(S 25 38.506' W 49 22.323')

Preciso saber a vazão média destes pontos...aproximadamente. No estudo a vazão me ajudará a explicar as concentrações encontradas.

Agradeço sua ajuda e atenção

Att,
Quím. Regina Célia de Paula Cruz
Área de Cromatografia
SANEPAR/USAV-Curitiba
41 3330-7171 / 41 9747-9258
reginacpc@sanepar.com.br