

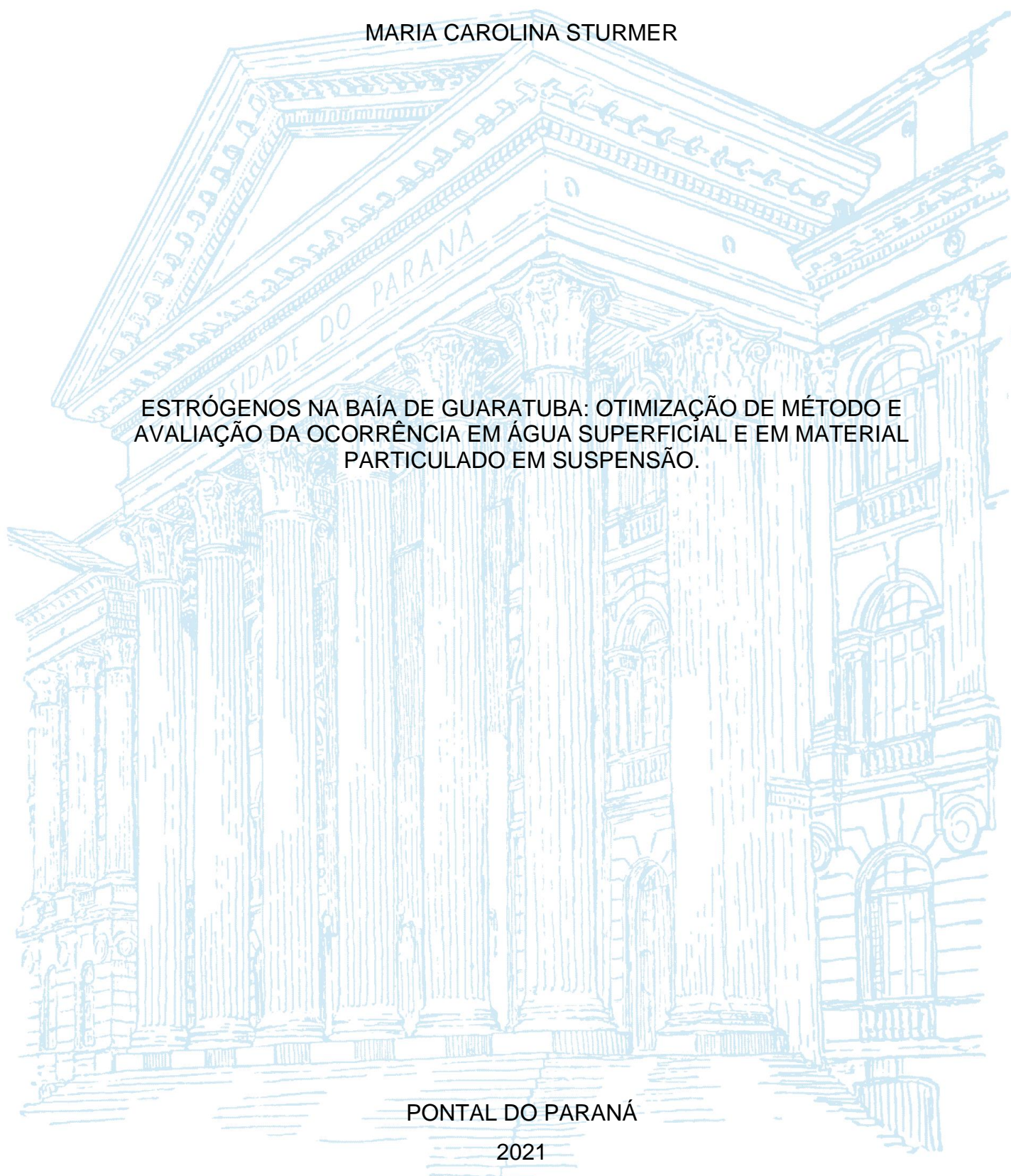
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIA CAROLINA STURMER

ESTRÓGENOS NA BAÍA DE GUARATUBA: OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO E
AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA EM ÁGUA SUPERFICIAL E EM MATERIAL
PARTICULADO EM SUSPENSÃO.

PONTAL DO PARANÁ

2021



MARIA CAROLINA STURMER

**ESTRÓGENOS NA BAÍA DE GUARATUBA: OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO E
AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA EM ÁGUA SUPERFICIAL E EM MATERIAL
PARTICULADO EM SUSPENSÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal do Paraná como requisito à obtenção do título de obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Toledo Netto

Pontal do Paraná

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ATA DE REUNIÃO

TERMO DE APROVAÇÃO

Maria Carolina Sturmer

“ESTRÓGENOS NA BAÍA DE GUARATUBA: OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO E AVALIAÇÃO DA CORRÊNCIA EM ÁGUA SUPERFICIAL E EM MATERIAL PARTICULADO EM SUSPENSÃO.”

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária, da Universidade Federal do Paraná, pela Banca formada pelos membros:

Profa. Dra. Sílvia Pedroso Melegari - CEM/UFPR

Profa. Dra. Heloise Garcia Knapik - UFPR

Prof. Dr. Pedro Toledo Netto - CEM/UFPR

Presidente

Pontal do Paraná, 12 de Agosto de 2021



Documento assinado eletronicamente por **PEDRO TOLEDO NETTO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 12/08/2021, às 18:38, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **HELOISE GARCIA KNAPIK, Usuário Externo**, em 13/08/2021, às 09:14, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **SILVIA PEDROSO MELEGARI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 13/08/2021, às 11:42, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **3702263** e o código CRC **3075818B**.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pela infinita graça, cuidado, saúde e oportunidade.

Aos meus pais, por toda a dedicação, educação e suporte me dado até o momento. Principalmente a minha mãe, da qual sempre me segurou e incentivou nos momentos que queria desistir, que aguentou minhas variações de humor, e que acreditou que eu seria capaz.

Aos meus avós, dos quais me encheram com o seu amor, carinho e cuidado. Que foram sempre meu ombro amigo, e meu colo.

Ao meu irmão e minha cunhada, que me incentivaram desde o começo a não desistir dos meus sonhos, e viram em mim a possibilidade de realizar o que eu quisesse.

Aos amigos que conheci no meio da graduação, que foram base para aliviar ao fardo dos momentos difíceis. Em especial a família Paiter, que me acolheu nos momentos de distância de casa, que me incentivou, ajudou e me deram o suporte do qual eu precisava.

Aos amigos, que entenderam as ausências temporárias, e incentivaram a continuar.

Ao meu orientador, por toda a paciência, dedicação, e por ter acreditado que daria certo, por todas as orientações e indicações do caminho.

Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica (processo 406130/2016-7) e aos laboratórios de pesquisa envolvidos.

RESUMO

Contaminantes emergentes são compostos que não possuem legislação específica versando sobre eles, entretanto tem um alto potencial de danos ao meio ambiente. Em sua grande maioria são compostos acumulativos, tem uma inserção de modo geral contínua no meio ambiente, e podem ter característica de perturbadores endócrinos. Alguns exemplos desses compostos, temos os estrogênios: estrona, estriol, 17β -estradiol, e o 17α -etinilestradiol, dos quais possuem mesmos tem potencial de desregulador endócrino, podendo ter efeitos nocivos ao meio ambiente, não tanto pelo seu nível de toxicidade, e pelo seu potencial bioacumulador. O principal objetivo desse trabalho, foi o desenvolvimento e validação de um método analítico de baixo custo para avaliação e quantificação dos estrogênios, avaliado em duas matrizes ambientais: água superficial e material particulado em suspensão. A região escolhida foi Baía de Guaratuba – PR, da qual é uma zona costeira, que tem características marcadas pela sua sensibilidade devido ser uma zona de transição terrestre para o mar da qual sofre uma influência de marés, influência antrópica, como o próprio fator de desague dos rios, como uma pressão turística pela sua característica de veraneio. O método utilizado para a água superficial em suspensão foi a extração em fase sólida, já para o material particulado em suspensão foi adotado ao método de extração sólido-líquido. A avaliação posterior para quantificação foi realizada com uma análise cromatográfica de alta eficiência (HPLC). Foram realizadas duas campanhas amostrais em períodos distintos (inverno e verão), avaliando doze pontos, das quais demonstraram valores abaixo da metodologia proposta para água superficial, enquanto o material particulado em suspensão apresentou alguns pontos com os compostos avaliados, onde sua menor concentração foi de 141 ng g⁻¹ para o estriol, e em sua maior concentração 3080 ng g⁻¹ para o estradiol. A presente avaliação demonstrou que o método proposto é válido, e pode ser replicado, mesmo com valores não encontrados, o que nos indica que a região avaliada não sofre tanta interferência antrópica, mas que ainda é necessário manter a avaliação dos presentes contaminantes em outros pontos por exemplo, pontos próximos a ETE's, canais de drenagem, e fontes de poluições pontuais como derramamento de efluente irregular.

Palavras-Chave: Estrogênios. Baía de Guaratuba. Contaminantes Emergentes. Análise cromatográfica.

ABSTRACT

Emerging contaminants are compounds that do not have specific legislation dealing with them, however they have a high potential for damage to the environment. The vast majority are cumulative compounds, have a generally continuous insertion in the environment, and may have characteristics of endocrine disruptors. Some examples of these compounds, we have the estrogens: estrone, estriol, 17β -estradiol, and 17α -ethinylestradiol, of which they have the potential of endocrine disruptor and can have harmful effects on the environment, not so much due to their toxicity level, and for its bioaccumulative potential. The main objective of this work was the development and validation of a low-cost analytical method for the evaluation and quantification of estrogens, evaluated in two environmental matrices: surface water and suspended particulate matter. The chosen region was Baía de Guaratuba - PR, which is a coastal zone, which has characteristics marked by its sensitivity due to being a transition zone from land to sea which suffers an influence of tides, anthropogenic influence, as the factor itself. flow from the rivers, as a tourist pressure due to its characteristic of summer. The method used for surface water in suspension was the solid phase extraction, while for particulate matter in suspension it was adopted the solid-liquid extraction method. The subsequent evaluation for quantification was performed with a high performance chromatographic analysis (HPLC). Two sampling campaigns were carried out at different periods (winter and summer), evaluating twelve points, which showed values below the proposed methodology for surface water, while the particulate matter in suspension presented some points with the evaluated compounds, where its lowest concentration was 141 ng g^{-1} for estriol, and at its highest concentration 3080 ng g^{-1} for estradiol. The present evaluation showed that the proposed method is valid, and can be replicated, even with values not found, which indicates that the evaluated region does not suffer as much anthropogenic interference, but that it is still necessary to maintain the evaluation of the present contaminants in other points for example, points close to ETE's, drainage channels, and point pollution sources such as uneven effluent spillage.

Keywords: Estrogens. Guaratuba Bay. Emerging Contaminants. Chromatographic analysis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Alguns exemplos de substâncias classificadas como contaminantes emergentes.	15
Tabela 2: Concentrações e técnicas analíticas para contaminantes emergentes	17
Tabela 3: Excreção diária (μg) per capita de estrogênios por humanos.....	19
Tabela 4: Características e propriedades físico-químicas dos estrógenos.....	20
Tabela 5: Estudos dos estrógenos em ambiente marinho.....	34
Tabela 6: Padrões usados para avaliações.....	36
Tabela 7: Condições cromatográficas.	37
Tabela 8: Níveis de fortificação para o material particulado em suspensão.....	40
Tabela 9: Níveis de fortificação para água superficial.	42
Tabela 10: Níveis da curva analítica.....	43
Tabela 11: Pontos para coleta e considerações.....	44
Tabela 12: Concentrações dos estrógenos obtidas nas análises de material particulado em suspensão (ng g^{-1}) \pm CV (Coeficiente de Variação).....	52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma inserção dos estrógenos no meio ambiente.	22
Figura 2: Mapa temático do CEP e da Baía de Guaratuba	23
Figura 3: Área de Preservação Permanente de Guaratuba.	25
Figura 4: Preparação dos filtros para obtenção do material particulado em suspensão baseado em Bezerra (2014).	38
Figura 5: Método de extração sólido-líquido do material particulado em suspensão baseado em Bezerra (2014).	39
Figura 6: Filtração da amostra.	39
Figura 7: Método extração água superficial baseado em Bezerra (2014) e Gonçalves (2016).	41
Figura 8: Extração/pré concentração da água superficial.	41
Figura 9: Mapa mostrando os 12 pontos amostrais localizados na Baía de Guaratuba.	44
Figura 10: Separação dos estrógenos em condições pré-estabelecida. Da esquerda para direita: estriol, etinilestradiol, estradiol, estrona.	46
Figura 11: Coeficiente de variação e porcentagem de recuperação obtidos para material particulado em suspensão, representando precisão e exatidão do método respectivamente.	47
Figura 12: Coeficiente de variação e porcentagem de recuperação obtidos para água superficial, representando precisão e exatidão do método respectivamente.	48
Figura 13: Curvas analíticas (LC – FLD) com equação de reta e coeficiente de correlação: em azul o estriol (E3), em vermelho o 17- β -estradiol (E2), em preto o 17- α -etinilestradiol (EE2) e estrona (E1) em laranja.	49
Figura 14: Precipitação média anual 2019.	50
Figura 15: Distribuição dos estrógenos em material particulado em suspensão, inverno/2019 e verão/2019.	51
Figura 16: Região de Guaratuba, pontos e ETE (PONTO MARROM).	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. JUSTIFICATIVA	12
3. OBJETIVOS	13
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
4.1 Contaminantes emergentes e desreguladores endócrinos	14
4.2 Estrogênios	18
4.3 Ambientes costeiros	22
4.4 Métodos analíticos para quantificação	28
4.5 Estado da arte	30
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
5.1 Amostragem.....	35
5.2 Equipamentos, materiais e reagentes.....	35
5.3 Análise cromatográfica.....	36
5.4 Material particulado em suspensão.....	37
5.5 Água superficial.....	40
5.5 Validação metodológica	42
5.5.1 Exatidão e precisão.....	42
5.5.2 Linearidade na faixa de interesse.....	42
5.5.3 Limite de quantificação e limite de detecção	43
5.6 Área de estudo.....	43
6. RESULTADOS E DISCUSSÕES	45
6.1 Análise cromatográfica.....	45
6.2 Validação metodológica	46

6.3 Material particulado em suspensão das amostras	50
6.4 Água superficial.....	53
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
REFERÊNCIAS.....	59
ANEXO I.....	65
ANEXO II.....	66

1. INTRODUÇÃO

Devido ao atual nível de desenvolvimento industrial e a própria necessidade de expansão urbana e mudanças decorrentes da globalização, efluentes tanto domésticos quanto industriais acabam sendo lançados de maneira desregulada no meio ambiente, sem muitas vezes ter sido avaliado seus danos. Esse lançamento acarreta não apenas no lançamento de substâncias que o meio pode absorver, como contaminantes que chamam a atenção das autoridades e comunidade científica. São contaminantes chamados de contaminantes emergentes, podendo estar presente em meios aquáticos e terrestres. As concentrações desses contaminantes de acordo Bila e Dezotti (2007), são da ordem de ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$, podendo estar presentes nos mananciais de abastecimento público. Essas substâncias possuem um potencial de perturbação ao sistema endócrino de humanos e outras espécies, afetando a sua saúde, crescimento e reprodução, o que desperta ao interesse científico. Uma das classes estudadas dos contaminantes emergentes são os estrógenos, que são hormônios, podendo ser naturais ou sintéticos. Atualmente tem sido dada bastante atenção aos contaminantes emergentes pelo fato de que mesmo em pequenas quantidades, estão inseridos no meio ambiente de forma diária.

Dentro da vasta classificação de ecossistemas, tem-se as regiões litorâneas, que possuem como característica marcante uma maior complexidade ambiental por terem: (a) uma faixa de transição entre continentes e oceanos, (b) um número elevado de interações dos agentes terrestres, oceânicos e atmosféricos, (c) a possibilidade de vasta interação entre os ecossistemas e (d) como também a rota final nos sistemas aquáticos. Além dessas interações, existem grandes migrações humanas pelo atrativo das regiões costeiras, podendo elas serem sazonais ou interferências permanentes para atividades de pesca ou atividades portuárias. Geralmente regiões litorâneas sofrem para estabelecer sua infraestrutura pelo movimento sazonal que são expostas. Existe uma alta pressão para o turismo, acarretando problemas de saúde pública, como descarte incorreto de resíduos e descarte irregular de esgotamento sanitário. (BORELLI, 2007).

O estado do Paraná tem uma região litorânea composto pelo complexo estuarino de Paranaguá (CEP) e a Baía de Guaratuba, que além de ser rodeada pela cidade que sofre influência sazonal, é desague de vários rios provenientes da região de litorânea. O principal foco desse trabalho é a determinação de estrógenos, que são contaminantes emergentes, na Baía de Guaratuba, com o intuito de investigar sua ocorrência utilizando métodos analíticos confiáveis analiticamente

2. JUSTIFICATIVA

Vários contaminantes emergentes não estão regulamentados e precisam ser estudados desde o seu potencial de contaminação como os níveis que são encontrados no meio ambiente, se tornando assim candidatos para uma regulamentação futura. Os estrógenos não estão regulamentados no Brasil e na maioria dos países do mundo e o conhecimento sobre a ocorrência, dispersão ambiental e efeitos à biota ainda é incipiente tanto em ambientes dulcícolas quanto marinhos. Ressalta-se que pouco destaque tem sido direcionado ao impacto dessas substâncias em regiões costeiras e marinhas (MARUYA et al., 2012), as quais podem ocasionar danos irreversíveis ao sistema biológico, impactando, por exemplo, os recursos pesqueiros dessas regiões. Portanto, estudos ambientais direcionados para a investigação dos estrógenos devem ser realizados nestas regiões a fim de avaliar o impacto das atividades antrópicas.

Uma das metas deste projeto foi a busca de métodos analíticos confiáveis, simples, de baixo custo, rápidos e sensíveis, os resultados foram capazes de contribuir como uma alternativa para a determinação dos estrógenos nas matrizes propostas. Consequentemente, isto resultou em uma estratégia de custo mais baixo para o monitoramento ambiental destas substâncias. Um dos benefícios decorrentes deste estudo pode ser um auxílio ao gerenciamento ambiental de regiões costeiras, uma vez que poderá auxiliar nos processos de planejamento e disposição de emissários submarinos, bem como áreas de disposição de sedimentos provenientes de dragagem em regiões portuárias.

Todos os métodos analíticos (instrumentais e de extração) deste trabalho levaram em consideração os parâmetros de validação que incluíram: limites de detecção e quantificação, exatidão e da repetibilidade (precisão) e faixa de trabalho aplicável.

Os dados obtidos podem ser divulgados por meio de apresentações artigos científicos e, pretende-se ainda em um momento futuro apresentá-los ao Sistema Estadual de Gerenciamento de Recursos Hídricos (SEGRH/PR) do estado do Paraná, para talvez subsidiar políticas públicas voltadas aos possíveis impactos causados pelos estrógenos.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral desse trabalho foi realizar um diagnóstico de contaminação da Baía de Guaratuba em relação aos estrógenos estrona (E1), 17β -estradiol (E2), estriol (E3), e 17α -etinilestradiol (EE2).

Os objetivos específicos deste projeto foram:

- Otimizar e validar métodos analíticos para determinação dos estrógenos em material particulado em suspensão e água superficial;
- Avaliar a possibilidade de ocorrência dos estrógenos em água superficial e em material particulado em suspensão da Baía de Guaratuba;
- Avaliar se existia uma sazonalidade entre as estações de inverno e verão, bem como a diferença de ocorrência dos estrógenos entre as matrizes estudadas e os pontos de coleta.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Contaminantes emergentes e desreguladores endócrinos

Com o desenvolvimento acelerado, uma das principais preocupações levantadas ambientalmente é encontrada pela ocorrência de compostos farmacologicamente ativos na natureza. Parte destes compostos são conhecidos como a classe de contaminantes emergentes, sendo abordados em vários aspectos por pesquisadores do mundo todo, podendo ser de origens antrópica e natural. A entrada desses contaminantes é resultado de diversas atividades, como por exemplo: emissões na fabricação, eliminação de resíduos, liberações acidentais, introduções propositalis e atividades do próprio consumidor sendo a excreção natural.

A presença destes compostos no meio ambiente não é tão significativa pela sua concentração, e sim pelo seu potencial de acarretar um impacto ecológico e efeitos adversos a saúde. Alguns dos efeitos provocados por esses compostos quando no meio aquático são genotoxicidade, perturbação endócrina e aumento de resistência de bactérias patogênicas (LIMA et. al, 2014). Cabe também salientar que a sua persistência no ambiente está diretamente ligada ao fato de que continuamente são introduzidos no meio ambiente, por resultado de processos industriais, descarte de produtos comerciais, através de sua forma conjugada, livre ou metabolizada (SILVA apud TADEO, 2012).

O termo desregulador endócrino teve a sua primeira aparição na conferência Wingspread nos Estado Unidos no ano de 1991. A sua preocupação veio da ocorrência de distúrbios em várias espécies selvagens, sendo relatado diminuição na fertilidade, anomalias no sistema reprodutivo e distúrbios comportamentais (PONTENELLI et al, 2016). Alguns estudos realizados na Dinamarca observaram o declínio da qualidade do sêmen dos homens entre 1938 e 1990. Em 1990 no Reino Unido, foram observados diversos eventos de feminilização de peixes devido a presença de compostos estrogênicos (AQUINO et al, 2013). Outra conclusão preocupante e importante, quando se trata do ambiente aquático, é que as concentrações típicas dos desreguladores endócrinos existentes nos ambientes aquáticos não mostram evidências que possam causar efeitos agudos, mas existem

estudos suficientes apontando efeitos crônicos em organismos mais sensíveis (BRANDT, 2012 apud AQUINO et al, 2013).

Segundo o Comitê Científico de Toxicidade, Ecotoxicidade e Ambiente (CCTEA), os desreguladores endócrinos possuem associações com o surgimento de algumas doenças como câncer de testículo, de mama e de próstata, a queda da taxa de espermatozoides, deformidades dos órgãos reprodutivos, disfunção da tireóide e alterações relacionadas com o sistema neurológico (GHISELLI & JARDIM, 2007).

Contaminantes emergentes geralmente sofrem transformações químicas no ambiente, acarretando na sua remoção, entretanto, esses efeitos são compensados pela sua introdução contínua. São produtos com variadas aplicações, incluindo os farmacêuticos, produtos de cuidado pessoal, agentes tensoativos, plastificantes e aditivos industriais (Tabela 1). Um destaque importante a ser enfatizado é que, geralmente, os contaminantes emergentes não estão incluídos em programas de monitoramento da água por não possuírem legislação específica (GIL et. al, 2012).

Tabela 1: Alguns exemplos de substâncias classificadas como contaminantes emergentes.

Grupo	Exemplos de substâncias
Pesticidas	Atrazina, lindano, triclosan, DBCP (Dibromocloropopano), PCP (pentaclorofenol), rifuralin
Esteróides Naturais	Androgênios, estrogênios, fitoestrogênios
Fármacos	Fluoxetina, tamoxifan, fluvastatina, medetomidina, propranolol, hormônios sintéticos
Produtos químicos industriais	Alquifenóis, ftalatos, bisfenol-A, estireno, retardantes de chama bromados (PBDE's), surfactantes (incluindo perfluorocetosulfonatos – PFOS)

Fonte: Filho et al., 2007

Como esses compostos têm características distintas e variadas como persistência, caráter lipofílico, bioacumulativos e baixa pressão de vapor, tem uma facilidade de dispersão e difusão no meio ambiente (BILA, 2005). Alguma das

propriedades que favorecem a dispersão destes poluentes no meio ambiente estão a solubilidade em água, o pH, a temperatura, radiação, nível de matéria orgânica, propriedades do meio e do organismo receptor (REIS FILHO et al. 2006). Em relação a sua ocorrência no ambiente aquático pode ser consequência de diversas fontes de descarga de água contaminada ou efluentes não tratados, podendo ser fontes pontuais como uma estação de tratamento de efluente industrial ou doméstico, como fontes difusas das quais podem ser oriundas de lixiviados e atividades agrícolas (GHISSELI e JARDIM, 2007).

Em relação aos estudos abordando os contaminantes emergentes no Brasil, eles foram iniciados em 1995 por Lanchote, com ênfase na determinação de pesticidas. A partir de então surgiram várias outras linhas, observando a remoção de fármacos em estações de tratamento de esgoto e a presença deles em águas superficiais de algumas baías. Com isso tornou-se possível encontrar diversos trabalhos envolvendo matrizes ambientais (águas superficiais e águas de abastecimento público) e matrizes de interesse ambiental (esgotos tratado e bruto) (MONTAGNER et. al, 2017). A Tabela 2 compila alguns trabalhos da literatura, especificando as classes de contaminantes emergentes, técnicas analíticas empregadas e concentrações encontradas nas matrizes citadas anteriormente. Como relata ao fator de quão eficiente os tratamentos convencionais de efluentes domésticos tem eficiência em relação aos compostos e quais são as ordens de grandeza encontradas após o tratamento.

Tabela 2: Concentrações e técnicas analíticas para contaminantes emergentes

Contaminantes emergentes	Esgoto bruto		Esgoto tratado		Água superficial		Água de abastecimento público	
	Concentrações (ng L ⁻¹)	Técnica Analítica	Concentrações (ng L ⁻¹)	Técnica Analítica	Concentrações (ng L ⁻¹)	Técnica Analítica	Concentrações (ng L ⁻¹)	Técnica Analítica
Fármacos	(13,9 – 3800)	LC-MS/MS GC-MS	(680 – 3800)	GC-MS	(0,50 – 30421)	LC-MS/MSH PLC-UV GC-MS	18,5	LC-MS/MS
Hormônios	(0,56 – 3180)	LC-MS/MSGC - MS/MSGC-MS	(0,09 – 2080)	LC-MS/MSGC-MS/MS	(0,31 – 11130)	LC-MS/MSH PLC-UV HPLC-FLD	(1,0 – 340)	GC-MS LC-MS/MSHP LC-FLD
Produtos de higiene pessoal	Não encontrado	ND	Não encontrado	ND	(2,2 – 323,5)	LC-MS/MS GC-MS/MS	(18 – 135,5)	LC-MS/MSGC-MS/MS
Bisfenol A	(55,7 – 308,8)	LC-MS/MS	(220 – 5310)	LC-MS/MS	(2,8 – 39860)	LC-MS/MSH PLC-UV	(24 – 247)	GC-MS/MS

Fonte: Adaptado Montagner et. Al (2017)

GC-MS = Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. GC-MS/MS = Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas sequencial. HPLC-UV = Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta. Em alguns trabalhos o UV foi obtido pelo Detector de Arranjo de Diodos (DAD). HPLC-FLD = Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência. LC-MS/MS = Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial. ND: Não encontrado

Conforme avaliado na Tabela 2, as técnicas de avaliação para concentração dos compostos emergentes são todas de cromatografia, podendo ser ela líquida ou gasosa. Geralmente a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC ou CLAE) acaba por ser uma das principais técnicas de análises de compostos não voláteis ou termicamente instáveis. Entretanto para a sua utilização é necessária uma análise confirmatória. A cromatografia líquida pode ser avaliada a partir de dois tipos de radiação, a ultravioleta ou a de fluorescência, da qual a escolha vai depender do composto analisado e sua sensibilidade.

Em relação a espectrometria de massas, esta acaba sendo a técnica que mais fornece as informações estruturais necessárias e, quando inserida na cromatografia líquida, tem-se uma ferramenta analítica versátil e de grande potencial na análise qualitativa e quantitativa (LANÇAS, 2019). O mesmo acontece na cromatografia gasosa devido ao seu princípio de funcionamento ser o mesmo, apenas com distinção da sua fase móvel que se torna gasosa.

Outro ponto que a Tabela 2 apresenta são os resultados encontrados, podendo ver uma variação para esgoto bruto em relação ao esgoto tratado, e o quanto o mesmo varia em relação as águas. Esses valores de certa maneira sofrem uma grande variação, e não apenas são sinais de alerta como também apontam que a presença dos contaminantes já são uma realidade na sociedade, estando não apenas em efluentes como águas utilizadas para consumo humano.

4.2 Estrogênios

Os agentes interferentes endócrinos pertencem a várias classes, incluindo os estrogênios naturais, sintéticos e xenoestrogênios. Destes o de maior interferência no sistema endócrino humano se dá pela ação dos estrogênios sintéticos, enquanto os xenoestrogênios são menos potentes (RAIMUNDO, 2011).

Os estrogênios naturais são amplamente conhecidos como hormônios femininos e são eles a estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3). No fígado o estradiol é convertido em estrona, podendo ser convertido em estriol. O estradiol é o estrogênio mais potente, podendo ser até doze vezes mais ativo que a estrona e

oitenta vezes mais que o estriol (LARK, 1999). Ainda possui o 17 α -etinilestradiol (EE2), desenvolvido para uso médico em terapias de reposição hormonal e métodos contraceptivos e tem em seu papel poluidor maior preocupação, tanto pela potência quanto pela quantidade introduzida no ambiente (REIS FILHO et al., 2006).

A ação no sistema endócrino ocorre pela síntese de hormônios, sendo sinalizadores químicos, que quando lançados na corrente sanguínea atuam na comunicação com os receptores, fazendo interferir em determinada resposta biológica. (GOODMAN et al. 2005, apud LUPEPSA et al. 2017). Vale ainda ressaltar que em relação ao 17 β -estradiol, as mamíferos fêmeas produzem e assim excretam no meio ambiente. Tem sido observado que durante a última década a presença do E2 tem sido aumentada nos efluentes (LUPEPSA et al., 2017).

Os estrogênios estrona, estradiol e etinilestradiol recebem uma atenção especial por terem uma excreção contínua e diária nos efluentes e não passam por remoção completa nas estações de tratamento. Acabando assim, por serem lançados no sistema aquático. Na tabela abaixo 3, é possível observar a excreção diária dos compostos pelos humanos, sendo dividido em categorias específicas, onde o termo mulheres encontrado na última linha, se dá pelo fator de utilização de contraceptivos ou reposição hormonal, pois o hormônio etinilestradiol é um hormônio sintético. (BILA e DEZOTTI, 2007)

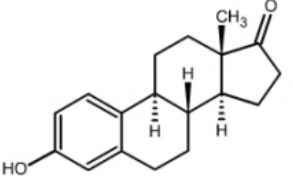
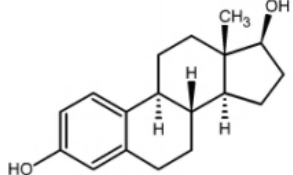
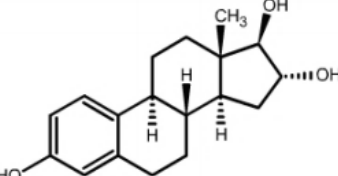
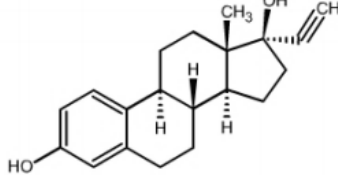
Tabela 3: Excreção diária (μ g) per capita de estrogênios por humanos.

Categoria	Estrona	17β-Estradiol	Estriol	17α-Etinilestradiol
Homens	3,9	1,6	1,5	-
Mulheres menstruando	8	3,5	4,8	-
Mulheres na menopausa	4	2,3	1	-
Mulheres grávidas	600	259	6.000	-
Mulheres	-	-	-	35

Fonte: Adaptado BILA e DEZOTTI, 2007.

A Tabela 4 apresenta as propriedades físicas e químicas dos estrógenos naturais e sintéticos utilizados nesse trabalho.

Tabela 4: Características e propriedades físico-químicas dos estrógenos.

Analitos	Abreviação	Fórmula	Estrutura Química	pKa	Log K _{oc}	Log K _{oc}	Solubilidade (mg L ⁻¹)	Tempo de meia vida (dias)
Estrógenos Naturais								
Estrona	E1	C ₁₈ H ₂₂ O ₂		10,34	3,34	3,43	12,42	2 - 3
17β-estradiol	E2	C ₁₈ H ₂₄ O ₂		10,23	4,01	3,96	12,96	2-3; 0,2 - 9
Estriol	E3	C ₁₈ H ₂₄ O ₃		10,25; 10,4	3,28	3,57	13,00	NR
Estrógeno Sintético								
17α-etinilestradiol	EE2	C ₂₀ H ₂₄ O ₂		10,25; 10,5	2,98	4,15	4,8	4 - 6

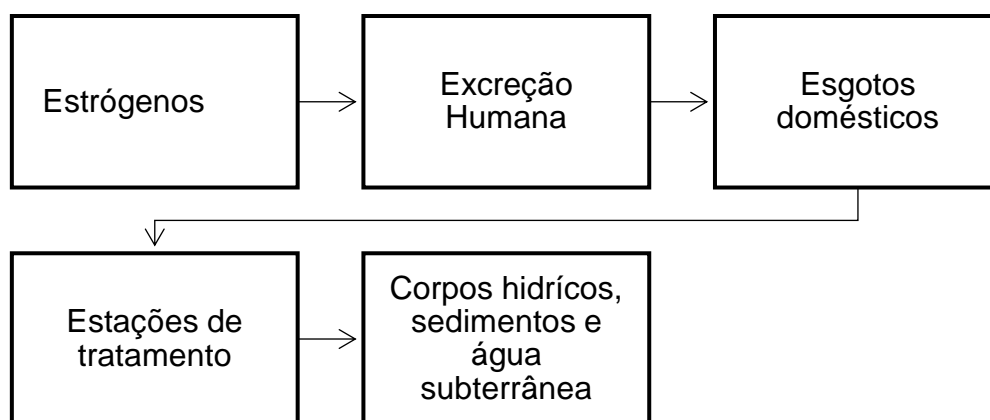
Fonte: Adaptado BEZERRA, 2014 e REIS FILHO et al, 2006. *pKa – Constante de dissociação ácida; log K_{oc} – coeficiente de adsorção normalizado; log K_{ow} – constante de partição octanol/água; NR: Não relatado

O tempo de meia vida de um composto, determina qual é o comportamento do mesmo ao ser exposto ao meio ambiente, podendo sofrer decomposição completa ou transformação em outro composto. Ao analisar os estrógenos encontra-se um tempo de meia vida com caráter curto, entretanto esse fator é compensado pela inserção diária e constante no meio ambiente, o que acarreta a ele um caráter de persistência. Existem fortes evidências que 40% das doses ministradas dos estrógenos sintéticos podem ser disponibilizadas para o ambiente (FILHO, et al. 2006).

Os presentes compostos são utilizados para reposição hormonal, métodos contraceptivos, sendo alterado em dosagens de acordo com a sua eficiência e finalidade, o que faz com que o consumo dos mesmos seja constante, tendo então sua excreção constante. Aquém disso ainda se tem os compostos naturais, dos quais são excretados diariamente por toda a classe da sociedade, e quando as regiões não possuem um atendimento de saneamento básico os mesmos acabam nos corpos hídricos, e quando a região é atendida por redes de coleta de efluentes, os mesmos acabam indo para as estações de tratamento, e não necessariamente são removidos com os tratamentos atuais.

Os estrógenos atingem o meio ambiente de forma direta ou após o tratamento de águas residuárias, que em geral tem processos não eficientes para sua remoção. Sendo assim, podem chegar a águas superficiais, sedimentos, material em suspensão e organismos aquáticos (GUIMARÃES, 2008). Uma visão da rota traçada por esses contaminantes pode ser encontrada de forma resumida na Figura 1.

Figura 1: Fluxograma inserção dos estrógenos no meio ambiente.



Fonte: Adaptado FILHO et Al., 2006

Conforme observado o esgotamento sanitário é uma das principais fontes de inserção dos compostos no meio ambiente. Entretanto quando avaliado a situação do Brasil em relação a esse tipo de serviço é encontrado um déficit em relação a outros países no tratamento do esgoto. Isso se dá por alguns fatores, sejam eles socioeconômicos, como uma legislação tardia em relação ao tratamento dos esgotos no Brasil, sendo promulgado apenas em 2007 uma lei para diretrizes nacionais de tratamento de esgoto (JUNIOR, 2009).

4.3 Ambientes costeiros

As últimas décadas os problemas ambientais passaram a ser mais recorrentes e frequentes, se dando, por exemplo, pelo alto crescimento populacional (HASSEMER et al., 2012). Dentro dos cenários da problemática ambiental, existem os ambientes costeiros, sendo considerados de alto dinamismo, com um ponto de convergência de processos terrestres, oceânicos e atmosféricos, tendo um potencial de alteração em suas características (ANGULO, 2004).

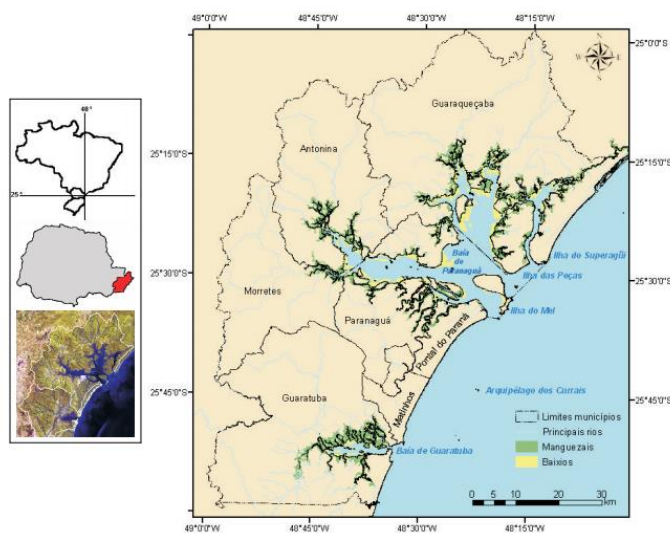
Os problemas ambientais se tornam acentuados em regiões costeiras, por serem regiões que possuem alta atração para ocupação humana e, em contraponto, a sua faixa de terra litorânea corresponde a menos de 2 % do território terrestre, o que faz com que a população existente nessa faixa acabe utilizando para diversas atividades e finalidades, acarretando riscos ambientais na zona costeira. Atualmente

cerca de 60% da população mundial vive a menos de 100 km do mar, o que acarreta crescentes pressões aos ecossistemas costeiros (RODRIGUES et. al, 2003).

O ambiente marinho e costeiro está muito exposto a diversos tipos de compostos orgânicos e inorgânicos provenientes de origem antrópica, uma vez que o ambiente sofre uma introdução no ambiente oriundos de efluentes industriais e urbanos sem tratamento adequado, por rios, canais, emissários ou ligações irregulares. (TANIGUCHI, 2011)

Essas regiões se caracterizam, em sua maioria, por serem ecótonos, que por definição, são regiões que respeitam duas características: transição entre duas comunidades e/ou tensão entre ambas, podendo ou não as atingir (NEIFF, 2003). Neste caso, temos regiões costeiras que possuem mangues e, em algumas localizações, regiões portuárias. No estado do Paraná, tem-se o complexo estuarino de Paranaguá (CEP), com a composição das Baías de Antonina, Paranaguá, Laranjeiras, Pinheiros e de Guaqueçaba (BIGARELLA, 2001). Acrescido a essa região, pode-se encontrar também a Baía de Guaratuba (Figura 2).

Figura 2: Mapa temático do CEP e da Baía de Guaratuba



Fonte: Noernberg et. al, 2008

A Baía de Guaratuba tem localização na porção sul da planície costeira do estado, com uma área total de 50,19 km² em relação a sua foz, sendo que sua

desembocadura (aproximadamente 500 m) se dá para o Oceano Atlântico. Ela é limitada por pontais rochosos, da Serra da Prata ao norte e do morro de Guaratuba ao sul. Em relação ao recebimento de águas, é composto da bacia hidrográficas dos rios São João e Cubatão, o que contribui com o maior aporte de água doce do sistema. A margem norte apresenta dois rios principais e canais de maré que desaguam no sistema, contendo bancos de gramíneas e bosques de manguezais. Já na margem sul, encontram-se afluentes de menor porte e é onde situa-se a cidade de Guaratuba (ZEM et al., 2005).

Vale se ressaltar que a baía de Guaratuba está entre o Parque Nacional Saint-Hilaire/Lange e o Parque estadual Emboguaçu e pertence a uma área de proteção ambiental (APA), da qual possui todo o município de Guaratuba, e parte dos municípios de Matinhos, Tijucas de Sul, São José dos Pinhás e Morretes (Figura 3). Essa região apresenta um potencial particular para turismo e as maiores pressões ambientais se dá pela expansão urbana de Guaratuba e Matinhos, da pesca predatória, do extrativismo vegetal não legalizado, dos reflorestamentos com pinus, pastagens e a bubalinocultura sem manejo específico (SECRETÁRIA DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS, [2019]).

Figura 3: Área de Preservação Permanente de Guaratuba.



Fonte: Secretária de meio ambiente e recursos hídricos, 2019.

A região de Guaratuba e das praias ao seu redor sofre a influência de uma população flutuante em alta e baixa temporadas (SCHEUER et al., 2011). Essa influência antrópica no ambiente pode ser sensível, sendo possível encontrar degradação dos ambientes naturais por meio de uma poluição orgânica, deposição de sedimentos e deterioração e interferência dos habitats naturais (FILHO et al., 2003). Como presente em outros litorais, algumas cidades costeiras realizam a descarga de efluente, tratado ou não, nos rios que desaguam no mar (ABESSA et al., 2012).

Em um levantamento realizado recentemente, foi possível observar que a região litorânea do Paraná possui três prestadores de serviço de água e esgoto: em Paranaguá o serviço é realizado pela Paranaguá Saneamento; em Antonina é realizado pela SAMAE (Serviço Autônomo Municipal de Água e Esgoto de Antonina); e os outros municípios o serviço é realizado pela SANEPAR (Companhia de Saneamento do Paraná). (Plano de Bacia Litorâneo – PRODUTO 01, 2017). De acordo com o a Agência Nacional de águas e Saneamento Básico, os dados de 2013 indicam que o município de Guaratuba tem todo o seu município coberto por uma rede

de tratamento de esgoto, sendo que 31,2% de soluções de tratamento individual, e 68,8% são coletados e tratados. Em relação aos tratamentos individuais são as fossas domésticas, em sua grande maioria são fossas negras, das quais não possuem tratamento. Em relação ao esgoto tratado, as estações da concessionária local utilizam ao tratamento UASB.

O Complexo Estuarino de Paranaguá e Baía de Guaratuba vem sendo objeto de estudos em relação a ocorrência e impacto de contaminantes orgânicos e inorgânicos provenientes da ocupação urbana, pesca, turismo, indústrias, introdução de esgotos e ao principal porto de exportação de grãos do Brasil, o Porto de Paranaguá. Em um levantamento bibliográfico realizado para verificação de estudos ambientais no complexo estuarino de Paranaguá, foi possível encontrar trabalhos relacionados à poluição por óleo, por exemplo:

“Determinação da sensibilidade do litoral paranaense à contaminação por óleo” (NOERNBERG et. al, 2008), do qual tinha como principal intuito demonstrar a fragilidade do ambiente litorâneo do Paraná, pela característica de seu nível de sensibilidade ambiental pela característica de manguezal que possui, com intensas atividades portuárias, da qual possui um histórico de acidentes. O litoral também é um remanescente da Mata Atlântica, sendo necessário ações integradas afim de reduzir os riscos de contaminação por óleo, incluindo o monitoramento intenso e plano de contingência em casos de acidentes com alta eficácia.

Outro trabalho na área: “Mudanças nos espectros de manguezais induzidas por derramamentos de óleo monitorados por diferenciação de imagens de índices normalizados: Ferramentas para auxiliar na delimitação de áreas impactadas” (PAVANELLI, 2018). O seu principal intuito foi levantar os principais impactos causados pelo derramamento de óleo na região, de maneira a realizar a delimitação da área impactada com base nos efeitos adversos imediatos do óleo em negligencia do tempo de resposta, sendo que os impactos negativos podem se manifestar muito após do evento que acarretou ao derramamento.

Em relação ao contaminantes orgânicos, foram elencados alguns estudos: “Marcador multimolecular e metais traços em matéria orgânica de insumos e *status*

de contaminação de uma Área de Proteção Ambiental no Atlântico Sul (Baía das Laranjeiras, Brasil)” (MARTINS, 2012). O trabalho avaliou as fontes e concentrações dos hidrocarbonetos alifáticos (AHs) e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), esteróis fecais e biogênicos em metais traço em dez pontos de amostragem. A avaliação tinha como principal intuito demonstrar a contaminação por combustíveis fósseis na região, como também o indicativo de contaminação por esgoto, pois poderia alterar o resultado, entretanto, não foi um significativo contribuinte para a matéria orgânica encontrada na região.

O trabalho intitulado “Hidrocarbonetos e esteróis sedimentares em um ambiente de transição de plataforma continental estuarina rasa do Atlântico Sul sob influência de terminal de petróleo e porto de grãos” (BET, 2015) avaliou a existência de esteróis e hidrocarbonetos nos sedimentos superficiais do ambiente de transição entre a baía de Paranaguá e a Plataforma continental rasa do Atlântico Sul para avaliação das nascentes de matéria orgânica e o estado de contaminação da área que está exposta a múltiplas entradas.

O estudo “Ocorrência de contaminantes orgânicos halogenados em sedimentos estuarinos de uma reserva da biosfera no Atlântico Sul” (SOUZA, 2018) avaliou a ocorrência e distribuição das bifenilas policloradas (PCBs) e pesticidas organoclorados (OCPs) nos sedimentos superficiais do Sistema Estuarino de Paranaguá, do qual podem indicar a contaminação por pesticidas que tem caráter de permanência no meio ambiente.

Mizukawa (2015) avaliou a distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e alifáticos em sedimentos estuarinos. Os compostos avaliados nesse trabalho, que tendem a se acumular no sedimento, são compostos incluídos pela USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) como contaminantes de controle prioritário devido ao seu potencial tóxico e carcinogênico. Quando os compostos avaliados possuem alta concentração são indicativos de poluição antrópica. Foram avaliados a composição e a distribuição de n-alcenos e HPAs nos estuários de Paranaguá e Guaraqueçaba, sendo que os presentes hidrocarbonetos foram extraídos por ultrassom, separados por coluna cromatográfica e analisada por

cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização. Tendo uma variação de 1,60 a 9,12 μgg^{-1} dos n-alcenos, e os HPAs totais de 0,07 a 1,07 μgg^{-1} .

Embora a região tenha apresentado alguns estudos sobre contaminantes ambientais, foi observada pouca atenção aos contaminantes emergentes com potencial de desregulação endócrina, tal como a quantificação dos hormônios estudados neste trabalho em matrizes ambientais da Baía de Guaratuba.

4.4 Métodos analíticos para quantificação

Quando se trata de contaminantes emergentes, uma das etapas mais críticas é a extração, isolamento e concentração dos analitos. E uma das técnicas mais amplamente utilizada para análise de água e de esgoto é a extração em fase sólida (SPE) (GIROTTI, et al., 2007).

Para a extração em fase sólida, é necessário realizar ao preparo das amostras, das quais precisam passar pelo processo de coleta de maneira segura, devendo ser realizada em frascos dos quais façam a amostra sofrer menos interferência possível, mantendo sempre em um ambiente mais próximo do ponto de coleta. É necessário inibição de matérias orgânicas que possam interferir nesse processo, como por exemplo o uso de ácido acético glacial de maneira a inibir atividades possíveis de degradação dos compostos pesquisados. A amostra ainda necessita passar por um ponto de filtração para avaliação de material particulado, como retirar possíveis interferentes.

A extração em fase sólida é uma técnica utilizada para extração, limpeza e pré-concentração dos analitos em matrizes complexas, tais como esgoto e águas superficiais e subterrâneas (ANIZAN, 2010). A composição básica de um cartucho SPE está na fase sólida, sendo o adsorvente, geralmente estando dentro de uma seringa. O mecanismo de separação é semelhante ao que ocorre na cromatografia líquida, sendo os compostos eluídos em grupos de acordo com as interações físicas e químicas envolvidas. Esse procedimento, geralmente é dado pelas seguintes etapas:

- Ativação do adsorvente: ativa os sítios ativos responsáveis pela retenção dos analitos de interesse.
- Condicionamento do adsorvente: feito com um solvente adequado para equilibrar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra.
- Percolação da amostra: retém os analitos de interesse (etapa de pré-concentração)
- Lavagem: eluição de possíveis interferentes.
- Secagem: eliminar a água para posterior eluição.
- Eluição: eluição dos analitos com o solvente de melhor afinidade.

A análise do material particulado em suspensão (MPS) envolve basicamente uma extração sólido-líquido (BEZERRA, 2014). A extração sólido-líquido com um auxílio de solvente acontece quando os compostos solúveis do material sólido são extraídos por um solvente líquido que tem seletividade a ele. Nesse processo o solvente penetra nos capilares do composto estudado e dissolve o mesmo, produzindo uma solução de maior concentração (SAWADA, 2012).

Existe algumas técnicas básicas que auxiliam na capacidade de transferência de massa e o rendimento das extrações sólido-líquido. Por exemplo, o corte da amostra para que seja aumentada a área de contato entre o solvente e a matriz. Ainda, para extração dos compostos pretendidos, é necessário levar em conta a seletividade do solvente. Deve-se avaliar a umidade do material sólido, pois a água pode acabar competindo com o solvente para a dissolução do soluto, afetando assim o processo de transferência de massa (FERREIRA, 2013).

Após a etapa de extração, faz-se a quantificação dos analitos via cromatografia, podendo ela ser líquida ou gasosa. O processo de cromatografia consiste em um método de separação de componentes presentes numa amostra devido as interações desta com as fases, sendo a estacionária a coluna e a móvel os solventes utilizados. Ambos são opostos e escolhidos de forma a acentuar a separação dos compostos. Um fator de extrema importância é o tempo de retenção dos compostos avaliados, o presente tempo varia com a maior ou menor interação dos analitos em relação as fases, pois percorrem caminhos diferentes devido às suas interações. A detecção

ocorre no detector, que é a parte final do equipamento de cromatografia, após a amostra ter percorrido o processo de separação na coluna (RODRIGUES, 2015).

As análises realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa são bastante utilizadas quando se trata de separações ambientais (SILVA; COLLINS, 2011). Para utilização da cromatografia líquida, é necessário definir um método e padronização prévia do equipamento e sistema utilizado, pois os mesmos podem sofrer variação em relação a equipamentos distintos, sendo necessário a construção de padrões específicos para o ambiente e análise das amostras coletadas. Neste trabalho, foi escolhida a cromatografia líquida pela sua melhor aplicabilidade em relação aos estrógenos, uma vez que tais compostos são sensíveis ao aquecimento na cromatografia gasosa, podendo sofrer degradação e a formação de metabólitos de estruturas não conhecidas.

4.5 Estado da arte

Os estudos envolvendo os contaminantes emergentes são bastante variados, incluindo o desenvolvimento de métodos analíticos para sua determinação, como também a remoção e melhor tratamento dos sistemas existentes tanto de água quanto de esgoto.

Foi possível encontrar na literatura alguns estudos de degradação dos estrógenos em água, tais como: “Remoção de estrona, estradiol, etinilestradiol e bisfenol-A por meio de nanofiltração aplicada ao tratamento avançado de águas para consumo humano” (SCHLEICHER, 2013). Este estudo teve intuito de avaliar a rejeição de perturbadores endócrinos (estrona, estradiol, etinilestradiol e bisfenol-A) por membranas distintas de nanofiltração, com valores distintos de pH e duas matrizes diferentes de água também, tem como principal intuito indicar qual era a melhor membrana e qual a melhor faixa de pH para trabalho. A adoção de um valor de pH mais alto proporcionou uma boa rejeição dos contaminantes, sendo que em faixas de pH mais inferiores, as membranas avaliadas houve um valor de rejeição estaticamente semelhante. Indicando assim uma das membranas avaliadas (NF-270) como a mais indicada para a rejeição dos perturbadores endócrinos em relação ao fluxo nele permeado.

O trabalho intitulado “Remoção de etinilestradiol no tratamento de água para consumo humano: estudo em escala piloto” (SANTOS, 2011) realizou um estudo de maneira piloto para avaliação da redução do microcontaminante etinilestradiol utilizando cinco técnicas de tratamento de água: tratamento convencional ou tratamento em ciclo completo; tratamento convencional seguido de ultrafiltração; tratamento convencional seguido de filtração em carvão ativado granular; tratamento convencional precedido de oxidação com cloro e; tratamento convencional utilizando carvão ativado em pó. O principal intuito foi avaliar qual seria a melhor técnica para emprego em estações de tratamento. Todo o experimento foi realizado com controle referente a sua turbidez e alcalinidade, sendo que em ambos os cenários o carbonato de cálcio e a dose de coagulante (sulfato de alumínio) foi de de 22,5 mg · L⁻¹. Onde os resultados apresentaram que o tratamento convencional não foi eficaz na redução do etinilestradiol. Entretanto no que diz a respeito da filtração em carvão ativado granular e para o tratamento convencional precedido da pré-oxidação em relação as outras técnicas avaliadas foram a que demonstraram diferenças significativas.

O trabalho “Estudo da degradação eletroquímica, fotolítica, fotocatalítica e eletrofotocatalítica do hormônio etinilestradiol” (EDUARDO, 2009) teve como objetivo principal avaliar a degradação do hormônio etinilestradiol que é um agente terapêutico e um método contraceptivo muito usado, causando preocupações em todo o mundo pelo seu crescente uso. Para avaliação da degradação do presente composto, foram avaliadas quatro técnicas de degradação: eletrólise, fotólise, fotocátalise e eletrofotocátalise. Das quatro técnicas de degradação avaliadas a fotólise se mostrou mais eficaz que a eletrólise para a degradação do hormônio. Já a fotocátalise e fotoeletrocátalise apresentaram uma eficiência de degradação semelhante e melhor que a fotólise.

O estudo “Utilização de microrganismos na degradação de hormônios estrógenos” (SPOHR et al., 2014) propôs a avaliação de uma alternativa para a degradação desses compostos através de biorremediação, sendo avaliadas duas bactérias (*Pseudomonas fluorescens* e *Bacillus thuringiensis*) e, também, a ação do ferro, por ser encontrada de maneira ampla no meio ambiente. Os resultados foram promissores, demonstrando em todos os cenários uma diminuição da concentração inicial em todas as combinações.

O trabalho “Estudo da potencialidade da fotocatalise heterogênea e dos processos fenton para degradação de micropoluentes em águas residuárias (esgoto tratado)” (MARINHO, 2013) consistiu avaliar a potencialidade de processos oxidativos avançados em águas residuárias contendo fármacos (sulfametoxazol e trimetoprima) e estrogênios (estrone, estradiol e etinilestradiol). Constatou que os processos Fenton apresentam promissora potencialidade na remediação de resíduos contendo micropoluentes, inclusive quando operando em escala maior e de modo contínuo.

O estudo “Degradação de hormônios em águas de abastecimento público por fotocatalise heterogênea solar” (PADOVAN, 2015) realizou a degradação da mistura dos quatro estrógenos em água de abastecimento público pela fotocatalise heterogênea solar, utilizando um fotocatalisador de dióxido de titânio suportado em um reator de placa plana operado com reciclo. Obteve-se uma eficiência de degradação superior a 90% em menos de quatro horas para todos os hormônios. Também se constatou que a atividade estrogênica foi mantida, tendo uma redução significativa apenas após 9 horas de degradação.

Conforme apresentado, existe uma grande gama de estudos voltados para a remoção dos compostos em águas brutas e efluentes e isso se dá pela característica dos mesmos virem a aparecer de maneira constante em várias matrizes e até pontos de água tratada, do qual pode acarretar vários problemas ambientais. Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos para a quantificação e qual o melhor método analítico, entretanto, grande parte dos estudos estão voltados para a quantificação em águas naturais e potáveis (BILA & DEZZOTI, 2003; FONSECA, 2013; TORRES, 2009; OTOMO, 2010; MACHADO, 2010).

Em relação as águas salinas, no estudo realizado por Saravanabhavan et. al (2009), foram analisados água do mar em dois portos do Canadá (Oceano Atlântico), observando concentrações médias de 1,5 e 1,8 ng L⁻¹ da estrone e 17β-estradiol, respectivamente. Ao realizar análise de sedimento marinho do mar da Tasmânia (Oceano Pacífico), Braga et al (2005) encontrou estrone na faixa de 0,16 a 1,17 ng g⁻¹, 17β-estradiol entre 0,22 e 2,48 ng g⁻¹ e 17α-etinilestradiol entre 0,05 e 0,5 ng g⁻¹ (GONÇALVES, 2017).

Os trabalhos realizados em ambientes de águas salinas acabam por sofrer adaptações em seus métodos, pois as matrizes podem reagir diferente em relação a água doce, tendo assim a necessidade de ser adequados para a realidade de cada local. Outros fatores importantes em relação a ambientes salinos, é necessário observar as variações e interferências que o ambiente pode sofrer, seja elas de acordo com as marés, com o deságue de rios, interferências climáticas como chuvas intensas, ou até mesmo períodos de estiagem. Esses fatores podem interferir no resultado das análises, como devem ser levados em consideração para uma melhor visão diante da escolha de pontos amostrais como também para uma melhor interpretação dos resultados encontrados.

Em relação aos presentes compostos pelos mesmos terem um potencial de desregulação endócrina, os estudos são voltados para várias áreas em relação ao meio ambiente, sendo as principais matrizes ambientais água superficial, sedimento e material particulado em suspensão (FAHNING, 2016). Entretanto, no ambiente costeiro brasileiro poucos são os estudos envolvendo os estrógenos. Na Tabela 5, a seguir, estão apresentados os estudos realizados para matrizes aquáticas ou sedimentares. Através dela, é possível notar que a principal técnica instrumental se dá pelo uso da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a técnica de extração se dá pela extração em fase sólida.

Em relação aos estudos apresentados na tabela 5 é possível notar que na matriz ambiental de sedimento os níveis encontrados são mais altos, e isso se dá pela característica dos estrógenos de ter uma característica lipofílica. Em contrapartida é possível reparar que em água superficial os valores são menores, como em alguns casos até inexistentes. Em relação a comparação de água superficial ao olhar a baía de Santos, baía da Bahia e Grécia, pode observar um padrão em relação a Bahia e Grécia, já em relação a Santos que sofre uma maior interferência antrópica como é um polo portuário foi possível detectar a presença mesmo que baixa de alguns dos compostos.

Tabela 5: Estudos dos estrógenos em ambiente marinho.

Referência	Matriz	Localidade	Estrógenos	Concentração	Tratamento da amostra	Técnica instrumental
Lisboa Filho (2012)	Água do mar	Baía de todos os santos – Bahia (Brasil)	E1 E2 E3 EE2	ND	SPE	HPLC-UV
Brag et al. (2005)	Sedimento	Mar da Tasmânia (Austrália)	E1 E2 EE2	0,16-1,17 ng g ⁻¹ 0,22-2,48 ng g ⁻¹ 0,05-0,5 ng g ⁻¹	LPE	GC-MS
Kuster et al. (2009)	Água	Baía da Guanabara e rios (Brasil)	Estrógenos e estrógenos conjugados*	Somatória dos estrógenos = 7,3 ng L ⁻¹	SPE	LC-MS/MS
Zhang et al. (2009)	Sedimento	Baía de Xiamen (China)	E1 E2 EE2	4,58 ng L ⁻¹ 1,20 ng L ⁻¹ 0,15 ng L ⁻¹	Água – SPE Sedimento - ASE	GC-MS
Bertin et al. (2011)	Sedimento	Pacífico Sul (Chile)	E1 E2 E3 EE2	0,06-4,61 ng g ⁻¹ 0,06-16,84 ng g ⁻¹ 0,01-53,71 ng g ⁻¹ 4,18-48,14 ng g ⁻¹	Ultrassom	GC-MS
Arditsoglou e Voutsas (2012)	Água, material particulado e sedimento	Golfo de Termaikos, Mar Egeu (Grécia)	E1 E2 E3 EE2	<LD	Água – SPE Material particulado e sedimento – ultrassom	GC-MS
Froehner et al. (2012)	Sedimento de mangue	(Bahia, Paraná, Santa Catarina – Brasil)	E1 E2 EE2	0,02-49,27 ng g ⁻¹ 0,03-39,77 ng g ⁻¹ 0,45-129,9 ng g ⁻¹	Ultrassom e SPE	HPLC-UV
Miani (2017)	Água superficial	Região estuarina Santos/São Vicente	E2 E3 EE2	<LD-18 ng L ⁻¹ <LD-98 ng L ⁻¹ <LD	SPE	HPLC-UV

*Estríol-3-sulfato, estríol-16-glicuronídeo, estradiol-17-glicuronídeo, estrona-3-glicuronídeo, estradiol-3-sulfato, estríol, estrona-3-sulfato, estradiol, etinilestradiol, estrona, dietinilestradiol; E1: estrona; E2: 17β-estradiol, EE2: 17α-etinilestradiol; E3: estríol, ASE: Accelerated Solvent Extraction (Extração Acelerada com Solventes); SPE: Solid Phase Extraction (Extração em Fase Sólida); LD: Limite de Detecção; GC-MS: Gas Chromatography–Mass Spectrometry (Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massas); LC-MS/MS: Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry (Cromatografia Líquida tandem Espectrometria de Massas). HPLC-UV: High-Performance Liquid Chromatography coupled ultraviolet detector (Cromatografia Líquida de alta Eficiência acoplada ao Detector Ultravioleta). ND: Não detectado. **FONTE:** A autora, 2021.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Para as análises laboratoriais, foram aplicadas metodologias publicadas da literatura, sendo que passaram por adaptações e otimizações.

Em relação a validação das metodologias, foram utilizadas normas e guias reconhecidos nacional e internacionalmente, entre eles: ICH (*International Conference on Harmonization*), ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) e Eurachem (Guia de laboratório para validação de método e tópicos relacionados) (RIBANI et al. 2004).

5.1 Amostragem

Para a amostragem foram definidos pontos que fossem representativos em relação a área de estudo, onde as amostras foram coletadas em duplicata para melhor avaliação e repetibilidade do método. O processo foi realizado em garrafas âmbar de dois litros, tendo então quantia representativa e de segurança em caso de acidente. A garrafa de âmbar foi escolhida para evitar degradação dos compostos no transporte ou interferência devido a incidência de luz. As amostras foram armazenadas em caixas térmicas, a fim de manter temperatura ambiente.

5.2 Equipamentos, materiais e reagentes

- Cromatógrafo à líquido com detector de fluorescência (LC-FLD) (Agilent 1200 – G1321C – 1260 FLD – Serial N. DEABV00272)
- Coluna cromatográfica: Zorbax – C-18.
- *Manifold* para extração em fase sólida acoplado à bomba de vácuo.
- Balança analítica;
- pHmetro;
- Sistema de obtenção de água ultrapura;
- Micropipetadores: 20 a 100 µl, 100 a 1000 µl: ambas da marca TediaPet;
- Vortex;
- Microfiltros: CHROMAFIL Xtra PTFE-20/13
- Estufa de secagem e esterilização: DELTA 04 – MAX BIOMEDICAL;
- Centrífuga;

- Cartuchos de extração em fase sólida (200 mg, 6 mL), contendo como fase estacionária poliestireno divinilbenzeno (PS-DVB), modelo Strata X e da marca Phenomenex;

Os padrões analíticos dos estrógenos estão representados na Tabela 6. Os solventes utilizados para as análises foram grau HPLC, sendo das seguintes marcas: Acetonitrila (ACN) – Honeywell, Ácido acético glacial - Panreac, Metanol (MeOH) – Honeywell. Na etapa de filtração das amostras, foram utilizadas membranas de fibra de vidro (47 mm, 0,7 µm). Para secagem das amostras e ressuspensão com acetonitrila, foi utilizado gás nitrogênio industrial.

Tabela 6: Padrões usados para avaliações.

Substância	Sigla	Fórmula	Fornecedor	Pureza
Estrona	E1	$C_{18}H_{22}O_2$	Sigma-Alderich	≥ 98%
17β-estradiol	E2	$C_{18}H_{24}O_2$	Sigma-Alderich	≥ 97,3%
Estriol	E3	$C_{18}H_{24}O_3$	Sigma-Alderich	99,9%
17α- etinilestradiol	EE2	$C_{20}H_{24}O_2$	Sigma-Alderich	99,3%

Fonte: A autora, 2021

5.3 Análise cromatográfica

Para separação e quantificação dos estrógenos, foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de fluorescência (HPLC-FLD). Foram testadas as condições cromatográficas baseadas em Bezerra (2014), cujas condições otimizadas no presente trabalho estão apresentadas a seguir (Tabela 7).

Tabela 7: Condições cromatográficas.

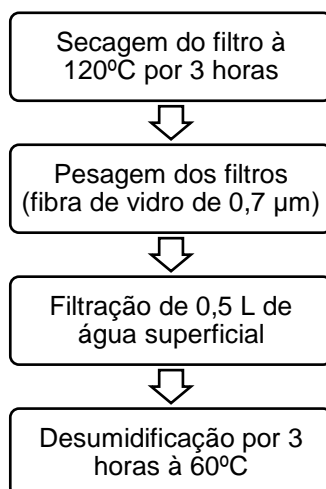
Fase estacionária	Coluna Agilent – Eclipse XDB-C₁₈ (4,6 mm x 150 mm, partícula 5 µm)
Fase móvel	Acetonitrila (53%) e Água ultrapura (47%), ambas acidificadas com 0,1 % de ácido acético glacial, V/V
Vazão (mL min⁻¹)	1,0
Detector	Fluorescência ($\lambda_{exc} = 230$ nm e $\lambda_{emi} = 306$ nm)
Volume de injeção (µL)	20
Temperatura da coluna (°C)	30
Modelo de eluição	Isocrático
Tempo de corrida	10 min

Fonte: Adaptado de Bezerra (2014).

5.4 Material particulado em suspensão

A determinação dos estrógenos, 17 β -estradiol (E2), estrona (E1), estriol (E3) e 17 α -etinilestradiol (EE2) em material particulado em suspensão foi baseada em uma extração sólido-líquido de acordo com Bezerra (2014). Para a obtenção e realização do método, foi realizado a secagem dos filtros em estufa, com intuito de eliminar qualquer umidade que pudesse interferir no peso dos mesmos, após a secagem os mesmos eram pesados para avaliação da variação das massas, o que proporciona a quantia de material particulado encontrado. Após essa etapa, foi realizado a filtração de 0,5 litros de água superficial, e secagem dos filtros para tirar a umidade sobressalente e permanecer apenas a massa de material particulado. A Figuras 4 apresenta um fluxograma trazendo alguns detalhes do procedimento. E na figura 6 é possível realizar a observação do processo de filtração utilizado.

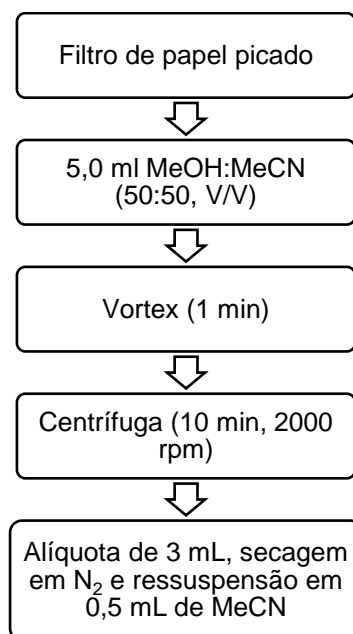
Figura 4: Preparação dos filtros para obtenção do material particulado em suspensão baseado em Bezerra (2014).



Fonte: A autora, 2019

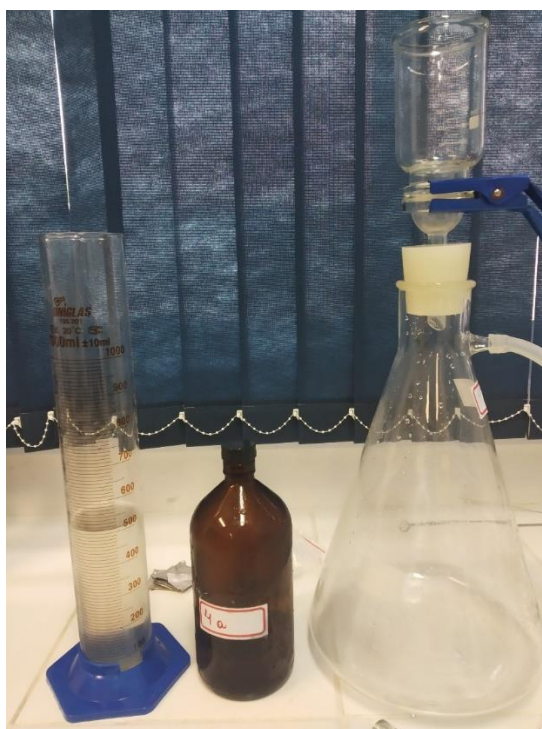
Após o processo de filtração e desumidificação com posterior pesagem dos filtros, é realizado o método de extração sólido-líquido. Esse procedimento consistiu em realizar a redução de área do filtro, realizando cortes homogêneos para proporcionar pequenos pedaços do mesmo, eluição em 5 mL de acetonitrila e metanol, agitação em um minuto no vórtex, e 10 minutos na centrífuga a 2000 rpm. Para posterior retirada de 3 ml com intuito de secagem em fluxo contínuo de nitrogênio, para posterior ressuspensão em acetonitrila e análise cromatográfica.

Figura 5: Método de extração sólido-líquido do material particulado em suspensão baseado em Bezerra (2014).



Fonte: A autora, 2019

Figura 6: Filtração da amostra.



Fonte: A autora, 2019

Para validação do processo de extração, foram executados três níveis de fortificação representados pela Tabela 8, esses níveis foram utilizados com o principal intuito de validar a metodologia de extração, para isso foram utilizadas amostras testemunhas com características similares aos pontos estudados. O tempo de fortificação foi de duas horas para interação e equilíbrio entre o analito e a amostra (BEZERRA, 2014).

Tabela 8: Níveis de fortificação para o material particulado em suspensão.

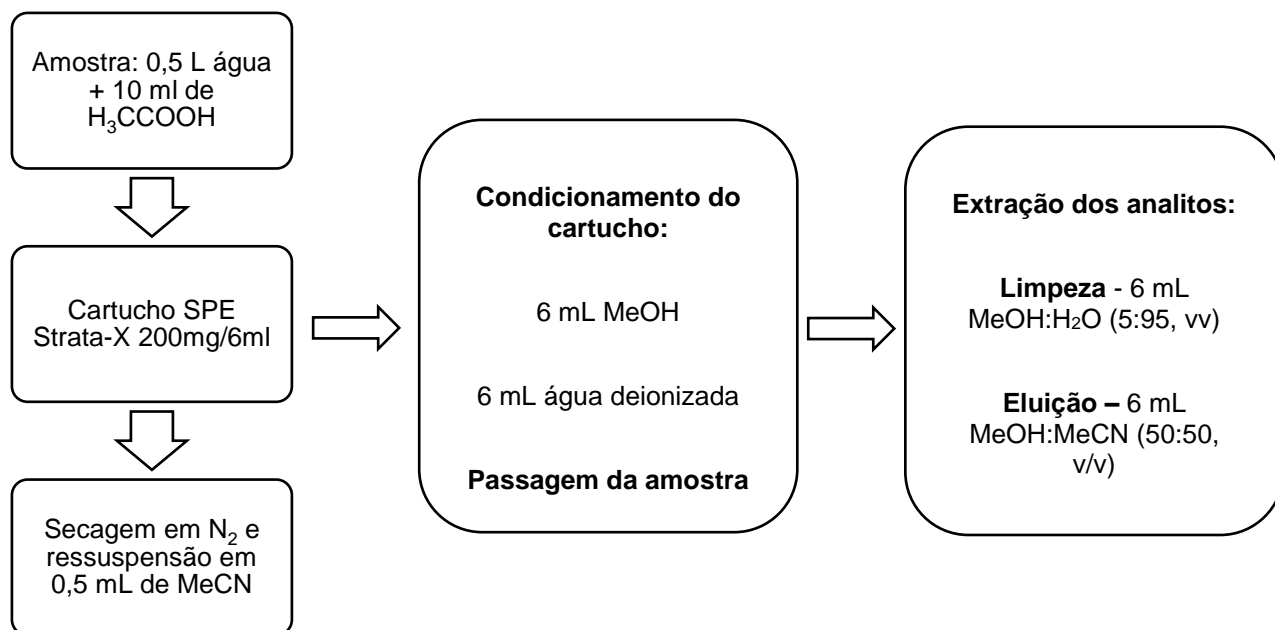
Nível de fortificação	E1 ($\mu\text{g g}^{-1}$)	E2, EE2, E3 (ng g^{-1})
1	50	250
2	133	667
3	333	1333

Fonte: A autora, 2019

5.5 Água superficial

Como a concentração dos compostos analisados estão em concentrações muito baixas no ambiente marinho, foi utilizado a extração em fase sólida, que consiste em uma pré-concentração. O método já havia sido utilizado por Bezerra (2014) e Gonçalves (2016) para este fim e obtiveram bons resultados de exatidão e precisão, itens de validação analítica. Para a realização da extração em água superficial, são utilizados 0,5 L de água filtrada, com acidificação de 10 mL de ácido acético glacial da qual tem principal intuito inibição de qualquer interferência por matéria orgânica. Essa quantidade de amostra é passada em fluxo lento no cartucho de fase estacionária. Para a utilização do cartucho, o mesmo passa pelo processo de condicionamento, onde em um primeiro momento é passado 6 mL de metanol afim de ativar os sítios ativos, depois 6 mL de água deionizada para limpeza de qualquer interferente, a passagem de amostra (0,5 L de água) em fluxo contínuo e lento, com posterior limpeza do cartucho para retirar interferentes ou compostos que não são do interesse, e por fim a eluição dos analitos, após isso é levado para secagem em fluxo de nitrogênio, e ressuspensão para análise cromatográfica. Na figura 6 demonstra o procedimento de forma esquemática realizado para extração dos estrógenos em água superficial. Já na figura 7, os equipamentos utilizados na extração.

Figura 7: Método extração água superficial baseado em Bezerra (2014) e Gonçalves (2016).



Fonte: A autora, 2021

Figura 8: Extração/pré concentração da água superficial.



Fonte: A autora, 2019

Para a validação método de extração da água superficial, foram utilizados os três níveis de fortificação, também realizados em matriz testemunha com características semelhantes aos pontos amostrais, como apresentado na Tabela 9.

Tabela 9: Níveis de fortificação para água superficial.

Nível de fortificação	E1 (ng mL ⁻¹)	E2, EE2, E3 (ng mL ⁻¹)
1	2	0,01
2	10	0,05
3	20	0,1

Fonte: A autora, 2019

5.5 Validação metodológica

5.5.1 Exatidão e precisão

A exatidão e precisão foi analisada através do teste da porcentagem de recuperação. O teste de recuperação tem a principal função de avaliar o quanto o analito é recuperado no processo de extração. Para isso foi realizado a coleta de uma amostra testemunha com características similares aos dos pontos de amostragem. A recuperação (Rec) e coeficiente de variação (CV) foram calculados da seguinte maneira:

$$Rec (\%) = \frac{\text{valor obtido}}{\text{valor adicionado}} \times 100$$

$$CV (\%) = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

Onde, CV indica o coeficiente de variação das medidas, S o desvio padrão e X a média entre os valores.

5.5.2 Linearidade na faixa de interesse

Para avaliação da linearidade foi utilizado a curva analítica, utilizando o método de padronização externa. Os níveis de concentrações partiram de métodos já publicados para a melhor aplicabilidade a realidade costeira. Após a construção dos pontos da curva analítica, foi utilizado o método dos mínimos quadrados para calcular a equação da reta, obtendo os coeficientes angulares, linear e de correlação. Os dados para a curva estão representados na Tabela 10.

Tabela 10: Níveis da curva analítica.

Ponto	Concentração E1 (ug/mL)	Concentração E2, E3, EE3 (ng/mL)
1	0,5	0,5
2	1	1
3	5	5
4	10	10
5	20	20
6	40	40
7	60	60
8	80	80
9	100	100

(Fonte: A autora, 2019)

5.5.3 Limite de quantificação e limite de detecção

O limite de quantificação do método foi definido como o menor valor de concentração da curva analítica com um bom grau de precisão (< 20% de CV) e recuperação aceitáveis. Já o limite de detecção foi definido como sendo 1/10 do limite de quantificação e verificado visualmente o sinal de casa estrógeno nessa concentração.

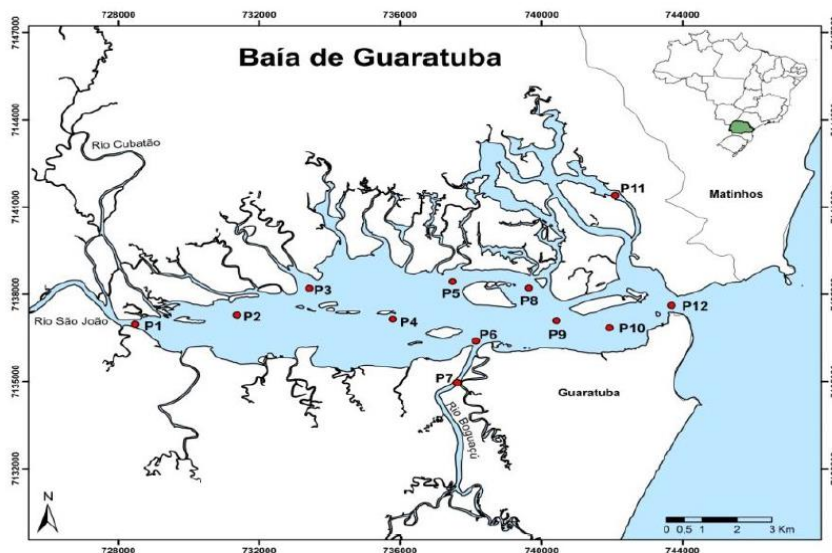
5.6 Área de estudo

Para a validação dos métodos de extração (MPS e água superficial), foi escolhido a Ponta Oeste da Ilha do Mel por apresentar características físicas e químicas próximas às encontradas na baía de Guaratuba e ser de mais fácil acesso ao laboratório do Centro de Estudos do Mar.

Após a validação do método, foram realizadas as campanhas amostrais na Baía de Guaratuba (Figura 7), sendo uma no verão (março/2019) e outra no inverno (agosto/2019). A presente baía sofre interferências de alguns rios oriundos da bacia litorânea, como interferências em relação a atividades antrópicas da região. Para as campanhas amostrais, foram levados em consideração de períodos de marés das quais nas campanhas amostrais foram semelhantes em relação as baixas e altas. Dentro da baía tem-se pontos que sofrem com a baixa, por exemplo os pontos encontrados no começo (1 e 2), em períodos do dia de baixa a sua profundidade é pouca sendo. Os rios acabam desaguando na baía que tem destino ao oceano

atlântico sul. Os pontos de coleta levado em consideração foram pontos já utilizados em antigos estudos de monitoramento ambiental, dos quais encontraram outros contaminantes, os mesmos estão apresentados na Tabela 11 e Figura 9.

Figura 9: Mapa mostrando os 12 pontos amostrais localizados na Baía de Guaratuba.



Fonte: Nagaoka, 2015

Tabela 11: Pontos para coleta e considerações.

Ponto	Localização	Interferências próximas
1	25°52'05.2"S 48°43'07.0"W	Rio São João e Rio Furado Grande
2	25°51'49.6"S 48°41'35.3"W	Rio dos Patos e Bifurcação Rio Furado Grande
3	25°51'25.2"S 48°40'15.2"W	Sítio Palmeirinha Detox – Pescadores
4	25°51'53.8"S 48°38'43.8"W	Meio da Baía – Pescadores
5	25°51'09.6"S 48°37'49.4"W	Rio das Ostras - Ponta do Pinguélo
6	25°52'23.3"S 48°37'28.6"W	Região próxima a marinas e próxima a costa
7	25°53'04.8"S 48°37'42.6"W	Rio das Pacas - Bifurcação rios próximo a cidade
8	25°51'16.0"S 48°36'29.3"W	Rio Parati
9	25°51'59.4"S 48°36'01.7"W	Meio da Baía – Pescadores
10	25°52'04.6"S 48°34'57.8"W	Meio da Baía - Pescadores - Próximo a costa
11	25°49'33.0"S 48°35'11.7"W	Rio Parati - Região com restaurante e local de produção de ostras
12	25°51'40.1"S 48°34'10.9"W	Meio da travessia Guaratuba – Caiobá

Fonte: A autora, 2021. *As coordenadas foram obtidas através do google maps.

Conforme observado na Tabela 11, foram realizados a descrição de cada ponto de coleta, que foram escolhidos devido a estudos pretéritos de outros pesquisadores do Centro de Estudos do Mar. O Rio São João, por exemplo, é oriundo do planalto de Curitiba, entretanto é uma região bem preservada. O sítio Palmeirinha Detox é uma área de lazer, acessada por turistas da, sendo liberado trilhas e atividades turísticas, tendo trechos de água que desaguam na baía.

As regiões citadas como meio da baía sofrem interferência de barcos de pescas. A travessia da baía acaba sendo afetada pela movimentação constante da água, alterando o seu perfil em relação a coluna d'água como o material particulado presente no local.

Os pontos 6 e 7 ficam próximos de marinas, das quais saem barcos, sendo regiões de transição da água doce para salgada. O ponto 7 está próximo a locais de moradia. O ponto 11 está situado próximo ao late Clube de Guaratuba e de uma região de criação de ostras, que possui restaurantes típicos da região e tem uma característica mais isolada da cidade.

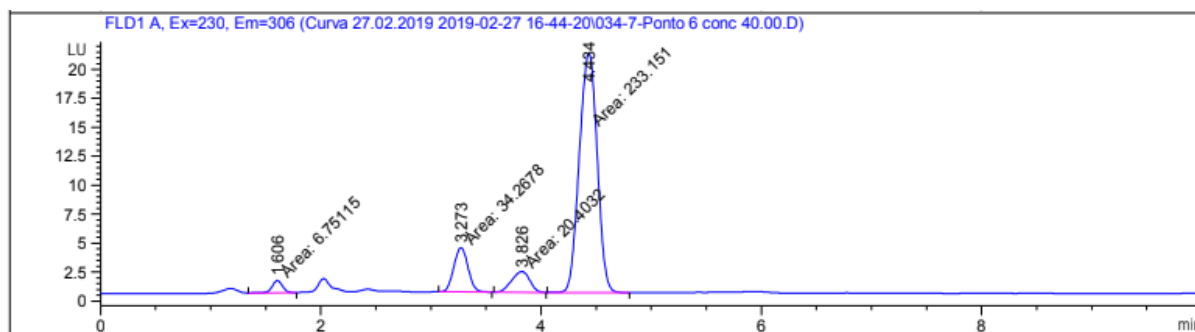
O ponto 8 (Rio Parati) é muito utilizado para o turismo, por ter em seu decorrer a formação de piscinas naturais, de ampla atração para banho em períodos mais quentes.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Análise cromatográfica

O cromatograma representado na figura 10 demonstra a separação da concentração dos estrógenos em sua concentração de nível 6 (tabela 10), em padrão de acetoneitrila, evidenciando boa resolução cromatográfica entre os picos.

Figura 10: Separação dos estrógenos em condições pré-estabelecida. Da esquerda para direita: estriol, etinestradiol, estradiol, estrona.

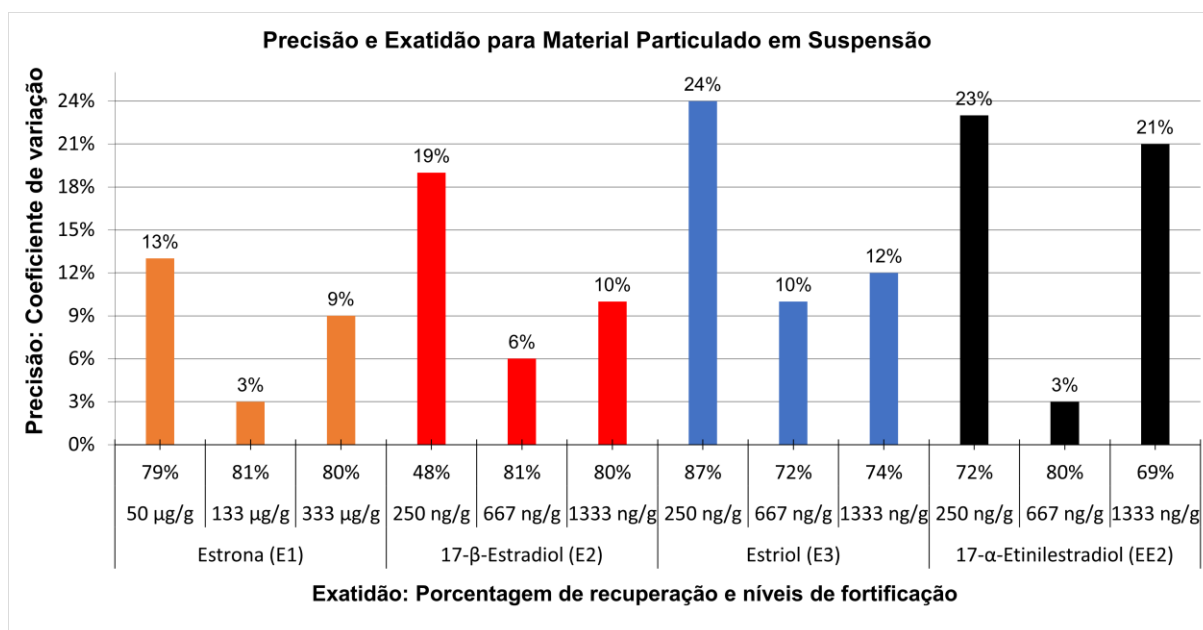


Fonte: A autora, 2019.

6.2 Validação metodológica

Para avaliação da exatidão e precisão do método de extração dos estrógenos de material particulado, as membranas de vidro contendo essa matriz foram fortificadas com soluções padrões dos estrógenos em três níveis de concentração (250, 667, 1333 ng g⁻¹ para E2, E3 e EE2 e 50, 133 e 333 µg g⁻¹ para E1). Esta etapa foi realizada em triplicata e mantida em repouso na ausência de luz por 2 h, seguida pelo procedimento de extração do MPS. A exatidão e precisão do método foram avaliadas considerando as porcentagens de recuperação e coeficiente de variação respectivamente e nos três níveis de fortificação já apresentados. Os resultados foram: recuperações entre 48 e 87 % para E2, E3 e EE2, com coeficiente de variação entre 3 e 24 %; para E1 a recuperação variou de 79 a 81 %, com um coeficiente de variação entre 3 e 13 % (Figura 11).

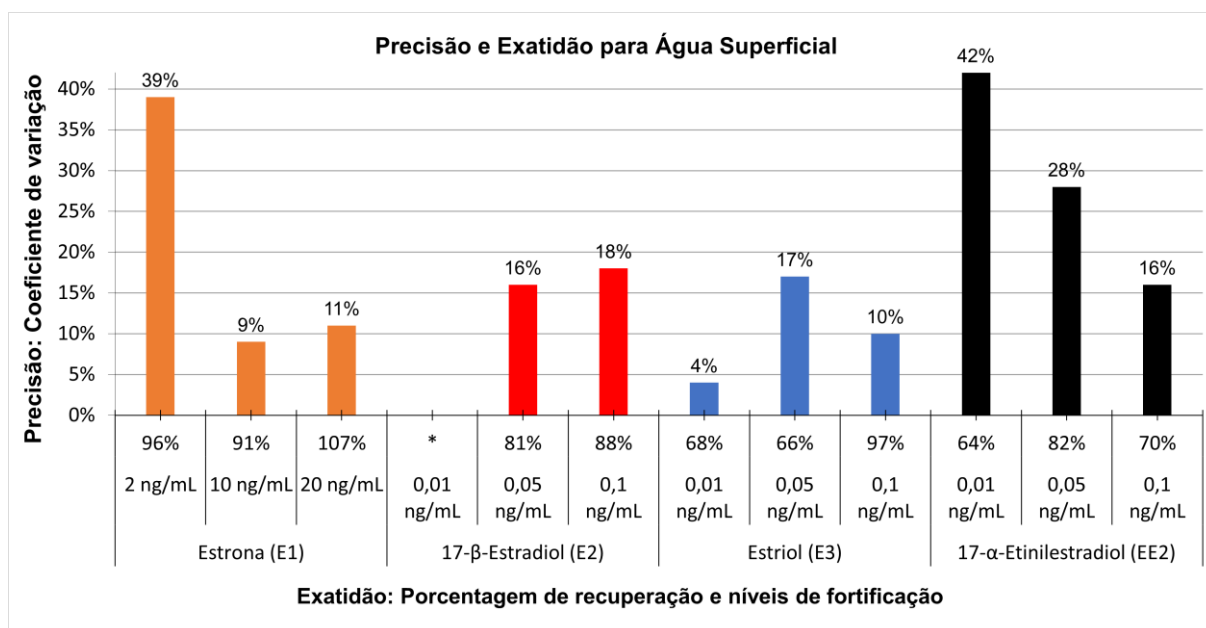
Figura 11: Coeficiente de variação e porcentagem de recuperação obtidos para material particulado em suspensão, representando precisão e exatidão do método respectivamente.



Fonte: A autora (2021)

Para avaliação da exatidão e precisão do método de extração dos estrógenos de água superficial, triplicata das amostras de água (0,5 L) foram fortificadas com soluções padrões dos estrógenos em três níveis de concentração, sendo 2, 10 e 20 ng mL⁻¹ para E1 e para E2, EE2 e E3 os níveis foram de 0,01, 0,05 e 0,1 ng mL⁻¹ e mantidas em repouso na ausência de luz por 2 h. Em seguida, procedeu-se ao procedimento de extração já apresentado. A porcentagem de recuperação para E1 variou de 91 a 107 % com precisão de 9 a 39 %, já para E2, EE2 e E3 as porcentagens de recuperação variaram de 64 a 97 % com precisão de 4 a 42 % (Figura 12). Sendo que o menor valor se dá pela característica de detectabilidade do estriol, onde o mesmo encontrou-se menor em seu nível mais baixo, e já aumentando para os outros níveis.

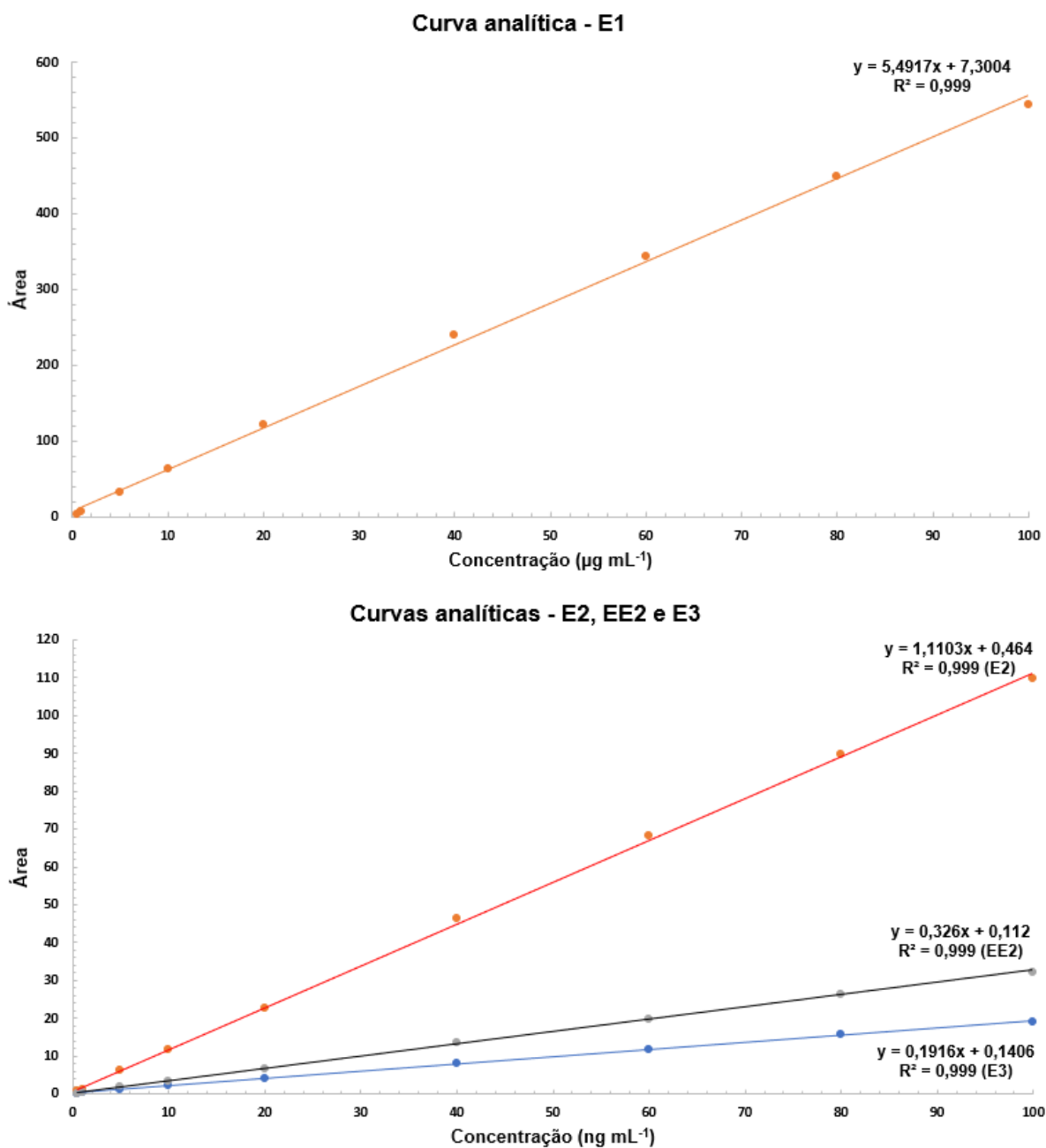
Figura 12: Coeficiente de variação e porcentagem de recuperação obtidos para água superficial, representando precisão e exatidão do método respectivamente.



Fonte: A autora (2021)

Foram avaliados os limites de quantificação, limites de detecção e a faixa de trabalho para os quatro estrógenos estudados (Figura 13). Os resultados indicaram bons coeficientes de correlação (>0,99) na faixa de 0,5 a 100 em ng mL^{-1} para E2, EE2 e E3 e em $\mu\text{g mL}^{-1}$ para E1 nesse mesmo intervalo numérico. Os limites de quantificação do instrumento foram de $0,5 \text{ ng mL}^{-1}$ (0,5 ppb) para E2, EE2 e E3 e para a estrona (E1) o limite de quantificação foi de $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (0,5 ppm), por apresentar fluorescência inferior aos demais compostos. Os limites de detecção foram de $0,05 \text{ ng mL}^{-1}$ (0,05 ppb) para E2, EE2 e E3 e para E1 foi de $0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$ (0,05 ppm).

Figura 13: Curvas analíticas (LC – FLD) com equação de reta e coeficiente de correlação: em azul o estriol (E3), em vermelho o 17- β -estradiol (E2), em preto o 17- α -etinilestradiol (EE2) e estrona (E1) em laranja.

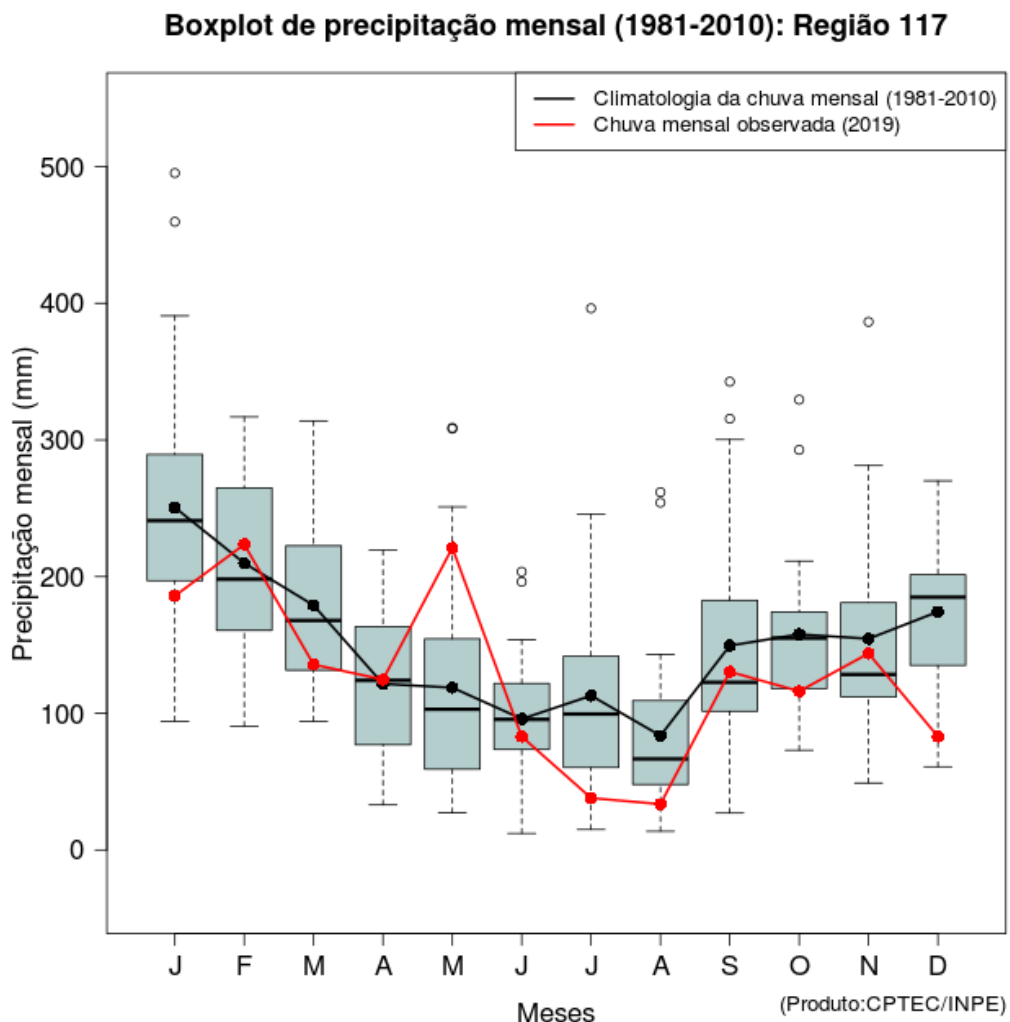


Fonte: A autora (2021)

6.3 Material particulado em suspensão das amostras

A Figura 14, a seguir, mostra a precipitação da região no período de 2019.

Figura 14: Precipitação média anual 2019.

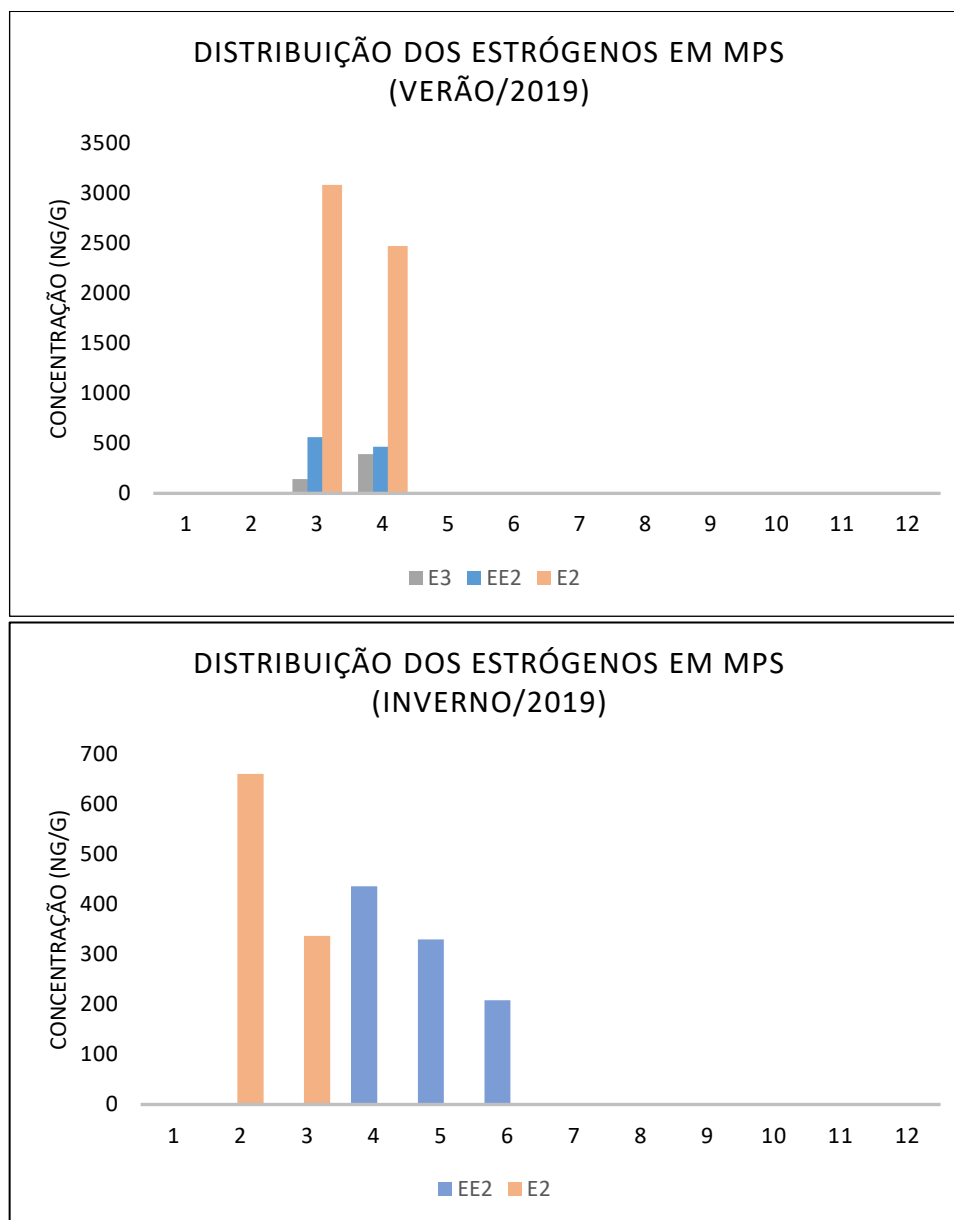


FONTE: INPE (2021)

Um ponto importante a ser relacionado com a questão da chuva é a massa de material particulado em suspensão encontrada na região. Foi observado que na coleta realizada em março a massa de MPS ficou menor do que a coleta realizada em julho, com exceção do ponto 9A. O que pode ser justificado pelo volume de chuva, que na coleta de inverno de 2019 apresentava um índice de precipitação menor, tendo então um menor nível de água, e maior concentração do material em suspensão. As massas encontradas em relação ao material particulado, estão expressas no anexo, que contém a tabela 12 e 13.

Na figura x podemos observar visualmente os valores encontrados que estão representados na Tabela 14 é possível observar os resultados encontrados com a metodologia aplicada nas amostras de material particulado.

Figura 15: Distribuição dos estrógenos em material particulado em suspensão, inverno/2019 e verão/2019.



FONTE: A autora, 2021.

Tabela 122: Concentrações dos estrógenos obtidas nas análises de material particulado em suspensão (ng g⁻¹) ± CV (Coeficiente de Variação).

Pontos	Verão (março/2019)				Inverno (agosto/2019)			
	E1 (ng g ⁻¹)	E2 (ng g ⁻¹)	E3 (ng g ⁻¹)	EE2 (ng g ⁻¹)	E1 (ng g ⁻¹)	E2 (ng g ⁻¹)	E3 (ng g ⁻¹)	EE2 (ng g ⁻¹)
1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	ND	ND	ND	ND	ND	660 ± 38%	ND	ND
3	ND	3080 ± 31%	141 ± 18%	560 ± 9%	ND	337 ± 18%	ND	ND
4	ND	2470 ± 1%	392 ± 36%	466 ± 22%	ND	ND	ND	436 ± 8%
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	330 ± 4%
6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	208 ± 12%
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*n=6 (duas amostras por ponto amostras, analisadas em triplicata); *ND = não detectado sob as condições de análise.
Fonte: A autora, 2021.

Observando aos resultados, percebe-se que os principais pontos quantificados são o 3 e 4 e com os estrógenos E3, E2 e EE2. Esses dados foram encontrados principalmente na coleta de verão e, embora não se possa fazer uma comparação estatística entre os períodos de coleta, um fator que pode ter influenciado nestes resultados é o aumento da população flutuante no verão.

Em relação ao EE2 deve ser lembrado que se trata de um composto sintético, amplamente difundido para reposições hormonais, como contraceptivo e com um número crescente de indução no mercado. Seu tempo de meia vida é superior aos outros estrógenos.

De maneira geral, a região aparenta concentração similar aos encontrados em estudos similares (ZHANG et al, 2009; ARDITSOGLU e VOUTSA, 2012; BRAGA et al, 2005; BERTIN et al, (2011). Para entender melhor o comportamento sazonal é necessário a realização de um acompanhamento em maiores escalas de tempo, maior número de coletas a fim de realizar uma comparação entre as estações, entre os pontos de coleta, entre os estrógenos. Deve-se, portanto, realizar um monitoramento ambiental destes compostos.

6.4 Água superficial

Foram encontrados os seguintes resultados para as amostras de água superficial (Tabela 15):

Tabela 3: Concentrações dos estrógenos obtidas nas análises de água superficial (ng mL⁻¹) ± CV (Coeficiente de Variação).

<i>Pontos</i>	<i>Verão (março/2019)</i>				<i>Inverno (agosto/2019)</i>			
	E1 (ng mL ⁻¹)	E2 (ng mL ⁻¹)	E3 (ng mL ⁻¹)	EE2 (ng mL ⁻¹)	E1 (ng mL ⁻¹)	E2 (ng mL ⁻¹)	E3 (ng mL ⁻¹)	EE2 (ng mL ⁻¹)
1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

*n=6 (duas amostras por ponto amostras, analisadas em triplicata); *ND = não detectado sob as condições de análise.

Fonte: A autora, 2021.

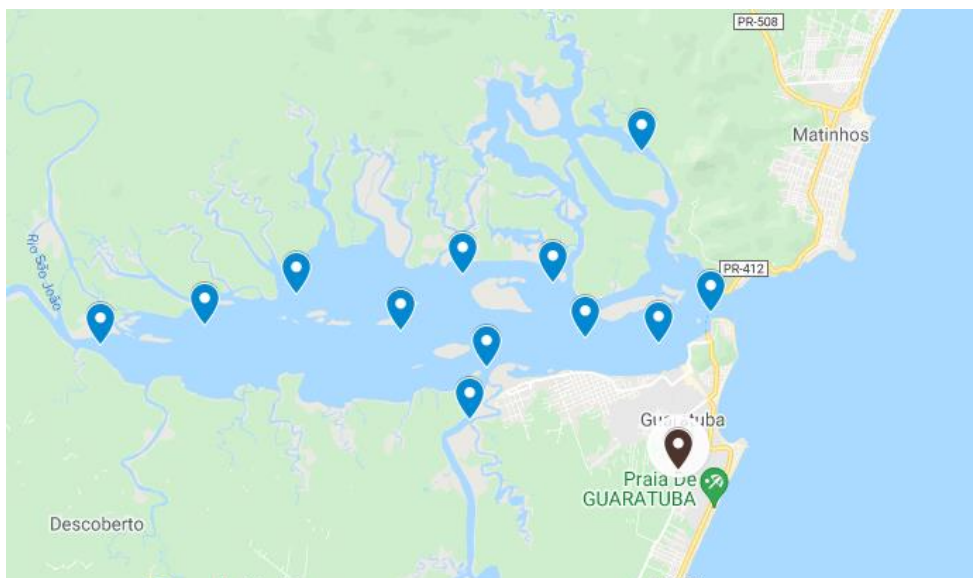
Conforme observado, em nenhum dos pontos foi possível encontrar os contaminantes, pelo menos na faixa de concentração estudada neste trabalho. Grande parte dos projetos e pesquisas realizadas na área são relacionados a água doce, como pontos próximos a despejos de ETE's, nas quais a incidência dos contaminantes estudados são mais frequentes.

Um dos fatores que pode ter contribuídos para esses resultados se dá pela capacidade de serem adsorvidos aos sólidos em suspensão, o que corrobora com os resultados encontrados em material particulado em suspensão deste trabalho. Além disso, os estrógenos também podem ser adsorvidos em sedimento conforme visto nos estudos realizado por: Brag et al (2005), Bertin et al (2011), Zhang et al (2009), Froehner et al (2012) e Bezerra (2014).

Outro fator que pode ter influenciado na não detecção e/ou quantificação dos estrógenos em água superficial é a capacidade de autodepuração. Além disso, a água superficial sofre a influência de vários afluentes e, também, do efeito das marés, podendo diluir os estrógenos de uma maneira que o método de análise utilizado neste trabalho não conseguiu detectar e/ou quantificar em água superficial.

Os resultados encontrados são um importante ponto de monitoramento ambiental, dos quais indicam que a região sofre uma baixa de contaminação e indica uma boa relação do homem com o meio ambiente. É interessante também ressaltar que a única estação de tratamento de esgoto da cidade de Guaratuba fica distante da região analisada (ponto marrom da Figura 15).

Figura 16: Região de Guaratuba, pontos e ETE (PONTO MARROM).



FONTE: A autora (2021).

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos analíticos validados atenderam às normas nacionais e internacionais quanto aos parâmetros de validação para a determinação dos estrógenos estudados, podendo ser utilizado para fins de monitoramento destes compostos nas matrizes estudadas da Baía de Guaratuba.

É importante ressaltar e enfatizar que um dos aspectos positivos obtido na etapa de validação do método para análise da água superficial é que os níveis de fortificação validados neste trabalho para essa matriz são mais baixos do que aqueles obtidos por Bezerra (2014), ou seja, representam melhor a realidade do local, uma vez que em ambiente marinho espera-se uma concentração menor dos estrógenos, devido a diluição causada pelo tipo de ecossistema. O que proporcionou a validação e otimização do método, alcançando um dos objetivos propostos no presente trabalho.

Embora até o momento não tenha sido observada frequência de detecções dos estrógenos em água superficial, os resultados indicaram que a Baía de Guaratuba pode estar sob a influência de esgoto, uma vez que nas regiões central e norte os compostos foram quantificados em material particulado em suspensão.

Os estrógenos também podem estar associados ao sedimento, mas as análises não foram efetuadas nessa matriz por inviabilidade financeira até a finalização deste

trabalho. Entretanto, existe um projeto do grupo de pesquisa do orientador deste TCC, visando esforços para que nas próximas campanhas de amostragem, essa matriz também seja coletada e analisada para entender melhor a distribuição dos estrógenos nas regiões norte e central da baía e, assim, fazer um diagnóstico um pouco mais representativo.

Cabe ressaltar que alguns estudos mostraram que os estrógenos estudados neste trabalho, mesmo em concentrações da ordem de ng g^{-1} em material particulado em suspensão, pode induzir efeitos estrogênicos em peixes, podendo influenciar negativamente a sustentabilidade do meio aquático.

Os dados coletados não possibilitaram a análise do efeito da sazonalidade, por ter sido realizado apenas duas coletas amostrais. Sugere-se, também, um estudo mais detalhado da região, com foco nos rios que desaguam na baía, além dos pontos próximos a estações de tratamento de água e esgotos e canais de drenagem, podendo realizar a análise mais próxima de fontes pontuais de entrada dos presentes contaminantes emergentes no meio aquático.

Estudos como os propostos e realizados nesse trabalho são de grande relevância para qualidade ambiental, como para elencar políticas públicas e atuar junto à gestão ambiental dos municípios. Como também estabelece e demonstra a importância de pesquisas na área abordada para que se exista uma base de dados mais robusta, representativa e atualizada devido a presente mudança que o meio ambiente vem sendo exposto. Agregado a esse contexto estudos como esses são de suma importância para a região litorânea do Paraná que nos últimos anos vem passando por pressões constantes e crescentes em relação as interações e atividades antrópicas exercidas em sua comunidade.

O presente trabalho possibilitou uma melhor interação dos conhecimentos adquiridos durante a graduação, levantando pontos muito importantes como a maneira que as amostragens ambientais são feitas e analisadas, pois o meio que as mesmas estão sendo coletadas pode intervir na resposta do método (efeito matriz), que não necessariamente o mesmo método terá a mesma resposta em equipamentos similares, a importância de uma avaliação com períodos distintos de tempo, como o

clima, maré, chuvas podem interferir nas respostas do meio avaliado. Como também tornou possível uma visão diferente, e agregou dados de monitoramento ambiental para a bacia litorânea do Paraná, mostrando que a mesma sofre de interferência antrópica até pela sua realidade de potencial turístico, mas ainda é bem preservada, não possuindo uma alta contaminação, tendo uma boa qualidade ambiental.

O fator da região não estar contaminada é um bom indicador, entretanto não garante que a mesma não passe por possível contaminação, onde propõe-se e recomenda que a região continue a ser observada, principalmente os pontos já detectados os compostos, com uma avaliação de sedimento, e também regiões mais próximas a atividades e interferências antrópicas.

REFERÊNCIAS

- ABESSA, D. M. et al. Efeitos ambientais da disposição oceânica de esgotos por meio de emissários submarinos: Uma revisão. **Mundo da Saude**, v. 36, n. 4, p. 643–661, 2012.
- ANGULO, R. J. Aspectos físicos das dinâmicas de ambientes costeiros, seus usos e conflitos. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 10, p. 175–185, 2014.
- AQUINO, S. F. DE; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. DE L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 18, n. 3, p. 187–204, 2015.
- ARDITSOGLU, A.; VOUTSA, D. Occurrence and partitioning of endocrine-disrupting compounds in the marine environment of Thermaikos Gulf, Northern Aegean Sea, Greece. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 2443-2452, 2012.
- BET, R.; BÍCEGO, M. C.; MARTINS, C. C. Sedimentary hydrocarbons and sterols in a South Atlantic estuarine/shallow continental shelf transitional environment under oil terminal and grain port influences. **Marine Pollution Bulletin**, v. 95, n. 1, p. 183–194, 2015.
- BERTIN, A.; INOSTROZA, P. A.; QUIÑONES, R. A. Estrogen pollution in a highly productive ecosystem off central-south Chile. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p. 1530-1537, 2011.
- BEZERRA, D. S. S. **Estrógenos na bacia hidrográfica Tietê-Jacaré : ocorrência e avaliação do impacto ambiental**. 2014, 201 f. Tese (Química), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Araraquara, 2014.
- BIGARELLA, J. BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY Contribuição ao Estudo da Planície Litorânea do Estado do Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Technology Jubilee**, p. 65–110, 1946.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523–530, 2003.
- BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: Efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651–666, 2007.
- BRAGA, O.; SMYTHE, G. A.; SCHAFFER, A. I.; FEITZ, A. J. Steroid estrogens in ocean sediments. **Chemosphere**, v.61, p. 827-833, 2005.
- BRANDINI, N. **Biogeoquímica da Baía de Guaratuba, Paraná, Brasil: origem, metabolismo, balanço de massa e destino da matéria biogênica**. 2008. 260 f. Tese (Doutorado em Geociências), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2008.

CONAMA 357/2005. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>> Acesso em: 12 junho 2019.

CONAMA 430/2011. Disponível em: <<http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>> Acesso em: 12 junho 2019.

EDUARDO, Emerson Jeronymo. **Estudo da degradação eletroquímica, fotolítica, fotocatalítica e eletrofotocatalítica do hormônio etinilestradiol**. 2009. Dissertação (Mestrado em Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

FERREIRA, C. P. S. **Extração em meio aquoso e concentração por processos de membranas de fibras solúveis a partir do bagaço de uva branca**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Técnico Lisboa. Rio de Janeiro. 2013.

FILHO, J. P.; SPILLERE, L. C.; SCHETTINI, C. A. F. Dinâmica De Nutrientes Na Região Portuária Do Estuário Do Rio Itajaí-Açu, Sc. **Atlântica**, v. 25, n. 1, p. 11–20, 2003.

FONSECA, Yara Vanessa Portuguese. **Estudo sobre a ocorrência de poluentes emergentes na água do rio meia ponte na cidade de Goiânia- Go**. 2013. 97 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Meio Ambiente) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2013.

FROEHNER, S.; MACHADO, K. S.; STEFAN, E.; BLENINGER, T.; ROSA, E. C.; MARTINS, C. C. Occurrence of selected estrogens in mangrove sediments. **Marine Pollution Bulletin.**, v. 64, p. 75-79, 2012.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Quimica Nova**, v. 30, n. 3, p. 695–706, 2007.

GIL, M. et al. Emerging contaminants in waters: effects and possible treatments. **Producción + Limpia**, v. 7, n. 2, p. 52–73, 2012.

GUIMARÃES, T. S'A. **Detecção e quantificação dos hormônios sexuais 17 β - estradiol (e2), estriol (e3), estrona (e1) e 17 α -etinilestradiol (ee2) em água de abastecimento: estudo de caso da cidade de São Carlos, com vistas ao saneamento ambiental**. 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado em hidráulica e Saneamento), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.

GUARATUBA. Portal SNIRH. Atlas Esgotos. 2017. Disponível em: <http://portal1.snirh.gov.br/arquivos/Atlas_Esgoto/Paran%C3%A1/Relatorio_Geral/Guaratuba.pdf>. Acesso em 2021.

GONÇALVES, R. M. **Estrógenos em águas estuarinas: estudo analítico e ambiental para o estuário Santos-São Vicente**. 2016. 100 f. Tese (Doutorado em

química), Universidade estadual Paulista, Araraquara, 2016.

KUSTER, M.; AZEVEDO, D. A.; ALDA, M. J. L.; NETO, F. R. A.; BARCELÓ, D. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). **Environment International**, v.35, p. 997-1003, 2009

LARK S. M.; The estrogen decision self help book; **Celestial Arts**; New York; 320p; 1999.

LANÇAS, Fernando. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente "compatíveis"? II. A escolha do analisador de massas. **Scientia Chromatographica**. 5. 27-46. 10.4322/sc.2013.005. 2013.

LIMA, D. R. S. et al. Evaluation of Removal of Pharmaceuticals and Endocrine Disrupters in Drinking Water. **Química nova**, v. 37, n. 5, p. 783–788, 2014.

LISBOA FILHO, Normando da Silva. **Desenvolvimento E Validação De Método Analítico Para Determinação De Interferentes Endócrinos: Aplicação Em Amostras Da água Da Baía De Todos Os Santos, Ba.** 2012. 87 f. Dissertação (Química), Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012,

LUPEPSA, L.; ALMEIDA, D. J. D. E.; DIAS, F. V., Ação de estrogênios naturais (β -estradiol) e sintéticos (17 α -etinilestradiol) sobre distintas comunidades de peixes_ sob ênfase genotóxica. **Revista Uningá**, v. 53, p. 145–148, 2017.

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

MARINHO, B. A. **Estudo da potencialidade da fotocatalise heterogênea e dos processos fenton para degradação de micropoluentes em águas residuárias (esgoto tratado).** 2012. 83 f. Dissertação (Química), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

MARTINS, C. C. et al. Multi-molecular markers and metals as tracers of organic matter inputs and contamination status from an Environmental Protection Area in the SW Atlantic (Laranjeiras Bay, Brazil). **Science of the Total Environment**, v. 417–418, p. 158–168, 2012.

MARUYA, K. A.; VIDAL-DORSH, D. E.; BAY, S. M.; KWON, J. W.; XIA, K.; ARMBRUST, K. L. Organic contaminants of emerging concern in sediments and flatfish collected near outfalls discharging treated municipal wastewater effluent to the Southern California Bight. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 12, p. 2683-2688, 2012.

MIZUKAWA, A. et al. Distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e alifáticos em sedimentos estuarinos / Distribution of aliphatic and polycyclic aromatics hydrocarbons in estuary sediments. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 20, n. 4, p. 1019–1028, 2016.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094–1110, 2017.

NAGEL-HASSEMER, M. E. et al. Processo UV/H₂O₂ Como pós-tratamento para remoção de cor e polimento final em efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 900–904, 2012.

NEIFF, J. J. Planícies de Inundação São Ecótonos? n. January 2003, 2014.

NOENBERG, M. A. et al. Determinação Da Sensibilidade Do Litoral Paranaense À Contaminação Por Óleo. **Brazilian Journal Aquatic Te**, v. 12, n. 2, p. 49–59, 2008.

OTOMO, J. I. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de hormônios, considerados disruptores endócrinos, nas águas destinadas ao abastecimento público na região do Rio Paraíba do Sul, SP**. 2008. 198 f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

PADOVAN, R. N. **Degradação de hormônios em águas de abastecimento público por fotocatalise heterogênea solar**. 2015. 103 f. Tese (Química), Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

PAVANELLI, D. D.; LOCH, C. Mangrove spectra changes induced by oil spills monitored by image differencing of normalised indices: Tools to assist delimitation of impacted areas. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, v. 12, n. May, p. 78–88, 2018.

Plano de Bacia Litorâneo. **Produto 01: Caracterização geral**. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/1-CJKnqpn5fHc53cmHKybulkM1Z3DR_4/view?usp=drive_open> Acesso em: 08 junho 2019.

Portaria MS 2.914/2011. Disponível em: <http://site.sabesp.com.br/uploads/file/asabesp_doctos/kit_arsesp_portaria2914.pdf> Acesso em 12 junho 2019.

PONTELLI, R. C. N.; NUNES, A. A.; OLIVEIRA, S. V. W. B. DE. Impacto na saúde humana de disruptores endócrinos presentes em corpos hídricos: existe associação com a obesidade? **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 21, n. 3, p. 753–766, 2016.

RAIMUNDO, Cassiana C. M. **Contaminantes emergentes em água tratada e seus mananciais: sazonalidade, remoção e atividade estrogênica**. 2011. 203 f. Tese (Doutorado em Química), Universidade estadual de Campinas - Instituto de Química, Campinas, 2011.

RIBANI, M. et al. Vidal M.pdf. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

Riscos naturais e antrópicos. Disponível em: <http://www.sbpcnet.org.br/livro/57ra/programas/CONF_SIMP/textos/fabioperdigao-riscos.htm>. Acesso em: 10 junho 2019.

REIS FILHO, R. W.; ARAÚJO, J. C. DE; VIEIRA, E. M. HORMÔNIOS SEXUAIS ESTRÓGENOS: CONTAMINANTES BIOATIVOS Ricardo. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 817–822, 2006.

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

SANTOS, E. P. C. C.. **Remoção de etinilestradiol no tratamento de água para consumo humano: estudo em escala piloto**. 2011. 169 f. Dissertação (Saneamento, Meio-Ambiente e Recursos Hídricos), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

SAWADA, M. M. **Estudo da viabilidade técnica da substituição de Hexano por Etanol no processo de extração de óleo de Soja: cinética de extração e índices de qualidade**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo. 2012.

SCHLEICHER, Arthur Tavares. **Remoção de estrona, estradiol, etinilestradiol e bisfenol-A por meio de nanofiltração aplicada ao tratamento avançado de águas para consumo humano**. 2013. 107 f., Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos), Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SCHEUER, L.; BAHL, M. Sazonalidade do turismo no Município de Guaratuba, Paraná, Brasil. **RA'E GA - O Espaço Geografico em Analise**, v. 23, n. 23, p. 289–316, 2011.

SMRH. **Secretaria de meio ambiente de recursos hídricos**. Disponível em: <<http://www.meioambiente.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=121>> Acesso em: 10 junho 2019.

SOUZA, A. C. et al. Occurrence of halogenated organic contaminants in estuarine sediments from a biosphere reserve in Southern Atlantic. **Marine Pollution Bulletin**, v. 133, n. May, p. 436–441, 2018.

SPOHR, D. et al. Utilização de microrganismos na degradação de hormônios

estrógenos. **Revista Liberato**, v. 15, n. 24, p. 155–166, 2018.

TANIGUCHI, S. **Avaliação da contaminação PHA's**. 2001. 180 f. Tese (Química), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

TORRES, N. H., **Monitoração de resíduos dos hormônios 17 α -etinilestradiol, 17 β -estradiol e estriol em águas de abastecimento urbano da cidade de Piracicaba, SP**. 2009. 255 f. Dissertação (Centro de Energia Nuclear na Agricultura) Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

USEPA United States Environmental Protection Agency (1997) Special reporto n environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis; *Washington, DC: Office of Reserach and Development EPA/630/R-96/012*.

ZEM, R. C.; PATCHINEELAM, S. M.; MARONE, E. Morfologia E Dinâmica De Sedimentos Da Baía De Guaratuba, Pr. **Anais do Congresso ABEQUA (Associação Brasileira de Estudos do Quaternário)**, v. 10, 2005.

ZHANG, X. et al. Levels of estrogenic compounds in Xiamen Bay sediment, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 58, p. 1210-1216, 2009.

ANEXO I

Ponto	Massa pré-coleta (mg)	Massa pós-coleta (mg)	Massa de MPS (mg)
1A	92,1	92,6	0,5
1B	92,2	94,42	2,2
2A	90,1	94,3	4,2
2B	90,6	93,3	2,7
3A	90,2	95,7	5,5
3B	92,6	98,6	6
4A	87,7	93,5	5,8
4B	90,6	100,4	9,8
5A	90,5	99,3	8,8
5B	91,2	98	6,8
6A	90	98,9	8,9
6B	90,7	98,5	7,8
7A	90,2	99,3	9,1
7B	91	98,9	7,9
8A	90,2	99,5	9,3
8B	89,8	98	8,2
9A	91,7	98,4	6,7
9B	91,2	97,3	6,1
10A	90	99,8	9,8
10B	89,2	98,1	8,9
11A	92,3	103	10,7
11B	93,1	103,4	10,3
12A	90	97,5	7,5
12B	90,1	98,9	8,8

Fonte: A autora, 2019.

ANEXO II

Ponto	Massa pré-coleta (mg)	Massa pós-coleta (mg)	Massa de MPS (mg)
1A	91,6	96,2	4,6
1B	90,8	95,1	4,3
2A	89,5	95	5,5
2B	91,6	98,6	7
3A	89,5	110,7	21,2
3B	91,4	109,5	18,1
4A	88,3	117,6	29,3
4B	90	119,4	29,4
5A	88,8	106,3	17,5
5B	87,9	105,6	17,7
6A	90,7	121,6	30,9
6B	88,4	116,1	27,7
7A	90,2	109,1	18,9
7B	89,2	105,1	15,9
8A	86,7	97,6	10,9
8B	89	98	9
9A	88,9	95,1	6,2
9B	90	99,6	9,6
10A	88,5	102,8	14,3
10B	86,8	99,3	12,5
11A	90,5	108,3	17,8
11B	90,1	108,3	18,2
12A	91,2	104,1	12,9
12B	88,7	104,1	15,4

Fonte: A autora, 2019