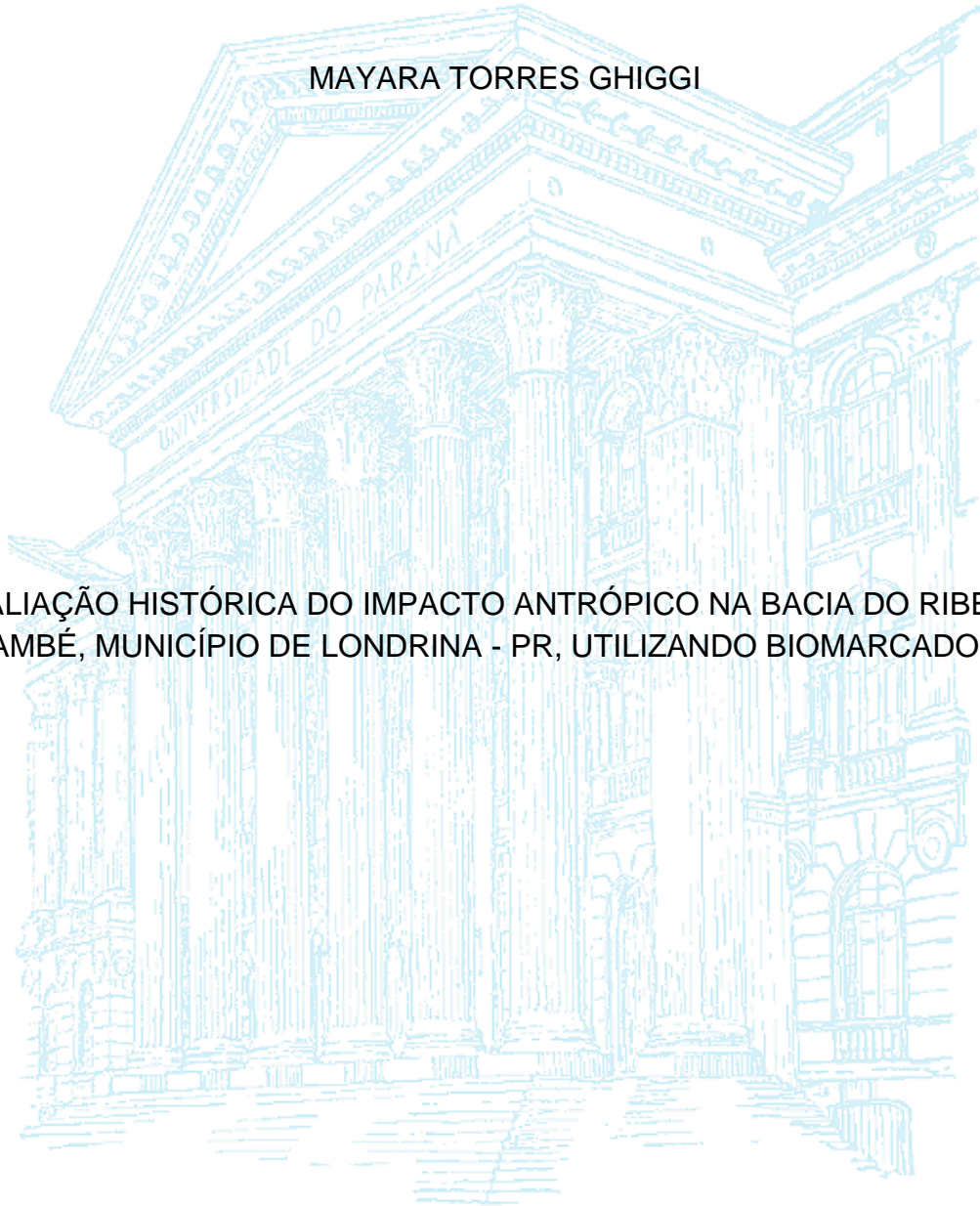


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MAYARA TORRES GHIGGI

AVALIAÇÃO HISTÓRICA DO IMPACTO ANTRÓPICO NA BACIA DO RIBEIRÃO
CAMBÉ, MUNICÍPIO DE LONDRINA - PR, UTILIZANDO BIOMARCADORES



CURITIBA

2016

MAYARA TORRES GHIGGI

AVALIAÇÃO HISTÓRICA DO IMPACTO ANTRÓPICO NA BACIA DO RIBEIRÃO
CAMBÉ, MUNICÍPIO DE LONDRINA - PR, UTILIZANDO BIOMARCADORES

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
em Engenharia Ambiental da Universidade
Federal do Paraná, apresentado como requisito
parcial para a obtenção do título de Bacharel em
Engenharia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Sandro José Froehner

CURITIBA

2016



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE TECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

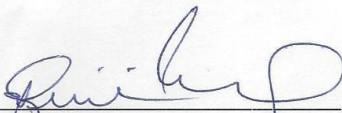
TERMO DE APROVAÇÃO DE PROJETO FINAL

MAYARA TORRES GHIGGI

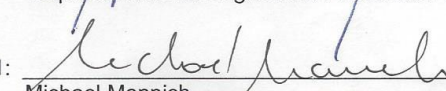
AVALIAÇÃO HISTÓRICA DO IMPACTO ANTROPOGÊNICO NA BACIA DO RIBEIRÃO CAMBÉ, MUNICÍPIO DE LONDRINA – PR, UTILIZANDO BIOMARCADORES FECAIS

Projeto Final de Curso, aprovado como requisito parcial para a obtenção do Diploma de Bacharel em Engenharia Ambiental no Curso de Graduação em Engenharia Ambiental do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, com nota 9,4, pela seguinte banca examinadora:

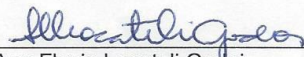
Orientador(a):


Sandro Froehner
Departamento de Engenharia Ambiental / Universidade Federal do Paraná

Membro(a) 1:


Michael Mannich
Departamento de Engenharia Ambiental / Universidade Federal do Paraná

Membro(a) 2:


Ana Flavia Locateli Godoi
Departamento de Engenharia Ambiental / Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 13 de dezembro de 2016

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus por ter chegado até aqui, pela oportunidade de adquirir conhecimentos ao longo da minha vida e ingressar em uma instituição conceituada como a Universidade Federal do Paraná.

Agradeço imensamente à minha família por acreditarem e investirem em mim e na minha vida acadêmica, obrigada por todo apoio, vocês são a minha base.

Às minhas amigas que me acompanharam durante toda a graduação trazendo conforto, distrações e fizeram desta etapa da minha vida uma caminhada emocionante e divertida. Anna, Carla, Geovana, Paola e Raissa, vocês são pessoas incríveis!

Agradeço ao grupo Jesus na UFPR por ter encontrado na universidade colegas com os mesmo ideais, que considero como minha família acadêmica, por todas as reuniões que marcaram a minha vida e trouxeram aprendizado e crescimento, obrigada por tudo!

Ao meu orientador, Professor Dr. Sandro Froehner, por ter me apresentado à área de pesquisa, por todo o conhecimento e experiência adquiridos, pela paciência, compreensão, confiança e disponibilidade durante todo o período em que me orientou.

Ao grupo de pesquisa, Juan Sáñez, Luciane Vieira e Karina Machado que acompanharam a pesquisa e contribuíram com seus conhecimentos e experiência na área, vocês tem parte em todo conhecimento que adquiri, obrigada.

Aos laboratórios LBEAM, LAGEP e LPH por cederem o espaço, equipamentos e materiais necessários para as análises.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: FIGURA 1: ESTRUTURA QUÍMICA DE ALGUNS ESTEROIS	21
FIGURA 2: MAPA DE LOCALIZAÇÃO DO PONTO DE COLETA NO LAGO ARTHUR THOMAS.....	25
FIGURA 3: IMAGENS DA COLETA DOS TESTEMUNHOS DE SEDIMENTO NO LAGO	26
FIGURA 4: PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO: A) ADIÇÃO DE SOLUÇÃO SOLVENTE; B) HOMOGENEIZAÇÃO EM VORTEX; C) EXTRAÇÃO ULTRASSÔNICA; D) CENTRIFUGAÇÃO; E) CONCENTRAÇÃO EM ROTAVAPOR; F) ADIÇÃO DE COBRE ATIVADO.....	30
FIGURA 5: ESQUEMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E CLEAN-UP DE ESTEROIS.....	31
FIGURA 7: RAZÕES DE NUTRIENTES EM RELAÇÃO À PROFUNDIDADE E DATAÇÃO DO TESTEMUNHO.....	34
FIGURA 8: RAZÕES DE ESTEROIS PARA IDENTIFICAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA. INFERIOR À LINHA VERDE: SEM CONTAMINAÇÃO. SUPERIOR À LINHA VERMELHA: COM CONTAMINAÇÃO. VALORES INTERMEDIÁRIOS: DIAGNÓSTICO INCERTO.	36
FIGURA 9: RAZÕES DE ESTEROIS PARA IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA E ANIMAL. INFERIOR À LINHA VERMELHA: COM CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA. SUPERIOR À LINHA VERDE: COM CONTAMINAÇÃO FECAL ANIMAL.	37
FIGURA 10: ESTEROIS CARACTERÍSTICOS DE PLANTAS VASCULARES E FEZES DE HERBÍVOROS.....	39
FIGURA 11: CONSTRUÇÃO DA USINA CAMBÉZINHO E A BARRAGEM E CASA DE MÁQUINAS	40

FIGURA 12: ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO EM OPERAÇÃO EM LONDRINA.....42

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: NÚMERO DE CARBONO, NOMENCLATURA USUAL E NOMENCLATURA OFICIAL DOS PRINCIPAIS ESTEROIS.	20
TABELA 2: RAZÕES DE ESTEROIS PARA INDICAR POSSÍVEL CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA.	24
TABELA 3: RAMPA DE AQUECIMENTO DO GC-MS PARA ANÁLISE DOS ESTEROIS.....	32
TABELA 4: CONFIGURAÇÃO DO GC - MS PARA ANÁLISE DOS ESTEROIS.....	32
TABELA 5: CONCENTRAÇÃO DOS ESTEROIS AO LONGO DO TESTEMUNHO DE SEDIMENTO	35
TABELA 6: CONCENTRAÇÃO DE SITOSTEROL E ESTIGMASTANOL EM FEZES DE ANIMAIS E HUMANOS.....	38

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CIC – Constant Initial Concentration

CMNP – Companhia Melhoramento Norte do Paraná

COT – Carbono Orgânico Total

CRS – Constant Rate of Supply

CTNP – Companhia de Terras Norte do Paraná

ETE – Estação de Tratamento de Esgoso

PI – Fósforo Inorgânico

PT – Fósforo Total

GC – Cromatógrafo a Gás

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

LABEAM – Laboratório de Engenharia Ambiental

LPH – Laboratório de Pesquisas Hidrogeológicas

NT – Nitrogênio Total

PDDU – Plano Diretor de Desenvolvimento Urbano

PR – Paraná

RE – Erro Relativo

RSD – Desvio Padrão Relativo

UFPR – Universidade Federal do Paraná

USP – Universidade de São Paulo

RESUMO

Os sedimentos de corpos hídricos são utilizados como verdadeiros registros históricos, que armazenam informações acerca de contaminações passadas. Uma classe de compostos que permitem inferir sobre contaminações por esgotos em sedimento são chamados biomarcadores fecais, a exemplo deles tem-se os esteróis, compostos resistentes que persistem no ambiente aquático adsorvidos na matriz de sedimento, cujas razões reportadas na literatura fornecem informações a respeito de sua origem. Neste trabalho foram analisadas razões de esteróis quantificados de um testemunho de sedimento datado do Lago Arthur Thomas da cidade de Londrina – PR, além de razões de nutrientes (C:N:P) que ajudaram na identificação das fontes de contaminação, somando-se as análises aos dados de crescimento da área urbana da cidade. Os resultados demonstraram que durante o estabelecimento da cidade de Londrina, houve entrada de plantas terrestres no lago, e aportes de fósforo inorgânico, resultado de desmatamento seguido do início da atividade agrícola na região a partir da plantação de café, soja e milho. No perfil avaliado pôde-se observar quatro picos com contaminação por esgotos domésticos, os quais foram associados ao rápido crescimento populacional e ausência de coleta e tratamento antes de 1991, ano marcado pelo início de operação da primeira estação de tratamento da cidade.

Palavras-Chave: Poluição Fecal. Sedimentos. Biomarcadores. Esteróis.

ABSTRACT

River sediments are used as true historical records, which store information about past contaminations. A class of compounds that allows inferring about sewage contaminations in sediment is called fecal biomarkers, such as the sterols, resistant compounds that persist in the aquatic environment adsorbed on the sediment matrix, whose ratios reported in the literature provide information regarding their origin. In the present work, quantified sterol ratios of a sediment sample dated from Arthur Thomas Lake, Londrina - PR, as well as nutrient ratios (C: N: P) were analyzed, which helped to identify the sources of contamination, adding to the analysis of the urban growth data of the city. The results showed that during the establishment of the city of Londrina, there were terrestrial plants entering the lake, and inputs of inorganic phosphorus, resulting from deforestation followed by the beginning of agricultural activity in the region from the planting of coffee, soybeans and corn. Throughout the profile, four periods of fecal contamination by domestic sewage were attributed to rapid population growth and the absence of sewage collection and treatment prior to 1991, year marked by the beginning of operation of the city's first treatment station.

Keywords: Fecal pollution. Sediments. Biomarkers. Sterols.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	PROCESSO DE URBANIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO	14
3.2	SEDIMENTO EM AMBIENTES LACUSTRES	17
3.3	ELEMENTOS BIOGÊNICOS EM AMBIENTES LACUSTRES	18
3.4	BIOMARCADORES	19
3.5	ESTEROIS DE ORIGEM VEGETAL E FECAL	20
3.6	ESTEROIS COMO BIOMARCADORES	22
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1	ÁREA DE ESTUDO	25
4.2	COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS	25
4.3	DATAÇÃO CRONOLÓGICA	27
4.4	ANÁLISES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E CARBONO ORGÂNICO TOTAL	27
4.4.1	Nitrogênio Total Digerido	27
4.4.2	Fósforo Total (PT) e Fósforo Inorgânico (PI)	28
4.4.3	Carbono Orgânico Total – COT	28
4.5	ANÁLISE DE ESTEROIS	29
4.5.1	Extração	29
4.5.2	<i>Clean-up</i>	30
4.5.3	Derivação	31
4.5.4	Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS)	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1	RAZÕES ENTRE ELEMENTOS BIOGÊNICOS	33
5.3	ESTEROIS	35
5.4	A HISTÓRIA DA CIDADE REGISTRADA NOS SEDIMENTOS	39
6	CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
	APÊNDICE	50

1 INTRODUÇÃO

O crescimento demográfico nas grandes cidades e o desenvolvimento socioeconômico da população são acompanhados pelo aumento da demanda por recursos, principalmente água, cuja quantidade e qualidade são de fundamental importância para a saúde e o desenvolvimento de qualquer comunidade. O crescimento populacional que, muitas vezes, ocorre de forma desordenada, aliado à ocupação humana ao longo das bacias de drenagem pode alterar profundamente a qualidade de corpos hídricos (FROEHNER e MARTINS, 2008).

Os esgotos domésticos lançados indiscriminadamente, com ou sem tratamento prévio, em ambientes aquáticos, afetam profundamente a qualidade da água, provocando alterações nesses ambientes. Neste contexto, os sedimentos desempenham um papel importante na avaliação dos ecossistemas aquáticos, pois refletem a qualidade do corpo hídrico, podendo ser usados para detectar a presença de contaminantes que não permanecem solúveis após seu lançamento em águas superficiais e ainda por serem reconhecidos como transportadores e possíveis fontes de contaminação, já que podem liberar espécies contaminantes devido a alterações nas condições ambientais e físico-químicas (FROEHNER e MARTINS, 2008).

Considerando contaminação por esgotos, biomarcadores podem ser utilizados para avaliar a qualidade dos corpos hídricos. São moléculas orgânicas de origem biológica e são úteis, uma vez que a sua estrutura complexa revela informações sobre os organismos de onde se originaram. Os esteróis fecais são um exemplo típico e são considerados "impressões digitais" da poluição fecal devido à sua distribuição em fezes humanas e animais. Além disso, devido à sua natureza hidrofóbica, os esteróis são facilmente associados com material particulado e sedimento (MACHADO *et al.*, 2014).

A utilização de razões de elementos biogênicos (C:N:P) como indicadores de fonte de matéria orgânica é uma abordagem comum em estudos geoquímicos (RUTTENBERG e GOÑI, 1997). As maiores fontes de matéria orgânica são provenientes de plantas terrestres e aquáticas, sendo que as razões entre carbono, nitrogênio e fósforo (C:N:P) são distintas. Alterações nestas razões estequiométricas podem representar contaminações por esgotos domésticos, por exemplo (FROEHNER e MARTINS, 2008).

A cidade de Londrina possui uma Unidade de Conservação Ambiental em sua área urbana, o Parque Municipal Arthur Thomas, o qual abriga aves, mamíferos e roedores como capivaras. O Parque é também uma referência como local de recreação, atividades de educação ambiental e lazer à população da cidade, uma vez que está localizado no perímetro urbano. Dentro do Parque encontra-se o lago que foi construído em 1939, para o funcionamento de uma usina hidroelétrica que abasteceu a cidade de 1939 a 1967 (VIEIRA, 2016). Devido a sua localização, este lago está sujeito aos impactos antrópicos abordados por Froehner e Martins (2008).

O objetivo do presente trabalho foi compreender como o crescimento da área urbana da cidade de Londrina impactou a bacia do Ribeirão Cambé, por ser uma bacia de colonização recente e cujo leito principal percorre toda a extensão da cidade. Para que isto seja possível, no decorrer deste trabalho serão apresentadas as diversas análises químicas ambientais realizadas em testemunho de sedimento datado do lago do Parque Arthur Thomas, que recebe toda a drenagem da cidade, bem como um embasamento bibliográfico acerca do histórico de urbanização da área de estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos antrópicos num corpo hídrico durante o estabelecimento de uma cidade pela análise da distribuição de marcadores químicos e composição biogênica num testemunho de sedimento datado do lago, localizado na cidade de Londrina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a origem do material orgânico presente no sedimento pelas razões entre esteróis
- Quantificar a distribuição de esteróis em um testemunho de sedimento datado do lago Arthur Thomas, além de analisar outras razões de nutrientes (C:N:P), que permitirão gerar interpretações sobre a origem dos compostos na área de estudo.
- Associar resultados obtidos das análises químicas com dados de crescimento da área urbana e fatos históricos que marcaram a cidade de Londrina, de forma a compreender a influência antrópica ao longo dos anos no ecossistema aquático em questão.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PROCESSO DE URBANIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Data do século XVII a primeira frente de ocupação do território paranaense, realizado por paulistas e mineiros que chegaram ao estado em busca de ouro de aluvião na Baía de Paranaguá, nos rios que passam pela Serra do mar e o planalto de Curitiba (SERRA, 1992). Este não é o primeiro registro de migração para o estado. Por volta de cem anos antes, espanhóis, os senhores das terras a oeste do Tratado de Tordesilhas, adentraram o território vindos no sentido do interior para o mar. Porém, tal migração não teve interesse na posse da terra, mas sim em subordinar índios locais, deter o avanço dos portugueses no estado e criar uma saída marítima para o oceano, não caracterizando um processo de ocupação efetiva, o qual se deu através de três frentes pioneiras: 1) Paraná Tradicional, marcada pela pecuária extensiva; 2) Região Norte, com a cultura do café; 3) Região Sudeste, com a migração dos catarinenses e gaúchos em busca de terras no estado (SERRA, 1992).

A primeira e mais antiga frente pioneira data do século XVIII, caracterizada pela crise de extração do ouro entre os anos 1720 – 1730. Conhecida como frente do Paraná Tradicional, substituiu a atividade de mineração pelo movimento expansionista, que partiu do planalto de Curitiba até os Campos Gerais em busca de terras apropriadas à pecuária extensiva. Problemas como o esgotamento de terras de campo para avanço da atividade, a queda na produção das fazendas, perda de mercado para outras zonas de criação e concorrência das estradas de ferro, causou o declínio da atividade pecuária. Na mesma época, ocorria no estado a ascensão da extração e beneficiamento de madeira e erva-mate. Esta atividade contribuiu para o crescimento econômico da região e auxiliou no processo de consolidação da frente pioneira do Paraná Tradicional.

No final do século XIX ocorre a desagregação da frente pioneira do Paraná Tradicional, na mesma época em que o empobrecimento do solo causa a crise cafeeira paulista. Tais acontecimentos são decisivos para dar início à segunda frente pioneira no Paraná, a da Região Norte, cuja principal atividade foi baseada na agricultura de mercado pela produção de café. No entanto, segundo Serra (1992), os primeiros indícios de povoamento da região norte do Paraná datam do século XVII, com as missões religiosas realizadas pelos jesuítas, com intuito de catequisar os

índios guaranis. Porém, no final do século, o movimento foi aniquilado pelos bandeirantes paulistas.

Existe outro registro de povoamento no norte do Paraná, na segunda metade do século XIX, pela fundação da colônia militar de Jataí e dos aldeamentos de São Pedro de Alcântara e de São Jerônimo da Serra (Serra, 1992). Entretanto, a ocupação efetiva da região norte ocorreu com a migração dos mineiros e, posteriormente, dos paulistas que, com a derrubada da mata virgem, abrem espaço para a frente cafeeira no estado. Com isso, vão sendo colonizadas as áreas do norte do Paraná rápida e desordenadamente, causando preocupação no governo paranaense, pois apesar de ter interesse na ocupação planejada das terras, não aprovava a forma com que as grandes propriedades eram tomadas, sem controle do poder público, assim como no tempo das sesmarias.

No ano de 1924, a Companhia de Terras Norte do Paraná – CTNP subsidiária da Paraná Plantations Ltda. e sua sucessora, a Companhia Melhoramento Norte do Paraná – CMNP deram início ao ideário de promoção de uma verdadeira reforma agrária na região com a partição em pequenos lotes, assim o governo passou a assumir a colonização local e a estimular a iniciativa privada a fazer o mesmo (COLONIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DO NORTE DO PARANÁ, 1975) (GOMES, 2015).

Em 1929 surge a cidade de Londrina com a chegada dos primeiros compradores de terra, orientados por agenciadores da Companhia de Terras Norte do Paraná. Implantou-se o plano de colonização e povoamento da região paranaense, de propriedade da Companhia de Terras Norte do Paraná, sendo sua maior acionista a firma Paraná Plantations Ltda. de Londres, daí o nome dado à cidade que significa pequena Londres, em virtude da compra de mais de 500.000 alqueires de terras, com a outorga do competente título de propriedade pelo governo do estado (IBGE, 2014). A cidade foi sendo inserida rapidamente em uma dinâmica econômica e social ligada à pequena produção mercantil o que resultou em rápido e intenso crescimento populacional, físico-territorial e da oferta de bens e serviços à sua população.

A cidade foi projetada para comportar 30 mil habitantes, mas este número foi superado nos seus primeiros 20 anos de existência. Na década de 1950 se configurou os denominados “anos dourados” de Londrina (TOWNS, 2009). A partir

daí, o crescimento da área urbana da cidade pode ser dividido em cinco períodos descritos por Casaril (2009) até o ano 2000. São eles:

(1950 – 1959): Projetada para comportar uma população de até 20.000 habitantes em uma área de aproximadamente 4 km², houve o surgimento dos primeiros bairros e a construção dos primeiros 17 edifícios na cidade, sendo 14 localizados na região central. Tal expansão ultrapassou os limites originais do projeto para a cidade.

(1960 – 1969): Neste período houve grande crescimento demográfico causado pela desaceleração da cafeicultura na região e a modernização na agricultura. Com uma área urbana de 34,6 km², foram edificadas mais 45 prédios na região central e aprovados 127 novos loteamentos urbanos. Tal expansão foi influenciada pela rodovia BR-369, o aeroporto e o Lago Igapó. Ao final da década de 1960, houve a apresentação de um grande Plano Diretor de Desenvolvimento Urbano – PDDU.

(1970 – 1979): A área urbana da cidade atingiu 57,9 km² com a construção de mais 137 edifícios além de conjuntos habitacionais populares localizados na porção norte a uma distância de 6 km da região central da cidade.

(1980 – 1989): Foram construídos em Londrina mais 801 edifícios, e a área urbana atingiu 84,9 km².

(1990 – 2000): No decorrer do quinto período foram construídos em Londrina 599 edifícios e sua área urbana atingiu em 2001, 105,43 km², cujos edifícios foram distribuídos espacialmente em todas as regiões da cidade.

A cidade possui uma Unidade de Conservação Ambiental em sua área urbana, o Parque Municipal Arthur Thomas, que está inserido em um fragmento de Mata Atlântica onde abriga aves, mamíferos e roedores como capivaras. O Parque é também uma referência como local de recreação, atividades de educação ambiental e lazer à população da cidade, uma vez que está localizado no perímetro urbano. Dentro do Parque encontra-se o lago (onde foram coletadas as amostras) que foi construído em 1939, para o funcionamento de uma usina hidroelétrica que abasteceu a cidade de 1939 a 1967.

3.2 SEDIMENTO EM AMBIENTES LACUSTRES

Na literatura, existem diversas definições dadas ao sedimento. Uma delas diz que sedimento é o material não consolidado, distribuído ao longo dos vales do sistema de drenagem, resultado da interação constante e contínua dos processos de intemperismo e erosão. Esses processos atuam sobre os diversos tipos de rocha e/ou seus produtos de intemperização *in situ*, localizados na bacia de drenagem, tornando as amostras de sedimento de corpos hídricos bons representantes de todos os processos que ocorrem à montante do ecossistema aquático, sendo assim amplamente utilizados na investigação da poluição ambiental (MOREIRA e BOAVENTURA, 2003).

Sedimento também é definido como partículas derivadas da rocha de materiais biológicos por processos físicos ou químicos, que são transportadas pela água ou pelo vento de um lugar de origem aos rios e locais de deposição. Os processos responsáveis pela sedimentação vão além da erosão, abrangendo deslocamento de partículas por enxurradas ou outros meios até os rios (ARROIO JUNIOR, 2013). Após serem carregados pela água, são depositados no fundo de rios ou em locais de baixa ou nula correnteza, a exemplo de lagos, represas, áreas alagáveis e oceanos, carregando importantes informações da bacia de drenagem na qual estão inseridos, sendo identificados como verdadeiros arquivos de informações de natureza biogeoquímica com camadas de deposição temporal (CUNHA, 2010).

Os sedimentos são constituídos por três componentes principais: matéria orgânica em vários estados de decomposição, partículas minerais, incluindo argilas, carbonatos e silicatos não argilosos, e uma componente inorgânica de origem biogênica, como certas formas de carbonato de cálcio (MARTINS *et al.*, 2008). Os sedimentos desempenham papel importante na investigação da poluição ambiental, dada a sua capacidade de acumular compostos, eles podem carregar a história da bacia em sua composição. A entrada desses compostos pode ser proveniente da ação antrópica na bacia de drenagem, como lançamentos de esgotos domésticos e industriais, tendo como possível destino final os sedimentos (FROEHNER e MARTINS, 2008).

3.3 ELEMENTOS BIOGÊNICOS EM AMBIENTES LACUSTRES

De forma geral, o termo nutriente é empregado para designar os elementos como fósforo, nitrogênio, carbono e silício, mas um número muito maior de elementos é considerado como nutriente. As principais fontes de nutrientes para lagos, rios e reservatórios são esgotos domésticos e industriais, fezes de animais, fertilizantes agrícolas, ração para peixes e decomposição da matéria orgânica (MARTINS, 2008).

Nitrogênio e fósforo são os principais nutrientes encontrados em águas e sedimentos de rios. Os sedimentos tornam-se um reservatório para nutrientes, em regiões onde há presença deles, principalmente devido a aportes antrópicos. Altas concentrações de nutrientes em águas residuais domésticas são os maiores causadores da poluição nos corpos d'água em áreas com presença humana e a situação torna-se mais problemática em regiões de alta densidade populacional (SILVA *et al.*, 2010).

O carbono presente na água, advindo de descargas domésticas, industriais ou pela decomposição da matéria orgânica, pode ser encontrado em duas formas principais, de carbono orgânico e inorgânico (MARTINS, 2008). O carbono orgânico total (COT) se compõe de duas frações, a dissolvida e a particulada. O carbono particulado é composto de material orgânico parcialmente degradado e resistente à degradação bacteriana e de alguma matéria viva microscópica. A fração dissolvida é composta de substâncias húmicas e outros compostos de carbono (MARTINS, 2008).

As alterações nas razões estequiométricas entre carbono, nitrogênio e fósforo (C:N:P) podem representar contaminações por esgotos domésticos ou outros aportes antrópicos, com isso, tem sido utilizadas para identificar a origem da matéria orgânica. Redfield definiu que COT/NT deve estar entre 6,6 e 10 para a matéria orgânica normal sendo atribuídos ao fitoplâncton e à produtividade primária. COT/PT deve ser próximo de 100, e NT/PT próximo de 16. A razão PI/PT superior à 60% caracteriza o fósforo como proveniente de aportes antrópicos (FROEHNER e MARTINS, 2008).

3.4 BIOMARCADORES

Marcadores moleculares são definidos como compostos cujas estruturas estão ligadas a origens específicas. Graças às suas estruturas únicas, podem gerar informações específicas difíceis de obter por outras aproximações. Compostos orgânicos relacionados estruturalmente a fontes biológicas específicas, utilizados como marcadores, podem ser denominados biomarcadores (CORDEIRO, 2006).

Na literatura, os biomarcadores também são encontrados por outros termos equivalentes como fósseis químicos, fósseis moleculares e marcadores biogeoquímicos (BRAUN, 2006).

O lançamento de esgotos domésticos, com ou sem tratamento prévio, em ambientes aquáticos afeta a qualidade da água do sistema receptor, provocando redução do oxigênio dissolvido, aumento da turbidez, mudanças no pH, entre outros efeitos, e tem reflexos sobre a manutenção das condições ideais para a sobrevivência dos organismos e sobre a saúde humana. Existem diversos métodos utilizados para que se tenha conhecimento do mecanismo e grau de dispersão dos efluentes lançados em determinado corpo d'água. Tais métodos podem ser classificados como ativos e passivos. Como traçadores ativos entende-se substâncias intencionalmente adicionadas ao esgoto, como substâncias radioativas e corantes. Por outro lado, os passivos são substâncias naturalmente encontradas no esgoto, tais como bactérias do grupo coliforme, a amônia e a matéria orgânica biodegradável (CARREIRA *et al.*, 2001).

Neste contexto, os biomarcadores antropogênicos são compostos orgânicos introduzidos no ambiente através de atividades humanas relativamente recentes, portanto estão mais relacionados à contaminação ambiental (CORDEIRO, 2006). Eles são moléculas orgânicas de origem biológica, e são úteis uma vez que sua estrutura complexa revela informações sobre os organismos de onde eles se originaram (MACHADO *et al.*, 2014).

Marcadores biológicos, tais como bactérias coliformes e estreptococos são amplamente utilizados para a determinação da poluição causada pelo aporte de esgoto doméstico em corpos d'água e sua quantificação é relativamente simples e rápida. No entanto, o uso de bactérias como marcadores é controverso, especialmente em regiões tropicais caracterizadas por altas temperaturas e chuvas frequentes. Diversos estudos relatam que o crescimento e a sobrevivência desses

biomarcadores são susceptíveis a fatores ambientais como temperatura da água, luz solar e precipitação. Outra desvantagem é o fato destes marcadores não serem capazes de distinguir as diferentes fontes de contaminação fecal (OLIVEIRA, 2012).

Marcadores químicos de poluição por esgoto doméstico aparecem como uma alternativa em relação aos métodos microbiológicos, pois são menos susceptíveis às mudanças ambientais. Alguns representantes da classe dos esteroides são os marcadores químicos mais citados em trabalhos envolvendo poluição fecal, humana e animal, e efluentes domésticos, podendo ser aplicados para examinar o histórico de poluição e seu transporte no ambiente aquático (OLIVEIRA, 2012).

3.5 ESTEROIS DE ORIGEM VEGETAL E FECAL

Esteroides são compostos biossintetizados em uma grande variedade estrutural e que apresentam um esqueleto carbônico básico constituído de 17 a 29 átomos de carbono, podendo apresentar grupos metílicos em especial nos carbonos 10 e 13. Apresentam um grupo hidroxila ligado na posição 3, o que lhes garante propriedades químicas semelhantes aos álcoois (BRAUN, 2006). Este grupo de compostos é encontrado nas membranas de organismos eucarióticos tais como animais, plantas, fungos e microorganismos (MACHADO, 2014)

Na tabela 1 são apresentados os nove principais esteroides identificados na literatura, seguido da sua estrutura química na figura 1.

TABELA 1: NÚMERO DE CARBONO, NOMENCLATURA USUAL E NOMENCLATURA OFICIAL DOS PRINCIPAIS ESTEROIS.

Número de átomos	Nome usual	Nome oficial
C ₂₇	Coprostanol	5β-colestan-3β-ol
C ₂₇	Epicoprostanol	5β-colestan-3α-ol
C ₂₇	Coprostanona	5β-colestan-3-ona
C ₂₇	Colesterol	colest-5-em-3β-ol
C ₂₇	Colestanol	5α-colestan-3β-ol
C ₂₇	Colestanona	5α-colestan-3-ona
C ₂₈	Campesterol	24-metilcolest-5-em-3β-ol
C ₂₉	Estigmasterol	24-etilcolest-5,22(E)-dien-3β-ol
C ₂₉	β-Sitosterol	24-etilcolest-5-em-3β-ol

FONTE: ADAPTADO DE BRAUN (2006)

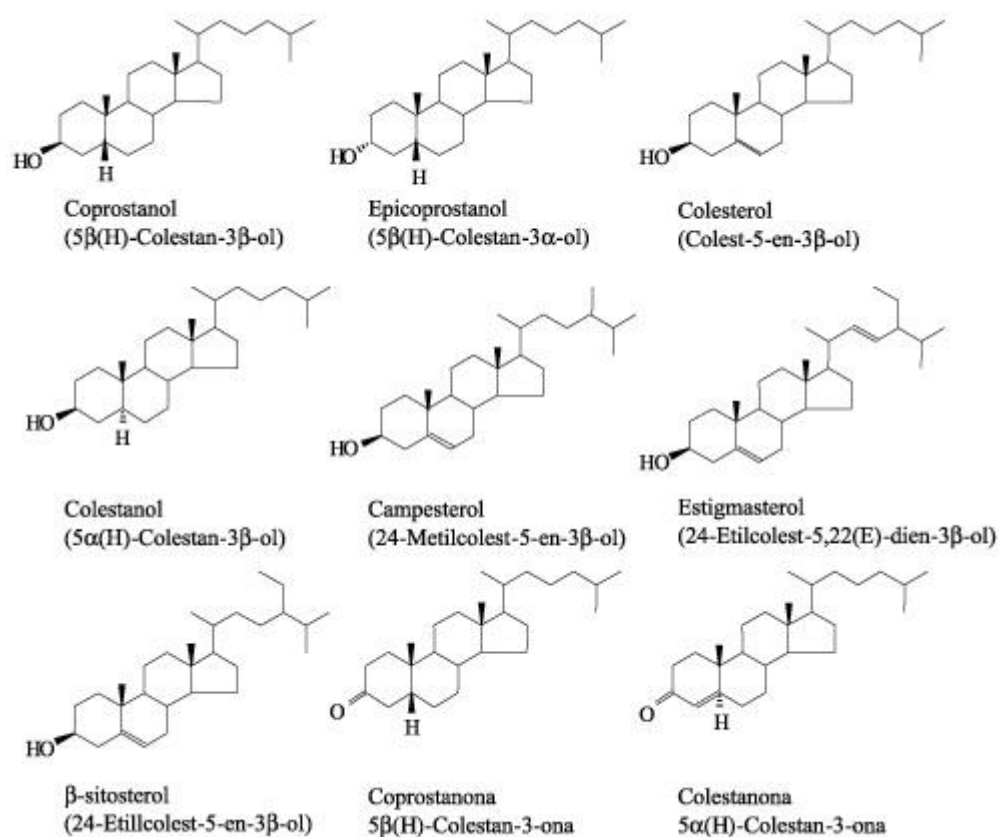


FIGURA 1: FIGURA 1: ESTRUTURA QUÍMICA DE ALGUNS ESTEROIS. FONTE: MARTINS *et al.*, (2008)

Os esteróis encontrados nos sedimentos de ambientes aquáticos podem ter sua origem relacionada a aportes naturais ou antropogênicos, sendo utilizados na identificação da matéria orgânica de origem fecal, assim como para distinguir a contribuição aquática ou continental da matéria orgânica sedimentar (BRAUN, 2006).

Segundo Martins (2008), alguns esteróis encontrados nos sedimentos podem ter sua origem de fontes naturais, podendo citar o dinosterol, colesterol, campesterol, β -sitosterol, β -sitostanol, colestanol, estigmasterol, estigmastanol, entre outros. São também encontrados, além desses de origem natural, o coprostanol e o epicoprostanol, sendo denominados esteróis fecais. Segundo Cordeiro (2006), os esteróis fecais são aqueles derivados do colesterol, produzidos ainda no trato intestinal de animais superiores.

A maioria dos esteróis fecais é encontrada em vários organismos como bactérias, algas, zooplâncton e protozoa, porém, o coprostanol não é encontrado em

organismos menores, sendo este o esteroide fecal prevalecente em fezes humanas. No adulto ele compreende de 24 a 89 % do total de esteroides (CORDEIRO, 2006).

De acordo com Cordeiro (2006), em temperatura ambiente o coprostanol é um sólido cristalino branco e seu ponto de fusão está entre 105 – 106 °C. É hidrofóbico e solúvel em solventes orgânicos como hexano, diclorometano, éter, clorofórmio e etanol. Muitos experimentos relatam a produção *in situ* deste esteroide através da redução direta do colesterol.

As taxas de excreção humana per capita variam de 82 a 1.272 mg de coprostanol por dia. As concentrações de coprostanol nas fezes humanas também são variáveis, numa média de 4,1 a 21,3 mg.g⁻¹. Entretanto, o coprostanol também pode ter outras fontes além das excretas humanas, o que faz com que possa ser encontrado em regiões onde não haja fonte conhecida de esgoto. São propostas duas possíveis fontes de coprostanol onde há ausência de esgoto: redução do colesterol *in situ* e fezes de mamíferos marinhos e terrestres (CORDEIRO, 2006).

Estudos mostram que existem diferenças consideráveis tanto no conteúdo como na composição de esteroides fecais entre muitos animais de sangue quente. A especificidade da fonte de esteroides fecais é causada por uma combinação de fatores principais. A primeira é a dieta do animal. Por exemplo, humanos, cães e ovelhas são onívoros, carnívoros e herbívoros, respectivamente. Em cada dieta existe um perfil de distribuição de esteroides, com diferentes compostos presentes ou em quantidades diferentes, de modo que as proporções de precursores de esteroide que entram no trato digestivo são diferentes. Em segundo lugar, mesmo com baixa ingestão dietética de esteroides, esteroides endógenos são biosintetizados por animais superiores e chegam ao aparelho digestivo. A combinação destes fatores confere aos esteroides o título de impressão digital de fezes de qualquer animal (LEEMING *et al.*, 1996).

3.6 ESTEROIS COMO BIOMARCADORES

Os esteroides podem ser utilizados como indicadores da presença de material fecal, inclusive indicando a sua origem, como apresentado na seção anterior. Os compostos da classe dos esteroides e estanoles são os biomarcadores químicos passivos mais utilizados em estudos sobre o aporte de esgotos, devido à especificidade com material fecal de origem humana. A maioria dos esteroides é pouco

solúvel em água (MARTINS *et al.*, 2008) e possuem natureza pouco polar e não iônica (OLIVEIRA, 2012), associando-se assim ao material particulado ou acumulando-se nos resíduos sólidos, como os sedimentos. A resistência à degradação anaeróbia possibilita o acúmulo e preservação de esteróis em sedimentos, o que viabiliza sua determinação.

Os esteróis podem ser usados para examinar o histórico de contribuições por esgoto em um corpo hídrico e sua distribuição, o transporte do esgoto no ambiente, além da idade do efluente. Esses esteróis são considerados a “impressão digital” do poluente, devido à sua distribuição em fezes humanas e, conseqüentemente por sua fonte específica ser causada por uma combinação da capacidade do animal em sintetizar seu próprio esterol e pela presença da microbiota intestinal no trato digestivo (MARTINS *et al.*, 2008b).

O coprostanol é um dos esteróis citados como indicador químico de contaminação fecal, devido à sua presença nas fezes de animais superiores, em particular, o homem (MARTINS *et al.*, 2008a). Neste sentido, o coprostanol (5 β -coleston-3 β -ol), tem sido largamente utilizado como biomarcador da contaminação fecal desde a década de 1960 (ARAUJO *et al.*, 2011).

O epicoprostanol, epímero do coprostanol, não está presente de forma significativa nas fezes humanas. Ele pode surgir a partir de processos de digestão aeróbica de lodos de estações de tratamento de esgotos. A presença de traços de epicoprostanol, desde que haja concentrações altas de coprostanol, sugere uma possível contaminação dos sedimentos por esgoto tratado (MARTINS *et al.*, 2008a).

A matriz de sedimentos tem sido utilizada para emprego de esteróis e razão de esteróis como biomarcadores, com intuito de identificar possível contaminação fecal humana por esgotos. Existe a possibilidade de utilizar tais razões para distinguir a fonte da contaminação fecal, se por fezes humanas ou animais (FURTULA *et al.*, 2012). É apresentada uma tabela proposta por Furtula *et al.* (2012), onde os autores identificam as possíveis razões de esteróis utilizadas na matriz de sedimento para identificação de contaminação fecal humana (TABELA 2).

TABELA 2: RAZÕES DE ESTEROIS PARA INDICAR POSSÍVEL CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA.

Razão	Contaminação fecal humana		
	Sim	Incerto	Não
Coprostanol / (Coprostanol + Colestanol)	>0,7	0,3 – 0,7	<0,3
(Coprostanol + Epicoprostanol) / (Coprostanol + Epicoprostanol + Colestanol)	>0,7	0,3 – 0,7	<0,3
Coprostanona / (Coprostanona + Colestanona)	>0,7	0,3 – 0,7	<0,3
Epicoprostanol / Coprostanol	<0,2	0,2 – 0,8	>0,8
Coprostanol / Colesterol	>0,5	–	<0,5
Coprostanol / Colestanol	>0,5	0,3 – 0,5	<0,3
Coprostanol / (Colestanol + Colesterol)	>0,2	0,15 – 0,2	<1,5
Coprostanona / Coprostanol	<0,5	–	>1
Coprostanol / Epicoprostanol	>1,5	–	<1,5

FONTE: ADAPTADO DE FURTULA *et. al.* (2012)

Visando a investigação ambiental, diversos autores tem empregado o uso de esteroides como biomarcadores para a construção de um perfil histórico dos acontecimentos em um bacia hidrográfica, visto que estes compostos se acumulam e são preservados nos sedimentos. Leeming *et al.* (1996) encontraram concentrações características de esteroides em diferentes animais, onívoros, herbívoros e carnívoros. A quantificação destes compostos viabiliza a identificação das fontes de onde foram gerados, permitindo assim um levantamento acerca do uso e ocupação da região onde a matriz está inserida.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo, onde foi realizada a coleta das amostras, localiza-se no lago do Parque Arthur Thomas, situado na microbacia hidrográfica do Ribeirão Cambé, que localiza-se predominantemente no Município de Londrina – PR, estando uma pequena parte situada no Município de Cambé. A microbacia apresenta área de aproximadamente 75 km², tendo suas nascentes próximas ao trevo da BR 369 e desaguando no Ribeirão Três Bocas, após percorrer um trajeto de cerca de 26 km. Engloba parte do núcleo urbano da cidade de Londrina, alimentando os lagos Igapó I, II, III, IV e V para finalmente desaguar no lago do Parque Arthur Thomas (ROCHA, 1995) (FIGURA 2), tornando este um lago susceptível aos aportes advindos do uso e ocupação da Bacia (VIEIRA, 2016).

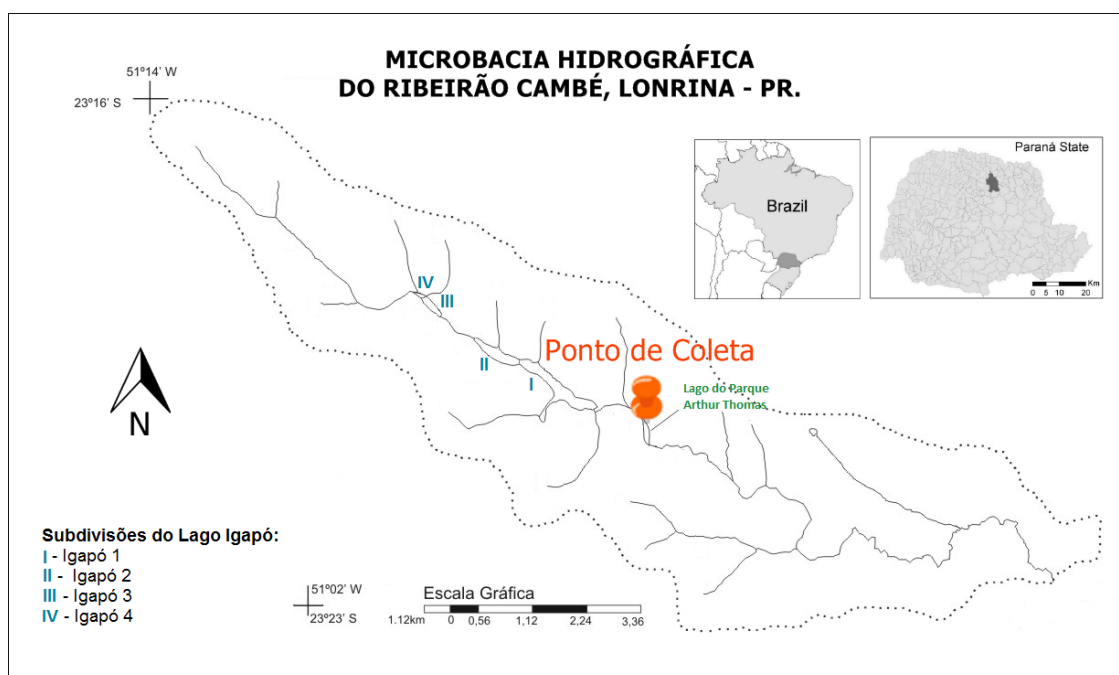


FIGURA 2: MAPA DE LOCALIZAÇÃO DO PONTO DE COLETA NO LAGO ARTHUR THOMAS.

4.2 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

Em fevereiro de 2013 foi realizada a coleta do sedimento a 5 m de profundidade de coluna d'água em um ponto central do lago (VIEIRA, 2015) por ser a região mais profunda. Foram coletados quatro testemunhos de sondagem em

tubos de PVC de 5 cm de diâmetro na posição vertical, até que se atingisse a rocha no fundo do lago (FIGURA 3). Os testemunhos de sedimento de 70 cm de altura foram armazenados em caixas de isopor contendo gelo até o armazenamento apropriado em freezer. Cada testemunho foi segmentado e identificado de 2 cm em 2 cm sendo misturados os segmentos dos quatro testemunhos de acordo com sua profundidade para gerar maior volume de amostra para cada faixa de profundidade considerada. A numeração começou do fundo do lago até a parte mais profunda do sedimento. Para o presente trabalho selecionou-se todas as amostras da profundidade de 00 cm até 10 cm. Após este intervalo, foram selecionadas amostras intercaladas desde a profundidade 12 cm até 70 cm, gerando um total de 20 amostras. No laboratório, cada segmento foi liofilizado, macerado e armazenado em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para análises posteriores.



FIGURA 3: IMAGENS DA COLETA DOS TESTEMUNHOS DE SEDIMENTO NO LAGO. FONTE: VIEIRA (2016)

As etapas que se seguem foram realizadas com as 20 amostras. Toda a vidraria utilizada nos procedimentos a seguir foi levada à mufla a $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 horas para queima de toda matéria orgânica existente.

4.3 DATAÇÃO CRONOLÓGICA

A datação cronológica foi realizada no laboratório do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo – USP. As 20 amostras foram secas em temperatura ambiente até peso estável, maceradas e foi calculado teor de umidade para cada amostra, segundo a metodologia da USEPA (1996). Para a determinação da taxa de sedimentação, 5 g de cada amostra do testemunho foram transferidos para um suporte circular de polietileno usado em espectrômetro gamma EG&G ORTEC® (hyper-pure Ge, model GMX25190P) seguindo método descrito por Figueira (2000).

Para o cálculo da razão de sedimentação foram utilizados dois modelos matemáticos, o Constant Initial Concentration (CIC) e o Constant Rate of Supply (CRS). A datação das amostras foi estabelecida considerando o comprimento do núcleo (VIEIRA, 2016)

A precisão e exatidão da metodologia foram avaliadas através da determinação dos radionuclídeos de interesse, ^{210}Pb , ^{226}Ra e ^{137}Cs , em três materiais de referência certificados IAEA-326 (solo), IAEA-327 (solo) e IAEA-385 (sedimento marinho). A precisão foi verificada usando desvio padrão relativo (RSD), e precisão foi avaliada utilizando o erro relativo (RE) dos dados gerados a partir dessas medições. As concentrações de atividade obtidas para o radionuclídeo foram certificadas de que estavam próximas aos valores reportados com desvios médios e erros não superiores a 6%.

A idade de deposição da amostra (I) foi estabelecida utilizando a profundidade da amostra no núcleo (Z), o tempo de recolha do núcleo (A_0) e a taxa de sedimentação (V), de acordo com a equação 1, considerando a coleta no ano de 2013 (VIEIRA, 2016).

$$I = A_0 - \frac{V}{Z} \quad (1)$$

4.4 ANÁLISES DE NITROGÊNIO, FÓSFORO E CARBONO ORGÂNICO TOTAL

4.4.1 Nitrogênio Total Digerido

A análise de nitrogênio total nas amostras foi realizada de acordo com metodologia proposta por Smart *et al.*, (1983). Após pesar 0,05 g de amostra em

frascos de digestão de 10 mL, adicionou-se 5 mL de solução digestora $K_2S_2O_8/NaOH$ $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, permanecendo por 25 min em autoclave, foi feita também análise em dois brancos, contendo somente água destilada e solução digestora. Após resfriamento, as amostras foram transferidas para tubos falcom de 15 mL, aferiu-se com água destilada e foram submetidas a centrifugação a 1000 rpm por 3 min. O sobrenadante foi colocado em balão volumétrico de 50 mL, adicionou-se 1 mL de tampão borato, 10 mL de EDTA diluído, aferiu-se com água destilada, foi homogeneizado e passado na coluna de cádmio onde foi coletado 5 mL, adicionou-se reativo para NO_2 . Após 10 min foi realizada a leitura da absorbância no espectrofotômetro UV-Vis selecionando o comprimento de onda $\lambda = 880 \text{ nm}$.

4.4.2 Fósforo Total (PT) e Fósforo Inorgânico (PI)

As análises de fósforo foram realizadas de acordo com Andersen (1976). Para cada procedimento que se segue foram pesados 0,5 g de cada amostra de sedimento previamente seco.

Para análise de fósforo inorgânico nas amostras adicionou-se 25 mL de HCl 1 mol.L^{-1} com o qual permaneceu por agitação durante 16 horas. Na análise de fósforo total, as amostras foram previamente calcinadas em frascos de vidro em mufla por 1h30min a $550 \text{ }^\circ\text{C}$ para queima da matéria orgânica, onde, após o resfriamento, adicionou-se 25 mL de HCl 1 mol.L^{-1} permanecendo por 45 min em chapa de aquecimento entre $150 - 180 \text{ }^\circ\text{C}$, sem permitir secura. Em seguida, em ambas as análises, as amostras foram centrifugadas por 3 min a 1000 rpm. O sobrenadante foi transferido para balão volumétrico de 50 mL e foi aferido com água deionizada. Para cada amostra, utilizando 10 mL de solução adicionou-se 2 mL de MIX reativo para fósforo. Após 10 min foi realizada a leitura da absorbância no espectrofotômetro UV-Vis selecionando o comprimento de onda $\lambda = 880 \text{ nm}$.

4.4.3 Carbono Orgânico Total – COT

A análise de carbono orgânico total nas amostras foi realizada de acordo com metodologia descrita por Mater *et al.* (2004). Foram pesados aproximadamente 2 g de cada amostra e submetidas a digestão ácida com HCl 1 M a $150 \text{ }^\circ\text{C}$ em chapa de aquecimento, até secura completa para retirada do carbono inorgânico.

Após este processo, pesou-se 0,2 g de cada amostra em triplicata já seca e foi realizada a análise do teor de carbono orgânico total no equipamento Shimadzu SSM-5000A Solid Sample Module, com forno a 900 °C.

4.5 ANÁLISE DE ESTEROIS

4.5.1 Extração

Para a extração dos compostos orgânicos, utilizou-se metodologia proposta por USEPA 3545 referente à análise de hidrocarbonetos em amostras ambientais (CARREIRA *et al.* 2009), com extração ultrassônica.

Pesou-se 1 g de cada amostra. Em seguida, foi adicionado 10 ml da solução extratora diclorometano/metanol (2:1 v/v). Para homogeneização completa, agitou-se em vórtex por 1 min seguido por 10 min em ultrassom. Posteriormente, permaneceu por 6 min no processo de centrifugação a 4500 rpm e o sobrenadante de cada amostra foi transferido para balão de evaporador rotativo. Este procedimento foi realizado quatro vezes para cada amostra, resultando em uma alíquota de 40 ml cada. O volume total (extrato) foi concentrado a 2 mL em evaporador rotativo. Em seguida, foi adicionado às amostras cobre ativado para retirada do enxofre. Para ativação do cobre, o mesmo foi deixado de molho por 20 min em HCl 10%, em seguida foi realizado enxágue dez vezes com água destilada, três vezes com metanol, três vezes com metanol/diclorometano (1:2 v/v) e três vezes em diclorometano com o qual foi armazenado para uso posterior. A troca do cobre foi feita sempre que necessário, observando sua oxidação, até a retirada de todo enxofre das amostras e então levadas à secura sob fluxo lento de nitrogênio comprimido. Na figura 4 são apresentadas as fotos tiradas durante o processo de extração e adição de cobre ativado.



FIGURA 4: PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO: A) ADIÇÃO DE SOLUÇÃO SOLVENTE; B) HOMOGENEIZAÇÃO EM VORTEX; C) EXTRAÇÃO ULTRASSÔNICA; D) CENTRIFUGAÇÃO; E) CONCENTRAÇÃO EM ROTAVAPOR; F) ADIÇÃO DE COBRE ATIVADO.

4.5.2 *Clean-up*

Em cada vial, contendo extrato, foi adicionado 0,2 g de alumina e 1 mL de diclorometano. Para total adsorção do extrato na alumina, agitou-se em 3 pulsos de 30 segundos em vórtex seguido de 10 min em ultrassom. Os extratos adsorvidos foram transferidos para o topo das colunas cromatográficas, em pipeta Pasteur, preparadas com lã de vidro, sílica gel e sulfato de sódio.

No fracionamento utilizou-se solventes distintos para eluição das amostras nas colunas. Primeiramente adicionou-se 4 mL de hexano no topo da coluna, esta primeira fração liberada foi a de n-alcenos. Em seguida, 4 mL de diclorometano, esta segunda fração foi de HPAs. Finalmente, adicionou-se 4 mL de metanol/acetato de etila (1:4 v/v), nesta última fração saíram esteróis, os biomarcadores fecais desejados. Na figura 4 é apresentado um esquema simplificado dos processos de extração e *clean-up* realizados nas amostras.

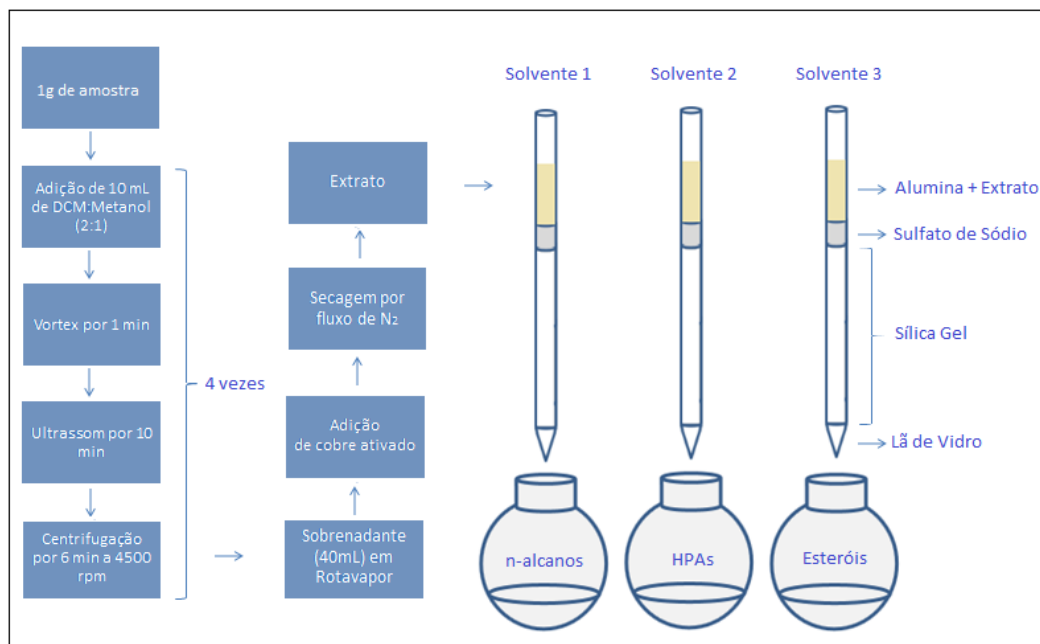


FIGURA 5: ESQUEMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E CLEAN-UP DE ESTEROIS.

4.5.3 Derivação

Os extratos de esteróides obtidos do item anterior foram levados à secura sob fluxo de nitrogênio juntamente com aquecimento à 40 °C em Dry Block. Em seguida, foi adicionado N, O-bis (trimetil – silil – triflúor – acetamida)/(trimetil – cloro – silano) (BSTFA/TMCS – 99:1) e aquecido à 70°C por 2 horas para a reação de derivação. Após, os extratos derivados foram analisados em um prazo limite de até 24 horas por cromatografia a gás em GC – MS, duração aproximada da estabilidade da reação.

4.5.4 Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS)

Após a etapa de derivação, no Laboratório de Pesquisas Hidrogeológicas – LPH, as amostras foram secas através de fluxo de nitrogênio em chapa de aquecimento à 40 °C e dissolvidas em 200 µL de hexano, para posteriormente ser injetado no cromatógrafo a gás com espectrômetro de massa (GC – MS) cedido para utilização. O volume injetado foi de 1 µL, injeção única. Foi utilizada uma coluna cromatográfica ZB-5MS com dimensões de 30 m x 0,25 mm, 0,25 µm de diâmetro interno e He como gás de arraste.

A análise cromatográfica dos compostos orgânicos de interesse foi realizada segundo metodologia descrita por Sanz *et al.*, (2014). Para isto, foi necessária a devida otimização do processo anterior às análises, que consistiu em: 1) preparação de padrões de esteroides em diferentes concentrações para sua posterior quantificação; 2) detecção dos tempos de retenção de cada padrão de esteroide; 3) otimização da rampa de aquecimento do cromatógrafo gasoso (GC – MS) para melhor separação dos compostos nos cromatogramas gerados. O GC – MS foi configurado de acordo com as tabelas 3 e 4.

TABELA 3: RAMPA DE AQUECIMENTO DO GC-MS PARA ANÁLISE DOS ESTEROIS

Temperatura Final (°C)	Taxa de Aquecimento (°C/min)	Tempo de Espera (min)	Tempo Total (min)
100	-	1,00	1,00
250	12,0	0,00	13,5
300	2,0	4,00	42,5

TABELA 4: CONFIGURAÇÃO DO GC - MS PARA ANÁLISE DOS ESTEROIS

Temperatura Injetor (°C)	Transferline (°C)	Íon Trap (°C)	Gás de arraste
250	320	200	He – 1 mL/min

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RAZÕES ENTRE ELEMENTOS BIOGÊNICOS

Na figura 6 são apresentados os resultados das razões entre elementos biogênicos, como função da profundidade e datação das amostras. Esses parâmetros são influenciados diretamente por atividades humanas, como desmatamento e esgoto tratado e não tratado (MACHADO *et al.*, 2014). Ambas as razões de COT/NT, COT/PT e NT/PT seguem uma tendência e perfis semelhantes, onde os valores aumentam com a diminuição da profundidade.

As razões COT/NT variam entre 0,9 e 16,6, onde os valores mais altos se concentram nos sedimentos mais recentes, 18 e 28 cm, com alguns picos observados em pontos específicos nas profundidades de aproximadamente, 38, 55 e 65 cm. A razão de Redfield obtida a partir da composição da matéria orgânica, normal para COT/NT, é entre 6,6 e 10 (FROEHNER e MARTINS, 2008). Estes valores são atribuídos ao fitoplâncton e à produtividade primária (MACHADO *et al.*, 2014). Segundo Froehner e Martins (2008), esta mesma razão permite inferir quanto à origem da matéria orgânica, razões entre 10 e 100 são atribuídos a plantas terrestres, e madeiras apresentam razão entre 100 e 1000. Os valores obtidos sugerem que em grande parte do espaço temporal estudado, a matéria orgânica teve sua origem de fonte terrígena. Entre estas fontes de matéria orgânica, os detritos originários do desmatamento são as principais causas de entrada de nutrientes nos lagos e rios porque as plantas são removidas e arrastadas por toda a bacia hidrográfica e o solo é exposto, contribuindo para a erosão na bacia hidrográfica. Com isso, os valores da razão COT/NT acima de 10 parecem estar relacionados à remoção de vegetação no entorno do lago, seja por desmatamento ou queimadas.

Segundo Spera (2012), a granulometria é outro fator que interfere na razão COT/NT. Sedimentos com maior teor de areia podem conter uma proporção maior de detritos de plantas terrestres intactas, resultando em valores de COT/NT mais altos. Por outro lado, em sedimentos mais finos, em função da maior superfície de contato e carga elétrica negativa, pode ocorrer a adsorção da amônia, gerando razões mais baixas.

De maneira semelhante, as razões COT/PT também estão fora do valor previsto por Redfield (FROEHNER e MARTINS 2008) o qual se aproxima de 100. Os

valores obtidos foram significativamente mais baixos, variando de 2,4 à 39,6 mg/g, com a diminuição da profundidade. Estes resultados demonstram claramente um aumento na concentração de fósforo total conforme a profundidade aumenta, o qual pode ser atribuído à contaminação por esgotos.

As razões NT/PT estão entre 0,4 e 2,5 mg/g. Segundo as razões de Redfield, NT/PT deve ser próxima a 16 (FROEHNER e MARTINS 2008), com isso, observa-se claramente que tanto fósforo como nitrogênio são abundantes, cenário típico onde se tem interferências antrópicas, porém com uma tenência de crescimento ao longo do tempo, o que está de acordo com os resultados das razões anteriores, COT/NT e COT/PT, onde os maiores indícios de interferências data de sedimentos mais recentes com alguns picos antigos nas profundidades de aproximadamente 38, 50 e 55 cm.

Considerando os sedimentos sem contaminação de esgoto, o conteúdo de PI representa aproximadamente 60% do PT (MACHADO *et al.*, 2014), onde valores de PI/PT acima de 0,6 demonstram um aporte maior de PI, o qual é atribuído à contaminação por esgotos domésticos ou uso de fertilizantes. Neste estudo, a razão PI/PT coincide com os resultados das razões já apresentadas.

A partir das razões de parâmetros biogeoquímicos, COT, NT, PT e PI, sabe-se que o cenário é de interferência antrópica, com aportes de material terrígeno que podem ser provenientes de desmatamento ou queimadas e possível entrada de esgotos domésticos ou nutrientes provenientes de atividades agrícolas.

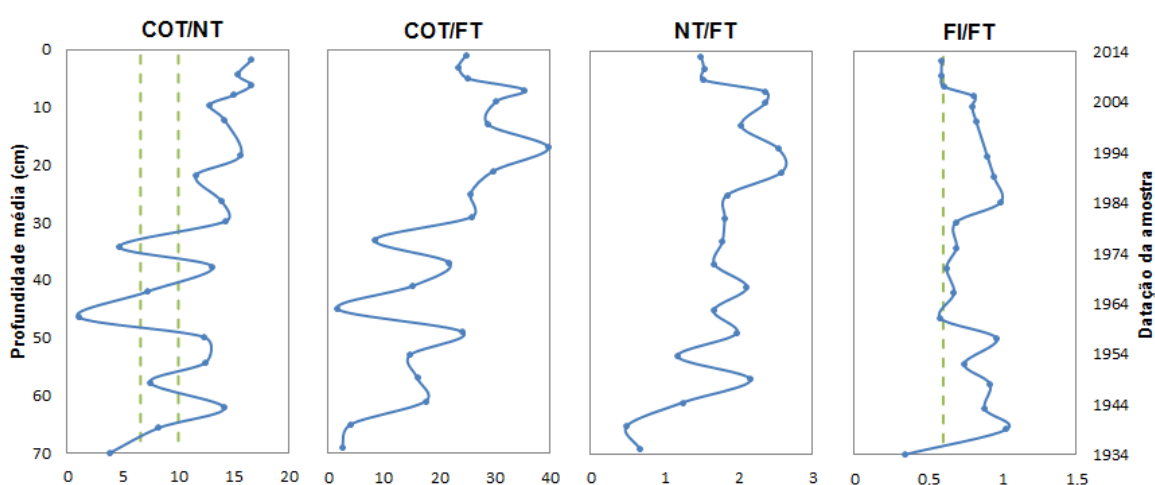


FIGURA 6: RAZÕES DE NUTRIENTES EM RELAÇÃO À PROFUNDIDADE E DATAÇÃO DO TESTEMUNHO.

5.3 ESTEROIS

O testemunho de 70 cm, equivalente à aproximadamente 80 anos, foi fracionado como descrito anteriormente, gerando um total de vinte amostras. A tabela apresenta a concentração em μg de esterol por grama de sedimento para cada amostra analisada.

TABELA 5: CONCENTRAÇÃO DOS ESTEROIS AO LONGO DO TESTEMUNHO DE SEDIMENTO

Profundidade média (cm)	Datação	Coprostanol ($\mu\text{g/g}$)	Epicoprostanol ($\mu\text{g/g}$)	Colesterol ($\mu\text{g/g}$)	Colestanol ($\mu\text{g/g}$)	Sitosterol ($\mu\text{g/g}$)	Estigmastanol ($\mu\text{g/g}$)
1	2012	0,00	0,00	1,41	0,00	1,36	1,07
3	2009	0,00	0,00	0,02	0,00	0,28	0,30
5	2007	0,00	0,00	0,19	0,00	0,86	0,66
7	2005	0,00	0,00	0,09	0,00	1,10	0,90
9	2003	0,00	0,00	0,24	0,00	1,24	0,70
13	2000	1,41	0,00	0,20	0,00	2,21	2,18
17	1993	0,02	0,00	0,41	0,52	6,55	6,64
21	1989	0,86	0,00	1,52	1,27	12,21	12,76
25	1984	0,00	0,00	0,46	0,38	6,41	6,13
29	1980	5,15	0,00	3,77	1,45	7,88	10,64
33	1975	3,82	0,01	2,85	1,89	3,55	6,68
37	1971	2,56	0,06	1,10	2,74	5,57	10,44
41	1966	6,55	0,17	4,27	6,04	17,22	16,70
45	1961	2,16	0,13	1,35	1,63	17,42	18,10
49	1957	13,02	0,23	3,79	3,81	45,68	43,25
53	1952	8,24	0,17	5,40	6,20	203,07	94,31
57	1948	27,13	0,34	3,84	6,02	45,67	48,70
61	1943	12,66	0,33	3,02	5,51	36,22	42,87
65	1939	16,51	0,66	3,23	9,61	136,46	96,64
69	1934	15,30	0,45	3,24	8,61	42,43	56,69

Dentre as razões de esteróis reportadas na literatura foram selecionadas quatro que podem ser utilizadas para inferir quanto à contaminação fecal humana, razões entre coprostanol, epicoprostanol que é epímero do coprostanol, colestanol, colesterol e estigmastanol. Os resultados de duas razões de esteróis que indicam contaminação fecal humana são apresentados na Figura 7. O perfil em azul representa a razão de esteróis.

Furtula *et al.* (2012) atribui à razão 1, $(\text{Coprostanol} + \text{Epicoprostanol}) / (\text{Coprostanol} + \text{Epicoprostanol} + \text{Colestanol})$, (FIGURA 7) um limite máximo de 0,7, onde acima deste valor a contaminação fecal humana é certa. Assim, a resposta do testemunho analisado para a razão 1 apresentou quatro pontos onde a razão

ultrapassa o limite, 15, 30, 50 e 60 cm. De maneira semelhante, a razão 2 (Coprostanol) / (Colestonol + Colesterol) (FIGURA 7) apresenta os mesmos quatro pontos onde os valores ultrapassam o limite máximo para a razão de 0,2 estabelecido por Furtula *et al.* (2012). As amostras datadas de 1997, 1980, 1957 e 1943, desta forma, são caracterizados pela contaminação fecal de origem humana.

Os resultados obtidos por ambas as razões de esteroides estão coerentes entre si, apresentando nas duas razões quatro pontos onde a contaminação fecal humana é certa. As profundidades 15, 30, 50 e 60 cm datam de meados de 1997, 1980, 1957 e 1943 respectivamente. O pico mais recente, datado de 1997 foi o que obteve a maior razão, conseqüentemente o período de maior contaminação fecal humana, com início em 1993, registrada pelos marcadores através da entrada de esgoto doméstico.

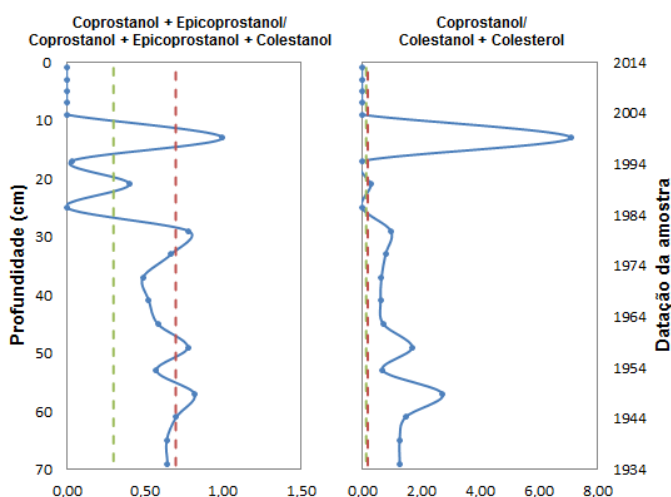


FIGURA 7: RAZÕES DE ESTEROIS PARA IDENTIFICAÇÃO DE CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA. INFERIOR À LINHA VERDE: SEM CONTAMINAÇÃO. SUPERIOR À LINHA VERMELHA: COM CONTAMINAÇÃO. VALORES INTERMEDIÁRIOS: DIAGNÓSTICO INCERTO.

Na figura 8 são apresentadas duas razões com as quais se pode inferir quanto à contaminação fecal de origem humana ou animal.

A razão 3, (Coprostanol + Epicoprostanol) / Colesterol), (FIGURA 8) dada por Furtula *et al.* (2012) sugere que valores abaixo do valor mínimo é proveniente de contaminação fecal humana. Para esta razão, o testemunho indicou tal contaminação na profundidade 18 cm, datada do período por volta de 1994. De maneira semelhante, a razão 4, (Coprostanol) / (Coprostanol + Stigmastanol), (FURTULA *et al.*, 2012) indica contaminação fecal humana para o mesmo período

na profundidade de aproximadamente 18 cm. Existem outros pontos onde as razões 3 e 4 estão abaixo do valor mínimo, porém, para estes outros pontos sabe-se que os valores foram zero, pois não se detectou a presença de coprostanol, não caracterizando contaminação fecal de origem humana.

Ambas as razões 3 e 4, apresentam contaminação fecal de origem animal a partir da profundidade 30 cm, com razões cada vez maiores conforme a profundidade aumenta. Segundo Furtula *et al.* (2012), para a razão 3, valores acima de 0,1 sugerem contaminação fecal proveniente de gado, cavalo ou cervo. Por outro lado, valores acima de 1,5 para a razão 4, indicam contaminação fecal de porco, galinha ou vaca. Neste sentido, o testemunho indica contaminação fecal animal presente em grande parte do espaço temporal estudado. A presença de contaminação fecal de origem humana somente é detectada por volta de 1993. Esta data coincide com um ponto das razões 1 e 2 onde observou-se o início da maior razão indicativa de contaminação fecal de origem humana.

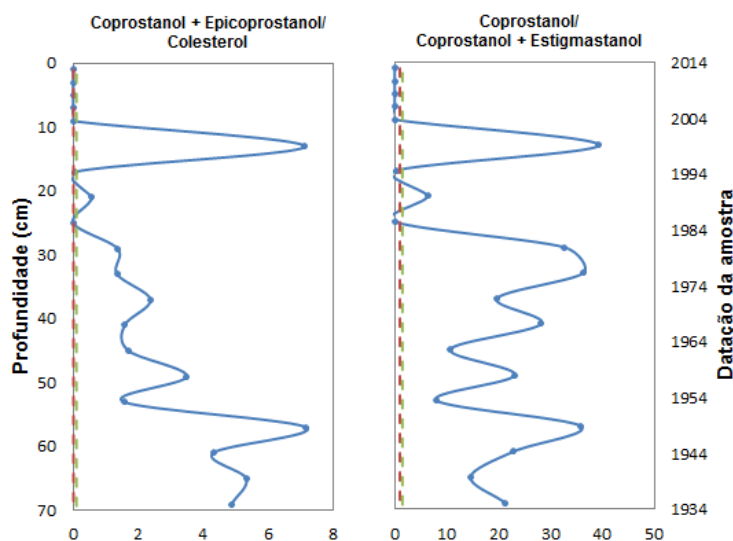


FIGURA 8: RAZÕES DE ESTEROIS PARA IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA E ANIMAL. INFERIOR À LINHA VERMELHA: COM CONTAMINAÇÃO FECAL HUMANA. SUPERIOR À LINHA VERDE: COM CONTAMINAÇÃO FECAL ANIMAL.

A utilização de esteroides como biomarcadores também se dá por sua quantificação individual. Existem esteroides que são abordados na literatura por sua origem, provenientes de plantas aquáticas emergentes e plantas terrestres, como é o caso do sitosterol. (MEYER e ISHIWATARI, 1993), este também é encontrado em fezes de animais herbívoros (LEEMING *et al.*, 1996). O estigmastanol é um produto

da redução microbiana do sitosterol em ambiente natural (SÁNES, *et al.*, 2016), com isso, a identificação de ambos sugere a entrada de plantas terrestres no meio aquático além da existência de animais herbívoros próximo ao corpo hídrico.

Leeming *et al.* (1996) atribuiu ao sitosterol e ao estigmastanol intervalos de valores indicativos da sua origem quando de fezes de animais herbívoros ou humanos. A tabela 6 apresenta tais intervalos.

TABELA 6: CONCENTRAÇÃO DE SITOSTEROL E ESTIGMASTANOL EM FEZES DE ANIMAIS E HUMANOS

Esterol	Gado (µg/g)	Cavalo (µg/g)	Ovelha (µg/g)	Humano (µg/g)
Sitosterol	153 - 221	170 - 266	140 - 252	106 - 136
Estigmastanol	36 - 50	9 - 13	31 - 41	5 - 9

FONTE: ADAPTADO DE LEEMING *et al.* (1996)

Na figura 9 são apresentados os perfis de concentração em µg de sitosterol e estigmastanol por grama de sedimento seco ao longo do testemunho. Ambos os perfis indicam um aporte maior destes esteróis na profundidade de aproximadamente 53 e 65 cm, datados de meados de 1954 e 1939 respectivamente.

O primeiro pico começa a crescer em meados de 1934, atingindo a maior concentração por volta dos anos 1939 e decrescendo até 1944, onde tem início o crescimento do segundo pico, o qual atinge a máxima concentração em 1954 e decresce rapidamente até 1964 a partir do qual decréscimo passa a ser lento sem maiores concentrações até os dias atuais. A alta concentração nestes dois períodos indicam uma maior entrada de plantas terrígenas no lago e sua consequente degradação, além da contaminação por fezes de animais herbívoros.

A partir das das concentrações de sitosterol, pode-se observar na profundidade de 65 cm contaminação por fezes de animais, que podem ser tanto de gado e ovelha, como de humano. No intervalo de 50 à 55 cm, observa-se, além destes, a possível contaminação por fezes de cavalo. O perfil obtido pelo estigmastanol apresenta possível contaminação por fezes de gado e ovelha nas profundidades de 55 e 65 cm, com possível contaminação por fezes humana observada na profundidade de 18 cm, o que se é coerente com o apresentado nas razões 1, 2, 3 e 4.

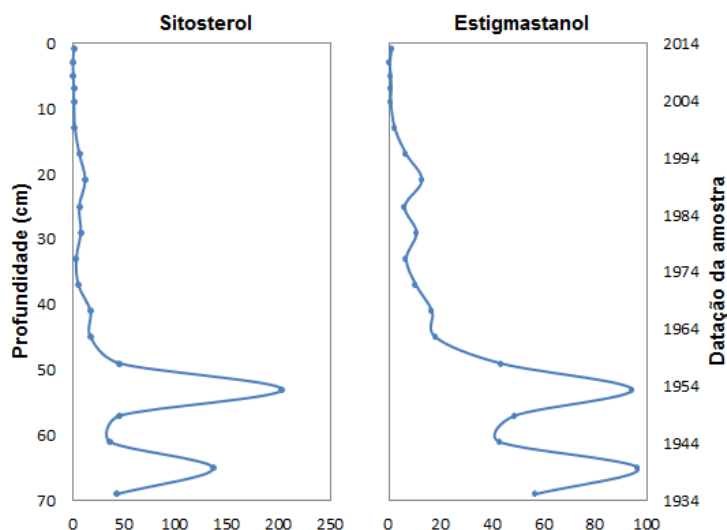


FIGURA 9: ESTEROIS CARACTERÍSTICOS DE PLANTAS VASCULARES E FEZES DE HERBÍVOROS.

5.4 A HISTÓRIA DA CIDADE REGISTRADA NOS SEDIMENTOS

Em 1929 chegou a primeira expedição da Companhia de Terras Norte do Paraná ao local denominado Patrimônio Três Bocas, no qual o engenheiro Dr. Alexandre Razgulaeff fincou o primeiro marco nas terras onde surgiria Londrina. A criação do Município ocorreu cinco anos mais tarde, através do Decreto Estadual n.º 2.519, assinado pelo interventor Manoel Ribas, em 3 de dezembro de 1934 (COLONIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DO NORTE DO PARANÁ), ano de datação da amostra mais antiga analisada neste trabalho, de forma a contemplar toda a história da cidade.

Em 1939 foi construído o lago do Parque Arthur Thomas (figura 10), para o funcionamento de uma usina hidroelétrica que abasteceu a cidade de 1939 a 1967 (VIEIRA, 2016). O Sedimento de profundidade 65 cm data de 1939. Seus resultados demonstram um aumento significativo na entrada de plantas terrestres e possível contaminação por esgotos, visto um aporte maior de fósforo inorgânico na razão FI/FT. Todas as razões de esteróis apresentadas também apontaram contaminação fecal de origem humana nesta época, por volta de 1940, além de contaminação fecal por fezes de animais, como gado. Isto é coerente com a história da região, pois o lago estava sendo formado. Toda a mão de obra no seu entorno possivelmente gerou desmatamento e deposição do material terrígeno no solo que tempos depois se tornariam o sedimento do corpo hídrico pela inundação como mostrado na figura

10, além do carregamento deste material para dentro do lago pelo escoamento superficial.



FIGURA 10: CONSTRUÇÃO DA USINA CAMBÉZINHO E A BARRAGEM E CASA DE MÁQUINAS.
FONTE: (VIEIRA, 2016).

Ainda na década de 40, a história relata que em 1943, com o Decreto Lei n.º 93 aprovado em 12 de outubro, iniciou a verticalização em Londrina, onde a vegetação natural rapidamente era substituída por inúmeras construções (VIEIRA, 2016). Aqui o desmatamento apontado pela entrada de material terrestre no lago fica mais evidente, além da possível contaminação fecal humana observada na profundidade 60 cm, visto que a população total nesta época era de aproximadamente 30 mil habitantes nas zonas urbana e rural, e que se trata da ocupação de terras sem ainda um planejamento de coleta de esgoto previsto para o local, gerando contaminação através do escoamento superficial.

A década de 50 foi denominada como “os anos dourados” da cidade, época em que Londrina ficou conhecida como a Capital Mundial do Café (VIEIRA, 2016). Neste período a população da cidade passava de 70 mil habitantes onde a principal atividade era a agricultura. O sedimento de profundidade 55 cm data deste período. Nele se observou a existência de contaminação por esgotos, o que é atribuído ao crescente aumento da população, e a entrada de aportes de FI, que possivelmente foi proveniente do uso de fertilizantes na agricultura ou também por esgotos domésticos. Independente da fonte sabe-se que aportes foram detectados. Razões de nutrientes indicando fontes de plantas terrestres também foram encontradas

neste período, possivelmente por desmatamento para utilização de terras na agricultura.

A década de 60 foi caracterizada pela construção do Lago Igapó na região central da cidade, bem como pela decadência da cultura cafeeira e o êxodo rural e pela introdução da lei de zoneamento. A decadência da cultura cafeeira e sua substancial substituição pela plantação de soja e trigo e a consequente modernização da agricultura, possibilitaram a continuidade do processo de verticalização londrinense (VIEIRA, 2016). Os sedimentos de profundidade 40 e 45 cm datam desta época. Neles houve a detecção novamente de entrada de plantas terrestres no lago e altos valores para a razão FI/FT. O contexto histórico desta época corrobora com os resultados, onde a agricultura continua sendo a principal atividade da cidade, com desmatamento e exposição do solo além da possível utilização de fertilizantes, os quais aumentam as concentrações de FI no lago.

Semelhante à década anterior, segundo Vieira (2016) a década de 70 foi marcada por uma maior ocupação na cidade, especialmente nos arredores do lago Arthur Thomas, nesta fase a cidade já possuía plano Diretor. As amostras de profundidade 38 cm, datadas desta época, apresentaram os mesmos indícios de plantas terrestres, caracterizando desmatamento não havendo a observação de contaminação fecal de origem humana, o que pode ser observado pelas razões de esteróis e pela razão FI/FT.

Segundo Tows (2009), a década de 80 foi caracterizada pelo intenso desenvolvimento londrinense, em especial na construção civil e a intensificação do processo de verticalização. Com um total de mais de 390 mil habitantes, esta foi a fase mais representativa em termos de número de edifícios construídos em Londrina, 801 edifícios, e a área urbana atingiu 84,9 km². Como esperado para este período, as razões 1, 2, 3 e 4 e FI/FT detectaram contaminação fecal humana, consequência da maior demanda de esgotos a serem tratados. De acordo com Vieira (2016), ao final do ano 1990 a cidade já se encontrava com a região dos lagos urbanos boa parte ocupada por residências, comércios e pequenas indústrias.

O sistema de esgotamento sanitário do município de Londrina é composto por mais de 1000 km de rede coletora de esgotos com cinco estações de tratamento de esgotos em operação (PLANO MUNICIPAL DE SANEAMENTO BÁSICO DE LONDRINA – PR, 2015). A figura 11 apresenta as cinco estações de tratamento de esgoto em operação na cidade.

Estação de Tratamento	Bacia	Capacidade Nominal (L/s)		Início de operação	Tipo de tratamento	Tratamento do lodo	Corpo receptor
		Média	Máxima*				
Norte	Lindóia	400	800	1996	RALF/filtro/decantadores	Leitos de secagem/desaguamento	Ribeirão Lindóia
Sul	Cambé	400	800	1991	RALF/filtro/decantadores	Leitos de secagem/desaguamento	Ribeirão Cambé
São Lourenço	Cambé	55	110	1996	RALF / Lagoa	Leitos de secagem	Córrego Cristal
Cafezal	Cafezal	55	110	1996	RALF / Lagoa	Leitos de secagem	Ribeirão Cafezal
Esperança	Esperança	160	320	2012	UASB / Filtro	Leitos de secagem/desaguamento	Ribeirão Cafezal
Total		1.070	2.140				

FIGURA 11: ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTO EM OPERAÇÃO EM LONDRINA.
 FONTE: PLANO MUNICIPAL DE SANEAMENTO BÁSICO DE LONDRINA

A área de estudo está localizada na bacia hidrográfica do ribeirão Cambé, cuja população é atendida pela estação de tratamento de esgotos Sul. O início de sua operação data de 1991, sendo a mais antiga ETE em operação da cidade. Isto pode ser atribuído ao fato de a bacia estar localizada na porção mais ao centro da cidade, onde se iniciou o processo de ocupação e, conseqüentemente, sendo a região que mais se desenvolveu nos primeiros anos.

Os resultados obtidos neste trabalho para contaminação fecal humana a partir das razões 1 e 2 apresentaram um diagnóstico positivo, ou seja, contaminação existente, na profundidade de 18 cm, sedimento datado de aproximadamente 1993, com erro de ± 3 anos. O valor máximo para as razões 1 e 2 foi datado de 1997 quando a partir deste ano, não se observou mais a presença dos esteróides fecais de origem humana. Nas razões 3 e 4 também foi observada existência de contaminação fecal humana por volta de 1993. Para salientar ainda mais este fato, as razões de nutrientes corroboram com este diagnóstico, onde se observam razões de FI/FT próximas a 100%, indicando aportes de contaminação por esgoto.

Este último evento de contaminação fecal encontrado pode estar associado ao aumento da população na cidade e à falta de tratamento de esgotos nos anos anteriores, visto que a ETE Sul só iniciou sua operação a partir de 1991, ano dentro do intervalo de erro da datação do sedimento. Esta contaminação teve seu pico no ano de 1997, ± 3 anos, quando a partir desta data não houve mais detecção de contaminação até os dias de hoje.

A ETE Sul foi construída na década de 80, com início de operação em 1991, recebendo investimentos para o aumento da capacidade de tratamento e melhoria

na eficiência em 1998/2001. Com o passar dos anos, a rede de coleta de esgotos só aumenta, contemplando áreas cada vez maiores. Em maio de 2015, a rede coletora de esgotos da cidade atingiu 90% da população urbana (PLANO MUNICIPAL DE SANEAMENTO BÁSICO DE LONDRINA – PR, 2015). Isto pode explicar o fato de não haver contaminação identificada pelas razões de esteróis após 1997, além de não haver detecção de esterol de origem fecal humana no lago para as amostras mais recentes, considerando que, com o passar do tempo, mais áreas tem a coleta regular, as chances de percolados contaminados por esgoto doméstico chegarem ao corpo hídrico são mais remotas.

6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação da contaminação histórica na bacia hidrográfica do Ribeirão Cambé no município de Londrina, Paraná, se mostrou possível de ser feita com o uso de biomarcadores, dada sua ocupação recente, permitindo inferir quanto ao impacto antrópico utilizando um testemunho de sedimento de 70 cm, datado de 80 anos, idade aproximada da cidade.

A utilização de esteróis como biomarcadores tanto de animais como de humano ou plantas foi satisfatória em conjunto com as análises de nutrientes, COT, NT, FI e FT. Os resultados obtidos do sedimento do lago urbano do Parque Arthur Thomas puderam contar a história da cidade com fidelidade aos acontecimentos já citados por outros trabalhos e observados na própria história de Londrina.

O sedimento datado de 1939 apresentou matéria orgânica de fonte terrígena e contaminação fecal por se tratar de uma época coincidente com a construção do lago onde houve desmatamento e ocupação em seu entorno. O sedimento datado da década de 50 apresentou aportes de FI, o que era esperado, pois nesta época se iniciava “os anos dourados” na cidade com a cultura cafeeira e, conseqüentemente, o uso de fertilizante nas plantações. Ainda se observou contaminação por esgotos atribuídos ao crescente aumento da população, presença de fezes de animais e a matéria orgânica foi atribuída às fontes terrígenas proveniente do desmatamento para o plantio. De forma semelhante, os sedimentos datados da década de 60 apresentaram os mesmos resultados visto que a agricultura continuou sendo a principal atividade da cidade, porém, com a mudança da cultura de café para soja e milho.

Na década de 70 houve uma maior ocupação nos arredores do lago. As amostras deste período apresentaram material orgânico de origem terrestre, atribuído ao desmatamento no seu entorno. A partir de 1980 houve um intenso desenvolvimento da construção civil. As amostras datadas deste período apresentaram contaminação fecal de origem humana, resultados da maior demanda de esgotos a serem tratados.

A primeira estação de tratamento data de 1991, porém o tratamento não tinha uma alta eficiência, sendo observada nesta época ainda contaminação por esgotos. A partir de 1998 a ETE passou por melhorias na sua capacidade e eficiência e a partir desta data não houve mais detecção de contaminantes.

Como trabalhos futuros, sugere-se analisar a distribuição de n-alcenos no sedimento do lago, que também são considerados biomarcadores amplamente utilizados para identificar mudanças no regime hidrológico local. Diversas razões de n-alcenos reportadas na literatura permitem identificar as fontes da matéria orgânica, assim como períodos de seca ou períodos úmidos, de modo a complementar e reforçar os resultados obtidos neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSEN, J. M. An ignition method for determination of total phosphorus in lake sediments. *water research*, Vol. 10, pp. 329 – 331, 1976.

ARAUJO, M. P.; COSTA, T. L. F.; CARREIRA, R. S. Esteróis como indicadores do acúmulo de esgotos domésticos em sedimentos de um sistema estuarino - Lagunar Tropical (Mundaú – Manguaba, AL). *Química Nova*, v. 34, p. 64-70, 2011.

ARROIO JUNIOR, P.P. Avaliação da produção e transporte de sedimentos na bacia hidrográfica do Rio Itaqueri, municípios de Itirapina e Brotas – SP. 112 p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia Ambiental) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

BRAUN, J. A. F. Uso de esteróides na avaliação de aportes antrópicos e naturais da matéria orgânica no complexo estuarino de Paranaguá. Rio Grande, 2006. Dissertação (Mestrado em Oceanografia Física, Química e Geológica) – Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica, Fundação Universidade Federal do Rio Grande.

CARREIRA, R.; WAGENER, A. L. R.; FILEMAN, T.; READMAN, J.W. Distribuição de coprostanol (5beta(h)-coleston-3beta-ol) em sedimentos superficiais da Baía de Guanabara: indicador da poluição recente por esgotos domésticos. *Química Nova*, v. 24, n.1, p. 37-42, 2001.

CARREIRA, R. S., RIBEIRO, P. V., SILVA, C. E. M. Hidrocarbonetos e esteróis como indicadores de fontes e destino de matéria orgânica em sedimentos da Bahia de Sapetiba, Rio De Janeiro; *Química Nova*, v.32, p.1805-1811, 2009.

CASARIL, C.C., A expansão físico-territorial da cidade de Londrina e seu processo de verticalização: 1950-2000. *Geografia*, v. 18, n1, 2009.

CAZOTTI, R.I., Geocronologia de sedimentos recentes com ^{210}Pb : metodologia e critérios para sua aplicação em lagos e represas. Tese de doutorado. Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. p, 131. 2003.

COLONIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DO NORTE DO PARANÁ. Companhia Melhoramentos Norte Do Paraná – Publicação comemorativa do cinquentenário da companhia melhoramentos norte do Paraná, 1975.

CORDEIRO, L. G. M. S. Esteróis como marcadores moleculares da contaminação fecal no sistema estuarino Iguaçu-Sarapuí, noroeste da Baía de Guanabara (RJ). Rio de Janeiro, 2006. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Programa de Pós Graduação em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

CUNHA, T. S. Avaliação de parâmetros geoquímicos em sedimentos do lago Coari (Amazônia). Tese (doutorado). Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2010.

FARIA, G. G. Caracterização física e análise comparativa das formas de uso e ocupação do solo (1970-1999) na microbacia hidrográfica do Ribeirão Cambé, Londrina – PR. Geografia – v. 14, n. 2, jul./dez. 2005.

FIGUEIRA, R.L.C. Inventory of artificial radionuclides in seawater and sediments of the southern coast of Brazil. Tese de Doutorado, USP. 2000.

FROEHNER, S.; MARTINS, R. F. Avaliação da composição química de sedimentos do rio Barigui na região metropolitana de Curitiba. Química Nova, v. 31, p. 2020-2026, 2008.

FURTULA V., LIU J., CHAMBERS P., OSACHOFF H., KENNEDY C., HARKNESS J. Sewage treatment plants efficiencies in removal of sterols and sterol ratios as indicators of fecal contamination sources. Water, Air, Soil Pollut., 2012, 223, 1017–1031.

GALE, S. J. HAWORTH, R. J. E PISANU, P. C. The ^{210}Pb chronology of late holocene deposition in an eastern australian lake basin, Quaternary Science Reviews (Quaternary Geochronology), v. 14, p. 395-408, 1995.

GOMES, V. colonização do norte do Paraná: um olhar na perspectiva da administração e do meio ambiente, sociedade e território, Natal, v. 27, nº 1, p. 87-100 jan/jun. 2015.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, <http://www.ibge.gov.br/cidades>, acessado em 24 de junho de 2016. 2014.

LEEMING, R; BALL, A; ASHBOLT, N; NICHOLS, P. Using faecal sterols from humans and animals to distinguish faecal pollution in receiving waters. *Wat. Res.* Vol. 30, No. 12, pp. 2893-2900, 1996.

LORENZO, M.P. Caracterização dos impactos ambientais negativos e medidas mitigatórias do processo de assoreamento do Lago Igapó, Londrina - PR, Curso Superior de Tecnologia em Gestão Ambiental, 2011.

MACHADO, K. S; FROEHNER, S.; SÁNEZ, J; *et al.* Assessment of historical fecal contamination in Curitiba, Brazil, in the last 400 years using fecal sterols. *Science of the Total Environment*, 1065–1072, 2014.

MATER, L.; ALEXANDRE, M.R.; HANSEL, F., A.; MADUREIRA, L.,A.,S., Assesment of lipid compounds and phosphorus in mangrove sediments of Santa Catarina island, SC, Brazil, *J.Braz. Chem. Soc.*, v.15, n.5, p.725-734, 2004.

MARTINS, C. C.; GOMES, F. B. A. ; FERREIRA, J. A. ; MONTONE, R. C. . Marcadores orgânicos de contaminação por esgotos sanitários em sedimentos superficiais da Baía de Santos, SP. *Química Nova*, v. 31, No. 5, 1008-1014, 2008.

MARTINS, R.F. Avaliação da presença de metais e de biomarcadores fecais em sedimentos do rio Barigüi na região metropolitana de Curitiba-PR. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos – Universidade Federal do Paraná, 2008.

MEYERS, P. A.; ISHIWATARI, R. Lacustrine organic geochemistry-an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Org. Geochem.* Vol 20, No. 7, pp. 867-900, 1993.

MOREIRA, R. C. A. BOAVENTURA, G. R. Referência geoquímica regional para a interpretação das concentrações de elementos químicos nos sedimentos da bacia do lago Paranoá – DF. *Química Nova*, vol. 26, no. 6, 812-820, 2003.

OLIVEIRA, C. L. Estudo de esteróis como marcadores químicos em águas destinadas ao abastecimento público na região do rio Paraíba do Sul, SP. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

PLANO MUNICIPAL DE SANEAMENTO BÁSICO DE LONDRINA – PR. Prefeitura municipal de Londrina. Renovação do PMSB, 2015.

ROCHA, G.C. Carta de solos da bacia do Ribeirão Cambé na área urbano-rural de Londrina, PR. Semina: Ci. Exatas/Tecnológicas, v. 16, n. 4, p. 536-549, dez. 1995.

RUTTENBERG, K. C.; GOÑI, M.A. Phosphorus distribution, C:N:P ratios, and $\delta^{13}\text{C}_{\text{OC}}$, in arctic, temperate, and tropical coastal sediments: tools for characterizing bulk sedimentary organic matter. Mar. Geol. 1997, 139, 123.

SÁNEZ, J.; HANSEL, F. A. ; VARGAS, L. M. P. ; FROEHNER, S. Guia prático para preparação de amostras sedimentares para a análise de ácidos biliares e esteróis fecais por cromatografia gasosa - Espectrometria de massa (GC – MS). Colombo – PR: Embrapa Florestas, 2014.

SÁNEZ, J.; FROEHNER, S.; HANSEL, F.; *et al.* Bile acids combined with fecal sterols: a multiple biomarker approach for deciphering fecal pollution using river sediments. J Soils Sediments (2016).

SERRA, E. Os primeiros processos de ocupação da terra e a organização pioneira do espaço agrário no Paraná. Boletim De Geografia Da UEM. N1. 1992.

SILVA, M. R.; GONÇALVES JR., A. C.; PINHEIRO, A.; BENVENUTTI, J.; SUSIN, J. Distribuição de nutrientes em sedimentos fluviais do rio Itajaí-Açú, SC, Brasil, Ambi-Água, Taubaté, v.5, n.1, p. 102-113, 2010.

SMART, M. M., RADA, R. G., DONNERMEYER, G. N. Determination of total nitrogen in sediments and plants using persulfate digestion. Water Research, Vol. 17, pp. 1207 – 1211, 1983.

TOWNS, RICARDO LUIZ. O Processo de verticalização de Londrina e de Maringá (PR) Brasil: o estado e o capital imobiliário na produção do espaço. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Geografia – UEM. 2009.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. Method 3050B digestion acid of sediments, sludges and soils, revision 2, December, 12. 1996.

APÊNDICE

CRONOGRAMA UTILIZADO PARA REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES

Fase	Descrição	Data
Etapa 1	Coleta das amostras	Fevereiro/2013
Etapa 2	Preparação das amostras através de liofilização, maceração e armazenamento.	Fevereiro/2013
Etapa 3	Datação cronológica	Fevereiro/2014
Etapa 4	Análise de COT, NT, FT e FI.	Janeiro/2016
Etapa 5	Preparação dos padrões, detecção dos tempos de retenção e construção das curvas de calibração no cromatógrafo gasoso.	Julho/2016
Etapa 6	Extração de esteróis.	Setembro/2016
Etapa 7	Adição de cobre ativado e clean-up.	Outubro/2016
Etapa 8	Derivatização e injeção das amostras no cromatógrafo gasoso.	Outubro/2016
Etapa 9	Análise dos Resultados.	Novembro/2016
Etapa 10	Considerações finais.	Novembro/2016