

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,**  
**MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS**

**REMOÇÃO DO AGENTE HORMONALMENTE**  
**ATIVO ETINILESTRADIOL POR PRÉ-**  
**OXIDAÇÃO E COAGULAÇÃO:**  
**ESTUDO EM ESCALA DE BANCADA**

**Fábio José Bianchetti**

**Belo Horizonte**

**2008**

**REMOÇÃO DO AGENTE HORMONALMENTE ATIVO  
ETINILESTRADIOL POR PRÉ-OXIDAÇÃO E  
COAGULAÇÃO:  
ESTUDO EM ESCALA DE BANCADA**

**Fábio José Bianchetti**

**Fábio José Bianchetti**

**REMOÇÃO DO AGENTE HORMONALMENTE ATIVO  
ETINILESTRADIOL POR PRÉ-OXIDAÇÃO E  
COAGULAÇÃO:  
ESTUDO EM ESCALA DE BANCADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Qualidade e Tratamento de Água para Consumo Humano

Orientador: Valter Lúcio de Pádua (DESA/UFMG)

Co-orientador: Sérgio Francisco de Aquino (DEQUI/UFOP)

Belo Horizonte  
Escola de Engenharia da UFMG

2008

Bianchetti, Fábio José  
B577r Remoção do agente hormonalmente ativo etinilestradiol por pré-oxidação e coagulação [manuscrito] : estudo em escala de bancada / Fábio José Bianchetti.- 2008.  
xiii, 89 f., enc. : il.

Orientador: Valter Lúcio de Pádua.

Co-orientador: Sérgio Francisco de Aquino.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Apêndices: f. 80-89.

Bibliografia: f. 74-79

1. Saneamento – Teses. 2. Água – Purificação - Teses. 3. Água – Qualidade – Teses. I. Pádua, Valter Lúcio de, 1968-. II. Aquino, Sérgio Francisco de. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia. IV. Título.

CDU: 628.16 (043)

Ficha elaborada pelo Processamento Técnico da EEUFMG





UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Engenharia

*Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos*

Av. Contorno 842 – 7º andar 30110-060 Belo Horizonte – BRASIL

Tel: 55 (31) 3238-1882 Fax: 55 (31) 3238-1882 posgrad@desa.ufmg.br

www.smarh.eng.ufmg.br

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Remoção do Agente Hormonalmente Ativo (AHA) Etinilestradiol  
por Pré-Oxidação e Coagulação:  
Estudo em Escala de Bancada

**FÁBIO JOSÉ BIANCHETTI**

Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelos Senhores:

  
Prof. VALTER LÚCIO DE PÁDUA

  
Prof. SÉRGIO FRANCISCO DE AQUINO

  
Prof. MARCELO LIBÂNIO

  
Prof. JOSÉ CARLOS MIERZWA

Aprovada pelo Colegiado do PG SMARH

Versão Final aprovada por

\_\_\_\_\_  
Prof. Mauro da Cunha Naghettini  
Coordenador

\_\_\_\_\_  
Prof. Valter Lúcio de Pádua  
Orientador

Belo Horizonte, 11 de dezembro de 2008.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pelo dom da vida, por sempre caminhar ao meu lado e, não raramente, por me carregar em seus braços ao longo da jornada.

Aos meus pais, Vicente e Sônia, meus irmãos, Flávio, Fabrício, Fernando e Felipe, e tantas outras pessoas queridas que, mesmo chateados, perdoaram a minha ausência durante esta fase. Amo vocês.

Ao meu orientador, Valter Lúcio de Pádua, professor de saneamento e da vida, mestre na essência da palavra. Dentre tantas certezas que ruíram ao longo deste mestrado, uma permaneceu incólume: a do acerto na escolha do orientador.

Ao co-orientador, Sérgio Francisco de Aquino, por sua presença, disponibilidade, atenção e participação sempre constantes. Tenho certeza de que os frutos deste trabalho não viriam da mesma maneira sem a sua atuação.

À Glícia, pela cumplicidade, paciência, puxões de orelha “isso é do mestrado?”, pela participação clandestina nos experimentos de laboratório e grande ajuda, principalmente na etapa de finalização do texto.

Agradeço aos meus amigos e companheiros de equipe, Albano, Erick, Eliane, Lucinda e, em especial, Jacson, pelo treinamento laboratorial, Danusa e Paulo, os “divisores de águas” que me acompanharam na frente de batalha para consecução desta pesquisa.

À professora e amiga Sílvia que, por diversas vezes, me dispensou atenção preciosa para a aplicação das ferramentas estatísticas para avaliação dos resultados.

Às sempre disponíveis e atenciosas colegas de DESA: Olívia, Iara, Norma, Dona Chica, Lucilaine e Cláudia. À Hilda do Laboratório de Hidrometalurgia do Departamento de Engenharia Metalúrgica da EEUFMG, Fernando e Miriam, do Laboratório de Resíduos Sólidos, Érika, do Laboratório de Microbiologia, e membros dos demais laboratórios do DESA, representando seus respectivos coordenadores e departamentos, pelo fornecimento de água destilada para realização dos ensaios de bancada.

Ao grupo de trabalho do DEQUI/UFOP, em especial Davi e Miriany, com sua atuação nas análises cromatográficas e na elucidação das dúvidas sempre freqüentes.

Às colegas da Escola de Farmácia da UFMG, Alessandra e Eld, cujas orientações foram imprescindíveis para a utilização do etinilestradiol.

Aos diretores da Serra Azul Engenharia, Eustáquio, Marco Antônio e Juliana, pelo valioso apoio que me concederam para que eu pudesse concluir este trabalho. Aos meus colegas de SAE pelo incentivo constante, em especial a Ursula Andress, que tanto se empenhou para que eu tivesse o tempo necessário para conclusão do mestrado.

Aos amigos que fiz graças à UFMG: Christiny, Cristiane, Cynthia, Leonardo, Álisson, Herbert, Lucas Milani, Wagner Moravia, entre tantos outros. Aos funcionários da Escola de Engenharia da UFMG, em especial porteiros e faxineiras, sempre compreensivos com meus horários pouco convencionais e com os diversos favores solicitados.

Ao programa SMARH, professores e funcionários, pela honra que tenho de fazer parte de um grupo tão competente, com os quais muito aprendo.

Ao PROSAB-Água, sua equipe nacional e instituições financeiras do projeto, pelo exemplar trabalho que desenvolvem em nosso país.

## RESUMO

Agentes Hormonalmente Ativos (AHAs) são um grupo particular de contaminantes orgânicos que tem se destacado por seu potencial de afetar os sistemas nervoso, endócrino e imunológico dos seres vivos. À sua presença nas águas de abastecimento e nos alimentos têm sido atribuídas possíveis ocorrências ou aumento de doenças humanas como: cânceres, deficiências de desenvolvimento e neurológicas, disfunção de glândulas e de fertilidade, entre outros males. Já são comprovados seus efeitos nocivos sobre espécies animais como jacarés, peixes, rãs, aves e mamíferos. Dentre os AHAs mais relevantes está o  $17\alpha$ -etinilestradiol, um hormônio sintético utilizado em pílulas anticoncepcionais e em tratamentos de reposição hormonal.

No presente trabalho, foi avaliada a remoção do  $17\alpha$ -etinilestradiol (soluções-estoque de etinilestradiol foram preparadas a partir do composto puro e pílulas anticoncepcionais, e, em seguida, devidamente diluídas para preparar soluções de trabalho contendo 1 ou 7  $\text{mg.L}^{-1}$ , respectivamente), para duas águas de estudo ( $10,0 \pm 0,5$  uT e  $100 \pm 5$  uT), simulando, em escala de bancada: a) a clarificação da água com as etapas de mistura rápida, coagulação com sulfato de alumínio e cloreto férrico, floculação e sedimentação, e b) a etapa de pré-oxidação com hipoclorito de sódio. Um total de 152 amostras foi coletado a partir desses estudos e, para detecção e quantificação de  $17\alpha$ -etinilestradiol, foi utilizada a técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS).

A sedimentação, para ambos os coagulantes e independente da turbidez da água bruta, não apresentou potencial de remoção do  $17\alpha$ -etinilestradiol. Por outro lado, a pré-oxidação se mostrou uma ferramenta eficiente, alcançando, para condições operacionais usuais em estações de tratamento de água (concentrações de hipoclorito de sódio de 1 e 3  $\text{mg.L}^{-1}$  e tempos de contato de 5, 30 e 60 min), eficiências de remoção do  $17\alpha$ -etinilestradiol que variaram de 40,9 a 99,2 %. Para as condições estudadas, a turbidez da água não se apresentou como fator interveniente no tratamento de águas com  $17\alpha$ -etinilestradiol.

## ABSTRACT

Endocrine disrupting compounds (EDC) are a particular group of organic contaminants that have been highlighted due to their potential adverse effect towards nervous, endocrine and immune systems of wildlife and humans. Their presence in drinking water and food has been postulated to cause increase in human diseases such as cancer; growth and neurological deficiencies; fertility and glands disfunctions; among others. It has already been shown such adverse effects in wildlife such as fish, frogs, birds and mammals. One of the most relevant EDCs is the  $17\alpha$ -ethinylestradiol, a synthetic hormone used in contraceptive pills and hormonal replacement therapies.

This work evaluated the removal of  $17\alpha$ -ethinylestradiol (ethinylestradiol stock solutions were prepared with the pure compound and contraceptive pills and then properly diluted to prepare working solutions containing 1 or 7  $\text{mg.L}^{-1}$ , respectively) spiked in synthetic water ( $10,0 \pm 0,5$   $\mu\text{T}$  e  $100 \pm 5$   $\mu\text{T}$ ) during bench scale water treatment consisting of the following processes: i) conventional water treatment, without filtration and disinfection, using alum and ferric chloride as coagulants; ii) pre-oxidation with sodium hypochlorite. A total of 152 samples were collected from these studies in which the  $17\alpha$ -ethinylestradiol was analysed by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS).

For both coagulants and turbidity values, the settling unit did not seem to significantly remove  $17\alpha$ -ethinylestradiol. On the other hand, the pre-oxidation resulted in an efficient removal of  $17\alpha$ -ethinylestradiol since under usual operational conditions (sodium hypochlorite concentration of 1 or 3  $\text{mg.L}^{-1}$  and contact time of 5, 30 or 60 min), the removal efficiencies varied from 40,9 to 99,2%. As observed for the settling unit, turbidity did not seem to interfere in the oxidation and removal of  $17\alpha$ -ethinylestradiol.

# SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>IV</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>VII</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>IX</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>X</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
3.1 AGENTES HORMONALMENTE ATIVOS (AHAS) .....	5
3.1.1 <i>Origem</i> .....	5
3.1.2 <i>Ocorrência no meio ambiente</i> .....	8
3.1.3 <i>17<math>\alpha</math>-etinilestradiol</i> .....	10
3.1.4 <i>Efeitos dos AHAs na saúde dos seres vivos</i> .....	13
3.2 MECANISMOS DE AÇÃO DOS AGENTES HORMONALMENTE ATIVOS .....	17
3.2.1 <i>Sistema endócrino</i> .....	17
3.2.2 <i>Perturbação endócrina</i> .....	19
3.3 ESTUDOS ENVOLVENDO A REMOÇÃO DOS AGENTES HORMONALMENTE ATIVOS.....	21
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
4.1 DESCRIÇÃO DO APARATO EXPERIMENTAL.....	25
4.2 ANÁLISES LABORATORIAIS E PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS .....	30
4.3 ETAPAS EXPERIMENTAIS .....	31
4.4 PREPARO DA ÁGUA DE ESTUDO .....	35
4.4.1 <i>Adição de etinilestradiol</i> .....	35
4.4.2 <i>Adição de turbidez</i> .....	37
4.4.3 <i>Adição de alcalinidade</i> .....	37
4.5 EXPERIMENTOS DE REMOÇÃO DE ETINILESTRADIOL.....	38
4.5.1 <i>Ensaio de pré-oxidação</i> .....	39
4.5.2 <i>Ensaio de sedimentação</i> .....	41
4.6 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS .....	44
4.6.1 <i>Procedimentos pré-cromatográficos</i> .....	45
4.6.2 <i>Análise cromatográfica</i> .....	50
4.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS.....	52
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>54</b>
5.1 CARACTERÍSTICAS DA ÁGUA DE ESTUDO.....	54
5.2 EXPERIMENTOS DE PRÉ-OXIDAÇÃO COM CLORO.....	54
5.2.1 <i>Experimento-teste de pré-oxidação</i> .....	54
5.2.2 <i>Ensaio de pré-oxidação para as águas tipo I e II</i> .....	58
5.3 EXPERIMENTOS DE SEDIMENTAÇÃO .....	63
5.3.1 <i>Diagramas de coagulação</i> .....	63
5.3.2 <i>Experimentos de remoção de etinilestradiol por sedimentação</i> .....	65
5.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>72</b>
<b>7 RECOMENDAÇÕES</b> .....	<b>73</b>

<b>REFERÊNCIAS E BIBLIOGRAFIA CONSULTADA .....</b>	<b>74</b>
<b>APÊNDICE A – DIAGRAMAS DE COAGULAÇÃO COM SULFATO DE ALUMÍNIO.....</b>	<b>80</b>
<b>APÊNDICE B – DIAGRAMAS DE COAGULAÇÃO COM CLORETO FÉRRICO .....</b>	<b>85</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 3.1:</b> Vias de acesso dos agentes hormonalmente ativos até atingirem a água potável. Adaptada de Bila e Dezotti (2003) e Reis Filho, Araújo e Vieira (2006).....	7
<b>Figura 3.2:</b> Estrutura química do 17- $\beta$ -estradiol. ....	10
<b>Figura 3.3:</b> Estrutura química do estrano. ....	11
<b>Figura 3.4:</b> Estrutura química do etinilestradiol. ....	11
<b>Figura 3.5:</b> Principais Glândulas Endócrinas (Berkow <i>et al.</i> 2008).....	17
<b>Figura 3.6:</b> Ação dos hormônios no sistema endócrino: (a) resposta natural; (b) efeito agonista; (c) efeito antagonista (Ghiselli, 2006). ....	20
<b>Figura 4.1:</b> Equipamento de jarteste. ....	27
<b>Figura 4.2:</b> Equipamentos e materiais utilizados no preparo da água de estudo: (a) reservatório 250 L; (b) reservatório 20 L; (c) balança de precisão e (d) almofariz e pistilo de ágata. ....	29
<b>Figura 4.3:</b> Equipamentos utilizados na caracterização da água de estudo: (a) turbidímetro; (b) espectrofotômetro; (c) potenciômetro e (d) disco colorimétrico DPD. ....	29
<b>Figura 4.4:</b> Equipamentos e materiais utilizados no preparo das amostras e na análise cromatográfica: (a) membrana de acetato de celulose; (b) kit de filtração; (c) kitassato; (d) e (g) bombas de vácuo; (e) cartuchos C18; (f) <i>manifold</i> ; (h) <i>vials</i> e (i) Cromatógrafo de fase líquida acoplado a espectrômetro de massas. ....	30
<b>Figura 4.5:</b> Principais etapas para realização da investigação experimental. ....	32
<b>Figura 4.6:</b> Fluxograma geral dos experimentos realizados em bancada. ....	34
<b>Figura 4.7:</b> Recipientes envolvidos com papel alumínio durante os experimentos, visando a minimizar o efeito da fotodegradação do etinilestradiol. ....	39
<b>Figura 4.8:</b> Fluxograma do experimento-teste de pré-oxidação. ....	40
<b>Figura 4.9:</b> Fluxograma dos experimentos de pré-oxidação, após modificação. ....	41
<b>Figura 4.10:</b> Fluxograma dos experimentos de sedimentação. ....	43
<b>Figura 4.11:</b> Etapas laboratoriais para detecção do etinilestradiol por análise cromatográfica. ....	45
<b>Figura 4.12:</b> Montagem para processo de extração dos contaminantes. ....	47
<b>Figura 4.13:</b> Montagem para processo de eluição dos contaminantes. ....	48
<b>Figura 4.14:</b> Secagem das amostras eluídas: (a) visão geral e (b) detalhe da secagem do conteúdo dos tubos de ensaio. ....	49
<b>Figura 4.15:</b> Ressuspensão da amostra: (a) lavagem com metanol e (b) acondicionamento em vial. ....	50
<b>Figura 4.16:</b> Equipamento de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas - LCMS-IT-TOF. ....	50
<b>Figura 5.1:</b> Concentração remanescente de EE2 ao longo do experimento-teste de pré-oxidação. ....	55
<b>Figura 5.2:</b> Gráfico Box-plot para comparação entre as amostras coletadas do experimento-teste de pré-oxidação. ....	57
<b>Figura 5.3:</b> Concentração remanescente de EE2 ao longo do ensaio de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo I. ....	60
<b>Figura 5.4:</b> Concentração remanescente de EE2 ao longo do ensaio de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo II. ....	60



<b>Figura 5.6:</b> Concentração remanescente por amostra em relação à média da água bruta em cada experimento de sedimentação; A – bruta, B – branco e C – coagulada / decantada.....	66
<b>Figura 5.7:</b> Concentrações médias remanescentes e eficiências médias de remoção de etinilestradiol após sedimentação, com eliminação de resultados duvidosos.....	68
<b>Figura 5.8:</b> Diagrama uniaxial de pontos para comparação das eficiências de remoção entre as amostras do experimento de sedimentação e os brancos dos ensaios de pré-oxidação – Águas Tipo I e II.....	69
<b>Figura A.1:</b> Diagrama de coagulação com SA: turbidez remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$ uT) com sulfato de alumínio - vs = $1,0 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	81
<b>Figura A.2:</b> Diagrama de coagulação com SA: turbidez remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$ uT) com sulfato de alumínio - vs = $0,5 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	81
<b>Figura A.3:</b> Diagrama de coagulação com SA: cor remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$ uT) com sulfato de alumínio - vs = $1,0 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	82
<b>Figura A.4:</b> Diagrama de coagulação com SA: cor remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$ uT) com sulfato de alumínio - vs = $0,5 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	82
<b>Figura A.5:</b> Diagrama de coagulação com SA: turbidez remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$ uT) com sulfato de alumínio - vs = $1,0 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	83
<b>Figura A.6:</b> Diagrama de coagulação com SA: turbidez remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$ uT) com sulfato de alumínio - vs = $0,5 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	83
<b>Figura A.7:</b> Diagrama de coagulação com SA: cor remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$ uT) com sulfato de alumínio - vs = $1,0 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	84
<b>Figura A.8:</b> Diagrama de coagulação com SA: cor remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$ uT) com sulfato de alumínio - vs = $0,5 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	84
<b>Figura B.1:</b> Diagrama de coagulação com CF: turbidez remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$ uT) com cloreto férrico - vs = $1,0 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	86
<b>Figura B.2:</b> Diagrama de coagulação com CF: turbidez remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$ uT) com cloreto férrico - vs = $0,5 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	86
<b>Figura B.3:</b> Diagrama de coagulação com CF: cor remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$ uT) com cloreto férrico - vs = $1,0 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	87
<b>Figura B.4:</b> Diagrama de coagulação com CF: cor remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$ uT) com cloreto férrico - vs = $0,5 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	87
<b>Figura B.5:</b> Diagrama de coagulação com CF: turbidez remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$ uT) com cloreto férrico - vs = $1,0 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	88
<b>Figura B.6:</b> Diagrama de coagulação com CF: turbidez remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$ uT) com cloreto férrico - vs = $0,5 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	88
<b>Figura B.7:</b> Diagrama de coagulação com CF: cor remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$ uT) com cloreto férrico - vs = $1,0 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	89
<b>Figura B.8:</b> Diagrama de coagulação com CF: cor remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$ uT) com cloreto férrico - vs = $0,5 \text{ cm.min}^{-1}$ .....	89

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.1:</b> Alguns AHAs relacionados na literatura (Santamarta, 2001; Veras, 2006; Bila e Dezotti, 2007) .....	6
<b>Tabela 3.2:</b> Concentrações de EE2 em amostras ambientais reportadas na literatura .....	8
<b>Tabela 3.3:</b> Monitoramento dos hormônios E1, E2 e EE2 na ETE da Penha/RJ (TERNES <i>et al</i> , 1999) .....	9
<b>Tabela 4.1:</b> Relação dos produtos químicos e insumos utilizados em cada etapa da investigação experimental.	26
<b>Tabela 4.2:</b> Relação dos equipamentos e materiais utilizados em cada etapa da investigação experimental. ....	28
<b>Tabela 4.3:</b> Relação das análises laboratoriais e procedimentos analíticos adotados na investigação experimental.....	31
<b>Tabela 4.4:</b> Nomenclatura adotada para as amostras coletadas durante a investigação experimental.....	39
<b>Tabela 4.5:</b> Parâmetros utilizados para ensaios de jarreste (PROSAB, 2006).....	41
<b>Tabela 4.6:</b> Quantidade de ensaios realizados para confecção dos diagramas de coagulação.....	42
<b>Tabela 4.7:</b> Condições de análise do EE2 por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (Moreira, 2008, adaptado).....	51
<b>Tabela 4.8:</b> Testes estatísticos utilizados na análise dos resultados.....	53
<b>Tabela 5.1:</b> Características das águas de estudo tipo I e II .....	54
<b>Tabela 5.2:</b> Concentrações de etinilestradiol teórica e quantificadas nas amostras coletadas antes da realização do experimento-teste - Água Tipo II.....	54
<b>Tabela 5.3:</b> Concentrações remanescentes de etinilestradiol ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) após experimento-teste de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo II .....	55
<b>Tabela 5.4:</b> Valores de p resultantes da aplicação do “teste T de <i>Wilcoxon</i> ” para comparação das amostras do experimento-teste.....	57
<b>Tabela 5.5:</b> Eficiência média de remoção de EE2 por pré-oxidação, em função do tempo de contato – experimento-teste.....	58
<b>Tabela 5.6:</b> Concentrações de etinilestradiol quantificadas nas amostras coletadas antes da realização dos ensaios de pré-oxidação - Água Tipo I e II.....	58
<b>Tabela 5.7:</b> Concentrações remanescentes de etinilestradiol ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) após ensaio de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo I .....	59
<b>Tabela 5.8:</b> Concentrações remanescentes de etinilestradiol ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) após ensaio de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo II.....	59
<b>Tabela 5.9:</b> Valores de “p” resultantes da aplicação dos testes estatísticos para comparação das amostras dos ensaios de pré-oxidação – Águas Tipo I e II.....	61
<b>Tabela 5.10:</b> Eficiência média de remoção de EE2 por pré-oxidação, em função do tempo de contato – Águas Tipo I e II .....	63
<b>Tabela 5.11:</b> Concentrações remanescentes de etinilestradiol ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) após sedimentação – Águas Tipo I e II ..	65
<b>Tabela 5.12:</b> Valores de “p” resultantes da aplicação do “teste T de <i>Wilcoxon</i> ” para comparação das amostras dos ensaios de sedimentação.....	67
<b>Tabela 5.13:</b> Concentrações médias remanescentes e eficiências médias de remoção de etinilestradiol para os ensaios de sedimentação .....	67

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>AHAs</b>	Agentes Hormonalmente Ativos
<b>Água Tipo I</b>	Água de estudo com turbidez = $10,0 \pm 0,5$ uT
<b>Água Tipo II</b>	Água de estudo com turbidez = $100 \pm 5$ uT
<b>BPA</b>	Bisfenol A
<b>C18</b>	Cartucho de extração composto de octadecil silano ligado quimicamente à sílica porosa
<b>CAG</b>	Carvão Ativado Granular
<b>CF</b>	Cloreto Férrico
<b>CG</b>	Cromatografia Gasosa
<b>CG-MS</b>	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
<b>COT</b>	Carbono Orgânico Total
<b>DDT</b>	Dicloro Difenil Tricloroetano
<b>DE</b>	Disruptores Endócrinos
<b>DES</b>	Dietilestilbestrol
<b>DESA</b>	Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
<b>DEHP</b>	Di-2etilhexil-ftalato
<b>DEQUI</b>	Departamento de Química da Universidade Federal de Ouro Preto
<b>DIBP</b>	Diisobutil Ftalato
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucléico
<b>DnBP</b>	D-n-butyl ftalato
<b>DPD</b>	Dietil-p-fenileno Diamina
<b>E1</b>	Estrona
<b>E2</b>	Estradiol, 17 $\beta$ -estradiol ou estradiol natural
<b>EDSTAC</b>	Endocrine Screening and Testing Advisory Committee
<b>EDMVS</b>	Endocrine Disruptors Methods Validation Subcommittee
<b>EE2</b>	Etinilestradiol, 17 $\alpha$ -etinilestradiol ou estradiol sintético
<b>ETA</b>	Estação de tratamento de água
<b>ETE</b>	Estação de tratamento de esgoto
<b>EPA</b>	Agência de Proteção Ambiental Americana
<b>ER</b>	Receptor Estrógeno

<b>ER-CA</b>	Ensaio de Repetição com Receptor Estrógeno
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>G<sub>f</sub></b>	Gradiente de Velocidade de Floculação
<b>G<sub>m</sub></b>	Gradiente de velocidade de mistura rápida
<b>HCB</b>	Hexaclorobenzeno
<b>HCC</b>	Compostos Altamente Clorados
<b>HPLC</b>	Cromatografia Líquida de Alta Performance
<b>IE</b>	Interferentes Endócrinos
<b>IT</b>	Captura de íons
<b>K<sub>ow</sub></b>	Coefficiente de partição octanol/água
<b>LC</b>	Cromatografia Líquida
<b>LC-MS</b>	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas
<b>LCMS-IT-TOF</b>	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas. Detecção por Captura de Íons e Tempo de Vôo
<b>LD</b>	Limite de Detecção
<b>NaOCl</b>	Hipoclorito de Sódio
<b>NP</b>	Nonilfenol ou 4-nonilfenol
<b>OI<sub>A1</sub>, OI<sub>A2</sub> e OI<sub>A3</sub></b>	Amostras em triplicata da água bruta, experimento de pré-oxidação, Água Tipo I.
<b>OI<sub>B1</sub>, OI<sub>B2</sub> e OI<sub>B3</sub></b>	Branco, em triplicata, experimento de pré-oxidação, Água Tipo I.
<b>OI<sub>C1</sub>, OI<sub>C2</sub> e OI<sub>C3</sub></b>	Amostras em triplicata da água oxidada, experimento de pré-oxidação, Água Tipo I.
<b>OII<sub>A1</sub>, OII<sub>A2</sub> e OII<sub>A3</sub></b>	Amostras em triplicata da água bruta, experimento de pré-oxidação, Água Tipo II.
<b>OII<sub>B1</sub>, OII<sub>B2</sub> e OII<sub>B3</sub></b>	Branco, em triplicata, experimento de pré-oxidação, Água Tipo II.
<b>OII<sub>C1</sub>, OII<sub>C2</sub> e OII<sub>C3</sub></b>	Amostras em triplicata da água oxidada, experimento de pré-oxidação, Água Tipo II.
<b>OP</b>	4-tert-octilfenol
<b>P</b>	Pressão
<b>PCBs</b>	Bifenilas Policloradas

<b>PE</b>	Pertubadores Endócrinos
<b>POA</b>	Processo Oxidativo Avançado
<b>Ppb</b>	Parte por Bilhão
<b>PPCPs</b>	Fármacos e Produtos de Cuidados Pessoal
<b>Ppt</b>	Parte por Trilhão
<b>PVC</b>	Cloreto de polivinila
<b>PROSAB</b>	Programa de Pesquisa em Saneamento Básico
<b>Rpm</b>	Rotação por Minuto
<b>RMBH</b>	Região Metropolitana de Belo Horizonte
<b>SA</b>	Sulfato de Alumínio
<b>SCI<sub>A1</sub>, SCI<sub>A2</sub> e SCI<sub>A3</sub></b>	Amostras em triplicata da água bruta, experimento de sedimentação, coagulação com cloreto férrico, Água Tipo I.
<b>SCI<sub>B1</sub>, SCI<sub>B2</sub> e SCI<sub>B3</sub></b>	Branco, em triplicata, experimento de sedimentação, coagulação com cloreto férrico, Água Tipo I.
<b>SCI<sub>C1</sub>, SCI<sub>C2</sub> e SCI<sub>C3</sub></b>	Amostras em triplicata da água decantada, experimento de sedimentação, coagulação com cloreto férrico, Água Tipo I.
<b>SCII<sub>A1</sub>, SCII<sub>A2</sub> e SCII<sub>A3</sub></b>	Amostras em triplicata da água bruta, experimento de sedimentação, coagulação com cloreto férrico, Água Tipo II.
<b>SCII<sub>B1</sub>, SCII<sub>B2</sub> e SCII<sub>B3</sub></b>	Branco, em triplicata, experimento de sedimentação, coagulação com cloreto férrico, Água Tipo II.
<b>SCII<sub>C1</sub>, SCII<sub>C2</sub> e SCII<sub>C3</sub></b>	Amostras em triplicata da água decantada, experimento de sedimentação, coagulação com cloreto férrico, Água Tipo II.
<b>SSI<sub>A1</sub>, SSI<sub>A2</sub> e SSI<sub>A3</sub></b>	Amostras em triplicata da água bruta, experimento de sedimentação, coagulação com sulfato de alumínio, Água Tipo I.
<b>SSI<sub>B1</sub>, SSI<sub>B2</sub> e SSI<sub>B3</sub></b>	Branco, em triplicata, experimento de sedimentação, coagulação com sulfato de alumínio, Água Tipo I.
<b>SSI<sub>C1</sub>, SSI<sub>C2</sub> e SSI<sub>C3</sub></b>	Amostras em triplicata da água decantada, experimento de sedimentação, coagulação com sulfato de alumínio, Água Tipo I.

<b>SSII<sub>A1</sub>, SSII<sub>A2</sub> e SSII<sub>A3</sub></b>	Amostras em triplicata da água bruta, experimento de sedimentação, coagulação com sulfato de alumínio, Água Tipo II.
<b>SSII<sub>B1</sub>, SSII<sub>B2</sub> e SSII<sub>B3</sub></b>	Branco, em triplicata, experimento de sedimentação, coagulação com sulfato de alumínio, Água Tipo II. Amostras em triplicata da água decantada, experimento de sedimentação, coagulação com sulfato de alumínio, Água Tipo II.
<b>SSII<sub>C1</sub>, SSII<sub>C2</sub> e SSII<sub>C3</sub></b>	Amostras em triplicata da água decantada, experimento de sedimentação, coagulação com sulfato de alumínio, Água Tipo II.
<b>T<sub>A1</sub> e T<sub>A2</sub></b>	Amostras em duplicata da água bruta, experimento-teste de pré oxidação.
<b>T<sub>B1</sub> e T<sub>B2</sub></b>	Branco, em duplicata, experimento-teste de pré oxidação.
<b>T<sub>C1</sub> e T<sub>C2</sub></b>	Amostras em duplicata da água oxidada com 1 mg.L <sup>-1</sup> de NaOCl, experimento-teste de pré oxidação.
<b>T<sub>D1</sub> e T<sub>D2</sub></b>	Amostras em duplicata da água oxidada com 1 mg.L <sup>-1</sup> de NaOCl, experimento-teste de pré oxidação.
<b>TAS</b>	Taxa de Aplicação Superficial
<b>TBT</b>	Tributil-estanho
<b>TDH</b>	Tempo de Detenção Hidráulica
<b>T<sub>f</sub></b>	Tempo de Floculação
<b>T<sub>m</sub></b>	Tempo de Mistura Rápida
<b>TOF</b>	Tempo de Voo
<b>uH</b>	Unidade Hazen
<b>UFMG</b>	Universidade Federal de Minas Gerais
<b>UFOP</b>	Universidade Federal de Ouro Preto
<b>USP</b>	Farmacopéia Americana
<b>uT</b>	Unidade de Turbidez
<b>UV</b>	Radiação ultravioleta
<b>YTA</b>	Ensaio Levedura Bi-híbrido
<b>V<sub>s</sub></b>	Velocidade de sedimentação
<b>W</b>	Watt

# 1 INTRODUÇÃO

Embora seja senso comum a importância de proteção das águas destinadas ao abastecimento humano contra a grande diversidade de poluentes existentes, nem sempre as devidas medidas necessárias à prevenção da sua contaminação são tomadas. Sendo assim, é notória a necessidade de ações por parte do poder público, concessionárias de saneamento, pesquisadores, técnicos e demais envolvidos com o setor, no que tange a evitar o risco de contaminação da população através do abastecimento de água.

Com o passar do tempo, novos contaminantes são gerados ou têm sua periculosidade reconhecida e assim recebem, em um tempo nem sempre hábil, a atenção dos atores envolvidos com o saneamento e com a saúde pública.

Nos últimos anos, um grupo específico de compostos químicos, marcados por sua capacidade de perturbar o sistema hormonal de seres vivos, tem merecido atenção do meio científico. Estes compostos, aqui denominados Agentes Hormonalmente Ativos (AHAs), podem ser naturais ou sintéticos e a exposição a eles pode advir das mais variadas fontes.

Tais compostos podem estar presentes no ar, água, alimentos, fármacos, produtos de higiene e limpeza, embalagens, produtos oriundos de atividades industriais e agrícolas, bem como na poluição e subprodutos resultantes dessas atividades, dentre outras vias.

Muitos são os relatos sobre os diversos impactos em organismos vivos (animais aquáticos e marinhos, répteis, mamíferos e aves) expostos a esses compostos, seja pela contaminação do ecossistema no qual habitam, seja por meio da alimentação. Vários dos impactos relatados foram detectados concomitantemente com verificação de poluições ambientais, sejam constantes (por exemplo: despejos de esgotos) ou até eventos isolados (grandes derramamentos acidentais). Há ainda relatos de perturbações evidenciadas após a realização de experimentos “*in vivo*”.

A constatação da atuação desses compostos causar impactos sobre os sistemas nervoso, endócrino e imunológico de outros seres vivos, e o fato de haver grande similaridade desses sistemas com os dos seres humanos, apontam para o potencial de risco à população.

A revisão da literatura sobre o tema mostra a realização de um esforço internacional com o objetivo de investigar os efeitos destes compostos sobre os organismos vivos, como a possível relação entre sua presença em águas de abastecimento e o desenvolvimento de doenças como câncer de mama e de próstata, anormalidades no desenvolvimento, queda da imunidade, alterações sexuais, neurocomportamentais e de glândulas (Damstra et al., 2002). Por outro lado, ressalta também a carência de informações, ainda existente, sobre seus mecanismos e aponta para a necessidade de ampliação de estudos sobre o tema, visando a construção de um conhecimento sólido sobre a sua ocorrência, incidência e remoção.

Apesar da Portaria do Ministério da Saúde nº 518/2004 não explicitar os AHAs, alguns compostos presentes nela atuam como tal. O fato destes compostos já serem considerados na legislação ilustra, de forma indireta, o reconhecimento dos impactos causados pelos AHAs e direciona a demanda por maiores estudos sobre a necessidade de sua discriminação em um item específico na próxima revisão da Norma Brasileira de Potabilidade, prevista para 2009. Ou ainda, à luz dessas novas evidências, promover a reavaliação dos valores máximos permitidos atualmente e a necessidade de buscar padrões mais restritivos.

Dentre os compostos com grande potencial de atuar como AHA está o 17 $\alpha$ -etinilestradiol, hormônio sintético utilizado em tratamentos de reposição hormonal e como constituinte das pílulas anticoncepcionais. Há vários relatos de sua detecção em mananciais e, apesar da baixa prevalência, possui alta estrogenicidade. Relatos da literatura associam a exposição ao etinilestradiol com alterações na biota aquática, como mortalidade e declínio da reprodução de peixes e indução da vitelogenina em peixes-machos (Bila e Dezotti, 2007). Acredita-se na possibilidade deste afetar a saúde dos homens.

Os relatos da presença dos AHAs em efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETEs) indicam sua resistência aos tratamentos atualmente empregados, isso é mais grave se considerado os casos ainda frequentes de lançamentos de esgotos “*in natura*” nos corpos d’água e a pouca informação sobre a eficiência das estações de tratamento de água na sua remoção.

O abastecimento público poderá representar uma via adicional e significativa de exposição da população aos efeitos nocivos dessas substâncias, caso as tecnologias existentes para tratamento de água para consumo humano não consistirem em uma barreira eficaz de remoção



ou redução da concentração afluyente, em especial o tratamento convencional ou de ciclo completo, solução amplamente empregada.

Como há poucos relatos sobre a eficiência do tratamento convencional na remoção dos AHAs, faz-se necessária a avaliação de suas potencialidades, seja do processo completo ou de suas etapas.

Isto posto, através desse trabalho, buscou-se avaliar a eficiência de duas etapas componentes do tratamento de água, em escala de bancada, na remoção do  $17\alpha$ -etinilestradiol. As etapas de processos de tratamento de água escolhidas foram a pré-oxidação e a clarificação da água por coagulação, floculação e decantação. A pré-cloração foi realizada com cloro, por meio do NaOCl (hipoclorito de sódio) e a coagulação com sulfato de alumínio e cloreto férrico. As técnicas de tratamento e produtos químicos utilizados foram escolhidas pelo seu baixo custo e larga aplicação em nosso país.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 *Objetivo geral***

Avaliar a remoção do AHA 17 $\alpha$ -etinilestradiol por meio da pré-oxidação e da coagulação, floculação e decantação visando o tratamento de água para consumo humano.

### **2.2 *Objetivos específicos***

- Avaliar a remoção do etinilestradiol, em escala de bancada, por meio da coagulação com sulfato de alumínio e cloreto férrico, floculação e decantação, com definição do pH de coagulação e dosagem ótima em termos da menor turbidez remanescente;
- Verificar a influência da pré-oxidação com hipoclorito de sódio e do tempo de contato na remoção do etinilestradiol;
- Analisar a influência da turbidez na remoção do etinilestradiol por pré-oxidação e sedimentação.

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**

Neste capítulo serão apresentadas informações importantes para a compreensão do trabalho desenvolvido, contextualizando a necessidade do estudo do tema.

Serão apresentados, de forma geral, os AHAs, suas origens, presenças no ambiente e efeitos na saúde dos seres vivos, com ênfase para o etinilestradiol. Ao final do capítulo serão citados alguns trabalhos desenvolvidos visando a avaliar a remoção dos AHAs.

#### **3.1 Agentes hormonalmente ativos (AHAs)**

São diversos os nomes reportados na literatura para os compostos que, segundo Wang *et al* (2005), “constituem uma classe de substâncias definidas não por sua química natural, mas pelos seus efeitos biológicos”. Alguns destes nomes são: Perturbadores Endócrinos (PE), Disruptores Endócrinos (DE), Desreguladores Endócrinos, Interferentes Endócrinos (IE), Agentes Hormonalmente Ativos (AHAs). Pela natureza mais abrangente do termo, optou-se pela adoção neste trabalho da nomenclatura Agentes Hormonalmente Ativos.

Uma das características dos AHAs reside no seu potencial de alterar o sistema reprodutor de organismos aquáticos. Acredita-se, ainda, na possibilidade dessas substâncias estarem relacionadas com doenças como câncer de mama, testicular, de próstata, e redução da fertilidade masculina. Os AHAs representam um grupo de compostos químicos que atuam sobre os organismos humanos e de animais, simulando ou alterando a atividade hormonal. Eles perturbam o sistema endócrino simulando a ação de hormônios naturais, inibindo-os ou alterando as funções regulares normais dos sistemas imunológico, nervoso e endócrino (Castro, 2002).

##### **3.1.1 Origem**

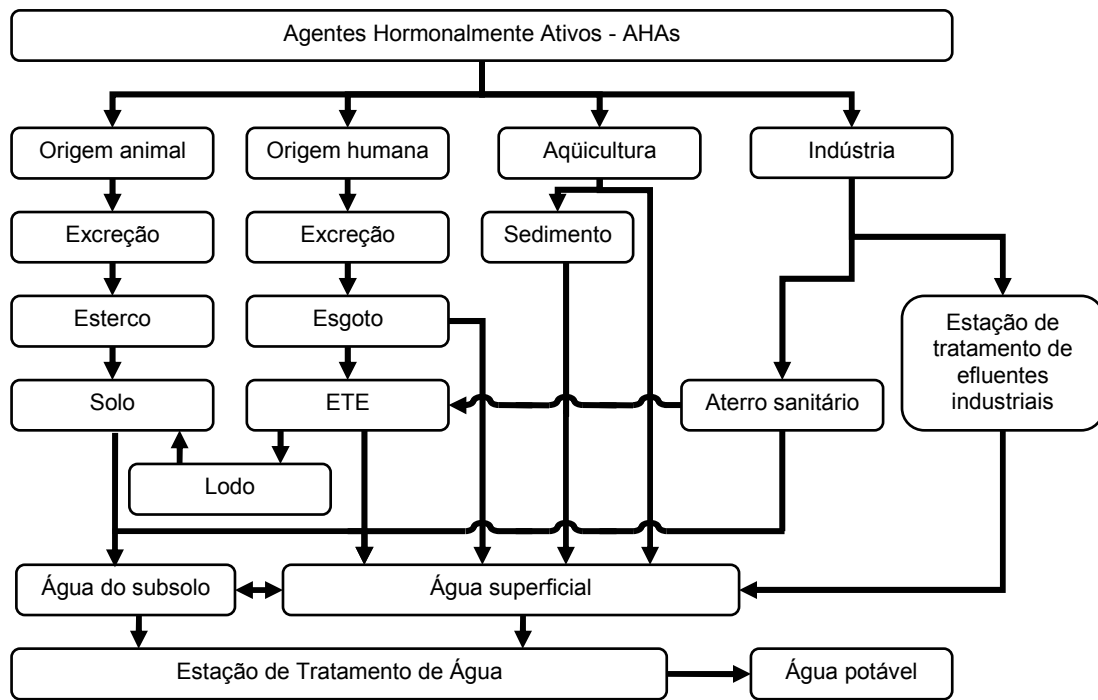
A origem dos agentes hormonalmente ativos pode ser natural (fitoestrógenos produzidos por plantas) ou sintética (compostos químicos presentes em produtos de limpeza, pesticidas, plásticos, aditivos alimentares, fármacos, cosméticos, tintas, ou ainda, subprodutos dos processos industriais). Sendo assim, os seres vivos podem ser expostos aos AHAs pela alimentação e consumo de água potável, pelo contato com ar e solo contaminados, ou pelo

consumo ou manuseio de produtos industrializados. Na Tabela 3.1 são apresentados alguns compostos químicos que atuam como AHAs.

**Tabela 3.1:** Alguns AHAs relacionados na literatura (Santamarta, 2001; Veras, 2006; Bila e Dezotti, 2007)

<b>Grupo</b>	<b>Agente Hormonalmente Ativo</b>
Agrotóxicos	Endosulfan, Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT).
Alquilfenóis	Nonilfenol, nonilfenol etoxilado, octilfenol, octilfenoletoxilado (Antioxidantes utilizados na fabricação do Cloreto de polivinila - PVC - e produtos da degradação de detergentes).
Bisfenol	Bisfenol-A (BPA) - utilizado em embalagens alimentícias e selantes dentários.
Estrogênios naturais	Estrona, estradiol
Estrogênios sintéticos	Etinilestradiol, dietilestilbestrol
Fármacos	Analgésicos, antilipêmicos, anticonvulsivantes, antiinflamatórios, antibióticos, contrastes de raio-x, drogas psiquiátricas.
Fitoestrógenos	Estrógenos de plantas e grãos
Ftalatos (fabricação do PVC)	Dietilexilftalato, entre outros
Fungicida	Hexaclorobenzeno
Metais pesados	Cádmio, chumbo, manganês, mercúrio, zinco.
Organoclorados	Dioxinas e furanos (produção de cloro, PVC, branqueamento da pasta de papel, etc)
Produtos da degradação dos agrotóxicos	Lindano, motoxicloro, dieldrin, clordano

A Figura 3.1, adaptada de Bila e Dezotti (2003) e Reis Filho, Araújo e Vieira (2006), representa possíveis caminhos percorridos pelos agentes hormonalmente ativos até atingirem os consumidores de água tratada.



**Figura 3.1:** Vias de acesso dos agentes hormonalmente ativos até atingirem a água potável. Adaptada de Bila e Dezotti (2003) e Reis Filho, Araújo e Vieira (2006).

Os efluentes domésticos apresentam presença destes compostos químicos provenientes das atividades antrópicas e, caso os tratamentos de esgoto sanitário sejam insuficientes para removê-los, ocorrerá um aporte destes AHAs nos corpos receptores. Se as águas deste corpo receptor forem captadas para abastecimento humano, a jusante do ponto de lançamento, novas pessoas estarão expostas aos seus efeitos, caso as estações de tratamento de água (ETAs) também não apresentarem remoção eficiente para os AHAs. Ou ainda, se o efluente ou o lodo de uma estação de tratamento de esgotos for utilizado para irrigação ou piscicultura, novas fontes de exposição estarão configuradas. Os excrementos animais também representam um veículo desses compostos, aumentando o risco de contaminação do solo e dos recursos hídricos.

No campo dos resíduos sólidos, merecem atenção os aterros sujeitos ao recebimento de lixo hospitalar ou de indústrias farmacêuticas, pois esses resíduos podem promover a contaminação das águas subterrâneas e superficiais. Alguns dos metais comumente presentes no lixo domiciliar também podem atuar como AHAs (Bila e Dezotti, 2003).

### 3.1.2 Ocorrência no meio ambiente

O monitoramento dos AHAs no meio ambiente e os seus possíveis efeitos deletérios têm atraído o interesse da comunidade científica pelo fato de que muitas dessas substâncias são freqüentemente encontradas, em concentrações na faixa de  $\text{ng.L}^{-1}$  a  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , em águas naturais que recebem efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETEs) ou o esgoto “*in natura*”. Muitos deles não têm limites de concentrações contemplados pela legislação brasileira, ao passo que outros são citados sem que haja menção ao termo “agentes hormonalmente ativos” ou expressões similares. Snyder *et al* (2003) alertam para o aumento, nas últimas décadas, da variedade e das concentrações dos agentes hormonalmente ativos nos corpos d’água para abastecimento humano que recebem despejos industriais ou efluentes de estações de tratamento de esgotos.

Na Tabela 3.2 são apresentadas concentrações de etinilestradiol (EE2), hormônio estudado no presente trabalho, quantificadas em amostras ambientais segundo relatos na literatura técnica.

**Tabela 3.2:** Concentrações de EE2 em amostras ambientais reportadas na literatura.

Concentrações de EE2 médias no ambiente ( $\text{ng.L}^{-1}$ )	Local	Autor
0,3 – 1,7	Efluente de ETE/Itália	(Baronti <i>et al.</i> 2000)
4,3	Água superficial /Holanda	(Belfroid <i>et al.</i> 1999)
2,1 - 17,9	Mar/Alemanha	(Beck <i>et al.</i> 2005)
2,5	Esgoto doméstico/França	(Bruchet <i>et al.</i> 2004)
0,2 – 7,0	Efluente de ETE/Inglaterra	(Desbrow <i>et al.</i> 1998)
<1,0	Água superficial/Espanha	(Farré <i>et al.</i> 2007)
$1,3 \times 10^3$ - $3,5 \times 10^3$	Água superficial/Brasil	(Ghiselli, 2006)
0,04 a 0,08	Água superficial/México	(Gibson <i>et al.</i> 2007)
< 0,1	Água superficial/China	(Hu <i>et al.</i> 2005)
< 5,0	Esgoto doméstico/França e Canadá	(Jeannot <i>et al.</i> 2002)
< 0,5 – 10	Esgoto doméstico/Itália e Holanda	(Jonhson <i>et al.</i> 2000)
< 0,2 – 2,2	Efluente de ETE/Itália e Holanda	(Jonhson <i>et al.</i> 2000)
73,0	Água superficial/EUA	(Kolpin <i>et al.</i> 2002)
0,10 a 5,1	Água superficial/Alemanha	(Kuch e Ballschmiter 2001)
4,5	Esgoto doméstico/Suécia	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
2	Efluente de ETE/Suécia	(Larsson <i>et al.</i> 1999)
2,0 a 7,6	Sedimentos/Reino Unido	(Liu <i>et al.</i> 2004a)
< 0,8	Rio/Reino Unido	(Liu <i>et al.</i> 2004b)
< 0,65	Rio/Japão	(Matsumoto <i>et al.</i> 2002)
< 50,0	Rio/Holanda	(Mol <i>et al.</i> 2000)
$0,106 \times 10^3$ - $4,3 \times 10^3$	Água superficial/Brasil	(Raimundo 2007)
3,0 a 54,0	Água superficial/Brasil	(Moreira, 2008)
0,25 a 0,55	Água superficial/EUA	(Snyder <i>et al.</i> 1999)
5,0	Esgoto doméstico/Brasil	(Ternes <i>et al.</i> 1999)
1,0	Efluente de ETE/Alemanha	(Ternes <i>et al.</i> 1999)
45,0	Água superficial/Alemanha	(Ternes <i>et al.</i> 1999)
9,0	Efluente de ETE/Canadá	(Ternes <i>et al.</i> 1999)
6,9	Água para reuso / China	(Wang <i>et al.</i> 2005)

As pesquisas citadas na Tabela 3.2 ilustram a ocorrência do EE2 em diversos países. Apesar da grande variabilidade de concentrações, com valores mínimos de 0,04 ng.L<sup>-1</sup>, detectados no México (Gibson *et al.* 2007), e máximos de 4.300 ng.L<sup>-1</sup>, para águas superficiais da região de Campinas – Brasil (Raimundo, 2007), a grande maioria situou-se em concentrações inferiores a 50,0 ng.L<sup>-1</sup>. Dos valores reportados, chamam a atenção as pesquisas de Ghiselli (2006) e Raimundo (2007), ambas realizadas em águas superficiais brasileiras, por apresentarem valores bem superiores aos demais, resultantes, talvez, da ocorrência de despejos industriais ou, ainda, de erros no processo de quantificação. Todavia, os dados implicam na necessidade de mais pesquisas sobre o tema.

Moreira (2008) monitorou os AHAs nonilfenol (NP), estradiol (E2) e etinilestradiol (EE2) em 3 mananciais da Região Metropolitana de Belo Horizonte (RMBH), pelo período de um ano. Dentre os três AHAs quantificados, o NP foi encontrado com maior frequência (100%) nas 72 amostras analisadas. Os estradióis natural (E2) e sintético (EE2) apareceram em 19% das amostras. As concentrações de NP na água bruta variaram de 44 a 1.918 ng.L<sup>-1</sup>, enquanto que para o EE2 foram detectados valores na faixa de 3,0 a 54,0 ng.L<sup>-1</sup>. Para o E2 as concentrações observadas foram menores, com valores na faixa de 1,5 a 36,0 ng.L<sup>-1</sup>.

Ternes *et al* (1999) monitoraram a ocorrência dos hormônios estrona (E1), estradiol (E2) e etinilestradiol (EE2) na ETE da Penha, no Rio de Janeiro, e detectaram as eficiências de remoção apresentadas na Tabela 3.3.

**Tabela 3.3:** Monitoramento dos hormônios E1, E2 e EE2 na ETE da Penha/RJ (TERNES *et al*, 1999).

Substância	Carga (concentração) de estrogênios no esgoto doméstico (g.d <sup>-1</sup> )	Remoção (%)	
		Efluente tratado/filtro biológico	Efluente tratado/processo de lodos ativados
Estrona	5,0	67	83
17 β-estradiol	2,5	92	99,9
17 α-etinilestradiol	0,6	64	78

A observação da ocorrência de EE2 em efluentes de ETEs, apresentada na Tabela 3.2, e a constatação da remoção incompleta pelas técnicas usuais de tratamento de efluentes, citada na Tabela 3.3, apontam para o risco da sua reintrodução no organismo dos humanos através da contaminação dos mananciais superficiais e aporte às estações de tratamento de água.

Segundo Bila e Dezotti (2003), de 50% a 90% de uma dosagem do fármaco é excretado inalterado e persiste no meio ambiente. Os mesmos autores, em outro trabalho, atribuem uma

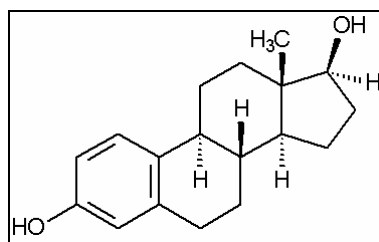
contribuição *per capita* equivalente a  $35 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$  de etinilestradiol às mulheres que fazem uso de medicamentos contendo a substância (Bila e Dezotti, 2007).

A partir destes dados, e considerando os valores usuais de consumo *per capita* de água de 100 a  $200 \text{ L}\cdot(\text{hab}\cdot\text{dia})^{-1}$  e coeficiente de retorno igual a 80%, resultariam em concentrações, no esgoto, inferiores às reportadas por Ghiselli (2006) e Raimundo (2007) para mananciais superficiais.

A seguir, é apresentado um breve relato sobre o etinilestradiol, contemplando as modificações químicas para a sua obtenção, suas aplicações medicinais e propriedades mais pertinentes. Estas informações são apresentadas com o intuito de contextualizar o aumento de sua incidência no ambiente e, principalmente, para elucidar os mecanismos utilizados para a sua inserção na água de estudo, conforme será descrito no capítulo referente à metodologia.

### 3.1.3 $17\alpha$ -etinilestradiol

O  $17\alpha$ -etinilestradiol é classificado como um estrogênio esteróide artificial. Os estrogênios são substâncias de origem natural ou artificial, capazes de induzir o estro (período de maior fertilidade e receptividade sexual) em animais inferiores e responsáveis tanto por promover alterações semelhantes às ocorridas na primeira fase do ciclo menstrual como pelo desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários na espécie humana. Podem ser, em relação à sua origem, classificados como naturais ou artificiais. Dentre os estrogênios esteróides naturais, o mais ativo é o  $17\beta$ -estradiol (Figura 3.2) (Magalhães Netto e Maia Filho, 2006).

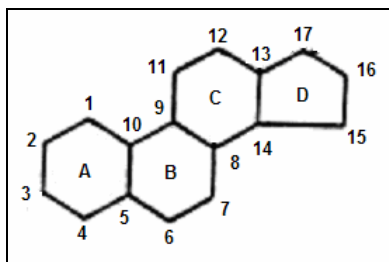


**Figura 3.2:** Estrutura química do  $17\beta$ -estradiol.

Os estrogênios esteróides são derivados do hidrocarboneto estrano (Figura 3.3), composto com 18 átomos de carbono, e caracterizados por apresentarem em comum o núcleo de natureza aromática (A), radicais cetônicos ou hidroxilas nos carbonos 3 e 17, características essas muito importantes, porquanto quaisquer alterações, ainda que mínimas, acarretam

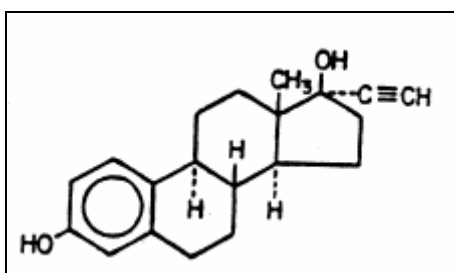


relevantes modificações no comportamento biológicos do composto (Magalhães Netto e Maia Filho, 2006).



**Figura 3.3:** Estrutura química do estrano.

Assim, a mudança da posição beta para a posição alfa da hidroxila do carbono 17 do estradiol resultará no composto 17- $\alpha$ -estradiol, que, ao contrário do 17- $\beta$ -estradiol, é biologicamente inativo. Do mesmo modo, a substituição da hidroxila do carbono 17 por um grupo etinil originará o etinilestradiol (Figura 3.4), substância que tem uma atividade estrogênica bem maior e cuja molécula não é degradada no estômago, permitindo sua administração por via oral (Magalhães Netto e Maia Filho, 2006).



**Figura 3.4:** Estrutura química do etinilestradiol.

O etinilestradiol é um dos estrogênios sintéticos mais utilizados como contraceptivos orais e em terapias de reposição hormonal. Segundo Martindale (1993), é aplicado também para o tratamento de distúrbios menstruais, dos sintomas da menopausa e pós-menopausa, do hipogonadismo feminino, de acne, de distúrbios do crescimento e, ainda, como tratamento paliativo de neoplasmas malignos na próstata e, em mulheres na menopausa, nas mamas. Magalhães Netto e Maia Filho (2006) comentam que a associação de 0,05 mg de etinilestradiol com 2 mg de acetato de ciproterona tem sido utilizada com êxito no tratamento de hirsutismo e acne.

Quanto às suas características químicas e físicas pertinentes a esta pesquisa, o etinilestradiol pode ser descrito como um pó cristalino, branco ou levemente amarelado, inodoro, insolúvel em água, solúvel em álcool, em clorofórmio, em éter, em dioxano, em óleos vegetais e em

soluções de hidróxidos alcalinos concentrados. (USP, 1995; Farmacopéia Brasileira, 1977; Martindale, 1993).

É importante ressaltar que, segundo Farmacopéia Brasileira (1977), o termo “insolúvel” significa a necessidade de utilização de “mais de 10.000 partes de dissolvente” para 1 parte de substância. Se considerado o exposto, ter-se-á que a solubilidade do etinilestradiol possui valor inferior a 100 mg/L.

Valores mais precisos, embora divergentes, para essa característica do EE2 são apresentados em outros trabalhos. Sodré *et al* (2007) apresentam solubilidade de 9,2 mg.L<sup>-1</sup>. Ying *et al* (2002) indicam aproximadamente 4,8 mg.L<sup>-1</sup>. Ghiselli e Jardim (2007) citam o valor de 0,483 mg.L<sup>-1</sup>, vinte vezes inferior ao apresentado por Sodré *et al* (2007) e dez vezes ao de Ying *et al* (2002). É possível observar que os valores apresentados pelos diversos autores se enquadram na categoria “insolúvel” em acordo com a Farmacopéia Brasileira (1977).

Outra característica física importante refere-se ao coeficiente de parti o octanol/ gua ( $K_{ow}$ ), que   utilizado para representar a hidrofobicidade de um composto. Substâncias hidrofóbicas apresentam  $K_{ow} > 2$  (Kimura *et al.* 2003, *apud* Amorim, 2007). Outra informa o que pode ser abstraída desse coeficiente refere-se   determina o de sua maior afinidade de se acumular em matéria orgânica ou de permanecer em soluço. O octanol   um solvente orgânico e, assim, quanto maior o valor de  $K_{ow}$ , maior será a tendência do composto em bioacumular. Assim, o  $K_{ow}$  fornece importante informa o sobre o destino de uma substância no ambiente. Pode fornecer ainda informa o sobre a solubilidade do composto, sendo o coeficiente de parti o octanol/água inversamente proporcional a essa (Veras, 2006; Ghiselli e Jardim, 2007; Sodré *et al*, 2007; Amorim, 2007).

Alguns valores de  $K_{ow}$  para o etinilestradiol reportados na literatura situam-se entre 3,67 e 4,15 (Yoon *et al*, 2003b; Ghiselli e Jardim, 2007; Sodré *et al*, 2007), indicando que o composto   hidrofóbico e tem maior tendência pela acumula o em matéria orgânica, por exemplo, no tecido adiposo dos seres vivos.

Na próxima se o será feita men o aos principais impactos do AHAs na saúde dos seres vivos.

### 3.1.4 Efeitos dos AHAs na saúde dos seres vivos

O *Committee on Hormonally Active Agents in the Environment* publicou em 1999 o livro *Hormonally Active Agents in the Environment*, um amplo relato das ocorrências no meio-ambiente dos AHAs e seus efeitos nos seres vivos. No documento, os autores comentam que a preocupação com os AHAs teve origem a partir da constatação de que algumas substâncias químicas sintéticas no ambiente que, ao mimetizar as ações do hormônio sexual feminino estradiol, estariam associadas com efeitos adversos na reprodução e no desenvolvimento da vida selvagem. Além disso, os efeitos da exposição *in útero* ao potente estrogênio sintético dietilestilbestrol (DES), por parte dos filhos de mulheres tratadas com o medicamento, direcionaram as atenções para o desenvolvimento embrionário como um alvo potencial para os efeitos perturbadores de agentes ambientais com atividade hormonal. Embora seja claro que as exposições aos AHAs em concentrações elevadas podem afetar a saúde humana e a vida selvagem, a extensão dos danos causados pela exposição a estes compostos, em concentrações comuns no meio ambiente, é debatida.

Segundo Santamarta (2001), os efeitos dos AHAs variam de uma espécie para outra e de uma substância para outra. No entanto, podem ser formuladas quatro hipóteses gerais:

- a) as substâncias químicas podem ter efeitos totalmente distintos sobre o embrião, o feto e o organismo perinatal, em relação ao adulto;
- b) os efeitos se manifestam com maior frequência nos filhos do que no progenitor exposto;
- c) o momento da exposição no organismo em desenvolvimento é decisivo para determinar sua forma e seu potencial de dano no futuro;
- d) ainda que a exposição crítica ocorra durante o desenvolvimento embrionário, as manifestações podem não se produzir até a maturidade.

#### 3.1.4.1 Efeitos em animais

Diversos são os casos de contaminação com AHAs citados na literatura. Castro (2002) cita que em 1969, de 300 pares de ovos de pelicanos da Ilha de Anacapa, na Califórnia, nenhum foi chocado, porque suas cascas eram muito finas, resultado da pequena reserva de cálcio. O nível de cálcio é controlado pelo hormônio estrogênio que, na presença de dicloro difenil tricloroetano (DDT), Dieldrin e bifenilas policloradas (PCBs), tem sua solubilidade

aumentada, sendo rapidamente eliminada do corpo dos pássaros. Em 1980, uma comunidade de jacarés do Lago Apopka, na Flórida, após derramamento químico de uma indústria de pesticidas, apresentou uma série de anomalias como: feminilização de jacarés-macho, superfeminilização de fêmeas, e ovos e animais jovens passaram a apresentar níveis hormonais alterados, com uma proporção de estrógeno comparativamente maior àquela de animais normais.

Snyder *et al* (2003) citam alguns casos de ação de AHAs em seres vivos como: disfunção da proporção da atividade estrogênica e androgênica em roedores; interferências na metamorfose natural de anfíbios; deformação dos órgãos sexuais e distorções na proporção macho-fêmea em gaivotas de áreas contaminadas com DDT; alto declínio na população e desenvolvimento de características de machos nas fêmeas de gastrópodes marinhos expostos ao tributil-estanho – TBT (composto orgânico usado em determinadas tintas anticorrosivas e tubos de PVC); deformidades em anfíbios, que apresentaram um número de membros (pernas) superior ou inferior ao natural; disfunções sexuais como hermafroditismo e mudança de sexo em peixes residentes em regiões de despejo de esgotos sanitários; ovelhas da Nova Zelândia e chitas de um zoológico nos Estados Unidos, que possuíam dieta à base de fitoestrógenos, apresentaram problemas de fertilidade.

Outro fato comumente relatado é a ocorrência do aumento de vitelogenina no plasma de um organismo como evidência da exposição aos AHAs. A vitelogenina é uma proteína ligada ao sistema reprodutivo de vertebrados ovíparos fêmeas. Também ocorre em machos, mas sob condições normais em níveis não expressivos, possivelmente regulado pela baixa concentração de estrogênio no sangue. Com a constatação de que alguns organismos aquáticos respondem à exposição a determinadas concentrações de estrogênios com o aumento na síntese de vitelogenina, a determinação de seus níveis no plasma sanguíneo tem constituído um importante biomarcador da contaminação por AHAs (Bila e Dezotti, 2003, Raimundo, 2007).

Palanza *et al* (1999) realizaram estudos nos quais avaliaram os efeitos do desenvolvimento neuro-comportamental da exposição de ratos, durante a idade fetal, a doses baixas e relevantes dos pesticidas DDT e metoxicloro [20, 200, 20.000 e 100.000  $\mu\text{g} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ ], e ao hormônio sintético dietilestilbestrol a baixas doses [0,02, 0,2, 20 e 200  $\mu\text{g} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ ]. Os ratos expostos ao metoxicloro apresentaram mudanças no desenvolvimento dos reflexos. Exposições a

baixíssimas doses [ $20,0 \mu\text{g} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ ] aparentaram produzir aumento nas reações para exploração de novos ambientes e objetos durante as primeiras idades: ratos “pré-adolescentes” expostos ao metoxicloro apresentaram queda no tempo de reação para explorar novos ambientes (de 15 para 10 s, em média) e objetos (de 120 para 90 s, em média). O aparecimento da agressão entre machos apresentou diminuição de 58 para 10% durante a “pré-adolescência” para os indivíduos expostos a baixas doses do metoxicloro no período pré-natal ( $20 \mu\text{g} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ ), mas este fato não se manteve depois de terem atingido idade adulta (58 para 50%). A taxa de depósitos de marcas de urina em um novo ambiente foi aumentada em indivíduos do sexo masculino expostos a DES, e também para o DDT e metoxicloro. A proporção de ataques entre indivíduos de um mesmo sexo, seja para os machos ou fêmeas, foi aumentada em camundongos expostos a doses baixas de DES e DDT (de 25 para 28 ataques com  $0,02 \mu\text{g} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$  e para 38 ataques com  $0,20 \mu\text{g} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ ). Esse efeito parecia ser relacionado com uma diminuição da latência para atacar (de 380 para 200 s).

#### 3.1.4.2 Efeitos nos seres humanos

Pouco se sabe sobre os riscos à saúde humana provocados pela exposição aos AHAs. Entre os anos 50 e 70 foi observado que filhas de mulheres que durante a gravidez fizeram uso dietilestilbestrol (medicamento para combate ao aborto espontâneo e promoção do crescimento do feto) nasceram estéreis e algumas desenvolveram um tipo raro de câncer vaginal. Nos filhos, a exposição provocou anormalidade nos órgãos sexuais, baixa contagem de espermatozoides e tendência a desenvolverem câncer nos testículos (Birkett e Lester, 2003, *apud* Raimundo, 2007). No Japão, no ano de 1968, 15.000 pessoas adoeceram afetadas pela presença acidental de pesticida (PCBs, nome comercial Kaneclor 400) no óleo de arroz (Castro, 2002).

No livro “*Hormonally Active Agents in the Environment*”, o “*Committee on Hormonally Active Agents in the Environment*” (1999) aponta como os principais efeitos dos Agentes Hormonalmente Ativos na saúde humana:

- Efeitos de desenvolvimento e reprodução: a exposição pré-natal pode causar menor peso ao nascer e gestações mais curtas, déficits no QI e memória, bem como retardo no desenvolvimento neuromuscular. Aumento da incidência, no sistema reprodutor masculino, de distúrbios como hipospádia (abertura da uretra encontrada no fundo, e não a ponta do pênis), criptorquidia (os testículos não descem, permanecendo internos

ao corpo), e câncer testicular podem estar relacionados com a exposição à AHAs durante a etapa pré-natal. O provável declínio na concentração espermática, que prescinde de maiores estudos;

- Efeitos neurológicos: bebês submetidos a estudos cognitivos e neurocomportamentais apresentaram o desenvolvimento do sistema nervoso afetado pela exposição “in útero” a altas concentrações de AHAs;
- Efeitos imunológicos: ainda são poucas as informações sobre efeitos nos sistemas imunológicos dos seres humanos para que haja conclusões definitivas, mas estudos com aves expostas aos PCBs na região dos Grandes Lagos americanos, e aves que se alimentaram de peixes contaminados por esses no Mar Báltico, apontam para esta tendência;
- Os efeitos carcinogênicos: embora alguns AHAs têm sido associados com tumores da tireóide, hipófise, glândulas ou renal, em espécies particulares de animais em laboratórios, os relatos que associem a exposição e tumores em seres humanos ainda são poucos. Há relatos sobre a associação entre o dieldrin e câncer de mama, mas é necessária uma ampliação de estudos na área.

Assim como o “*Committee on Hormonally Active Agents in the Environment*”, diversos autores apontam como alguns dos principais efeitos dos AHAs à saúde humana: a deterioração da qualidade (quantidade e concentração) do esperma; aumento na incidência de câncer de testículo, próstata, ovário e mama; aumento nos casos de criptoquirdia e hipospadia, diminuição da proporção de nascimentos de homens em relação às mulheres; anormalidades no crescimento e no desenvolvimento de crianças; hermafroditismo; problemas no sistema imunológico, e distúrbios do sistema nervoso (Eertmans *et al*, 2003, Snyder *et al*, 2003, Greenpeace Brasil, 2004). Eertmans *et al* (2003) indicam a necessidade da realização de ensaios *in vitro* e *in vivo* (com roedores, peixes e sapos) para aprofundamento dos estudos.

Santamarta (2001) afirma que: “a espécie humana carece de experiência evolutiva com estes compostos sintéticos. Estes imitadores artificiais dos estrógenos diferem em aspectos fundamentais dos estrógenos vegetais. Nosso organismo é capaz de descompor e excretar os imitadores naturais dos estrógenos, mas muitos dos compostos artificiais resistem aos processos normais de decomposição e se acumulam no organismo, submetendo humanos e

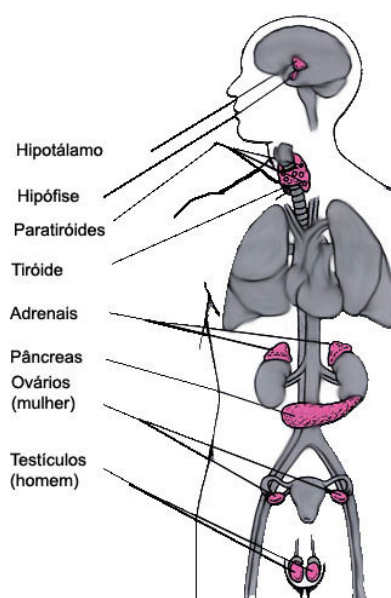
animais a uma contaminação de baixo nível, mas de longa duração. Esta forma de contaminação crônica por substâncias hormonais não tem precedentes em nossa história evolutiva e, para adaptar-se a este novo perigo nos faltariam milênios e não décadas de evolução.”

### **3.2 Mecanismos de ação dos agentes hormonalmente ativos**

Nos itens a seguir serão descritos o funcionamento normal do sistema endócrino dos seres humanos e a chamada perturbação endócrina, resultante da ação dos AHAs.

#### **3.2.1 Sistema endócrino**

O sistema endócrino é constituído por um grupo de órgãos (algumas vezes referidos como glândulas de secreção interna) cuja função principal é produzir e secretar hormônios diretamente no interior da corrente sanguínea. Os hormônios atuam como mensageiros para coordenar atividades de várias partes do corpo. Os principais órgãos do sistema endócrino são o hipotálamo, a hipófise, a tireóide, as paratireóides, as adrenais, o pâncreas, os testículos e os ovários (Figura 3.5) (Berkow *et al*, 2008).



**Figura 3.5:** Principais Glândulas Endócrinas (Berkow *et al*. 2008)

O hipotálamo secreta vários hormônios que estimulam a hipófise: alguns desencadeiam a liberação de hormônios hipofisários e outros a suprimem. Algumas vezes a hipófise (ou pituitária) é denominada glândula mestra, por controlar muitas funções de outras glândulas endócrinas. A hipófise controla a velocidade de secreção de seus próprios hormônios através de um circuito de retroalimentação (“*feedback*”) no qual as concentrações sanguíneas de outros hormônios endócrinos a estimulam a acelerar ou a alentar sua função. A tireóide ajuda a controlar a produção de energia; a paratireóide distribui o cálcio entre o sangue e os ossos; as glândulas adrenais regulam o nível do sal e da água e secretam estimulantes; células do pâncreas controlam o açúcar do sangue e as glândulas sexuais governam a reprodução e as características sexuais secundárias (Raimundo, 2007; Berkow *et al*, 2008).

#### 3.2.1.1 Hormônios

A Agência de Proteção Ambiental Americana – EPA - (2001) define hormônio como “alguma substância no corpo, produzida por um órgão e carregada na corrente sanguínea para ter um efeito em outro órgão. A função primária do hormônio, ou do sistema endócrino, é manter um ambiente estável dentro do corpo” (homeostase).

Em sua maioria, os hormônios são proteínas compostas de cadeias de aminoácidos de comprimento variável. Outros são esteróides, substâncias gordurosas derivadas do colesterol. Quantidades muito pequenas de hormônios podem desencadear respostas muito grandes no organismo. Os hormônios ligam-se aos receptores localizados sobre a superfície da célula ou no seu interior. A ligação de um hormônio a um receptor acelera, reduz ou altera a função celular (Berkow *et al*, 2008).

#### 3.2.1.2 Controles Endócrinos

Quando as glândulas endócrinas funcionam mal, as concentrações sanguíneas dos hormônios podem tornar-se anormalmente altas ou baixas, alterando as funções orgânicas. Para controlar as funções endócrinas, a secreção de cada hormônio deve ser regulada dentro de limites precisos. O organismo precisa detectar a cada momento a necessidade de uma maior ou menor quantidade de um determinado hormônio. O hipotálamo e a hipófise secretam seus hormônios quando detectam que a concentração sanguínea de um outro hormônio por eles controlado encontra-se muito alta ou muito baixa. Os hormônios hipofisários então circulam na corrente sanguínea para estimular a atividade de suas glândulas-alvo. Quando a concentração sanguínea do hormônio alvo é a adequada, o hipotálamo e a hipófise deixam de produzir



hormônios, uma vez que eles detectam que não há mais necessidade de estimulação. Este sistema de retroalimentação regula todas as glândulas que se encontram sob controle hipofisário (Berkow *et al*,2008).

### 3.2.1.3 A Função dos Transmissores

Embora todas as células respondam aos transmissores e a maioria delas os produzam, os seus efeitos são comumente agrupados em três sistemas principais (o nervoso, o imune e o endócrino) essenciais para a coordenação das atividades do organismo. Esses três sistemas têm muito em comum e cooperam entre si. Seus transmissores são compostos por proteínas ou derivados das gorduras. Alguns transmissores percorrem somente uma curta distância (inferior a 2,5 cm), enquanto outros percorrem distâncias consideráveis através da corrente sanguínea para atingirem seus alvos. Os transmissores ligam-se às suas células-alvo utilizando proteínas receptoras específicas localizadas sobre a superfície celular ou no interior da célula. O efeito de um transmissor específico depende de seu local de secreção (Berkow *et al*,2008).

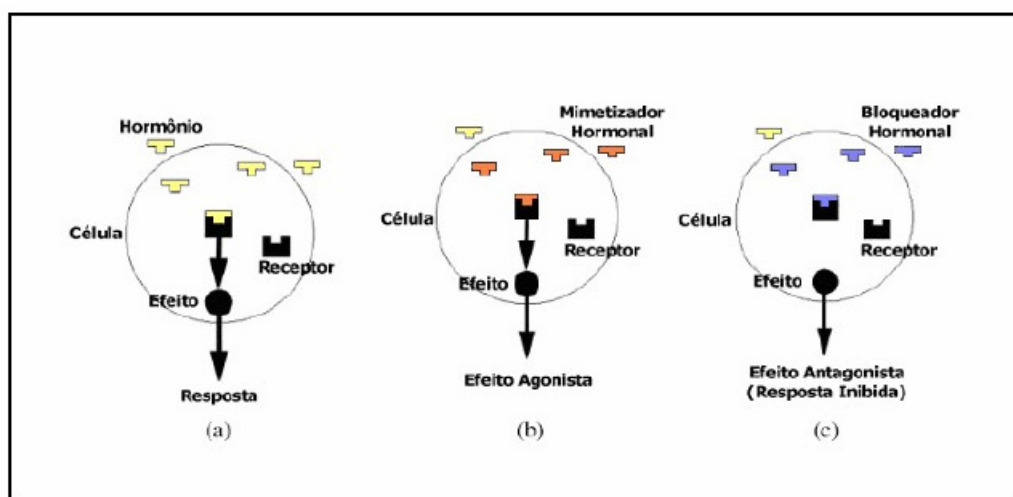
### 3.2.2 **Perturbação endócrina**

A Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA) define os AHAs como: “Um exógeno natural ou um agente antropogênico que produz, reversíveis ou irreversíveis, efeitos adversos em nível do indivíduo, população e/ou comunidade por interferir na síntese, armazenamento-liberação, secreção, transporte-remoção, ligação, ação, ou eliminação de hormônios endógenos no corpo” (Roefler *et al*, 2000).

Em maiores detalhes, ainda segundo a EPA, o termo AHAs “é usado para descrever substâncias que não são produzidas no corpo, mas atuam mimetizando ou antagonizando hormônios naturais. Acredita-se que são responsáveis por problemas reprodutivos em homens e mulheres e pelo aumento da frequência de certos tipos de câncer. São relacionados a deficiências no desenvolvimento e dificuldades de aprendizagem em crianças. Por causa dos sistemas receptores de hormônios serem similares em humanos e animais, efeitos observados em espécies selvagens indicam potenciais efeitos na saúde humana. Durante o desenvolvimento fetal e primeira infância, exposição a baixas doses de AHAs pode causar efeitos não observados em adultos, como redução da capacidade mental e más-formações genitais” (EPA, 2001).

Como citado no item anterior, o sistema endócrino é formado por glândulas responsáveis pela produção de hormônios que auxiliam nas funções e reações corporais de quase todos os animais. Para que o sistema endócrino seja acionado, é necessário que as células nervosas reajam a algum estímulo externo de desconforto ou perigo, estímulos estes que resultam na ativação da hipófise (glândula controladora do sistema endócrino) por meio do hipotálamo (glândula responsável pela conexão dos sistemas nervoso e endócrino). Após ativada, a hipófise produz hormônios responsáveis por estimular outras glândulas na produção de seus próprios hormônios. Estes últimos atingem os receptores específicos nas células-alvo, originando a reação química que resultará no efeito natural específico de cada hormônio. Um sinal retorna à glândula endócrina produtora do hormônio para comandar a parada, ou ainda um aumento na produção.

Neste contexto, a perturbação endócrina dá-se como uma interferência na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação dos hormônios naturais dos organismos. Esta perturbação pode ser através de um estímulo falso de forma exagerada ou fora de tempo, e é conhecida como efeito agonista. Ou ainda, ela pode bloquear um receptor, reduzindo ou anulando os estímulos, sendo conhecida como efeito antagonista. Estas ações estão ilustradas na Figura 3.6. Segundo Veras (2006), baixos teores exógenos podem representar perigo, pois são necessárias concentrações pequenas, da ordem de partes por bilhão (ppb) ou mesmo partes por trilhão (ppt), para estimular o sistema hormonal.



**Figura 3.6:** Ação dos hormônios no sistema endócrino: (a) resposta natural; (b) efeito agonista; (c) efeito antagonista (Ghiselli, 2006).

Snyder *et al* (2003) citam que as três maiores ocorrências, ou “pontos finais”, da perturbação endócrina são Estrogênica (compostos que mimetizam ou bloqueiam estrogênio natural), Androgênica (compostos que mimetizam ou bloqueiam testosterona natural) e Tireoidal (compostos com impactos diretos ou indiretos na glândula tireóide). Os autores afirmam que, apesar do maior número de pesquisas ser destinado à ocorrência estrogênica, as outras perturbações possuem igual importância e impacto aos organismos.

### **3.3 Estudos envolvendo a remoção dos agentes hormonalmente ativos**

Ainda é pequeno o número de relatos na literatura a respeito da remoção dos AHAs no tratamento de água para consumo humano e, assim, muitas dúvidas quanto aos mecanismos de remoção ainda persistem.

Roefer *et al* (2000) testaram, para avaliação de tratamento a ser implantado em uma ETA em Las Vegas, a pré-oxidação com ozônio para remover nonilfenol, octilfenol, nonilfenol etoxilato, estradiol, etinilestradiol, PCBs e pesticidas organoclorados como lindano, DDT, metoxicloro e endosulfan. Após o tratamento, nenhum dos compostos foi encontrado em valores superiores ao limite de detecção (LD). Para a detecção de nonilfenol, octilfenol, nonilfenol etoxilato, estradiol e etinilestradiol foi utilizada a cromatografia líquida de alta precisão (HPLC) com detecção por fluorescência. Os PCBs, e pesticidas organoclorados foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

A Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA) publicou, em 2001, o documento *Removal of Endocrine Disruptor Chemicals Using Drinking Water Treatment Processes*, no qual apresentou, para alguns AHAs, as técnicas com maior possibilidade de sucesso. Dentre os AHAs avaliados figuraram: pesticidas (DDT, Endosulfan e Metoxicloro), compostos altamente clorados - HCC – (PCBs, Dioxinas e Furanos), alquilfenóis e alquilfenóis etoxilatos e aditivos plásticos (bisfenol A, dietilftalato e dietilexilftalato) (EPA, 2001).

Três tipos de tratamento foram abordados no referido trabalho: Adsorção em carvão ativado (granular e em pó), coagulação / filtração, e o abrandamento da água. A tecnologia apontada pelos autores como a melhor avaliada foi o carvão ativado granular (CAG), indicado para: pesticidas, PCBs, alquilfenóis e alquilfenóis etoxilatos, dietilftalato e dietilexilftalato e aditivos plásticos. O tratamento convencional com sedimentação foi indicado para as dioxinas, por não serem solúveis em água, estando presentes nos sedimentos da água bruta. O

abrandamento, segundo os autores, não exerce ação sobre os AHAs. Os furanos são insolúveis em água, sua rota para contaminação de seres vivos é a inalação. O bisfenol A, na água bruta, pode ser biodegradado após um período suficiente de adaptação, ser adsorvido pelos sólidos suspensos e sedimentos ou fotodegradado (EPA, 2001). Ao que indica o relatado, o tratamento convencional ou a aplicação de radiação ultravioleta (UV) podem configurar ferramentas de remoção do bisfenol A.

Snyder *et al* (2003) afirmam que o tratamento de esgotos e tratamento convencional de água não removem completamente os AHAs, e a oxidação com cloro e ozônio, abaixo das condições empregadas em ETAs e ETEs, podem transformá-los em componentes com maior reatividade. Eles apontam as tecnologias avançadas como carvão ativado e osmose reversa como viáveis à remoção.

Lee *et al* (2004) estudaram o efeito da cloração com NaOCl na remoção do E2, NP e BPA. A detecção era realizada por ensaio levedura bi-híbrido (YTA) com receptor estrógeno (ER), ensaio de competição com receptor estrógeno (ER-CA), e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS). Os experimentos comprovaram uma significativa redução na capacidade estrogênica das amostras como resultado da cloração.

Ternes *et al* (2003) montaram uma instalação-piloto de ozonização e desinfecção com UV, alimentada por uma estação de tratamento de esgotos da Alemanha, para testar a remoção de fármacos, contrastes de raio-x (ICM) e fragrâncias do esgoto municipal. A população atendida pela estação era de 380.000 habitantes, e a vazão média afluyente, 60.000 m<sup>3</sup>.d<sup>-1</sup>. As concentrações no esgoto tratado variaram de 0,015 (estrona) a 5,7 µg.L<sup>-1</sup> (diatrizoato – contraste de raio-x), este último foi o que teve menor remoção, 36%. Para doses de 10 e 15 mg.L<sup>-1</sup> de ozônio aplicadas no esgoto, tempo de contato 18 min, observaram que todos os fármacos, estrógenos naturais e fragrâncias foram reduzidos abaixo do LD. Somente os contrastes de raio-x eram detectados após o tratamento. Os autores testaram o Processo Oxidativo Avançado (POA) com O<sub>3</sub> / UV, mas este apresentou pouco aumento na eficiência de remoção dos AHAs. Outro arranjo testado consistiu na combinação peróxido de hidrogênio e ozônio, o qual se mostrou viável.

Yoon *et al* (2003b) investigaram a adsorção por carvão ativado para o BPA, E2 e EE2. Os experimentos foram conduzidos com a aplicação de 6 tipos de carvões, com dosagens de 5 e 15 mg.L<sup>-1</sup> e tempo de contato de 4 h. As amostras eram duas fontes de água bruta, os rios

norte-americanos *Salt River* e *Huron River*, e uma água preparada a partir de água destilada, todas com a mesma concentração dos AHAs. Os experimentos apresentaram remoção de 31 a 99%. As melhores eficiências se deram na ordem: E2 > EE2 > BPA, mas na maioria dos resultados a remoção se deu acima de 90%. Alguns tipos de carvão apresentaram remoção média de 99% para o E2 em todas as águas.

Yoon *et al* (2003a) detectaram a presença de AHAs no leite materno e obtiveram sua remoção através da adsorção com membranas hidrofóbicas de polidimetilsiloxano, sem que fossem removidas as proteínas e vitaminas naturais do leite. As eficiências de remoção variaram de 14 a 100 %. A detecção e quantificação dos microcontaminantes foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

Rudder *et al* (2004) estudaram 3 reatores (leitos de areia, CAG e óxido de manganês granulado) para remover EE2. As concentrações afluentes variaram de 5.000 a 22.000 ng.L<sup>-1</sup>. As amostras foram preparadas com água deionizada e solução estoque de EE2, tendo o etanol como solvente. Os autores registraram remoção média de 17,3% no leito de areia, superior a 99,8% para CAG e de 81,7% para MnO<sub>2</sub>. Apesar da melhor remoção com o CAG, os autores apontaram o MnO<sub>2</sub> como melhor relação custo-eficiência pois sua matriz não precisa ser substituída, graças à atuação em sua superfície de microrganismos oxidantes de Mn<sup>2+</sup>, que fazem uma espécie de regeneração do meio. Em relação CAG, para concentrações de ng.L<sup>-1</sup> de EE2, a saturação ocorre com facilidade, precisando ser trocado ou reativado com frequência. A baixa remoção no leito de areia pode ser um indício de que tecnologias como filtração direta e tratamento convencional talvez não sejam eficazes para remoção do etinilestradiol.

Wang *et al* (2005) estudaram diversos AHAs em estação de reaproveitamento de água em Tianjin, norte da China. As amostras foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Dentre os contaminantes detectados estavam: estrona, estradiol, etinilestradiol, 4-tert-octilfenol, 4-nonilfenol, bisfenol A, D-n-butil ftalato, diisobutil ftalato e di(2-etilexil) ftalato. As concentrações dos hormônios esteróides variaram de < LD até 8,1 ng.L<sup>-1</sup>; compostos alquilfenóis de < LD até 14,2 ng.L<sup>-1</sup> e ftalatos de 1 a 23,8 µg.L<sup>-1</sup>. Nesse trabalho, o tratamento, que recebia efluente secundário de uma estação de lodo ativado, era composto por coagulação e floculação com 15,0 mg.L<sup>-1</sup> de cloreto de polialumínio, microfiltração em membrana e ozonização. As eficiências médias de remoção variaram de 30

a 82%. Para o EE2 foi 71%. Estes resultados indicam que os AHAs não são completamente removidos durante o tratamento, sendo carregados e reintroduzidos no ambiente aquático.

Veras (2006) estudou 4 variedades de carvão ativado em pó visando a remoção do 17- $\beta$ -estradiol, obtendo com 20 mg.L<sup>-1</sup> remoções de 100% para um carvão de origem animal e 86,7% para um outro, de origem vegetal, ambos com tempo de contato de 4 horas.

Mierzwa (2006) realizou estudo para avaliação da remoção do etinilestradiol por separação por membranas, no qual a concentração inicial de EE2 foi de 0,2  $\mu$ g.L<sup>-1</sup> e sua obtenção se deu pela utilização da pílula anticoncepcional *Neovlar* (0,05 mg de EE2). O período avaliado foi de uma hora, sendo que em todas as coletas o permeado apresentou concentrações de etinilestradiol inferiores ao limite de detecção (0,05  $\mu$ g.L<sup>-1</sup>), representando eficiência superior a 76%. A detecção foi realizada com utilização de *kits* ELISA.

Moreira (2008) monitorou o nonilfenol, estradiol e etinilestradiol afluente e efluente (antes da desinfecção) a três estações de tratamento de água da região metropolitana de Belo Horizonte. Duas estações possuíam a tecnologia de tratamento convencional e a terceira era de filtração direta. Na remoção do nonilfenol as estações apresentaram eficiência média de 35%. Para o estradiol, foram detectadas eficiências médias de 30 e 100% (tratamento convencional) e 52% (filtração direta). Para o etinilestradiol, as eficiências foram de 100% (filtração direta), 4,5% e 40% (tratamento convencional). A aparente discrepância entre os resultados de remoção de E2 e EE2 nas duas estações de tratamento convencional é explicada pelo pequeno número de amostra nas quais foi detectada concentração afluente dos contaminantes. É importante frisar que, para as coletas das amostras afluente e efluente, não foi observado o tempo de detenção das ETAs e, assim, em função variação da qualidade da água bruta, os valores de eficiência remoção podem ser diferentes dos apresentados.

Assim, com base na literatura, entre as técnicas que apresentam potencial de remoção dos AHAs estão: pré-oxidação com cloro, ozônio e UV; adsorção com carvão ativado granular e em pó e separação por membranas. O tratamento convencional não aparenta possuir potencial de remoção. No capítulo a seguir serão apresentadas as metodologias utilizadas neste trabalho para avaliação da remoção do etinilestradiol por pré-oxidação com hipoclorito de sódio e coagulação, floculação e sedimentação com sulfato de alumínio ou cloreto férrico.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

No presente capítulo serão apresentadas as principais etapas desta pesquisa, relativas ao delineamento experimental. Dividido em sete itens, serão descritos, equipamentos, produtos químicos, metodologias, ensaios realizados, quantificação e tratamento dos dados.

### 4.1 *Descrição do aparato experimental*

Este item é destinado a uma breve apresentação dos equipamentos, materiais, produtos químicos e demais insumos utilizados em todas as etapas da pesquisa, relacionando-os de acordo com a função que desempenharam e a etapa experimental na qual houve sua aplicação. As descrições mais detalhadas, quando pertinente, serão apresentadas ao longo dos próximos itens do presente capítulo.

A água de estudo foi preparada em laboratório com adição, em água destilada, de bicarbonato de sódio e caulim micronizado para conferir-lhe alcalinidade e turbidez, respectivamente. Para introdução do microcontaminante estudado, utilizou-se solução de etinilestradiol, metanol e água destilada. Baseado nos estudos conduzidos por Moreira (2008), o metanol foi utilizado entre 0,5 e 1,0 % do total da solução para evitar que esse e o cartucho de extração competissem pelo contaminante. Em outras palavras, visando minimizar a possibilidade de transpasse do EE2 pelo cartucho durante a extração, devido à afinidade desse com solventes orgânicos, fato que comprometeria a etapa analítica de quantificação das amostras.

Nos ensaios de remoção do etinilestradiol por pré-oxidação, foi utilizada solução de hipoclorito de sódio como fonte de cloro e, para cessar seu efeito nas amostras coletadas, adicionou-se tiosulfato de sódio. Nos ensaios de remoção do EE2 por sedimentação, os coagulantes utilizados foram o sulfato de alumínio  $[Al_2(SO_4)_3 \cdot (14 \text{ a } 18)H_2O]$  P. A. e o cloreto férrico  $(FeCl_3 \cdot 6H_2O)$  P. A., em solução com concentração de 2%, ao passo que, para o ajuste do pH de coagulação utilizou-se soluções de ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH), ambas 0,1 M.

Nas etapas de preparação da cromatografia e na análise cromatográfica foram utilizados ácido sulfúrico para ajuste do pH da amostra, metanol e acetato de etila como solventes, e os gases nitrogênio e argônio.

Na Tabela 4.1 são listados os produtos químicos, reagentes e insumos utilizados em cada etapa dos trabalhos experimentais e suas funções na pesquisa.

**Tabela 4.1:** Relação dos produtos químicos e insumos utilizados em cada etapa da investigação experimental.

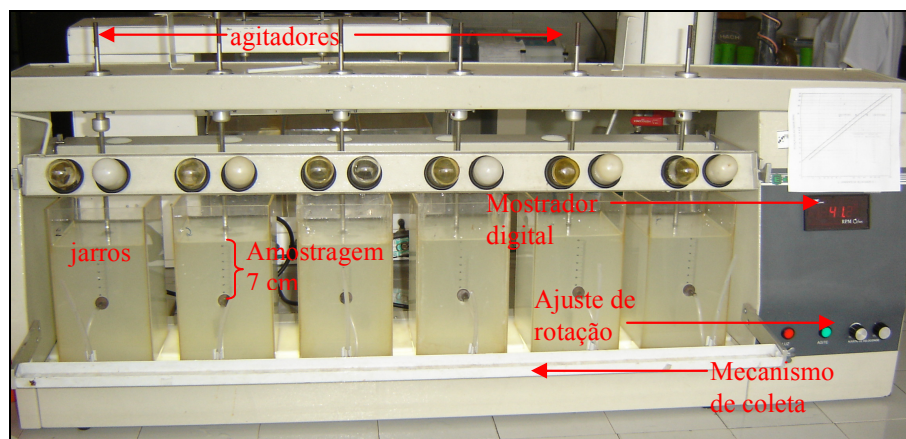
Etapa	Produto	Descrição	Função
Preparo da água de estudo	Bicarbonato de sódio	NaHCO <sub>3</sub> , comercial	Alcalinizante
	Caulim micronizado	Mineral, pó fino branco, massa específica = 2,60 ± 0,05 g.cm <sup>-3</sup> , massa específica aparente solta = 0,47 ± 0,02 g.cm <sup>-3</sup> , pH em solução 5 % = 7,70 ± 1,0, utilizados na fabricação de tintas, papel, cerâmicas, etc.	Conferir turbidez
	Etinilestradiol	C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> - hormônio sexual sintético. Fontes: composto puro e anticoncepcional <i>Neovlar</i>	Contaminante estudado
	Metanol	CH <sub>3</sub> OH, grau HPLC	Solvente <sup>[1]</sup>
Ensaio de pré-oxidação	Hipoclorito de sódio	NaOCl, 4 – 6 % P.A.	Oxidante
	Tiosulfato de sódio	(Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> · 5H <sub>2</sub> O) P.A.	Redução de Cl <sup>2</sup> residual a Cl <sup>-</sup> (cloreto), cessando o processo de oxidação na amostra
	Sulfato de alumínio	[Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> · (14-18)H <sub>2</sub> O] P.A., solução 2 %	Coagulante
Ensaio de coagulação	Cloreto férrico	(FeCl <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O) P.A., solução 2 %	Coagulante
	Ácido clorídrico	HCl, 0,1N	Ajuste de pH para coagulação
	Hidróxido de sódio	NaOH, 0,1N	Ajuste de pH para coagulação
	Ácido sulfúrico	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,1 mol.L <sup>-1</sup>	Ajuste de pH para extração
	Metanol	CH <sub>3</sub> OH, grau HPLC	Preparação do cartucho C18 para extração, solvente de ressuspensão e fase móvel na cromatografia
Preparo das amostras e análise cromatográfica	Acetato de etila	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> , grau CG	Preparação do cartucho C18 para extração e solvente de eluição
	Nitrogênio	Gás, industrial	Secagem das amostras eluídas e gás de nebulização durante a cromatografia
	Argônio	Gás, grau CG	Gás de colisão durante a cromatografia

1 – Em concentração máxima de 0,5 a 1% da solução final para minimizar a influência da afinidade do EE2 com o metanol nos resultados (vide pág. 25).

A presente pesquisa foi realizada mediante ensaios de bancada em equipamento de jarteste. O equipamento utilizado (Figura 4.1) é dotado de seis jarros iguais com base de 115 x 115 mm e volume útil de 2,0 L, nos quais a água sofre agitação por paletas giratórias com rotação controlada. No painel há dois botões para ajuste da rotação e um mostrador digital. Situados 7 cm abaixo da superfície da água, estão os pontos de amostragem e um mecanismo que permite a coleta simultânea em todos os jarros. As principais características deste e dos



demais equipamentos e materiais utilizados estão descritas na Tabela 4.2, para cada etapa dos trabalhos experimentais.



**Figura 4.1:** Equipamento de jarreste.

**Tabela 4.2:** Relação dos equipamentos e materiais utilizados em cada etapa da investigação experimental.

Etapa	Equipamento	Característica	Função
Preparo da água de estudo	Bombona 250 L	Recipiente plástico	Reservatório de água para os ensaios de construção dos diagramas de coagulação
	Balde graduado 20 L	Recipiente plástico	Reservatório de água para os ensaios de remoção de etinilestradiol
	Balança de precisão	-	Determinação da massa dos compostos químicos
	Almofariz e pistilo	Almofariz e pistilo de ágata	Maceramento da pílula anticoncepcional
Caracterização da água de estudo	Turbidímetro	HACH 2100 NA	Determinação da turbidez
	Espectrofotômetro	HACH DR 2800	Determinação da cor aparente
	Potenciômetro	PHTEK PHS-3B	Determinação do pH
	Disco colorimétrico	Método DPD	Determinação do residual de cloro
Ensaio de pré-oxidação e coagulação	Jarteste	Marca Nova Ética, modelo 218 LDB, Pot = 100 W, rotação máx = 600 rpm, G = 10 a 1.500 s <sup>-1</sup>	Simulação das etapas de tratamento
Preparo das amostras e análise cromatográfica	Membrana de acetato de celulose <sup>[1]</sup>	Malha de 0,45 µm	Filtração das amostras
	Kit de filtração e kitassato	-	Suporte da membrana e coleta da amostra filtrada
	Bombas de vácuo	Pressão média: na filtração das amostras = -65 kPa; na extração das amostras = -10 kPa	Auxílio na filtração e extração das amostras
	Cartucho C18	Cartucho de octadecil para extração em fase sólida	Extração do contaminante da amostra
	<i>Manifold</i>	-	Suporte para os cartuchos C18 durante a extração e eluição
	Micropipeta	PZ HTL, V = 1.000 ± 1 µL	Ressuspensão da amostra
	<i>Vials</i>	V = 1,5 mL	Acondicionamento das amostras para cromatografia
	Cromatógrafo de fase líquida acoplado a espectrômetro de massas	Marca Shimadzu, modelo LCMS-IT-TOF	Detecção e quantificação do etinilestradiol

1 – Embora amplamente empregadas, em geral, não é recomendado o uso de membranas poliméricas para análise de AHAs, principalmente os que possuam valores elevados de  $K_{om}$ , como no caso do EE2, devido a afinidade desses com os polímeros. É preferível a utilização de membranas confeccionadas em materiais inertes, como fibra de vidro. Entretanto, os estudos conduzidos por Moreira (2008) demonstraram que, para a concentração de 0,5 a 1% de metanol, a perda na membrana polimérica não foi significativa, de modo que neste trabalho considerou-se adequado o seu uso na etapa de filtração da amostra.

Os equipamentos e materiais, descritos na Tabela 4.2, e utilizados nas etapas de preparo, caracterização e análise da água de estudo estão apresentados nas figuras 4.2, 4.3 e 4.4, respectivamente.

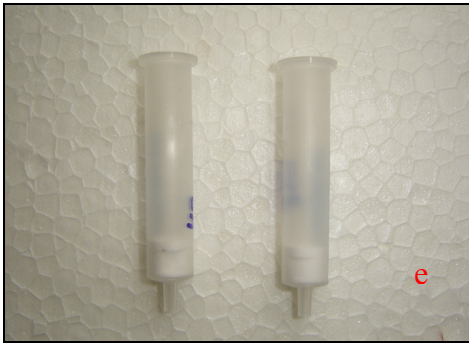


**Figura 4.2:** Equipamentos e materiais utilizados no preparo da água de estudo: (a) reservatório 250 L; (b) reservatório 20 L; (c) balança de precisão e (d) almofariz e pistilo de ágata.



**Figura 4.3:** Equipamentos utilizados na caracterização da água de estudo: (a) turbidímetro; (b) espectrofotômetro; (c) potenciômetro e (d) disco colorimétrico DPD.





**Figura 4.4:** Equipamentos e materiais utilizados no preparo das amostras e na análise cromatográfica: (a) membrana de acetato de celulose; (b) kit de filtração; (c) kitassato; (d) e (g) bombas de vácuo; (e) cartuchos C18; (f) *manifold*; (h) *vials* e (i) Cromatógrafo de fase líquida acoplado a espectrômetro de massas.

Além dos materiais citados, também foram utilizados: balões volumétricos de 100, 1.000 e 2.000 mL; pipetas de 1, 2, 5 e 10 mL; pêras, frascos *Erlenmayer*, béqueres, espátulas, e cronômetro.

## 4.2 Análises laboratoriais e procedimentos analíticos

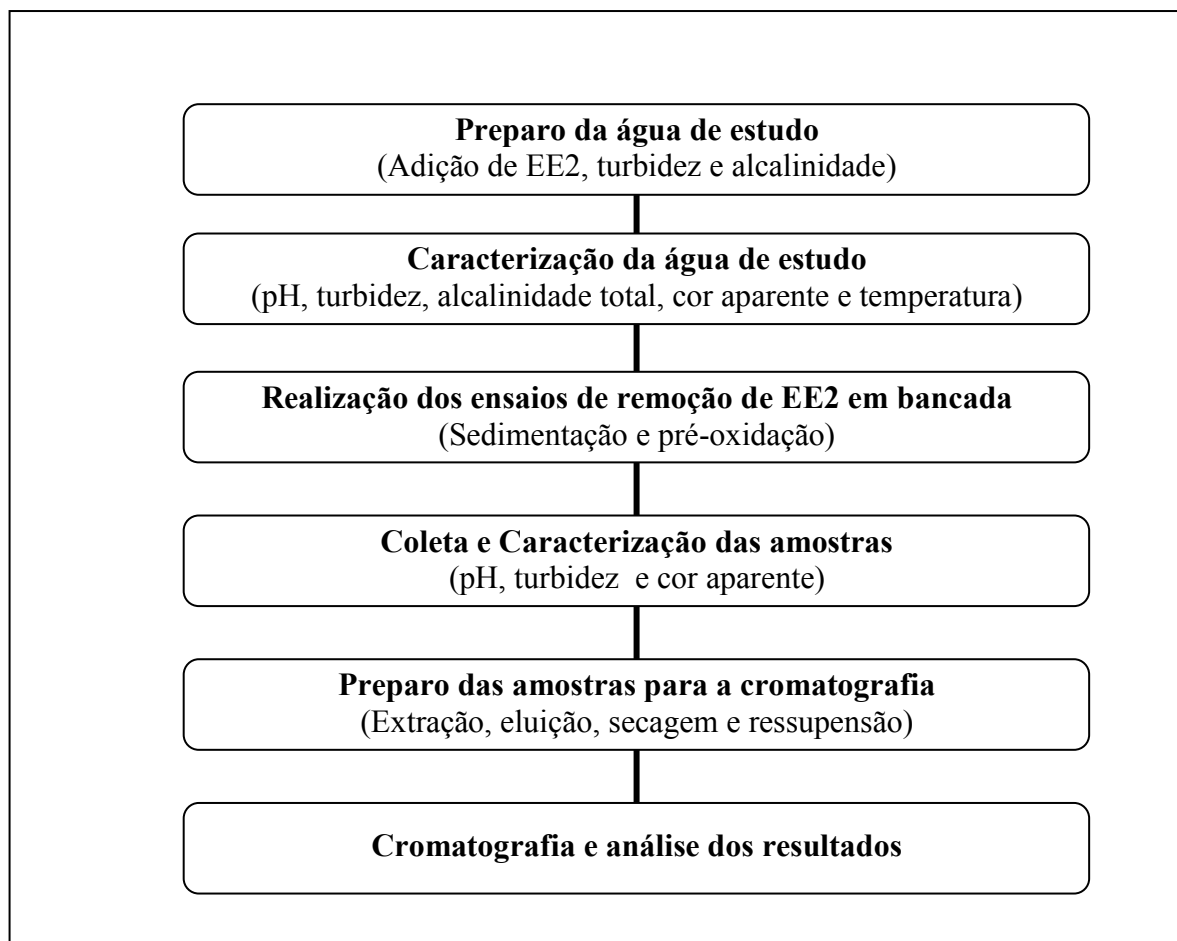
Na Tabela 4.3 estão listadas as análises laboratoriais e os procedimentos analíticos adotados nesta pesquisa para caracterização da água de estudo e detecção e quantificação do etinilestradiol.

**Tabela 4.3:** Relação das análises laboratoriais e procedimentos analíticos adotados na investigação experimental.

<b>Análise / Procedimento</b>	<b>Método</b>	<b>Referência</b>
Turbidez	Fotométrico	
Cor aparente	Fotométrico	
Alcalinidade total	Titulação com indicador misto e H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,02 N	<i>Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater</i> (Eaton <i>et al</i> , 2005)
Cloro residual	Método colorimétrico DPD (Disco colorimétrico)	
Preparação das amostras para a cromatografia	Concentração da amostra por extração em fase sólida	(Wang <i>et al</i> , 2005; Moreira, 2008)
Análise cromatográfica	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas	(Moreira, 2008)

### **4.3 Etapas experimentais**

As etapas experimentais necessárias ao cumprimento dos objetivos propostos nesta pesquisa consistiram no preparo e caracterização da água de estudo; realização dos ensaios de remoção de etinilestradiol; coleta e caracterização das amostras; preparo das amostras para a análise cromatográfica e avaliação dos resultados, conforme apresentado no fluxograma da Figura 4.5.



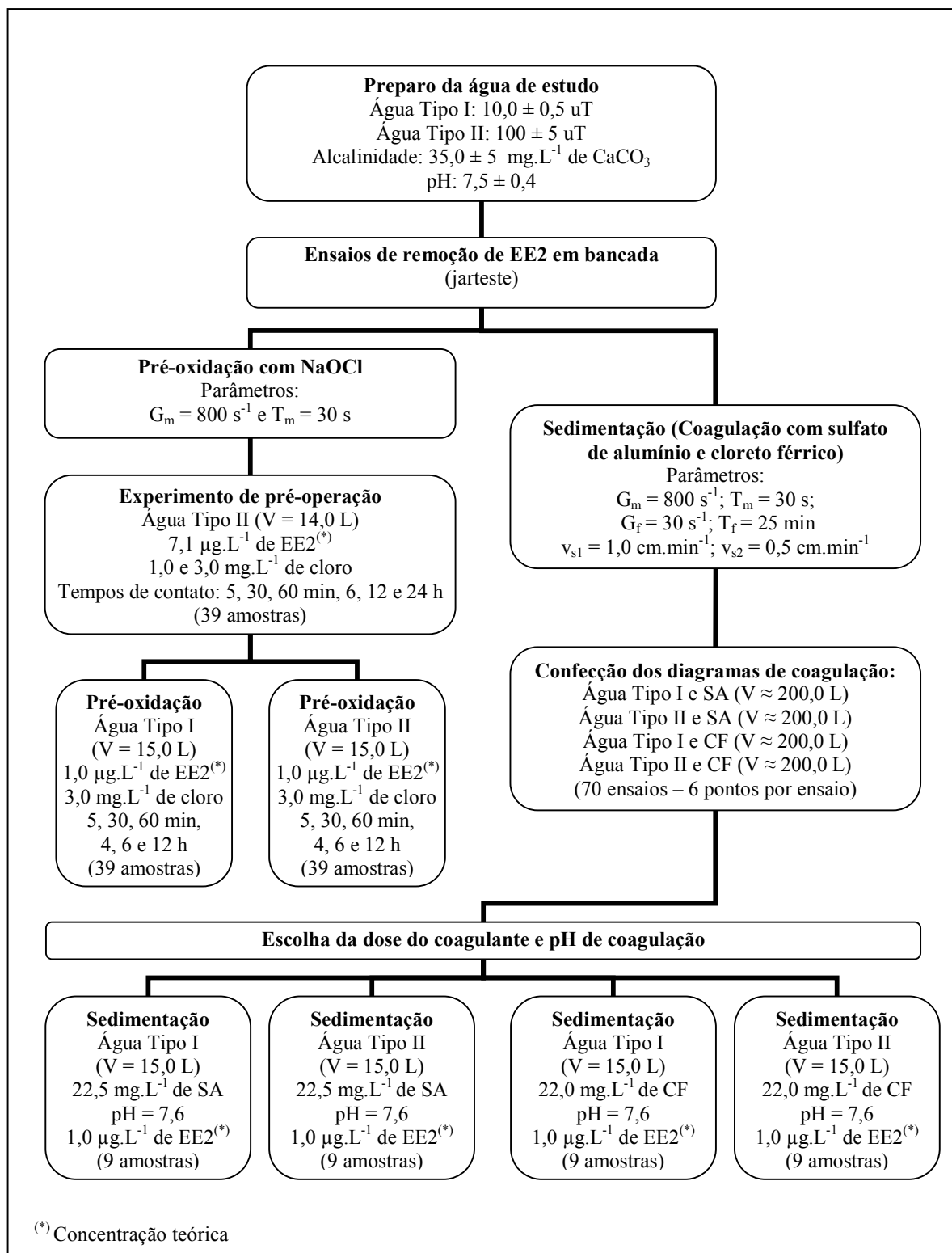
**Figura 4.5:** Principais etapas para realização da investigação experimental.

Com o preparo da água de estudo (descrito no item 4.4), foram realizados os ensaios de remoção de etinilestradiol em escala de bancada, para avaliação da eficiência resultante, seja da coagulação-floculação-sedimentação, seja da pré-oxidação. Após o término do experimento, eram coletadas amostras em cada frasco do equipamento de jarteste, as quais, após a mensuração dos parâmetros básicos (pH, turbidez e cor aparente), eram encaminhadas para os procedimentos de preparo pré-análise cromatográfica e para a cromatografia propriamente dita. Estes dois últimos passos estão explicados no item 4.5.

Para os ensaios de remoção através da sedimentação, foram utilizados como coagulantes o sulfato de alumínio (SA) e o cloreto férrico (CF), em seus respectivos pontos de dosagem ótima, definidos a partir dos diagramas de coagulação confeccionados com os resultados de uma série de ensaios de jarteste. Os sais de alumínio e ferro estão entre os coagulantes mais aplicados no Brasil, assim SA e o CF foram adotados por serem fontes destes metais. No equipamento de jarteste foram simuladas as etapas de clarificação (mistura rápida, floculação

e decantação) para as águas de estudo Tipo I ( $10,0 \pm 0,5$  uT) e II ( $100 \pm 5$  uT), objetivando a construção dos diagramas de coagulação, em um primeiro momento, e a avaliação da eficiência da sedimentação na remoção do etinilestradiol.

No estudo da pré-oxidação, também realizada no equipamento de jarreste, foi avaliada a eficiência do NaOCl (Hipoclorito de Sódio) em oxidar o etinilestradiol, para as águas de estudo Tipo I ( $10,0 \pm 0,5$  uT) e II ( $100 \pm 5$  uT), em diferentes tempos de contato. A Figura 4.6 contém o fluxograma geral dos experimentos de sedimentação e pré-oxidação realizados.



**Figura 4.6:** Fluxograma geral dos experimentos realizados em bancada.

Neste contexto, foram realizados, no laboratório de análises físico-químicas do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Escola de Engenharia da UFMG, os experimentos para verificação da efetividade dos processos descritos na remoção do etinilestradiol, com



quantificação do contaminante realizada no Departamento de Química da UFOP, através de análise cromatográfica.

#### **4.4 Preparo da água de estudo**

Com o objetivo de não imputar mais variáveis à pesquisa, as quais tornariam o processamento e análise dos resultados mais dispendiosa e aumentariam a chance da obtenção de resultados não conclusivos, optou-se pela preparação, em laboratório, da água utilizada no presente trabalho.

A utilização de água bruta de algum manancial poderia trazer, entre diversos outros inconvenientes, a flutuação descontrolada de suas características, por exemplo, os valores de turbidez, alcalinidade, concentração de etinilestradiol e, ainda, a inclusão de algum interferente indesejável ao estudo. Estes fatos ocasionariam no aumento da quantidade de análises necessárias, com conseqüente aumento dos custos; na possibilidade da dosagem ótima definida a partir dos diagramas de coagulação não ser confirmada nos ensaios de remoção de etinilestradiol propriamente ditos e, ainda, dificultariam avaliar a influência das partículas suspensas na água na eficiência dos processos.

Diante do apresentado, a água bruta de estudo foi preparada com água destilada com adição de uma concentração conhecida de etinilestradiol, sendo que a turbidez e a alcalinidade foram conferidas à água com a adição de, respectivamente, caulim micronizado e bicarbonato de sódio ( $\text{NaHCO}_3$ ).

##### **4.4.1 Adição de etinilestradiol**

Durante o período de realização desta pesquisa, duas foram as fontes utilizadas para a introdução de etinilestradiol na água de estudo. A primeira, utilizada no experimento de pré-operação, consistia na obtenção do hormônio com a dissolução de pílulas do anticoncepcional *Neovlar*. Nos demais experimentos, foi utilizada uma solução estoque produzida a partir de amostra pura de EE2, obtida em laboratório farmacêutico.

Quanto à concentração inicial, apesar da revisão da literatura concernir sobre a ocorrência do etinilestradiol em mananciais a concentrações na faixa de  $\text{ng.L}^{-1}$ , devido à limitação imposta pela escala de bancada, decidiu-se por trabalhar com concentrações à ordem de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Tal limitação ocorreu porque, na análise cromatográfica, a faixa de detecção situa-se na ordem de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , sendo necessário, previamente, concentrar amostras que apresentem contaminação em magnitudes inferiores a esta faixa ou diluir as de valores superiores.

No caso da detecção de poluentes em  $\text{ng.L}^{-1}$ , a amostra deve ser concentrada cerca de mil vezes ( $\times 1.000$ ), o que demanda a coleta de 1,0 L de água bruta, pois o volume final levado ao cromatógrafo é, em geral, de 1,0 mL. Assim, caso adotadas concentrações em  $\text{ng.L}^{-1}$  nos experimentos de bancada, a coleta de amostras em cada frasco do jarteste estaria limitada a duas, pois estes possuem capacidade de 2,0 L.

Neste contexto, foram adotadas concentrações em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de etinilestradiol, o que permitiu a retirada de um maior número de amostras por frasco do jarteste em cada experimento. Cada amostra coletada possuía volume de 100 mL, resultando em uma concentração de cem vezes ( $\times 100$ ) após a realização dos procedimentos de extração que antecedem a cromatografia.

#### 4.4.1.1 Adição do etinilestradiol por dissolução de pílulas anticoncepcionais

No experimento de pré-operação, o etinilestradiol era introduzido na água de estudo pelo maceramento de pílulas do anticoncepcional *Neovlar*, que possui 50  $\mu\text{g}$  de EE2 em sua composição. Nesta etapa foram dissolvidas 2 pílulas em 14,0 L da água de estudo Tipo II, resultando em uma concentração teórica de 7,1  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Todavia, o maceramento da pílula dificultava o preparo da água de estudo e não garantia o aproveitamento integral do composto. Este problema foi sanado com a obtenção do hormônio puro.

#### 4.4.1.2 Adição do etinilestradiol a partir do produto puro

A partir da dissolução de uma amostra pura de etinilestradiol em metanol e água deionizada, na proporção 0,002% V/V, foi preparada uma solução, a qual era dosada ao início de cada experimento. Além da facilidade de preparo, foi possível maior flexibilização na escolha da concentração inicial, com a pesagem do composto. Assim, nos experimentos de remoção de etinilestradiol a concentração inicial adotada foi 1,0  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Para o preparo, pesou-se massa de 5,0 mg de EE2 puro, os quais foram dissolvidos em 100,0 mL de metanol e 400,0 mL de água deionizada, formando uma solução estoque com concentração de metanol de 20% V/V. O metanol foi utilizado para garantir a solubilização do

composto. Para a realização dos experimentos, 10,0 mL desta solução estoque eram colocados em um balão volumétrico de 100,0 mL, sendo o volume completado com água deionizada, resultando em uma concentração final EE2 de  $1,00 \text{ mg.L}^{-1}$  e metanol na proporção 2% V/V. As soluções citadas eram conservadas sob refrigeração ( $T_{\text{méd.}} = 6 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ), sendo a solução estoque armazenada em vidro escuro e o balão volumétrico envolto com papel alumínio, para minimizar a degradação devido ao calor e à luminosidade.

Desta maneira, para a obtenção da concentração estipulada de EE2 de  $1,00 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ , era dosado 1,0 mL desta solução para cada 1,0 L de água de estudo. Ao início dos experimentos, o etinilestradiol era adicionado em 15,0 L da água de estudo<sup>1</sup>, separados exclusivamente para cada batelada, correspondente aos 6 frascos do jarteste, cada um com 2,0 L de volume útil, de modo que restavam aproximadamente 3,0 L para a caracterização da água bruta, quantificação do EE2 e, ainda, como volume reserva.

#### **4.4.2 Adição de turbidez**

Para conferir turbidez à água de estudo, optou-se pela adição de uma suspensão de caulim micronizado, baseado no trabalho realizado por Silva (2008).

Utilizando-se o aparelho de jarteste, colocou-se volume de 2,0 L de água destilada e 40,0 g de caulim micronizado em cada jarro. Promoveu-se a agitação da mistura a 150 rpm durante 2 h, desligou-se o aparelho e deixou-se a solução em repouso durante 21 h. Após este período, foi coletado o sobrenadante (aproximadamente 1,7 L), tomando-se cuidado para não ressuspender o material sedimentado. O sobrenadante era armazenado e, no preparo dos experimentos, adicionado aos poucos à água de estudo (reservatório de 250,0 L ou de 20,0 L) com a verificação da turbidez obtida. Este procedimento era repetido até a obtenção de  $10,0 \pm 0,5$  ou  $100 \pm 5 \text{ uT}$ , dependendo das características desejadas para a água de estudo (Tipo I e II).

#### **4.4.3 Adição de alcalinidade**

Visando ao aumento da capacidade tampão, necessária aos trabalhos envolvendo a coagulação, foi adicionado bicarbonato de sódio comercial à água de estudo. Neste trabalho, definiu-se que a alcalinidade deveria estar situada próxima a  $35,0 \pm 5,0 \text{ mg/L}$  de  $\text{CaCO}_3$ .

---

<sup>1</sup> Com as sucessivas diluições obteve-se concentração final de metanol na amostra de 0,002% V/V e portanto, menor que o valor máximo de 0,5 a 1%.

Esta definição foi aportada na realização de teste, no qual foram preparadas 13 amostras com volume de 1,0 L de água destilada, cada, e alcalinidade próxima a  $35,0 \pm 5,0$  mg/L de  $\text{CaCO}_3$ . Em 4 destas amostras foi dosado sulfato de alumínio, sendo diferente a dose recebida por cada uma (10,0; 20,0; 30,0 e 40,0 mg.L<sup>-1</sup>). Das amostras restantes, em 4 foi dosado hidróxido de sódio 0,1M (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 mL.L<sup>-1</sup>) e nas últimas 5 ácido clorídrico 0,1N (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 4,0 mL.L<sup>-1</sup>). Para cada amostra, foi determinado o pH antes e depois da adição do coagulante. A baixa variação do pH resultante da adição do coagulante, base ou ácido, indicou a eficácia da capacidade tampão para esta alcalinidade.

A partir disso, a massa de  $\text{NaHCO}_3$  a ser utilizada era definida pela adição de uma quantidade conhecida do soluto a um determinado volume de água destilada, com posterior titulação para mensuração da alcalinidade total resultante. De posse do resultado, era calculada, relacionando as quantidades utilizadas (regra de três), a massa necessária para resultar em  $35,0 \pm 5$  mg.L<sup>-1</sup> de  $\text{CaCO}_3$  na água. Para obter esta alcalinidade, era necessário adicionar aproximadamente 5,75 mg de bicarbonato de sódio para cada litro de água de estudo.

#### **4.5 Experimentos de remoção de etinilestradiol**

Os trabalhos experimentais desta pesquisa e o preparo das amostras que antecedem a cromatografia foram realizados nos laboratórios do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Escola de Engenharia da UFMG.

O experimento-teste consistiu na avaliação da influência da pré-oxidação com hipoclorito de sódio na remoção do etinilestradiol e cumpriu, também, o importante papel de direcionar os rumos experimentais seguintes. Com os seus resultados, foi possível optar por mudanças na fonte de obtenção do etinilestradiol, no volume e maneira de coleta das amostras e na opção por realizar triplicatas ao invés de duplicatas.

Assim, os experimentos de pré-oxidação com hipoclorito de sódio foram realizados sob duas configurações diferentes, apresentadas no item 4.5.1. Os experimentos de sedimentação possuíram configuração única, conforme apresentado em 4.5.2, baseada na experiência adquirida nos ensaios de pré-oxidação. Durante os experimentos, o recipiente de preparo da água de estudo e os jarros do equipamento de jarreste eram envoltos por papel alumínio visando a minimizar a possível fotodegradação do etinilestradiol, conforme ilustrado na Figura 4.7.



**Figura 4.7:** Recipientes envolvidos com papel alumínio durante os experimentos, visando a minimizar o efeito da fotodegradação do etinilestradiol.

Para facilitar a apresentação da configuração dos experimentos, a apresentação e discussão dos resultados, foi adotada, para as amostras coletadas, a nomenclatura apresentada na Tabela 4.4.

**Tabela 4.4:** Nomenclatura adotada para as amostras coletadas durante a investigação experimental.

Experimento	Coletas	Nomenclatura adotada para as amostras		
		Brutas	Branco <sup>1</sup>	Oxidadas / Coaguladas
Experimento-teste	Duplicatas	T <sub>A1</sub> e T <sub>A2</sub>	T <sub>B1</sub> e T <sub>B2</sub>	T <sub>C1</sub> , T <sub>C2</sub> , T <sub>D1</sub> e T <sub>D2</sub>
Pré-oxidação (Água Tipo I)	Triplicatas	OI <sub>A1</sub> , OI <sub>A2</sub> e OI <sub>A3</sub>	OI <sub>B1</sub> , OI <sub>B2</sub> e OI <sub>B3</sub>	OI <sub>C1</sub> , OI <sub>C2</sub> e OI <sub>C3</sub>
Pré-oxidação (Água Tipo II)	Triplicatas	OII <sub>A1</sub> , OII <sub>A2</sub> e OII <sub>A3</sub>	OII <sub>B1</sub> , OII <sub>B2</sub> e OII <sub>B3</sub>	OII <sub>C1</sub> , OII <sub>C2</sub> e OII <sub>C3</sub>
Sedimentação - SA (Água Tipo I)	Triplicatas	SSI <sub>A1</sub> , SSI <sub>A2</sub> e SSI <sub>A3</sub>	SSI <sub>B1</sub> , SSI <sub>B2</sub> e SSI <sub>B3</sub>	SSI <sub>C1</sub> , SSI <sub>C2</sub> e SSI <sub>C3</sub>
Sedimentação - CF (Água Tipo I)	Triplicatas	SCI <sub>A1</sub> , SCI <sub>A2</sub> e SCI <sub>A3</sub>	SCI <sub>B1</sub> , SCI <sub>B2</sub> e SCI <sub>B3</sub>	SCI <sub>C1</sub> , SCI <sub>C2</sub> e SCI <sub>C3</sub>
Sedimentação - SA (Água Tipo II)	Triplicatas	SSII <sub>A1</sub> , SSII <sub>A2</sub> e SSII <sub>A3</sub>	SSII <sub>B1</sub> , SSII <sub>B2</sub> e SSII <sub>B3</sub>	SSII <sub>C1</sub> , SSII <sub>C2</sub> e SSII <sub>C3</sub>
Sedimentação - CF (Água Tipo II)	Triplicatas	SCII <sub>A1</sub> , SCII <sub>A2</sub> e SCII <sub>A3</sub>	SCII <sub>B1</sub> , SCII <sub>B2</sub> e SCII <sub>B3</sub>	SCII <sub>C1</sub> , SCII <sub>C2</sub> e SCII <sub>C3</sub>

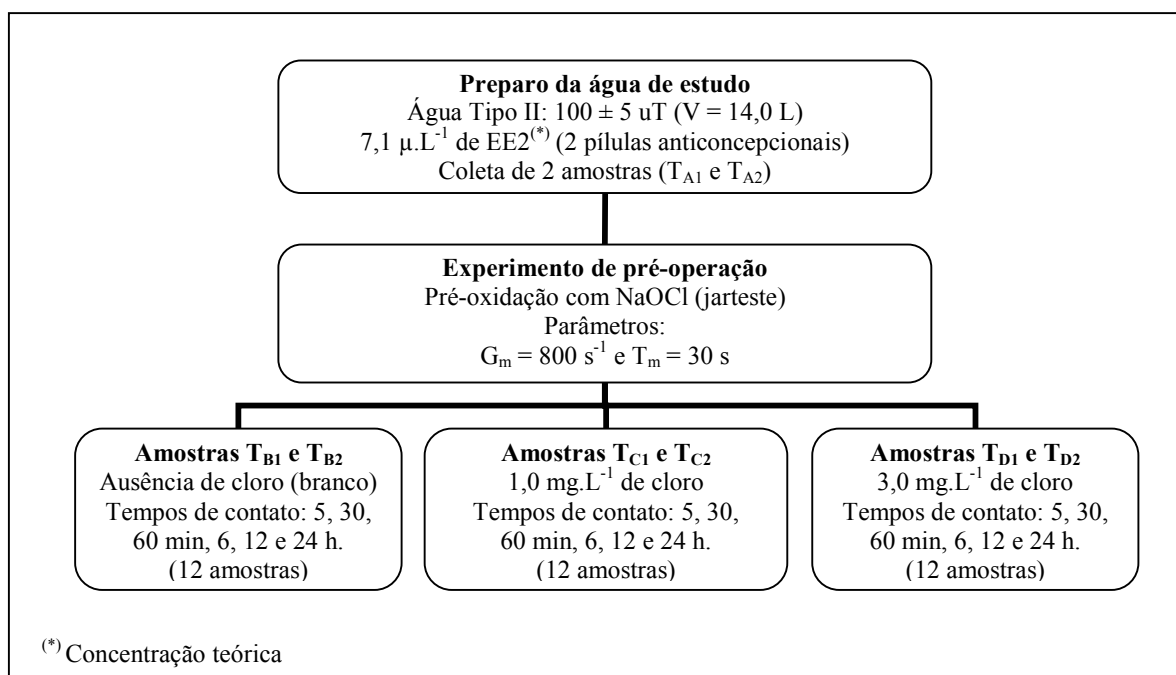
1 – Branco: Amostra colocada sob as mesmas condições experimentais, porém isenta do parâmetro em avaliação (por exemplo, na presente pesquisa, cloro ou coagulante), que serve de elemento comparativo.

#### 4.5.1 Ensaios de pré-oxidação

Visando a avaliar a efetividade do cloro em auxiliar a remoção do etinilestradiol em ETAs, foi realizada, em escala de bancada, uma simulação da etapa de pré-oxidação. Em linhas gerais, com a água de estudo tipo I ou II no equipamento de jarteste, era promovida a mistura rápida, durante 30 s a um gradiente de velocidade de  $800 \text{ s}^{-1}$ , para dispersão do cloro. Estes

parâmetros foram baseados nos adotados pelo PROSAB, edital 5, tema 1 (2006). Após a coleta, o efeito do cloro era cessado nas amostras através da adição de tiosulfato de sódio.

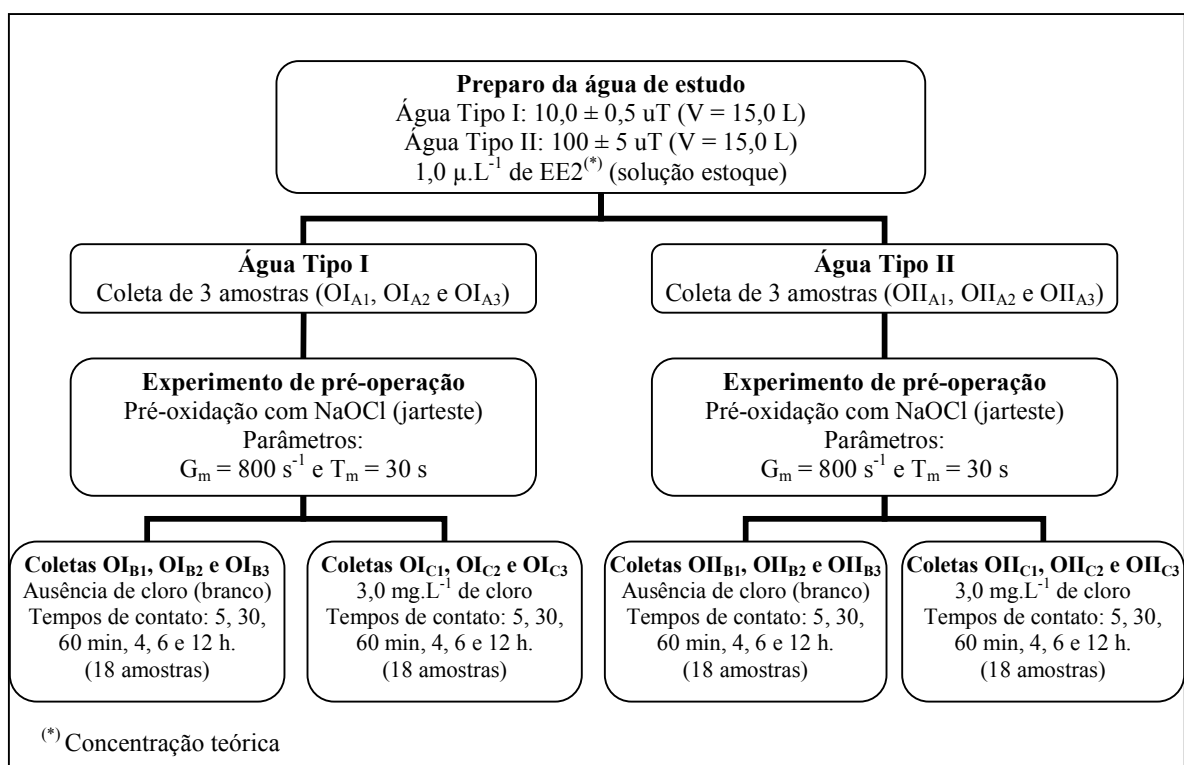
No experimento-teste, trabalhou-se com coleta de amostras em duplicatas. Em duas amostras não foi adicionado cloro (brancos), duas receberam  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  e as outras duas  $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de cloro. Os tempos de contato foram: 5, 30, 60 min, 6, 12 e 24 h. As dosagens de cloro foram definidas com base nas empregadas pela COPASA nas ETAs de Belo Horizonte que estão sendo monitoradas no âmbito do PROSAB. O fluxograma de montagem deste experimento é apresentado na Figura 4.8.



**Figura 4.8:** Fluxograma do experimento-teste de pré-oxidação.

Em princípio, o experimento com esta configuração seria realizado também para a água com  $10,0 \pm 0,5 \text{ uT}$ , mas, em função dos resultados verificados e da obtenção do hormônio puro, algumas alterações foram implementadas, conforme será discutido no capítulo 5.

Assim, com a dosagem de solução de EE2, em substituição à dissolução do anticoncepcional, e com a proposta de trabalhar com coletas em triplicatas ao invés de duplicatas, facilitando, desta maneira, a interpretação dos resultados, novos experimentos de pré-oxidação foram realizados segundo o fluxograma apresentado na Figura 4.9.



**Figura 4.9:** Fluxograma dos experimentos de pré-oxidação, após modificação.

Com a demanda de coletas em triplicatas, foi necessário optar pela aplicação de uma única dosagem de cloro, assim, foi adotada a nova configuração: 3 amostras sem cloro (brancos); 3 com  $3 mg/L$  de cloro. Os tempos de contato foram alterados para: 5, 30, 60 min, 4, 8 e 12 h.

#### 4.5.2 Ensaios de sedimentação

Os experimentos de avaliação da sedimentação visando a remoção do etinilestradiol foram compostos por duas etapas: realização de ensaios de jarteste para confecção dos diagramas de coagulação e execução dos experimentos de remoção propriamente ditos. Os parâmetros adotados nestes experimentos estão apresentados na Tabela 4.5.

**Tabela 4.5:** Parâmetros utilizados para ensaios de jarteste (PROSAB, 2006).

PARÂMETRO	VALOR
Gradiente de velocidade de mistura rápida ( $G_m$ )	$800 s^{-1}$
Tempo de mistura rápida ( $T_m$ )	30 s
Gradiente de velocidade de floculação ( $G_f$ )	$30 s^{-1}$
Tempo de floculação ( $T_f$ )	25 min
Velocidade de sedimentação (vs)	$0,5$ e $1,0 cm.min^{-1}$

Em ambas as etapas, o equipamento de jarreste foi preparado contendo 2,0 L da água de estudo em cada um dos seus seis frascos. O coagulante e o produto químico utilizado para ajustar o pH de coagulação eram dosados durante a etapa de mistura rápida a um gradiente de velocidade de  $800 \text{ s}^{-1}$ , durante 30 s. Após este tempo, com o início da etapa de floculação, o gradiente de velocidade era reduzido para  $30 \text{ s}^{-1}$  e assim mantido durante 25 minutos. Por fim, era cessada a agitação, para simulação da decantação, deixava-se o ambiente em repouso até completados os tempos de coletas das amostras.

#### 4.5.2.1 Ensaio de sedimentação visando à confecção dos diagramas de coagulação

Estes ensaios, necessários à definição do ponto de dosagem ótima a ser utilizado nos experimentos de remoção de etinilestradiol, consistem na variação do pH da água ensaiada e da dosagem do coagulante em uma determinada faixa, com determinação da turbidez e cor aparente remanescentes.

De posse destas informações é construído um gráfico com os pares pH x dosagem do coagulante nos eixos das ordenadas e abscissas, respectivamente. No plano formado pelos dois eixos são lançadas as informações de turbidez ou cor aparente atribuídas a cada ponto, as quais são interpoladas para a delimitação de áreas de mesma eficiência. Este gráfico, denominado diagrama de coagulação, possibilita a definição da dose do coagulante e do pH de coagulação que irão apresentar menor turbidez (ou outro parâmetro que estiver sendo monitorado) da água decantada.

A dose dos coagulantes foi variada entre 5 e  $40 \text{ mg.L}^{-1}$ , em intervalos de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ , e o pH entre 5,0 e 9,5. Na Tabela 4.6 são apresentados o número de ensaios realizados, em cada variação, para a confecção dos diagramas de coagulação.

**Tabela 4.6:** Quantidade de ensaios realizados para confecção dos diagramas de coagulação.

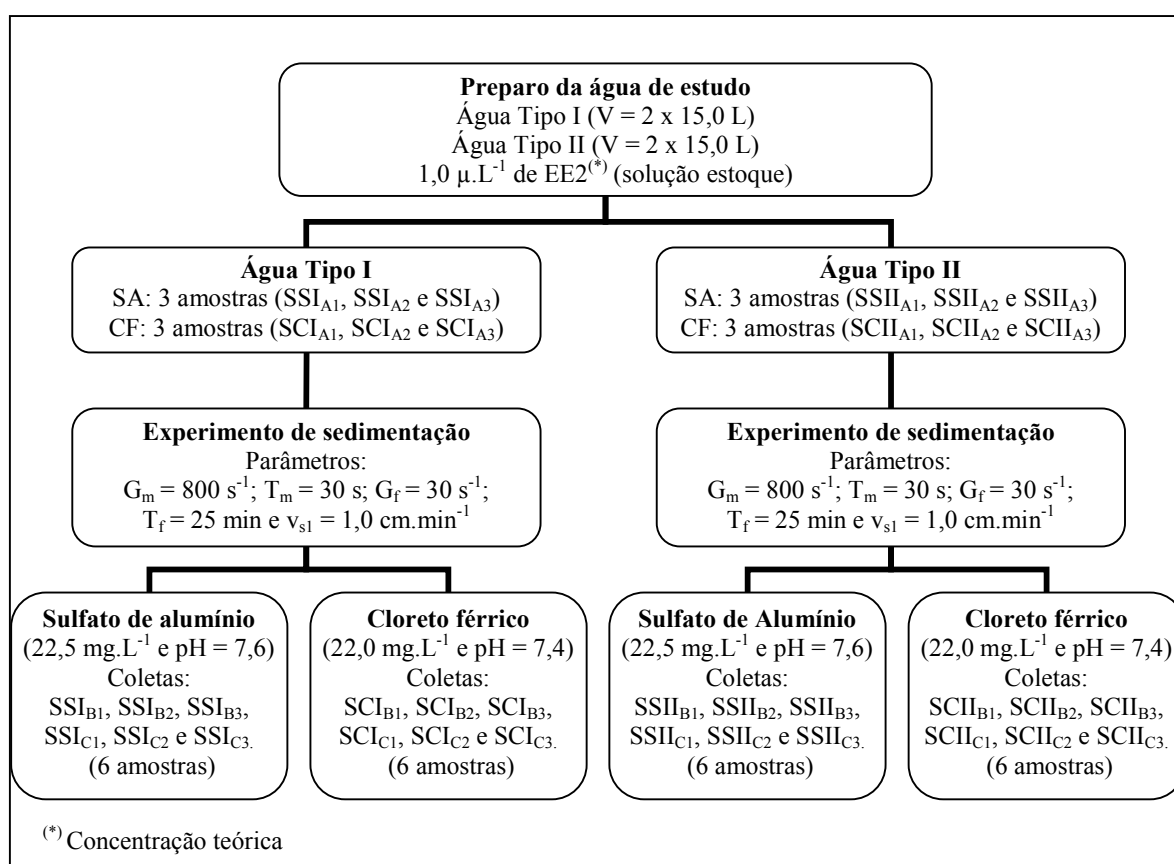
COAGULANTE	ÁGUA DE ESTUDO	NÚMERO DE ENSAIOS	PONTOS (pH X DOSAGEM)
SA	Tipo I	15	90
SA	Tipo II	13	78
CF	Tipo I	21	126
CF	Tipo II	22	132



#### 4.5.2.2 Ensaio de sedimentação visando à avaliar a remoção do etinilestradiol

Uma vez confeccionados os diagramas de coagulação, puderam ser determinados os pontos de dosagem ótima para cada um dos coagulantes a serem utilizados nos experimentos visando avaliar a remoção do etinilestradiol para as águas tipo I e II. A escolha destes pontos se deu com base nos menores valores de turbidez remanescente, a exemplo do que ocorre em estações de tratamento de água.

Durante os experimentos de pré-oxidação com hipoclorito de sódio, foi verificada que a adsorção do etinilestradiol por parte das partículas de caulim suspensas não era significativa, assim, optou-se pela coleta da amostra apenas para a velocidade de sedimentação  $v_s = 1,0 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$  (coleta após 7 minutos de decantação). Na Figura 4.10 é apresentado o fluxograma dos experimentos de sedimentação.



**Figura 4.10:** Fluxograma dos experimentos de sedimentação.

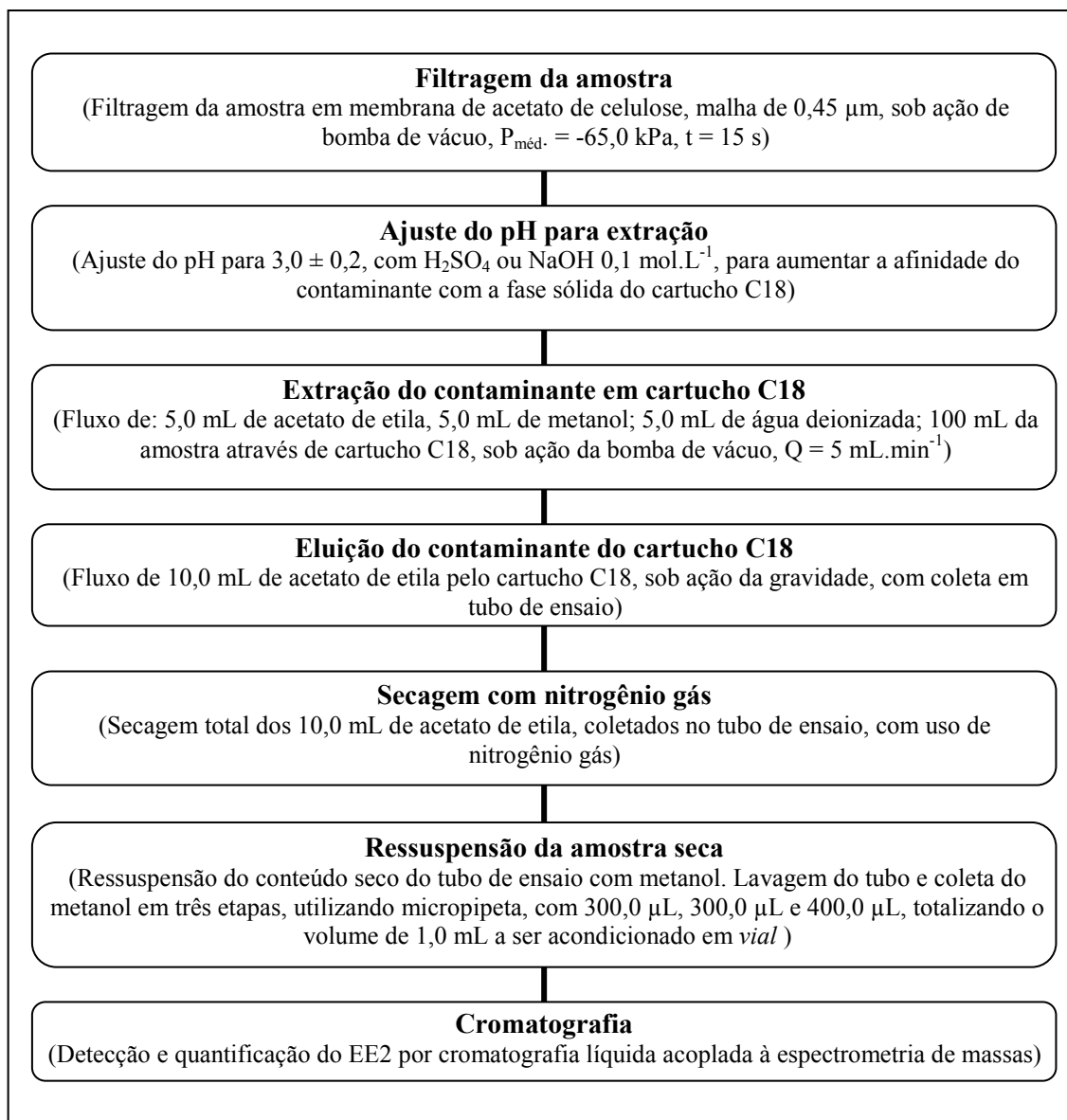
O HCl ou NaOH para ajuste do pH de coagulação era adicionado a todos os frascos do jarreste, de forma que a única variável entre os dois grupos de triplicatas era a presença ou ausência de coagulante.

#### **4.6 Análises cromatográficas**

Neste item serão abordados a etapa de análise cromatográfica para detecção e quantificação dos microcontaminantes, e os procedimentos de preparação das amostras.

Após a realização dos experimentos de remoção de etinilestradiol, fazia-se necessário submeter as amostras coletadas a uma série de procedimentos laboratoriais, visando a concentração do contaminante e prepará-las para a análise cromatográfica. São eles: filtração, correção do pH, extração em fase sólida, eluição, secagem e ressuspensão.

Esta etapa preparatória das amostras era realizada, assim como os experimentos de remoção de etinilestradiol, nas dependências do DESA – UFMG, em laboratório destinado para este uso exclusivo, a fim de evitar contaminação cruzada. Após transcorridas estas etapas, as amostras eram encaminhadas para o DEQUI – UFOP, para realização dos procedimentos analíticos de cromatografia. A seqüência dos procedimentos encontra-se ilustrada na Figura 4.11.



**Figura 4.11:** Etapas laboratoriais para detecção do etinilestradiol por análise cromatográfica.

É importante frisar que os procedimentos descritos nesta seção representam a metodologia analítica e pré-analítica adotada pelo grupo de pesquisa, não consistindo em única opção para o tratamento de problemas da mesma espécie. As metodologias adotadas foram baseadas nos relatos de Wang *et al* (2005) e Moreira (2008).

#### 4.6.1 Procedimentos pré-cromatográficos

Assim que coletadas e caracterizadas em termos dos parâmetros básicos pertinentes a cada experimento, as amostras eram preparadas para cromatografia. Os recipientes de coleta eram envoltos por papel alumínio para minimizar a possível fotodegradação e, caso os

procedimentos não fossem iniciados de imediato, as amostras eram conservadas sob refrigeração, a temperatura média de 6 °C por um período máximo de 24 h.

#### 4.6.1.1 Filtração

Com intuito de retirar as partículas com maiores dimensões que pudessem oferecer risco de colmatação aos cartuchos de extração em fase sólida, as amostras eram filtradas em membranas de acetato de celulose com abertura da malha de 0,45 µm, instaladas em um kit de filtração, com a utilização de bomba de vácuo conectada a um kitassato. Devido à baixa quantidade de partículas na água de estudo, este procedimento durava aproximadamente 15 s com pressão média de -65,0 kPa.

Caso houvesse a necessidade de remoção de partículas maiores, a filtração em membrana de acetato de celulose deveria ser precedida de filtração em membranas de fibra de vidro com abertura da malha de 1,2 µm, fato que não ocorreu neste trabalho.

#### 4.6.1.2 Correção do pH

Seguindo a metodologia publicada por Wang *et al* (2005), visando a favorecer a afinidade da amostra com o cartucho de extração em fase sólida, era promovido o ajuste do pH da amostra para  $3,0 \pm 0,2$ . Caso fosse necessário aumentá-lo, eram adicionadas gotas de solução de NaOH e caso fosse necessário abaixá-lo, era utilizada solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ambas 0,1 mol.L<sup>-1</sup>, sendo esta segunda situação mais freqüente nesta pesquisa.

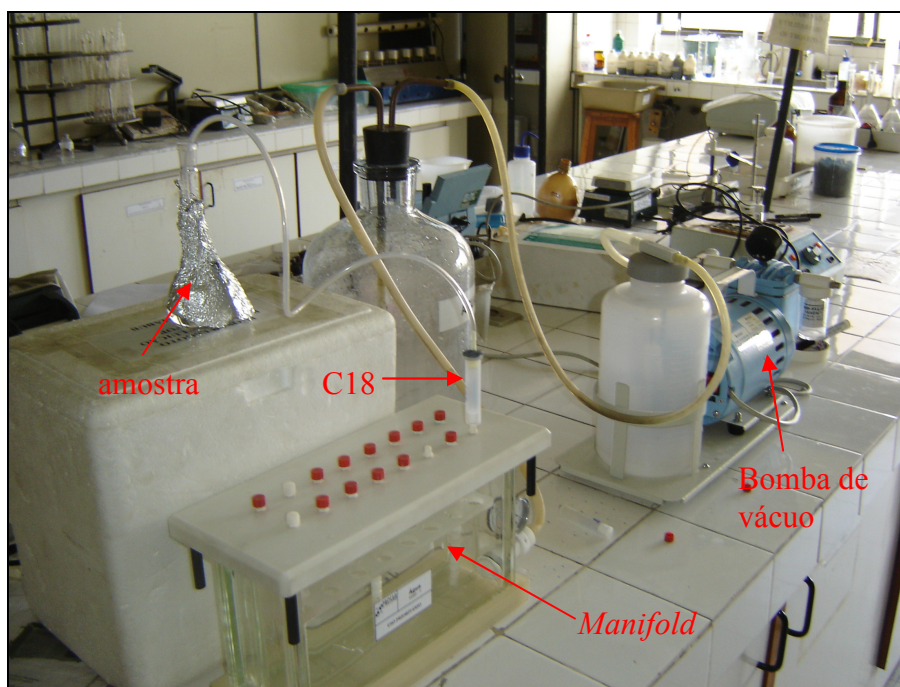
#### 4.6.1.3 Extração em fase sólida

Esta etapa consiste na extração dos compostos orgânicos da fase aquosa, por percolação através de um cartucho de extração, possibilitando a concentração da amostra e eliminação de íons interferentes. Antes da extração, entretanto, o cartucho deve ser preparado para receber a amostra. Tal preparação consiste na passagem de solventes pelo cartucho, devendo o último ser de um meio com polaridade semelhante à da amostra.

Primeiramente eram adicionados 5 mL de acetato de etila, com uma seringa de vidro graduada. Em seguida, adicionava-se 5 mL de metanol. E, por último, 5mL de água deionizada. Todos sob operação da bomba de vácuo, com vazão máxima de 5 mL.min<sup>-1</sup> (P<sub>méd.</sub> = -10 kPa).

Foram utilizados cartuchos C18 (fase sólida), composto por octadecil silano ligado quimicamente à sílica porosa. A maior afinidade dos compostos orgânicos com o meio poroso do cartucho resulta em sua separação do meio aquoso.

Assim, após ajustado o pH da amostra e preparado o cartucho C18, foi realizado o processo de extração do contaminante. É importante que a velocidade de fluxo dos líquidos através do cartucho seja controlada, para melhor garantir a retenção do contaminante, mantendo-se uma vazão máxima de  $5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . A montagem para o processo de extração da amostra é apresentada na Figura 4.12.

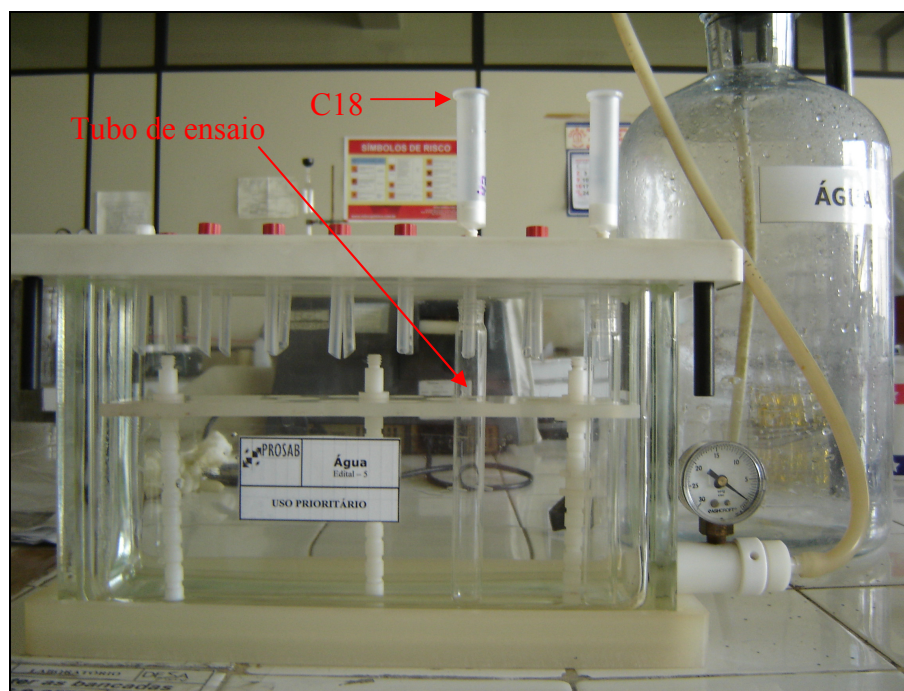


**Figura 4.12:** Montagem para processo de extração dos contaminantes.

Após toda a amostra percolar através do cartucho, deixava-se a bomba de vácuo em operação por mais 30 min para garantir sua secagem. Em seguida os C18 eram colocados em pequenos sacos plásticos, dos quais era eliminado o excesso de ar manualmente, eram envoltos em papel alumínio e levados a *freezer* ou congelador (temperatura média entre  $-12$  e  $-18$  °C), onde permaneciam até o dia de eluição da amostra. As amostras permaneceram por até 2 meses congeladas, embora pudessem aguardar por 6 meses sem que houvesse comprometimento analítico (Moreira, 2008).

#### 4.6.1.4 Eluição da amostra

A etapa de dessorção do contaminante do cartucho é realizada também no *manifold*, mas sem atuação efetiva da bomba de vácuo. Após a retirada dos cartuchos do congelador e aguardado um período para descongelamento, estes são acoplados na parte superior do *manifold* que, nesta etapa, contém em seu interior um tubo de ensaio para cada cartucho (Figura 4.13).



**Figura 4.13:** Montagem para processo de eluição dos contaminantes.

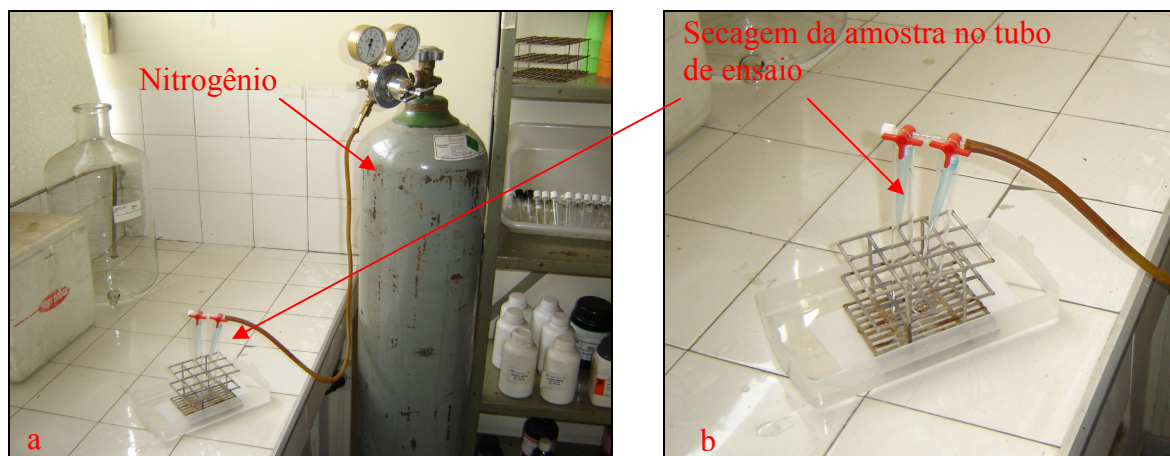
Foi utilizado como solvente o acetato de etila, visando a simplificar a etapa seguinte de secagem da amostra, devido sua volatilidade ser superior à do metanol. Eram colocados 5 mL do solvente no cartucho, que percolavam, por ação da gravidade, gotejando no tubo de ensaio. Após esta primeira percolação, eram adicionados mais 5 mL de acetato de etila e repetido o processo. A seguir, a bomba de vácuo era acionada, por aproximadamente 30 min a uma pressão de -10kPa, para garantir a retirada do restante de acetato retido no cartucho. Seu acionamento também era efetuado, por uma fração de segundo, caso a percolação dos 10 mL cessasse.

#### 4.6.1.5 Secagem da amostra

Seguindo o processo, promoveu-se a secagem completa dos 10 mL de acetato de etila presentes no tubo de ensaio, com nitrogênio gasoso (Figura 4.14). Esta secagem se faz necessária por ser o metanol, e não o acetato de etila, o solvente utilizado neste trabalho como fase móvel da coluna cromatográfica. Além disso, o objetivo nesta etapa preparatória da



cromatografia é a concentração da amostra em um volume final de 1,0 mL, que resultava em um fator de concentração teórico de 100 vezes.



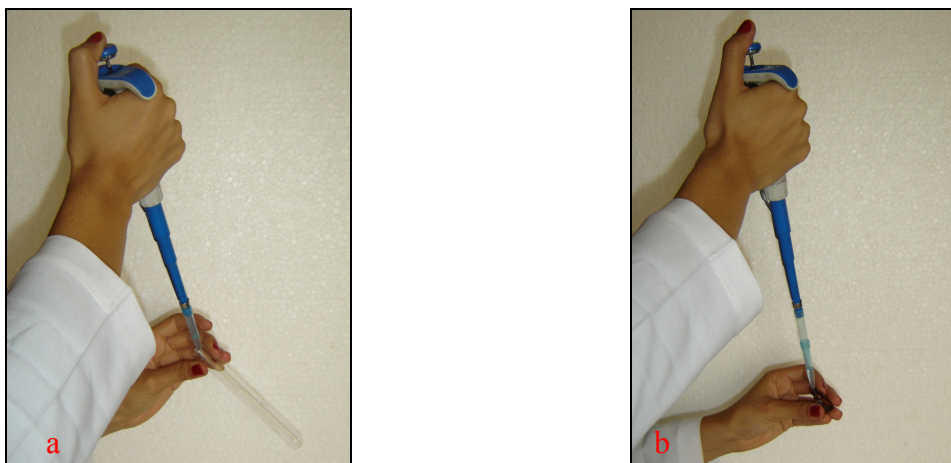
**Figura 4.14:** Secagem das amostras eluídas: (a) visão geral e (b) detalhe da secagem do conteúdo dos tubos de ensaio.

#### 4.6.1.6 Ressuspensão

A etapa final do processo preparativo da análise cromatográfica consiste na ressuspensão do material seco no tubo de ensaio com a utilização de 1,0 mL de solvente. A relação do volume inicial da amostra com este 1,0 mL resultante indica quantas vezes a amostra foi concentrada, devendo ser considerada na avaliação do valor obtido na cromatografia. Neste trabalho a amostra foi concentrada 100 vezes, uma vez que as amostras coletadas no jarteste possuíam 100 mL de volume.

Utiliza-se nesta etapa como solvente o mesmo líquido utilizado como fase móvel na cromatografia. A prática obtida nos trabalhos realizados pela equipe da UFOP aponta para uma maior afinidade do metanol com a coluna cromatográfica lá existente, apresentando melhores resultados, e assim, foi recomendada a utilização deste solvente no presente trabalho (Moreira, 2008).

Com a utilização de uma micropipeta, é realizada, por etapas, a lavagem do material aderido às paredes do tubo de ensaios. Promove-se a lavagem cuidadosa com 300  $\mu$ L de metanol, que são colocados em um *vial*, repete-se o processo novamente com 300  $\mu$ L e, por fim, com 400  $\mu$ L (Figura 4.15). Os *vials* eram envolvidos por papel alumínio e conservados sob refrigeração (temperatura média entre -12 e -18 °C) até o envio para o laboratório de cromatografia da UFOP. Durante o transporte era mantida a condição de refrigeração.



**Figura 4.15:** Ressuspensão da amostra: (a) lavagem com metanol e (b) acondicionamento em vial.

#### 4.6.2 Análise cromatográfica

Como última etapa do processo analítico, era realizada detecção e quantificação do etinilestradiol nos laboratórios do DEQUI – UFOP, através de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas.

Para tal foi utilizado um LCMS-IT-TOF, de fabricação da SHIMADZU, Figura 4.16, que oferece um espectro de alta resolução, próprio para a detecção de microcontaminantes químicos a pequenas concentrações. A sigla LCMS significa *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* e refere-se à forma de separação (cromatografia líquida) e detecção (espectrometria de massas) das substâncias analisadas.



**Figura 4.16:** Equipamento de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas - LCMS-IT-TOF.



Segundo Moreira (2008): “A cromatografia acoplada à espectrometria de massas, seja líquida ou gasosa, apresenta-se como a técnica analítica mais robusta, abrangente, reprodutível e sensível, para o monitoramento de amostras ambientais. A instrumentação disponível combina baixos limites de detecção e reprodutibilidade analítica através do monitoramento de íons pré-selecionados”. Na Tabela 4.7 são apresentadas as condições cromatográficas utilizadas para a detecção e quantificação do etinilestradiol.

**Tabela 4.7:** Condições de análise do EE2 por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (Moreira, 2008, adaptado).

Aparelho	Shimadzu LCMS-IT-TOF
Módulos	CBM-20A (Controlador de Sistema) DGU-20A3 (Degaseificador) LC-20AD (Propulsão de Solventes) SIL-20 <sup>a</sup> (Injetor Automático) IT-TOF (Espectrômetro de massas)
Pré-Coluna	Phenomenex C18 (ODS) (4,0 mm x 2,0 mm)
Vazão da Fase Móvel	0,2 mL . min <sup>-1</sup> (metanol e água)
Gradiente de concentração (água e metanol)	*Variação de 30 a 85% de metanol em 5 minutos; *Estabilização a 85% de metanol por 3 minutos; *Aumento para 100% de metanol e estabilização por 8 minutos; *Redução para 0% de metanol e estabilização por 2 minutos; *Aumento para 30% de metanol e estabilização por 5 minutos. Tempo total de análise: 23 minutos.
Volume de injeção da amostra	5µl (injeção automática)
Gases Utilizados	Argônio (gás de colisão) Nitrogênio (Gás de nebulização). Pressão: 100kPa
Temperatura do CDL <sup>a</sup>	200°C
Voltagem do detector	1,65 kV
Interface	Eletronspray ionization (ESI) - modo negativo
Intervalo de varredura m/z	100 a 350
Íons monitorados	Etinilestradiol: m/z = 295,17
Tempo de acumulação de íons	Etinilestradiol: 100 milisegundos

<sup>a</sup>CDL: *Curved Dessolvation Line* [(Kaihara *et al.* 2002; Schug e McNair, 2003) *apud* Moreira, 2008]

A cromatografia tem, basicamente, a função de separar substâncias, utilizando para isto a diferença de interação ou afinidade entre estas substâncias, uma fase estacionária (sólida) e uma fase móvel, esta última que classifica o tipo da cromatografia (líquida ou gasosa). Na cromatografia líquida especificamente, como fase móvel é utilizado um solvente.

A espectrometria de massas, responsável pela identificação dos compostos, possui diversas variações, mas, de forma geral, é composta por um sistema para produção, um para separação e um para detecção de íons.

No equipamento LCMS-IT-TOF, a produção e separação dos íons são promovidas pelo mecanismo *Ion Trap* (IT), no interior do qual os íons orbitam e são separados pela diferença do potencial e frequência aplicados, utilizando-se da relação massa/carga de cada um. Este mecanismo, quando desejado, pode ser utilizado para quebrar moléculas, através da colisão induzida (Colisão induzida para dissociação). Já a detecção é realizada pelo mecanismo *Time of Flight* (TOF), através da informação do tempo gasto pelo íon desde a saída do IT até a colisão com o detector, o tempo para percurso desta distância é particular de cada íon e função da relação m/z (massa/carga).

Em resumo, todo este aparato é previamente calibrado, através da utilização de padrões analíticos (Ex. Sigma) dos contaminantes a serem detectados. Em seguida a amostra é injetada e percorre o equipamento, que gera espectros (cromatográficos e de massas). Nos espectros, os picos coincidentes com os dos padrões representam os contaminantes visados e a integração destes picos (cálculo das áreas) representa as suas concentrações na amostra.

#### **4.7 Tratamento estatístico dos dados**

No que se refere ao tratamento dos dados para avaliação dos resultados, devido ao pequeno tamanho da amostra, as ferramentas estatísticas passíveis de aplicação foram limitadas. Em termos da estatística descritiva básica, como não foram feitas repetições das coletas em triplicatas, a análise ficou resumida ao cálculo da média aritmética.

O espaço amostral também influenciou a aplicação dos testes de hipóteses para verificação se há diferença significativa entre as amostras que receberam tratamento e os brancos de um mesmo experimento, ou entre duas amostras tratadas de ensaios distintos, resultando na utilização dos “testes não-paramétricos”, pois estes não dependem do conhecimento da distribuição da variável na população. Para a aplicação dos testes estatísticos não-paramétricos nos dados gerados, foi utilizado o *software* STATISTICA 6.1 (StatSoft, Inc., 2003).

Na comparação das amostras tratadas e brancos em um mesmo ensaio foi aplicado o “teste T de *Wilcoxon*” para amostras pareadas, substituto do “teste t de *Student*” para dados com distribuição não-normal. Como tais amostras foram preparadas a partir de uma mesma água e tiveram coletas simultâneas, a suposição do pareamento se aplica. Quanto à comparação de amostras tratadas em ensaios diferentes, foi aplicado o “teste de *Mann e Whitney* (*Mann-*

*Whitney U Test*”), substituto do “teste t de *Student*” para comparação entre grupos independentes.

Na análise estatística dos dados para as amostras pareadas e independentes foi adotado um nível de significância ( $\alpha$ ) igual a 5%. Na Tabela 4.8 é apresentado um resumo dos testes estatísticos utilizados.

**Tabela 4.8:** Testes estatísticos utilizados na análise dos resultados.

<b>TESTE PROPOSTO</b>	<b>HIPÓTESE TESTADA</b>
<i>teste T de Wilcoxon</i> (comparação das amostras de um mesmo ensaio)	Eficácia da pré-oxidação em remover o EE2
	Eficácia da sedimentação em remover o EE2
<i>teste de Mann e Whitney</i> (comparação entre dois ensaios)	Influência da turbidez na remoção do EE2 por pré-oxidação
	Influência da turbidez na remoção do EE2 por sedimentação
	Influência do tipo de coagulante na remoção do EE2 por sedimentação
	Verificação da remoção de EE2 por adsorção às partículas suspensas

Neste contexto, os trabalhos experimentais propostos nesta pesquisa foram conduzidos conforme descrito, e os resultados obtidos serão apresentados no capítulo a seguir.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo é destinado à apresentação dos resultados obtidos com as montagens descritas no capítulo anterior e discussões pertinentes. Serão apresentados a faixa de variação das características das águas de estudo e os resultados obtidos nos ensaios de pré-oxidação com hipoclorito de sódio e de sedimentação.

### 5.1 Características da água de estudo

As características das águas de estudo tipo I e II utilizadas nos ensaios de remoção do etinilestradiol estão apresentadas na Tabela 5.1.

**Tabela 5.1:** Características das águas de estudo tipo I e II.

PARÂMETRO	ÁGUA TIPO I	ÁGUA TIPO II
Turbidez (uT)	10,0 ± 0,5	100 ± 5
Cor aparente (uH)	39,0 ± 4,0	380 ± 30
Alcalinidade total (mg.L <sup>-1</sup> de CaCO <sub>3</sub> )	35,0 ± 5,0	35,0 ± 5,0
Temperatura (°C)	24,0 ± 1,0	24,0 ± 1,0
pH	7,5 ± 0,4	7,5 ± 0,4

### 5.2 Experimentos de pré-oxidação com cloro

#### 5.2.1 Experimento-teste de pré-oxidação

As concentrações de etinilestradiol detectadas na água de estudo, para as amostras coletadas antes da realização do experimento-teste, estão reproduzidas na Tabela 5.2. São apresentadas as concentrações em valores absolutos e relativos, com base na concentração teórica (esperada) resultante da dissolução de 2 pílulas com 0,05 mg de EE2 em 14,0 L de água.

**Tabela 5.2:** Concentrações de etinilestradiol teórica e quantificadas nas amostras coletadas antes da realização do experimento-teste - Água Tipo II.

CONCENTRAÇÃO	ABSOLUTA (µg.L <sup>-1</sup> )	RELATIVA (%)
Teórica	7,143	-
T <sub>A1</sub>	4,808	67,3
T <sub>A2</sub>	4,928	69,0

A concentração detectada inferior à esperada pode ter origem no processo de maceramento e dissolução da pílula, não permitindo todo o seu aproveitamento, ou indicar necessidade de refino dos processos nas etapas pré-cromatográficas. Todavia, serão estes os valores utilizados para o cálculo da eficiência média de redução da concentração de etinilestradiol nas amostras coletadas ao longo do experimento-teste. Os valores da concentração remanescente de EE2,

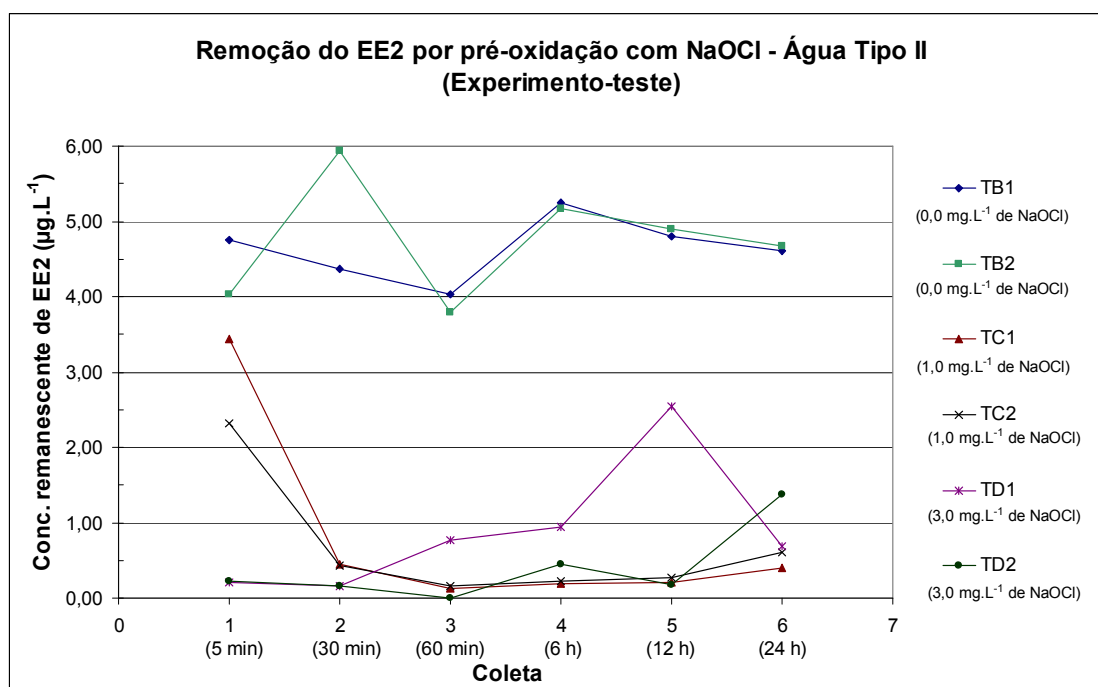
obtidos a partir da análise cromatográfica para estas amostras, estão apresentados na Tabela 5.3.

**Tabela 5.3:** Concentrações remanescentes de etinilestradiol ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) após experimento-teste de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo II.

Amostra	T <sub>B1</sub>	T <sub>B2</sub>	T <sub>C1</sub>	T <sub>C2</sub>	T <sub>D1</sub>	T <sub>D2</sub>
Cloro ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,0	0,0	1,0	1,0	3,0	3,0
<b>Coletas</b>	<b>EE2 remanescente (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>					
1 (5 min.)	4,751	4,029	3,441	2,313	0,203	0,218
2 (30 min.)	4,365	<u>5,941</u>	0,454	0,432	0,152	0,167
3 (60 min.)	4,028	3,785	0,134	0,164	0,768	< LD
4 (6 h)	<u>5,253</u>	<u>5,163</u>	0,195	0,228	0,943	0,450
5 (12 h)	4,806	4,900	0,209	0,279	2,543	0,169
6 (24 h)	4,607	4,668	0,396	0,604	0,694	1,382

< LD – Abaixo do limite de detecção ( $0,050 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

Apesar de duas aparentes contradições, a citar: a detecção de alguns valores de etinilestradiol superiores ao detectado na água bruta (sublinhados na Tabela 5.3) e o aumento na concentração remanescente nas coletas realizadas em 6, 12 e 24 h; é possível observar a redução da concentração de EE2 nas amostras que receberam hipoclorito de sódio (T<sub>C1</sub>, T<sub>C2</sub>, T<sub>D1</sub> e T<sub>D2</sub>), quando comparados seus valores com os brancos (T<sub>B1</sub> e T<sub>B2</sub>). Este fato é melhor evidenciado com o auxílio do gráfico apresentado na Figura 5.1, no qual encontram-se plotadas, ao longo das coletas realizadas, a concentração remanescente do etinilestradiol.



**Figura 5.1:** Concentração remanescente de EE2 ao longo do experimento-teste de pré-oxidação.

Para facilitar a visualização, optou-se pela apresentação de linhas interligando os resultados em uma mesma amostra, mas estas não representam, necessariamente, o comportamento entre coletas, pois não foi realizado o monitoramento contínuo do EE2.

Nota-se, claramente, as diferenças detectadas em cada par de amostras coletadas. As amostras  $T_{B1}$  e  $T_{B2}$ , que não receberam cloro, permaneceram ao longo de todo o experimento com concentrações próximas às detectadas na água bruta, apresentando apenas em uma coleta valor inferior a  $4,0 \mu\text{g.L}^{-1}$  (60 min), e suas curvas ocupam isoladamente a região superior do gráfico. As curvas referentes às amostras que receberam menor dosagem de cloro ( $T_{C1}$  e  $T_{C2}$ ) ocupam na primeira coleta a região intermediária do gráfico, mas com o aumento no tempo de contato atingem a região inferior do gráfico, se igualando às curvas das amostras de maior dosagem ( $T_{D1}$  e  $T_{D2}$ ).

A detecção de um aumento na concentração remanescente a partir de 6 h de tempo de contato se deu provavelmente por algum detalhe no procedimento de coleta das amostras. Para cada amostra, era necessário o volume mínimo de 100,0 mL, mas, por precaução, era realizada a coleta de 250,0 mL, consistindo em um volume de segurança para compensar possíveis perdas nos procedimentos pré-cromatográficos. Desta maneira, como o ponto de coleta situa-se na metade da altura útil dos frascos, a partir da 4ª amostragem (volume acumulado = 1,0 L) a superfície do líquido era atingida, gerando a necessidade de incliná-los para as coletas posteriores. Esta inclinação pode ter ressuspensionado parte do material depositado no fundo do frasco, que poderia conter EE2 adsorvido. Outra hipótese reside na possibilidade de uma parcela do etinilestradiol ter se concentrado na superfície do líquido, devido à alta hidrofobicidade do ar, região coletada a partir 4ª amostragem. Todavia, para minimizar a ocorrência destes problemas, foi determinado que nas coletas posteriores as amostras seriam limitadas em 150,0 mL, evitando-se a amostragem da fração presente no fundo ou na superfície do líquido.

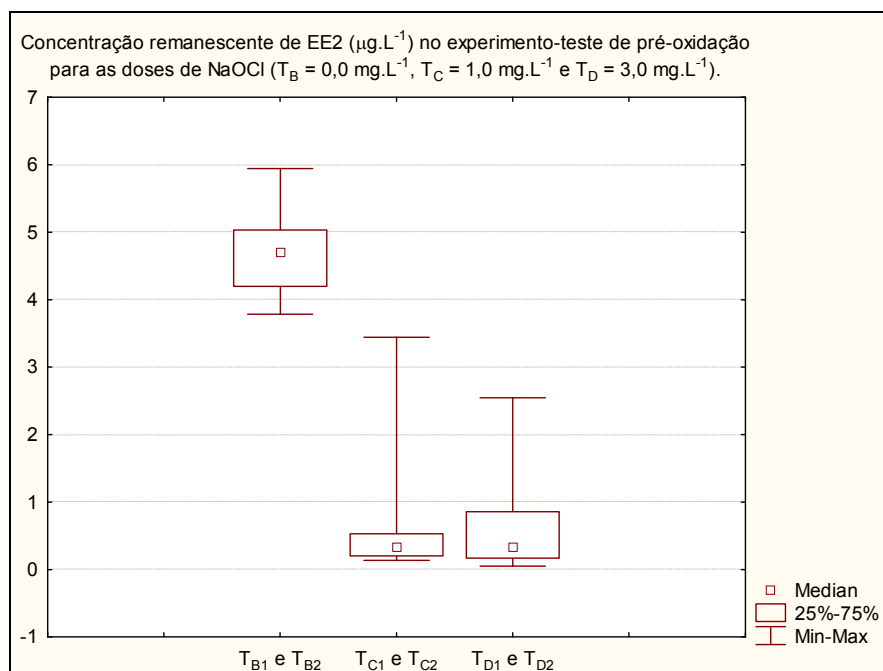
Para verificação se as diferenças observadas entre as duplicadas do experimento-teste são significativas estatisticamente ( $p < 0,05$ ), com a utilização do *software* STATISTICA 6.1 (StatSoft, Inc., 2003), foi aplicado o “teste T de *Wilcoxon*”. Na Tabela 5.4 são apresentados os valores de “p” para a comparação entre cada grupo de amostras.

**Tabela 5.4:** Valores de p resultantes da aplicação do “teste T de *Wilcoxon*” para comparação das amostras do experimento-teste.

Amostras comparadas	$T_B \times T_C$	$T_B \times T_D$	$T_C \times T_D$
Valor de p	0,002	0,002	0,754

Quando a comparação estatística é efetuada em relação às amostras sem cloro ( $T_B$ ) e cloradas ( $T_C$  ou  $T_D$ ) é detectada diferença significativa entre elas ( $p = 0,002$ ), o que não se repete quando o teste é aplicado entre as amostras cloradas ( $p = 0,754$ ). Assim, para o tamanho amostral utilizado, pode-se verificar a eficiência de redução da concentração do etinilestradiol através da pré-oxidação com hipoclorito de sódio. Em relação à dosagem de cloro, o resultado do teste estatístico confirma a observação inicial de que, após 30 min de tempo de contato, a redução ocorreu de forma similar, independentemente da dose aplicada. O fato da comparação  $T_C \times T_D$  não apresentar diferença significativa em termos da concentração remanescente de etinilestradiol, implica na conclusão de que a dose de  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de cloro foi suficiente ao tratamento.

Com auxílio da Figura 5.2, na qual são apresentados os gráficos *box-plot* comparativos das amostras coletadas no experimento-teste de pré-oxidação, é possível visualizar as diferenças detectadas com a aplicação do teste não-paramétrico.



**Figura 5.2:** Gráfico Box-plot para comparação entre as amostras coletadas do experimento-teste de pré-oxidação.

Por fim, apresenta-se na Tabela 5.5 o cálculo da eficiência de redução da concentração de EE2 para as médias de cada duplicata em relação à média da concentração inicial, no qual fica clara a significativa redução da concentração nas amostras que receberam cloro em relação às que não receberam. É possível notar que para a dosagem de cloro de  $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$  a eficiência acima de 90,0 % já é detectada na primeira coleta (5 min), também atingida para a dosagem de  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  após 30 minutos de tempo de contato. Para o cálculo das médias foram desconsiderados alguns pontos nas amostras  $T_{B1}$  (6 h),  $T_{B2}$  (30 min e 6 h) e  $T_{D1}$  (12 h), por apresentarem grande discrepância do contexto geral.

**Tabela 5.5:** Eficiência média de remoção de EE2 por pré-oxidação, em função do tempo de contato – experimento-teste.

Tempo de contato (min.)	5	30	60	360	720	1.440
	Eficiência média (%)					
Amostras $T_{B1}$ e $T_{B2}$	9,9	10,4	19,8	-	3,4	4,8
Amostras $T_{C1}$ e $T_{C2}$	40,9	90,9	96,9	95,7	95,0	89,7
Amostras $T_{D1}$ e $T_{D2}$	95,7	96,7	99,2	94,4	96,5	78,7

A partir deste experimento-teste algumas mudanças na metodologia foram implementadas. A primeira, baseada na dificuldade de identificação de resultados duvidosos, consistiu na adoção de coletas em triplicatas ao invés de duplicatas. A segunda mudança, em virtude da obtenção do etinilestradiol puro, ocorreu na forma de preparo da água de estudo. Outra importante alteração, baseada na observação da redução da concentração do etinilestradiol ocorrer de forma mais significativa na primeira hora, resultou na diminuição do período de experimento. Estas e outras alterações serão discutidas a seguir.

### 5.2.2 Ensaios de pré-oxidação para as águas tipo I e II

Na Tabela 5.6, são apresentadas as concentrações de etinilestradiol detectadas nas águas de estudo tipo I e II, para as amostras coletadas antes dos respectivos ensaios de remoção. A concentração esperada, oriunda da utilização da solução estoque era de  $1,0 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ .

**Tabela 5.6:** Concentrações de etinilestradiol quantificadas nas amostras coletadas antes da realização dos ensaios de pré-oxidação - Água Tipo I e II.

EXPERIMENTO	ÁGUA	AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
1	Tipo I	$OI_{A1}$	0,599
		$OI_{A2}$	0,637
		$OI_{A3}$	0,577
2	Tipo II	$OII_{A1}$	0,655
		$OII_{A2}$	0,786
		$OII_{A3}$	0,861



Novamente percebe-se a ocorrência de valores inferiores ao teórico, sendo que, na maioria das amostras, a razão entre as concentrações quantificadas e a esperada possui mesma ordem de grandeza do experimento-teste. Este fato pode reforçar as hipóteses levantadas sobre a necessidade de refinamento dos processos de preparação da água de estudo e concentração da amostra. Embora seja menos provável, em virtude da metodologia adotada no preparo da solução de etinilestradiol, a solubilidade do composto pode também ter influência nos resultados encontrados, podendo ter ocorrido precipitações nas paredes dos recipientes.

Nas tabelas 5.7 e 5.8 são apresentadas as concentrações remanescentes de etinilestradiol após a pré-oxidação com hipoclorito de sódio para as águas Tipo I e II, respectivamente.

**Tabela 5.7:** Concentrações remanescentes de etinilestradiol ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) após ensaio de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo I.

Amostra	OI <sub>B1</sub>	OI <sub>B2</sub>	OI <sub>B3</sub>	OI <sub>C1</sub>	OI <sub>C2</sub>	OI <sub>C3</sub>
Cloro ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,0	0,0	0,0	3,0	3,0	3,0
<b>Coletas</b>	<b>EE2 remanescente (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>					
1 (5 min.)	0,073	0,723	0,411	0,050 <sup>(1)</sup>	0,073	0,923
2 (30 min.)	0,657	0,666	0,569	0,050 <sup>(1)</sup>	0,068	0,050 <sup>(1)</sup>
3 (60 min.)	0,526	0,711	0,677	0,050 <sup>(1)</sup>	- <sup>(2)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>
4 (4 h)	0,605	0,623	0,569	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>
5 (8 h)	0,719	0,666	0,698	0,091	0,050 <sup>(1)</sup>	0,097
6 (12 h)	0,744	0,607	0,736	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>

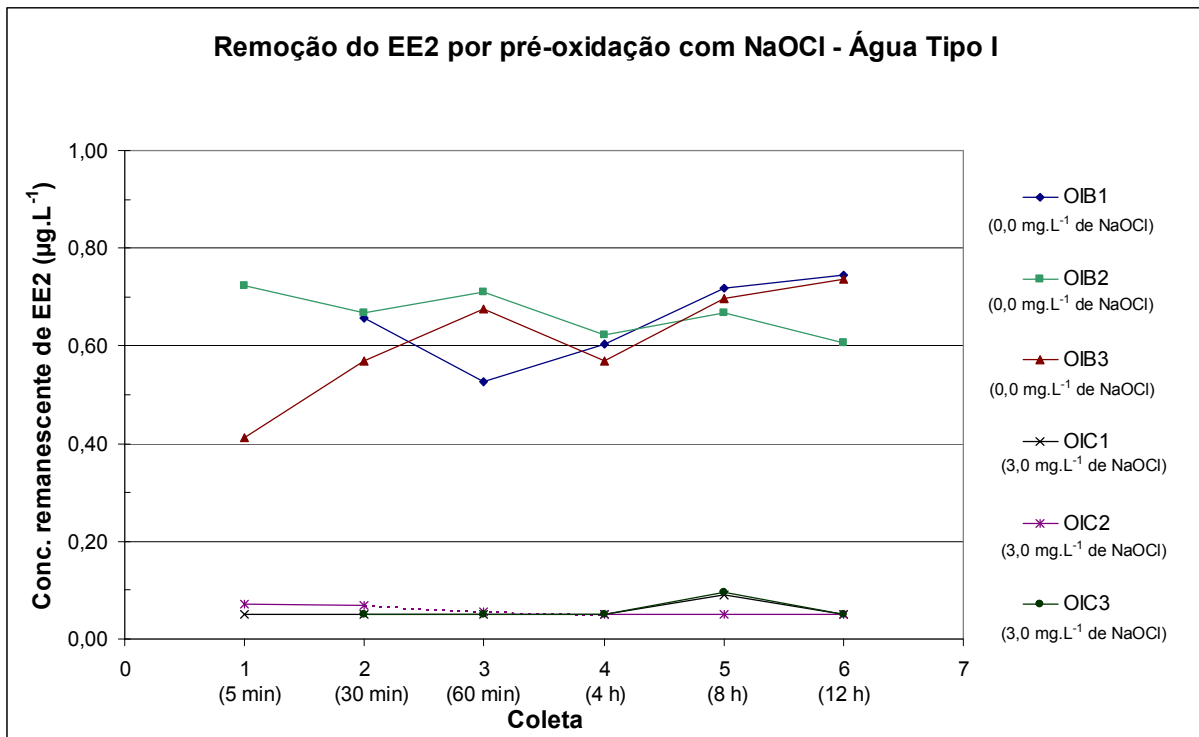
(1) < LD ( $0,050 \mu\text{g.L}^{-1}$ ); (2) – Amostras que apresentaram problemas durante coleta, extração ou eluição.

**Tabela 5.8:** Concentrações remanescentes de etinilestradiol ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) após ensaio de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo II.

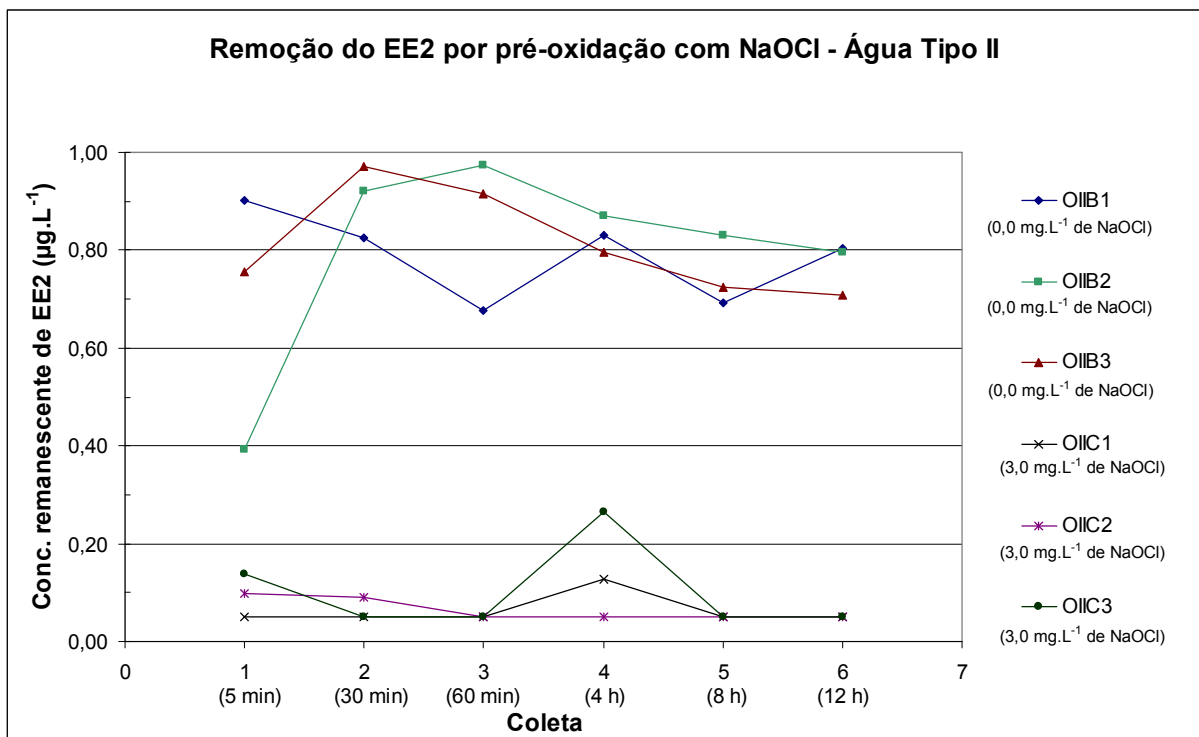
Amostra	OII <sub>B1</sub>	OII <sub>B2</sub>	OII <sub>B3</sub>	OII <sub>C1</sub>	OII <sub>C2</sub>	OII <sub>C3</sub>
Cloro ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	0,0	0,0	0,0	3,0	3,0	3,0
<b>Coletas</b>	<b>EE2 remanescente (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>					
1 (5 min.)	0,903	0,394	0,755	0,050 <sup>(2)</sup>	0,099	0,137
2 (30 min.)	0,825	0,920	0,972	0,050 <sup>(1)</sup>	0,090 <sup>(2)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>
3 (60 min.)	0,677	0,975	0,915	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>
4 (4 h)	0,830	0,870	0,796	0,128	0,050 <sup>(1)</sup>	0,264
5 (8 h)	0,693	0,830	0,723	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>
6 (12 h)	0,804	0,795	0,709	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>	0,050 <sup>(1)</sup>

(1) < LD ( $0,050 \mu\text{g.L}^{-1}$ ); (2) – Amostras que apresentaram problemas durante coleta, extração ou eluição.

Apesar da dispersão dos resultados obtidos, seja comparando as triplicatas de uma mesma coleta, seja analisando uma amostra específica ao longo do tempo do experimento, é possível perceber claramente, para ambos os valores de turbidez, a possibilidade de redução da concentração do etinilestradiol pelo emprego da pré-cloração. Esta afirmação é evidenciada pelos gráficos apresentados nas figuras 5.3 e 5.4.



**Figura 5.3:** Concentração remanescente de EE2 ao longo do ensaio de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo I.



**Figura 5.4:** Concentração remanescente de EE2 ao longo do ensaio de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Água Tipo II.

Os valores de concentração remanescente mensurados nos brancos oscilaram, mas situaram-se sempre próximos aos detectados nas amostras da água de estudo. As exceções foram para as amostras OI<sub>B1</sub> (ensaio com a Água Tipo I) e OII<sub>B2</sub> (ensaio com a Água Tipo II), ambas com tempo de contato de 5 min, as quais apresentaram concentração remanescente de etinilestradiol consideravelmente inferior às demais amostras de suas triplicatas.

Em outras amostras também foi percebido um comportamento contraditório, pois apresentaram aumento da concentração remanescente de etinilestradiol. É provável que este fato resulte de falhas nos processos de concentração da amostra ou à margem de erro analítico inerente à faixa de concentração trabalhada.

Para as amostras nas quais foi promovida a pré-oxidação, semelhante ao ocorrido no experimento-teste, a concentração de etinilestradiol foi reduzida consideravelmente já nos primeiros minutos de tempo de contato. Uma constatação importante reside na redução atingida, na maioria das amostras, abaixo do limite de detecção do equipamento de cromatografia (L.D. = 0,050 µg.L<sup>-1</sup>), para o fator de concentração utilizado (100 vezes). No experimento-teste, no qual a concentração inicial de etinilestradiol era cerca de 7 vezes à utilizada neste, apenas uma amostra atingiu este limite.

O limite de detecção, para o fator de concentração utilizado, equivale a 50 ng.L<sup>-1</sup>, similar aos valores mensurados em amostras ambientais, segundo relatos na literatura. Faz-se necessária a avaliação com um fator de concentração maior, por exemplo 1.000 vezes, para verificar a real remoção ocorrida, ou ainda, a realização de experimentos com concentração inicial da ordem de ng.L<sup>-1</sup>. Ambas as situações não foram verificadas neste trabalho devido à limitação imposta pela condição de realização de ensaios em bancada, comentada no Capítulo 4.

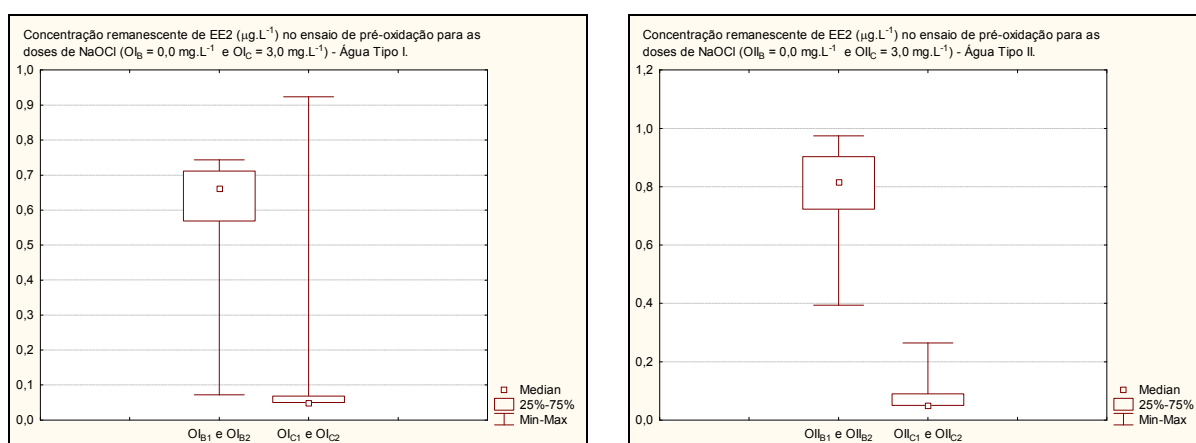
Na Tabela 5.9 é apresentada os valores de “p” resultantes da análise estatística dos resultados. Para comparação da diferença estatística entre os brancos e as amostras oxidadas de um mesmo ensaio foi aplicado o “teste T de *Wilcoxon*”, ao passo que a comparação das águas de estudo Tipo I e II foi efetuada com o “teste de *Mann e Whitney*”.

**Tabela 5.9:** Valores de “p” resultantes da aplicação dos testes estatísticos para comparação das amostras dos ensaios de pré-oxidação – Águas Tipo I e II.

Amostras comparadas	Valor de p	Teste aplicado
OI <sub>B</sub> x OI <sub>C</sub>	0,0003	teste T de <i>Wilcoxon</i>
OII <sub>B</sub> x OII <sub>C</sub>	0,0002	teste T de <i>Wilcoxon</i>
OI <sub>A</sub> x OII <sub>A</sub>	0,0495	teste de <i>Mann e Whitney</i>

Novamente a análise estatística indicou a diferença significativa entre as amostras sem cloro e cloradas para as águas Tipo I ( $OI_B \times OI_C$ ;  $p = 0,003$ ) e II ( $OII_B \times OII_C$ ;  $p = 0,002$ ), reforçando a hipótese da eficiência de redução da concentração do etinilestradiol através da pré-oxidação com hipoclorito de sódio. Por outro lado, o teste aplicado para comparação das águas tipo I e II acusou diferença estatística entre elas em relação às concentrações iniciais de etinilestradiol ( $OI_A \times OII_A$ ;  $p < 0,05$ ). Assim, por se tratarem de águas com concentrações iniciais de EE2 diferentes, ficou eliminada a possibilidade de avaliação da influência da turbidez nos resultados.

Os gráficos *box-plot* comparativos das amostras oxidadas e “brancos” em cada ensaio são apresentados na Figura 5.5. Neste gráfico é possível visualizar as diferenças detectadas com a aplicação dos testes não-paramétricos.



**Figura 5.5:** Gráficos Box-plot para comparação entre as amostras coletadas dos ensaios de pré-oxidação com hipoclorito de sódio – Águas Tipo I e II.

São apresentadas na Tabela 5.10 as eficiências média de remoção de etinilestradiol nos ensaios de pré-oxidação. Semelhante ao ocorrido no experimento-teste, obteve-se remoção acima de 90,0% na maior parte das amostras. Para o cálculo das médias, foram desconsideradas as amostras  $OI_{B1}$  (5 min),  $OI_{C2}$  (60 min) e  $OI_{C3}$  (5 min), no ensaio com a água Tipo I, e as amostras  $OII_{C1}$  (5 min) e  $OII_{C2}$  (30 min), no ensaio com a água Tipo II, por apresentarem discrepância das demais amostras da triplicata ou devido a erros percebidos nas etapas pré-cromatográficas.

**Tabela 5.10:** Eficiência média de remoção de EE2 por pré-oxidação, em função do tempo de contato – Águas Tipo I e II.

Tempo de contato (min.)		5	30	60	240	480	720
		Eficiência média (%)					
Água Tipo I	Amostras OI <sub>B</sub>	6,1	-4,4	-5,6	0,9	-14,9	-15,1
	Amostras OI <sub>C</sub>	89,8	90,7	91,7	91,7	86,9	91,7
Água Tipo II	Amostras OII <sub>B</sub>	10,9	-18,0	-11,5	-8,4	2,5	-0,2
	Amostras OII <sub>C</sub>	84,7	93,5	93,5	80,8	93,5	93,5

Todavia, mesmo diante da possibilidade de redução da concentração do etinilestradiol através da oxidação com cloro, não deve ser esquecido o risco de formação de seus subprodutos. Deve-se ter em mente a importância do conhecimento das características e composição da água a ser tratada, principalmente no que se refere à matéria orgânica. Cabendo aos profissionais responsáveis, a avaliação dos perigos potenciais, para a tomada de decisão entre a não-remoção do EE2 ou o risco da introdução de subprodutos potencialmente cancerígenos ou de maior estogenicidade.

A seguir, serão apresentados os resultados obtidos dos experimentos envolvendo a sedimentação das partículas após coagulação com sulfato de alumínio e cloreto férrico.

### **5.3 Experimentos de sedimentação**

#### **5.3.1 Diagramas de coagulação**

A metodologia para confecção dos diagramas de coagulação utilizados para a determinação do ponto de dosagem ótima do sulfato de alumínio e cloreto férrico será apresentada neste item. Os diagramas de coagulação confeccionados são apresentados nos apêndices A e B.

Em razão dos custos envolvidos, não foi realizada a cromatografia para detecção da concentração remanescente do hormônio nos ensaios para a confecção dos diagramas, tendo sido realizado posteriormente um grupo de experimentos com este objetivo, com as dosagens ótimas dos coagulantes, cujos resultados serão apresentados no item 5.3.2.

Os diagramas foram desenvolvidos, em termos gerais, sob uma mesma apresentação. O eixo das abscissas corresponde ao pH de coagulação e o das ordenadas, duplo, refere-se ao coagulante, sendo o principal (esquerda) destinado à dose do produto e o auxiliar (direita) à dosagem apenas do metal constituinte, ambas expressas em  $\text{mg.L}^{-1}$ . As dosagens dos metais

foram calculadas, com base na fórmula química do coagulante, por sua fração constituinte na massa atômica dos compostos.

No plano definido pelos eixos x e y, são apresentadas as informações de turbidez ou cor remanescentes após a decantação. Estas informações são interpoladas para a formação de áreas, constituindo regiões de mesma eficiência. Estas regiões são apresentadas com o auxílio de uma escala de cores, cuja legenda situa-se à direita do diagrama. Para facilidade na visualização dos resultados, foram utilizados tons mais claros para as maiores remoções e mais escuros para as menores. Na parte inferior do gráfico é citada a informação do parâmetro (cor aparente ou turbidez) antes da remoção, mensurado na água bruta. Na parte superior consta a velocidade de sedimentação à qual refere-se o diagrama.

A apresentação e discussão dos diagramas será dividida, em função do coagulante utilizado. Assim, no Apêndice A, serão apresentados os diagramas de coagulação com sulfato de alumínio para as águas Tipo I e II, para as duas velocidades de sedimentação, em termos da turbidez e cor aparente remanescentes.

Para o sulfato de alumínio, a água de estudo apresentou similaridade no comportamento, independentemente da turbidez inicial ou da velocidade de sedimentação considerada para a coleta.

As melhores eficiências em relação à remoção de turbidez foram obtidas para valores de pH na faixa de 7,0 a 8,25. À medida que a acidez ou alcalinidade da água aumentavam, por efeito da adição de HCl ou NaOH, a eficiência de remoção decaía. A região de melhor eficiência foi delimitada pela faixa citada de pH e pelos valores de dosagem de 20,0 a 25,0 mg.L<sup>-1</sup>. Outras regiões, a dosagens mais altas e mais baixas, apresentaram eficiência similar, mas esta foi escolhida por possuir maior área e, assim, menor sensibilidade a pequenas variações.

Assim, o ponto de dosagem ótimo, para coagulação com sulfato de alumínio, assumido para os ensaios de remoção do etinilestradiol, correspondeu à dosagem de 22,5 mg.L<sup>-1</sup> e pH de 7,6.

Para o cloreto férrico, os diagramas de coagulação são apresentados nas figuras do Apêndice B, para as águas tipo I e II, para as duas velocidades de sedimentação, em termos da turbidez e cor aparente remanescentes.

A exemplo do ocorrido com o SA, os diagramas do CF apresentaram homogeneidade no comportamento, em todas as variações consideradas, com melhores eficiências de remoção de turbidez e cor aparente nos valores de pH situados na faixa de 7,0 a 8,25 e queda no desempenho com o aumento da acidez ou da alcalinidade. O ponto de dosagem adotado para a coagulação com CF foi 22,0 mg.L<sup>-1</sup> e pH de 7,4.

### 5.3.2 Experimentos de remoção de etinilestradiol por sedimentação

Após determinação da dosagem ótima para cada coagulante, foram realizados os experimentos de sedimentação, cujos resultados, em termos da concentração de etinilestradiol inicial e remanescente, são reproduzidos na Tabela 5.11. Para este grupo de experimentos, ao contrário do ocorrido na pré-oxidação, não há, a princípio, nenhum indício de remoção de etinilestradiol.

**Tabela 5.11:** Concentrações remanescentes de etinilestradiol (µg.L<sup>-1</sup>) após sedimentação – Águas Tipo I e II.

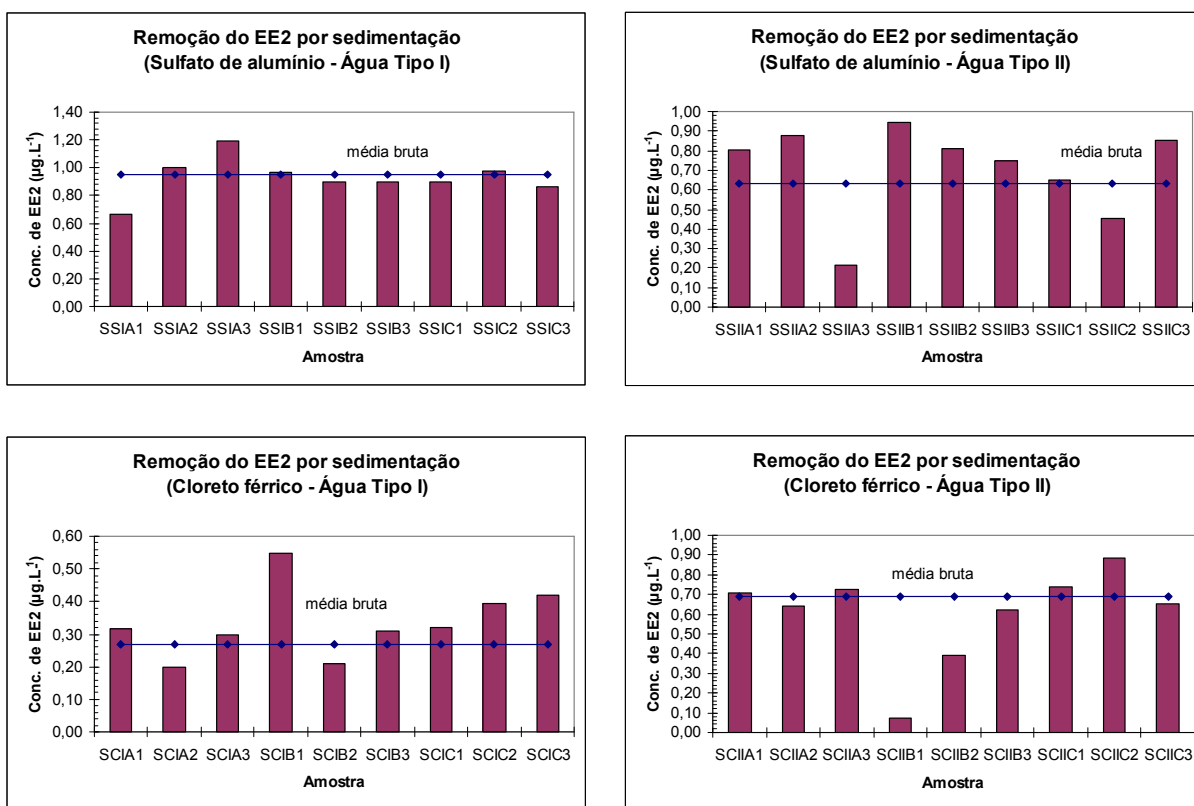
Amostra		Concentração de EE2 (µg.L <sup>-1</sup> )								
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
SS	I	<b>0,669</b>	1,006	1,190	0,970	0,895	0,898	0,898	0,974	0,862
	II	0,804	0,875	<b>0,215</b>	<b>0,944</b>	0,810	0,751	0,648	<b>0,452</b>	0,852
SC	I	0,316	<b>0,199</b>	0,299	<b>0,550</b>	0,209	0,311	0,320	0,392	<b>0,420</b>
	II	0,707	0,643 <sup>(1)</sup>	0,728	<b>0,076</b>	0,390	0,620	0,736	<b>0,886</b>	0,652

(1) – Amostras que apresentaram problemas durante coleta, extração ou eluição.

Os resultados apresentam algumas contradições, pois, na preparação das águas de estudo, foi objetivada uma única concentração de etinilestradiol. Quando comparados, os 4 experimentos apresentam claras diferenças nas concentrações iniciais de EE2, principalmente para o experimento realizado com a água Tipo I e cloreto férrico (SCI<sub>A1</sub> a SCI<sub>C3</sub>), cujos valores estão muito abaixo dos demais. Outra observação importante refere-se ao experimento realizado com a água Tipo II e cloreto férrico (SCII<sub>A1</sub> a SCII<sub>C3</sub>), no qual os valores de etinilestradiol para os “brancos” foram inferiores aos valores das amostras brutas e coaguladas. Mais uma vez, levanta-se a hipótese da ocorrência de falhas nos processos de concentração da amostra, indicando a necessidade de avaliação da metodologia empregada.

Apesar da dispersão nos resultados, com o auxílio dos gráficos ilustrados na Figura 5.6 é possível observar, para a maior parte das amostras, um comportamento semelhante ao detectado na água bruta. Nestes gráficos, são apresentadas comparações entre as concentrações de etinilestradiol detectadas em cada coleta e a média da água bruta por

experimento. Nas abscissas consta a amostra e nas ordenadas a concentração em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . As barras referem-se às amostras individuais e a linha horizontal representa o valor médio da concentração da água bruta, traçada para fins de comparação do comportamento.



**Figura 5.6:** Concentração remanescente por amostra em relação à média da água bruta em cada experimento de sedimentação; A – bruta, B – branco e C – coagulada / decantada.

Em todos os experimentos, é possível perceber que, de forma geral, os resultados situam-se próximos à concentração inicial, sendo interceptados pela linha que representa sua média, um forte indício da ausência de remoção de etinilestradiol por sedimentação. Este fato é especialmente evidenciado pelo experimento 1 (SA e Água Tipo I), no qual há uma grande semelhança entre os resultados dos brancos e das amostras que receberam o coagulante (Figura 5.6a).

Na Tabela 5.12 são apresentados os valores de “p” resultantes da análise estatística dos resultados. Para comparação da diferença estatística entre os brancos e as amostras coaguladas de um mesmo ensaio foi aplicado o “teste T de Wilcoxon”, com um nível de significância ( $\alpha$ ) igual a 5%.



**Tabela 5.12:** Valores de “p” resultantes da aplicação do “teste T de *Wilcoxon*” para comparação das amostras dos ensaios de sedimentação.

Experimento	Valor de p para as amostras comparadas		
	A x B	A x C	B x C
Água Tipo I e Sulfato de alumínio (SSI)	1,000	0,593	1,000
Água Tipo II e Sulfato de alumínio (SSII)	0,285	1,000	0,285
Água Tipo I e Cloreto férrico (SCI)	0,109	0,109	1,000
Água Tipo II e Cloreto férrico (SCII)	0,109	0,593	0,109

Como nenhum dos casos atingiu  $p < 0,05$ , pode-se afirmar que, para o número de amostras coletados, não há diferença estatística entre a água de estudo (A), os brancos (B) e as amostras coaguladas / decantadas (C) de um mesmo experimento, em termos da concentração de etinilestradiol. Desta maneira, a clarificação de águas de estudo tendo como coagulantes o sulfato de alumínio e o cloreto férrico não se mostrou eficaz no tratamento de águas contaminadas com etinilestradiol. Esta hipótese afasta a necessidade da comparação entre diferentes experimentos, uma vez que em nenhum deles o tratamento apresentou eficácia de remoção do etinilestradiol para as condições ensaiadas.

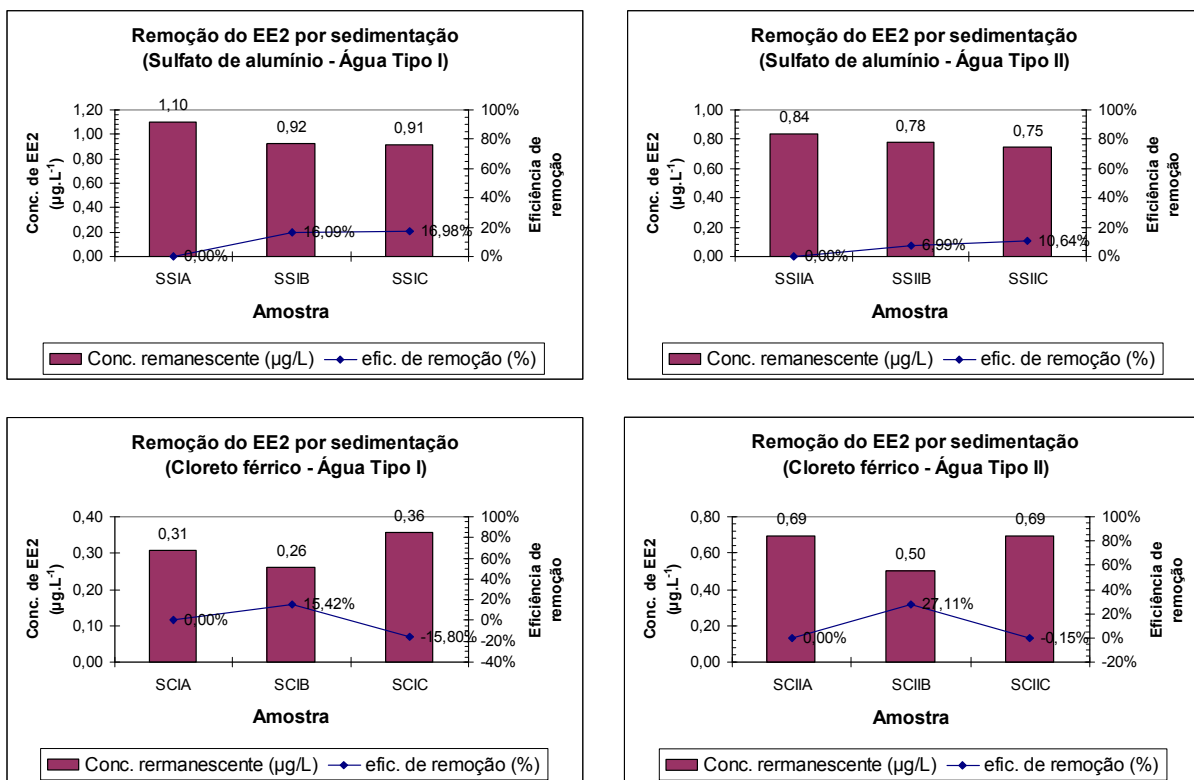
Quando avaliados em termos das concentrações remanescentes médias e de suas eficiências de remoção, apresentadas na Tabela 5.13, as percepções iniciais são ressaltadas. O ensaio com a água Tipo I e sulfato de alumínio (SSI), apesar de apresentar eficiências positivas, estas são inferiores a 5 % e a condição sem coagulante se assemelha à coagulada. Para os ensaios com a água Tipo II e sulfato de alumínio (SSII), e a água Tipo I e cloreto férrico (SCI), não foi apresentada, em termos médios, nenhuma eficácia no tratamento, fato indicado pelas eficiências médias de remoção negativas em todas as amostras coaguladas. Por fim, para o ensaio com a água Tipo II e cloreto férrico (SCII), os valores médios para as amostras coaguladas indicam que o tratamento não surtiu nenhum efeito. Neste último experimento, os resultados médios obtidos para as amostras utilizadas como brancos (B) geram algum estranhamento, pois apresentaram eficiência de remoção próxima a 48 %, provavelmente devido a falhas no processo de concentração da amostra, conforme discutido anteriormente.

**Tabela 5.13:** Concentrações médias remanescentes e eficiências médias de remoção de etinilestradiol para os ensaios de sedimentação.

Amostra		Concentração de EE2 e eficiência média de remoção				
		A ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	B ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	B %	C ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	C %
SS	I	0,955	0,921	3,5	0,911	4,5
	II	0,631	0,835	-32,3	0,651	-3,1
SC	I	0,272	0,357	-31,4	0,377	-39,0
	II	0,693	0,362	47,8	0,758	-9,3

Na tentativa de eliminar a interferência de possíveis *outliers*, alguns pontos das triplicatas foram retirados dos cálculos das médias da concentração remanescente e eficiência de remoção, por diferirem muito dos demais. Os valores desconsiderados para o novo cálculo estão destacados (em negrito) na Tabela 5.11 apresentada ao início desta seção.

Na Figura 5.7 são apresentados os cálculos da concentração remanescente e da eficiência de remoção médias de etinilestradiol, oriundas da eliminação dos valores indicados. Em cada gráfico, o eixo das abscissas corresponde às amostras e o das ordenadas, duplo, refere-se à concentração média remanescente (eixo da esquerda, gráfico de barras) e à eficiência média de remoção (eixo da direita, gráfico de linhas).



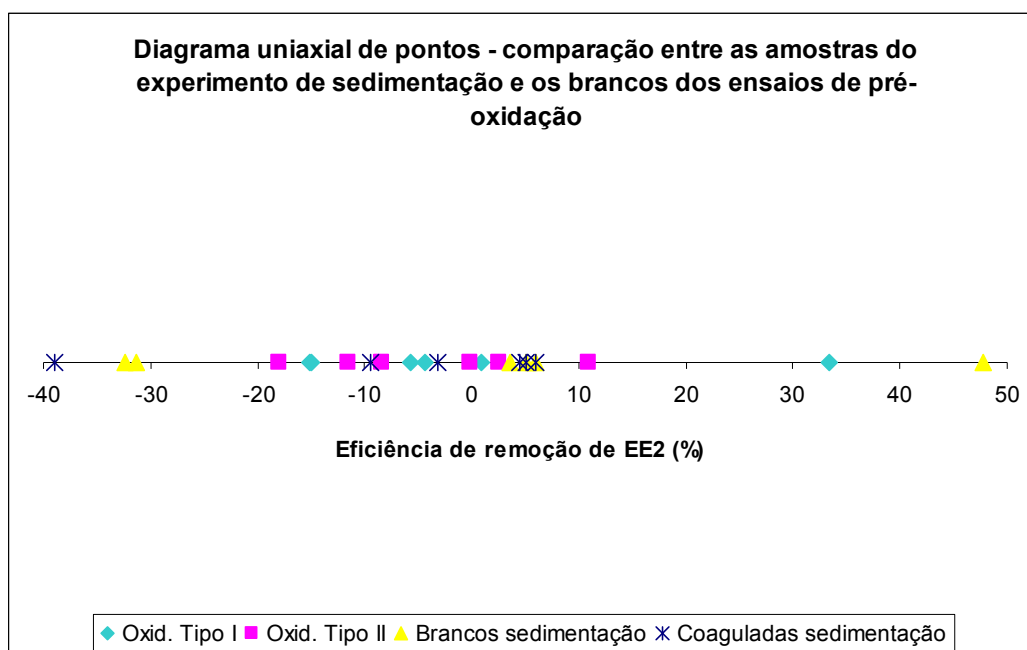
**Figura 5.7:** Concentrações médias remanescentes e eficiências médias de remoção de etinilestradiol após sedimentação, com eliminação de resultados duvidosos.

Para os valores resultantes do artifício empregado, é possível observar que, embora os experimentos com sulfato de alumínio (águas Tipo I e II) apresentem eficiência de remoção positiva, não há diferença entre as amostras B (brancos) e C (coaguladas). Já para os experimentos com cloreto férrico, mesmo que não tenha havido semelhança entre os brancos e as amostras coaguladas, a qualidade da água nestes últimos foi, em média, inferior inclusive

à da água bruta. Como já citado, isto provavelmente ocorreu por falhas nos processos de concentração da amostra ou à margem de erro analítico inerente à faixa de concentração trabalhada.

Assim, apesar dos resultados obtidos com a eliminação de alguns valores que divergiram dos calculados com a totalidade das amostras, a observação inicial de que a sedimentação não aparenta possuir potencial de remoção do etinilestradiol foi novamente verificada.

Outra observação importante, que reforça as evidências da não-ocorrência de remoção de etinilestradiol nos experimentos de sedimentação, pode ser notada a partir da comparação do comportamento das amostras deste experimento (brancos e coaguladas) com os brancos dos ensaios de pré-oxidação. Naqueles experimentos, nas amostras que não receberam hipoclorito de sódio, os valores das concentrações remanescentes de etinilestradiol oscilaram em torno dos valores da água bruta de forma similar ao que ocorreu com todas as amostras do experimento de sedimentação, apresentando, por diversas vezes, valores negativos para as eficiências médias de remoção, conforme ilustrado no diagrama uniaxial apresentado na Figura 5.8. Por outro lado, nas amostras oxidadas (não inseridas no diagrama), nas quais a remoção pôde ser detectada, os valores envolvidos não deixavam dúvidas quanto à sua ocorrência.



**Figura 5.8:** Diagrama uniaxial de pontos para comparação das eficiências de remoção entre as amostras do experimento de sedimentação e os brancos dos ensaios de pré-oxidação – Águas Tipo I e II.

Uma das possíveis explicações para os resultados alcançados pode ser baseada na natureza hidrofílica das partículas de caulim, utilizadas para sintetizar a turbidez da água bruta. O caulim é composto por silicatos hidratados de alumínio, que são polares e, portanto, apresentam alta hidrofiliabilidade. Sendo o EE2 hidrofóbico, possui baixa afinidade com o caulim e, não sendo adsorvido por esse, não irá sedimentar com as partículas suspensas. Como os processos de coagulação, floculação e decantação removeram basicamente o material suspenso, não apresentaram eficiência em termos da remoção de EE2.

#### **5.4 Considerações finais**

De posse dos resultados alcançados para os ensaios de oxidação e sedimentação visando à remoção do etinilestradiol, nas condições experimentais adotadas, apresentam-se aqui algumas considerações que merecem destaque.

No que se refere à pré-oxidação com hipoclorito de sódio, esta se mostrou viável para redução do hormônio em águas destinadas ao consumo humano. Foi atingida eficiência superior a 90% na maioria dos casos, para doses de cloro usualmente aplicadas nas estações de tratamento de água ( $\geq 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Como normalmente as técnicas de tratamento apresentam melhor eficiência para contaminações mais elevadas, faz-se necessária a investigação da aplicação do processo em águas com concentrações similares às encontradas em amostras ambientais ( $\text{ng.L}^{-1}$ ) para real avaliação da eficiência. Outro cuidado a ser tomado reside na possibilidade de formação, a partir do emprego do cloro, de subprodutos potencialmente cancerígenos ou, ainda, de maior estrogenicidade.

Quanto à decantação de águas coaguladas com sulfato de alumínio e cloreto férrico para remoção de etinilestradiol, não foi observada eficácia de tratamento.

A observação realizada em todos os experimentos acerca da flutuação das concentrações remanescentes e, ainda, das diferenças entre os valores quantificados e esperados, aponta para a necessidade de avaliação das etapas laboratoriais. Apesar dos cuidados tomados, apontam-se falhas prováveis: dissolução parcial ou degradação do etinilestradiol durante o preparo das águas de estudo; utilização de membranas poliméricas (hidrofóbicas); transpasse do contaminante no cartucho C18, resultante de vazão acima da recomendada; adsorção do EE2

pelas paredes de tubos e frascos (hidrofobicidade); e ressuspensão incompleta do material seco durante a lavagem com metanol dos tubos de ensaio.

Cumprе ressaltar que, como os testes estatísticos aplicados podem ter sido influenciados pelo pequeno número de coletas, é de suma importância a confirmação das tendências aqui indicadas em trabalhos futuros, com a utilização de um maior espaço amostral.

## 6 CONCLUSÕES

Esta pesquisa teve como objetivo contribuir para a construção do conhecimento acerca da remoção do AHA etinilestradiol em águas para consumo humano. Para isso, foram implementados experimentos de pré-oxidação com hipoclorito de sódio e de decantação de águas coaguladas com cloreto férrico e sulfato de alumínio. Foram ensaiadas duas águas de estudo ( $10,0 \pm 0,5$  e  $100 \pm 5$  uT). Com base nos experimentos realizados e nos resultados obtidos, conclui-se que:

- A pré-oxidação com cloro apresenta potencial de contribuir na redução da concentração do agente hormonalmente ativo etinilestradiol nas dosagens utilizadas usualmente nas estações de tratamento de água, em um curto período de tempo de contato. Foram alcançadas eficiências de remoção superiores a 90% com  $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$  de cloro e 30 minutos de tempo de contato;
- no processo de remoção do etinilestradiol por pré-oxidação com cloro, a turbidez da água bruta simulada com caulim não aparenta ser um fator interveniente, na faixa de valores estudados;
- a adsorção do etinilestradiol por parte das partículas suspensas de caulim, causadoras da turbidez, não se mostrou significativa;
- a sedimentação não se apresentou como um mecanismo eficaz de remoção do etinilestradiol, após coagulação com SA ou CF, indiferente da turbidez (simulada com caulim) da água bruta estudada (entre 10,0 e 100 uT);
- a natureza hidrofóbica do caulim pode ser uma das causas dos fatos da turbidez não ter influenciado os resultados da pré-oxidação e da sedimentação não ter apresentado eficiência de remoção. Assim, os resultados obtidos não representam, necessariamente, o comportamento para águas com turbidez natural.

## 7 RECOMENDAÇÕES

A partir dos conhecimentos adquiridos e com o intuito de contribuir para novos trabalhos, são apresentadas recomendações e sugestões de temas a serem investigados em futuras pesquisas:

- Realização de experimentos similares aos aqui apresentados, para a remoção de outros agentes hormonalmente ativos;
- Planejamento de um maior espaço amostral com intuito de viabilizar análises mais apuradas através da aplicação de ferramentas estatísticas;
- Avaliação dos subprodutos da pré-oxidação com cloro dos agentes hormonalmente ativos e o seu potencial de induzir males à saúde dos seres vivos;
- Realizar ensaios conjugados de pré-oxidação e coagulação para avaliação da eficiência de remoção do etinilestradiol;
- Desenvolvimento de novos ensaios, utilizando-se outros coagulantes e auxiliares de coagulação (ex.: polímeros mais hidrofóbicos), bem como outros oxidantes;
- Estudo da eficiência de remoção de etinilestradiol no tratamento convencional, incluindo a filtração, e ainda, avaliação de outras tecnologias de tratamento;
- Promover estudos de adsorção em função do tipo de argila (seletividade);
- Verificação em águas naturais, em escalas piloto e real, dos resultados obtidos nesta pesquisa, utilizando concentrações na água bruta similares às reportadas na literatura para amostras ambientais ( $\text{ng.L}^{-1}$ );
- Realização de estudos de avaliação dos danos à saúde causados pelos AHAs, propiciando a estipulação de limites máximos para os padrões de potabilidade, considerando-se a prevalência nos mananciais e estrogenicidade.

## REFERÊNCIAS E BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

AGOSTINHO, C. A.; GRASSIOTTO, I. Q.; WECHSLER, F. S. Reversão Sexual de Rã-Touro (*Rana catesbeiana*) com Hormônio Masculinizante Misturado à Reação de Girinos. *Rev. Bras. Zootec.*, [S.l.], v. 30, n. 3, p. 911-915, [S.m.], 2001.

AMORIM, Flávia Ferreira. *Remoção dos Contaminantes Orgânicos  $\beta$ -Estradiol e Saxitoxinas (STX, Neo-STX e dc-STX) Por Meio da Nanofiltração: Avaliação em Escala de Bancada*. 2007. 133 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos) – Faculdade de Tecnologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

BARONTI, C.; CURINI, R.; D'ACENZO, G.; DI CORCIA, A.; GENTILI, A.; SAMPERI, R. Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River Water. *Environmental Science & Technology*. [S.l.], v. 34, n. 24, p. 5059-5066, [S.m.], 2000.

BECK, I.-C.; BRUHN, R.; GANDRASS, J.; RUCK, W. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of estrogenic compounds in coastal surface water of the Baltic Sea. *Journal of Chromatography A*, [S.l.], v.1090, n.1-2, p.98-106, [S.m.], 2005.

BELFROID, A.C.; VAN DER HORST, A.; VETHAAK, A.D.; SCHAFER, A.J.; RIJS, G.B.J.; WEGENER, J.; COFINO, W.P. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. *Sci. Total Environ*, [S.l.], v. 225, [S.n.], p. 101-108, [S.m.], 1999.

BERKOW, R.; BEERS, M. H.; *et al.* *Manual Merck de Informação Médica: Saúde Para a Família*. [S.ed.], [S.l.]. Disponível em: <[http://www.msd-brazil.com/msdbrazil/patients/manual\\_Merck/sumario.html](http://www.msd-brazil.com/msdbrazil/patients/manual_Merck/sumario.html)>. Acesso em: 22 jun. 2008.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. *Química Nova*, [S.l.], v.30, n.3, p.651-666, [S.m.], 2007.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. *Química Nova*, [S.l.], v. 26, n. 4, p. 523-530, [S.m.]. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 2004.

BOENKE, A.; SEARLE, C.; KARJALAINEN, T. Contributio of European research to endocrine disruptors, *Analytica Chimica Acta*, [S.l.],v.473, n.1, p.161-165, [S.m.]. 2002.

BRUCHET, A.; PROMPSY, C.; FILIPPI, G.; SOUALI, A. A broad spectrum analytical scheme for the screening of endocrine disruptors (EDs), pharmaceuticals and personal care products in wastewaters and natural waters. *Water Science and Technology*, [S.l.], v.46, n.3, p.97-104, [S.m.], 2004.

CASTRO, C. M. B.; *Perturbadores Endócrinos Ambientais: Uma Questão a Ser Discutida*. *Engenharia Sanitária e Ambiental*, Rio de Janeiro, v. 7, n 1, p 4-5, Jan/Mar. 2002.



COMMITTEE ON HORMONALLY ACTIVE AGENTS IN THE ENVIRONMENT. *Hormonally Active Agents in the Environment*. Washington: National Academy Press, 1999. 452 p.

DAMSTRA, T.; BARLOW, S.; BERGMAN, A.; KAVLOCK, R.; KRAAK, G. V. Exposure of Selected Potential EDCs in Humans and Wildlife. In: DAMSTRA, T.; BARLOW, S.; BERGMAN, A.; KAVLOCK, R.; KRAAK, G. V. *Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors*. [Geneva]: [S.e.], 2002. p. 89- 105. Disponível em: <[http://www.who.int/ipcs/publications/new\\_issues/endocrine\\_disruptors/en/index.html](http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/index.html)>. Acesso em: 26 out. 2006.

DESBROW, C.; ROUTLEDGE, E. J.; BRIGHTY, C. G.; SUMPTER, J. P.; WALDOCK, M. Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening. *Environmental Science & Technology*. [S.l.], v. 32, n. 11, p. 1549-1558, [s.m.], 1998.

EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; RICE, E. W.; GREENBERG, A. E. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21. ed. Washington: APHA, AWWA, WEF, 2005. 1.368 p.

EERTMANS, F.; DHOOGHE, W.; STUYVAERT, S.; COMHAIRE, F. Endocrine disruptors: effects on male fertility and screening tools for their assessment. *Toxicology in Vitro*, [S.l.], v.17, n.1, p.515-524, Mai. 2003.

EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Removal of Endocrine Disruptor Chemecals Using Drinking Water Treatment Processes. EPA/625/R-00/015. Mar. 2001.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 3ª ED. São Paulo, SP: Organização Andrei Editora S.A., 1977. p.438-440.

FARRÉ, M.; KUSTER, M.; BRIX, R.; RUBIO, F.; ALDA, M. J. L.; e BARCELÓ, D. Comparative study of an estradiol enzyme-linked immunosorbent assay kit, liquid chromatography–tandem mass spectrometry, and ultra performance liquid chromatography–quadrupole time of flight mass spectrometry for part-per-trillion analysis of estrogens in water samples. *Journal of Chromatography A*, [S.l.], v.1160, [S.n.], p.166-175, [S.m.], 2007.

GHISELLI, G. *Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: Ocorrência e determinação dos Interferentes Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal (PFHP)*. 2006. 181 f. Tese (Doutorado em Química Analítica)- Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. *Química Nova*, [S.l.], v.30, n.3, p.695-706, [S.m.], 2007.

GIBSON, R.; BECERRIL-BRAVO, E.; SILVA-CASTRO, V.; e JIMENEZ, B. Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, [S.l.], v.In Press, Corrected Proof, [S.m.], 2007.

GREENPEACE BRASIL. *Impactos na saúde humana de substâncias sintéticas*. Greenpeace Brasil, Campanha de Substâncias Tóxicas, fevereiro de 2004. Disponível em:

<[http://www.greenpeace.org.br/toxicos/pdf/pops\\_impactosaude.pdf](http://www.greenpeace.org.br/toxicos/pdf/pops_impactosaude.pdf)>. Acesso em: 26 out. 2006.

HU, J.; ZHANG, H.; CHANG, H. Improved method for analyzing estrogens in water by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, [S.l.], v.1070, n.1-2, p.221-224, [S.m.], 2005.

JEANNOT, R.; SABIKB, H.; SAUVARDA, E.; DAGNACA, T.; DOHRENDOR, K. Determination of endocrine-disrupting compounds in environmental samples using gas and liquid chromatography with mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, [S.l.], v.974, [S.n.], p.143-159, [S.m.], 2002.

JONHSON, A. C.; BELFROID, A.; DI CORCIA, A. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Sci. Total Environ*, [S.l.], v. 256, n. 2-3, p. 163-173, Jul. 2000.

KAVLOCK, R. J. Overview of endocrine disruptor research activity in the United States, *Chemosphere*, [S.l.],v.39, n.8, p.1227-1236, [S.m.]. 1999.

KOLPIN, D. W.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: A National Reconnaissance. *Environmental Science & Technology*, [S.l.], v.36, [S.n.], p.1202-1211, [S.m.], 2002.

KUCH, H. M.; BALLSCHMITER, K. Determination of Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds and Estrogens in Surface and Drinking Water by HRGC-(NCI)-MS in the Picogram per Liter Range. *Environmental Science & Technology*, [S.l.], v.35, [S.n.], p.3201-3206, [S.m.], 2001.

LARSSON, D. G. J.; ADOLFSSON-ERICI, M.; PARKKONEN, J.; PETTERSSON, M.; BERG, A. H.; OLSSON, P.-E.; FÖRLIN, L. Ethinyloestradiol — An Undesired Fish Contraceptive?. *Aquatic Toxicology*, [S.l.], v.45, [S.n.], p.91-97, [S.m.]. 1999.

LEE, B.; KAMATA, M.; AKATSUKA, Y.; TAKEDA, M.; OHNO, K.; KAMEI, T.; MAGARA, Y. Effects of chlorine on the decrease of estrogenic chemicals. *Water Research*, [S.l.],v.38, n.1, p.733-739, [S.m.]. 2004.

LIBÂNIO, M. *Fundamentos de qualidade e tratamento de água*. Campinas: Átomo, 2005. p. 444.

LIU, R.; ZHOU, J. L.; WILDING, A. Microwave-assisted extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry for the determination of endocrine disrupting chemicals in river sediments. *Journal of Chromatography A*, [S.l.], v.1038, n.1-2, p.19-26, [S.m.], 2004a.

LIU, R.; ZHOU, J. L.; WILDING, A. Simultaneous determination of endocrine disrupting phenolic compounds and steroids in water by solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, [S.l.], v.1022, [S.n.], p.179-189, [S.m.], 2004b.

MAGALHÃES NETTO, J. M.; MAIA FILHO, H. Estrogênios e Progestogênios. In: PENILDON, S. *Farmacologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, [S.v.], cap. 83, p. 840 - 846.

MARTINDALE, William. *Extra Pharmacopoeia*. 30 rev. ed. London: The Pharmaceutical Press, 1993. p. 1183-1184.

MATSUMOTO, K.; TSUKAHARA, Y.; UEMURA, T.; TSUNODA, K.; KUME, H.; KAWASAKI, S.; TADANO, J.; MATSUYA, T. Highly sensitive time-resolved fluorometric determination of estrogens by high-performance liquid chromatography using a [beta]-diketonate europium chelate. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, [S.l.], v.773, n.2, p.135-142, [S.m.], 2002.

MIERZWA, J.C. Processos de separação por membranas para tratamento de água. Capítulo 8. Contribuição ao estudo da remoção de cianobactérias e microcontaminantes orgânicos por meio de técnicas de tratamento de água para consumo humano. In: Valter Lúcio de Pádua (coordenador). *Contribuição ao Estudo da Remoção de Cianobactérias e Microcontaminantes Orgânicos por Meio de Técnicas de Água para Consumo Humano*. Rio de Janeiro: ABES, 2006. cap. 8, p. 335-380.

MOL, H. G. J.; SUNARTO, S.; STEIJGER, O. M. Determination of endocrine disruptors in water after derivatization with N-methyl-N-(tert.-butyldimethyltrifluoroacetamide) using gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, [S.l.], v.879, [S.n.], p.97-112, [S.m.], 2000.

MOREIRA, Davi Silva. *Desenvolvimento de metodologia analítica por cromatografia/espectrometria de massas para avaliação da ocorrência de perturbadores endócrinos em mananciais de abastecimento da Região Metropolitana de Belo Horizonte*. 2008. 101f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental-Saneamento Ambiental)- Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2008.

PALANZA, P.; MORELLINI, F.; PARMIGIANI, S.; VOM SAAL, F.S. Prenatax e posure to endocrine disrupting chemicaxs: effects on behaviorax devexopment, *Neuroscience and Biobehavioral Reviewes*, [S.l.],v.23, n.1, p.1011-1027, [S.m.]. 1999.

PROSAB, EDITAL 5, TEMA 1; Diretrizes extraídas da reunião realizada em Belo Horizonte/MG. Ata da reunião de 13 e 14/07/2006, não publicado. 6 p.

RAIMUNDO, C. C. M. *Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia*. 2007. 138 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica)- Instituto de Química Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

REIS FILHO, R. W.; ARAÚJO, J. C. D.; VIEIRA, E. M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. *Química Nova*, [S.l.], v. 29, n. 4, p. 817-882, [S.m.], 2006.

ROEFER, P.; SNYDER, S.; ZEGERS, R. E.; REXING, D. J.; FRONK, J. L. Endocrine-disrupting chemecals in a source water. *Journal AWWA*, [S.l.],v.92, n.8, p.52-58, Ago. 2000.

RUDDER, J. D.; WIELE, T. V. D.; DHOOGHE, W.; COMHAIRE, F.; VERSTRAETE, W. Advanced water treatment with manganese oxide for the removal of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE2). *Water Research*, [S.l.], v.38, n.1, p.184-192, [S.m.]. 2004.

SANTAMARTA, J. A ameaça dos disruptores endócrinos. *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável*, Porto Alegre, v. 3, n. 2, p. 18-29, Jul/Set.2001.

SILVA, Cristiane Fernanda da. *Remoção de oocistos e de indicadores físicos de Cryptosporidium parvum em águas de abastecimento por meio da decantação - estudo em escala piloto*. 2008. 117 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

SNYDER, S.; BRETT, V.; PEARSON, R.; REXING, D. Pharmaceuticals, Personal Care Products, and Endocrine Disruptors in Water: Implications for Water Treatment. *American Water Works Association*, Boulder, [S.v.], [S.n.], p.1-16, [S.m.]. 2003.

SNYDER, S. A.; KEITH, T. L.; VERBRUGGE, D. A.; SNYDER, E. M.; GROSS, T. S.; KANNAN, K.; GIESY, J. P. Analytical Methods for Detection of Selected Estrogenic Compounds in Aqueous Mixtures. *Environmental Science & Technology*, [S.l.], v.33, [S.n.], p.2814-2820, [S.m.], 1999.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. *Caderno Temático Volume 06: Origem e Destino de Interferentes Endócrinos em Águas Naturais*. Campinas, abril de 2007. Disponível em: <http://lqa.iqm.unicamp.br/cadernos/caderno6.pdf> Acesso em: 20 de dezembro de 2008.

SOUSA FILHO, M. B. Anticoncepcionais. In: PENILDON, S. *Farmacologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, [S.v.], cap. 84, p. 847 - 859.

STATISTICA 6.1 STATSOFT, Inc., Tulsa, USA, 2003.

TERNES, T. A.; STUMPF, U. M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R. D.; SERVOS, M. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater?. *Water Research*, [S.l.], v.37, n.1, p.1976-1982, [S.m.]. 2003.

TERNES, T. A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R. D.; SERVOS, M. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants – I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci. Total Environ.* [S.l.], v. 225, n. 12, p. 81-90, Jan.1999.

USP - THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. *The National Formulary*. 23 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1995. 2391 p.

VERAS, D. F. Remoção dos perturbadores endócrinos 17 $\beta$ -estradiol e p-nonilfenol por diferentes tipos de carvão ativado em pó (CAP) produzidos no Brasil - Avaliação em escala de bancada. 2006. 139f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos), Faculdade de Tecnologia Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

VIDAEFF, A. C.; SEVER, L. E.; In utero exposure to environmental estrogens and male reproductive health: a systematic review of biological and epidemiologic evidence, *Reproductive Toxicology*, [S.l.], v.20, n.1, p.5-20, [S.m.]. 2005.

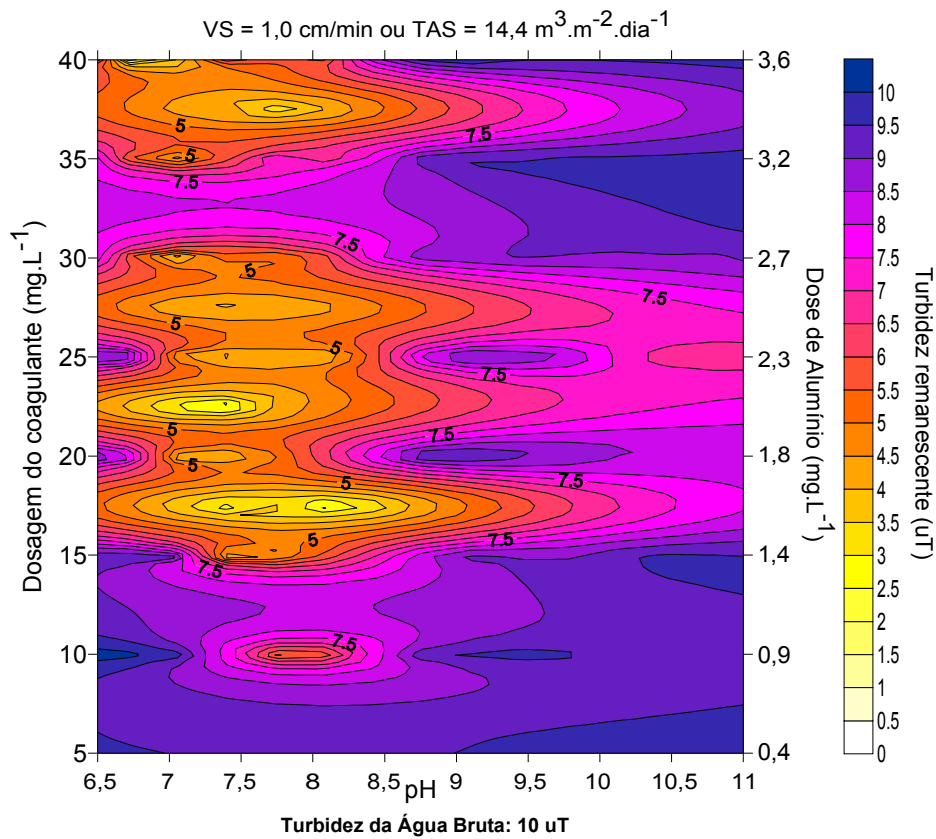
WANG, Y.; HU, W.; CAO, Z.; FU, X.; ZHU, T. Occurrence of endocrine-disrupting compounds in reclaimed water from Tianjin, China. *Anal Bioanal Chem*, [S.l.], v.383, [S.n.], p.857-863, [S.m.]. 2005.

YOON, B. O.; KOYANAGI, S.; ASANO, T.; HARA, M.; HIGUCHI, A. Removal of endocrine disruptors by selective sorption method using polydimethylsiloxane membranes, *Journal of Membrane Science*, [S.l.],v.213, n.1, p.137-144, [S.m.]. 2003a.

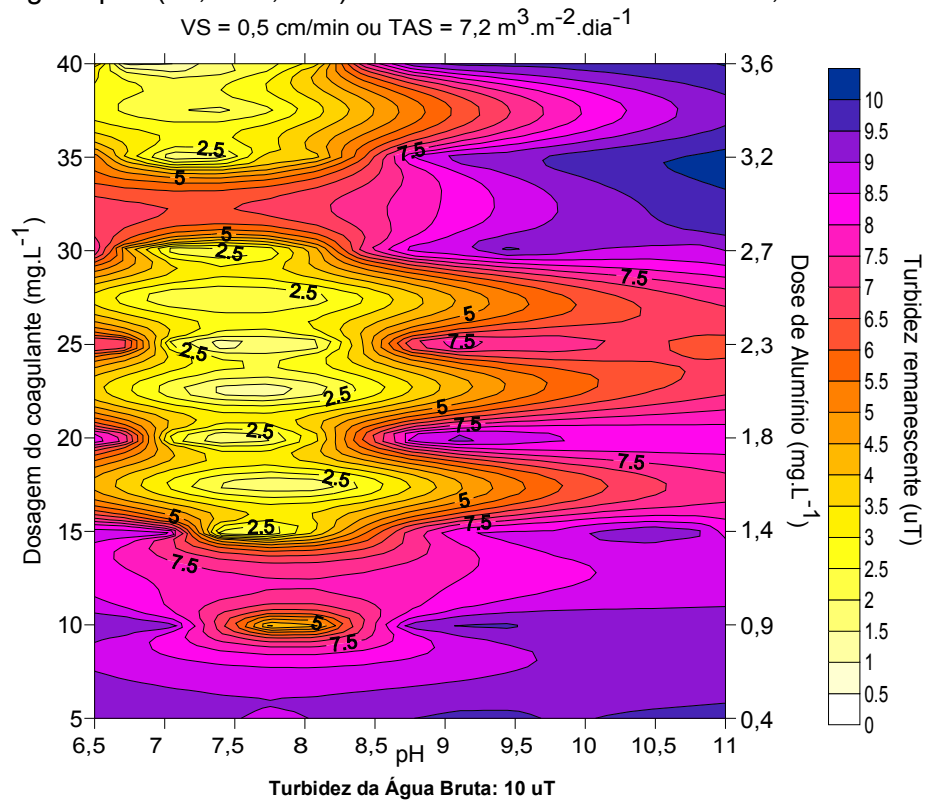
YOON, Y.; WESTERHOFF, P.; SNYDER, S. A.; ESPARZA, M. HPLC-fluorescence detection and adsorption of bisphenol A, 17 $\beta$ -estradiol, and 17 $\alpha$ -ethynyl estradiol on powdered activated carbon. *Water Research*, [S.l.],v.37, n.1, p.3530-3537, [S.m.]. 2003b.

YING, G.-G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y.-J. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environment International*, [S.l.], v.28, [S.n.], p.545-551, [S.m.]. 2002.

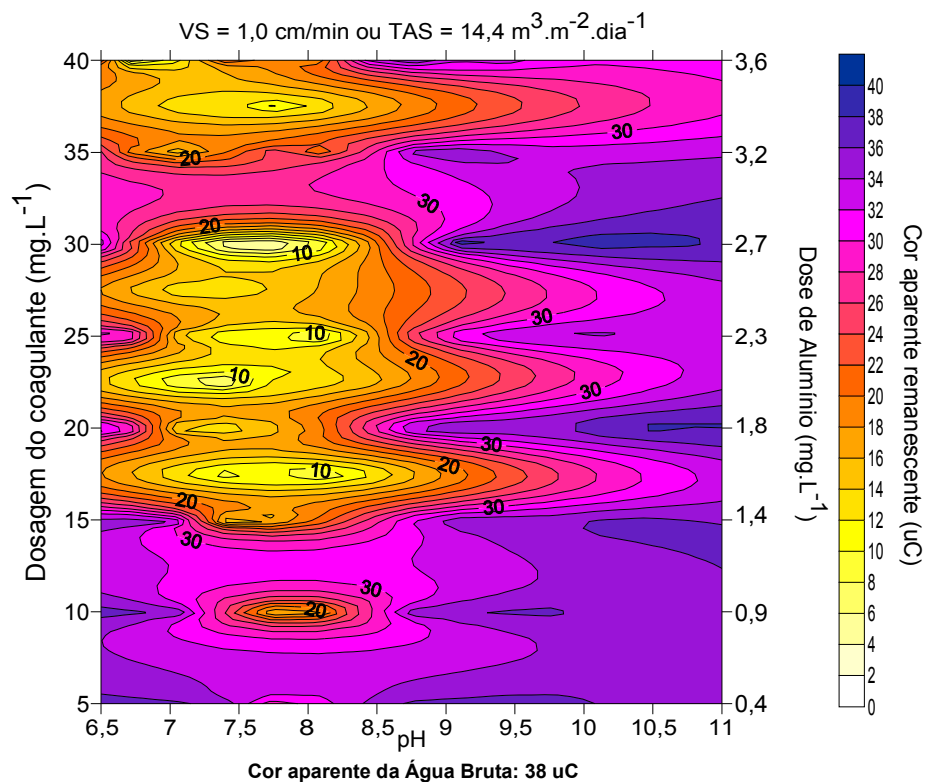
## **APÊNDICE A – DIAGRAMAS DE COAGULAÇÃO COM SULFATO DE ALUMÍNIO**



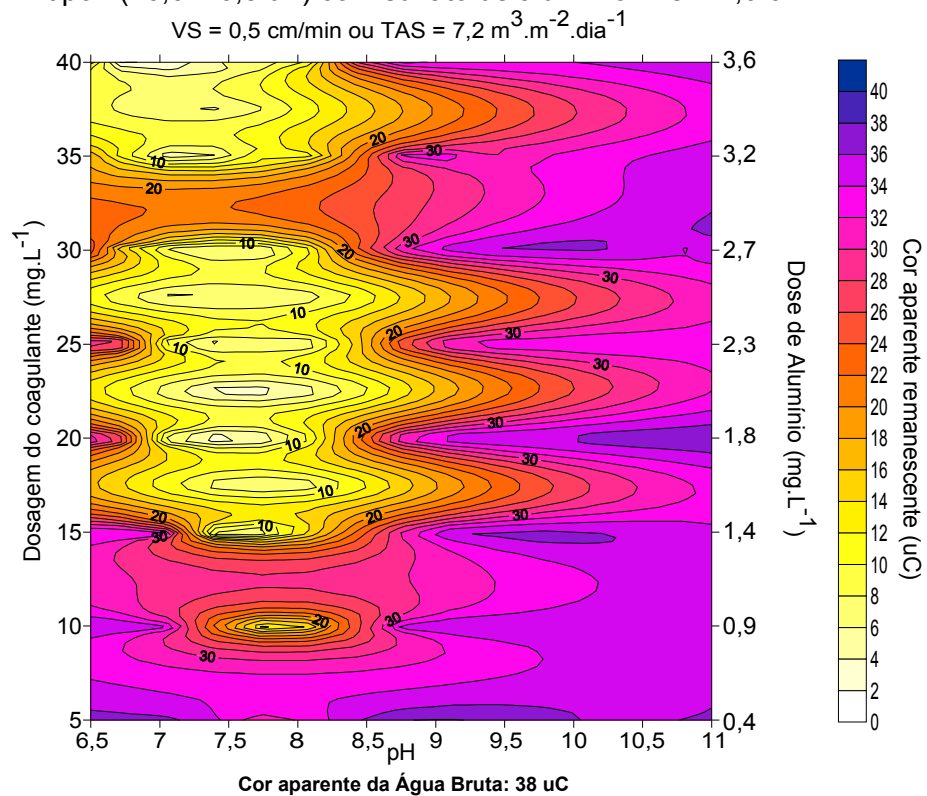
**Figura A.1:** Diagrama de coagulação com SA: turbidez remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$  uT) com sulfato de alumínio - vs = 1,0 cm.min<sup>-1</sup>.



**Figura A.2:** Diagrama de coagulação com SA: turbidez remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$  uT) com sulfato de alumínio - vs = 0,5 cm.min<sup>-1</sup>.

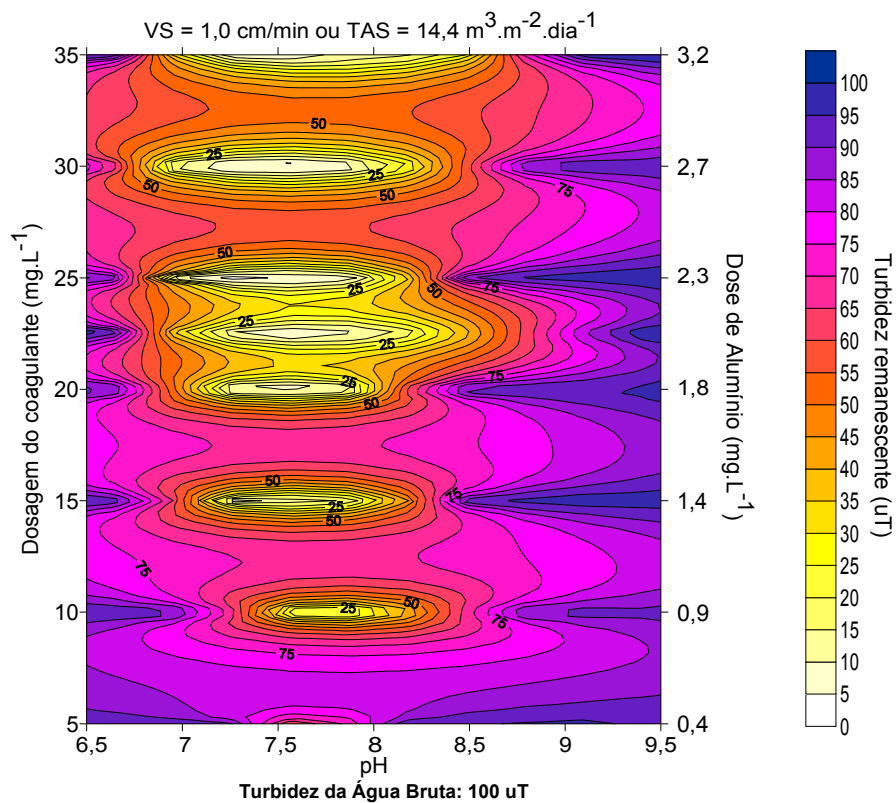


**Figura A.3:** Diagrama de coagulação com SA: cor remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5 \text{ uT}$ ) com sulfato de alumínio -  $vs = 1,0 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ .

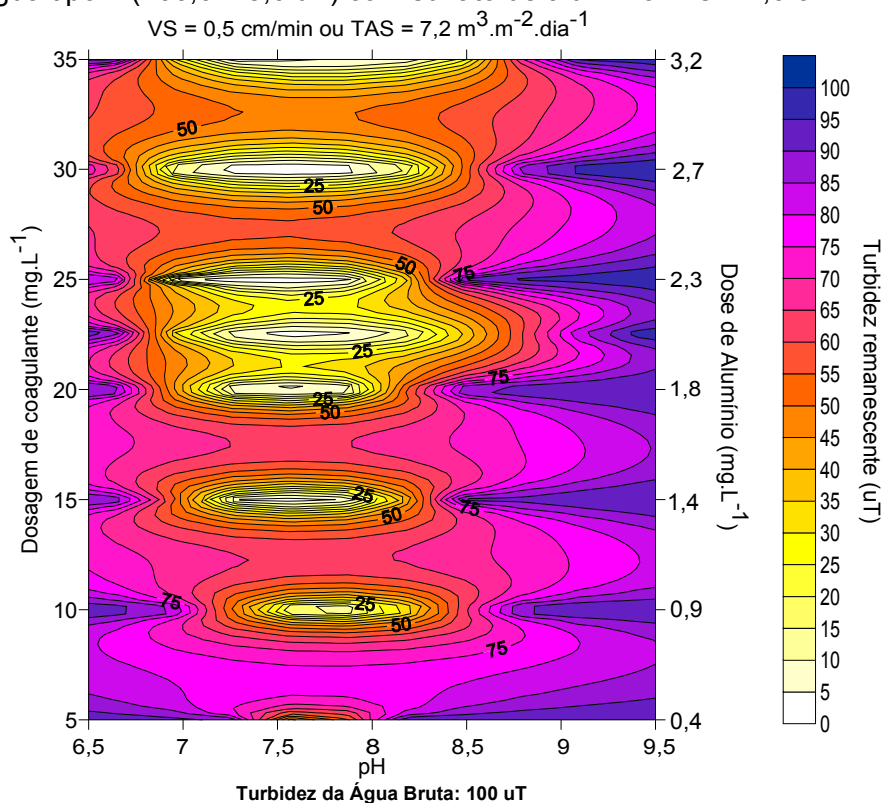


**Figura A.4:** Diagrama de coagulação com SA: cor remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5 \text{ uT}$ ) com sulfato de alumínio -  $vs = 0,5 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ .

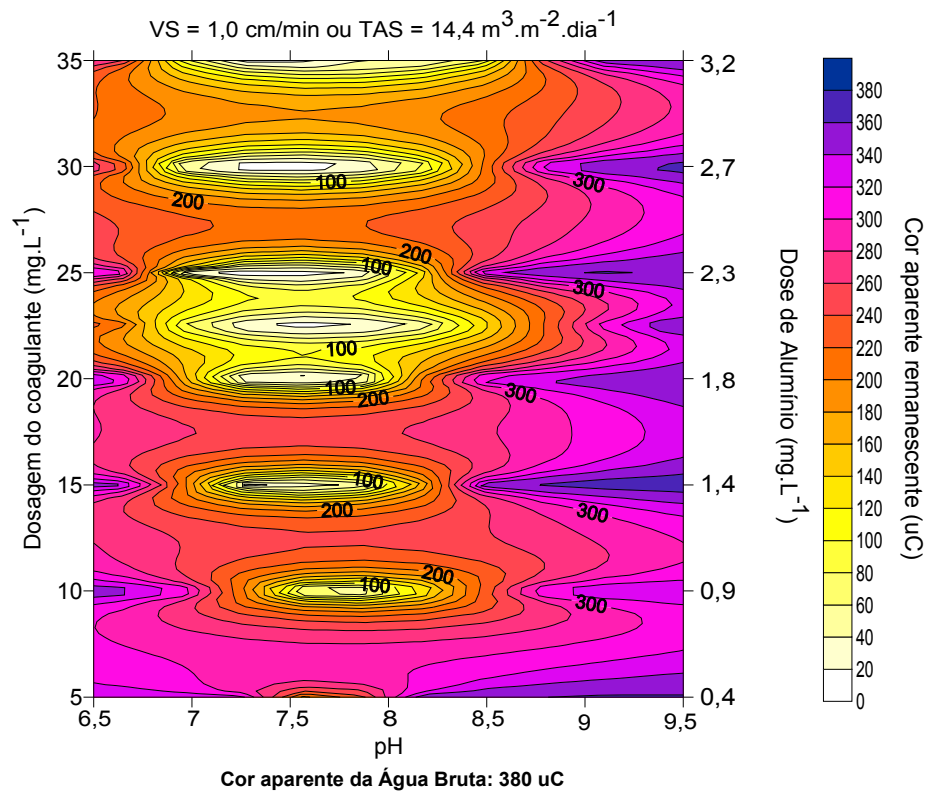




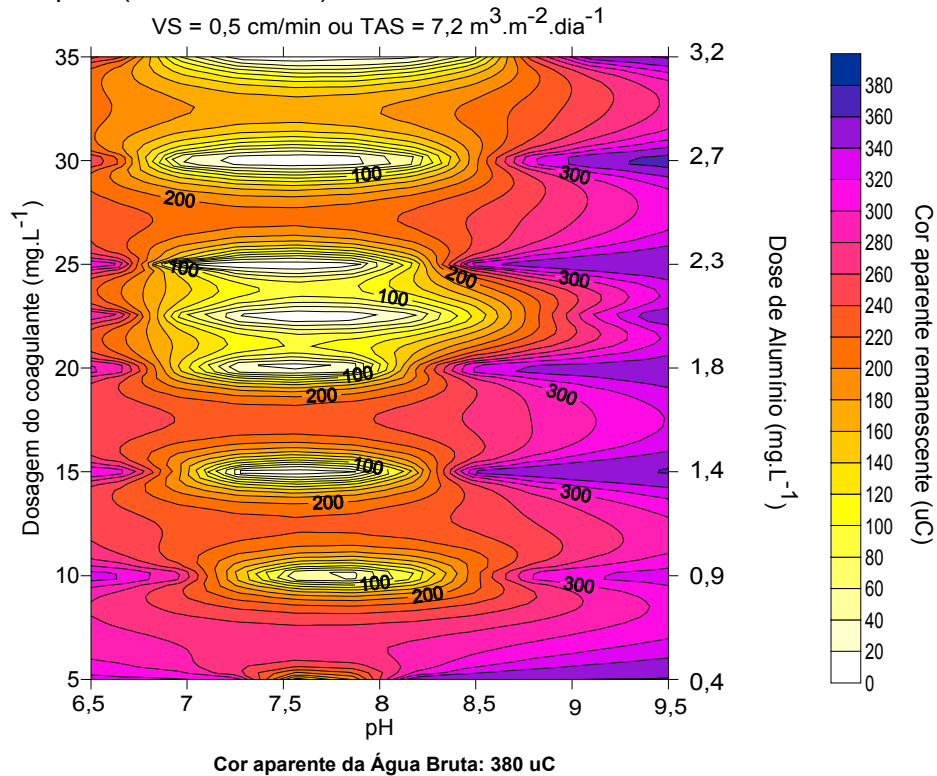
**Figura A.5:** Diagrama de coagulação com SA: turbidez remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$  uT) com sulfato de alumínio - vs = 1,0 cm.min<sup>-1</sup>.



**Figura A.6:** Diagrama de coagulação com SA: turbidez remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$  uT) com sulfato de alumínio - vs = 0,5 cm.min<sup>-1</sup>.

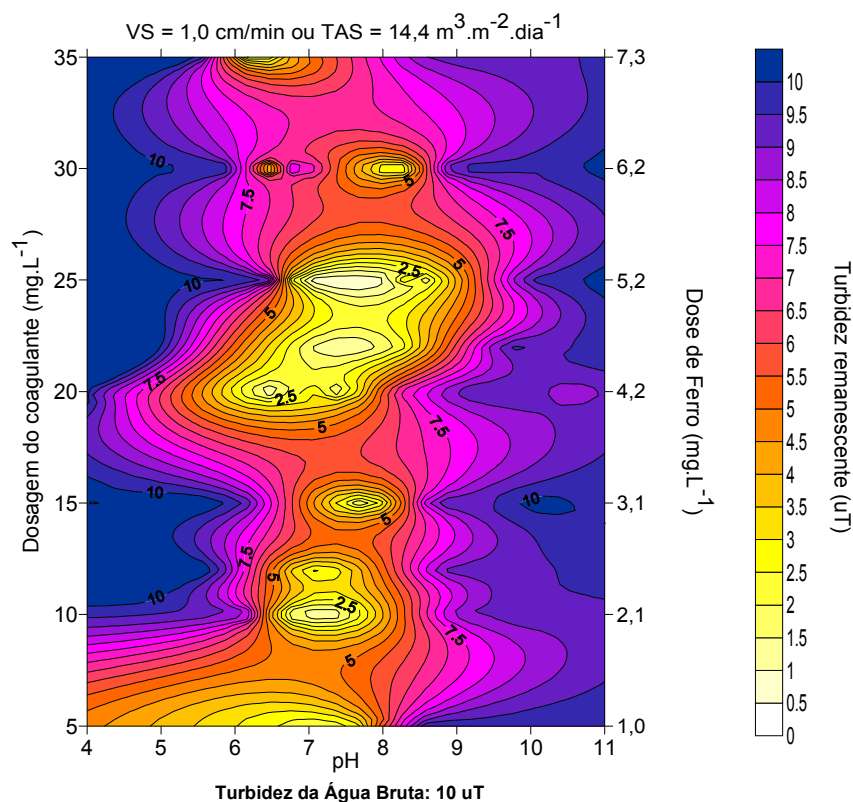


**Figura A.7:** Diagrama de coagulação com SA: cor remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0 \text{ uT}$ ) com sulfato de alumínio -  $vs = 1,0 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ .

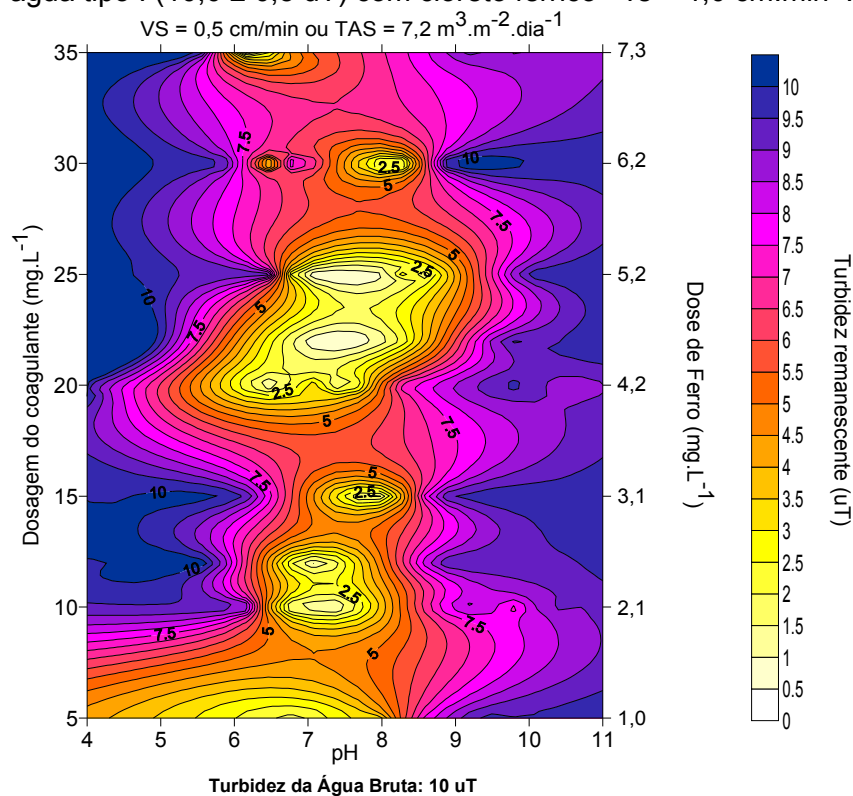


**Figura A.8:** Diagrama de coagulação com SA: cor remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0 \text{ uT}$ ) com sulfato de alumínio -  $vs = 0,5 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ .

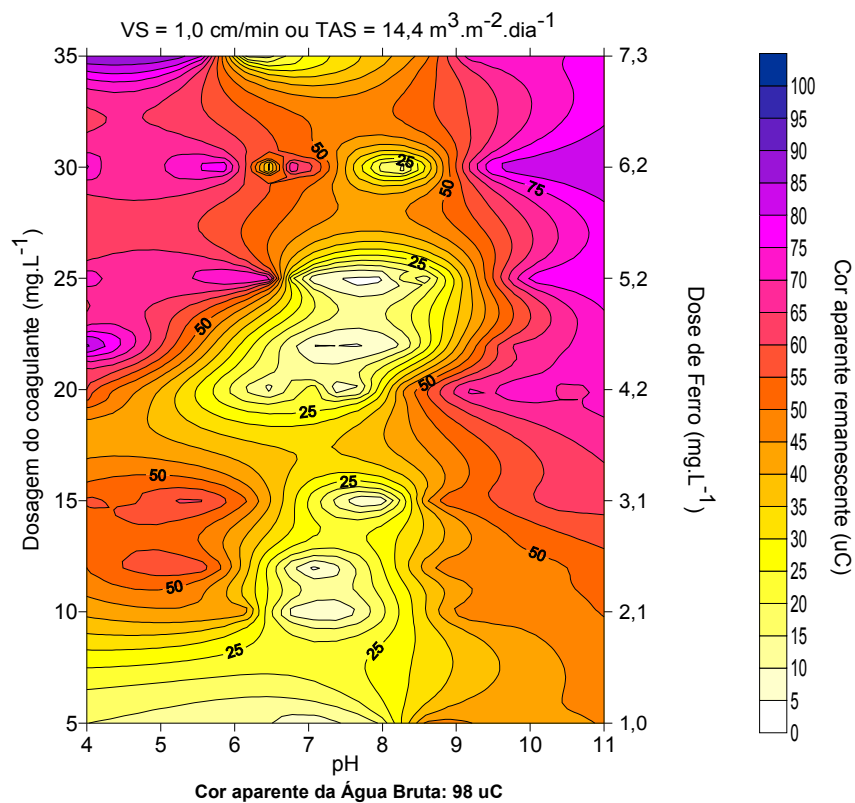
## **APÊNDICE B – DIAGRAMAS DE COAGULAÇÃO COM CLORETO FÉRRICO**



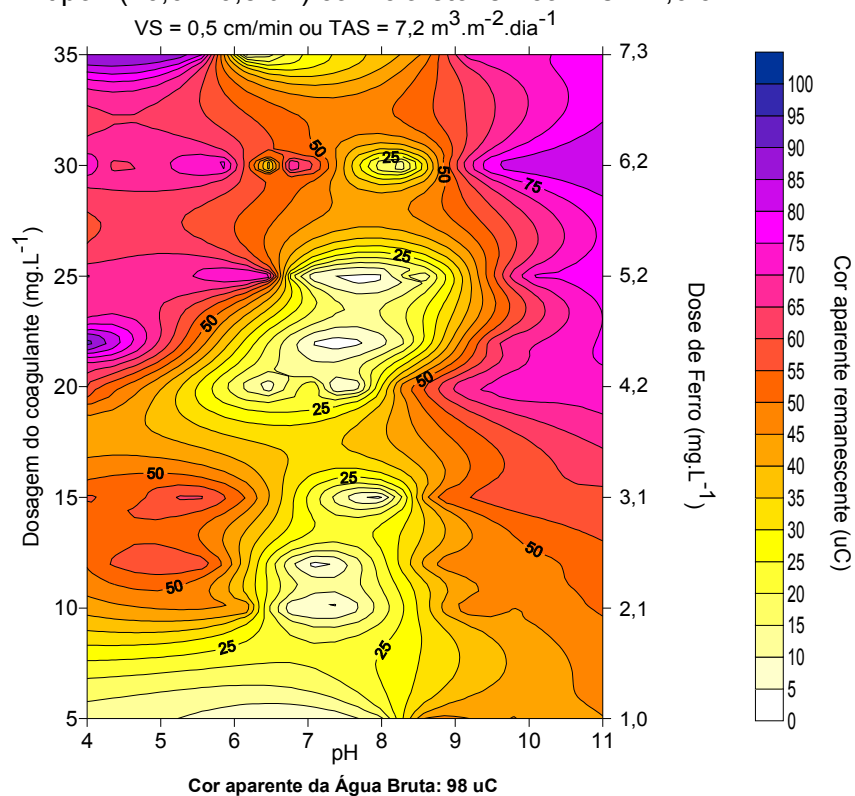
**Figura B.1:** Diagrama de coagulação com CF: turbidez remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$  uT) com cloreto férrico - vs = 1,0 cm.min<sup>-1</sup>.



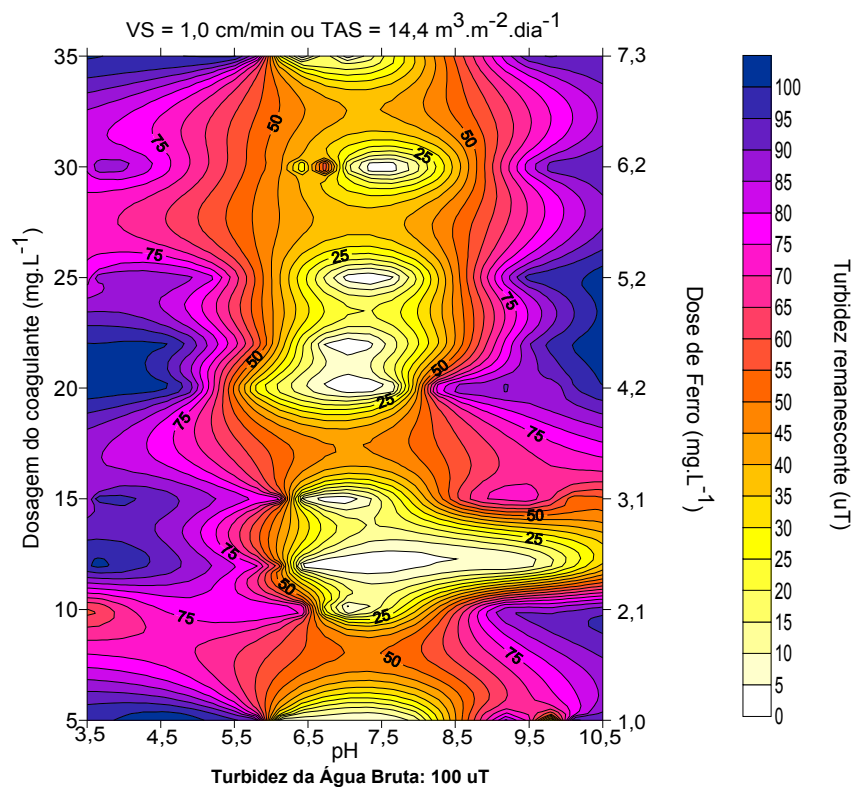
**Figura B.2:** Diagrama de coagulação com CF: turbidez remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$  uT) com cloreto férrico - vs = 0,5 cm.min<sup>-1</sup>.



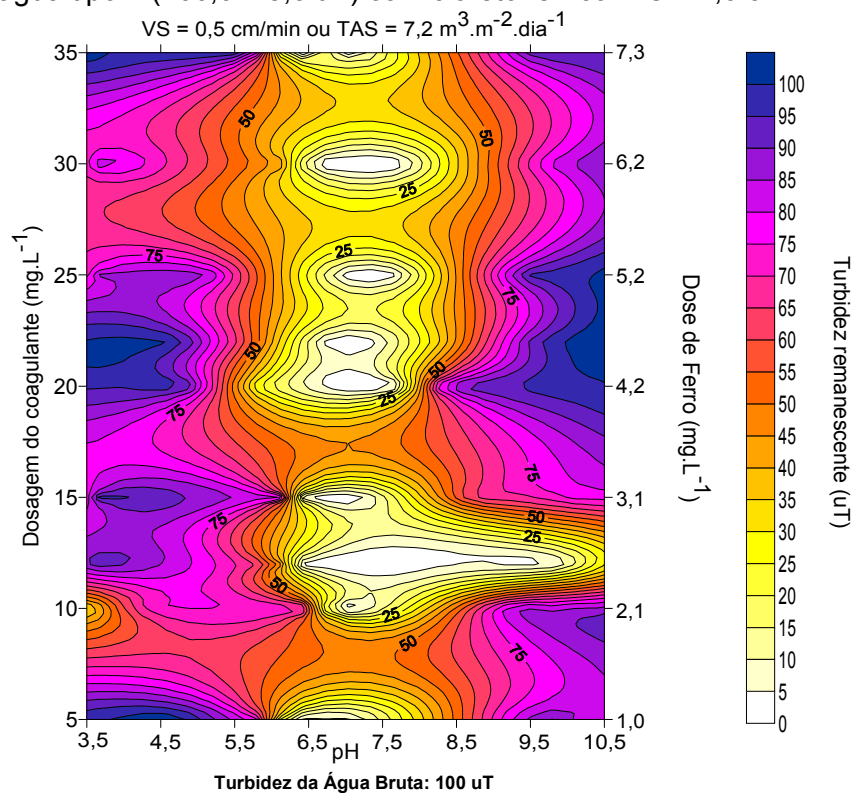
**Figura B.3:** Diagrama de coagulação com CF: cor remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$  uT) com cloreto férrico - vs = 1,0 cm.min<sup>-1</sup>.



**Figura B.4:** Diagrama de coagulação com CF: cor remanescente após coagulação da água tipo I ( $10,0 \pm 0,5$  uT) com cloreto férrico - vs = 0,5 cm.min<sup>-1</sup>.

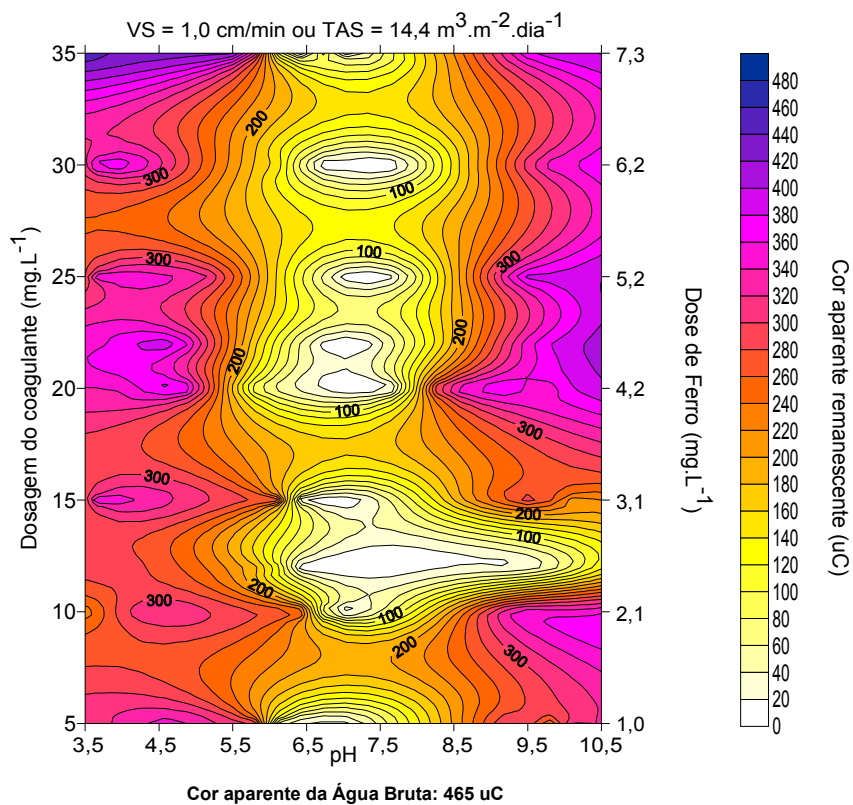


**Figura B.5:** Diagrama de coagulação com CF: turbidez remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$  uT) com cloreto férrico - vs = 1,0 cm.min<sup>-1</sup>.

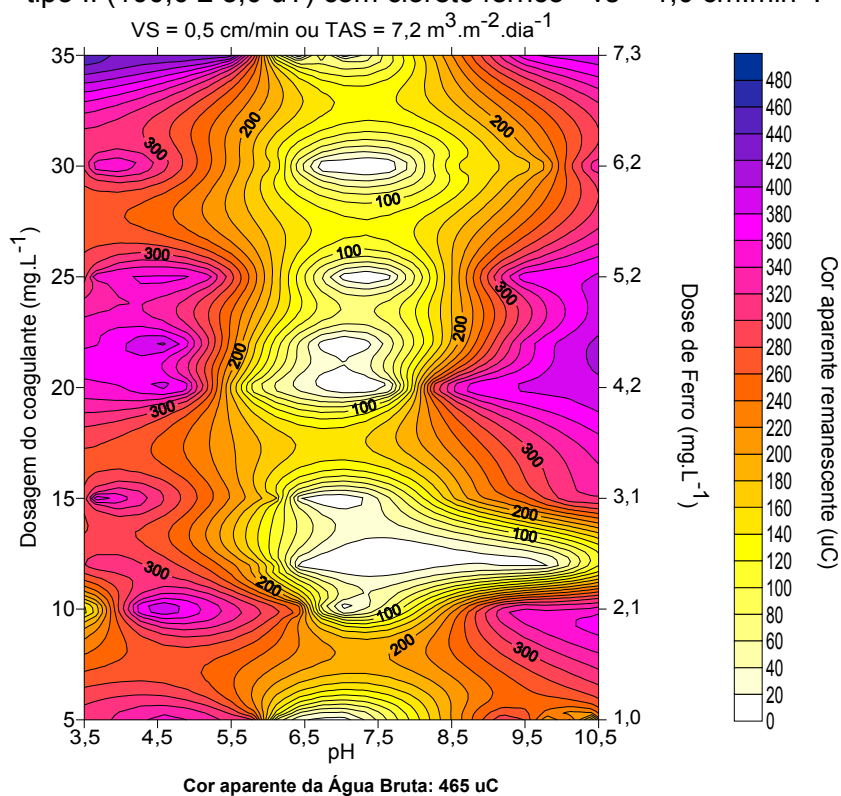


**Figura B.6:** Diagrama de coagulação com CF: turbidez remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$  uT) com cloreto férrico - vs = 0,5 cm.min<sup>-1</sup>.





**Figura B.7:** Diagrama de coagulação com CF: cor remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$  uT) com cloreto férrico - vs = 1,0 cm.min<sup>-1</sup>.



**Figura B.8:** Diagrama de coagulação com CF: cor remanescente após coagulação da água tipo II ( $100,0 \pm 5,0$  uT) com cloreto férrico - vs = 0,5 cm.min<sup>-1</sup>.