



**AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**CONTRIBUIÇÃO ANTRÓPICA NA QUALIDADE DAS ÁGUAS DA REPRESA DO  
GUARAPIRANGA. UM ESTUDO SOBRE INTERFERENTES ENDÓCRINOS**

JULIANA IKEBE OTOMO

**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências na Área de Tecnologia  
Nuclear - Materiais**

**Orientadora:  
Profa. Dra. Maria Aparecida Faustino Pires**

**São Paulo  
2015**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

**CONTRIBUIÇÃO ANTRÓPICA NA QUALIDADE DAS ÁGUAS DA REPRESA DO  
GUARAPIRANGA. UM ESTUDO SOBRE INTERFERENTES ENDÓCRINOS**

**JULIANA IKEBE OTOMO**

**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências na Área de Tecnologia  
Nuclear - Materiais**

**Orientadora:  
Profa. Dra. Maria Aparecida Faustino Pires**

**Versão Corrigida**  
**Versão Original disponível no IPEN**

**São Paulo**  
**2015**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

**CONTRIBUIÇÃO ANTRÓPICA NA QUALIDADE DAS ÁGUAS DA REPRESA  
DO GUARAPIRANGA. UM ESTUDO SOBRE INTERFERENTES ENDÓCRINOS**

**JULIANA IKEBE OTOMO**

**Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de  
Doutor em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear – Materiais.**

**Orientadora:**

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Aparecida Faustino  
Pires**

**São Paulo**

**2015**

Dedico esta tese aos meus pais, Takahisa e Yoshiko  
simplesmente por ser quem são.

## **Agradecimentos**

À minha família, principalmente aos meus pais que sempre me incentivaram, apoiaram e acreditaram na minha capacidade. Obrigada por tudo o que já fizeram e ainda fazem por mim.

À Dra Maria Aparecida Faustino Pires pela orientação e confiança ao me permitir fazer parte deste projeto de pesquisa.

À Dra Elâine Arantes Jardim Martins, pela co-orientação, paciência, amizade e carinho desde a iniciação científica, sendo de imensa contribuição para minha formação profissional e amadurecimento pessoal.

Ao Dr. Hélio Akira Furusawa, pela elaboração da planilha de validação e importantes contribuições e sugestões durante todo o período de desenvolvimento deste trabalho.

À Dra. Marycel E. B. Cotrim, pelos comentários e sugestões no Exame de Qualificação e na disciplina “Tópicos Especiais em Tecnologia Nuclear – Materiais II”, que contribuíram para o enriquecimento deste trabalho. Além da disponibilização dos laboratórios e materiais para a realização deste trabalho.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP e ao Centro de Química e Meio Ambiente, CQMA, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao CNPQ pela bolsa de estudos concedida (Processo nº 141797/2012-6 e nº 245595/2012-0 – Doutorado sanduíche) e apoio financeiro pelos projetos CNPq, nº 310214/2013-0 e FAPESP temático 2009/53898-9.

Aos amigos, Helena Miho, Carlos, Carina e Raquel pela convivência e à Gisele Adame e Larissa Limeira pelo excelente trabalho em equipe no laboratório.

A todos os funcionários e alunos do CQMA, um muito obrigada pela convivência e pela oportunidade de trabalhar com pessoas excelentes.

## **CONTRIBUIÇÃO ANTRÓPICA NA QUALIDADE DAS ÁGUAS DA REPRESA DO GUARAPIRANGA. UM ESTUDO SOBRE INTERFERENTES ENDÓCRINOS**

**Juliana Ikebe Otomo**

### **RESUMO**

Estudos que avaliam a presença de interferentes endócrinos (IEs) em águas superficiais destinadas ao abastecimento público de grandes metrópoles aumentam a cada ano, devido aos efeitos que estas substâncias podem causar ao homem e animais mesmo quando em concentrações de  $\text{ng L}^{-1}$ . Este estudo determinou 14 compostos orgânicos, entre interferentes endócrinos e marcadores de atividade antropogênica, em amostras de água e sedimento superficial da represa Guarapiranga, um dos maiores reservatórios que abastecem a Região Metropolitana de São Paulo, Brasil. O estudo indicou a presença de concentrações máximas entre  $1061 \text{ ng L}^{-1}$  e  $12921 \text{ ng L}^{-1}$  (para bisfenol A e dibutilftalato, respectivamente) na classe dos IEs e  $114 \text{ ng L}^{-1}$  e  $12818 \text{ ng L}^{-1}$  (para o colestanol e colesterol, respectivamente) na classe dos traçadores de atividade humana. Em sedimento, a concentração máxima variou de  $3 \text{ ng g}^{-1}$  a  $872 \text{ ng g}^{-1}$  (para o estradiol e nonilfenol, respectivamente). As concentrações mais elevadas foram observadas principalmente no ponto de amostragem G103-12 ( $23^{\circ}41'88,5''\text{S}$  e  $46^{\circ}44'67,3''\text{W}$ ), sendo a causa associada à densa urbanização próxima a este ponto. Embora, para a maioria dos compostos não haja concentrações limites estabelecidas em água superficial, abastecimento e sedimento, é muito importante que mais estudos sejam realizados a fim de conhecer o risco real para a saúde da população atendida por essas águas. A avaliação da qualidade da água quanto à presença de compostos emergentes em reservatórios é considerada um dos principais instrumentos que balizam a tomada de decisão dos gestores e fornecem subsídios para revisão da legislação.

## ANTHROPOGENIC CONTRIBUTION ON WATER QUALITY FROM GUARAPIRANGA DAM. A STUDY ABOUT ENDOCRINE DISRUPTORS

**Juliana Ikebe Otomo**

### **ABSTRACT**

Studies assessing the presence of endocrine disruptors compounds (EDCs) in surface water for public supply of major metropolis increase every year due to the effects that these substances can cause to human and wildlife even in concentrations of  $\text{ng L}^{-1}$ . The present study determined 14 organic compounds, including endocrine disruptors and anthropogenic markers in surface water and sediment samples from Guarapiranga dam, one of the largest reservoirs that supply the Metropolitan Region of Sao Paulo, Brazil. The study indicated the presence of these compounds at maximum concentration ranging from  $1061 \text{ ng L}^{-1}$  and  $12921 \text{ ng L}^{-1}$  (of bisphenol A and dibutyl phthalate, respectively) for EDCs and  $114 \text{ ng L}^{-1}$  and  $12818 \text{ ng L}^{-1}$  (for cholestanol and cholesterol, respectively) for tracers of human activity. In sediment, maximum concentration ranged from  $3 \text{ ng g}^{-1}$  to  $872 \text{ ng g}^{-1}$  (for estradiol and nonylphenol, respectively). The highest concentrations were observed at the sampling point G103-12 ( $23^{\circ}41'88.5'' \text{ S}$  and  $46^{\circ}44'67.3'' \text{ W}$ ), which is associated to the dense urbanization near to this point. Although, to the most of compounds studied there is no concentration limits established for surface and supply water and sediment, it is very important that more studies should be conducted to ascertain the actual risk to the health of the population served by these waters. The assessment of water quality for the presence of emerging compounds in reservoirs is considered one of the main instruments to guide the managers decision making and provide subsidies for review of the regulation.

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Identificação da Problemática .....</b>	<b>4</b>
<b>2. OBJETIVO .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Objetivos Específicos .....</b>	<b>8</b>
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>9</b>
<b>3.1. Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) .....</b>	<b>9</b>
3.1.1 Represa Guarapiranga - Área de Estudo .....	15
<b>3.2. O Sistema Endócrino e os Interferentes.....</b>	<b>23</b>
<b>3.3. Características dos Compostos Estudados.....</b>	<b>32</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1. Reagentes e Soluções .....</b>	<b>38</b>
<b>4.2. Equipamentos.....</b>	<b>38</b>
<b>4.3. Desenvolvimento Experimental .....</b>	<b>39</b>
<b>4.4. Procedimento de Preparação e Extração das Amostras de Água .....</b>	<b>44</b>
<b>4.5. Procedimento de Preparação e Extração das Amostras de Sedimento ..</b>	<b>44</b>
.....	<b>44</b>
<b>4.6. Determinação dos Compostos de Interesse por GC/MS.....</b>	<b>45</b>
<b>4.7. Desenvolvimento dos Ensaios de Validação .....</b>	<b>46</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>59</b>
<b>5.1. Validação na Matriz Água Superficial .....</b>	<b>59</b>
<b>5.2. Validação na Matriz Sedimento Superficial.....</b>	<b>80</b>
<b>5.3. Análise das Amostras de Água Superficial .....</b>	<b>97</b>
<b>5.4. Análise das Amostras de Sedimento Superficial .....</b>	<b>128</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>132</b>
<b>7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>134</b>
<b>APÊNDICE 1 .....</b>	<b>135</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>180</b>

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1.	Perfil dos sistemas produtores de água da RMSP.....	13
TABELA 2.	Constituição da população residente na bacia Guarapiranga, estimativa para 2013 com base em dados do censo de 2000. ....	18
TABELA 3.	Evidências de doenças relacionadas ao sistema endócrino associadas à exposição aos IEs observadas em animais .....	29
TABELA 4.	Evidências de doenças relacionadas a outros sistemas do corpo associada à exposição aos IEs observadas em animais .....	31
TABELA 5.	Características físico-químicas dos compostos estudados.....	34
TABELA 6.	Valores Máximos Permissíveis (VMP - $\text{ng L}^{-1}$ ) de alguns dos compostos estudados, em legislação brasileira e de outros países.	36
TABELA 7.	Descrição dos pontos de coleta de amostras de água e sedimento, coordenadas geográficas e registros e observações realizadas pela equipe de coleta (*ponto de monitoramento da Sabesp). ....	40
TABELA 8.	Síntese do programa de amostragem e do compartimento amostrado realizado na represa Guarapiranga.....	43
TABELA 9.	Relação massa/carga (m/z) dos 14 compostos estudados e os respectivos intervalos de monitoramento.....	46
TABELA 10.	Concentrações utilizadas nos ensaios para validação com matriz (água e sedimento) e sem matriz.....	47
TABELA 11.	Planejamento fatorial saturado para avaliação da estimativa do erro da distribuição dos efeitos utilizando o algoritmo de Dong (pequenos experimentos). ....	55
TABELA 12.	Resultado obtido no ensaio com matriz de Água Superficial da Guarapiranga, no teste <i>t-Student</i> para a verificação da inclinação e paralelismo e do intercepto na análise de seletividade. O valor 2,179 é o valor crítico para 8 (n-1) graus de liberdade considerando os dois conjuntos (com e sem matriz) de dados com 95% de confiança. ....	63
TABELA 13.	Faixa de trabalho e valores de coeficiente de determinação dos compostos estudados para a matriz de água superficial da Guarapiranga.....	64

TABELA 14. Resumo dos resultados da análise de variância (ANOVA) para os compostos estudados na matriz de água superficial da Guarapiranga.....	66
TABELA 15. Limites de detecção e limites de quantificação do método para os compostos avaliados em matriz de água superficial da Guarapiranga.....	67
TABELA 16. Valores de z score para os compostos estudados no ensaio com matriz de água superficial da Guarapiranga. ....	67
TABELA 17. Resumo dos resultados do teste de Reprodutibilidade, Repetibilidade e coeficiente de variação para os compostos estudados na matriz de água superficial da Guarapiranga.....	68
TABELA 18. Parâmetros selecionados para o ensaio de robustez matriz de água superficial da Guarapiranga.....	69
TABELA 19. Resultado dos testes de recuperação para os respectivos níveis de concentração em matriz de água superficial da Guarapiranga.....	77
TABELA 20. Incerteza expandida de cada um dos compostos estudados em matrizes de água superficial da Guarapiranga, considerando-se concentração equivalente ao ponto médio da curva.....	79
TABELA 21. Resultado obtido no ensaio com matriz de Sedimento Superficial da Guarapiranga, no teste <i>t-Student</i> para a verificação da inclinação e paralelismo e do intercepto na análise de seletividade. O valor 2,179 é o valor crítico para 8 (n-1) graus de liberdade considerando os dois conjuntos (com e sem matriz) de dados com 95% de confiança. ....	85
TABELA 22. Faixa de trabalho e valores de coeficiente de determinação dos compostos estudados para a matriz sedimento.....	85
TABELA 23. Resumo dos resultados da análise de variância (ANOVA) para os compostos estudados na matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.....	86
TABELA 24. Limites de detecção e limites de quantificação do método para os compostos avaliados em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.....	87
TABELA 25. Valores de z score para os compostos estudados no ensaio sem matriz e na matriz de sedimento superficial da Guarapiranga. ....	87

TABELA 26. Resumo dos resultados do teste de Reprodutibilidade, Repetibilidade e coeficiente de variação para os compostos estudados na matriz de sedimento superficial da Guarapiranga. ....	88
TABELA 27. Parâmetros selecionados para o ensaio de robustez na matriz sedimento. ....	88
TABELA 28. Resultado dos testes de recuperação para os respectivos níveis de concentração em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga. ....	95
TABELA 29. Incerteza expandida de cada um dos compostos estudados em matrizes de sedimento superficial da Guarapiranga, considerando-se concentração equivalente ao ponto médio da curva.....	97
TABELA 30. Relação dos valores de LDs e LQs determinados para os diferentes métodos, aplicados em períodos distintos de amostragem de água superficial ( $\text{ng L}^{-1}$ ) .....	98
TABELA 31. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta: março/2011.....	99
TABELA 32. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta: agosto/2011.....	100
TABELA 33. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta: setembro/2012.....	101
TABELA 34. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta: outubro/2014.....	102
TABELA 35. Comparativo dos resultados obtidos neste estudo, para matriz de água superficial, com estudos da literatura consultada. As concentrações estão apresentadas em $\text{ng L}^{-1}$ .....	109
TABELA 36. Razão de esteróis para identificação de fonte de contaminação fecal. ....	111
TABELA 37. Razões de esteróis para cada ponto de coleta de água superficial da represa Guarapiranga, dados de setembro de 2012.....	112

TABELA 38. Índice de Qualidade das Águas para proteção da Vida Aquática (IVA) dos pontos monitorados na represa Guarapiranga pela CETESB.....	119
TABELA 39. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de sedimento superficial da represa Guarapiranga, coleta: agosto/2011 .....	129
TABELA 40. Comparativo dos resultados obtidos neste estudo, para matriz de sedimento, com estudos da literatura consultada. As concentrações estão apresentadas em $\text{ng g}^{-1}$ .....	131
TABELA 41. Resultados do teste de seletividade (teste F de Snedecor e t de Student, $n=7$ ) na matriz Água superficial da Guarapiranga para os 14 compostos estudados. Adição de padrão na matriz e sem matriz. Considerando $F_{\text{tabelado}} = 4,28$ e $t_{\text{tabelado}} = 2,179$ . .....	136
TABELA 42. Resultados do teste de seletividade (teste F de Snedecor e t de Student, $n=7$ ) na matriz Sedimento superficial da Guarapiranga para os 10 compostos estudados. Adição de padrão na matriz e sem matriz. Considerando $F_{\text{tabelado}} = 4,28$ e $t_{\text{tabelado}} = 2,179$ .....	137

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Distribuição da água existente no planeta em suas diferentes formas. .....	1
FIGURA 2. Distribuição de água doce e distribuição da população no Brasil. ....	2
FIGURA 3. Mapa da Região Metropolitana de São Paulo e localização dos 39 municípios que a constitui. ....	10
FIGURA 4. Mapa com a divisão das regiões abastecidas por cada sistema produtor de água da RMSP. ....	12
FIGURA 5. Situação de saneamento básico na RMSP de 2000 a 2013. ....	15
FIGURA 6. Delimitação da área da sub-bacia Guarapiranga e sua localização na Região Metropolitana de São Paulo. ....	16
FIGURA 7. Representação da composição da população residente na represa Guarapiranga. ....	19
FIGURA 8. Situação de saneamento dos municípios inseridos na bacia. ....	20
FIGURA 9. Sistema endócrino e hormônios produzidos/liberados por respectivas glândulas. ....	23
FIGURA 10. Localização da represa Guarapiranga na RMSP e rede de amostragem estudado e localização dos pontos monitorados pela CETESB (à direita). ....	41
FIGURA 11. Amostragem de água superficial com garrafa de van Dorn na coleta de setembro de 2012. ....	42
FIGURA 12. Amostragem de sedimento em outubro de 2014 e amostrador de sedimento tubular de gravidade (tipo Kajak) em detalhe. ....	42
FIGURA 13. Resgistros mensais do nível da represa Guarapiranga e acúmulo de chuvas (pluviometria) durante 2011, 2012 e 2014, com destaque (em verde) dos meses em que foram realizadas as coletas. ....	43
FIGURA 14. Equações para cálculo da ANOVA .....	51
FIGURA 15. Diagrama de ishikawa demonstrando as grandezas de entrada consideradas na estima da incerteza de medição do método para análise proposta. ....	57

FIGURA 16. Cromatograma de mistura de padrão com os 14 compostos estudados na matriz de água superficial.....	60
FIGURA 17. Cromatograma de mistura de padrão com os 14 compostos estudados na matriz de água superficial (Continuação). ....	61
FIGURA 18. Cromatograma de mistura de padrão com os 14 compostos estudados na matriz de água superficial (continuação). ....	62
FIGURA 19. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial e no ensaio sem matriz do coprostanol.....	63
FIGURA 20. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para Dietilftalato em água superficial da Guarapiranga. ....	65
FIGURA 21. Gráficos para Nonilfenol, Pentaclorofenol, Bisfenol A e Estrona representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.....	70
FIGURA 22. Gráficos para Estradiol, Etinilestradiol, Coprostanol e Colesterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.....	71
FIGURA 23. Gráficos para Colestanol e Estigmasterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.....	72
FIGURA 24. Gráficos de rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Etinilestradiol, Progesterona e Estigmasterol. ....	73
FIGURA 25. Gráficos para Androstano, Coprostanol, Colestanol e Estigmasterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.....	74
FIGURA 26. Gráficos de rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Androstano, Coprostanol, Colestanol e Estigmasterol. ....	75
FIGURA 27. Representação gráfica das incertezas envolvidas na metodologia desenvolvida para determinação de Dietilftalato e Nonilfenol em Água superficial da Guarapiranga.....	77

- FIGURA 28. Representação gráfica das incertezas envolvidas na metodologia desenvolvida para determinação de Pentaclorofenol, Dibutilftalato, Androstano, Bisfenol A, Estrona Estradiol, Etinilestradiol, Progesterona, Coprostanol, Colesterol, Colestanol e Estigmasterol em Água superficial da Guarapiranga.....78
- FIGURA 29. Cromatograma de dietilftalato, nonilfenol, pentaclorofenol e dibutilftalato na mistura de padrão com os 14 compostos estudados para a matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.....81
- FIGURA 30. Cromatograma de androstano, bisfenol-A, estrona, estradiol e etinilestradiol na mistura de padrão com os 14 compostos estudados para a matriz de sedimento superficial da Guarapiranga (Continuação). .....82
- FIGURA 31. Cromatograma progesterona, coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol na mistura de padrão com os 14 compostos estudados para a matriz de sedimento superficial da Guarapiranga (continuação). .....83
- FIGURA 32. Gráficos para Dietilftalato, Nonilfenol, Pentaclorofenol e Dibutilftalato representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.....90
- FIGURA 33. Gráficos para Androstano, Bisfenol A, Estrona e Estradiol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.....91
- FIGURA 34. Gráficos para Etinilestradiol e Progesterona representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.....92
- FIGURA 35. Gráficos de rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Dietilftalato e Pentaclorofenol. ...93
- FIGURA 36. Gráficos de rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para Dibutilftalato, Estrona e Estradiol.....94
- FIGURA 37. Representação gráfica das incertezas envolvidas na metodologia desenvolvida para determinação de Dibutilftalato, Androstano, Bisfenol A, Estrona, Estradiol, Etinilestradiol e Progesterona em Sedimento superficial da Guarapiranga.....96

FIGURA 38. Distribuição espacial dos compostos IEs em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de março de 2011.....	103
FIGURA 39. Distribuição espacial dos compostos IEs em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de agosto de 2011....	104
FIGURA 40. Distribuição espacial dos compostos IEs em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de setembro de 2012. .....	105
FIGURA 41. Distribuição espacial dos compostos IEs em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de outubro de 2014. .	105
FIGURA 42. Distribuição espacial dos esteróis em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de agosto de 2011 .....	106
FIGURA 43. Distribuição espacial dos esteróis em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de setembro de 2012.....	107
FIGURA 44. Distribuição espacial dos esteróis em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de outubro de 2014.....	107
FIGURA 45. Dendograma da distribuição do dietilftalato nas águas da represa Guarapiranga, referente ao período amostrado de 2011 a 2014. ..	113
FIGURA 46. Dendograma da distribuição do dibutilftalato e nonilfenol nas águas da represa Guarapiranga, referente ao período amostrado de 2011 a 2014.....	114
FIGURA 47. Dendograma da distribuição do bisfenol A e coprostanol nas águas da represa Guarapiranga, referente ao período amostrado de 2011 a 2014.....	115
FIGURA 48. Dendograma da distribuição do colesterol e estigmasterol nas águas da represa Guarapiranga, referente ao período amostrado de 2011 a 2014.....	116
FIGURA 49. Mapa das bacias contribuintes à represa Guarapiranga.....	118
FIGURA 50. Gráfico da densidade demográfica das 5 bacias contribuintes da represa Guarapiranga.....	118
FIGURA 51. Distribuição de dietilftalato quantificado nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga. ....	120
FIGURA 52. Distribuição de nonilfenol nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.....	121

FIGURA 53. Distribuição de dibutilftalato nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.....	121
FIGURA 54. Distribuição de bisfenol A nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.....	122
FIGURA 55. Distribuição de coprostanol nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.....	122
FIGURA 56. Distribuição de colesterol nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.....	123
FIGURA 57. Distribuição de estigmasterol nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.....	123
FIGURA 58. Parâmetros físico-químicos medidos durante as coletas de agosto de 2011, setembro de 2012 e outubro de 2014. ....	125
FIGURA 59. Pluviometria média de 3 meses anteriores a coleta e pluviometria diária do mês de coleta.....	127
FIGURA 60. Distribuição espacial dos compostos estudados em amostras de sedimento superficial da represa Guarapiranga, coleta de agosto de 2011.....	130
FIGURA 61. Concentração de nonilfenol observada nas amostras de sedimento superficial da Guarapiranga na coleta de outubro de 2014.....	130
FIGURA 62. Situação de saneamento básico nos 39 municípios pertencentes a RMSP.....	135
FIGURA 63. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial, sedimento superficial e no ensaio sem matriz .....	139
FIGURA 64. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial, sedimento superficial e no ensaio sem matriz .....	140
FIGURA 65. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial, sedimento superficial e no ensaio sem matriz .....	141
FIGURA 66. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial e no ensaio sem matriz.....	142
FIGURA 67. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Dietilftalato e Nonilfenol em matriz de água superficial da Guarapiranga.....	143

- FIGURA 68. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Pentaclorofenol e Dibutilftalato em matriz de água superficial da Guarapiranga..... 144
- FIGURA 69. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Androstano e Bisfenol A em matriz de água superficial da Guarapiranga..... 145
- FIGURA 70. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Estrona e Estradiol em matriz de água superficial da Guarapiranga. .... 146
- FIGURA 71. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Etinilestradiol e Progesterona em matriz de água superficial da Guarapiranga..... 147
- FIGURA 72. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Coprostanol e Colesterol em matriz de água superficial da Guarapiranga..... 148
- FIGURA 73. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Colestanol e Estigmasterol em matriz de água superficial da Guarapiranga..... 149
- FIGURA 74. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Dietilftalto e Nonilfenol em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga..... 150
- FIGURA 75. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Pentaclorofenol e Dibutilftalato em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga..... 151
- FIGURA 76. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Androstano e Bisfenol A em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga..... 152
- FIGURA 77. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Estrona e Estradiol em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga..... 153
- FIGURA 78. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Etinilestradiol e Progesterona em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga..... 154

FIGURA 79. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Dietilftalato e Nonilfenol em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga.....	155
FIGURA 80. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Pentaclorofenol e Dibutilftalato em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga.....	156
FIGURA 81. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Androstano e Bisfenol A em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga.....	157
FIGURA 82. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Estrona e Estradiol em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga.....	158
FIGURA 83. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Etinilestradiol e Progesteron em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga.....	159
FIGURA 84. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Coprostanol, Colesterol, Colestanol e Estigmasterol em matriz de água superficial da Guarapiranga. ....	160
FIGURA 85. Gráficos para Dietilftalato, Nonilfenol, Pentaclorofenol e Dibutilftalato representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.....	161
FIGURA 86. Gráficos para Androstano, Bisfenol A, Estrona e Estradiol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.....	162
FIGURA 87. Gráficos para Etinilestradiol, Progesterona, Coprostanol e Colesterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.....	163
FIGURA 88. Gráficos para Colestanol e Estigmasterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.....	164
FIGURA 89. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Dietilftalato e Nonilfenol.....	165

- FIGURA 90. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Pentaclorofenol e Dibutilftalato. .... 166
- FIGURA 91. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Androstano e Bisfenol A..... 167
- FIGURA 92. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Estrona e Estradiol. .... 168
- FIGURA 93. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Etinilestradiol e Progesterona. .... 169
- FIGURA 94. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Coprostanol e Colesterol..... 170
- FIGURA 95. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Colestanol e Estigmasterol. .... 171
- FIGURA 96. Gráficos para Dietilftalato, Nonilfenol, Pentaclorofenol e Dibutilftalato representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga. .... 172
- FIGURA 97. Gráficos para Androstano, Bisfenol a, Estrona e Estradiol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga. .... 173
- FIGURA 98. Gráficos para Etinilestradiol e Progesterona representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga. .... 174
- FIGURA 99. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Dietilftalato e Nonilfenol. .... 175
- FIGURA 100. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Pentaclorofenol e Dibutilftalato. .... 176

- FIGURA 101. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Androstano e Bisfenol A..... 177
- FIGURA 102. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Estrona e Estradiol..... 178
- FIGURA 103. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Etinilestradiol e Progesterona. .... 179

**LISTA DE ABREVIATURAS**

ACN	Acetonitrila
AND	Androstano
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APP	Área de proteção permanente
BAT	Bacia do Alto Tietê
BPA	Bisfenol A
BSTFA/TMCS	N,O-bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida/ trimetilclorosilano
CBH	Comitê de Bacia Hidrográfica
CHOA	Colestanol
CHOE	Colesterol
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COP	Coprostanol
DBP	Dibutilftalato
DCM	Diclorometano
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DEP	Dietilftalato
DES	Dietilelbestrol
E1	Estrona
E2	Estradiol
EDC	Endocrine Disruptors Chemical
EDMAR	Endocrine Disruption in Marine Environment
EE2	Etinilestradiol
ETA	Estação de Tratamento de Água

ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectrometry
HPA	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
ICH	International Conference on Harmonization
IE	Interferente Endócrino
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	International Organization for Standardization
ISQG	Interim Sediment Quality Guideline
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IVA	Índice de Qualidade das Águas para Proteção da Vida Aquática
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MeOH	Metanol
NPE	Nonilfenol Etoxilado
NP	Nonilfenol
PCB	Bifenila Policlorada
PCP	Pentaclorofenol
PEL	Predicted Effect Level
PNEC	Predicted No Effect Concentrations
PNSB	Pesquisa Nacional de Saneamento Básico
PROG	Progesterona
RMSP	Região Metropolitana de São Paulo
rpm	rotação por minuto
SIM	Single Ion Monitoring
SMA	Secretaria do Meio Ambiente

SNIS	Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento
SPE	Solid Phase Extraction
STIG	Estigmasterol
TBT	Tributiltin
TEL	Thresholf Effect Level
UGRHI	Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos
VMP	Valores Máximos Permissíveis
WHO	World Health Organization

## 1. INTRODUÇÃO

Estudos já apontam a falta de água como principal motivo de conflitos entre nações. As atividades industriais, agrícolas e domésticas além de provocarem um consumo maior de água também provocam maior grau de contaminação da mesma (SMA, 2008). Estudos que avaliem a disponibilidade e qualidade da água são essenciais para que a exploração desse recurso ocorra de forma sustentável.

Conhecida como o planeta azul, a Terra é coberta em sua maioria por água, entretanto a água disponível para consumo humano corresponde a apenas 0,01% de toda a água existente. A FIG. 1 apresenta um gráfico com a proporção entre água salgada e doce, além da distribuição da água doce em suas diferentes formas.

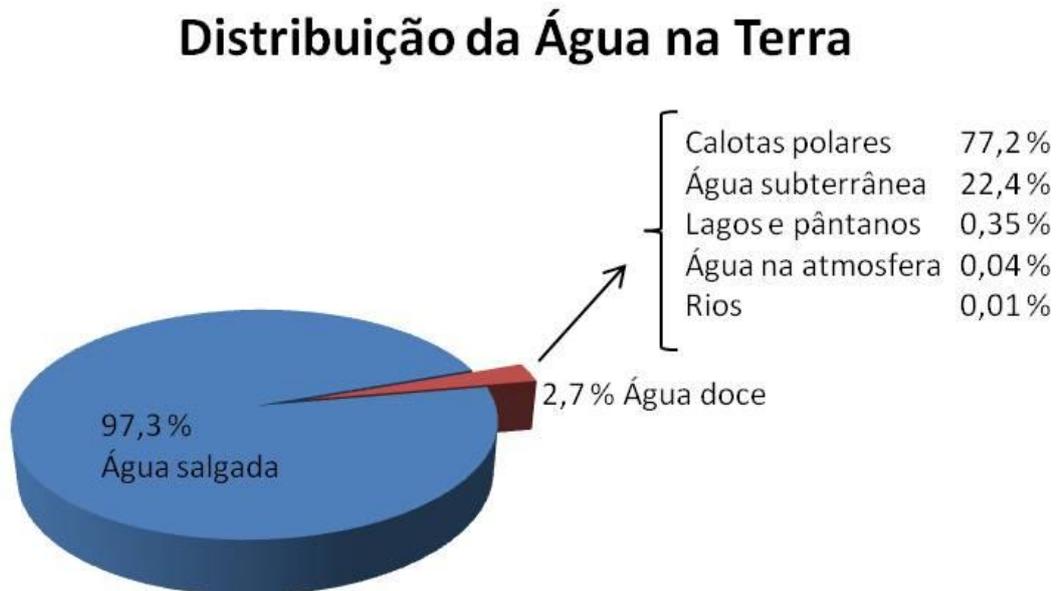


FIGURA 1. Distribuição da água existente no planeta em suas diferentes formas.  
Fonte: Informações de SMA, 2008.

Além de a água doce representar apenas 2,7% (36,2 mil km<sup>3</sup>) de toda a água existente no planeta, sua distribuição ocorre de forma bastante desigual. Depois da Ásia, a América do Sul é o continente com a maior disponibilidade de água doce, concentrando 23,1% do total existente no planeta e o Brasil é favorecido com 52% (aproximadamente 4,34 mil km<sup>3</sup>) desse montante. Ainda assim existe um problema de distribuição dessa água pela concentração da população (FIG.2). Na Amazônia, por exemplo, encontra-se 68,5% da água doce do país, porém concentra 8% da população brasileira. Em contrapartida, na região sudeste habitam 42% da população e apenas 6% da água doce disponível (SMA, 2008; Brasil, 2012).

## Distribuição da água doce no Brasil Distribuição da população

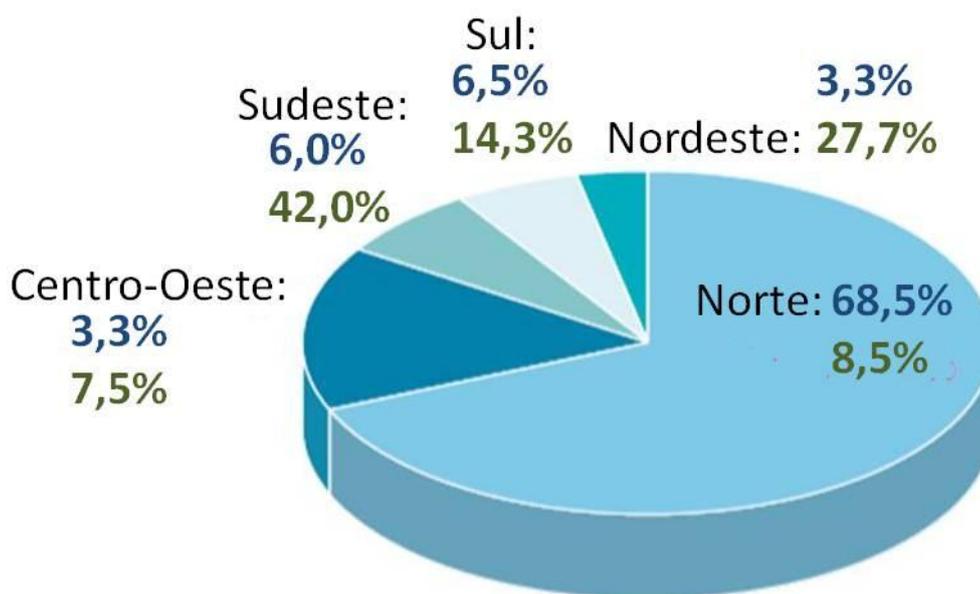


FIGURA 2. Distribuição de água doce e distribuição da população no Brasil.  
Fonte: Modificado de SMA (2008).

Um dos maiores problemas sobre a água não é somente sua disponibilidade, mas também sua qualidade para atender as necessidades básicas humanas. Principalmente nos grandes centros urbanos, onde cada vez mais há a necessidade em buscar água de qualidade em áreas mais afastadas

dos locais de consumo, aumentando os custos de captação, distribuição e de investimento no setor (SMA, 2008).

No mundo, cerca de 1,5 milhão de crianças morrem pela ingestão de água de má qualidade, bem como pela falta de higiene e saneamento adequado. Mais de um terço da população mundial carece de acesso às instalações básicas do setor (SMA, 2008). No Brasil, estima-se que 12 milhões de domicílios não possuem abastecimento de água, a região Norte é a mais deficiente com 54,7% da população sem abastecimento, seguida da região Nordeste (31,7%), Centro-Oeste (18%), Sul (15,8%) e Sudeste (12,5%). E ainda, 54,8 milhões de brasileiros não tem suas casas ligadas a rede coletora de esgoto, sendo o Nordeste a região mais deficiente com 15,3 milhões pessoas, seguido da região Norte (8,8 milhões), Sul (6,3 milhões), Centro-Oeste (3,2 milhões) e Sudeste com 1,2 milhões, sendo notável a desigualdade na prestação de serviços de saneamento entre as regiões brasileiras (PNSB, 2008). As regiões Norte e Nordeste são as mais deficientes tanto para falta de abastecimento de água quanto pela falta de coleta de esgoto, enquanto que a região sudeste apresenta o melhor índice para esses dois serviços.

As atividades antrópicas (do grego: *anthropos*, que quer dizer, “homem”) passam a representar uma das principais fontes de alteração da qualidade e disponibilidade das águas superficiais principalmente devido à composição do esgoto doméstico e industrial que, mesmo após tratamento nas estações, apresentam concentrações de poluentes orgânicos apontados como grandes responsáveis pela degradação de corpos hídricos (Libânio, 2008; Grover, 2012).

A Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) é o mais importante polo financeiro industrial e comercial do Brasil. Como todas as grandes cidades, possui muitos desafios com relação à qualidade dos serviços de infraestrutura e limitação de espaço físico. Mananciais como Guarapiranga apresentam grande parte de suas áreas urbanizadas por assentamentos tanto regulares como irregulares. O lançamento de efluente *in natura* está diretamente associado a essas ocupações na área de manancial. A situação é preocupante uma vez que represas como esta

são utilizadas para abastecimento público (EMPLASA, 2011; SMA, 2011; SDM, 2015).

### **1.1. Identificação da problemática**

Os recursos hídricos, superficiais e subterrâneos, no Brasil são importantes instrumentos para o desenvolvimento econômico e social, inclusive para a sustentabilidade do setor público e privado. Estudos que forneçam informação para alimentar bancos de dados são fundamentais para desenvolver cenários e prever impactos gerados nas bacias hidrográficas. A fim de auxiliar a gestão das mesmas é necessário promover o controle e a identificação das principais fontes causadoras de eutrofização, contaminação e toxicidade dos corpos d'água (BRASIL, 2012).

A manutenção da qualidade da água é uma das preocupações e desafios do século XXI. Garantir a disponibilidade e o manejo sustentável das águas e saneamento para todos é um dos objetivos da Agenda de Desenvolvimento Sustentável, proposta pela Assembleia Geral das Nações Unidas (ONU, 2014).

O monitoramento de ecossistemas aquáticos é uma importante ferramenta para a gestão ambiental com vistas a auxiliar os tomadores de decisão. Entretanto, ainda existe uma lacuna na legislação nacional e internacional quanto à contaminação ambiental por compostos emergentes, como os interferentes endócrinos, devido aos dados disponíveis serem insuficientes para quantificar um perfil preciso de contaminação (Tundisi & Matsumura-Tundisi, 2008; Tundisi, 2014).

De acordo com trabalhos realizados em diversas bacias hidrográficas localizadas no estado de São Paulo, como na região de Campinas, nas Bacias Hidrográficas dos Rios Mogi-Guaçu e Pardo, Bacia Hidrográfica do Rio Paraíba do Sul, no Vale do Paraíba (Ghiselli, 2006; Ghiselli, 2007; Katsuóka, 2001; Otomo, 2010; Otomo, et al., 2010a; Otomo, et al., 2011; Souza, 2011; Oliveira, 2012) e mais recentemente na represa do Parque Natural do Pedroso e Guarapiranga (Brito, 2014; Shihomatsu, et al., 2014a; Shihomatsu, et al., 2014b; Otomo, et al., 2014; Shihomatsu, 2015), vários dos compostos observados em águas

superficiais e sedimento de fundo foram associados às atividades industriais, agropastoris e também pelo descarte de esgoto *in natura*. Os principais compostos encontrados foram:

- pentaclorofenol, nonilfenol, bisfenol-A, benzeno[a]pireno, dibutilftalato e dietilftalato - provenientes de atividade industrial;
- coprostanol - esteroide fecal;
- colestanol, colesterol e estigmasterol – esteroides;
- androstano, levonorgestrel, progesterona, etinilestradiol, estradiol e estrona - hormônios;
- naftaleno, acenaftileno, fluoreno, antraceno, fenantreno, pireno, fluoranteno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(a)pireno, benzo(e)acenaftileno, benzo(k)fluoranteno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno – HPAs;
- acetaminofeno, diclofenaco, orfenadrina, atenolol e propranolol, enalapril, losartana, valsartana, citalopram, paroxetina, bromazepam, midazolam, clopidogrel, clortalidona, rosuvastatina, carbamazepina, clonazepam, loratadina, cafeína, cocaína e seu metabólito benzoilecgonina, sildenafil e ciproterona - fármacos e drogas de abuso.

Estes compostos avaliados nos estudos supracitados foram detectados em água superficial e potável distribuída à população, na ordem de grandeza de  $\text{ng L}^{-1}$ , com destaque para as seguintes substâncias: dietilftalato, dibutilftalato, cafeína, bisfenol A, estradiol, etinilestradiol, progesterona e colesterol (Ghiselli, 2006; Otomo, 2010; Otomo, et al., 2010a; Otomo, et al., 2011; Souza, 2011; Oliveira, 2012).

Segundo Ghiselli (2006), na região de Campinas, além de fármacos e hormônios, foram identificadas substâncias antrópicas resultantes da atividade industrial, como por exemplo, os ftalatos, os quais têm sido amplamente empregados há mais de 40 anos na fabricação de tintas, adesivos, papelão, lubrificantes, fragrâncias e principalmente como plastificante. Esses ftalatos podem ser introduzidos no ambiente por lixiviação. Na região do Paraíba do Sul, onde foram avaliadas quatro cidades da região paulista, também foram encontrados hormônios, esteroides, ftalatos e surfactantes fenólicos (Otomo, 2010; Otomo, et al., 2010a; Otomo, et al., 2011; Souza, 2011; Oliveira, 2012), apesar de grande parte desta região ser preservada, já se notam traços de contaminações. Em estudo realizado nas Bacias dos rios Mogi-Guaçu e Pardo por

Katsuóka (2001), utilizando a técnica de GC/MS, foram identificados diversos compostos orgânicos nos sedimentos de rios próximos a faixa urbana e rural, dentre eles hormônios, esteroides fecais, HPAs e ftalatos.

Os interferentes endócrinos estão entre os poluentes orgânicos emergentes mais estudados em diversas matrizes ambientais nas últimas décadas. Essa classe de substâncias é suspeita de causar efeitos adversos ao homem e à biota mesmo quando presentes no ambiente em concentrações de  $\text{ng L}^{-1}$ .

Os compostos classificados como interferentes endócrinos avaliados na represa Guarapiranga por este trabalho, foram: dietilftalato, dibutilftalato, nonilfenol, bisfenol A, pentaclorofenol, estrona, estradiol, etinilestradiol e estigmasterol. Além desses compostos foram avaliados dois hormônios naturais, androstano e progesterona, e três compostos químicos utilizados para identificar a influência da atividade antrópica: coprostanol, colesterol e colestanol.

As técnicas mais utilizadas para a determinação quantitativa de interferentes endócrinos orgânicos, descritas na literatura, envolvem o uso de métodos cromatográficos, destacando-se a Cromatografia a Gás (*Gas Chromatography*, GC) e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em fase reversa (CLAE ou HPLC, *High Performance Liquid Chromatography*). Dentre as técnicas de análise mencionadas, a cromatografia a gás associada a espectrometria de massas ocupa um lugar de grande destaque devido à facilidade em efetuar a separação e principalmente a identificação das mais diferentes espécies químicas (Otomo, 2010; Mansilha, et al., 2010; Souza, 2011; Oliveira, 2012).

Mudanças na qualidade da água podem ser mais rápidas e intensas devido à natureza dos afluentes e, também, como resultado da ocupação e do uso no entorno dos corpos d'água refletindo, desse modo, as múltiplas atividades humanas desenvolvidas na bacia hidrográfica e seus impactos (Rebouças, 1999). Estudos que abrangem longas séries temporais são essenciais, evitando uma visão reducionista da natureza, normalmente incapaz de perceber a complexidade dos problemas ambientais no tempo e no espaço (Battarbee, 2005; Tundisi & Matsumura-Tundisi, 2008).

Este projeto de pesquisa está vinculado ao projeto temático da FAPESP intitulado “*Reconstrução paleolimnológica da Represa Guarapiranga e diagnóstico da qualidade atual da água e dos sedimentos de mananciais da RMSP com vistas ao gerenciamento do abastecimento*” sob a coordenação geral do Prof. Dr. Carlos Eduardo de Mattos Bicudo do Instituto de Botânica e por parte da instituição parceira IPEN-CNEN/SP, está sob coordenação da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Aparecida Faustino Pires. O principal objetivo do projeto temático é reconstituir o histórico de eutrofização e impactos antropogênicos da represa por meio da avaliação de sedimento, tanto do testemunho (perfil sedimentar) do reservatório como do sedimento superficial identificando os principais fatores desencadeadores do cenário atual.

Neste contexto, o presente estudo teve como hipótese identificar o grau de contribuição do descarte de efluentes *in natura* na represa, proveniente das moradias irregulares nos arredores da represa, por meio de investigação quanto a presença de interferentes endócrinos e marcadores de atividade antrópica. Este estudo é inédito na represa Guarapiranga e de grande importância para a região, pois fornecerá tanto uma orientação sobre o grau de contaminação dos corpos hídricos quanto às substâncias químicas tóxicas e de importância ambiental. E principalmente por este manancial ter se tornado a principal fonte de abastecimento da RMSP, é de extrema importância garantir sua qualidade para este fim evitando riscos à saúde da população.

## **2. OBJETIVO**

O objetivo principal deste projeto foi avaliar a qualidade da água e sedimento da represa Guarapiranga quanto à presença de compostos orgânicos classificados como interferentes endócrinos e traçadores de atividades humanas, responsáveis pela sua degradação. O trabalho fornecerá informações que deverão auxiliar os órgãos responsáveis pelo gerenciamento de recursos hídricos.

### **2.1 Objetivos Específicos**

- Avaliar a distribuição espacial e temporal dos compostos: dietilftalato, dibutilftalato, nonilfenol, pentaclorofenol, bisfenol A, androstano, estrona, estradiol, etinilestradiol, progesterona, coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol, em amostras de água e sedimento superficiais no reservatório Guarapiranga no período de 2011 a 2014;
- Otimizar e aplicar um método analítico para a determinação simultânea dos compostos mencionados em amostras de água superficial, utilizando extração em fase sólida seguida de cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas;
- Adaptar, otimizar e aplicar um método analítico para a determinação simultânea dos compostos mencionados em amostras de sedimento superficial da represa Guarapiranga, utilizando extração com sistema de ultrassom, seguida de extração em fase sólida e cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas;
- Demonstrar a confiabilidade dos resultados obtidos aplicando os parâmetros de validação como seletividade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão, recuperação, robustez e estimativa da incerteza de medição.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. Região Metropolitana de São Paulo (RMSP)**

A RMSP engloba 39 municípios, como ilustra a FIG. 3, onde residem aproximadamente 21 milhões de pessoas. Considerada a maior metrópole da América do Sul e entre as cinco maiores no mundo, é o mais importante polo financeiro industrial e comercial do Brasil, concentra 57% do Produto Interno Bruto (PIB) do estado de São Paulo e 18,9% do Brasil (EMPLASA, 2011; SMA, 2011; SEADE, 2014; SDM, 2015). Como todas as grandes cidades, possui muitos desafios com relação à qualidade dos serviços de infraestrutura e limitação de espaço físico.

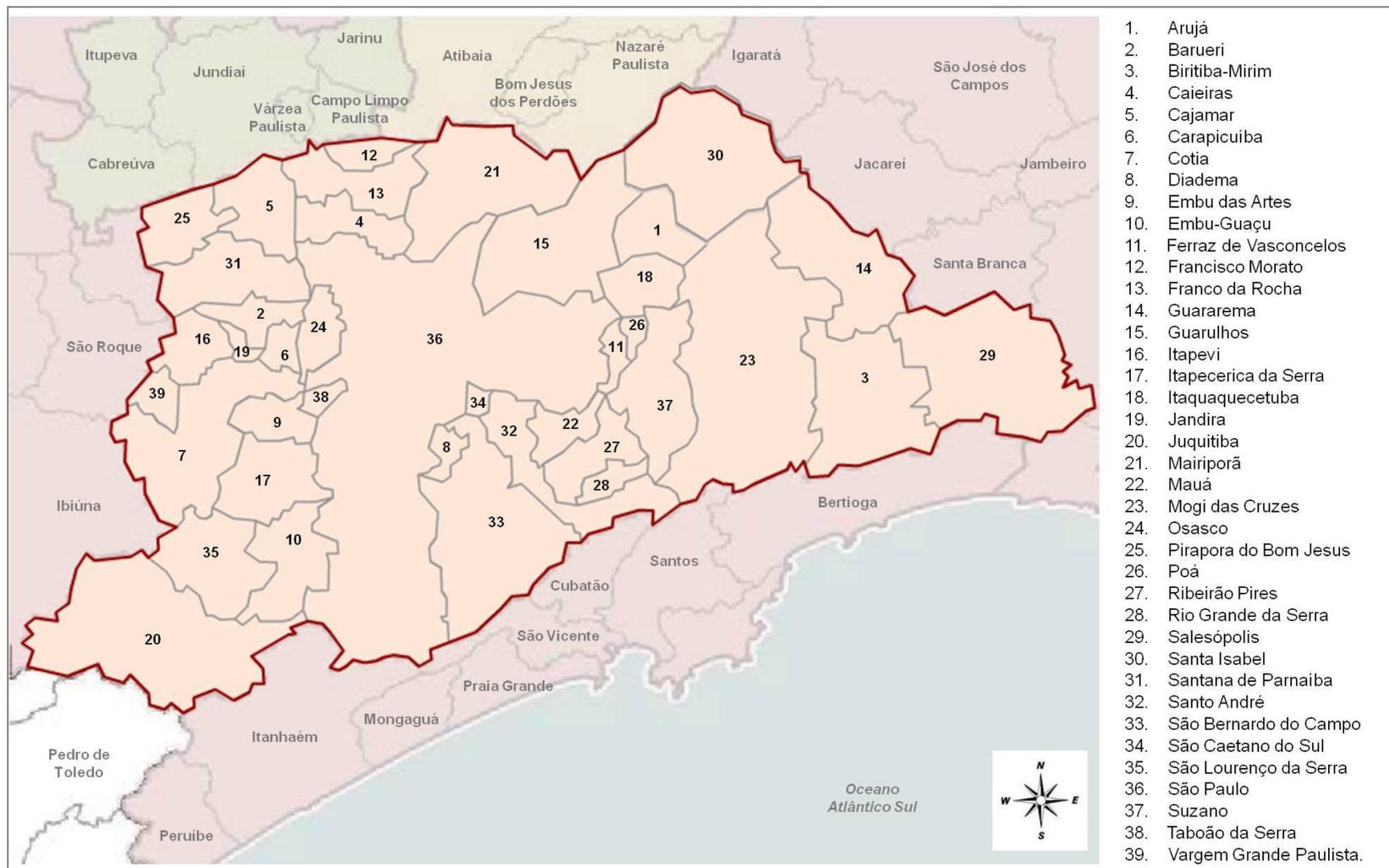


FIGURA 3. Mapa da Região Metropolitana de São Paulo e localização dos 39 municípios que a constitui.  
 Fonte: Modificado de Emplasa (<http://www.emplasa.sp.gov.br/Emplasa/Indicadores/gsp.asp>)

No que se refere ao planejamento e gerenciamento de recursos hídricos, as bacias hidrográficas do Estado de São Paulo são divididas e referenciadas como Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHs). A gestão das águas de uma bacia é realizada pelos Comitês de Bacias Hidrográficas (CBH) objetivando a preservação da qualidade dos reservatórios priorizando o abastecimento da população (Whately & Cunha, 2006). Dentre as 22 UGRHs do estado, a RMSP está inserida na UGRHI 6 denominada Bacia do Alto Tietê (BAT), que é considerada uma das bacias com menor disponibilidade hídrica por habitante (Whately & Diniz, 2009; CBHAT, 2014). A BAT é gerenciada pelo CBH-Alto Tietê que por sua vez é subdividido em 5 subcomitês: Cotia-Guarapiranga, Billings-Tamanduateí, Alto Tietê-Cabeceiras, Juqueri-Cantereira e Pinheiros-Pirapora.

A baixa disponibilidade hídrica da BAT é agravada pela sua intensa urbanização e industrialização, evidenciada pelo elevado grau de poluição da maioria dos seus corpos d'água, como por exemplo, os rios Tietê, Pinheiros, Tamanduateí, Ipiranga além dos mananciais de abastecimento público, Guarapiranga e Billings (Whately & Diniz, 2009).

O abastecimento de água da população da RMSP é realizado por 8 sistemas produtores de água, que em fevereiro de 2014 produziam  $71,4 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$  entretanto, com a séria escassez de chuvas enfrentada pela região sudeste desde 2013, esse sistema passou a produzir aproximadamente  $50 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  em fevereiro de 2015 (SABESP, 2015). Os sistemas responsáveis pela produção de água na RMSP são Cantareira, Alto Tietê, Guarapiranga/Taquacetuba, Rio Grande/Billings, Rio Claro, Alto Cotia, Baixo Cotia e Ribeirão da Estiva. A localização desses sistemas pode ser observada na FIG. 4. Na TAB. 1 estão apresentados mais detalhes com relação à capacidade de produção de água, população e regiões abastecidas por cada sistema.



TABELA 1. Perfil dos sistemas produtores de água da RMSP.

Sistema	Represas	Produção de água (m <sup>3</sup> .s <sup>-1</sup> )	Abastece (pessoas)	Municípios que atende
Cantareira	Rios Jaguari, Jacareí, Cachoeira, Atibainha e Juqueri (Paiva Castro).	31,7 (fev/14) 13,30 (jun/15)*	5,2 milhões	<p><b>Zonas Norte, Central e partes das Zonas Leste e Oeste</b> da capital, bem como os municípios de Franco da Rocha, Francisco Morato, Caieiras, Osasco, Carapicuíba e São Caetano do Sul, além de parte dos municípios de Guarulhos, Barueri, Taboão da Serra e Santo André.</p> <p><b>Zona Leste</b> da capital e dos municípios de Arujá, Itaquaquecetuba, Poá, Ferraz de Vasconcelos, Suzano, Mauá, Mogi das Cruzes, parte de Santo André e dois bairros de Guarulhos (Pimentas e Bonsucesso).</p> <p><b>Zonas Sul e Sudoeste</b> da Capital, (bairros de Santo Amaro, Campo limpo, Morumbi, Butantã) e município de Taboão da Serra.</p>
Alto Tietê	Rios Tietê, Claro, Paraitinga, Biritiba, Jundiaí, Grande, Doce, Taiapuê-Mirim, Taiapuê-Açu e Balainho.	14,97 (fev/14) 12,60 (jun/15)*	4,5 milhões	
Guarapiranga	Represa Guarapiranga (formada pelos rios Embu-Mirim, Embu-Guaçu, Santa Rita, Vermelho, Ribeirão Itaim, Capivari e Parelheiros) e da Represa Billings (Rio Taquacetuba)	13,77 (fev/14) 14,77 (jun/15)*	5,8 milhões	
Rio Grande	É um braço da Represa Billings	4,94 (fev/14) 4,05 (jun/15)*	1,4 milhão	Diadema, São Bernardo do Campo e parte de Santo André
Rio Claro	rio Ribeirão do Campo	3,83 (fev/14) 4,05 (jun/15)*	1,7 milhão	Bairro de Sapopemba, na Capital, e parte dos municípios de Ribeirão Pires, Mauá e Santo André
Alto Cotia	Pedro Beicht (formada pelos rios Capivari e Cotia do Peixe) e cachoeira da Graça	1,16 (fev/14) 0,87 (jun/15)*	410 mil	Cotia, Embu, Itapeverica da Serra, Embu-Guaçu e Vargem Grande
Baixo Cotia	Barragem do Rio Cotia	0,88 (fev/14) 0,95 (jun/15)*	361 mil	Barueri, Jandira e Itapevi
Ribeirão da Estiva	Rio Ribeirão da Estiva	0,10 (fev/14) 0,08 (jun/15)*	38,1 mil	Rio Grande da Serra

Fonte: SABESP, 2015; \*SABESP, 2015a; ANA, 2015; G1, 2015, G1, 2015a.

Como consequência do período de escassez de chuvas na região sudeste, a represa Guarapiranga passou a ser, temporariamente, responsável pelo abastecimento da maior parte da população da RMSP (TAB. 1) ultrapassando o sistema Cantareira que desde 1974 (ano de sua inauguração) mantinha essa função (SABESP, 2008; SABESP, 2015; G1, 2015; Veja, 2015). Entretanto, a Guarapiranga é um dos mananciais mais ameaçados da RMSP, apresentando um quadro de degradação na qualidade da água causado pelo aumento da população que vive em torno da represa (Veja, 2015).

A ocupação urbana promove o desmatamento das matas ciliares nas áreas de manancial, causando a erosão do solo, assoreamento dos rios e diminuindo também a capacidade natural de produção de água. Além disso, a ocupação na Guarapiranga é caracterizada por áreas extremamente adensadas por residências deficientes em infraestrutura, principalmente no que se refere à coleta de esgoto (SMA, 2008; Whately & Diniz, 2009; SMA, 2011; Andrade, 2015).

O despejo de efluentes domésticos sem tratamento resultante dessas ocupações é uma das principais fontes de poluição dos corpos d'água. Segundo levantamento realizado no banco de dados do Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento (SNIS) foi identificado que no ano de 2000, pouco mais de 75% da população total da RMSP era atendida por coleta de esgoto e somente metade do esgoto coletado era efetivamente tratado, sendo restante despejado pelas redes públicas de coleta de esgoto em rios e córregos, inclusive em mananciais de abastecimento como a Billings e Guarapiranga (Whately & Diniz, 2009; SNIS, 2015). Um agravante dessa situação é ilustrado na FIG. 5, onde pode ser observado que a situação de saneamento básico na RMSP teve uma evolução pouco perceptível entre 2000 e 2013, principalmente com relação ao tratamento do esgoto.

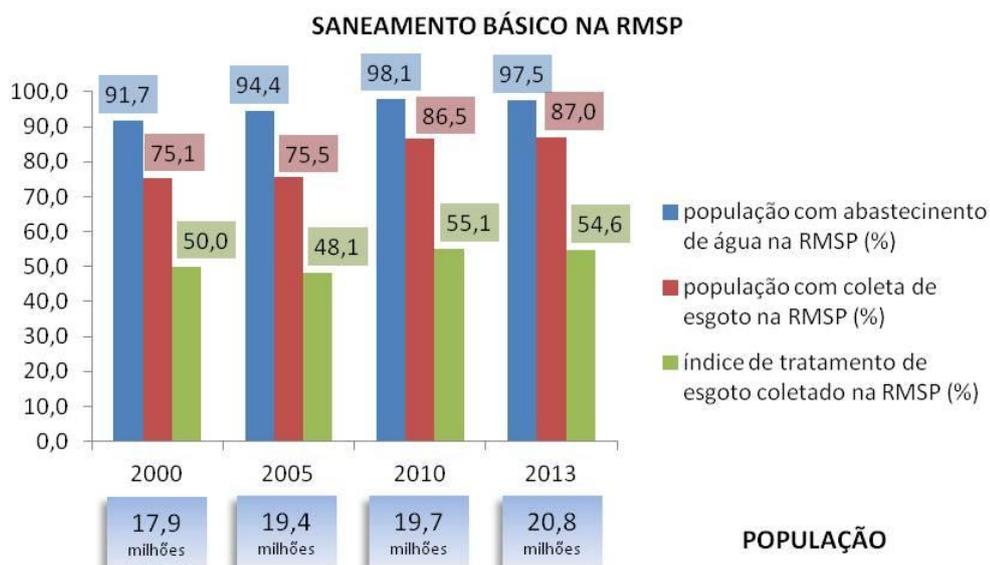


FIGURA 5. Situação de saneamento básico na RMSP de 2000 a 2013.

Fonte: Dados obtidos pelo aplicativo disponível em <<http://www.cidades.gov.br/serieHistorica/#>>

Dos 39 municípios que fazem parte da RMSP, apenas 5 tem mais de 90% de sua população atendida por coleta de esgoto: Diadema (90%), Poá (93%), Santo André (98%), São Caetano do Sul (100%) e São Paulo (96%). A maioria dos municípios (29 municípios) atende um percentual menor que 80% de coleta de esgoto e menos da metade (17 municípios) tratam acima de 50% do esgoto coletado. O perfil de coleta e tratamento de esgoto dos 39 municípios da RMSP em 2013 pode ser consultado na FIG. 62 do Apêndice desta tese.

### 3.1.1 Represa Guarapiranga - Área de Estudo

A represa Guarapiranga foi construída em 1908, pela Companhia Light & Power, com a finalidade de geração de energia elétrica. Somente em 1924 sua funcionalidade passou a ser o abastecimento público da cidade de São Paulo (Pompêo, 2008). A represa situa-se na porção sudeste da RMSP, compreendendo a totalidade territorial de Itapeverica da Serra (183 km<sup>2</sup>) e Embu-Guaçu (162 km<sup>2</sup>), parte dos municípios de São Paulo (211 km<sup>2</sup>) e Embu das Artes (41 km<sup>2</sup>), além de porções relativamente pouco extensas e pouco habitadas dos municípios de Juquitiba, São Lourenço da Serra e Cotia totalizando uma área de 638 km<sup>2</sup>, como ilustra a FIG. 6 (Whately & Cunha, 2006; Bicudo, 2010; COBRAPE, 2011).



FIGURA 6. Delimitação da área da sub-bacia Guarapiranga e sua localização na Região Metropolitana de São Paulo.  
 Fonte: Modificado de Whately & Cunha, 2006.

O relevo da bacia é variado, com elevações da ordem de 730 m a 900 m de altitude em alguns pontos da divisa com a bacia do Rio Cotia e a Serra do Mar, com clima tropical úmido e tropical suboceânico e superúmido. O regime de precipitação na bacia caracteriza-se por um período seco, entre abril e setembro, e outro mais úmido (chuvoso), entre outubro e março (Bicudo, 2010).

#### Uso e ocupação do solo na Guarapiranga

A ocupação nas margens da Guarapiranga tem gerado grande impacto ambiental, desde 1960 a represa tem sido reportada como eutrófica (Mozeto, et al., 2001) e a produtividade primária considerada como hipereutrófica em pontos onde o reservatório recebe a descarga de seus tributários. No início da década de 1980, as florações de cianobactérias se intensificaram e passaram a influenciar o processo de tratamento da água (Pompêo, 2008; Otomo, et al., 2015).

Segundo estudo realizado pela Secretaria do Meio Ambiente, publicado em 2011, a área da bacia possui 37,4% de ocupação urbana e o restante de ocupação rural (atividades agrícolas, chácaras, reflorestamento, campo e mata) (COBRAPE, 2011). As áreas com vegetação remanescente de Mata Atlântica, essenciais para a manutenção da capacidade de produção hídrica e para o equilíbrio ambiental da região, encontram-se reduzidas a menos da metade. Até mesmo as Áreas de Preservação Permanente (APPs) - protegidas por leis federal e estadual por serem áreas ambientalmente mais frágeis, como o entorno de rios e nascentes - foram ocupadas, o que causa sérias consequências para a produção de água (Borelli, 2006; Whately & Cunha, 2006).

A área urbana é marcada pelo intenso adensamento de moradias precárias em infraestrutura de saneamento. Pelo censo de 2000, foram registrados aproximadamente 750 mil habitantes na área da bacia, sendo que 88% contavam com abastecimento de água e 53% com coleta de esgoto (COBRAPE, 2011). Da população que não era servida pela rede de coleta de esgoto 16% possuíam fossa séptica e 30% despejavam seu esgoto em valas e cursos d'água (Whately & Cunha, 2006; SMA, 2008).

Embora a pesquisa censitária mais recente realizada pelo IBGE tenha sido publicada em 2010, as informações encontradas são generalizadas ou pela RMSP ou pela BAT como um todo, sendo pouca ou quase inexistente

informações mais recentes sobre a população residente na área da represa Guarapiranga em específico. Portanto a população residente na bacia foi estimada (TAB. 2) com base na porcentagem de habitantes de cada município que residiam na área da bacia, segundo censo de 2000, e pela população de cada município correspondente segundo estimativa do IBGE para 2013.

TABELA 2. Constituição da população residente na bacia Guarapiranga, estimativa para 2013 com base em dados do censo de 2000.

Municípios inseridos na área da bacia	% da população inserida na bacia <sup>1</sup>	População total (IBGE, 2000)	População na bacia	População total (IBGE, 2013)	População na bacia
Cotia	1,3	148.987	1.937	220.941	2.872
Embu das Artes	29	207.663	60.222	256.247	74.312
Embu-Guaçu	100	56.916	56.916	66.273	66.273
Itapecerica da Serra	99	129.685	128.388	163.363	161.729
Juquitiba	5,6	26.459	1.482	30.239	1.693
São Lourenço da Serra	6,7	12.199	817	14.874	997
São Paulo	4,8	10.434.252	500.844	11.821.873	567.450
<b>População total</b>		<b>11.016.161</b>	<b>750.606</b>	<b>12.573.810</b>	<b>875.326</b>

<sup>1</sup>% da população inserida na bacia com relação a população total do município.

Fonte: Cobrape, 2011

A FIG. 7 apresenta em porcentagem a composição da população de cada município em relação à população total na bacia Guarapiranga. Pode ser observado que o município de São Paulo é o que contribui com o maior número de habitantes, seguido de Itapecerica da Serra. Os municípios de Cotia, Juquitiba e São Lourenço da serra juntos representam apenas 0,6% da população.

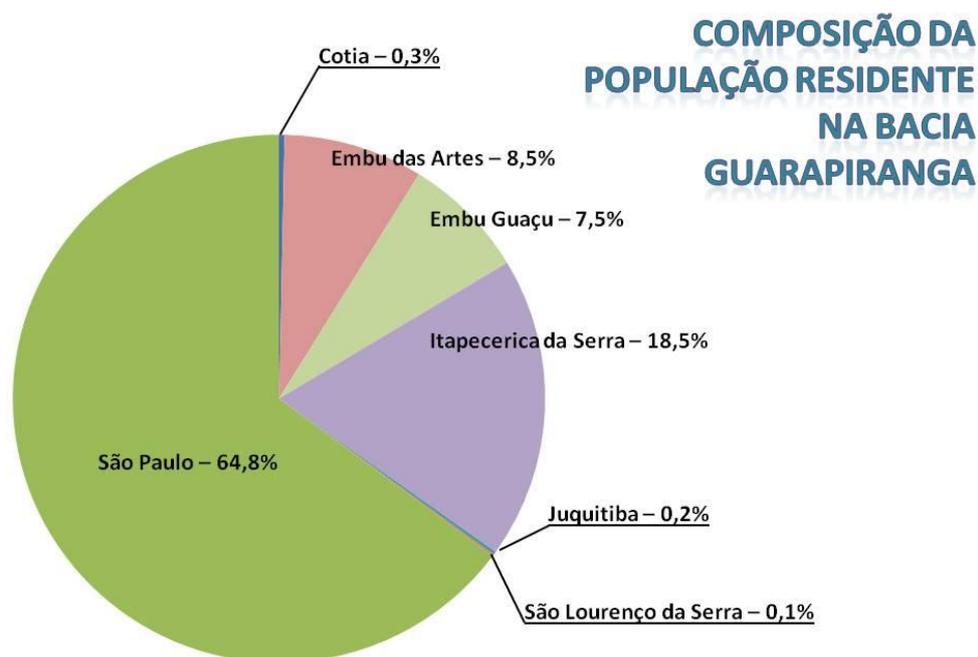


FIGURA 7. Representação da composição da população residente na represa Guarapiranga.  
Fonte: Cobrape, 2011.

Um levantamento foi realizado, por meio de pesquisa no banco de dados do Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento, referente aos anos de 2000, 2005, 2010 e 2013, buscando avaliar a evolução da situação de saneamento básico (com relação somente a abastecimento de água, atendimento por rede coletora e índice de tratamento do esgoto coletado) dos municípios inseridos na área da bacia. Mais uma vez as informações divulgadas por esse sistema, são gerais para cada município. O resultado foi compilado na FIG. 8 a seguir.

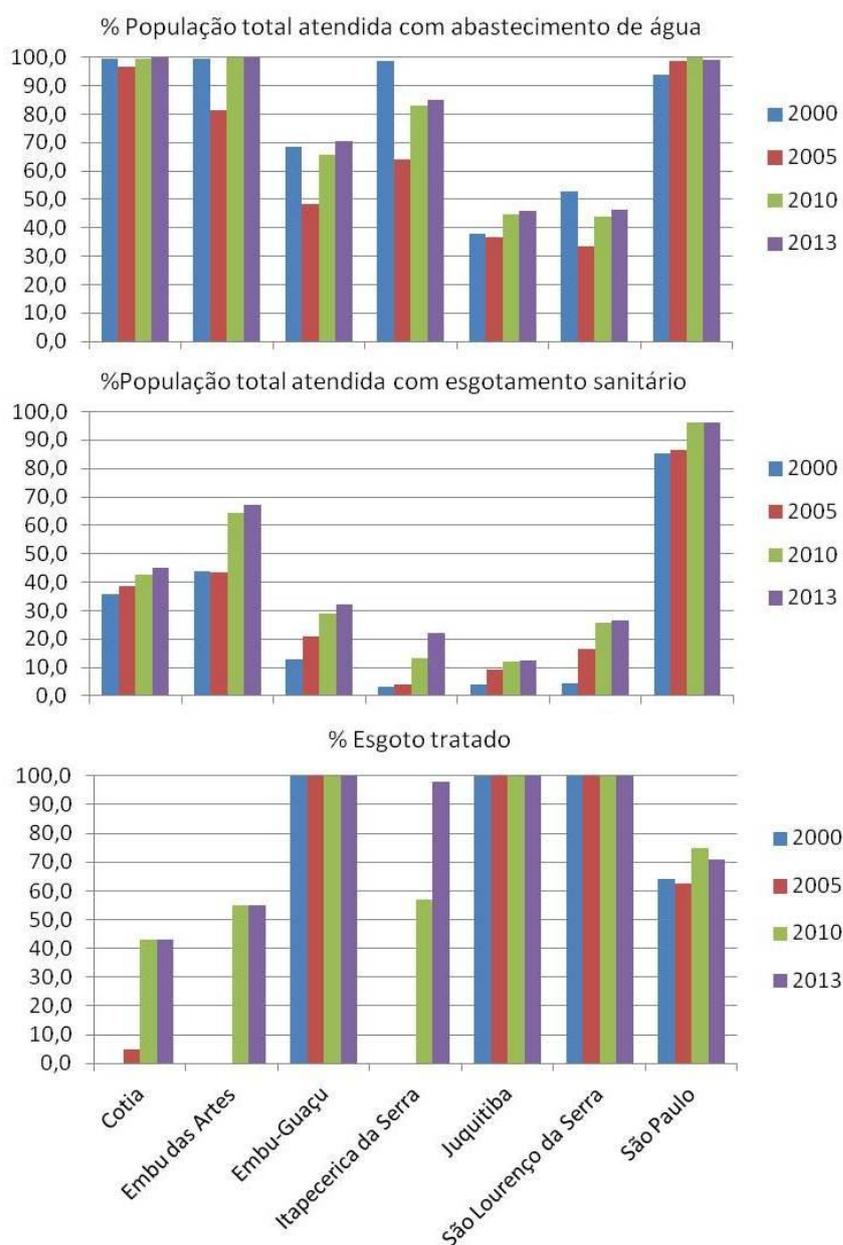


FIGURA 8. Situação de saneamento dos municípios inseridos na bacia.  
Fonte: SNIS, 2015.

O que pode ser observado é que os municípios mais deficientes nos três itens de saneamento considerados são Embu-Guaçu, Itapeceirica da Serra, Juquitiba e São Lourenço da Serra. Apesar de esses municípios terem apresentado certa melhora no nível de coleta de esgoto, ainda permanecem abaixo de 50%. São Paulo que possui a maior população na bacia apresentou em 2013 um aumento de 10,7 pontos percentuais em relação a 2000 para coleta de esgoto e apenas 6,7 pontos percentuais para tratamento do esgoto coletado. Em 2008, a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (PNSB) já havia concluído que

o serviço de esgoto sanitário foi o que menos evoluiu dentre os serviços de saneamento básico entre 2000 e 2008 (PNSB, 2008).

Vale ressaltar ainda que os dados apresentados na FIG. 8, são referentes a população total de cada município, esse aumento pode ou não ter favorecido a população que se encontra em torno da bacia do Guarapiranga. Principalmente referente a população do município de São Paulo que reside na área da bacia, uma vez que essa população foi caracterizada por moradias precárias e com deficiência em infraestrutura de saneamento (COBRAPE, 2011).

O aumento da população que vive em torno da represa é o grande fator responsável pela piora da qualidade da água, devido à falta de afastamento do esgoto gerado por essa população (SMA, 2011). O custo de tratamento da água da Guarapiranga teve um aumento de 133% entre 1998 e 2003, sendo a mais cara entre Cantareira e Alto Tietê. Em outras palavras, para tratar 1 milhão de litros de água da Guarapiranga eram necessários R\$ 54,03, contra os R\$ 6,78 e R\$ 29,24 para tratar o mesmo volume de água da Cantareira e Alto Tietê, respectivamente (SMA, 2008). O consumo de produtos químicos utilizados no tratamento das águas captadas na represa Guarapiranga foi 25% superior em relação as outras estações de tratamento de água (ETAs) da RMSP (COBRAPE, 2011).

A má qualidade da água aumenta a proliferação de plantas aquáticas como as macrófitas aquáticas, alfaces d'água, salvinia e erva-de-bicho. Em quantidades normais, essas plantas servem de alimento e abrigo para animais e auxiliam na retenção de material em suspensão e absorção de nutrientes. Em quantidades excessivas provocam fonte adicional de matéria orgânica e assoreamento da represa (Whately & Cunha, 2006).

Desde a década de 70, uma série de leis e programas foram criados com a finalidade de preservar a qualidade das águas priorizando o abastecimento da população, tais como:

- Plano Metropolitano de Desenvolvimento Integrado – PMDI em 1969 com o objetivo de reorientar o crescimento urbano para fora dos mananciais;

- As leis 898/75 e 1.172/76 em auxílio ao PMDI previam a restrição total à ocupação ou ocupações pouco adensadas com grandes áreas permeáveis;
- Lei 6.766/79 para Parcelamento do Solo determina a infraestrutura básica exigida para o parcelamento urbanístico adequado, com destaque ao Capítulo IX desta lei, que define a prática de loteadores de assentamento irregulares como crime;
- Criação de ferramentas legais como a Política Nacional do Meio Ambiente (Lei nº 6.938/81), a nova Constituição Federal em 1988 e a criação da Política Estadual de Recursos Hídricos (Lei nº 7.663/91);
- Programa Guarapiranga 1991-2000, no qual as principais ações seriam a adequação de infraestrutura nos bairros carentes, obras de manutenção e ampliação da rede de esgoto, coleta de lixo, recuperação das margens da represa, pavimentação e adequação do sistema viário;
- Lei 9.866/97 teve como objetivo a proteção e recuperação da qualidade ambiental dos mananciais para abastecimento público;
- Programa Manancial (2005) como continuidade do Programa Guarapiranga, estendendo sua aplicação a outros mananciais da RMSP. O programa visava melhorias nos padrões de ocupação urbana referente às condições mínimas de infraestrutura;
- Lei 12.233/06 é uma lei específica para a área de proteção e recuperação da Guarapiranga, onde o principal objetivo era garantir a utilização da represa para abastecimento público. Disciplinando o uso e ocupação do solo e adequação das instalações de sistema de coleta de esgoto;

Porém o poder público não conseguiu intervir na mesma velocidade com que a ocupação dessas áreas ocorreu, resultando no quadro de degradação atual (Borelli, 2006; Whately & Diniz, 2009; Bicudo, 2010; Otomo, et al., 2015).

A melhoria das condições socioambientais da Guarapiranga é urgente, uma vez que a RMSP dispõe de poucas fontes de água com qualidade e quantidade adequadas para o abastecimento público, situação que está se

tornando cada vez mais evidente nos dias atuais (Whately & Cunha, 2006; Bicudo, 2010).

### 3.2. O Sistema Endócrino e os Interferentes

O sistema endócrino é constituído por um conjunto de glândulas localizadas em diferentes áreas do corpo (FIG. 9), como a tireoide, as gônadas e as glândulas suprarrenais, e pelos hormônios por elas sintetizados, tais como a tiroxina, os estrogênios e progestagênios, a testosterona e a adrenalina (Ghiselli, 2006; Otomo, 2010; IOMC, 2013).

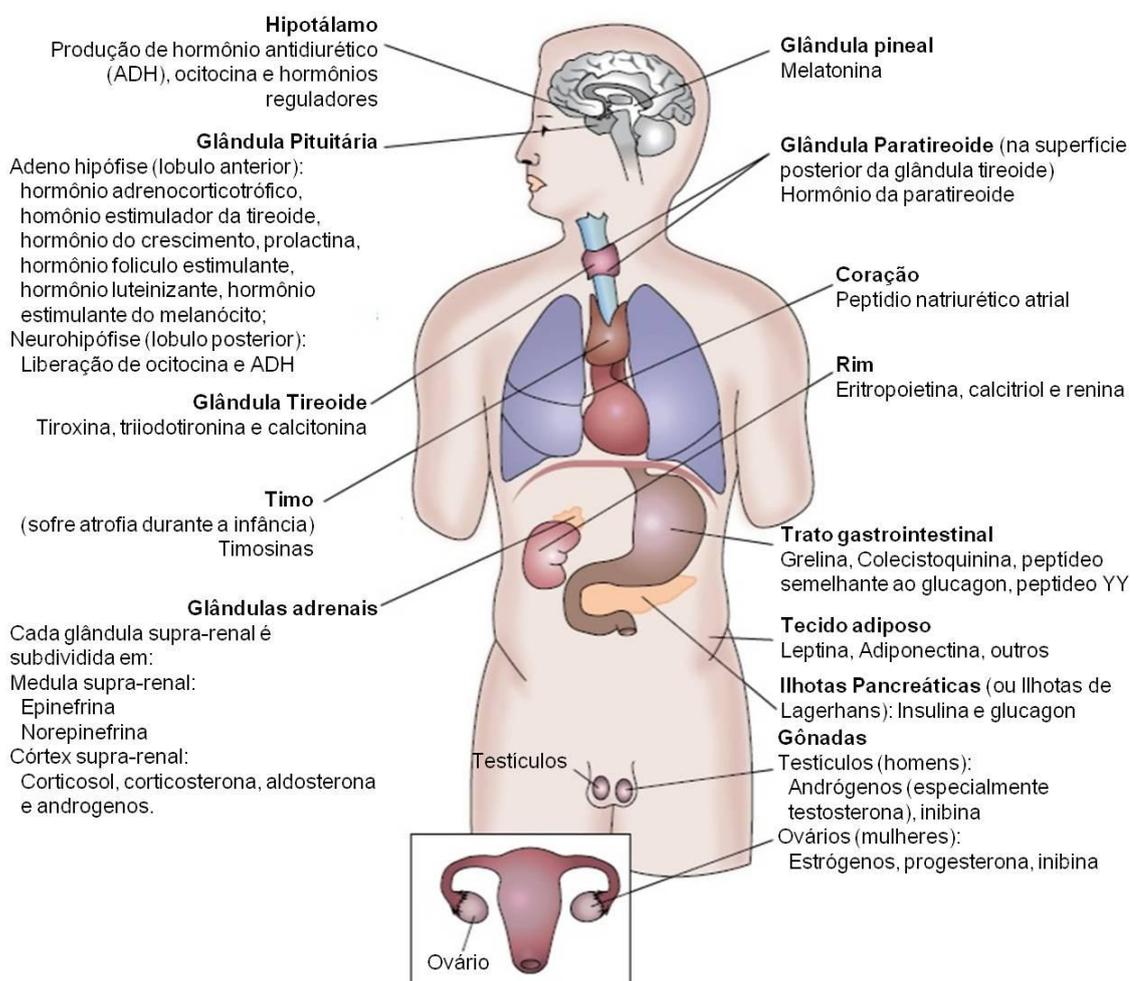


FIGURA 9. Sistema endócrino e hormônios produzidos/liberados por respectivas glândulas. Fonte: Modificado de IOMC, 2012.

Os hormônios são substâncias químicas (mensageiros) produzidas e secretadas pelas glândulas endócrinas que, quando lançadas na corrente sanguínea, coordenam o funcionamento do organismo como um todo. Controlam

principalmente as atividades de órgãos completos, níveis de composição no sangue, uso e armazenamento de energia, o crescimento e o desenvolvimento, reprodução, características sexuais entre outras funções (Ankley, 1998; Birkett & Lester, 2003; Otomo, 2010).

Os hormônios atuam durante todas as fases da vida dos seres vivos, no útero, nos primeiros estágios de desenvolvimento, na infância, puberdade, fase adulta e velhice. Para desencadear o efeito esperado, é necessária apenas uma pequena concentração do hormônio. A intensidade de sua ação depende de qual fase o hormônio atuará. Na fase adulta, o efeito dos hormônios é transitório variando com a sua presença ou ausência no organismo. Por outro lado, na fase de desenvolvimento fetal, a existência/ausência ou concentração de determinados hormônios pode causar alterações para a vida toda e ainda passar aos descendentes desse indivíduo (Lintelmann, et al., 2003; Otomo, 2010; IOMC, 2013).

Obras como “Primavera Silenciosa” de Rachel Carson publicada em 1962 e “Futuro Roubado” de Theo Colborn, publicada anos depois em 1996, associavam a exposição de animais a produtos químicos sintéticos (principalmente pesticidas) com anomalias em órgãos sexuais e problemas de reprodução observados nas espécies expostas (Otomo, 2010).

Um dos casos relatados por Colborn foi o de mulheres grávidas que, entre 1948 e 1971, foram medicadas com o estrogênio sintético dietilestilbestrol (DES) para evitar o aborto espontâneo e promover o crescimento do feto. Muitas das filhas dessas mulheres apresentaram esterilidade e, uma minoria, desenvolveu um tipo raro de câncer vaginal. Os homens adultos apresentaram maior incidência de anormalidades em seus órgãos sexuais, apresentando contagem média de espermatozoides reduzida e uma maior probabilidade de desenvolver câncer de testículos (Birkett & Lester, 2003; Reis Filho, et al., 2006; Ghiselli, 2007; Otomo, 2010). Ensaios de laboratório realizados em ratos confirmaram os efeitos causados pela exposição pré-natal ao DES, além de associarem outros estrógenos (estradiol e etinilestradiol) a mudanças similares no desenvolvimento de órgãos reprodutivos das fêmeas (Kavlock, 1996; Daston, et al., 1997; Goettlich, 2006; Otomo, 2010).

Outro estudo foi o reportado na Dinamarca, onde mais da metade dos 133 trabalhadores do sexo masculino de uma fábrica apresentaram sintomas clínicos significativos como desordens neurológicas e esterilidade, que foram relacionados às práticas inadequadas de proteção e higiene durante a produção do inseticida clordecona. Testes laboratoriais realizados com essa substância em animais mostraram efeitos semelhantes (Taylor, et al., 1978; Daston, et al., 1997; Otomo, 2010).

Estudos que evidenciaram os efeitos de substâncias que interferiam no sistema endócrino de animais relataram a ocorrência de imposex (desenvolvimento de características masculinas, como pênis e canal deferente, em fêmeas) em moluscos devido a exposição ao TBT (tributilestanho) presente em tintas anti-incrustação (Gibbs & Bryan, 1986; IPCS, 2002). Diversos estudos reportaram outros efeitos adversos, tais como: população de peixes em rios que recebiam efluentes de ETEs (Estações de Tratamento de Esgoto) (Reino Unido) detectou a produção de vitelogenina em peixes machos (Wester & Canton, 1986; CSTE, 1999); decaimento da fertilidade de ovelhas devido à presença de fitoestrógenos no pasto (Goonan, 2008); populações de jacarés do Lago Apopka (EUA) conhecido pelo seu elevado grau de contaminação por DDT, apresentaram baixa concentração de testosterona no sangue e tamanho reduzido do órgão reprodutor em estudo realizado por Guillette e colaboradores (1999) (Otomo, 2010).

Com diversas evidências de efeitos adversos que potencialmente foram causados por exposição a produtos químicos, a comunidade científica juntou esforços para elucidar essas ocorrências e conhecer os riscos aos quais os seres humanos e animais estão expostos. Em 1991, o termo interferente endócrino (IE) foi utilizado pela primeira vez para denominar as substâncias que tinha a habilidade de interagir com o sistema endócrino dos seres vivos e causar os efeitos adversos que vinham sendo relatados (Otomo, 2010).

Atualmente a definição mais difundida do termo IE (ou EDCs do inglês *Endocrine Disruptors Chemicals*) é do *World Health Organization* (WHO), utilizada em seu relatório publicado em 2002 (IPCS, 2002), define como "... uma substância ou mistura de substâncias exógenas que alteram a(s) função(ões) do

sistema endócrino e conseqüentemente causam efeitos adversos à saúde de organismos intactos, em seus descendente ou (sub)populações”.

Em outras palavras, os IEs são agentes exógenos (considerados poluentes orgânicos de importância ambiental e de interesse toxicológico) que interferem na síntese, secreção, transporte, recepção, ação, ou eliminação dos hormônios naturais do corpo, os quais são responsáveis pela manutenção da homeostase (preservação da constância interna), reprodução, desenvolvimento e comportamento (U.S.EPA, 1998; Reis Filho, et al., 2006). Segundo a Comunidade Européia, os efeitos adversos dos interferentes endócrinos são estendidos à prole dos organismos expostos.

Uma série de substâncias sintéticas é classificada como IEs: produtos farmacêuticos (antibióticos, remédios prescritos e não prescritos); produtos de higiene pessoal; agrotóxicos; antioxidantes; plastificantes; produtos industrializados; tensoativos; metabólitos de detergentes; retardantes de chama; produtos de óleo e combustão que são amplamente utilizados pela sociedade moderna. Além de substâncias naturais como os estrógenos (hormônios femininos sintéticos e naturais), esteroides de animais e plantas (IPCS, 2002; Otomo, 2010).

O consumo de produtos sintéticos que possuem na sua composição os IEs sintéticos, até mesmo os IEs excretados de forma natural pelo homem e animais estão presentes no esgoto doméstico, sendo a principal fonte de entrada no ambiente. O tratamento empregado nas estações de tratamento, tanto de água como de esgoto, não removem totalmente os IEs presentes nas águas superficiais e esgoto doméstico e industrial, que após tratamento são lançados nos corpos hídricos (Bila, 2005; Ghiselli, 2006; Reis Filho, et al., 2006; Giroto, 2007; Otomo, 2010).

O mecanismo pelo qual uma substância química interfere na ação de um hormônio tem um grande impacto no efeito resultante que seria esperado pela ação natural deste hormônio (sem a interferência). Os IEs podem agir diretamente nos receptores de hormônios ou em proteínas que controlam o transporte do hormônio a sua célula ou tecido alvo, causando efeito também sobre o tempo em que este processo é necessário. Deste modo, o interferente pode bloquear a

síntese de um hormônio resultando no aumento ou diminuição da concentração na corrente sanguínea, pela mimetização, estimulação, ou inibição da produção do mesmo (Kavlock, 1996; Birkett & Lester, 2003; Lintelmann, et al., 2003; Zagatto & Bertolotti, 2006; Goettlich, 2006; IOMC, 2013). O desequilíbrio resultante dessa ação se assemelha a situação na qual a mudança de concentração de hormônio no sangue é causada por uma doença ou defeito genético no qual a síntese de hormônio é inibida ou estimulada (IOMC, 2013).

Produtos químicos presentes no meio ambiente podem exercer atividade como IE em vários modos de ação como estrogênico, androgênico ou tireoidiano. Estrogênios são esteroides hormonais que regulam e sustentam o desenvolvimento sexual feminino e suas funções reprodutivas. Androgênios são esteroides hormonais responsáveis pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas. E os tireoidianos são responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento de órgão e tecidos (Birkett & Lester, 2003; Lintelmann, et al., 2003; Nunes, 2003). Alguns IEs podem agir simultaneamente em vários receptores de hormônio (IOMC, 2013).

Os IEs podem agir em conjunto produzindo um efeito combinado mesmo quando misturados em concentrações individuais baixas. A extensão do efeito combinado é governada pelo número total de IEs na mistura e a sua potência individual. A afinidade de um IE com um receptor não é equivalente à sua potência, sendo esta dependente de vários fatores, inclusive da abundância do receptor (IOMC, 2012).

Os estudos citados anteriormente referem-se, em sua maioria, a exposição acidental por concentrações elevadas. Assim, a comunidade científica de diversos países se empenhou em avaliar se a exposição diária aos diversos produtos que possuem em sua composição substâncias com essa habilidade, poderiam também causar efeitos adversos nos seres humanos e animais (Alves, 2007; IOMC, 2013).

A WHO em 2002 publicou o relatório “*Global Assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors*” (IPCS, 2002), que foi uma compilação de vários estudos sobre o modo de ação e evidências dos efeitos dos IEs, que já

associavam essa exposição diária a diversas doenças relacionadas ao sistema endócrino.

Em 2013, novamente a WHO publicou um relatório atualizando o publicado em 2002, sob o título “*State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012*” (IOMC, 2013). Este relatório fez uma compilação de diversos estudos que identificaram uma série de doenças relacionadas diretamente ao sistema endócrino associando à exposição aos IEs. Através de estudos epidemiológicos observou-se um aumento na incidência de algumas doenças em seres humanos nas últimas décadas, sendo: síndrome do ovário policístico; fibrose uterina, endometriose, mulheres com dificuldade de engravidar e manter a gravidez, nascimento e puberdade prematura, câncer nas células germinativas do testículo, criptorquidismo congênito, hipospádia, alteração na qualidade do sêmen e síndrome da disgenesia testicular (IOMC, 2013).

A hipótese de que essas doenças estejam relacionadas à exposição dos seres humanos aos IEs tem grande relevância uma vez que o uso de produtos (farmacêuticos, de higiene pessoal, inseticidas e produtos industrializados) que possuem em sua formulação essas substâncias é de uso diário na sociedade moderna. Além de o homem estar exposto as mesmas substâncias que os animais nos quais foram observados efeitos adversos. Entretanto a grande dificuldade é identificar por meio de estudos com animais, todas as substâncias e misturas dessas substâncias capazes de causar esses efeitos adversos, pois os mecanismos pelos quais ocorre a interferência dos IEs nos receptores de hormônios são complexos e nem sempre são reprodutíveis entre espécies diferentes (Alves, 2007; IOMC, 2013).

Poucos estudos têm sido realizados com relação a desenvolvimento das mamas e puberdade precoce, fibrose, endometriose e infertilidade e poucos IEs foram investigados (IOMC, 2013).

Na TAB. 3 são apresentadas as ocorrências reportadas na literatura (segundo o relatório da IOMC de 2013) sobre doenças relacionadas ao sistema endócrino em animais e que são fortemente associadas à exposição de animais aos IEs. Essas evidências levaram os cientistas a associar as doenças no ser humano.

TABELA 3. Evidências de doenças relacionadas ao sistema endócrino associadas à exposição aos IEs observadas em animais

Sistema reprodutivo feminino	Sistema reprodutivo masculino
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Declínio na população de focas do Báltico durante a década de 50 devido à contaminação por organoclorados;</li> <li>• Declínio na população de jacarés jovens expostos a pesticidas clorados;</li> <li>• Desregulação endócrina reprodutiva em espécies de pássaros relacionadas a altas concentrações de POPs;</li> <li>• Fecundidade reduzida, alteração do tempo de maturidade sexual e reprodução e atresia prematura em populações de peixes de rios que recebem efluentes de ETEs;</li> <li>• Masculinização de cobras fêmeas expostas a tributiltin.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Criptorquidismo, infertilidade e má formação da galhada nos veados associados à exposição de produtos químicos presentes no ambiente;</li> <li>• Redução de testosterona no sangue e tamanho dos testículos em ursos polares associado a concentrações de POPs nos tecidos desses animais;</li> <li>• Redução do tamanho do pênis, mudança na estrutura dos testículos e diminuição na concentração de testosterona em jacarés americanos expostos a altas concentrações de pesticidas (Lago Apopka);</li> <li>• Desenvolvimento de tecido ovariano em testículos de pássaros machos associado as concentrações de PCBs e dioxinas em ovos em desenvolvimento;</li> <li>• Relação da taxa de EDC e diminuição no nível de testosterona em ovos de aves selvagens;</li> <li>• Intersex em várias espécies de rãs e sapos por causa da exposição a diversos pesticidas de áreas agrícolas;</li> <li>• Feminização de peixes machos que habitam nas proximidades de ETEs em diferentes regiões do planeta, espécies de peixes e habitats;</li> <li>• Intersex em bivalves de estuário no Reino Unido associado à exposição a EDCs.</li> </ul>

A incidência de diversos tipos de câncer relacionados ao sistema endócrino (mama, endométrio, ovário, próstata, testículo e tireoide) de humanos também tem aumentado em diversos países. Esses tipos de câncer não são totalmente explicáveis por fatores genéticos, sendo considerados fatores

ambientais como exposição a produtos químicos. Mas devido à complexidade dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento desses tipos de câncer, os resultados obtidos nos testes com animais não podem ser garantidos com segurança, estando mais evidenciado por estudos epidemiológicos.

O sistema endócrino deixou de ser o foco exclusivo de estudos sobre os efeitos adversos dos IEs, também foram identificadas outras doenças e desordens observadas em outros sistemas do corpo humano e animal, tais como:

- Evidências sugerem que os IEs podem interferir com o neurodesenvolvimento afetando o desenvolvimento cognitivo e comportamento sexual de animais e humanos. Como exposição à PCBs (bifenilas policloradas) durante o desenvolvimento fetal está ligado à deficiência cognitiva, alteração no dimorfismo sexual;
- Desequilíbrio na razão de gêneros é associado à exposição a IEs (efluentes com concentrações de estrogênios, dioxinas e dibromocloropropano) em espécies de animais. Em estudos de exposição ocupacional em países industrializados, os resultados são plausíveis para que esse desequilíbrio ocorra com a espécie humana;
- Desordens ósseas – poucas evidências, em sua maioria consistem em dados epidemiológicos;
- Desordens metabólicas – Estudos epidemiológicos indicam um aumento de doenças metabólicas como obesidade e diabetes tipo 2 que foram associadas à exposição a IEs durante o desenvolvimento;
- Desregulação endócrina e função, desordens e doenças do sistema imunológico em humanos e animais.

Na TAB. 4 são apresentadas as ocorrências reportadas na literatura (IOMC, 2013) sobre doenças relacionadas a outros sistemas do corpo de animais e que são fortemente associadas à exposição de animais aos IEs.

TABELA 4. Evidências de doenças relacionadas a outros sistemas do corpo associada à exposição aos IEs observadas em animais

Doenças e desordens relacionadas a tireoide	Declínio de população em algumas espécies animais
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relação entre taxa de POPs no corpo e efeitos relacionados à tireoide em mamíferos marinhos (foca, baleia, leão marinho, botos e urso polar);</li> <li>• Significantes desregulação na tireoide em estudos com pássaros dos Grandes lagos, Mar Barents e Baía de Tóquio são relacionados aos IEs;</li> <li>• Desregulação da tireoide em peixes da família do salmão em regiões altamente poluídas do Grandes lagos foi documentado nos anos 70 e 80. Mais recentemente em peixes mummichogs em Baía de Nova Jérсия e São Francisco.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O uso de TBT nos anos 70 a 90 resultou no declínio da população de caramujos devido ao imposex nas fêmeas, afetando a reprodução da espécie. E significativa recuperação dessa população após o uso desse produto ser banido;</li> <li>• Aumento a exposição de DDE (subproduto do DDT) causou afinamento da casca do ovo de pássaros impossibilitando o sucesso na reprodução. Após o uso de DDT ser banido nos EUA em 1972, a população de águia marinha passou de 8000 em 1981 para 19000 em 2001;</li> <li>• Alta incidência de intersex em peixes de rios que recebem efluentes de ETÉs que contem estrogênios e androgênios;</li> </ul>
Desregulação na sinalização do hormônio adrenal	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relação entre desordem adrenocortical e exposição a EDCs (PCBs e DDT) em focas do Mar Báltico que causou o declínio da população nos anos 70;</li> <li>• Recuperação da população das focas no Mar Báltico após redução da exposição a PCBs e DDT;</li> <li>• Urso polares do Ártico mostraram alteração no eixo HPA (hipotálamo-hipófise adrenal), que foi associada a contração de organoclorados no sangue.</li> </ul>	Desordem metabólica
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fibropapiloma em tartarugas marinhas é uma doenças emergentes desde a década de 80;</li> <li>• Neoplasia em mariscos aumentou nos anos 80.</li> </ul>

Apesar de todos os esforços mencionados, há evidências limitadas e conflitantes no meio científico devido à ausência de estudos mais específicos quanto ao tipo de doença e substância causadora da mesma. Mais estudos ainda devem ser conduzidos a fim de elucidar essas questões (IOMC, 2013).

### 3.3. Características dos Compostos Estudados

No Quadro 1 estão apresentados os detalhes sobre aplicação, matrizes nas quais são encontrados e modo como são disponibilizados no ambiente cada um dos compostos estudados neste trabalho.

**Quadro 1.** Aplicação, matriz onde são encontrados e forma de disposição no ambiente de cada composto estudado.

Composto	Aplicação	Matrizes	Forma de entrada no ambiente
Dietilftalato e Dibutilftalato	Medicamentos, cosméticos (perfumes e esmaltes) e produtos de cuidado pessoais (xampus e loções). O DEP pode ainda ser utilizado como álcool desnaturante, o DBP tem aplicação em tintas para impressoras e adesivos	Amostras de água, solo, ar, alimentos e fluidos corporais	Principalmente industrial, seja durante a manufatura ou decorrente de esgotos não tratados ou efluentes de ETEs.
Nonilfenol	Resinas fenólicas, aditivos plásticos, detergentes, emulsificantes, dispersantes, agentes solubilizadores, formulações de pesticidas, óleos lubrificantes, até mesmo como espermicida em produtos contraceptivos	Amostras de águas superficiais e amostras biológicas	Sua principal fonte no ambiente está relacionada à degradação de NPEs (nonilfenol etoxilado) em ETEs que utilizam o tratamento biológico convencional.
Bisfenol A	Resinas epóxi e policarbonato para revestimento de latas de alimentos, embalagens para fármaco, adesivos e selantes dentários, produtos eletroeletrônicos, equipamentos automotivos, discos compactos, embalagens para alimentos e equipamentos médicos e laboratoriais	Amostras de ar, água, sedimento e solo.	Podem ser pontuais (direta) como em acidentes com derramamento da substância ou em descarga de efluentes de indústrias fabricantes, ou difusas (indiretas), no caso do BPA, pela lixiviação de produtos finais que o contenham
Pentaclorofenol	Preservante de madeira e biocida, sabonetes bactericidas, produtos de cuidados dentários, como desinfetante doméstico e hospitalar	Amostras biológicas e ambientais	
Estrona Estradiol Androstano Progesterona	Hormônios naturais	Amostras biológicas e ambientais	Efluente doméstico e de estações de tratamento de esgoto; excretas de animais
Etinilestradiol	Hormônio sintético usado na confecção de contraceptivos		Efluente doméstico

## CONTINUAÇÃO: Quadro 1.

Coprostanol	Esteroides naturais de origem animal, plantas e fungos	Amostras ambientais	Efluente doméstico
Colestanol			Efluente doméstico e pecuário; ocorre naturalmente no ambiente
Estigmasterol			
Colesterol			

Fonte: Raimundo (2007), Otomo (2010), Souza (2011) e Oliveira (2012).

Especialistas relatam que para um diagnóstico ambiental completo, além da coluna d'água, deve-se avaliar o sedimento, pois neste compartimento ocorre o acúmulo e troca de contaminantes tóxicos com a água e a biota. Deste modo, este compartimento passou a ser visto como um ambiente de potencial e contínua degradação ambiental mesmo quando os níveis de contaminação na coluna d'água estão dentro dos padrões de qualidade da água (CCME, 2001; Bila, 2005; Araújo, 2006).

Organismos que vivem no sedimento são capazes de reciclar e bioacumular xenobióticos ligados a ele (Farrington, 1991; Scott, et al., 2006). Em estudo realizado por Rubenstein e colaboradores (1984), demonstrou que peixes que viviam em sedimento contaminado por PCB e alimentados por poliquetas desse mesmo ambiente apresentaram concentração de PCB no corpo duas vezes superior a peixes que viviam no mesmo local, mas que foram alimentados com poliquetas de outra área, livre de contaminação. Outro estudo, realizado pelo grupo de pesquisa EDMAR (*Endocrine disruption in marine environment*) (2002), do Reino Unido, mostrou que linguados mantidos em estuário contaminado com estrógenos não apresentaram indução de vitelogenina (VTG), enquanto que linguados mantidos em laboratório e alimentados com caramujos desse estuário apresentaram indução de VTG (Rubenstein, et al., 1984; EDMAR, 2002; Scott, et al., 2006).

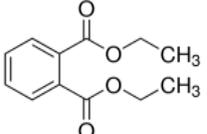
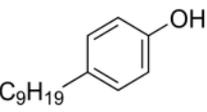
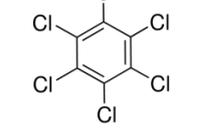
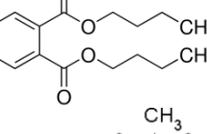
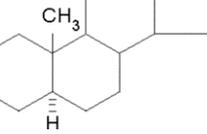
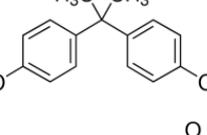
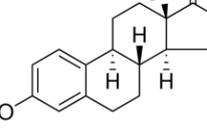
As diferentes características físico-químicas dos IEs indicam que essas substâncias possuem diferentes formas de degradação e comportamento no ambiente. A maioria das substâncias consideradas interferentes endócrinos, como os fenóis e esteroides, por exemplo, tem maior afinidade com sedimento e a biota, pois apresentam baixa solubilidade em água e elevado coeficiente de partição octanol/água ( $\log K_{ow}$ ) (Birkett & Lester, 2003; Loureiro, 2002; Peng, et al., 2006).

O conhecimento dessas características auxilia a prever seu transporte no meio e onde elas estarão presentes em maior concentração (Bila, 2005; Reis Filho, et al., 2006).

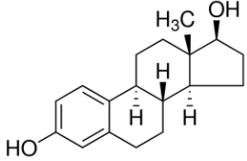
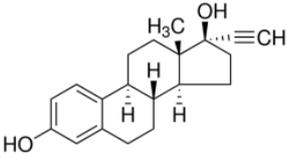
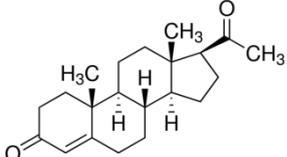
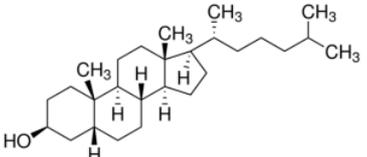
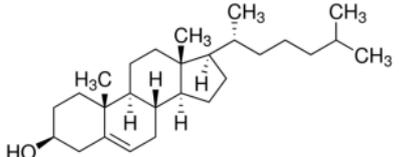
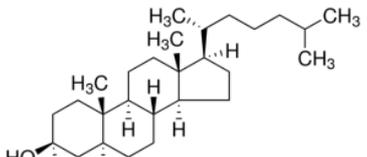
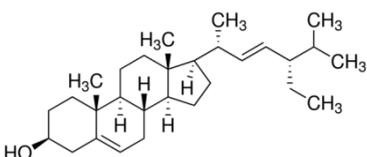
Outros processos de transformação de substâncias químicas no ambiente são hidrólise, oxidação e reações fotoquímicas. Os principais fatores abióticos que influenciam o processo de degradação são a temperatura, aumento da radiação solar e condições anaeróbicas, portanto é provável que a velocidade de degradação seja mais rápida sob essas condições (IPCS, 2002; Otomo, 2010).

Na TAB. 5 estão apresentadas a fórmula estrutural, peso molecular, solubilidade e log  $K_{ow}$  de cada composto estudado neste trabalho.

TABELA 5. Características físico-químicas dos compostos estudados.

Composto	Fórmula estrutural	Peso Molecular (g mol <sup>-1</sup> )	Solubilidade em água (mg L <sup>-1</sup> )	(log $K_{ow}$ )
Dietilftalato		222,24	1100 <sup>1</sup> (T°C n.d.)	2,38 <sup>1</sup>
Nonilfenol		220,35	5,43 <sup>2</sup> (20°C)	4,48 <sup>2</sup>
Pentaclorofenol		266,34	14 <sup>3</sup> (20°C)	5,05 <sup>3</sup>
Dibutilftalato		278,34	11,2 <sup>1</sup> (T°C n.d.)	4,45 <sup>1</sup>
Androstano		260,46	1,25x10 <sup>-2(4)</sup> (25°C)	6,65 <sup>4</sup>
Bisfenol A		228,29	301 <sup>5</sup> (T°C n.d.)	3,4 <sup>5</sup>
Estrona		270,37	30 <sup>6</sup> (T°C n.d.)	3,13 <sup>6</sup>

CONTINUAÇÃO: TABELA 5

Estradiol		272,38	3,6 <sup>6</sup> (T°C n.d.)	4,01 <sup>6</sup>
Etinilestradiol		296,40	11,3 <sup>6</sup> (T°C n.d.)	3,67 <sup>6</sup>
Progesterona		314,46	8,81 <sup>8</sup> (25°C)	3,87 <sup>7,8</sup>
Coprostanol		388,67	3,4×10 <sup>-4(4)</sup> (25°C)	6-8 <sup>9</sup>
Colesterol		386,65	4,13×10 <sup>-4(4)</sup> (25°C)	8,74 <sup>10,4</sup>
Colestanol		388,67	3,4×10 <sup>-4(4)</sup> (25°C)	8,82 <sup>4</sup>
Estigmasterol		412,67	7,3×10 <sup>-5(4)</sup> (25°C)	9,43 <sup>10,4</sup>

n.e.= não especificado

<sup>1</sup> (Staples, et al., 1997); <sup>2</sup> (Ying, et al., 2002); <sup>3</sup> (U.S.EPA, 2008); <sup>4</sup> (Chemspider, 2015); <sup>5</sup> (Oehlmann, et al., 2008); <sup>6</sup> (U.S.EPA, 2009); <sup>7</sup> (Westerhoff, et al., 2005); <sup>8</sup> (OEHA, 2004); <sup>9</sup> (Maldonado, et al., 1999); <sup>10</sup> (Elkins & Mullis, 2006);

Os valores de log K<sub>ow</sub> apresentados na tabela indicam que muitos dos compostos avaliados neste trabalho possuem mais afinidade com o material sólido que com a água, assim a avaliação conjunta do sedimento superficial tornou-se importante de ser realizada.

Para a maioria dos compostos analisados neste trabalho, não há legislação que estabeleça valores máximos permissíveis (VMP) em águas

superficiais ou sedimento. No Brasil, o único composto estudado neste trabalho, que possui VMP estabelecido pelo CONAMA 357/05 é o pentaclorofenol. Na TAB. 6 estão relacionadas as legislações existentes em outros países para ftalatos, nonilfenol e pentaclorofenol.

TABELA 6. Valores Máximos Permissíveis (VMP -  $\text{ng L}^{-1}$ ) de alguns dos compostos estudados, em legislação brasileira e de outros países.

Composto	União Européia <sup>1</sup>	Canadá <sup>2</sup>	USA <sup>3</sup>	Brasil <sup>4</sup>	Austrália <sup>5</sup>
Di(2-etilhexil)ftalato (DEHP)	1300	16000	-	-	-
Dibutilftalato		19000	-	-	-
Nonilfenol	2000	1000	28000 <sup>6</sup> /6600 <sup>7</sup>	-	-
Pentaclorofenol	1000	500	19000 <sup>6</sup> /15000 <sup>7</sup>	9000 <sup>8</sup>	10000

<sup>1</sup> Diretiva 2008/105/EC (EC, 2008)

<sup>2</sup> Canadian Council of Ministers of the Environment (CCME, 2015)

<sup>3</sup> National Recommended Water Quality Criteria (U.S.EPA, 2015)

<sup>4</sup> Conselho Nacional do Meio Ambiente (Brasil, 2005)

<sup>5</sup> Guidelines for Managing Risks in Recreational Water (NHMRC, 2008)

<sup>6</sup> CMC - Criteria Maximum Concentration

<sup>7</sup> CCC - Criterion Continuous Concentration

<sup>8</sup> águas doces classe 1, 2 e 3.

Para outros compostos que não foram incluídos em nenhuma legislação, existem estudos que indicam a concentração na qual esses compostos podem vir a causar um efeito adverso a biota. No caso do BPA, as concentrações sem efeito previsível (PNEC, *Predicted No Effect Concentrations*) para organismos aquáticos adotadas pela EU foi de  $1500 \text{ ng L}^{-1}$ ,  $175 \text{ ng L}^{-1}$  pelo Canadá e  $1600 \text{ ng L}^{-1}$  pelo Japão (U.S.EPA, 2010).

Para o Etinilestradiol, Fenske et al. (2005) demonstraram que uma concentração de  $3 \text{ ng L}^{-1}$  do composto causa feminização de zebrafish expostos desde o início do ciclo de vida, causando inibição da população. E para uma concentração um pouco menor, de  $1,67 \text{ ng L}^{-1}$ , induz a produção de vitelogenina em machos (Fenske, et al., 2001; Fenske, et al., 2005).

Para sedimento, no Brasil, a resolução do CONAMA 460/13 e a CETESB pela Decisão de Diretoria N° 195-2005- E dispõe sobre critérios e valores orientadores apenas referente a qualidade do solo para pentaclorofenol ( $160 \text{ ng g}^{-1}$ ), dietilhexilftalato ( $600 \text{ ng g}^{-1}$ ) e dibutilftalato ( $700 \text{ ng g}^{-1}$ ). O Guia canadense sobre qualidade do sedimento para proteção da vida aquática

estabelece uma “concentração limite provisória” (ISQG – *Interim sediment quality guideline*) para o nonilfenol de 1400 ng g<sup>-1</sup>. Para os outros compostos estudados neste trabalho não há informação disponível para ISQG, TEL ou PEL (TEL – *Threshold Effect Level*; PEL – *Predicted Effect Level*) (EC, 2008). Entretanto, no Guia canadense sobre qualidade do solo para proteção ambiental e saúde humana, são estabelecidas concentrações de 5700 ng g<sup>-1</sup> para nonilfenol e 7600 ng g<sup>-1</sup> para pentaclorofenol estabelecidas (CCME, 2002).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Reagentes e Soluções

- Água ultrapura (tipo 1) de baixa condutância;
- Metanol (MeOH), Diclorometano (DCM), Hexano (Hex), Acetonitrila (ACN) e Acetona (Acet);
- Membranas filtrantes com porosidade de 0,45 µm;
- Cartucho de extração em fase sólida preenchido com octadecil - C<sub>18</sub>;
- Padrões de referência com certificado de pureza dos compostos: dietilftalato (DEP), dibutilftalato (DBP), nonilfenol (NP), bisfenol A (BPA), pentaclorofenol (PCP), androstano (AND), estrona (E1), estradiol (E2), etinilestradiol (EE2), progesterona (PROG), coprostanol (COP), colesterol (CHOE), colestanol (CHOA) e estigmasterol (STIG);
- Reagente derivatizante BSTFA/TMCS – v/v 99:1 (N,O-bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida/ trimetilclorosilano);
- Solução de Nitro sulfônica.

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico, cromatográfico ou compatível. Para as curvas analíticas e desenvolvimento da metodologia foram utilizados padrões analíticos de procedência *Aldrich Chemical Co.*

### 4.2. Equipamentos

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Cromatógrafo a gás, Shimadzu – 17A, acoplado ao detector de espectrometria de massas, Shimadzu - QP 5000; microprocessador de dados equipado com o programa GCMS Solution, *Shimadzu*;
- Cromatógrafo a gás, Shimadzu – GC 2010 Plus, acoplado ao detector de espectrometria de massas, Shimadzu - QP 2010 SE, microprocessador de dados equipado com o programa GCMS Solution, *Shimadzu*; injetor automático AOC-20i;
- Sistema de filtração Sartorius a vácuo;

- Sistema de extração em fase sólida, desenvolvido nos laboratórios do CQMA;
- Ultra Purificador de água - Gehaka;
- Centrífuga - Solumix;
- Liofilizador – Enterprise II;
- Banho de ultrassom – Limp Sonic;
- Shaker – Marconi;
- Roto evaporador - Fisatom.

### **4.3. Desenvolvimento Experimental**

A rede de amostragem na represa Guarapiranga foi determinada visando avaliar a influência dos tributários considerados mais importantes (Embu-Mirim e Embu-Guaçu) e conhecer a influência das sub-bacias na qualidade da água da represa quanto à presença dos compostos estudados. A seleção dos pontos de coleta das amostras de água superficial e de sedimento foi realizada com a participação dos representantes do Centro de Integração e Gerenciamento de Informações da Coordenadoria de Planejamento Ambiental da Secretaria do Meio Ambiente (SMA), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) e do Instituto de Botânica. Assim, foram selecionados 14 (quatorze) pontos para amostragem, sendo que 3 (três) destes são pontos de monitoramento da SABESP e quatro são monitorados pela CETESB. As coordenadas geográficas e a profundidade da coluna d'água em cada ponto de amostragem (medidos nas coletas de agosto/2011, setembro/2012 e outubro/2014) são apresentadas na TAB. 7 e podem ser visualizadas na FIG. 10, juntamente com os principais tributários.

TABELA 7. Descrição dos pontos de coleta de amostras de água e sedimento, coordenadas geográficas e registros e observações realizadas pela equipe de coleta (\*ponto de monitoramento da Sabesp).

Local de amostragem	Coordenadas	Profundidade da coluna d'água (m)			Observações (março de 2011)
		Ago/11	Set/12	Out/14	
GU000-01	23°46'49,6"S 46°47'22,0"W	0,90	2,60	0,60	Influência do rio Embu-Guaçu. Local mais protegido com duas espécies de macrófitas.
GU000-02	23°45'29,5"S 46°46'18,7"W	2,59	3,35	2,00	Influência do Córrego Mombaça (esgoto) Urbanização desordenada. Com bolhas de gás na superfície.
GU000-03	23° 44'52'2"S 46°46'13'6"W	3,00	4,00	2,00	Com cheiro de esgoto e banco de Salvinia.
GU106-04	23°44'44,6"S 46°45.25,8"W	5,00	5,50	2,70	Próximo à estação de monitoramento em tempo real da Sabesp.
GU000-05	23°44'57,5"S 46°44.24,2"W	6,20	5,00	4,80	Entre a Ilha da Formiga e o Solo Sagrado.
GU107-06*	23°45.01,2"S 46°43.61,5"W	2,80	4,00	1,40	Várzea da Transposição do Taquacetuba.
GU108-07	23°43.64,7"S 46°43.42,3"W	2,20	4,90	3,10	Entre a saída do Córrego Tanquinho e o Córrego São José.
GU000-08	23°42'96,9"S 46°43'61,2"W	5,00	8,00	6,60	Floração de cianobactérias (Dia ensolarado).
GU109-09	23°43'04,6"S 46°43'34,0"W	7,50	4,00	3,70	Próximo a saída do Rio das Pedras e Rio Bonito. Apresentava uma floração.
GU105-10	43°42'89,9"S 46°44'68,7"W	4,97	5,50	3,90	Ponto que sofre influência do Rio Embu-Mirim. Cianobactérias. Entre a antena e o Heliporto.
GU108-11*	23°42'53,4"S 46°43'44,9"W	9,00	9,60	7,30	Ponto próximo ao Córrego sem nome.
GU103-12	23°41'88,5"S 46°44'67,3"W	3,00	3,90	1,30	Próximo as saídas do Córrego Itupu e do Ribeirão Guavirutuba. Cheiro forte de esgoto próximo à estação de remoção de nutrientes.
GU102-13	23°41'58,0"S 46°43'57,3"W	9,30	9,90	8,20	Cheiro forte. Ponto com aplicação de Algicida.
GU000-14*	23°40'78,2"S 46°43'55,9"W	8,70	8,85	7,80	Em frente à captação de água. Entre o late Clube e o começo do parque Guarapiranga. Pode ter sofrido influência da aplicação de algicida. Algas com aparência esbranquiçada.

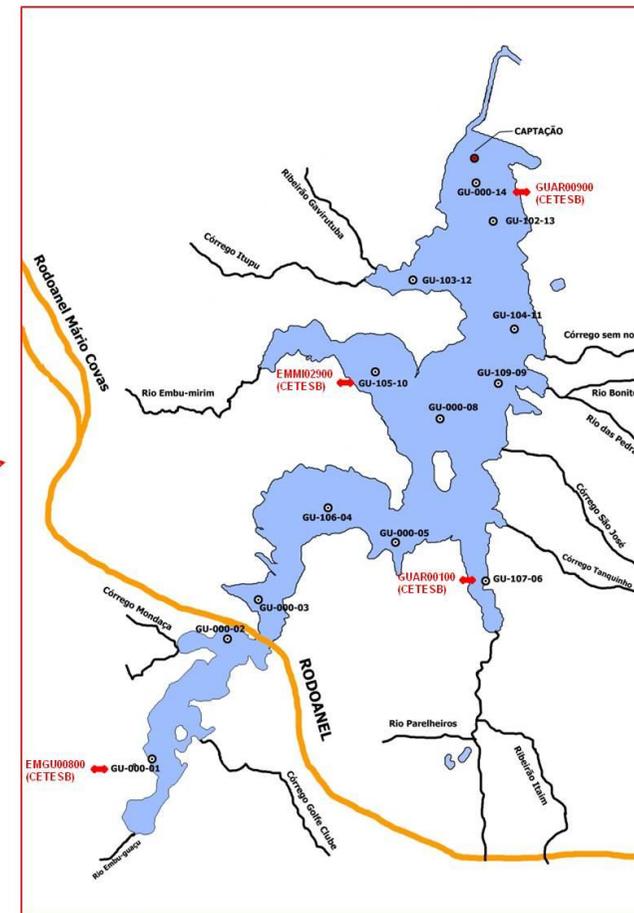
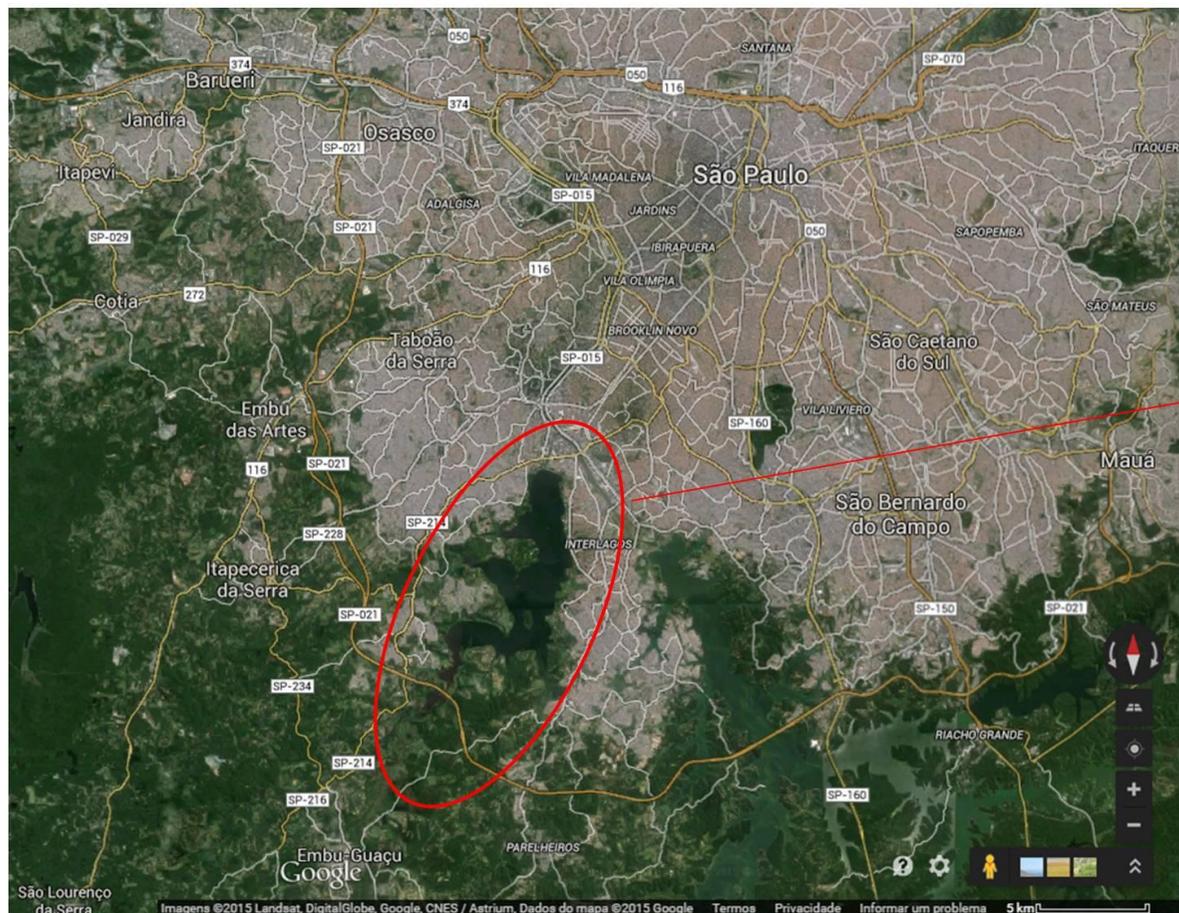


FIGURA 10. Localização da represa Guarapiranga na RMSP e rede de amostragem estudado e localização dos pontos monitorados pela CETESB (à direita).

Fonte: Adaptado de Googlemaps

As coletas das amostras de água e de sedimento foram realizadas conforme recomendação do guia de coletas da CETESB & ANA (2011). Em cada coleta, foram amostrados de 4 a 8 litros de amostras de água, bem como cerca de 800 g de sedimento em cada ponto. A amostragem da água superficial foi realizada a 10 cm da superfície utilizando garrafa de van Dorn, como mostra a FIG. 11 e as amostras de sedimento foram coletadas com um amostrador de sedimento tubular de gravidade (tipo Kajak), ilustrado na FIG. 12. As amostras foram reservadas em frasco de vidro âmbar e mantidas refrigeradas em campo até chegada ao laboratório.



FIGURA 11. Amostragem de água superficial com garrafa de van Dorn na coleta de setembro de 2012.

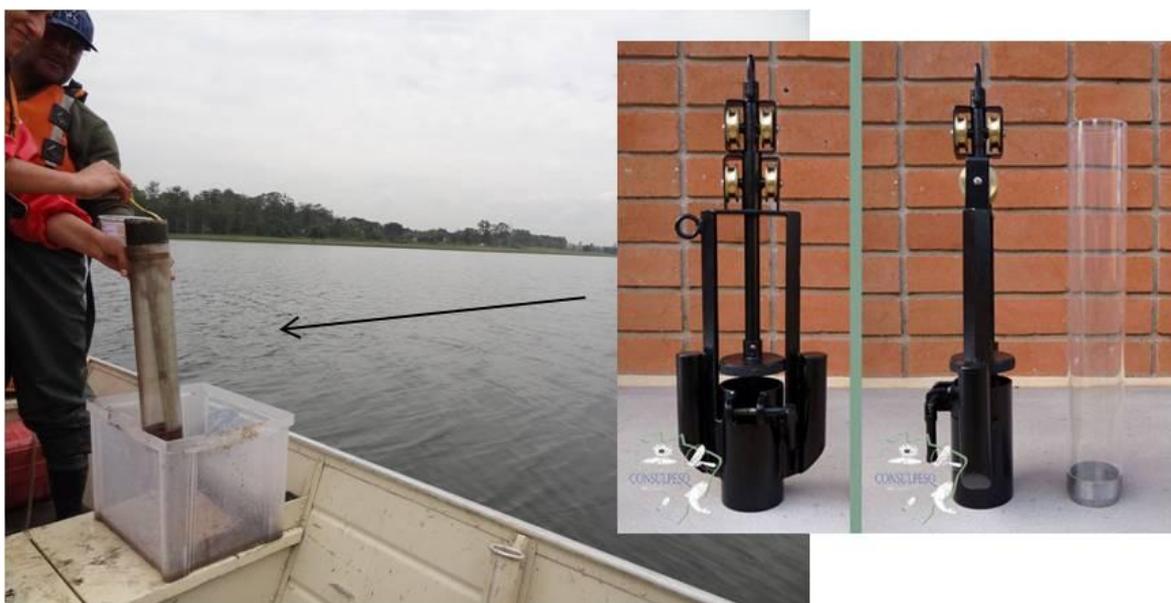


FIGURA 12. Amostragem de sedimento em outubro de 2014 e amostrador de sedimento tubular de gravidade (tipo Kajak) em detalhe.

Fonte: Ilustração do amostrador <[http://www.consulpesq.com.br/figuras/amostrador\\_kajak.html](http://www.consulpesq.com.br/figuras/amostrador_kajak.html)>.

As coletas das amostras de água foram realizadas em períodos seco e chuvoso, com auxílio da equipe e embarcação da SABESP. Foram realizadas 02 (duas) coletas em 2011, sendo uma no período chuvoso (março) e outra no período seco (agosto); 01 (uma) coleta em 2012 no período seco (setembro) e 01 (uma) coleta realizada em 2014, período seco (outubro). Ressaltando que este último (outubro de 2014) foi um período atípico de extrema estiagem como pode ser observado no gráfico da FIG. 13, dentre as quatro campanhas de coleta realizadas, outubro de 2014 apresentou a menor pluviometria.

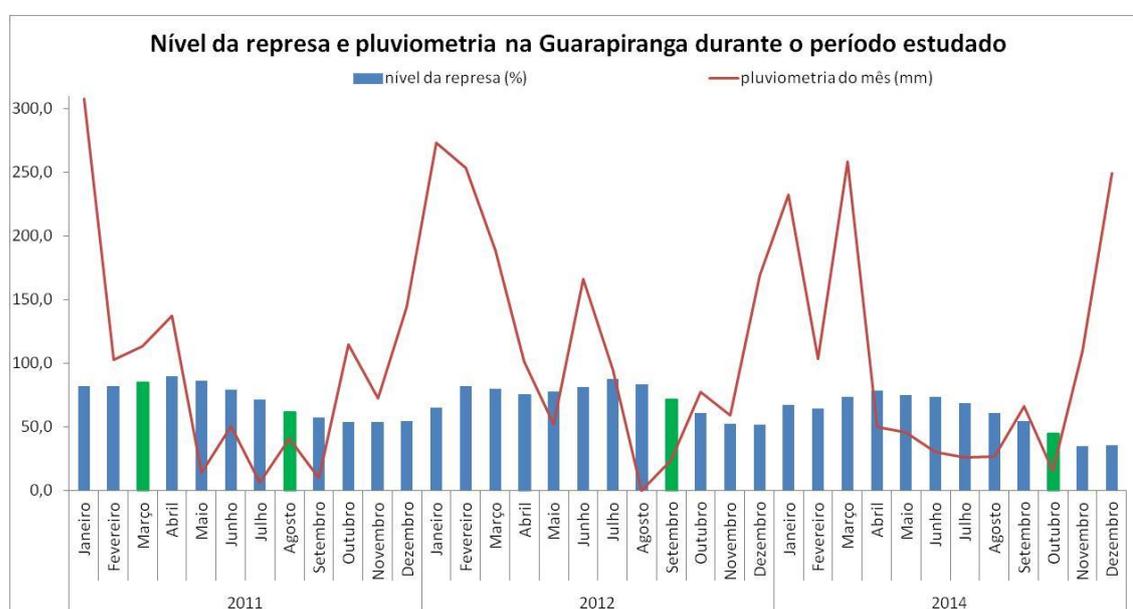


FIGURA 13. Registros mensais do nível da represa Guarapiranga e acúmulo de chuvas (pluviometria) durante 2011, 2012 e 2014, com destaque (em verde) dos meses em que foram realizadas as coletas.

Fonte: Dados obtidos no site da SABESP

<<http://www2.sabesp.com.br/mananciais/DivulgacaoSiteSabesp.aspx>>.

As coletas das amostras de sedimento foram realizadas nos mesmos pontos das amostras de água superficial, porém foram realizadas somente em dois períodos, agosto de 2011 e outubro de 2014. A TAB. 8 apresenta uma síntese dos compartimentos amostrados e respectivos períodos.

TABELA 8. Síntese do programa de amostragem e do compartimento amostrado realizado na represa Guarapiranga.

Compartimento amostrado	Programa de amostragem (mês/ano)			
	mar/11	Ago/11	Set/12	Out/14
Água superficial	X	X	X	X
Sedimento	-	X	---	X*

\* Sedimento coletado somente nos pontos G000-01, G000-08 e G109-09.

#### 4.4. Procedimento de Preparação e Extração das Amostras de Água

O procedimento de preparação das amostras de água para análise cromatográfica dos compostos de interesse foi otimizado com base nos trabalhos de Otomo (2010), Souza (2011) e Oliveira (2012). Inicialmente a amostra foi filtrada em sistema de filtração a vácuo, utilizando membranas de 0,45  $\mu\text{m}$ , para retenção de sólidos suspensos presentes. Após a filtração, a amostra foi acidificada com solução de ácido clorídrico diluído em água na proporção de 1:1 (v/v) até pH 3 para posterior extração em fase sólida. Os cartuchos utilizados na extração ( $\text{C}_{18}$ ), foram condicionados com 5 mL de MeOH, seguido de 5 mL de MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  ultrapura em pH 3 (1:9 v/v). Um volume de 1 L de amostra foi percolado no cartucho a um fluxo de aproximadamente 6 mL  $\text{min}^{-1}$ . Após a percolação completa, o cartucho foi lavado com 5 mL de MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  ultrapura (1:9 v/v) para remoção de possíveis interferentes da matriz, levado à centrífuga por 20 minutos a 2500 rpm (rotações por minuto) para completa remoção da água no cartucho.

A etapa de eluição foi realizada duas vezes, em sequência, com 5 mL de DCM/MeOH (6:4 v/v). A solução resultante foi transferida com o auxílio de pipeta para um vial (volume de 2 mL) e evaporada por completo em fluxo suave de  $\text{N}_2$ . Por fim, ao resíduo seco no *vial* foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  do derivatizante (BSTFA/TMCS), aquecido em estufa a 100°C por 30 minutos e, após resfriado, avolumado com DCM até 1 mL. As análises cromatográficas foram realizadas no mesmo dia em que se realizou a derivatização dos analitos.

#### 4.5. Procedimento de Preparação e Extração das Amostras de Sedimento

O procedimento de extração dos compostos estudados nas amostras de sedimento foi adaptado e otimizado a partir de método desenvolvido por Hibberd et al. (2009) e Liu et al. (2004). Em um *erlenmeyer* de 125 mL foram pesados aproximadamente 2 g de sedimento previamente seco (em liofilizador) e adicionado 15 mL de acetonitrila (ACN). Essa mistura foi submetida a extração em banho de ultrassom por 25 minutos. Em seguida foram adicionados, no mesmo *erlenmeyer*, 15 mL da mistura de Hexano/Acetona (1:1 v/v), submetendo a solução ao ultrassom novamente por 25 minutos.

Após a extração, todo o conteúdo do *erlenmeyer* foi transferido para um tubo de centrifugação (tipo *falcon*) de polipropileno e centrifugado por 15 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um balão de fundo redondo e o solvente evaporado até aproximadamente 0,5 mL em roto evaporador em temperatura de 50°C. Por fim, adicionaram-se 250 mL de água ultrapura para realização da etapa de *clean-up* por SPE, seguindo o mesmo procedimento de extração das amostras de água descrito no item 4.4 desta tese.

#### **4.6. Determinação dos Compostos de Interesse por GC/MS**

Os parâmetros definidos para a análise em GC foram também baseados nos trabalhos de Otomo (2010), Souza (2011) e Oliveira (2012), resultando nos seguintes parâmetros: temperatura do injetor e da interface em 300°C, temperatura da fonte de íons em 230°C, rampa de temperatura no forno da coluna variando de 80°C a 300°C, totalizando 21 minutos de análise cromatográfica, fluxo na coluna de 1,9 mL min<sup>-1</sup>, fluxo total de 28 mL min<sup>-1</sup> e pressão total de 123,9 kPa. A coluna cromatográfica utilizada foi uma RTX5MS - *crossbond* 5% difenil / 95% dimetil polisiloxano da Restek (30 m de comprimento × 0,25 mm de diâmetro × 0,25 µm espessura de filme). Como gás de arraste, foi utilizado gás Hélio com 99,99% de pureza.

No MS, os dados foram obtidos no modo SIM (*Single Ion Monitoring*), utilizando 3 a 4 fragmentos de massa para cada composto, como apresentado na TAB. 9.

TABELA 9. Relação massa/carga (m/z) dos 14 compostos estudados e os respectivos intervalos de monitoramento.

Composto	Intervalo de tempo (minutos)	Ch1-m/z	Ch2-m/z	Ch3-m/z	Ch4-m/z
Dietilftalato	4,00 a 8,00	149,00	177,00	150,00	
Nonilfenol	8,00 a 9,20	221,00	207,00	235,00	
Pentaclorofenol	9,20 a 10,00	323,00	325,00	321,00	
Dibutilftalato	10,00 a 10,70	149,00	150,00	104,00	
Androstano	10,70 a 11,50	245,00	203,00	135,00	
Bisfenol A	11,50 a 13,00	357,00	358,00	372,00	
Estrona	13,00 a 14,20	342,00	257,00	218,00	
Estradiol	13,00 a 14,20	416,00	285,00	129,00	
Etinilestradiol	14,20 a 15,00	285,00	368,00	286,00	232,00
Progesterona	15,00 a 15,60	124,00	229,00	272,00	314,00
Coprostanol	15,60 a 17,00	370,00	355,00	215,00	
Colesterol	17,00 a 18,50	129,00	329,00	368,00	
Colestanol	17,00 a 18,50	215,00	445,00	107,00	
Estigmasterol	18,50 a 21,00	129,00	255,00	133,00	

#### 4.7. Desenvolvimento dos Ensaios de Validação

Para transmitir segurança e confiabilidade aos resultados apresentados em todo o tipo de análise quantitativa, é imprescindível realizar o processo de validação do método utilizado. Além do INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia), órgãos como IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), ISO (*International Organization for Standardization*), ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e ICH (*International Conference on Harmonization*) fornecem diretrizes e recomendações para a execução do procedimento de validação, bem como requisitos fundamentais para o processo de demonstração de competência técnica (Ribani, et al., 2004; Bueno, 2007; Otomo, 2010).

Neste trabalho optou-se por realizar os ensaios de validação para os parâmetros seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão, precisão, robustez e recuperação, seguindo as orientações do INMETRO por meio do documento “DOQ-CGCRE-008 - Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos”, considerando todas suas revisões até a presente data (2003, 2007, 2010 e 2011)

Para a avaliação dos parâmetros mencionados acima, foram realizados ensaios com as duas matrizes (água e sedimento superficial) e somente com o

solvente, isto é, ensaio sem matriz. As áreas resultantes da integração dos picos obtidos pelo método cromatográfico foram utilizadas nos cálculos estatísticos da seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão conforme descrito a seguir. Cada ensaio foi preparado em 8 concentrações diferentes, sendo cada concentração analisada em 7 replicatas. Os cálculos estatísticos para avaliação de todos os parâmetros da validação foram realizados com o auxílio de uma planilha de Excel, desenvolvida por Furusawa (2007) com base nas orientações do guia DOQ-CGCRE-008 do INMETRO.

A faixa de trabalho avaliada no processo de validação foi determinada com o objetivo de demonstrar a adequação do método desenvolvido em realizar uma análise de concentrações no nível de traços. Partindo da menor concentração que o equipamento foi capaz de detectar e considerando a faixa mais provável em que os compostos em estudo seriam determinados foi estabelecida a faixa de trabalho apresentada na TAB. 10.

TABELA 10. Concentrações utilizadas nos ensaios para validação com matriz (água e sedimento) e sem matriz.

<b>Composto</b>	<b>Faixa de concentração em ng mL<sup>-1</sup></b>							
Dietilftalato	1,6	3,2	4,8	8	12	16	24	32
Nonilfenol	2,4	3,6	6	9	12	15	18	21
Pentaclorofenol	1,6	3,2	4,9	8,1	12,2	16,2	20,3	24,3
Dibutilftalato	1,6	3,3	4,9	8,2	12,4	16,5	20,6	24,7
Androstano	4	6	10	15	20	25	35	40
Bisfenol A	1,4	2,8	4,1	6,9	10,4	13,8	17,3	20,7
Estrona	1	1,9	2,9	4,8	7,2	9,6	12	14,4
Estradiol	1	1,9	2,9	4,8	7,2	9,6	12	14,4
Etinilestradiol	0,8	1,7	2,5	4,2	6,3	8,4	12,6	14,7
Progesterona	9,6	14,4	24	36	48	60	72	84
Coprostanol	3,2	6,4	9,6	16	24	32	40	48
Colesterol	2,1	4,2	6,2	10,4	15,6	20,8	26	31,2
Colestanol	1,6	3,2	4,8	8	12	16	20	24
Estigmasterol	3,2	4,8	8	12	16	20	24	28

### Seletividade

Por meio do parâmetro seletividade avaliou-se a capacidade do método em diferenciar de forma inequívoca os compostos de estudo de outros componentes presentes na amostra tais como, produtos de degradação e compostos de propriedades similares às do analito de interesse, que possam

interferir na sua determinação, aumentando ou diminuindo o sinal medido pelo equipamento (Otomo, 2010).

A seletividade do método desenvolvido pôde ser avaliada visualmente e por meio de cálculos estatísticos. O modo visual foi realizado pela observação do cromatograma gerado pela injeção da solução padrão e pela sobreposição das retas obtidas nas curvas analíticas dos ensaios com e sem matriz. A análise por cálculos estatísticos consiste na realização dos testes de homogeneidade das variâncias (teste *F-Snedecor*), teste de significância da diferença das médias (teste *t-Student*), teste de inclinação e paralelismo e teste de intercepto (ambos pelo cálculo de *t-Student*) (Otomo, 2010).

O teste *F-Snedecor* compara o  $F_{\text{calculado}}$  obtido pela Equação 1 utilizando os dados adquiridos, com o  $F_{\text{tabelado}}$ , um valor de referência que considera (n-1) grau de liberdade e a porcentagem de confiança, que usualmente é de 95%.

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

$S_1^2$  e  $S_2^2$  = variância das áreas obtidas pela injeção em setuplica de uma mesma concentração no ensaio (1) “com matriz” e no ensaio (2) “sem matriz”;

O teste t é calculado pela Equação 2 denominado  $t_{\text{calculado}}$ . Assim como no teste F, o resultado é comparado com um valor de  $t_{\text{tabelado}}$ , obtido pela tabela de distribuição de *Student* considerando  $(n_1+n_2-2)$  graus de liberdade e a confiança desejada (normalmente 95%).

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{\sqrt{S^2 \left( \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}} \quad \text{Equação 2}$$

Onde:

$|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|$  = diferença da média das áreas obtidas nas 7 injeções de uma concentração no ensaio COM matriz pela média das 7 injeções da concentração correspondente no ensaio SEM matriz;

Sendo  $S^2$  calculado de acordo com a Equação 3.

$$S^2 = \frac{(n_1-1)S_1^2 + (n_2-1)S_2^2}{(n_1+n_2-2)} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

$n_1$  = tamanho da amostra do grupo 1;

$n_2$  = tamanho da amostra do grupo 2;

Para a avaliação da seletividade pelos testes de Inclinação e Paralelismo e para o teste de Intercepto, são utilizadas as Equação 4 e 5, respectivamente.

$$t = \frac{b_1 - b_2}{\bar{S}_{xy} \sqrt{\frac{1}{\sum (x_{1i} - \bar{x})^2} + \frac{1}{\sum (x_{2i} - \bar{x})^2}}} \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

$b_1$  = b da equação da reta do ensaio com matriz;

$b_2$  = b da equação da reta do ensaio sem matriz;

$$t = \frac{a_1 - a_2}{\bar{S}_{xy} \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{\bar{x}_1^2}{\sum (x_{1i} - \bar{x}_1)^2} + \frac{1}{n_1} + \frac{\bar{x}_2^2}{\sum (x_{2i} - \bar{x}_2)^2}}} \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

$a_1$  = a da equação da reta do ensaio com matriz;

$a_2$  = a da equação da reta do ensaio sem matriz;

Para ambas as equações (4 e 5), considera-se a Equação 6:

$$\bar{S}_{xy} = \sqrt{\frac{(n_1-2)S_{y_1x_1}^2 + (n_2-2)S_{y_2x_2}^2}{n_1+n_2-4}}$$
Equação 6

### Linearidade

A linearidade é o parâmetro obtido por meio de uma correlação entre a concentração do analito e o sinal correspondente medido quando um método analítico é utilizado, de forma a tornar possível mensurar o mesmo analito em uma amostra cuja concentração é desconhecida. Essa relação matemática denominada curva analítica é expressa na forma de gráfico onde nos eixos x e y têm-se as concentrações e a resposta medida, a equação da reta é obtida de acordo com a Equação 7 (Otomo, 2010).

$$y = a + bx$$
Equação 7

Onde:

y = resposta medida ou sinal analíticos, variável dependente;

x = concentração do analito, variável independente;

a = coeficiente angular, expressa a inclinação da curva analítica

b = coeficiente linear, expressa a interseção da curva aos eixos

A qualidade de uma curva analítica pode ser verificada pelo coeficiente de determinação ( $r^2$ ) obtido pelo quadrado do valor do coeficiente de correlação de Pearson (r), que por sua vez é obtido pela Equação 8.

$$r = \frac{\sum(x-\bar{x})(y-\bar{y})}{\sqrt{\sum(x-\bar{x})^2 \sum(y-\bar{y})^2}}$$
Equação 8

Para a verificação dos desvios da linearidade entre os pontos da curva analítica aplica-se a análise de resíduos através do teste t (*Student*), calculado com a Equação 9, além dos gráficos de resíduos e probabilidade normalizada.

$$t_{calculado} = \frac{\text{resíduo}}{\frac{S_r}{\sqrt{n}}}$$
Equação 9

Onde:

$$\text{Resíduo} = |X_{\text{medido}} - X_{\text{calculado}}|;$$

$S_r$  = desvio padrão dos resíduos;

$n$  = número de pontos.

O valor de  $t_{\text{calculado}}$  obtido é comparado ao valor de  $t_{\text{tabelado}}$ , caso o  $t_{\text{calculado}}$  seja menor ou igual ao  $t_{\text{tabelado}}$ , esse ponto será considerado como pertencente à curva e a faixa de trabalho que o envolve será linear. Deve-se considerar  $(n-1)$  graus de liberdade e definir a confiança desejada, normalmente 95%.

A análise de variância (ANOVA) é outra ferramenta estatística utilizada para avaliar a linearidade do método. Foram utilizados os testes F de regressão e F de ajuste para avaliar a adequação do modelo de regressão adotado para os dados obtidos e o quanto esse modelo se ajusta aos dados resultantes (ambos considerando 95% de confiança). Além dos testes F, a ANOVA faz uma avaliação da porcentagem de variação explicada e da porcentagem máxima de variação explicável, ou seja, o quanto de variação pode ser explicada dentro da porcentagem explicável pelo ajuste aplicado ao método. A FIG. 14 apresenta todas as equações para o cálculo da ANOVA.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Número de graus de liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	$SQ_R = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	$p - 1$	$MQ_R = SQ_R / (p - 1)$	$MQ_R / MQ_r$
Resíduos	$SQ_r = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_i - \hat{y}_i)^2$	$n - p$	$MQ_r = SQ_r / (n - p)$	
Falta de Ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	$m - p$	$MQ_{faj} = SQ_{faj} / (m - p)$	$MQ_{faj} / MQ_{ep}$
Erro Puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$n - m$	$MQ_{ep} = SQ_{ep} / (n - m)$	
Total	$SQ_T = \sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y})^2$	$n - 1$		
% de variação explicada:	$SQ_R / SQ_T$			
% máxima de variação explicável:	$(SQ_T - SQ_{ep}) / SQ_T$	$n_i$ = número de replicatas no nível $i$ $m$ = número de níveis distintos $p$ = número de parâmetros do modelo		

FIGURA 14. Equações para cálculo da ANOVA

### Limite de detecção e Limite de quantificação

O limite de detecção (LD) é a menor concentração que pode ser detectada através do método analítico com certa confiança e o limite de quantificação (LQ) é a menor concentração que pode ser quantificada com segurança (Ribani, et al., 2004; INMETRO, 2010).

A determinação do LD tem como base a curva analítica preparada com a matriz em estudo. Assim, o cálculo pode ser realizado pela multiplicação do desvio padrão das 7 replicatas da menor concentração da curva analítica, pela abscissa  $t$  (*Student*) para  $(n-1)$  graus de liberdade com 95% de confiança, como mostra a Equação 10 (Bueno, 2007; INMETRO, 2010).

$$LD = t_{(n-1,1-\alpha)} \cdot (S) \quad \text{Equação 10}$$

Onde:

$S$  = desvio padrão das 7 replicatas da menor concentração

$t$  = valor da abscissa  $t$  (*Student*) para  $(1 - \alpha) \times 100\%$  nível de confiança e  $(n-1)$  graus de liberdade.

O LQ pode ser obtido pela média de 7 replicatas da menor concentração da curva analítica mais cinco, seis ou dez vezes o desvio padrão obtido das mesmas, como na Equação 11. Para o LQ, também é utilizada a curva analítica preparada com a matriz em estudo (Bueno, 2007; INMETRO, 2003; INMETRO, 2010).

$$LQ = \bar{X} + (5, 6 \text{ ou } 10) \cdot S \quad \text{Equação 11}$$

Onde:

$X$  = média das 7 replicatas da concentração do menor ponto da curva analítica;

$S$  = desvio padrão das 7 replicatas da concentração do menor ponto da curva analítica.

### Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados obtidos no ensaio e o valor verdadeiro (material de referência certificado). Este parâmetro foi avaliado pelo índice z (z Score), que é calculado pela diferença entre o valor obtido e o valor considerado verdadeiro dividido pelo desvio padrão das replicatas da concentração que está sendo avaliada, como ilustra a Equação 12. O valor de z deve permanecer menor que 2 para que a exatidão do método seja considerada satisfatória e é considerado questionável, mas ainda aceitável, quando se encontra entre 2 e 3 (Furusawa, 2007; INMETRO, 2011).

$$z = \frac{(X_{\text{laboratório}} - X_{\text{verdadeiro}})}{s} \quad \text{Equação 12}$$

Onde:

$X_{\text{laboratório}}$  = valor obtido pelo laboratório;

$X_{\text{verdadeiro}}$  = valor aceito como verdadeiro (concentração nominal definida para este ensaio);

s=desvio padrão do conjunto de valores do ensaio de proficiência.

### Precisão

A precisão é definida como a concordância dos resultados de medições obtidos entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões sob condições determinadas, ou seja, avalia-se a dispersão dos valores em amostras medidas em replicatas (Furusawa, 2007; INMETRO, 2011). Pode ser avaliada em termos de desvio-padrão (DP) e coeficiente de variação (CV), limite de repetibilidade e limite de reprodutibilidade. É necessário também que se verifique a existência de valores discrepantes. Nos processos de validação de métodos analíticos de resíduos e impurezas a taxa aceitável de coeficiente de variação (Equação 13) é de até 20%, dependendo da complexidade da amostra (Ribani, et al., 2004).

$$CV(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad \text{Equação 13}$$

Onde:

s: desvio padrão;

X: concentração média determinada.

A avaliação dos resultados dos estudos de repetitividade pode ser feita utilizando o cálculo do limite de repetitividade,  $r$ , de acordo com a Equação 14.

$$r = t_{(n-1,1-\alpha)} \cdot \sqrt{2} \cdot S \quad \text{Equação 14}$$

Onde:

$t_{(n-1,1-\alpha)}$  = valor da estatística t de *Student* para n-1 graus de liberdade no intervalo de confiança estabelecido

S = desvio padrão para as n replicatas executadas.

A Reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuadas por analista, laboratório ou equipamentos diferentes e período estendido (INMETRO, 2011). A partir do desvio padrão obtido sob condições de reprodutibilidade é possível calcular o limite de reprodutibilidade (R) pela Equação 15.

$$R = 2,8 \sqrt{S_R^2} \quad \text{Equação 15}$$

Onde:

$S_R^2$  = variância de reprodutibilidade associada aos resultados de diferentes dias.

### Robustez

A robustez pode ser empregada tanto na fase de desenvolvimento do método, onde auxilia na definição dos parâmetros do método, quanto na fase de validação propriamente dita, medindo o quanto esse método pode ser considerado sensível frente a pequenas e deliberadas variações (Vander Heyden, et al., 2001).

O teste de Youden é o mais recomendado para a avaliação da robustez. Este teste consiste na seleção de 7 variáveis de influência significativa sobre o método, sendo os valores nominais de cada fator representado pelas letras maiúsculas A, B, C, D, E, F e G e as respectivas variações representadas pelas letras minúsculas a, b, c, d, e, f e g. Essas 14 variáveis são arranjadas por uma combinação fatorial, resultando em 8 ensaios distintos, conforme TAB. 11 de “combinação ensaiada” extraída do documento do INMETRO. Com os resultados obtidos pelas médias de 3 replicatas para cada um dos oito estudos, é possível verificar a robustez do método e ordenar a influência de cada variável selecionada (Vander Heyden, et al., 2001; INMETRO, 2003; Ribani, et al., 2004; Furusawa, 2007; Otomo, 2010).

TABELA 11. Planejamento fatorial saturado para avaliação da estimativa do erro da distribuição dos efeitos utilizando o algoritmo de Dong (pequenos experimentos).

Valor do Fator	Combinação Ensiada							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A ou a	A	A	A	A	a	a	a	a
B ou b	B	B	b	b	B	B	b	b
C ou c	C	c	C	c	C	c	C	c
D ou d	D	D	d	d	d	d	D	D
E ou e	E	e	E	e	e	E	e	E
F ou f	F	f	f	F	F	f	f	F
G ou g	G	g	g	G	g	G	G	G
Resultado	s	t	u	v	w	x	y	z

Para obter a variação de cada fator subtrai-se a média dos resultados obtidos pelos ensaios nos quais esse fator permaneceu inalterado (representado por letras maiúsculas) da média dos resultados obtidos pelos ensaios nos quais houve alteração (representado por letras minúsculas). Por exemplo, para obter a variação do fator A, faz-se a média dos resultados obtidos nos ensaios 1, 2, 3 e 4, ou seja, os resultados s, t, u e v fazendo em seguida a subtração pela média obtida pelos ensaios 5, 6, 7 e 8 (w, x, y e z, respectivamente), como demonstra a Equação 16.

$$\text{variação de A} = \frac{s+t+u+v}{4} - \frac{w+x+y+z}{4} \quad \text{Equação 16}$$

Outro exemplo, para obter a variação do fator B, faz-se a média dos resultados obtidos nos ensaios 1, 2, 5 e 6 (resultados s, t, w e x) e subtrai pela média obtida pelos ensaios 3, 4, 7 e 8 (u, v, y e z, respectivamente), como demonstra a Equação 17.

$$\text{variação de B} = \frac{s+t+w+x}{4} - \frac{u+v+y+z}{4} \quad \text{Equação 17}$$

Os cálculos dos dados plotados nos gráficos de *rankit* e probabilidade normalizada foram realizados com o auxílio da planilha de Furusawa (2007), que por sua vez usou como referência o trabalho de Vander Heyden (2001).

### Recuperação

O ensaio de recuperação avalia a eficiência do método de extração e foi realizado pela adição de concentrações conhecidas da mistura padrão, com todos os compostos de estudo, na matriz antes do procedimento de extração. O guia orientativo do INMETRO para validação de ensaios químicos recomenda a realização do ensaio de recuperação em três níveis de concentração: baixo, intermediário e alto. A porcentagem de recuperação do analito pode ser obtida de acordo com a Equação 18.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{valor obtido}}{\text{valor adicionado}} \times 100 \quad \text{Equação 18}$$

Para considerar o método adequado à análise proposta, a recuperação deve estar na faixa de 70 a 120%, ou ainda entre 50 a 120% quando matriz é complexa (Ribani, et al., 2004; Furusawa, 2007; Martins, 2010; INMETRO, 2011).

### Estimativa da Incerteza de medição

A estimativa da incerteza de medição além de agregar qualidade ao resultado final, torna mensuráveis as fontes de incerteza que influenciam na variabilidade desse resultado. Segundo o Guia Eurachem, a incerteza de medição é definida como: “Um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que poderiam ser razoavelmente atribuídos ao mensurando” (EURACHEM, 2002).

Este item é fundamental à qualidade laboratorial, uma vez que são inúmeros os fatores que podem afetar o resultado de uma medição. Na estimativa da incerteza de medição do método desenvolvido para a análise proposta neste trabalho tanto para a matriz de água superficial como para o sedimento superficial da Guarapiranga, procurou-se identificar o máximo de fatores (grandeza de entrada) que influenciam na medida do resultado final (grandeza de saída), como ilustra a FIG. 15 por meio do diagrama de Ishikawa (ou espinha de peixe) Martins (2014). As fontes de incerteza identificadas nesta metodologia foram as associadas à curva analítica, ao fator de recuperação do analito e ao volume final da solução. As grandezas de entrada envolvidas no cálculo dessas incertezas são: pureza dos padrões para preparação da solução padrão, massa e diluições das soluções, as incertezas associadas à área de resposta de cada analito, efeito matriz, interferentes, condições ambientais, incertezas das massas e equipamentos volumétricos, valores de referência, aproximações atribuídas ao método ou à medição e variação aleatória (Guia Eurachem, 2002; Eurachem, 2000; Martins, 2014).

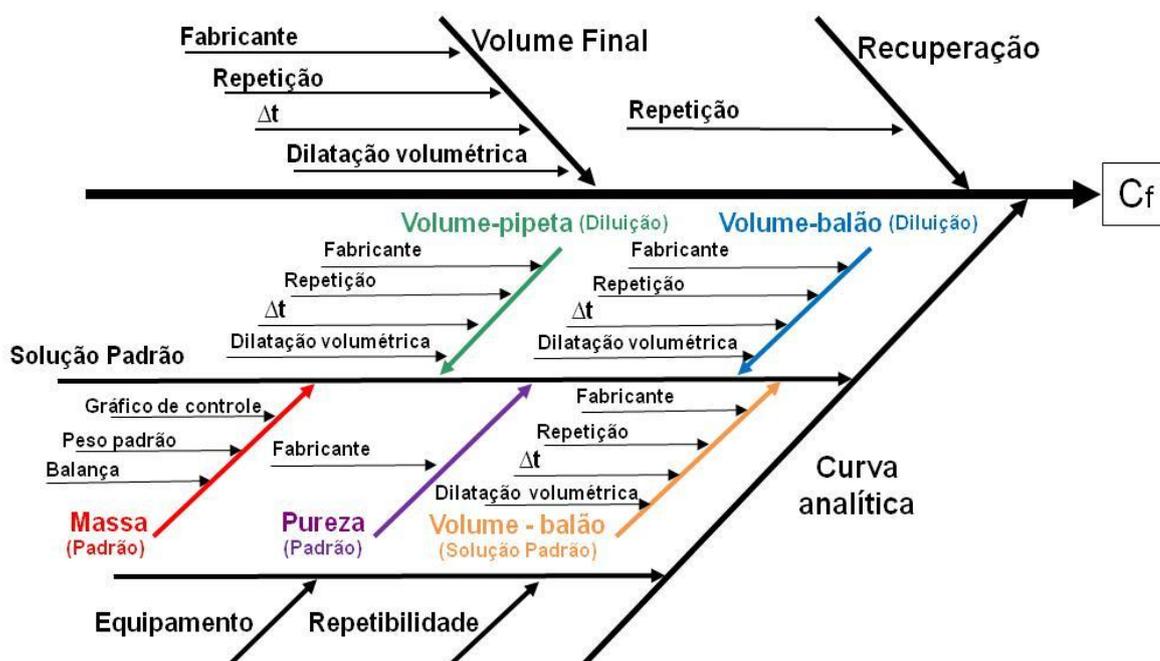


FIGURA 15. Diagrama de ishikawa demonstrando as grandezas de entrada consideradas na estimativa da incerteza de medição do método para análise proposta.

Para cada fonte de incerteza associada a uma grandeza de entrada foi obtida a Incerteza Padronizada ( $\mu$ ), sendo do Tipo A (desvio padrão de medições sucessivas) ou do Tipo B (informada pelo fabricante). Do mesmo modo, para cada

grandeza de entrada foi obtida a Incerteza Padronizada Combinada,  $\mu_c$ , por meio do cálculo da raiz quadrada da soma quadrática das  $\mu$  a ela associada. A Equação 19 exemplifica o cálculo realizado na obtenção da incerteza associada à grandeza de entrada “Massa (padrão)” onde foram identificadas as fontes de incerteza: gráfico de controle da balança analítica ( $\mu$  do Tipo A), calibração da balança ( $\mu$  do Tipo B) e peso padrão ( $\mu$  do Tipo B).

$$\mu_{\text{Massa Padrão}} = \sqrt{(\mu_{\text{gráfico controle}})^2 + (\mu_{\text{balança}})^2 + (\mu_{\text{peso padrão}})^2} \quad \text{Equação 19}$$

A Incerteza combinada final é calculada seguindo o conceito anterior, por meio da raiz quadrada da soma quadrática da incerteza padronizada combinada de cada grandeza de entrada identificada, de acordo com a Equação 20.

$$\mu_{C(IEs)} = \sqrt{(\mu_{\text{Vol. final}})^2 + (\mu_{\text{Recuperação}})^2 + (\mu_{\text{curva analítica}})^2} \quad \text{Equação 20}$$

Por fim, ao resultado final da medição, o componente que fornece um intervalo mais provável onde o mensurando se encontra é a Incerteza Expandida (U). O valor de U é obtido multiplicando-se  $\mu_{C(IEs)}$  por um Fator de Abrangência (k), que para um nível de confiança de 95,45% é aproximadamente 2 (Guia Eurachem, 2002).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da validação do método para extração em água e sedimento superficial estão apresentados no item 5.1 e 5.2, respectivamente. Os resultados das análises das amostras estão apresentados no item 5.3 e 5.4.

### 5.1. Validação na Matriz Água Superficial

#### Seletividade

A seguir são apresentados os resultados obtidos para avaliação da seletividade do método para determinação dos compostos de interesse na matriz de água superficial da Guarapiranga. Como mencionado no item 4.7, o método de avaliação visual da seletividade, utilizou o cromatograma obtido pelo equipamento GC/MS e os gráficos de sobreposição das curvas analíticas com e sem matriz. A avaliação por meio de cálculos estatísticos utilizou os testes F e *t-Student*, também mencionados no item 4.7.

Nas FIG. 16 a 18 observa-se a boa seletividade obtida pelo método cromatográfico para os 14 compostos estudados. O cromatograma é referente à mistura de padrões com todos os compostos (em concentração média de 14 ng mL<sup>-1</sup>) após derivatização.

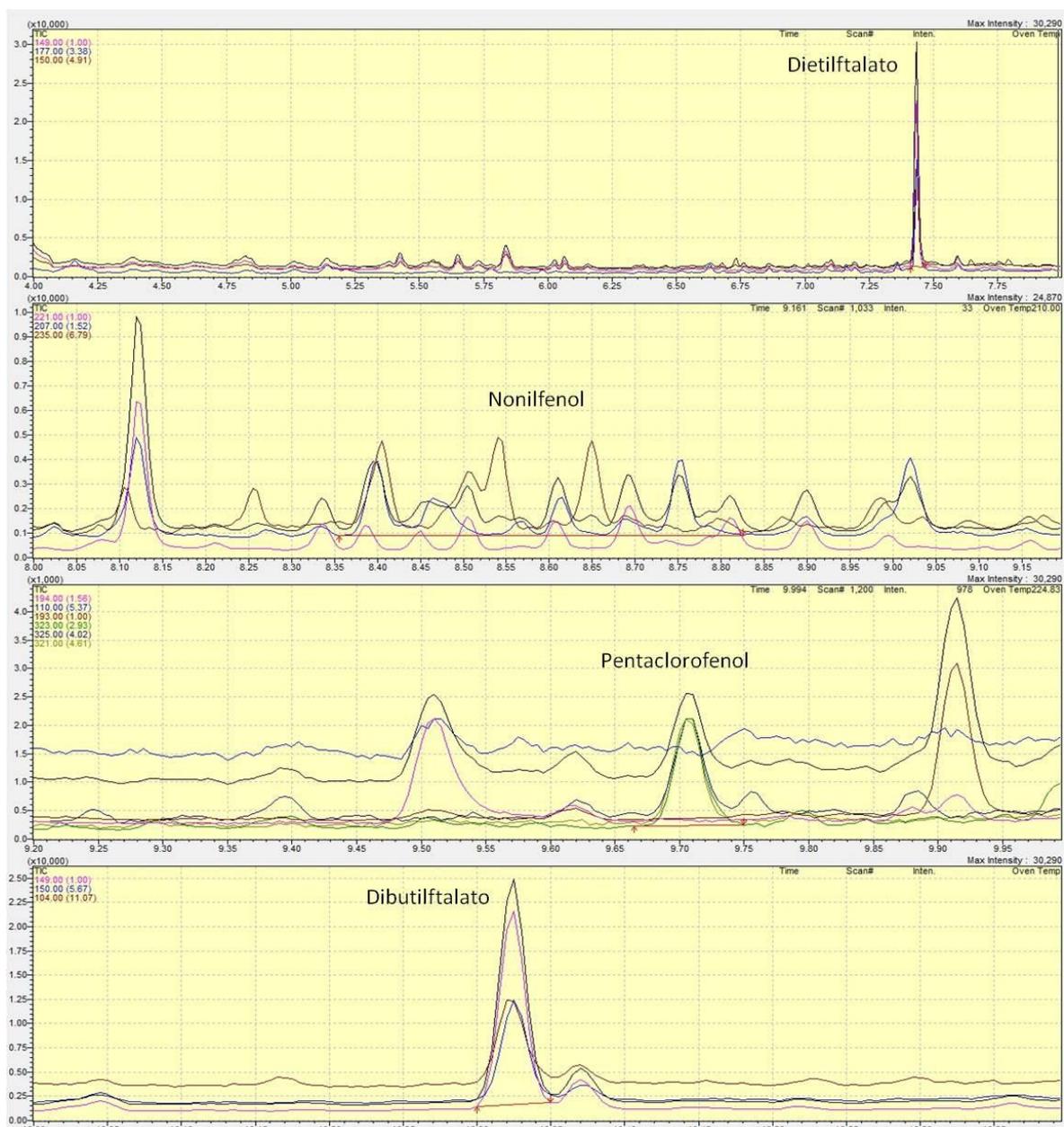


FIGURA 16. Cromatograma de mistura de padrão com os 14 compostos estudados na matriz de água superficial.

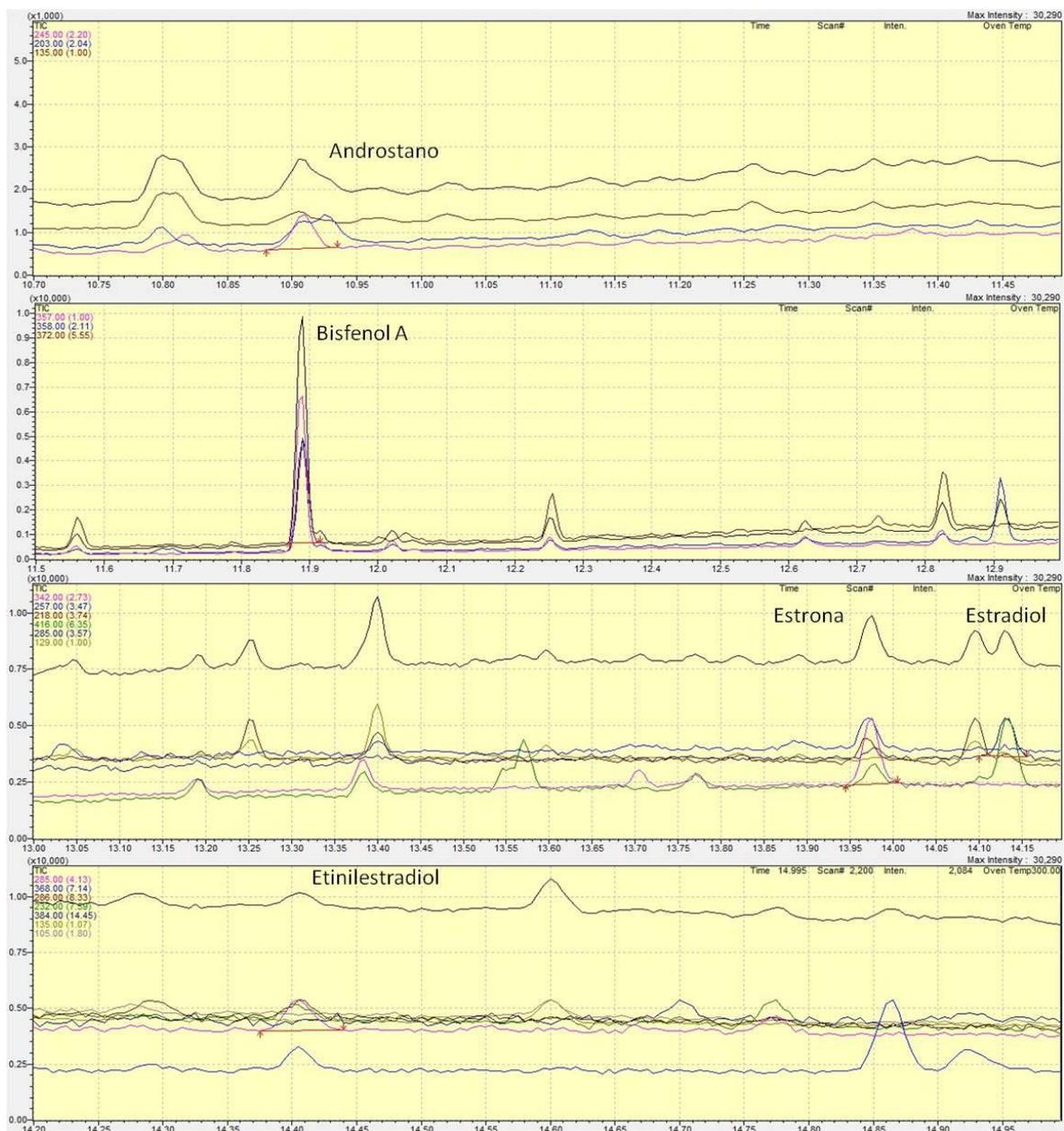


FIGURA 17. Cromatograma de mistura de padrão com os 14 compostos estudados na matriz de água superficial (Continuação).

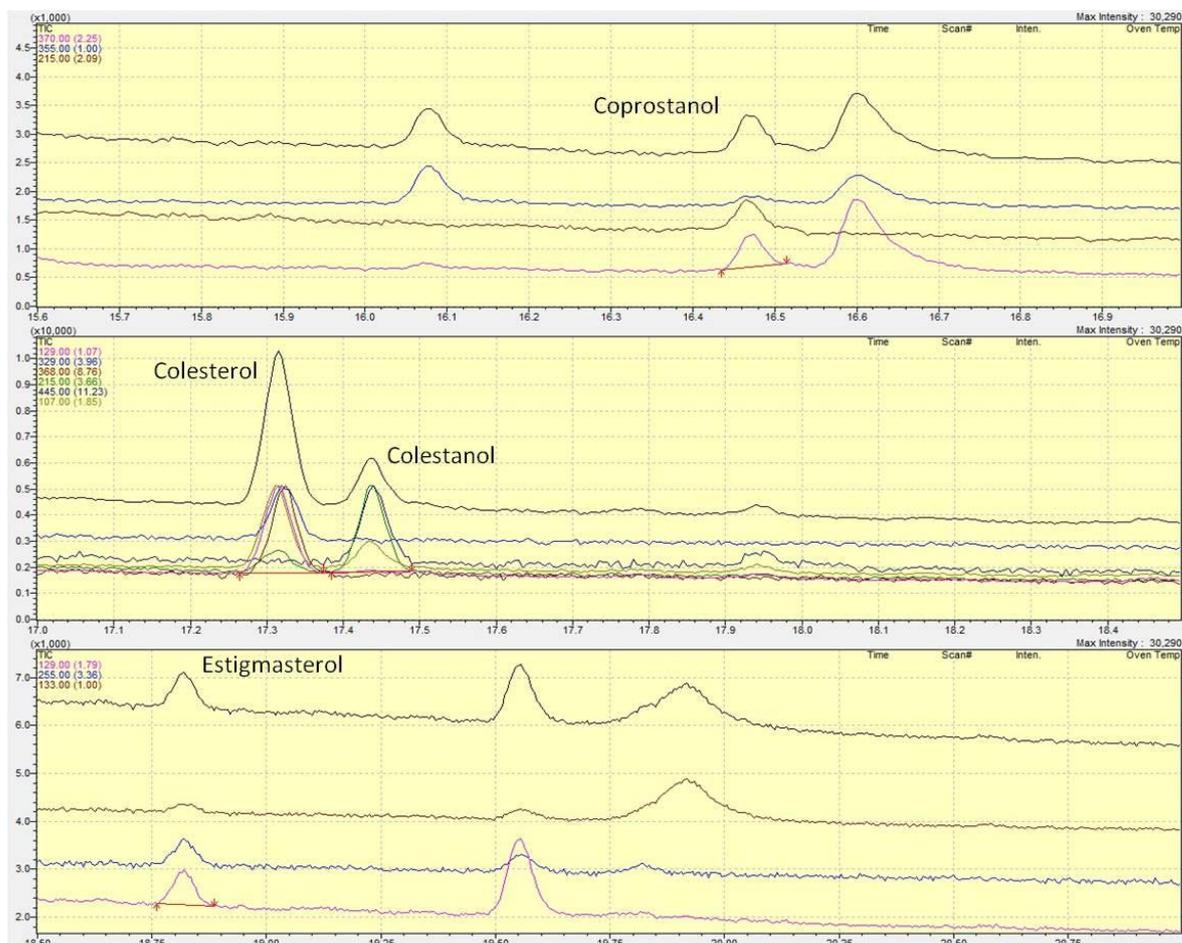


FIGURA 18. Cromatograma de mistura de padrão com os 14 compostos estudados na matriz de água superficial (continuação).

Os resultados obtidos no teste F (*Snedecor*) de homogeneidade das variâncias e no teste t (*Student*) de comparação das médias estão apresentados na TAB. 41 do Apêndice desta tese. Os resultados obtidos no teste F confirmaram que a matriz interfere na precisão das curvas para a maioria dos compostos como dietilftalato, dibutilftalato, bisfenol A, androstano, estradiol, progesterona, coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol em praticamente toda a faixa de trabalho avaliada. Para os compostos nonilfenol, pentaclorofenol e etinilestradiol, os valores de F calculados apresentaram-se abaixo do valor de F tabelado para as concentrações mais baixas, enquanto que para a estrona o valor de F calculado ficou abaixo do tabelado para as concentrações mais altas da faixa de trabalho. Por outro lado, com relação ao teste t, pelos resultados obtidos observou-se que para todos os compostos em todas as concentrações da faixa de trabalho avaliadas, a matriz interfere na quantificação das amostras, ou seja, as

amostras devem ser quantificadas com uma curva analítica elaborada com a própria matriz de estudo.

Os resultados obtidos pelo teste t de inclinação e paralelismo e pelo teste do intercepto (TAB. 12) evidenciaram que somente para coprostanol as retas possuem inclinações estatisticamente iguais (FIG. 19), para todos os outros compostos as inclinações são estatisticamente diferentes como observado nas FIG. 63 a 66 do Apêndice desta tese.

TABELA 12. Resultado obtido no ensaio com matriz de Água Superficial da Guarapiranga, no teste *t-Student* para a verificação da inclinação e paralelismo e do intercepto na análise de seletividade. O valor 2,179 é o valor crítico para 8 (n-1) graus de liberdade considerando os dois conjuntos (com e sem matriz) de dados com 95% de confiança.

Composto	Teste da Inclinação/Paralelismo	Teste do Intercepto
Dietilftalato	34,36	7,75
Nonilfenol	18,81	11,46
Pentaclorofenol	14,29	1,70
Dibutilftalato	36,53	4,27
Androstano	5,56	0,76
Bisfenol A	3,29	0,50
Estrona	5,29	5,13
Estradiol	9,44	1,83
Etinilestradiol	15,00	0,91
Progesterona	14,63	0,49
Coprostanol	1,58	0,66
Colesterol	37,70	27,97
Colestanol	15,40	1,93
Estigmasterol	11,97	1,99

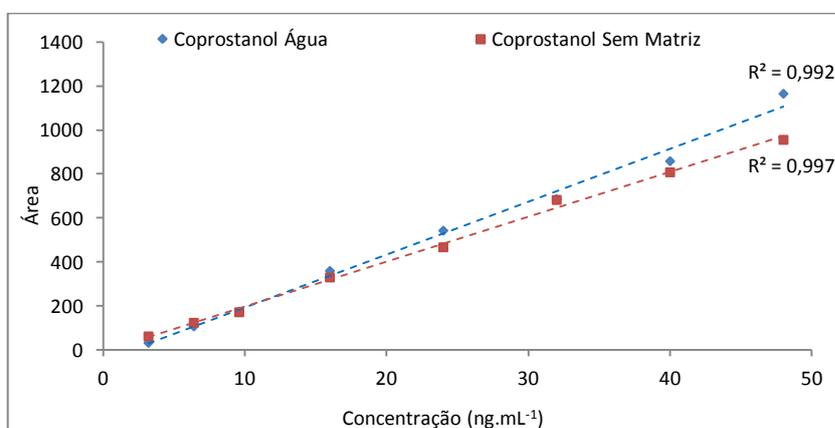


FIGURA 19. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial e no ensaio sem matriz do coprostanol.

Pelo teste do intercepto observou-se que para a maioria dos compostos as retas possuem interceptos estatisticamente iguais, exceto para o dietilftalato, nonilfenol, dibutilftalato, estrona e colesterol (FIG. 63 a 66 do Apêndice).

### Linearidade

Na TAB. 13 estão apresentadas as faixas de trabalho de cada um dos compostos e seus respectivos coeficientes de determinação obtidos pelas equações da reta das curvas analíticas confeccionadas na matriz de estudo, conforme as equações mencionadas no item 4.7.

TABELA 13. Faixa de trabalho e valores de coeficiente de determinação dos compostos estudados para a matriz de água superficial da Guarapiranga.

Composto	Faixa de trabalho (ng mL <sup>-1</sup> )		Equação da reta	r <sup>2</sup>
	mínima	máxima		
Dietilftalato	1,6	32	$y = 1365,6x + 511,9$	0,997
Nonilfenol	2,4	21	$y = 420,38x + 1553,5$	0,979
Pentaclorofenol	1,6	24,3	$y = 96,962x - 77,839$	0,998
Dibutilftalato	1,6	24,7	$y = 1035,5x + 1264,7$	0,989
Androstano	4	40	$y = 37,025x - 13,126$	0,982
Bisfenol A	1,4	20,7	$y = 70,93x + 3,503$	0,996
Estrona	1	14,4	$y = 164,74x + 285,75$	0,978
Estradiol	1	14,4	$y = 106,5x - 61,732$	0,993
Etinilestradiol	0,8	14,7	$y = 79,78x + 70,671$	0,976
Progesterona	9,6	84	$y = 45,112x + 24,042$	0,997
Coprostanol	3,2	48	$y = 24,12x - 49,936$	0,992
Colesterol	2,1	31,2	$y = 300,02x + 3892,3$	0,977
Colestanol	1,6	24	$y = 209,03x - 137,16$	0,999
Estigmasterol	3,2	28	$y = 53,778x + 117,85$	0,996

Por meio do gráfico resultante da análise de resíduos, observou-se que para todos os compostos existem alguns pontos aparentemente fora da faixa linear, entretanto pelo gráfico da probabilidade normalizada se demonstra que o comportamento linear não é prejudicado. A FIG. 20 apresenta, como exemplo, o comportamento observado para o dietilftalato, nas FIG. 67 a 73 do Apêndice, podem ser observados os gráficos obtidos para todos os compostos.

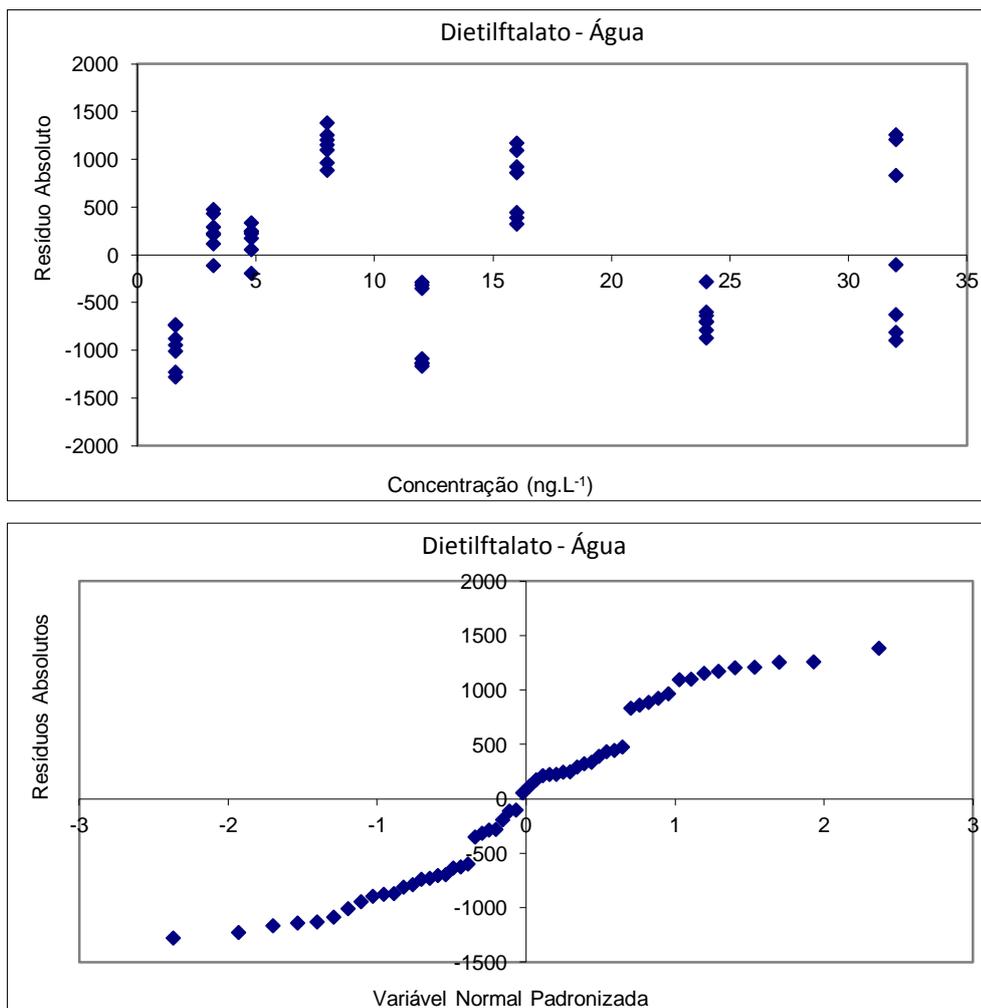


FIGURA 20. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para Dietilftalato em água superficial da Guarapiranga.

Pela avaliação da ANOVA, os valores de F calculados do teste F de regressão (TAB. 14) apresentaram-se superiores aos valores de F tabelado, o que significa que para o modelo de regressão adotado, os dados obtidos possuem comportamento linear. Pelo teste F de ajuste, demonstrou-se que a falta de ajuste é evidenciada, como pôde ser observado pelos gráficos de resíduos (FIG. 67 a 73 do Apêndice). Porém, com a avaliação da porcentagem de variação explicada em relação à porcentagem máxima de variação explicável, os valores obtidos dessas porcentagens são muito próximos entre si, além de terem permanecido acima de 90%. Em outras palavras, as variações foram explicadas satisfatoriamente pelo modelo de regressão adotado e o mesmo se ajusta aos dados.

TABELA 14. Resumo dos resultados da análise de variância (ANOVA) para os compostos estudados na matriz de água superficial da Guarapiranga.

Composto	$F_{\text{calculado}}$		% de variação explicada	% máxima de variação explicável
	Regressão	Ajuste		
	$F_{2,13,95\% \text{ tab.}} = 3,81$	$F_{5,8,95\% \text{ tab.}} = 3,69$		
Dietilftalato	2366,58	35,35	99,7	100,0
Nonilfenol	266,19	13,81	97,6	99,8
Pentaclorofenol	2643,43	58,58	99,8	100,0
Dibutilftalato	581,56	101,80	98,9	100,0
Androstano	341,67	104,29	98,1	100,0
Bisfenol A	1392,23	13,55	99,5	100,0
Estrona	290,51	387,12	97,8	100,0
Estradiol	872,42	87,40	99,3	100,0
Etinilestradiol	256,46	62,31	97,5	99,9
Progesterona	2065,98	12,83	99,7	100,0
Coprostanol	809,77	94,85	99,2	100,0
Colesterol	251,81	25,22	97,5	99,8
Colestanol	5871,89	4,12	99,9	100,0
Estigmasterol	1251,41	6,52	99,5	99,9

Assim, considerando todos os métodos estatísticos utilizados para avaliar a linearidade, pode ser afirmado que o método apresenta linearidade satisfatória para todos os compostos na matriz de água superficial.

#### Limite de detecção e Limite de quantificação

Os limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) obtidos conforme equações 10 e 11 do item 4.7, estão apresentados na TAB. 15.

TABELA 15. Limites de detecção e limites de quantificação do método para os compostos avaliados em matriz de água superficial da Guarapiranga.

Composto	LD (ng L <sup>-1</sup> )	LQ (ng L <sup>-1</sup> )
Dietilftalato	0,4	2
Nonilfenol	0,6	2
Pentaclorofenol	0,2	2
Dibutilftalato	0,6	2
Androstano	0,3	5
Bisfenol A	0,1	1
Estrona	0,5	2
Estradiol	0,2	1
Etinilestradiol	0,2	1
Progesterona	0,7	11
Coprostanol	0,2	4
Colesterol	0,6	2
Colestanol	0,2	2
Estigmasterol	0,5	4

### Exatidão e Tendência

A exatidão foi avaliada em três níveis de concentrações diferentes, consideradas baixa, média e alta por meio do índice z. Os valores obtidos no ensaio sem matriz e com matriz de água superficial, apresentaram-se abaixo de 2 para todos os compostos, exceto para o estradiol no nível alto com matriz (TAB. 16).

TABELA 16. Valores de z score para os compostos estudados no ensaio com matriz de água superficial da Guarapiranga.

Composto	Matriz Água		
	Baixa	Média	Alta
Dietilftalato	1,2	1,8	0,1
Nonilfenol	1,4	0,6	0,2
Pentaclorofenol	0,4	0,9	0,5
Dibutilftalato	0,2	1,3	0,2
Androstano	0,6	1,3	1,2
Bisfenol A	0,6	0,3	1,5
Estrona	1,5	0,6	0,1
Estradiol	1,4	0,3	2,2
Etinilestradiol	0,3	1,3	0,7
Progesterona	1,2	1,5	0,8
Coprostanol	1,7	1,6	1,9
Colesterol	0,1	1,2	0,5
Colestanol	1,7	0,8	0,5
Estigmasterol	1,1	0,5	2,0

### Precisão

A precisão foi avaliada por meio do coeficiente de variação, limite de repetibilidade e limite de reprodutibilidade obtido a partir de 7 replicatas de três níveis de concentrações (consideradas, baixa, média e alta) para cada um dos compostos em ensaio realizado com a matriz de estudo. Os resultados estão apresentados na TAB. 17, onde pode ser observado que, para a matriz de água superficial, todos os compostos apresentaram coeficiente de variação abaixo do máximo permitido (20%) e, para todos os compostos as diferenças entre cada uma das replicatas foi menor que os limites de repetibilidade estabelecidos. Portanto pode-se considerar que o método é preciso.

TABELA 17. Resumo dos resultados do teste de Reprodutibilidade, Repetibilidade e coeficiente de variação para os compostos estudados na matriz de água superficial da Guarapiranga

Composto	Reprodutibilidade - R			Repetibilidade - r			CV		
	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta
Dietilftalato	0,0002	0,0002	0,0006	0,0004	0,0003	0,0020	18	1	2
Nonilfenol	0,0003	0,0010	0,0019	0,0004	0,0014	0,0053	12	6	9
Pentaclorofenol	0,0001	0,0001	0,0002	0,0002	0,0004	0,0004	5	2	1
Dibutilftalato	0,0007	0,0005	0,0005	0,0011	0,0008	0,0009	12	3	1
Androstano	0,0002	0,0008	0,0006	0,0004	0,0012	0,0026	3	3	2
Bisfenol A	0,0000	0,0001	0,0002	0,0002	0,0003	0,0012	5	1	2
Estrona	0,0002	0,0001	0,0001	0,0003	0,0002	0,0003	5	1	1
Estradiol	0,0001	0,0001	0,0003	0,0002	0,0002	0,0005	7	2	1
Etinilestradiol	0,0003	0,0002	0,0030	0,0007	0,0005	0,0046	11	4	10
Progesterona	0,0003	0,0025	0,0027	0,0007	0,0043	0,0048	3	5	2
Coprostanol	0,0001	0,0010	0,0012	0,0003	0,0017	0,0035	3	4	2
Colesterol	0,0008	0,0004	0,0025	0,0013	0,0016	0,0050	11	4	5
Colestanol	0,0001	0,0004	0,0009	0,0002	0,0010	0,0015	5	4	2
Estigmasterol	0,0001	0,0020	0,0003	0,0002	0,0040	0,0008	2	12	1

### Robustez

O ensaio de robustez realizado para a matriz de água superficial teve como objetivo definir o método de extração de modo a otimizar o procedimento final. Os fatores selecionados para avaliação deste ensaio estão apresentados na TAB. 18.

TABELA 18. Parâmetros selecionados para o ensaio de robustez matriz de água superficial da Guarapiranga.

Fator	Nominal		Variação	
Mistura extratora	A	60DCM:40MeOH	a	60DCM:40MeOH e 60EtOAc:40MeOH
Derivatizante	B	100 µL	b	50 µL
Tempo de derivatização	C	30 min	c	60 min
Condicionamento	D	Água/MeOH (9:1)	d	Água pH 3/MeOH (9:1)
Solvente final	E	DCM	e	EtOAc
Temperatura do injetor	F	300°C	f	265°C
Eluição	G	6 mL	g	2x 4 mL

Pelos resultados obtidos nos ensaios combinados, para a matriz água, foi possível observar o efeito de cada parâmetro sobre os compostos de interesse (FIG. 85 a 88 do Apêndice). Por meio dos gráficos de *rankit* (FIG. 89 a 99 do Apêndice) foi possível avaliar se esses efeitos afetam o resultado de forma significativa, ou seja, se os efeitos se encontram acima ou abaixo do valor ME (*margin of error*) (Zeaiter, et al., 2004; Furusawa, 2007).

Nas FIG. 21 a 23 observa-se que a maioria dos compostos em estudo acusou efeitos positivos no teste de robustez referente à mudança dos valores da mistura extratora, derivatização, solvente final e temperatura do injetor. Para esses compostos, o estudo da robustez sugere que, os valores nominais dos parâmetros podem favorecê-los na análise.

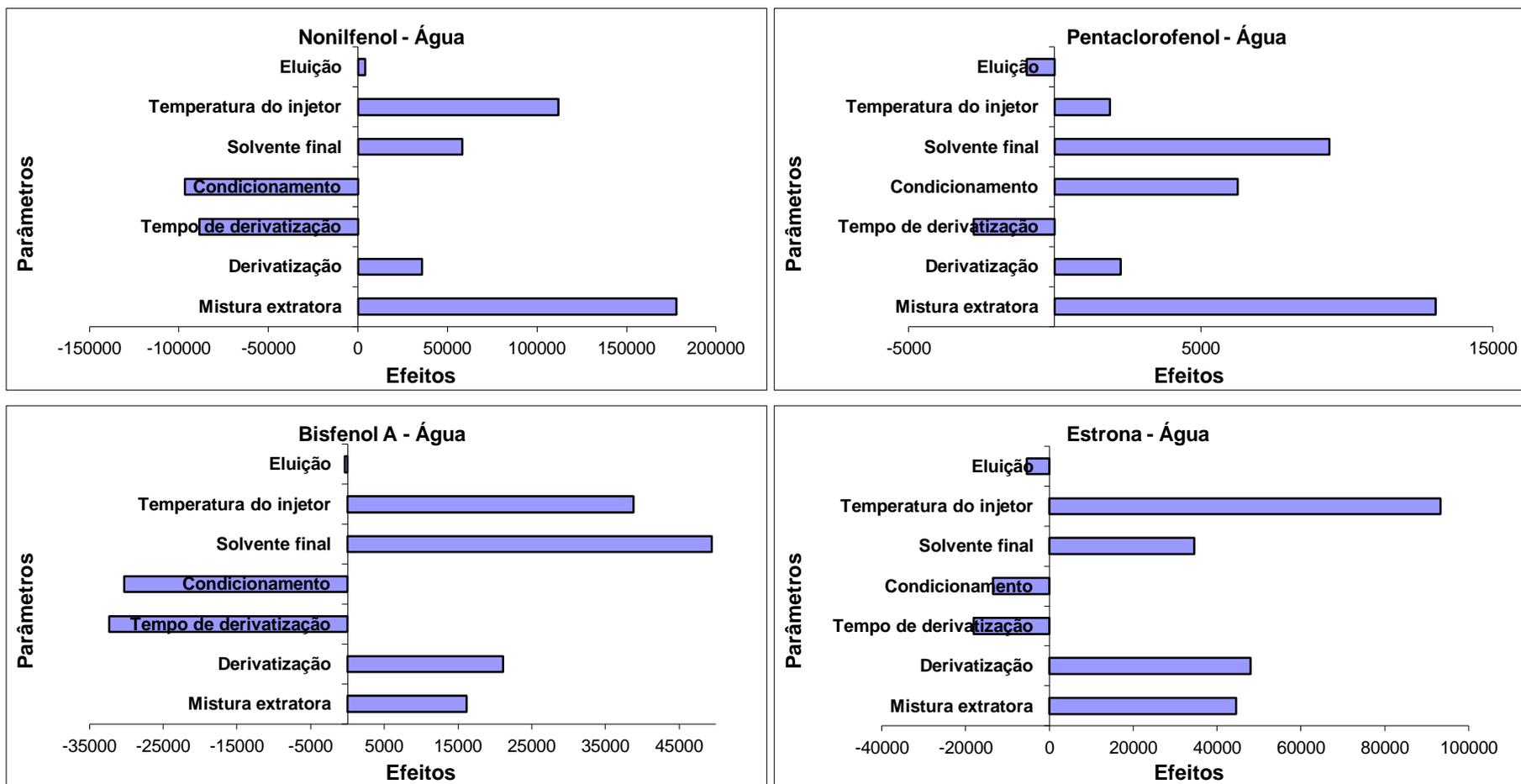


FIGURA 21. Gráficos para Nonilfenol, Pentaclorofenol, Bisfenol A e Estrona representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.

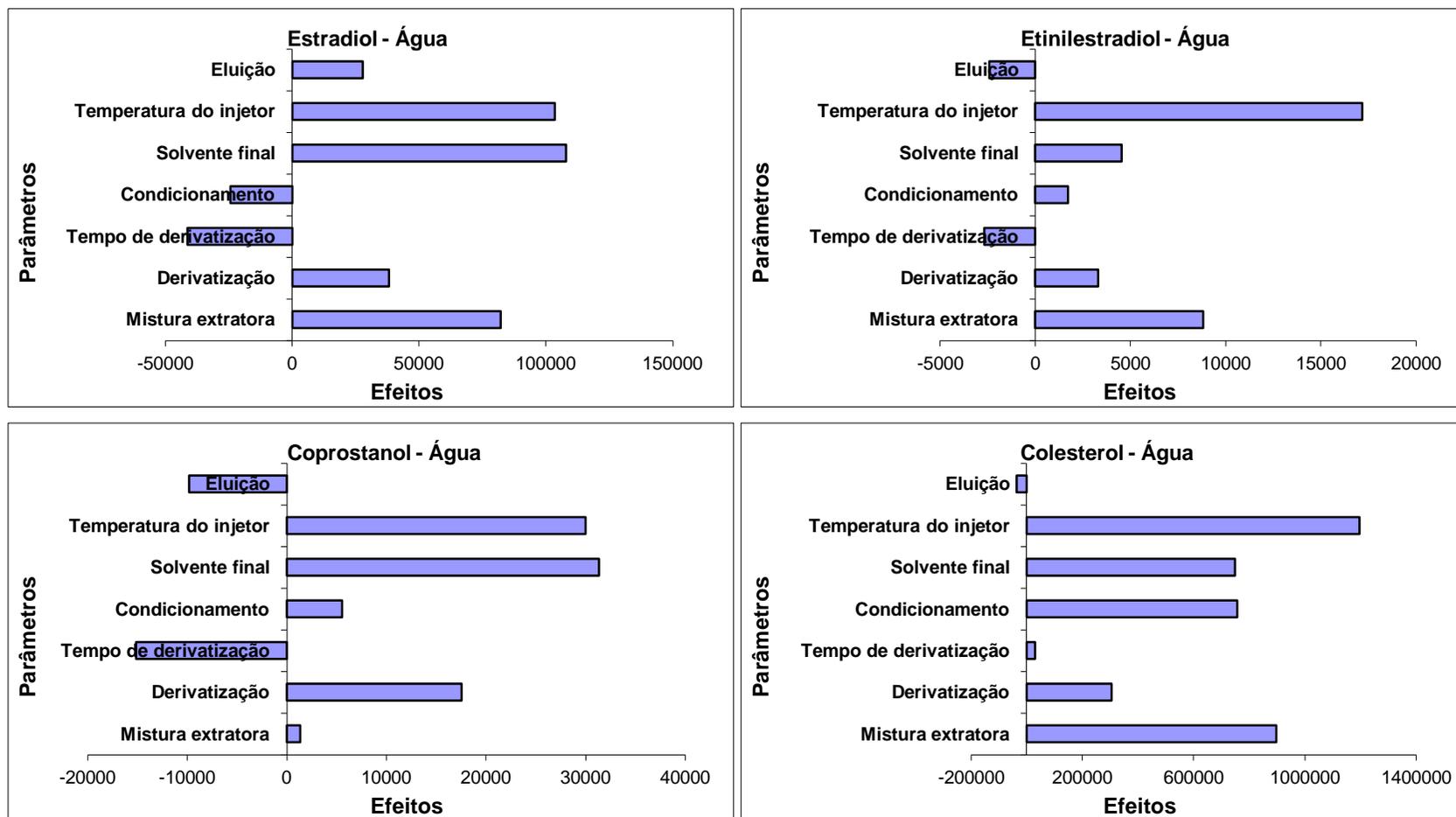


FIGURA 22. Gráficos para Estradiol, Etinilestradiol, Coprostanol e Colesterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.

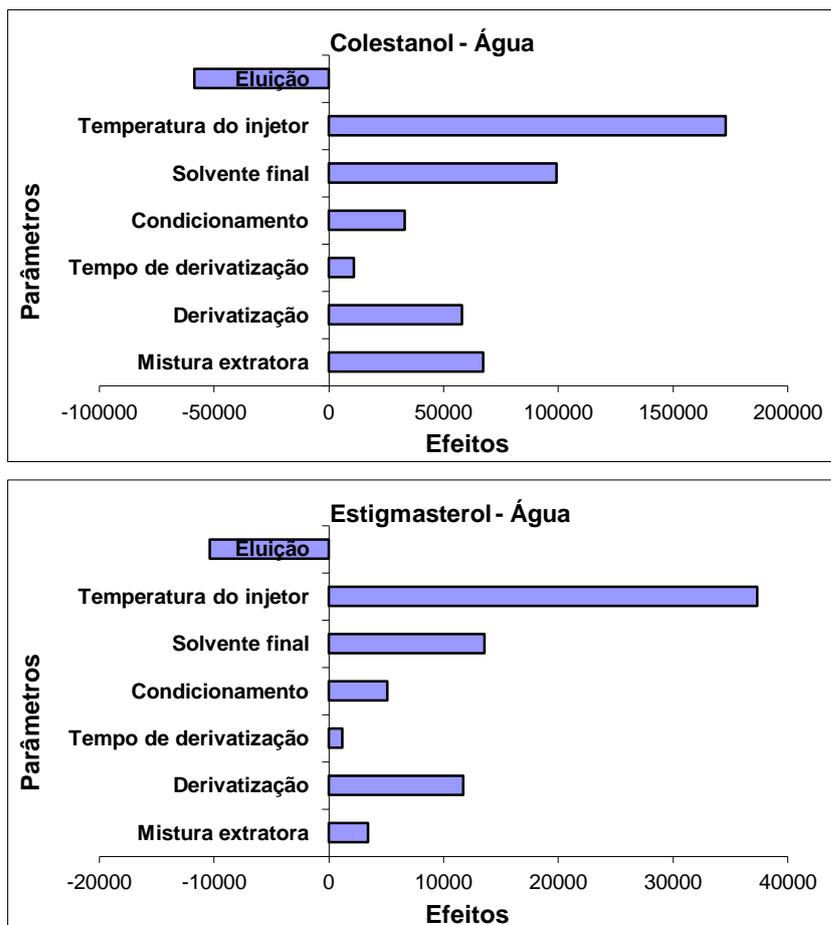


FIGURA 23. Gráficos para Colestanol e Estigmasterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.

Conforme mencionado anteriormente, por meio do gráfico de *rankit*, foi avaliado se esses efeitos afetam de forma significativa o resultado final. Dentre os fatores de maior influência positiva no ensaio de robustez, o parâmetro “Temperatura do injetor” (F) foi o que se encontrou muito próximo ao ME, principalmente para os compostos etinilestradiol, progesterona e estigmasterol, como ilustra a FIG. 24. Portanto é necessário um maior controle à variação deste parâmetro durante as análises.

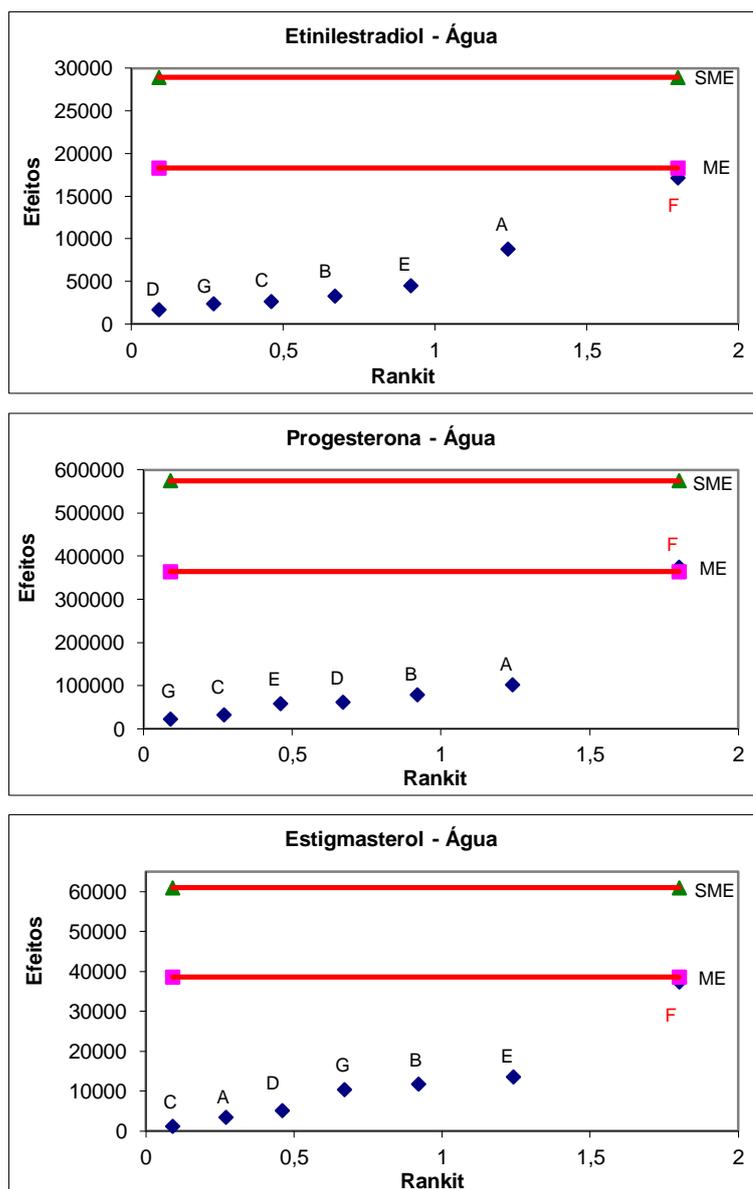


FIGURA 24. Gráficos de rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Etinilestradiol, Progesterona e Estigmasterol.

Alguns compostos apresentaram efeitos negativos acentuados como, por exemplo, androstano, coprostanol, colestanol e estigmasterol, para o parâmetro eluição (G), quando houve alteração no volume da solução extratora (FIG. 25). Entretanto, ao observarmos os gráficos de *rankit* (FIG. 26) desses compostos, observa-se que o efeito da eluição não é significativo uma vez que está bem abaixo do ME.

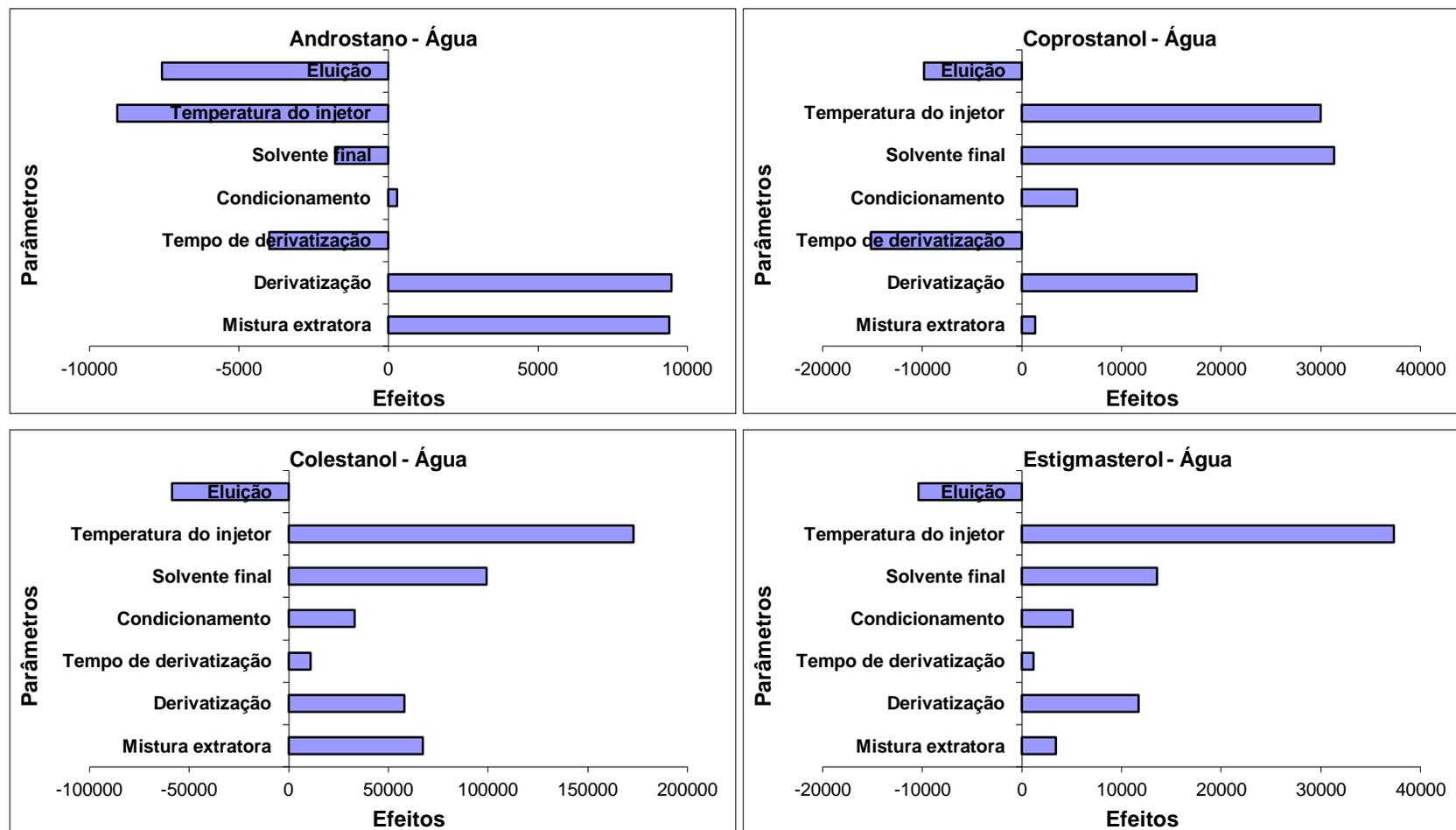


FIGURA 25. Gráficos para Androstano, Coprostanol, Colestanol e Estigmasterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.

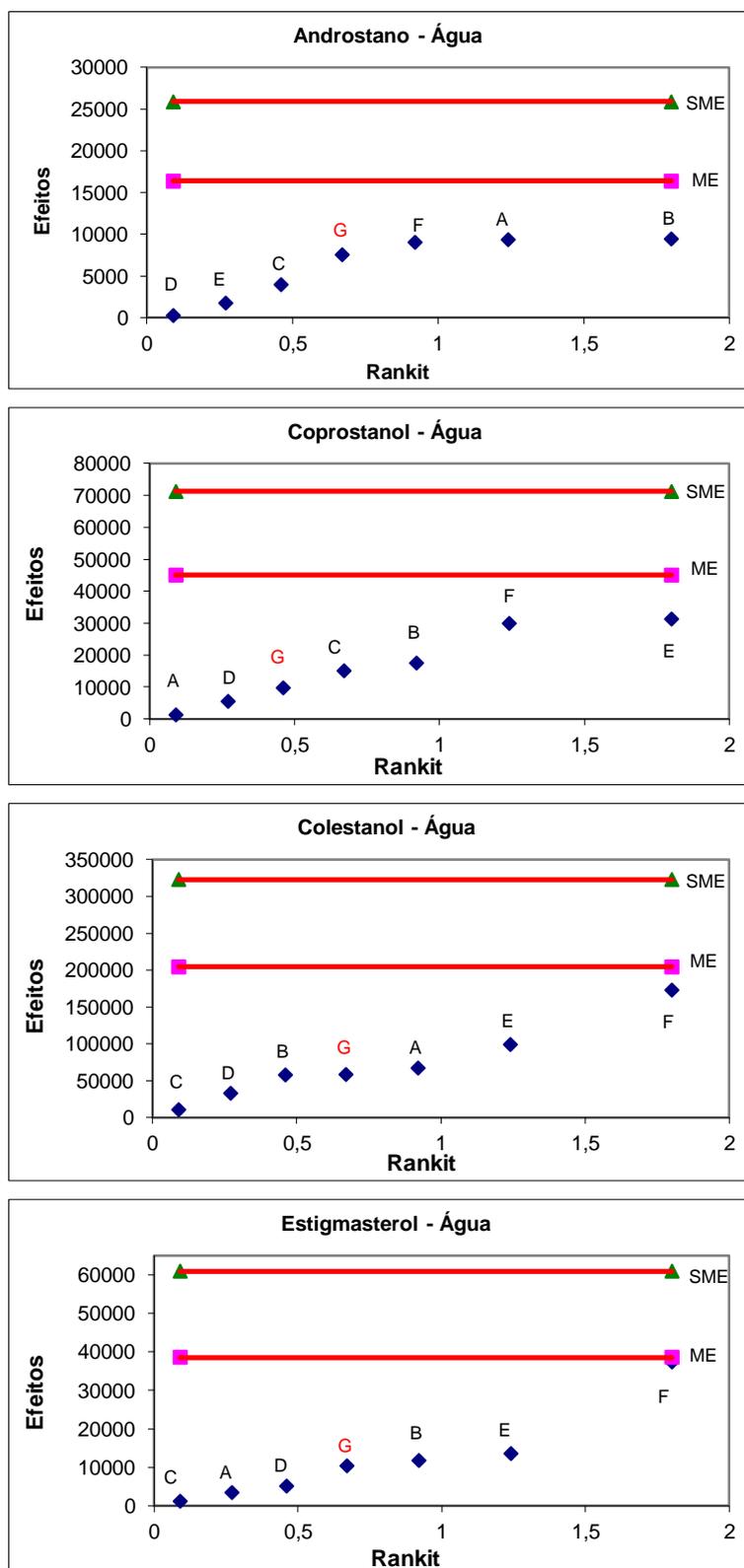


FIGURA 26. Gráficos de rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Androstano, Coprostanol, Colestanol e Estigmasterol.

Outro exemplo, também foram os efeitos negativos apresentados para o dietilftalato, dibutilftalato e a progesterona para o parâmetro derivatização,

quando houve uma alteração no volume da solução derivatizante. Esse comportamento perante a mudança do valor nominal indica um favorecimento na determinação destes compostos em relação à alteração.

Pode-se ainda destacar que, por meio do resultado do teste de robustez realizado, foi possível observar que o método tem robustez bem diferente para cada um dos compostos em relação aos parâmetros avaliados. Por exemplo, o parâmetro tempo de derivatização é bem robusto para o colesterol, colestanol, estigmasterol e progesterona, fato este que pode ser observado nas representações gráficas da FIG. 25 por estarem bem próximas ao eixo. Mas para o estradiol, coprostanol, bisfenol A, dibutilftalato e nonilfenol, por exemplo, esse mesmo parâmetro requer mais atenção na determinação. Entretanto, em um estudo onde estão envolvidos 14 compostos é difícil encontrar valores de consenso, onde todos os compostos são favorecidos da mesma forma e para todos os parâmetros. O mais importante é ter um controle eficaz, tendo um cuidado maior em relação aos parâmetros que interferem no método.

Por fim, pelos gráficos de probabilidade normal (FIG. 89 a 95 do Apêndice), observa-se que os resultados se comportaram de forma linear para todos os compostos, mantendo-se dentro do desvio de -2 a +2, provavelmente sem *outliers*.

Embora o estudo de robustez indique possíveis mudanças no valor de alguns parâmetros, como por exemplo, temperatura do injetor e o volume de eluição, para determinados compostos, os gráficos de *Rankit* e de probabilidade normal demonstram que o método é robusto.

### Recuperação

As concentrações e suas respectivas porcentagens de recuperação obtidas para a matriz de água superficial da Guarapiranga estão apresentadas na TAB. 19 onde fica demonstrado que para todos os compostos e nos três níveis de concentração avaliados, a porcentagem recuperada permaneceu dentro da faixa de 70 a 120%, exceto para o etinilestradiol na concentração média que obteve recuperação de 35%.

TABELA 19. Resultado dos testes de recuperação para os respectivos níveis de concentração em matriz de água superficial da Guarapiranga.

Dietilftalato				Estradiol			
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	3	12	32	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2	9	19
Recuperação (%)	90	76	73	Recuperação (%)	120	108	119
Nonilfenol				Etinilestradiol			
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2	9	24	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2	6	17
Recuperação (%)	112	72	88	Recuperação (%)	106	35	70
Pentaclorofenol				Progesterona			
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2	12	24	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	10	36	95
Recuperação (%)	104	88	83	Recuperação (%)	118	103	104
Dibutilftalato				Coprostanol			
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	3	16	33	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	6	24	47
Recuperação (%)	107	119	101	Recuperação (%)	106	110	95
Androstano				Colesterol			
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	4	20	40	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	4	21	41
Recuperação (%)	102	71	70	Recuperação (%)	86	113	104
Bisfenol A				Colestanol			
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	3	10	20	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	3	11	30
Recuperação (%)	99	117	114	Recuperação (%)	111	69	72
Estrona				Estigmasterol			
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2	7	14	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2	11	30
Recuperação (%)	98	115	106	Recuperação (%)	86	106	73

### Estimativa da Incerteza de medição

Os resultados obtidos pela estimativa da incerteza de medição apresentados a seguir foram calculados para a concentração média da faixa de trabalho de cada composto. Nas FIG. 27 e 28 estão apresentados as contribuições de cada grandeza de entrada considerada nessa avaliação.

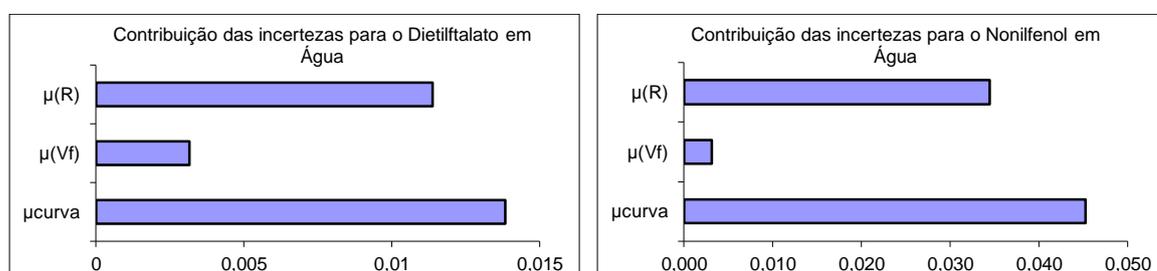


FIGURA 27. Representação gráfica das incertezas envolvidas na metodologia desenvolvida para determinação de Dietilftalato e Nonilfenol em Água superficial da Guarapiranga.

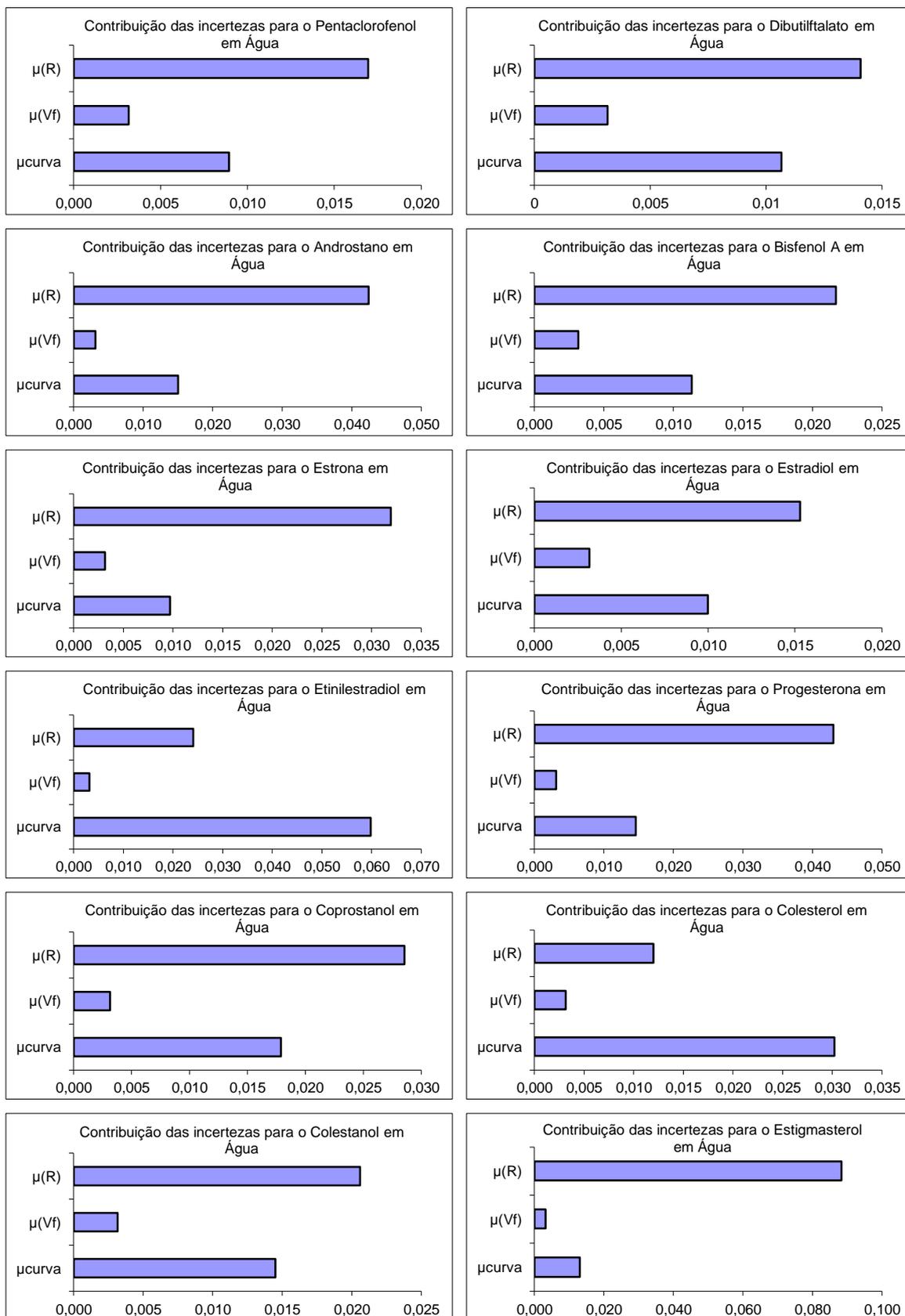


FIGURA 28. Representação gráfica das incertezas envolvidas na metodologia desenvolvida para determinação de Pentaclorofenol, Dibutilftalato, Androstano, Bisfenol A, Estrona, Estradiol, Etinilestradiol, Progesterona, Coprostanol, Colesterol, Colestanol e Estigmasterol em Água superficial da Guarapiranga.

Ao avaliar os resultados da estimativa da incerteza de medição foi notória uma maior contribuição das incertezas relacionadas à curva analítica ( $\mu_{\text{curva}}$ ) e à recuperação ( $\mu_{\text{rec}}$ ) o que é coerente, uma vez que ambas estão relacionadas às concentrações e à resposta do equipamento. Deste modo, fica evidente a importância do cuidado que deve ser tomado principalmente nas etapas de preparação das soluções de calibração e procedimento de extração das amostras pois estão diretamente ligadas à manipulação pelo analista.

Os valores de incerteza expandida obtidos para cada composto estudado, apresentados na TAB. 20, são referentes à concentração média da faixa de trabalho porém vale ressaltar que para cada concentração é obtido um valor de incerteza.

TABELA 20. Incerteza expandida de cada um dos compostos estudados em matrizes de água superficial da Guarapiranga, considerando-se concentração equivalente ao ponto médio da curva.

Composto	Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	Incerteza expandida	%
Dietilftalato	12,0	0,0004	3,64
Nonilfenol	17,1	0,0020	11,39
Pentaclorofenol	8,0	0,0003	3,88
Dibutilftalato	10,7	0,0004	3,59
Androstano	18,6	0,0011	6,01
Bisfenol A	5,9	0,0003	4,94
Estrona	6,3	0,0004	6,24
Estradiol	3,7	0,0001	3,54
Etinilestradiol	5,1	0,0006	12,56
Progesterona	32,5	0,0023	6,94
Coprostanol	12,8	0,0005	4,14
Colesterol	23,5	0,0018	7,69
Colestanol	10,1	0,0006	5,49
Estigmasterol	12,6	0,0017	13,36

Pode-se observar que as incertezas de medição foram obtidas em uma faixa equivalente a aproximadamente 3,5 a 13,3, o que sugere uma contribuição dentro do esperado, considerando-se a complexidade da metodologia (Horwitz, 2006; Martins, 2014).

## 5.2. Validação na Matriz Sedimento Superficial

O procedimento de extração definido neste estudo não foi adequado para o grupo dos esteróis (coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol), uma vez que não se conseguiu obter linearidade satisfatória para nenhum desses compostos. Esse fato pode ter ocorrido na matriz sedimento, pois talvez essa contenha substâncias que não foram suficientemente removidas na etapa de *clean-up*, causando interferência na detecção desses compostos pelo equipamento. Portanto, a seguir serão apresentados os resultados de validação de 10 compostos: dietilftalato, nonilfenol, pentaclorofenol, dibutilftalato, androstano, bisfenol A, estrona, estradiol, etinilestradiol e progesterona.

### Seletividade

O método cromatográfico utilizado para a determinação dos compostos estudados na matriz sedimento foi o mesmo utilizado na matriz água, comentado no item 5.1 desta tese, e também apresentou boa seletividade para todos os compostos, como pode ser observado nos cromatogramas representados nas FIG. 29 a 31, referente à mistura de padrões com todos os compostos após derivatização.

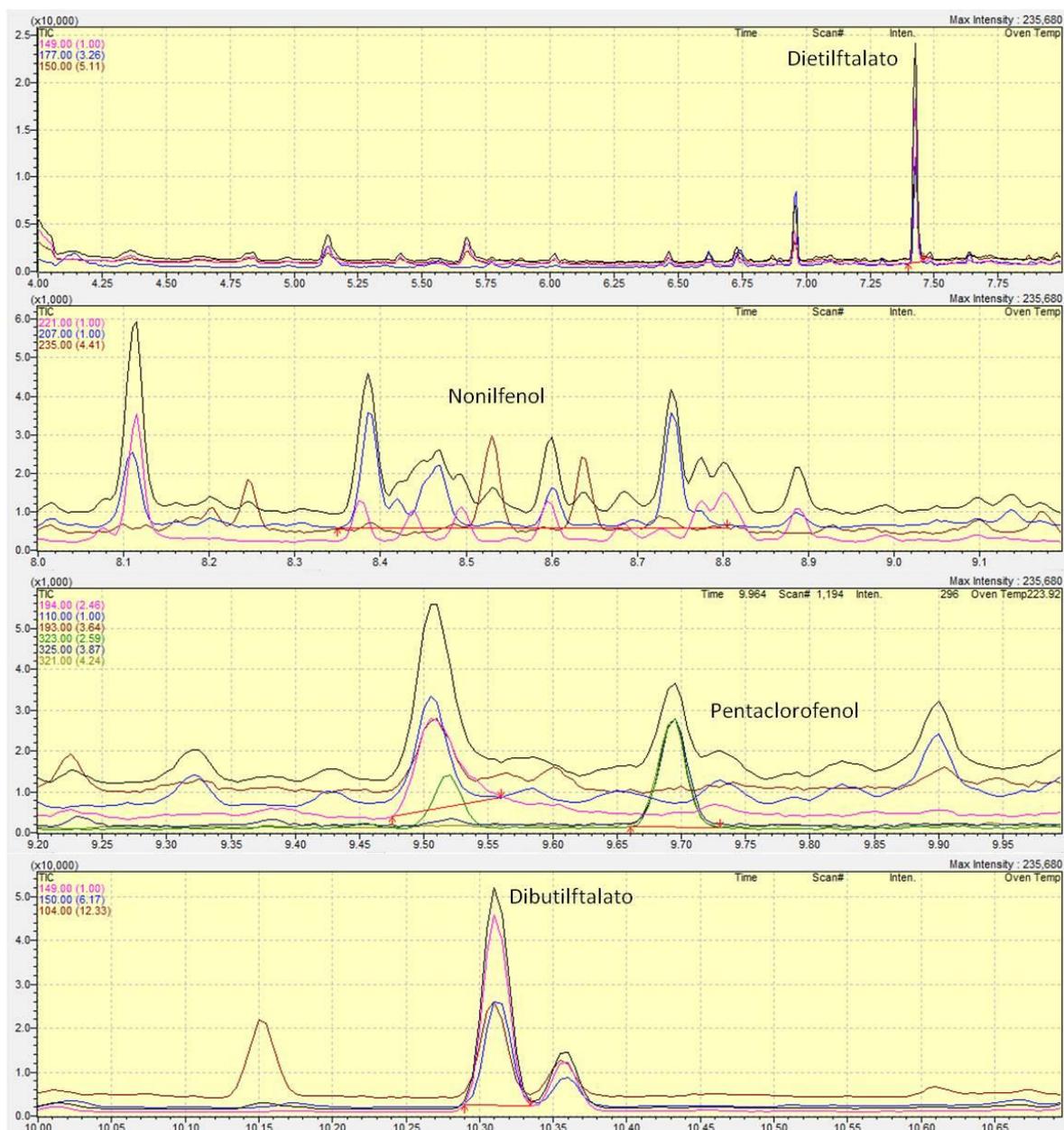
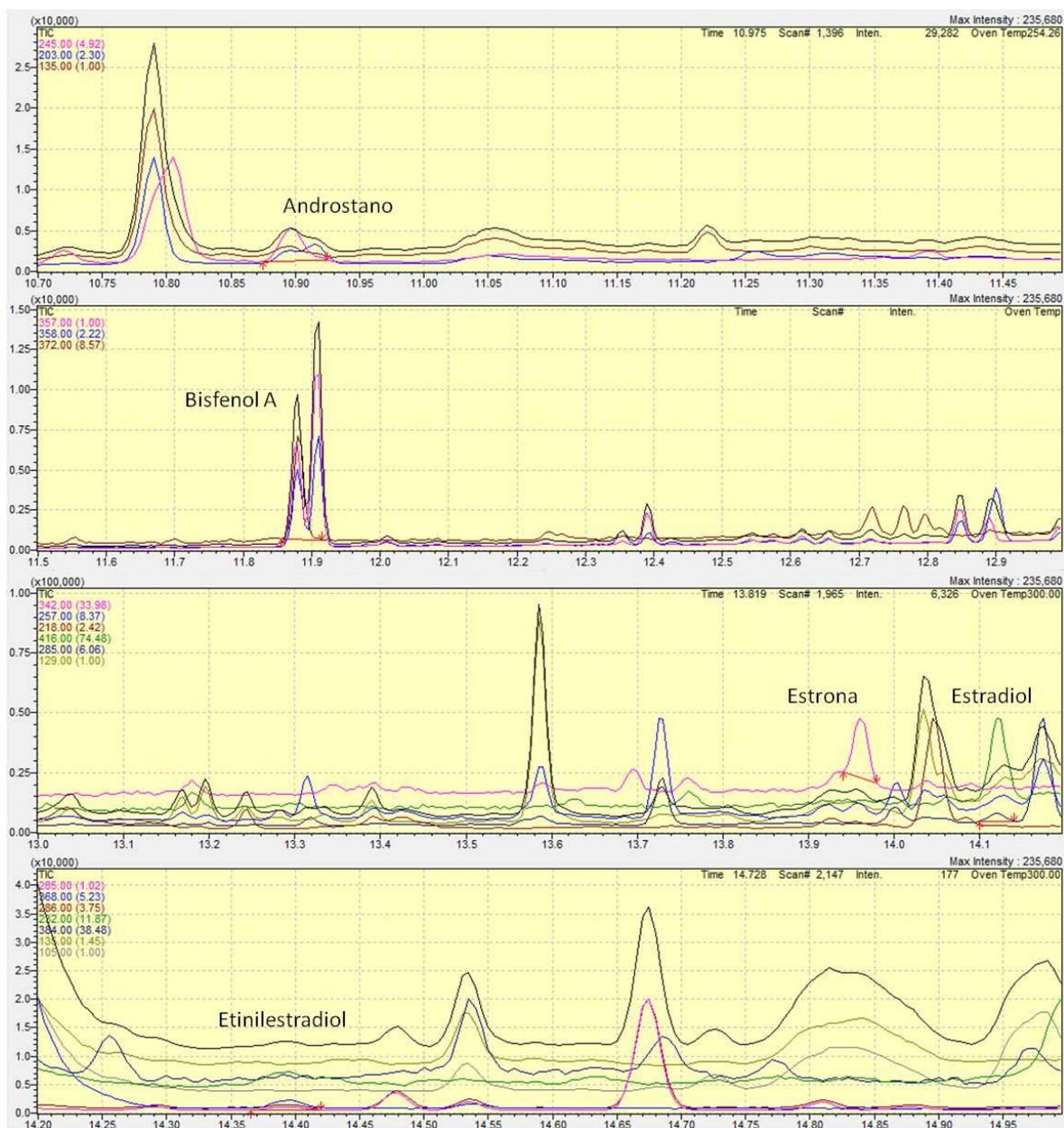


FIGURA 29. Cromatograma de dietilfthalato, nonilfenol, pentaclorofenol e dibutilfthalato na mistura de padrão com os 14 compostos estudados para a matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.



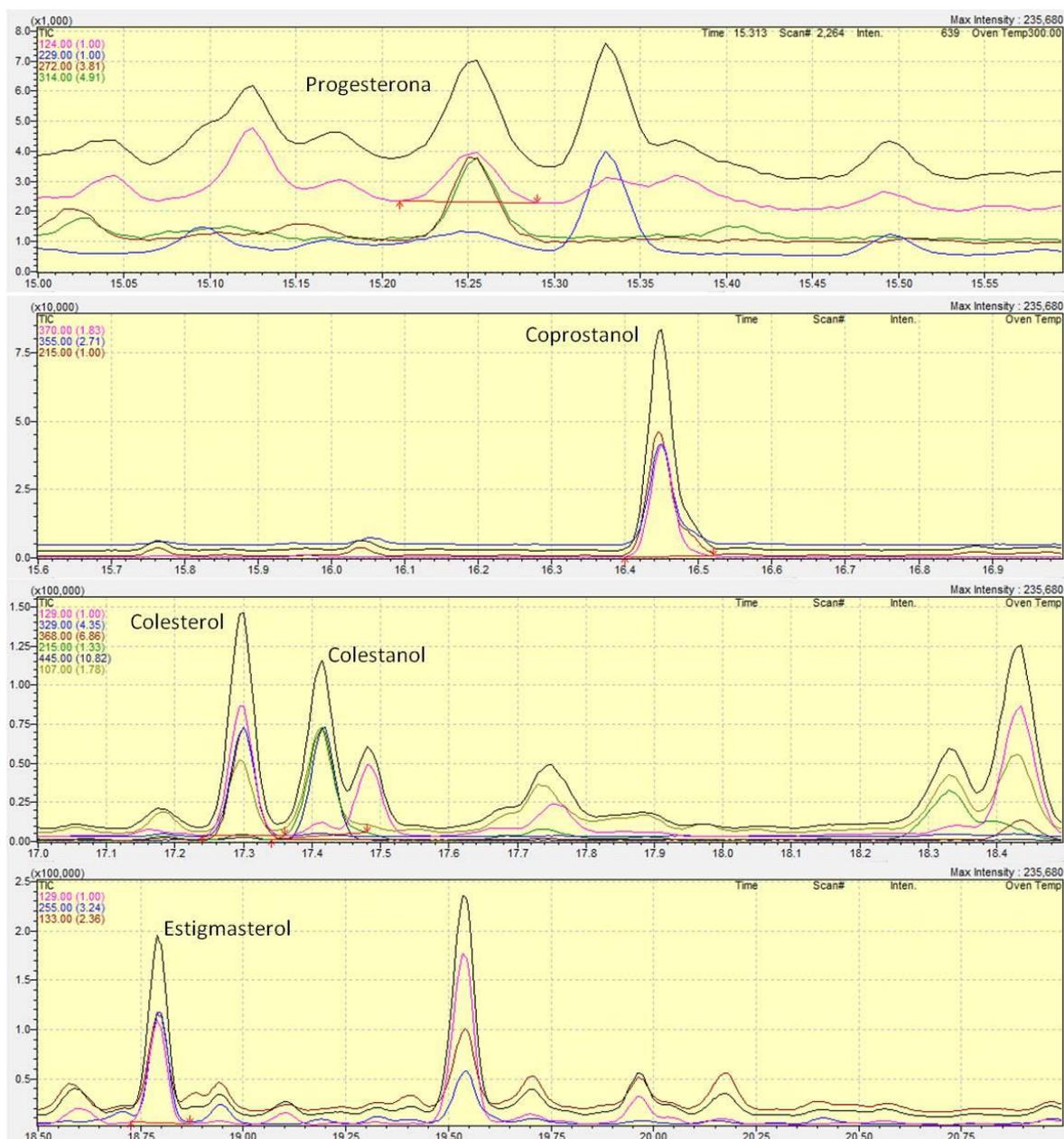


FIGURA 31. Cromatograma progesterona, coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol na mistura de padrão com os 14 compostos estudados para a matriz de sedimento superficial da Guarapiranga (continuação).

De acordo com a FIG. 31 observa-se boa seletividade para os esteróis (coprostanol, colestanol, colesterol e estigmasterol), apesar de o método não ter apresentado linearidade adequada na faixa de trabalho proposta, fato este que foi determinante para que fossem descartados do processo de validação. Os demais testes de validação foram realizados apenas com os outros 10 compostos.

Os valores de F e t calculados para a matriz de sedimento estão apresentados na TAB. 42 do Apêndice. Os resultados obtidos no teste F confirmaram que a matriz sedimento interfere na precisão das curvas para a maioria dos compostos como dietilftalato, dibutilftalato, androstano, estradiol e progesterona, sendo este comportamento semelhante ao observado no ensaio com matriz de água superficial. Para os compostos nonilfenol, pentaclorofenol, bisfenol A, estrona e etinilestradiol, os valores de F calculados também se apresentaram abaixo do valor de F tabelado para a maioria das concentrações da faixa de trabalho, sendo que para o pentaclorofenol, o valor de F calculado permaneceu abaixo do F tabelado para todas as concentrações. Os resultados do teste t, assim como no ensaio da matriz de água superficial, mostraram que a matriz interfere na quantificação das amostras.

Pelo teste t de inclinação e paralelismo (TAB. 21) observa-se que as curvas analíticas do bisfenol A e da estrona na matriz sedimento possuem inclinação estatisticamente igual às curvas analíticas desses mesmos compostos em ensaio sem matriz. No teste t do intercepto, os compostos dietilftalato, nonilfenol, dibutilftalato, estrona, etinilestradiol e progesterona apresentaram interceptos estatisticamente iguais entre o ensaio com e sem matriz.

TABELA 21. Resultado obtido no ensaio com matriz de Sedimento Superficial da Guarapiranga, no teste *t-Student* para a verificação da inclinação e paralelismo e do intercepto na análise de seletividade. O valor 2,179 é o valor crítico para 8 (n-1) graus de liberdade considerando os dois conjuntos (com e sem matriz) de dados com 95% de confiança.

Composto	Sedimento	
	Teste da Inclinação/Paralelismo	Teste do Intercepto
Dietilftalato	16,62	11,70
Nonilfenol	8,57	45,08
Pentaclorofenol	11,83	1,08
Dibutilftalato	38,20	2,78
Androstano	12,49	0,48
Bisfenol A	3,29	1,64
Estrona	2,66	2,39
Estradiol	7,42	0,79
Etinilestradiol	15,76	3,71
Progesterona	15,79	5,88

### Linearidade

Pela avaliação do coeficiente de determinação ( $r^2$ ) obtido pela regressão linear das curvas analíticas confeccionadas para cada composto na matriz, o método apresenta linearidade adequada na faixa de trabalho proposta. Na TAB. 22 estão apresentadas as faixas de trabalho de cada um dos compostos e seus respectivos coeficientes de determinação obtidos pelas curvas analíticas confeccionadas na matriz sedimento.

TABELA 22. Faixa de trabalho e valores de coeficiente de determinação dos compostos estudados para a matriz sedimento.

Composto	Faixa de trabalho ( $\text{ng g}^{-1}$ )		Equação da reta	$r^2$
	mínima	máxima		
Dietilftalato	1,6	32,0	$y = 1053,1x - 306,28$	0,992
Nonilfenol	2,4	21,0	$y = 320,73x + 7664$	0,987
Pentaclorofenol	1,6	24,3	$y = 84,553x - 39,796$	0,999
Dibutilftalato	1,6	24,7	$y = 1063,5x + 979,3$	0,972
Androstano	4,0	40,0	$y = 62,508x - 24,491$	0,996
Bisfenol A	1,4	20,7	$y = 45,884x - 42,111$	0,989
Estrona	1,0	14,4	$y = 117,63x - 78,062$	0,995
Estradiol	1,0	14,4	$y = 96,13x - 21,867$	0,996
Etinilestradiol	0,8	14,7	$y = 83,547x + 153,79$	0,950
Progesterona	9,6	84,0	$y = 49,897x + 754,72$	0,992

Assim como no ensaio com matriz de água superficial, discutido no item 5.1 desta tese, o gráfico resultante da análise de resíduos, apresentou

pontos fora da curva analítica, mas que não afetam de forma significativa o comportamento linear como demonstrado nos gráficos de probabilidade normalizada (FIG. 74 a 78 do Apêndice).

Na análise de variância, conforme os resultados apresentados na TAB. 23, observa-se que pelo teste de regressão e teste de ajuste, assim como no ensaio com água superficial, os dados obtidos possuem comportamento linear apesar da falta de ajuste ser evidenciada, que por sua vez foram satisfatoriamente explicadas pelos modelos lineares adotados e o mesmo se ajusta aos dados.

TABELA 23. Resumo dos resultados da análise de variância (ANOVA) para os compostos estudados na matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

Composto	F <sub>calculado</sub>		% de variação explicada	% máxima de variação explicável
	Regressão F <sub>2,13,95% tab. = 3,81</sub>	Ajuste F <sub>5,8,95% tab = 3,69</sub>		
Dietilftalato	831,71	80,58	99,2	100,0
Nonilfenol	535,22	34,81	98,8	99,9
Pentaclorofenol	5100,18	22,17	99,9	100,0
Dibutilftalato	215,71	34,37	97,1	99,9
Androstano	1302,16	19,55	99,5	100,0
Bisfenol A	561,86	22,68	98,9	99,9
Estrona	1323,19	4,27	99,5	99,9
Estradiol	1712,89	17,99	99,6	100,0
Etinilestradiol	124,80	138,87	95,0	99,9
Progesterona	652,37	7,61	99,0	99,8

Em suma, de acordo com os parâmetros avaliados, o método para determinação dos compostos de interesse na matriz sedimento é linear.

#### Limite de detecção e Limite de quantificação

Os LD e LQ obtidos para o método de sedimento estão apresentados a seguir na TAB. 24.

TABELA 24. Limites de detecção e limites de quantificação do método para os compostos avaliados em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

Composto	LD (ng g <sup>-1</sup> )	LQ (ng g <sup>-1</sup> )
Dietilftalato	0,3	2
Nonilfenol	0,7	3
Pentaclorofenol	0,1	2
Dibutilftalato	0,3	2
Androstano	0,2	4
Bisfenol A	0,1	2
Estrona	0,3	2
Estradiol	0,1	1
Etinilestradiol	0,2	1
Progesterona	1,7	12

### Exatidão e Tendência

Os valores de z obtidos no ensaio com matriz de sedimento superficial (TAB. 25), apresentaram-se abaixo de 2 para todos os compostos, exceto para o dietilftalato no nível baixo, sendo igual a 2,3 permanecendo na faixa ainda aceitável, porém questionável.

TABELA 25. Valores de z score para os compostos estudados no ensaio sem matriz e na matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

Composto	Matriz Sedimento		
	Baixa	Média	Alta
Dietilftalato	2,3	0,7	0,1
Nonilfenol	0,3	0,4	1,1
Pentaclorofenol	0,5	0,6	0,4
Dibutilftalato	1,2	1,4	1,1
Androstano	1,8	0,9	0,4
Bisfenol A	0,7	1,9	0,5
Estrona	0,7	0,2	0,6
Estradiol	1,9	0,2	0,6
Etinilestradiol	1,9	0,6	1,1
Progesterona	1,1	0,3	0,7

### Precisão

Os resultados do parâmetro precisão estão apresentados na TAB. 26, onde pode ser observado que todos os compostos apresentaram coeficiente de variação abaixo dos 20% e para nenhum dos compostos houve diferença entre as replicatas maior que os limites de repetibilidade estabelecidos. Portanto pode-se considerar que o método é preciso.

TABELA 26. Resumo dos resultados do teste de Reprodutibilidade, Repetibilidade e coeficiente de variação para os compostos estudados na matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

Composto	Reprodutibilidade - R			Repetibilidade - r			CV		
	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta	Baixa	Média	Alta
Dietilftalato	0,0002	0,0006	0,0012	0,0003	0,0011	0,0035	6	5	4
Nonilfenol	0,0004	0,0002	0,0010	0,0012	0,0005	0,0023	11	2	4
Pentaclorofenol	0,0000	0,0001	0,0008	0,0001	0,0003	0,0012	2	1	2
Dibutilftalato	0,0002	0,0012	0,0014	0,0003	0,0025	0,0035	8	12	5
Androstano	0,0001	0,0004	0,0013	0,0002	0,0008	0,0028	2	2	3
Bisfenol A	0,0000	0,0004	0,0008	0,0001	0,0010	0,0021	2	5	4
Estrona	0,0003	0,0004	0,0005	0,0004	0,0013	0,0016	12	10	4
Estradiol	0,0001	0,0001	0,0001	0,0002	0,0003	0,0004	6	2	1
Etinilestradiol	0,0003	0,0004	0,0006	0,0002	0,0007	0,0012	8	6	5
Progesterona	0,0002	0,0071	0,0077	0,0010	0,0130	0,0115	2	12	5

### Robustez

Os parâmetros selecionados para o ensaio de robustez na matriz de sedimento são os apresentados na TAB. 27.

TABELA 27. Parâmetros selecionados para o ensaio de robustez na matriz sedimento.

Fator	Nominal	Varição
Massa de sedimento	A 2 g	a 1 g
Tempo no shaker	B 3 h	b 1 h
Proporção de solventes	C mesma proporção 1:1:1	c 50% - 30% - 20%
Solventes	D ACN/Hexano/Acetona	d ACN+Hexano/Acetona
Tempo no ultrassom	E 1h30 min	e 45 min
Etapa do rotoevaporador	F com	f sem
Tempo entre derivatização e injeção	G 1 h	g 5 h

Da mesma forma que o ensaio de matriz de água superficial, foram realizados para a matriz de sedimento, os 8 experimentos conforme TAB. 11, apresentada no item 4.7 desta tese.

Nas FIG. 32 a 34 (FIG. 96 a 98 do Apêndice), podem ser observados os efeitos de cada parâmetro sobre os compostos e nas FIG. 99 a 103 do Apêndice, avaliam-se esses efeitos pelo gráfico de *rankit*.

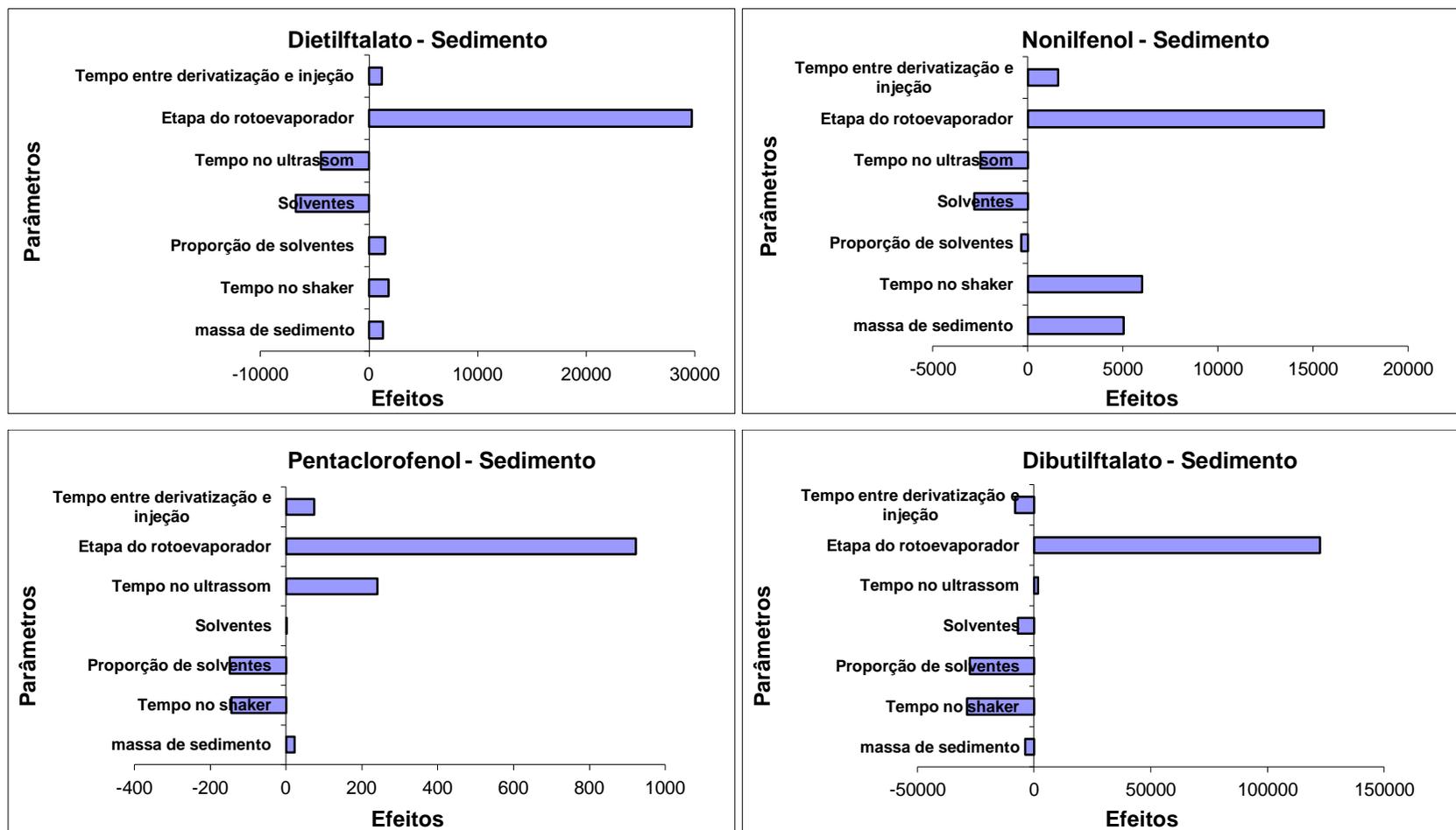


FIGURA 32. Gráficos para Dietilftalato, Nonilfenol, Pentaclorofenol e Dibutilftalato representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.

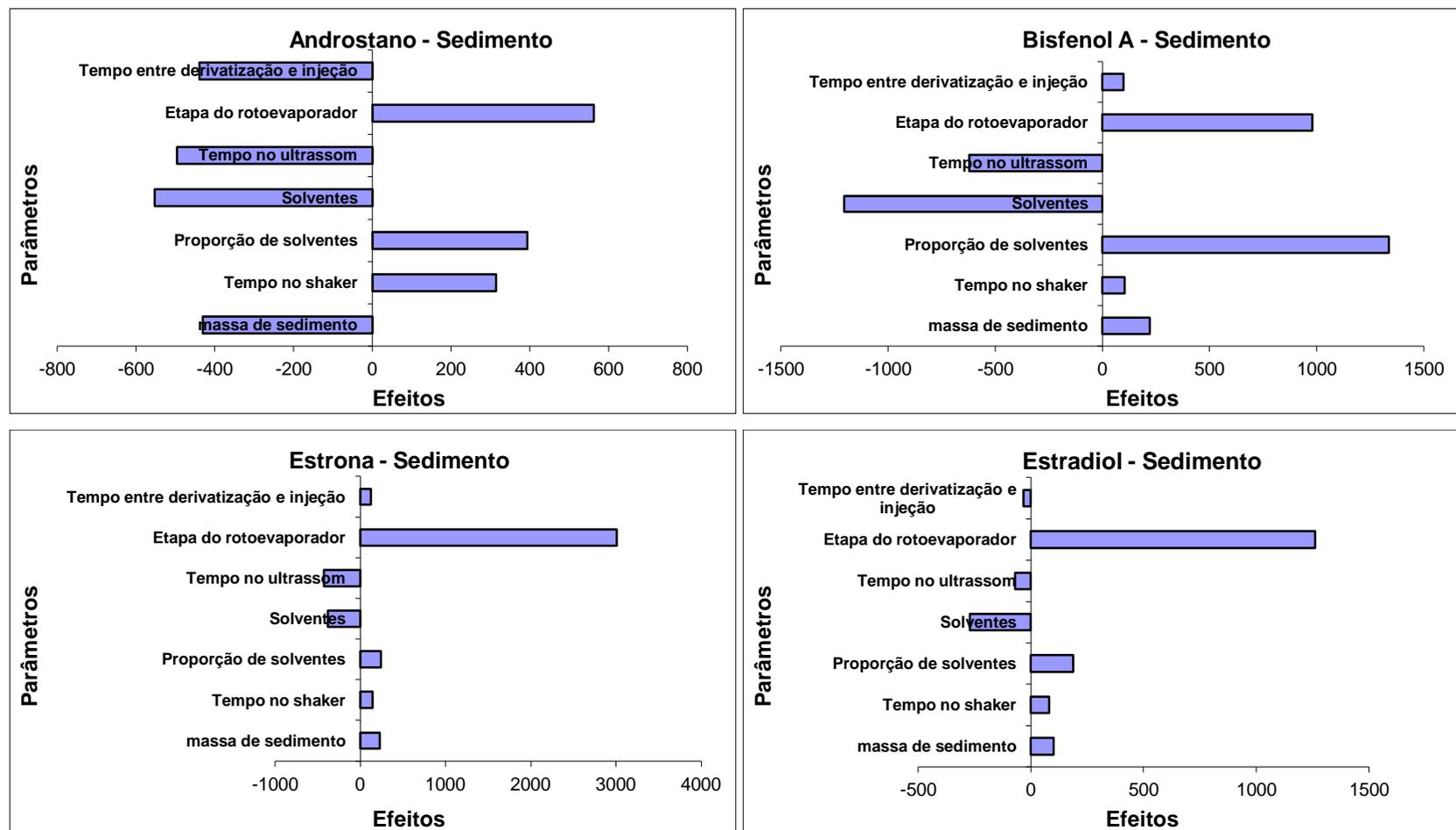


FIGURA 33. Gráficos para Androstano, Bisfenol A, Estrona e Estradiol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.

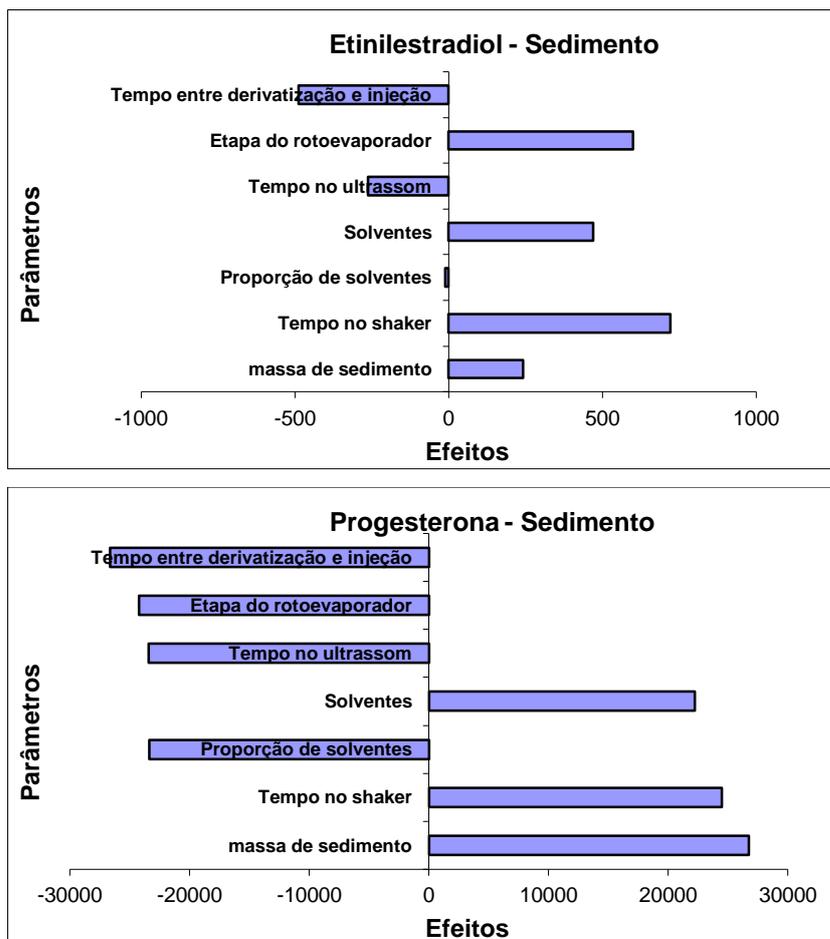


FIGURA 34. Gráficos para Etinilestradiol e Progesterona representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.

Os resultados dos efeitos dos parâmetros sobre os compostos estudados mostram que a “etapa do roto evaporador”, o “tempo no shaker” e a “massa de sedimento” foram os parâmetros com maior efeito positivo para a maioria dos compostos de interesse. Nesses casos, o estudo da robustez adotado sugere que, os valores nominais dos parâmetros podem favorecer a análise desses compostos.

Alguns compostos apresentaram efeitos do lado negativo do eixo para o parâmetro “tempo de ultrassom”, sendo este efeito mais acentuado para androstano, bisfenol A, etinilestradiol e progesterona, em que reduziu o tempo de extração no ultrassom. Também apresentaram efeitos negativos acentuados o dietilftalato, nonilfenol, androstano, bisfenol A, estrona e estradiol para o parâmetro “solventes”, quando houve uma alteração na ordem de entrada da mistura extratora. O parâmetro referente ao tempo entre a derivatização e a

injeção, apresentou efeito negativo para dibutilftalato, estradiol, etinilestradiol e progesterona, indicando que um intervalo de 5 horas favorece a detecção desses compostos. Esse comportamento perante a mudança do valor nominal indica um favorecimento na determinação destes compostos em relação à alteração. Dessa forma, para os parâmetros “tempo de ultrassom”, “solventes” e “tempo entre derivatização e injeção”, optou-se em utilizar os valores da variação, 45 minutos de extração em ultrassom, utilização de ACN seguido de Hexano/Acetona e injeção das amostras após 5 horas depois da derivatização.

De acordo com os gráficos de *Rankit* na FIG. 36 e 36, observa-se que a etapa do roto evaporador (F) é, dentre os fatores avaliados, o que causa maior influência sobre os compostos, pois seu efeito encontra-se muito próximo do valor ME (*margin of error*), chegando a ultrapassar o ME no caso dos compostos dietilftalato, pentaclorofenol, dibutilftalato, estrona e estradiol, ou seja, para esses compostos essa etapa é essencial.

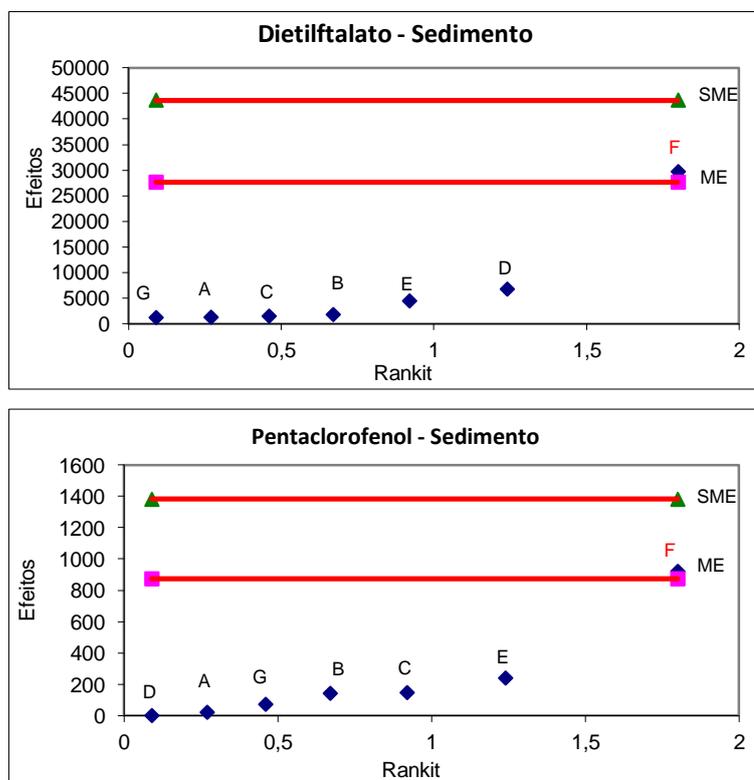


FIGURA 35. Gráficos de rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Dietilftalato e Pentaclorofenol.

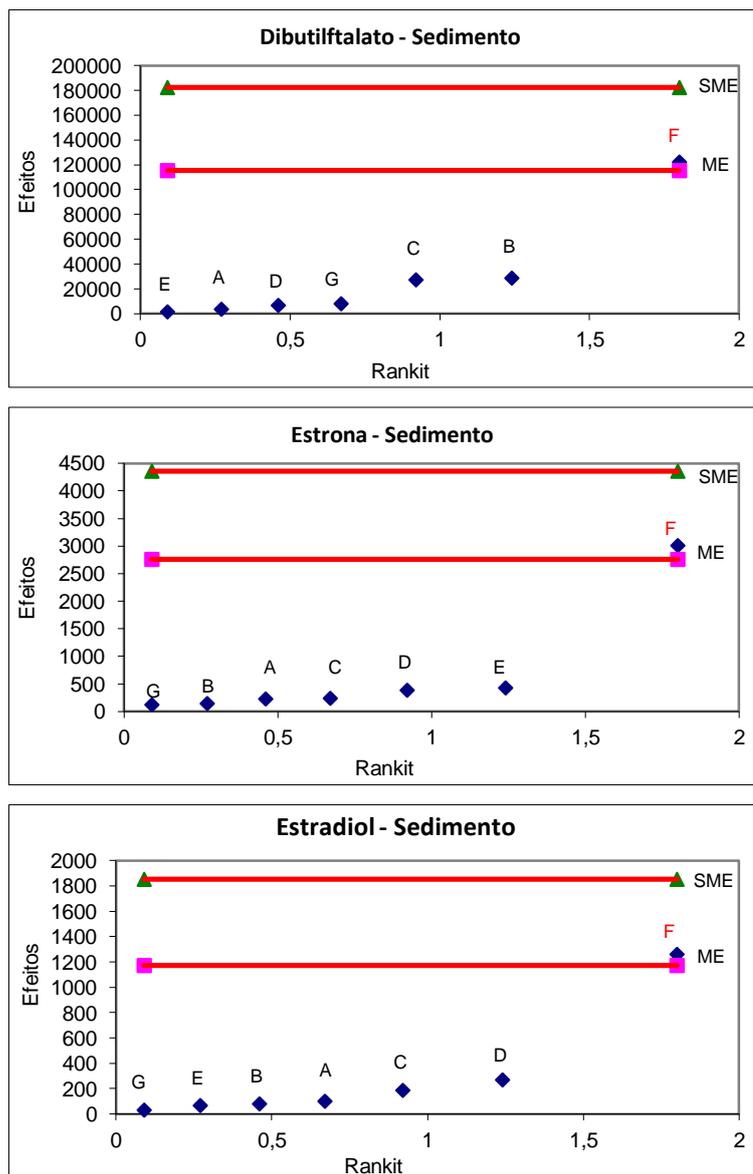


FIGURA 36. Gráficos de rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para Dibutilftalato, Estrona e Estradiol.

Por meio dos gráficos de probabilidade normal (FIG. 99 a 103 do Apêndice), observa-se que os resultados se comportaram de forma linear para todos os compostos, mantendo-se dentro do desvio de -2 a +2, significando, assim como para a matriz de água, que provavelmente não há *outliers*.

### Recuperação

O ensaio de recuperação para a matriz de sedimento também foi realizado nos três níveis de concentração, como recomenda o documento do INMETRO (2011). As concentrações e suas respectivas porcentagens de recuperação estão apresentadas na TAB. 28, onde fica demonstrado que para

todos os compostos e nos três níveis de concentração avaliados, a porcentagem recuperada permaneceu dentro da faixa de 50 a 120%, pois o sedimento é considerado uma matriz mais complexa que a água (Ribani, et al., 2004).

TABELA 28. Resultado dos testes de recuperação para os respectivos níveis de concentração em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

Dietilftalato				Bisfenol A			
Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	3	12	32	Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	3	14	27
Recuperação (%)	90	106	86	Recuperação (%)	79	88	99
Nonilfenol				Estrona			
Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	2	12	24	Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	2	10	19
Recuperação (%)	115	82	86	Recuperação (%)	70	75	89
Pentaclorofenol				Estradiol			
Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	3	16	32	Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	2	9	19
Recuperação (%)	80	51	53	Recuperação (%)	73	95	87
Dibutilftalato				Etinilestradiol			
Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	2	16	33	Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	2	8	17
Recuperação (%)	90	100	109	Recuperação (%)	72	58	72
Androstano				Progesterona			
Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	4	20	40	Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	10	48	95
Recuperação (%)	78	60	63	Recuperação (%)	103	93	84

#### Estimativa da Incerteza de medição

Assim como no método para determinação dos compostos de interesse em água superficial, na matriz sedimento, a estimativa da incerteza de medição foi calculada para a concentração média da faixa de trabalho de cada composto.

A estimativa da incerteza de medição para o método de extração dos compostos de interesse na matriz de sedimento considerou a massa de sedimento ( $\mu_{\text{msedto}}$ ) utilizada na extração como mais uma grandeza de entrada além da curva analítica, recuperação e volume final. A FIG. 37 apresenta a contribuição das grandezas de entrada sobre cada um dos compostos.

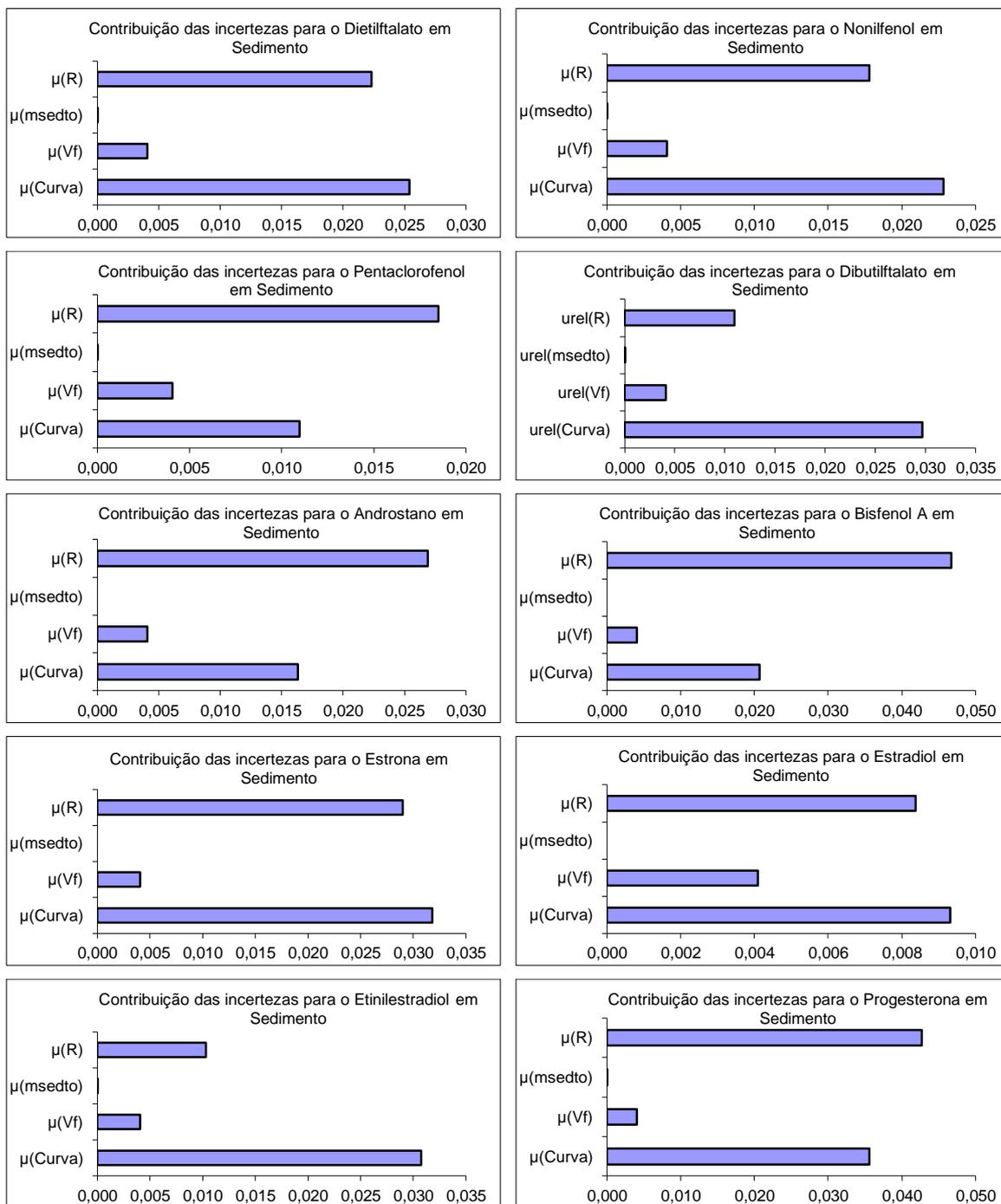


FIGURA 37. Representação gráfica das incertezas envolvidas na metodologia desenvolvida para determinação de Dibutilftalato, Androstano, Bisfenol A, Estrona, Estradiol, Etinilestradiol e Progesterona em Sedimento superficial da Guarapiranga.

Conforme pode ser observado, a maior contribuição da incerteza está relacionada à curva analítica e à recuperação. Nos gráficos de contribuição da incerteza, pode ser observado que a contribuição da incerteza relacionada à massa da amostra é desprezível podendo ser desconsiderada no cálculo da Incerteza expandida.

Os valores de incerteza expandida apresentados na TAB. 29, foram calculadas considerando o ponto médio da curva analítica, demonstrando que a faixa de variação da incerteza é de 6,5 a 13,5%, o que sugere uma contribuição dentro do esperado (Horwitz, 2006; Martins, 2014).

TABELA 29. Incerteza expandida de cada um dos compostos estudados em matrizes de sedimento superficial da Guarapiranga, considerando-se concentração equivalente ao ponto médio da curva.

Composto	Concentração (ng g <sup>-1</sup> )	Incerteza expandida	%
Dietilftalato	4,1	0,0003	6,58
Nonilfenol	20,7	0,0015	7,35
Pentaclorofenol	7,3	0,0003	4,38
Dibutilftalato	4,8	0,0006	13,52
Androstano	13,9	0,0013	9,02
Bisfenol A	3,7	0,0004	10,25
Estrona	2,8	0,0002	8,64
Estradiol	2,9	0,0002	7,11
Etinilestradiol	6,0	0,0004	6,54
Progesterona	27,6	0,0026	9,57

### 5.3. Análise das Amostras de Água Superficial

Os resultados obtidos pela quantificação das amostras coletadas entre 2011 a 2014 são apresentados a seguir. As amostras coletadas no ano de 2011, março e agosto, foram analisadas com os 3 métodos que analisavam, os hormônios (Otomo, 2010), os xenoestrógenos (Souza, 2011) e os esteróis (Oliveira, 2012) separadamente. Porém, os esteróis foram analisados somente a partir da coleta de agosto de 2011. As amostras coletadas em 2012, foram analisadas com o método otimizado e devidamente validado. As amostras de 2014 foram analisadas com o GC/MS adquirido em 2013. Os LDs e LQs utilizados em cada uma das coletas estão relacionados na TAB. 30 a seguir.

TABELA 30. Relação dos valores de LDs e LQs determinados para os diferentes métodos, aplicados em períodos distintos de amostragem de água superficial ( $\text{ng L}^{-1}$ )

Composto	Para amostras de 2011		Para amostras de 2012		Para amostras de 2014	
	LD <sup>1</sup>	LQ <sup>1</sup>	LD <sup>2</sup>	LQ <sup>2</sup>	LD <sup>3</sup>	LQ <sup>3</sup>
Dietilftalato	4,0	10,0	0,4	4,7	0,4	1,7
Nonilfenol	20,0	60,0	0,8	5,2	0,6	2,4
Pentaclorofenol	13,0	114,0	0,2	2,4	0,2	1,9
Dibutilftalato	8,0	50,0	2,7	11,8	0,6	1,7
Androstano	15,0	82,0	0,4	9,3	0,3	4,7
Bisfenol A	26,0	158,0	4,1	13,4	0,1	1,4
Estrona	72,0	561,0	1,7	31,5	0,5	1,5
Estradiol	89,0	552,0	0,5	32,7	0,2	1,4
Etinilestradiol	47,0	567,0	2,7	52,5	0,2	1,2
Progesterona	65,0	525,0	20,0	155,5	0,7	11,2
Coprostanol	29,0	215,0	2,6	38,0	0,2	3,9
Colesterol	80,0	250,0	23,0	131,7	0,6	2,2
Colestanol	32,0	162,0	3,0	28,7	0,2	2,2
Estigmasterol	31,0	134,0	4,5	31,1	0,5	3,9

<sup>1</sup> analisadas com os 3 métodos separadamente no GC/MS antigo

<sup>2</sup> analisadas com o método otimizado e devidamente validado para o GC/MS antigo

<sup>3</sup> analisadas com o método otimizado e devidamente validado para o GC/MS novo adquirido em 2013

A seguir estão apresentados os resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial coletadas durante o período estudado (TAB. 31 a 34).

TABELA 31. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta: março/2011.

Compostos (LQ)	Pontos amostrados													
	G000-01 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-02 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-03 (ng L <sup>-1</sup> )	G106-04 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-05 (ng L <sup>-1</sup> )	G107-06 (ng L <sup>-1</sup> )	G108-07 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-08 (ng L <sup>-1</sup> )	G109-09 (ng L <sup>-1</sup> )	G105-10 (ng L <sup>-1</sup> )	G104-11 (ng L <sup>-1</sup> )	G103-12 (ng L <sup>-1</sup> )	G102-13 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-14 (ng L <sup>-1</sup> )
Dietilftalato (10 ng L <sup>-1</sup> )	101±6	93±7	107±8	109±6	141±8	150±11	84±6	133±8	176±9	149±18	127±8	298±54	142±8	117±11
Nonilfenol (60 ng L <sup>-1</sup> )	405±30	365±67	425±72	429±32	642±109	712±55	349±54	724±89	654±109	532±50	587±44	863±84	548±45	558±81
Pentaclorofenol (114 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Dibutilftalato (50 ng L <sup>-1</sup> )	1531±140	1488±120	1771±72	2199±261	5372±356	3339±228	631±28	2281±160	2557±97	2791±441	2458±149	3361±517	2498±421	2264±82
Androstano (82 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Bisfenol A (158 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ	< LQ	< LQ	324±34	< LQ	250±33	< LQ	< LQ						
Estrona (561 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Estradiol (552 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Etinilestradiol (567 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Progesterona (525 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Coprostanol (-)	n.a.													
Colesterol (-)	n.a.													
Colestanol (-)	n.a.													
Estigmasterol (-)	n.a.													

LQ = Limite de Quantificação

n.a. = não analisado

TABELA 32. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta: agosto/2011.

Compostos (LQ)	Pontos amostrados													
	G000-01 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-02 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-03 (ng L <sup>-1</sup> )	G106-04 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-05 (ng L <sup>-1</sup> )	G107-06 (ng L <sup>-1</sup> )	G108-07 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-08 (ng L <sup>-1</sup> )	G109-09 (ng L <sup>-1</sup> )	G105-10 (ng L <sup>-1</sup> )	G104-11 (ng L <sup>-1</sup> )	G103-12 (ng L <sup>-1</sup> )	G102-13 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-14 (ng L <sup>-1</sup> )
Dietilftalato (10 ng L <sup>-1</sup> )	494±55	559±28	326±39	365±37	906±115	859±136	1307±218	899±72	1276±78	1062±93	1071±131	1881±197	1278±99	700±100
Nonilfenol (60 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	1880±166	2909±365	3880±417	2167±166	2359±173	2718±293	2492±183	3327±250	2401±302	1591±160
Pentaclorofenol (114 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Dibutilftalato (50 ng L <sup>-1</sup> )	923±183	938±60	460±55	510±52	3458±232	1437±226	4409±738	2990±276	5694±306	9148±943	5569±782	12921±541	7056±545	4023±477
Androstano (82 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Bisfenol A (158 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ	287±27	334±39	369±37	436±101	677±145	1061±148	< LQ						
Estrona (561 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Estradiol (552 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Etinilestradiol (567 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Progesterona (525 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Coprostanol (215 ng L <sup>-1</sup> )	810±40	1450±140	700±150	720±130	980±100	530±80	880±120	< LQ	110±15	< LQ	690±130	690±110	461±80	509±158
Colesterol (250 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ	918±23	876±121	1384±133	< LQ	570±60	1915±169	2496±240						
Colestanol (162 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Estigmasterol (134 ng L <sup>-1</sup> )	220±10	210±10	170±20	1290±150	170±20	140±10	< LQ	168±20	< LQ	323±19	140±10	290±30	291±8	279±50

LQ = Limite de Quantificação

TABELA 33. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta: setembro/2012.

Compostos (LQ)	Pontos amostrados													
	G000-01 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-02 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-03 (ng L <sup>-1</sup> )	G106-04 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-05 (ng L <sup>-1</sup> )	G107-06 (ng L <sup>-1</sup> )	G108-07 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-08 (ng L <sup>-1</sup> )	G109-09 (ng L <sup>-1</sup> )	G105-10 (ng L <sup>-1</sup> )	G104-11 (ng L <sup>-1</sup> )	G103-12 (ng L <sup>-1</sup> )	G102-13 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-14 (ng L <sup>-1</sup> )
Dietilftalato (4,7 ng L <sup>-1</sup> )	84±9	136±15	81±10	134±25	112±12	94±9	73±7	29±3	68±7	52±5	80±9	79±13	98±11	56±11
Nonilfenol (5,2 ng L <sup>-1</sup> )	505±99	538±118	415±84	441±85	414±83	351±69	391±78	422±82	273±53	345±67	385±75	506±107	252±49	366±72
Pentaclorofenol (2,4 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ	6,1±0,4	< LQ											
Dibutilftalato (11,8 ng L <sup>-1</sup> )	109±21	105±19	81±14	104±18	96±16	62±11	51±9	48±8	63±11	121±21	143±26	304±51	96±16	346±60
Androstano (9,3 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Bisfenol A (13,4 ng L <sup>-1</sup> )	75±8	40±8	27±3	25±4	35±3	27±2	45±4	46±4	23±3	25±3	29±3	107±10	28±2	36±3
Estrona (31,5 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Estradiol (32,7 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Etinilestradiol (52,5 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Progesterona (155,5 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Coprostanol (38,0 ng L <sup>-1</sup> )	56±6	50±5	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	102±6	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	384±66	< LQ	< LQ
Colesterol (131,7 ng L <sup>-1</sup> )	8154±1166	12818±1469	6991±610	< LQ	2883±267	2069±225	3157±240	3806±289	491±49	5551±416	6997±527	< LQ	3659±274	2410±186
Colestanol (28,7 ng L <sup>-1</sup> )	39±4	45±5	< LQ	< LQ	< LQ	57±10	114±12	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	90±10	< LQ	< LQ
Estigmasterol (31,1 ng L <sup>-1</sup> )	989±129	2082±286	1084±130	222±25	203±23	311±26	969±115	2116±244	189±21	149±18	219±33	584±67	192±22	147±17

LQ = Limite de Quantificação

TABELA 34. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta: outubro/2014.

Compostos (LQ)	Pontos amostrados													
	G000-01 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-02 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-03 (ng L <sup>-1</sup> )	G106-04 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-05 (ng L <sup>-1</sup> )	G107-06 (ng L <sup>-1</sup> )	G108-07 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-08 (ng L <sup>-1</sup> )	G109-09 (ng L <sup>-1</sup> )	G105-10 (ng L <sup>-1</sup> )	G104-11 (ng L <sup>-1</sup> )	G103-12 (ng L <sup>-1</sup> )	G102-13 (ng L <sup>-1</sup> )	G000-14 (ng L <sup>-1</sup> )
Dietilftalato (1,7 ng L <sup>-1</sup> )	31±3	34±3	21±2	12±0,5	12±1	30±3	12±0,4	10±0,5	9±0,3	10±1	7±0,4	11±0,5	7±0,3	9±0,4
Nonilfenol (2,4 ng L <sup>-1</sup> )	16±3	20±3	16±2	14±2	18±2	21±2	15±2	18±2	16±2	19±2	21±3	29±3	28±3	15±2
Pentaclorofenol (1,9 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Dibutilftalato (1,7 ng L <sup>-1</sup> )	42±8	35±6	28±5	23±4	19±4	63±12	32±6	11±1	10±1	24±4	9±1	11±1	11±1	20±4
Androstano (4,7 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Bisfenol A (1,4 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ	3±1	7±1	< LQ	9±1	9±1	16±1	< LQ	< LQ	< LQ	2±0,3	2±0,4	< LQ	2±0,3
Estrona (1,5 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Estradiol (1,4 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Etinilestradiol (1,2 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Progesterona (11,2 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Coprostanol (3,9 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Colesterol (2,2 ng L <sup>-1</sup> )	24±4	28±5	29±2	13±2	18±3	23±4	10±2	23±4	22±2	30±2	28±2	56±4	36±3	19±4
Colestanol (2,2 ng L <sup>-1</sup> )	< LQ													
Estigmasterol (3,9 ng L <sup>-1</sup> )	29±4	32±4	33±4	16±2	25±4	23±3	19±3	53±7	38±5	77±	38±5	114±15	90±12	46±6

LQ = Limite de Quantificação

A seguir são apresentados na forma de gráficos, a distribuição espacial dos compostos IEs observados na represa Guarapiranga no período de estudo.

A FIG. 38 apresenta os resultados da coleta de março de 2011 e a FIG. 39 apresenta os resultados da coleta de agosto do mesmo ano, onde foram quantificados o dietilftalato, nonilfenol, dibutilftalato e bisfenol A.

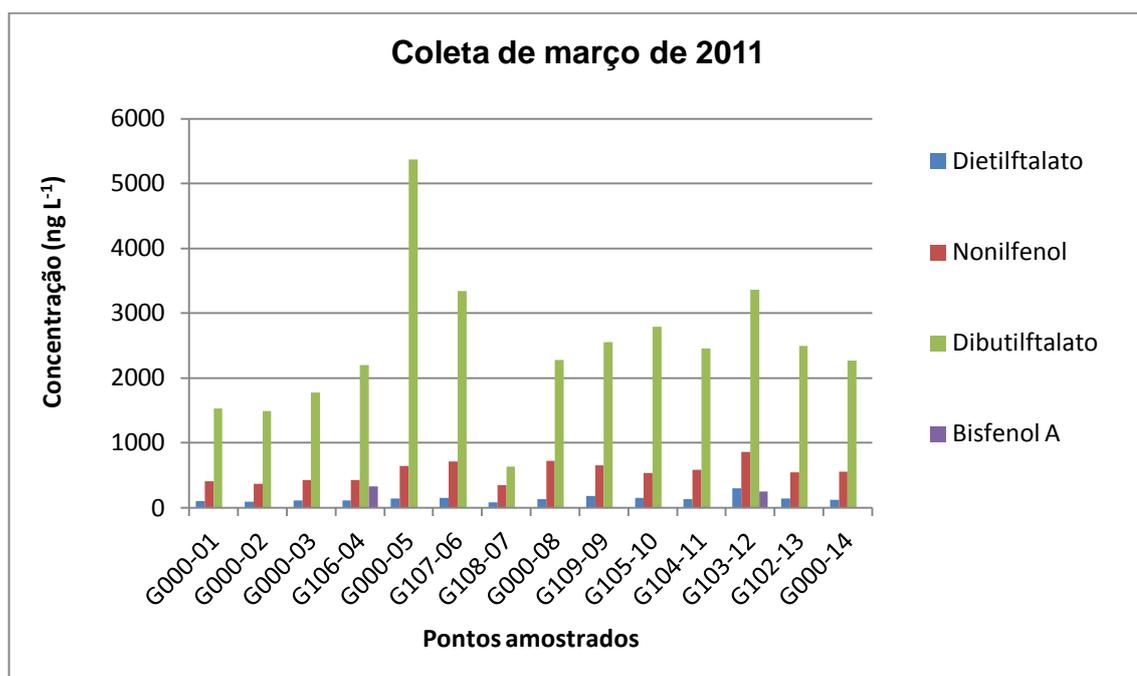


FIGURA 38. Distribuição espacial dos compostos IEs em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de março de 2011.

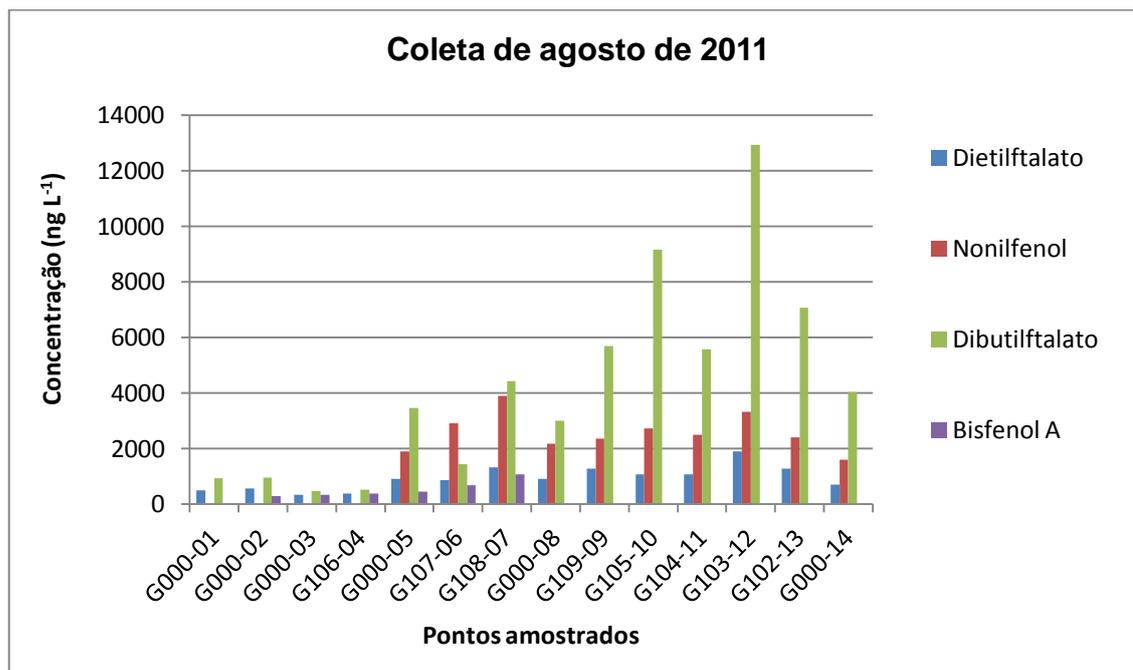


FIGURA 39. Distribuição espacial dos compostos IEs em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de agosto de 2011.

O dibutilftalato foi o composto que esteve presente em todos os pontos amostrados tanto na coleta de março quanto na de agosto de 2011, com concentração máxima de  $12921 \pm 541$  ng L<sup>-1</sup> no ponto G103-12 em agosto de 2011. O nonilfenol também esteve presente em todos os pontos amostrados na coleta de março de 2011, sendo o segundo em maior concentração com  $863 \pm 84$  ng L<sup>-1</sup> também no ponto G103-12.

A distribuição espacial dos compostos IEs determinados na represa Guarapiranga, referente à coleta das amostras de setembro de 2012, estão apresentados no gráfico da FIG. 40.

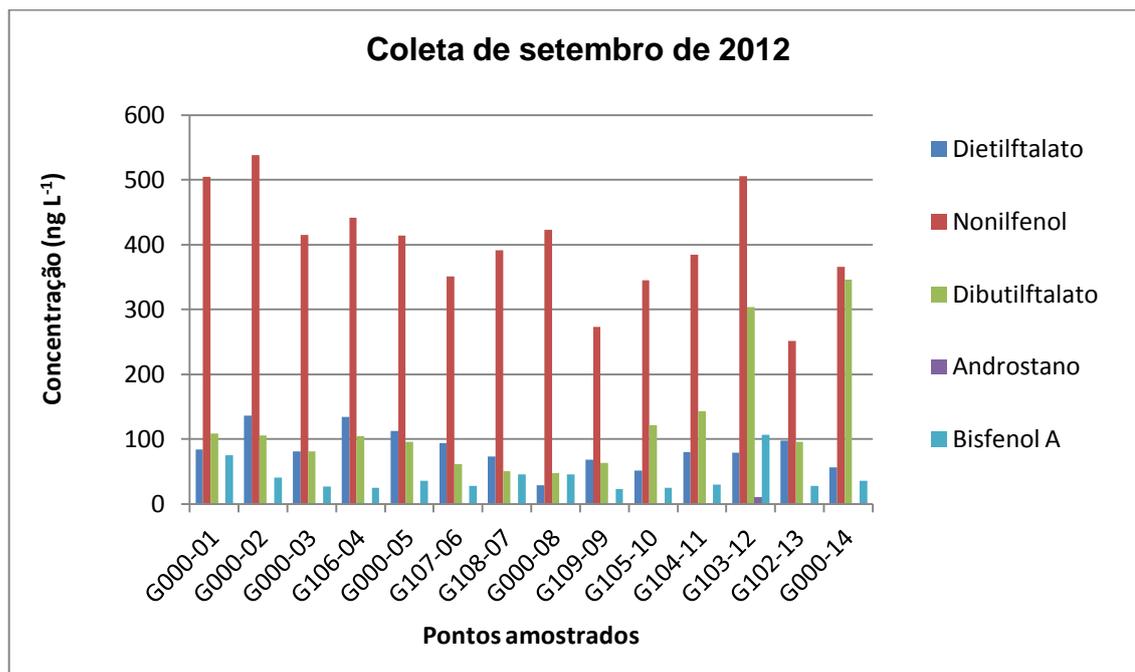


FIGURA 40. Distribuição espacial dos compostos IEs em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de setembro de 2012.

Na coleta de setembro de 2012 o ponto G103-12 foi novamente o ponto amostrado que apresentou uma das concentrações mais elevadas de poluentes, repetindo os compostos que apresentaram maior destaque nas coletas de 2011, sendo o nonilfenol  $506 \pm 107$  ng L<sup>-1</sup> e dibutilftalato com  $304 \pm 51$  ng L<sup>-1</sup>.

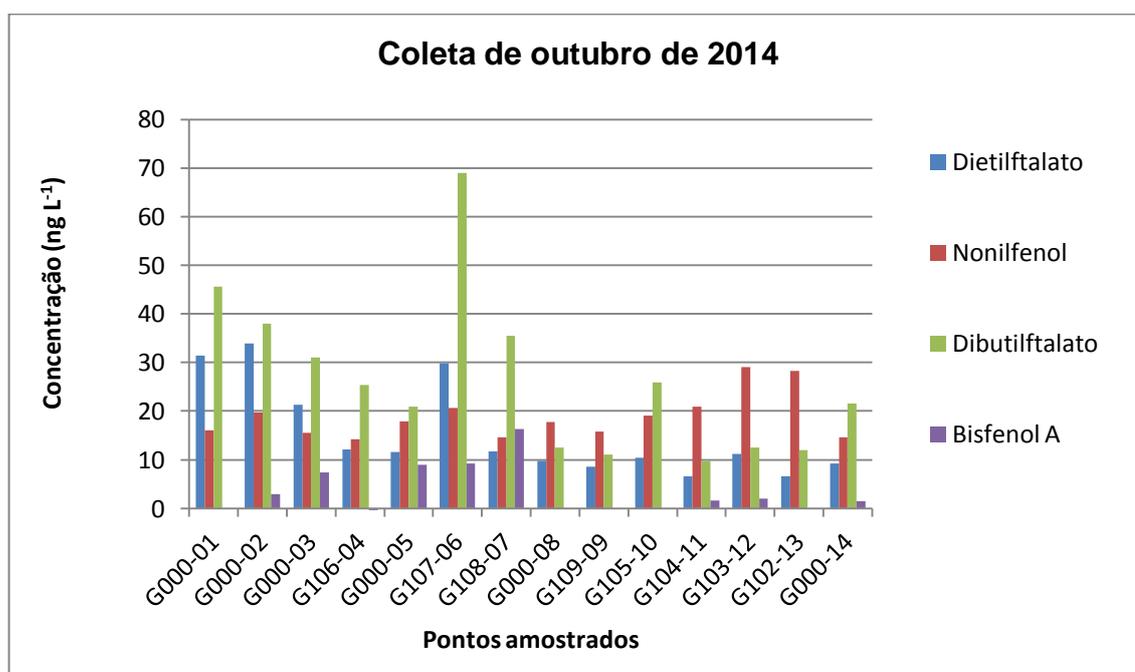


FIGURA 41. Distribuição espacial dos compostos IEs em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de outubro de 2014.

Os resultados obtidos pela quantificação das amostras coletadas em outubro de 2014 (FIG. 41), apresentaram maior concentração dibutilftalato ( $69\pm 13$  ng L<sup>-1</sup> no G107-06) e nonilfenol ( $29\pm 3$  ng L<sup>-1</sup> no G103-12).

Os resultados obtidos pela avaliação dos esteróis foram reportados separadamente devido à grande diferença em suas concentrações quando comparadas as concentrações dos compostos do grupo dos xenoestrógenos, dificultando a visualização em cada ponto amostrado. Assim, os resultados obtidos estão apresentados nos gráficos a seguir (FIG. 42 a 44).

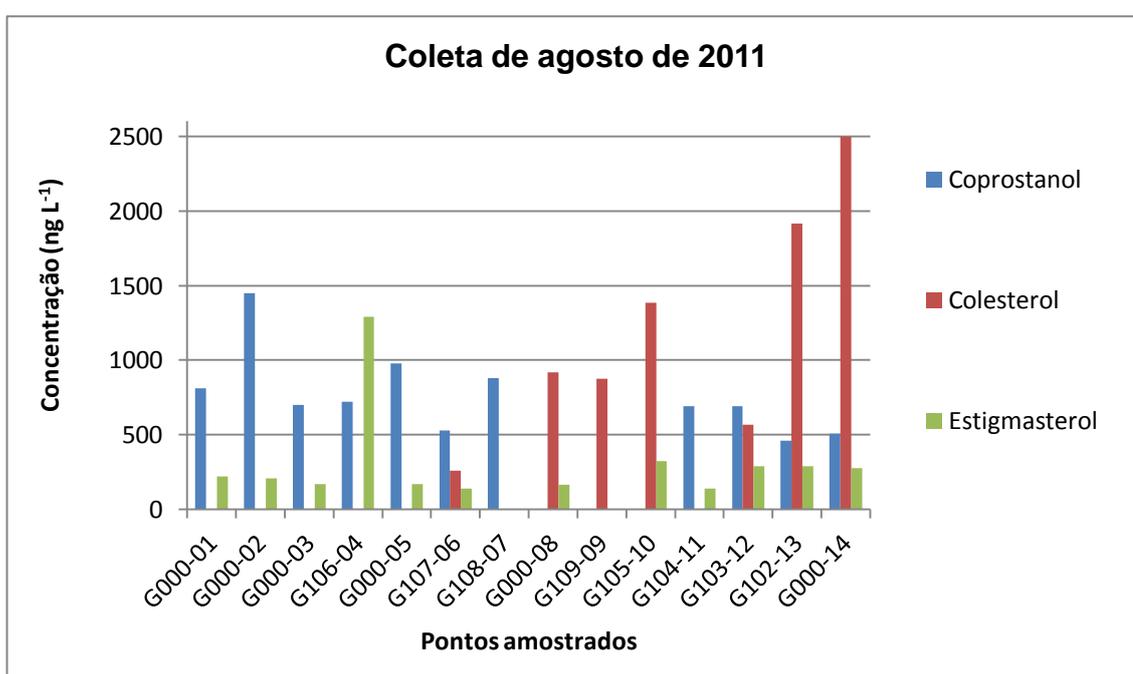


FIGURA 42. Distribuição espacial dos esteróis em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de agosto de 2011

Em agosto de 2011 foram quantificados 3 dos quatro esteróis avaliados, o colestanol permaneceu abaixo do limite de detecção em todos os pontos.

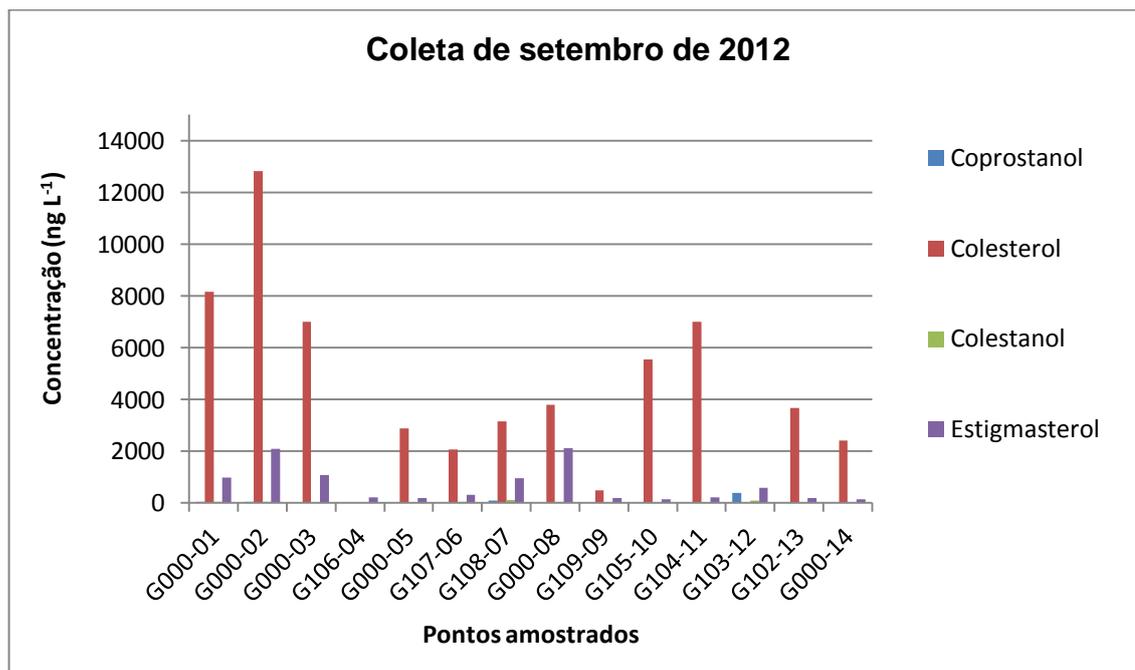


FIGURA 43. Distribuição espacial dos esteróis em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de setembro de 2012.

A coleta de 2012 foi a que apresentou maior incidência de esteróis nas amostras. Todos os esteróis foram quantificados pelo menos uma vez e ocorrendo quase em todos os pontos.

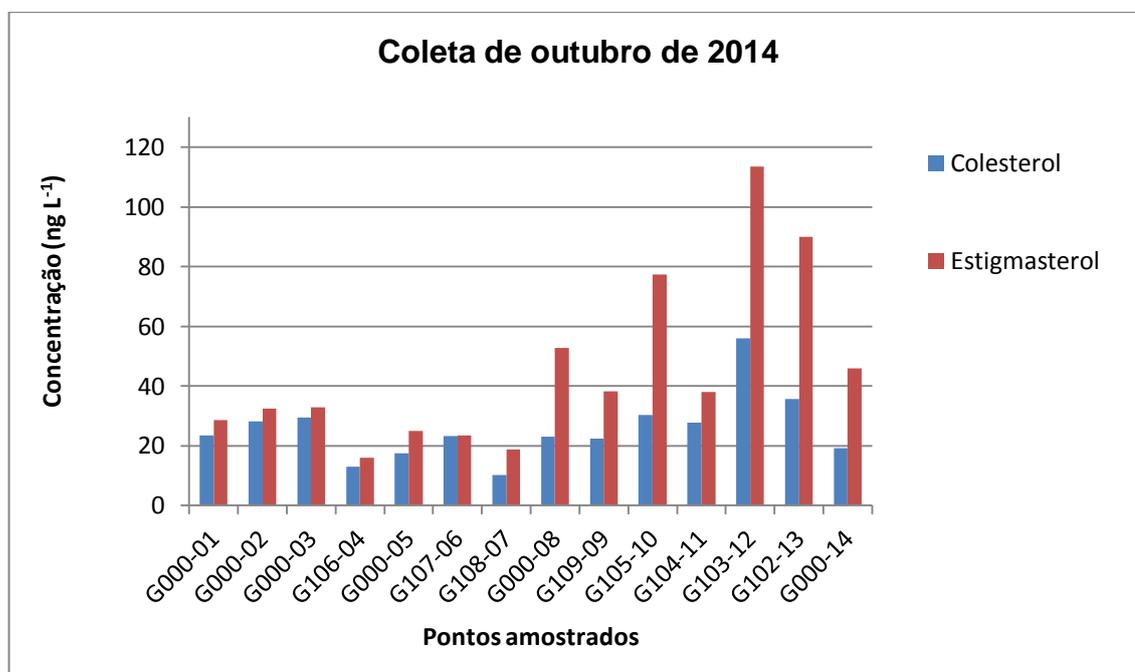


FIGURA 44. Distribuição espacial dos esteróis em amostras de água superficial da represa Guarapiranga, coleta de outubro de 2014.

Nas amostras de outubro de 2014, foram quantificados colesterol e estigmasterol em todos os pontos amostrados. Observa-se, na FIG. 44, uma concentração mais elevada do estigmasterol em relação ao colesterol.

Pela avaliação dos esteróis, observou-se que no ponto G103-12, aparentemente o ponto mais crítico da represa, encontra-se a maior concentração de coprostanol em relação aos outros pontos, com  $384 \pm 66 \text{ ng L}^{-1}$  neste mesmo período. O coprostanol é um importante marcador fecal que tem origem exclusivamente antrópica (Martins, et al., 2008; Oliveira, 2012).

Para a maioria dos compostos analisados neste trabalho, não há legislação que estabeleça limites permissíveis. Atualmente, a União Europeia (UE) e a Organização Mundial da Saúde (WHO) estabeleceram limite de  $8000 \text{ ng L}^{-1}$  para presença do dietilhexilftalato (DEHP) (produzido em maior escala em relação a outros ftalatos) em água potável. No Brasil, o Ministério da Saúde adotou esse mesmo limite para o DEHP na Portaria 2914 de 2011. A USEPA (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) regulamenta um valor máximo de  $6000 \text{ ng L}^{-1}$  para esse mesmo composto através do *Safe Drinking Water Act* (Serôdio & Nogueira, 2006). Porém, em todas as regulamentações citadas para o DEHP referem-se a padrões de potabilidade e não de águas superficiais. No Canadá é aceito um valor máximo de  $16000 \text{ ng L}^{-1}$  de DBP e  $1000 \text{ ng L}^{-1}$  para Nonilfenol em águas superficiais (CCME, 2014). Considerando o limite apresentado, o nonilfenol excedeu o limite canadense em mais de 70% das amostras coletadas em agosto.

Nas últimas décadas, muitos estudos avaliaram os interferentes endócrinos, bem como os compostos químicos marcadores de atividade antropogênica em diversas matrizes como água superficial de corpos hídricos destinados ao abastecimento público de uma região, afluentes e efluentes de estações de tratamento de esgoto e de água, corpos hídricos de conhecida situação de degradação entre outros. Alguns estudos referentes ao que foi citado estão apresentados na TAB. 35, com trabalhos realizados em território nacional e em diversos países.

TABELA 35. Comparativo dos resultados obtidos neste estudo, para matriz de água superficial, com estudos da literatura consultada. As concentrações estão apresentadas em ng L<sup>-1</sup>

Compostos	Faixas de Concentração em ng L <sup>-1</sup>							
	Guarapiranga (min. – max.)	Literatura consultada						
Dietilftalato	7 - 1881	15 - 320 <sup>1</sup>	< 1 - 16,8 <sup>2</sup>	150 - 980 <sup>3</sup>	< 120 - 3200 <sup>4</sup>			
Nonilfenol	14 - 3880	48,8 - 72,3 <sup>5</sup>	< 0,01 - 4,4 <sup>6</sup>	28,1 - 8890 <sup>7</sup>	6,7 - 134 <sup>8</sup>	3,34 - 228 <sup>9</sup>	300 - 30000 <sup>10</sup>	120 - 150 <sup>3</sup>
Dibutilftalato	10 - 12921	940 - 3600 <sup>1</sup>	< 30 - 33100 <sup>11</sup>	1,66 - 37,9 <sup>2</sup>	390 - 2400 <sup>4</sup>			
Bisfenol A	< 0,1 - 1061	69,3 <sup>6</sup>	< 38 - 13016 <sup>11</sup>	229 - 690 <sup>12</sup>	2,2 - 1030 <sup>7</sup>	0,5 - 14 <sup>8</sup>	200 - 4000 <sup>10</sup>	< 2300 - 64200 <sup>4</sup>
Coprostanol	< 0,2 - 1450	5200 - 40900 <sup>4</sup>	< 210 a 1010 <sup>13</sup>	4000 - 26700 <sup>14</sup>	< 50 a 1730 <sup>15</sup>	8700 <sup>16</sup>	340 a 3620 <sup>17</sup>	97100 <sup>18</sup>
Colesterol	10 - 12818	8800 - 301000 <sup>4</sup>	< 250 a 1830 <sup>13</sup>	52000 - 59900 <sup>14</sup>	< 50 a 2140 <sup>15</sup>	220 - 58200 <sup>19</sup>		
Colestanol	< 0,5 - 114	< 3000 - 46000 <sup>4</sup>	< 120 a 600 <sup>13</sup>	60 a 420 <sup>15</sup>				
Estigmasterol	16 - 2116	< 4500 - 85000 <sup>4</sup>	< 130 a 220 <sup>13</sup>	1800 - 7500 <sup>14</sup>	< 50 a 7200 <sup>15</sup>			

<sup>1</sup>China (Zeng, et al., 2008); <sup>2</sup>Brasil (Rio de Janeiro) (Loureiro, 2002); <sup>3</sup>Espanha (Zafra-Gómez, et al., 2008); <sup>4</sup>Brasil (Campinas) (Ghiselli, 2006); <sup>5</sup>Nigéria (Oketola & Fagbemigun, 2013); <sup>6</sup>Reino Unido (Hibberd, 2010); <sup>7</sup>China (Zhao, et al., 2009); <sup>8</sup>Alemanha (Kuch & Ballschmiter, 2001); <sup>9</sup>Brasil (Campinas) (Gerolin, 2005); <sup>10</sup>Portugal (Azevedo, et al., 2001); <sup>11</sup>Brasil (Campinas) (Raimundo, 2007); <sup>12</sup>China (Wang, et al., 2012); <sup>13</sup>Brasil (São Paulo) (Oliveira, 2012); <sup>14</sup>Malásia (Saim, et al., 2009); <sup>15</sup>Brasil (Alagoas) (Costa, 2011); <sup>16</sup>Itália (Gilli, 2006); <sup>17</sup>Austrália (Ahmed, 2011); <sup>18</sup>Vietnã (Isobe, et al., 2004); <sup>19</sup>Canadá (Furtula, et al., 2012).

Os resultados obtidos pela avaliação das amostras coletadas na represa Guarapiranga apresentados na TAB. 35 são referentes somente aos compostos que puderam ser quantificados pelo menos uma vez durante o período de 2011 a 2014. As concentrações de DEP e DBP observadas no presente estudo estão situadas na mesma faixa de concentração observada em outros estudos realizados tanto no Brasil como em outros países. Trabalhos consultados na literatura associam as elevadas concentrações desses compostos à aproximação dos pontos de coleta com descartes de estações de tratamento de efluentes industriais e proximidade com regiões urbanizadas.

Os compostos nonilfenol e bisfenol A estão presentes em diversos estudos em concentrações muito variadas tanto em países desenvolvidos como o Portugal, com 4000 ng L<sup>-1</sup> de BPA, como em países em desenvolvimento como a China, com 8890 ng L<sup>-1</sup> de nonilfenol. Assim como neste estudo, as concentrações de nonilfenol relatadas em outros países ultrapassam o limite de 1000 ng L<sup>-1</sup> aceito no Canadá.

Observa-se que a ocorrência dos esteróis apresenta concentrações bastante variadas nos diferentes estudos apresentados na TAB. 35, essa incidência pode estar associada às diferentes formas de disponibilização desses compostos no ambiente, principalmente do colesterol e estigmasterol que são provenientes não somente de efluentes domésticos como também de animais, fungos e plantas (Oliveira, 2012). Entretanto, assim como neste estudo, onde a máxima concentração de coprostanol foi coerente com o ponto de coleta mais crítico (G103-12), os estudos consultados associaram a elevada concentração desse composto à presença de esgoto bruto no local ou próximo a ele. Com destaque a concentração de 97100 ng L<sup>-1</sup> (quase 70 vezes maior que a máxima encontrada neste estudo) em represa de abastecimento no Vietnã, com população de 15 milhões de habitantes, onde praticamente não há estações de tratamento de esgoto (Isobe, et al., 2004).

Em estudo realizado por Furtula e colaboradores (2012), os autores demonstram como identificar fontes de contaminação fecal na água, utilizando diferentes razões entre as concentrações de esteróis quantificadas na mesma. No presente estudo foram analisados 4 esteróis sendo coprostanol, colesterol, colestanol e estigmasterol, as razões possíveis de serem analisadas para

identificar se a contaminação fecal é de origem antrópica estão relacionadas na TAB. 36.

TABELA 36. Razão de esteróis para identificação de fonte de contaminação fecal.

	razão para identificar contaminação fecal antrópica		
	sim	incerto	não
Coprostanol/(Coprostanol+colestanol)	> 0,7	0,3 - 0,7	<0,3
Coprostanol/colesterol	> 0,5	-	< 0,5
Coprostanol/colestanol	> 0,5	0,3 - 0,5	< 0,5
Coprostanol/(Colesterol+colestanol)	> 0,2	0,15 - 0,2	< 0,15

As 4 razões foram calculadas com os resultados obtidos na coleta de 2012, onde os 3 esteróis necessários para os cálculos puderam ser quantificados na maioria dos pontos. Quando o resultado permaneceu abaixo do limite de quantificação adotou-se o valor de LD de cada composto. Os resultados desses cálculos estão apresentados na TAB. 37.

TABELA 37. Razões de esteróis para cada ponto de coleta de água superficial da represa Guarapiranga, dados de setembro de 2012.

Composto	Coprostanol	Colesterol	Colestanol	Coprostanol/ (Coprostanol+colestanol)	Coprostanol/ colesterol	Coprostanol/ colestanol	Coprostanol/ (Colesterol+colestanol)
LD (ng L <sup>-1</sup> )	2,6	23	3				
G000-01	56	8154	39	0,6	0,0	95,0	0,0
G000-02	50	12818	45	0,5	0,0	95,0	0,0
G000-03	2,6	6990	3	0,5	0,0	5,6	0,0
G106-04	2,6	23	3	0,5	0,1	5,6	0,1
G000-05	2,6	2883	3	0,5	0,0	5,6	0,0
G107-06	2,6	2069	57	0,0	0,0	59,6	0,0
G108-07	102	3157	114	0,5	0,0	216,0	0,0
G000-08	2,6	3806	3	0,5	0,0	5,6	0,0
G109-09	2,6	491	3	0,5	0,0	5,6	0,0
G105-10	2,6	5551	3	0,5	0,0	5,6	0,0
G104-11	2,6	6997	3	0,5	0,0	5,6	0,0
G103-12	386	23	90	0,8	16,8	476,0	3,4
G102-13	2,6	3659	3	0,5	0,0	5,6	0,0
G000-14	2,6	2410	3	0,5	0,0	5,6	0,0

Avaliando os resultados das 4 razões de esteróis calculadas, evidencia-se que no ponto G103-12 existe uma fonte de contaminação fecal de origem antrópica. Além, disso, em quase 73% das ocorrências de concentrações mais elevadas foram observadas neste mesmo ponto para as coletas realizadas em períodos secos de dois anos (agosto de 2011 e setembro 2012). Além da localização do G103-12 ser próxima às áreas mais densamente urbanizadas, outro fator que contribui para as elevadas concentrações encontradas neste ponto é a profundidade do mesmo, que não passou de 3 m, conforme indicado na TAB. 7 no item 4.3, em nenhum dos períodos amostrados.

Os resultados obtidos pelas quantificações dos compostos estudados no período de 2011 a 2014 foram agrupados em dendogramas para avaliar a similaridade entre os pontos amostrados na represa Guarapiranga. As FIG. 45 a 48, apresentam os dendogramas para cada composto e sua ocorrência durante o período amostrado.

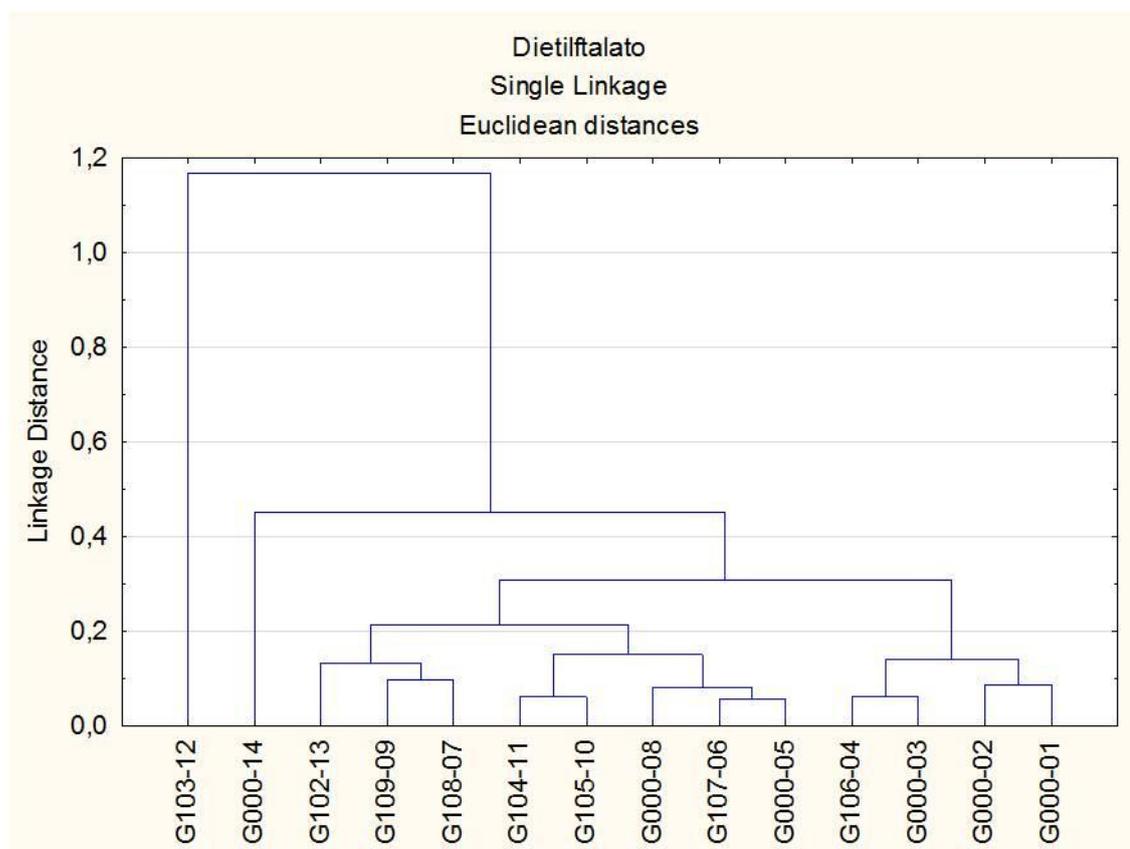


FIGURA 45. Dendrograma da distribuição do dietilftalato nas águas da represa Guarapiranga, referente ao período amostrado de 2011 a 2014.

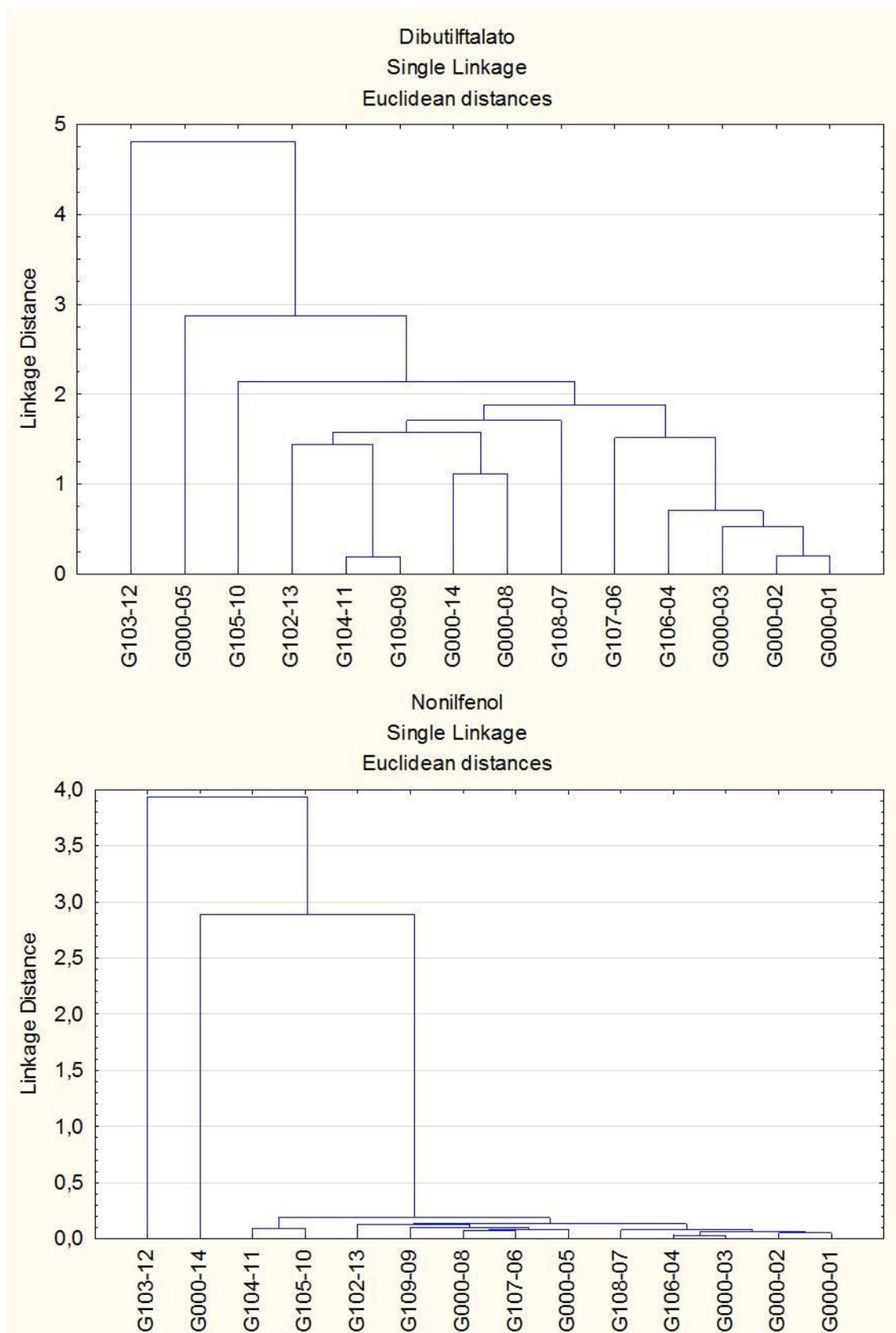


FIGURA 46. Dendograma da distribuição do dibutilftalato e nonilfenol nas águas da represa Guarapiranga, referente ao período amostrado de 2011 a 2014.

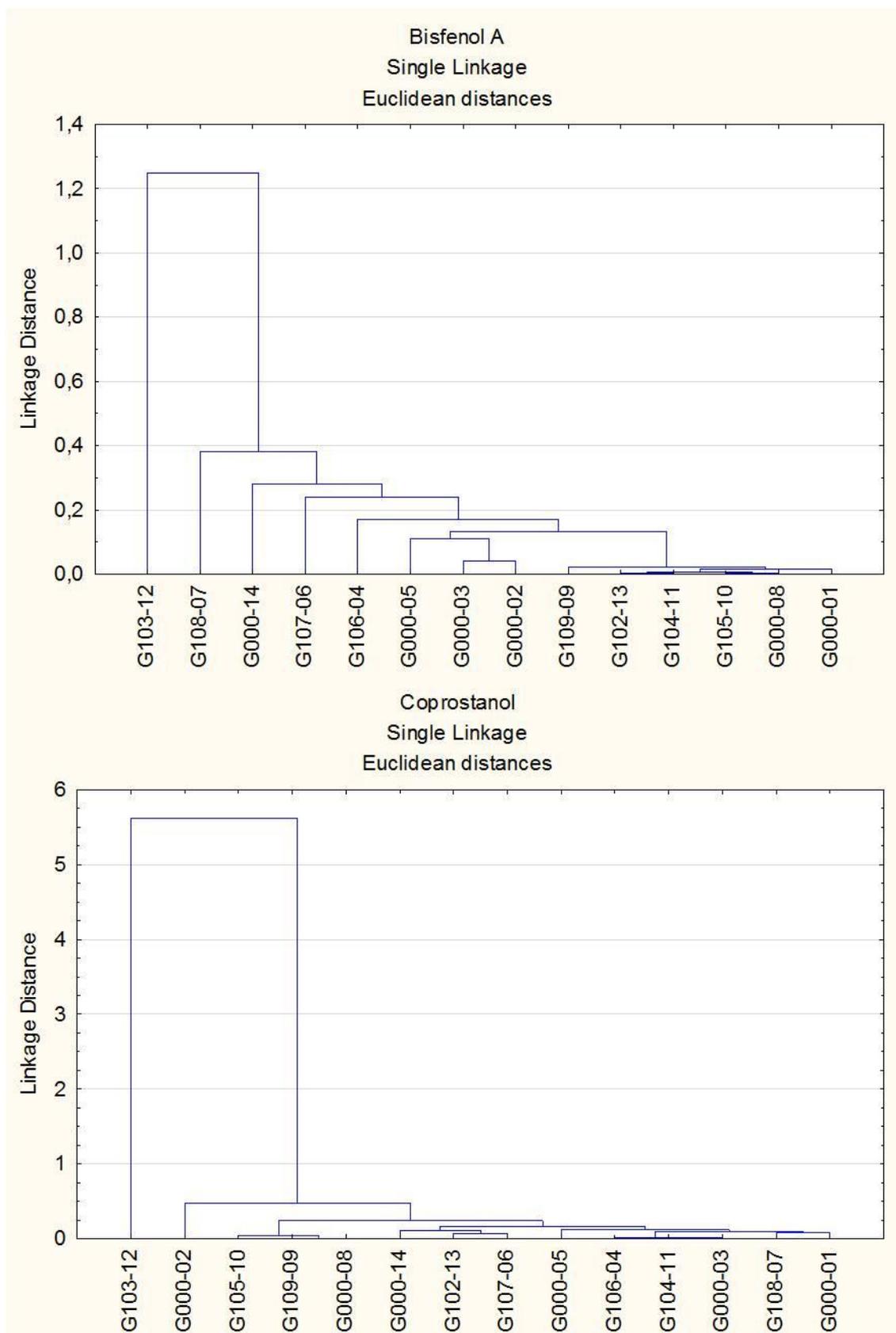


FIGURA 47. Dendrograma da distribuição do bisfenol A e coprostanol nas águas da represa Guarapiranga, referente ao período amostrado de 2011 a 2014.

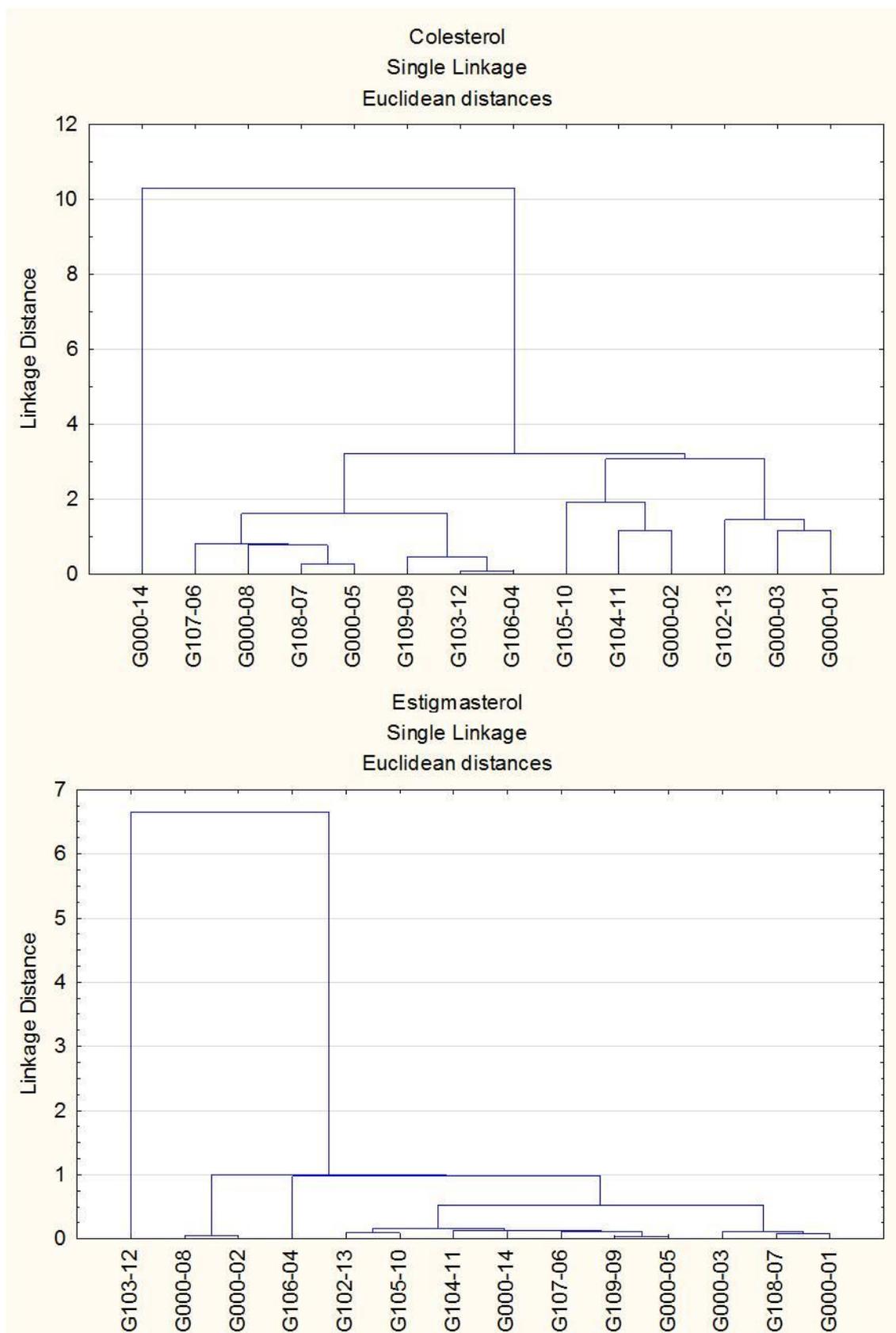


FIGURA 48. Dendrograma da distribuição do colesterol e estigmasterol nas águas da represa Guarapiranga, referente ao período amostrado de 2011 a 2014.

Pela análise de agrupamentos representada pelos dendogramas, observa-se que para todos os compostos que foram quantificados, com exceção do colesterol, o ponto G103-12 foi o que se destacou dos outros pontos amostrados na represa. Esse distanciamento com relação aos outros pontos ocorre devido as concentrações mais elevadas dos compostos quantificados neste ponto.

Conforme citado anteriormente, substâncias como o colesterol, que é o principal esteroide de origem animal, também são sintetizadas por outros eucariotas, como plantas e fungos. Este fato pode ter influenciado os resultados obtidos para o ponto G000-14 que, embora seja um ponto não impactado, apresentou grande quantidade de algas em diferentes coletas, além de ter sido realizada a aplicação de algicida na ocasião das coletas (Martins, 2001; Martins, et al., 2008; Oliveira, 2012). Essa interpretação vem de encontro aos resultados obtidos para o cálculo das razões de esteróis para o ponto G000-14 (TAB. 37), que sugerem não haver contaminação fecal de origem antrópica.

A represa é um sistema lântico, portanto, a movimentação de matéria orgânica nesse corpo é limitada. O Ponto G00014 por ser um ponto próximo à captação e à margem da represa e com maior profundidade, possivelmente esteja sujeito a maior movimentação da água e, por consequência, a oferta de matéria orgânica não seria tão constante como no ponto G103-12.

Andrade e colaboradores (2015) realizaram um estudo sobre uso e ocupação do solo e a densidade populacional em 5 bacias contribuintes da represa Guarapiranga. A divisão e a localização dessas bacias junto à represa estudada resultaram no mapa da FIG. 49.

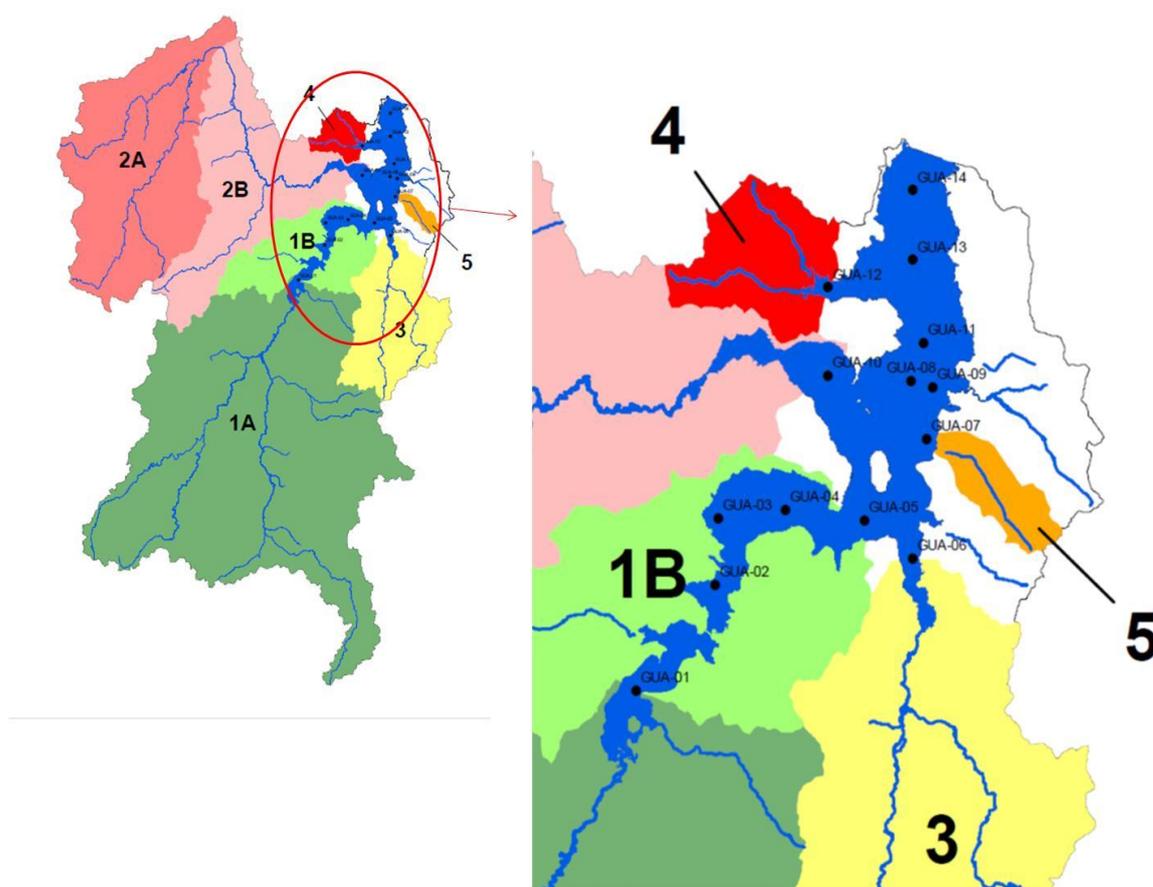


FIGURA 49. Mapa das bacias contribuintes à represa Guarapiranga.  
 Fonte: Modificado de Andrade et al. (2015).

Na FIG. 50, estão apresentados graficamente as densidades demográficas nas 5 bacias contribuintes.

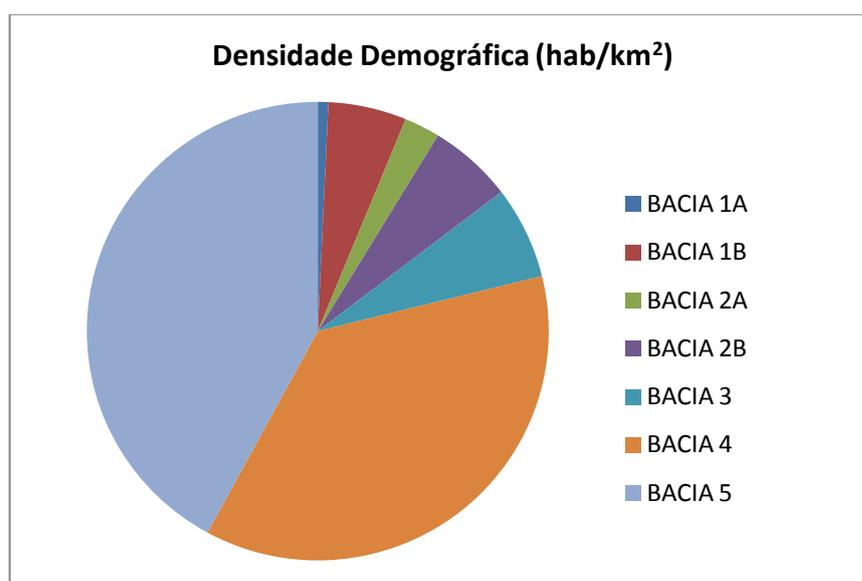


FIGURA 50. Gráfico da densidade demográfica das 5 bacias contribuintes da represa Guarapiranga.  
 Fonte: Dados extraídos de Andrade et al (2015).

Analisando as FIG 49 e 50 é possível observar que as bacias 4 e 5, além de serem as menores em área, possuem densidade demográfica muito mais elevada que as outras bacias e a proximidade das mesmas com o espelho d'água da represa torna-se um agravante. Pelo mapa apresentado na FIG. 49 nota-se a proximidade do ponto identificado como o mais crítico da represa Guarapiranga (G103-12), com uma das bacias mais densamente ocupadas, que é a bacia 4, fato este que corrobora com os resultados obtidos nos estudos desta tese.

Os dados obtidos neste trabalho corroboram com os dados reportados no relatório de Qualidade das Águas Superficiais da CETESB durante o período de 2011 a 2014, como mostra a TAB. 38, quanto ao Índice de Qualidade das Águas para Proteção da Vida Aquática (IVA). Com relação a esse índice, são monitorados pela CETESB quatro pontos na represa Guarapiranga com correspondência aos pontos avaliados neste estudo.

TABELA 38. Índice de Qualidade das Águas para proteção da Vida Aquática (IVA) dos pontos monitorados na represa Guarapiranga pela CETESB.

Pontos monitorados	IVA – CETESB			
	2011	2012	2013	2014
GUAR00100 (G107-06)	Ruim	Regular	Péssimo	Ruim
EMMI02900 (G105-10)	Ruim	Regular	Péssimo	Péssimo
GUAR00900 (G000-14)	Regular	Regular	Regular	Ruim
EMGU00800 (G000-01)	Ótimo	Ótimo	Bom	Bom

Fonte: Relatório de Qualidade das Águas Superficiais do estado de São Paulo (2012, 2013, 2014 e 2015)

O relatório apresenta classificação variando de regular a péssima do IVA para os pontos monitorados GUAR00100 e EMMI02900, que estão localizados na mesma região, respectivamente, que os pontos G107-06 e G105-10 deste estudo. No ponto G000-14 (GUAR00900 da CETESB), que corresponde ao ponto de captação da Sabesp, o IVA foi classificado como regular e ruim somente no ano de 2014. Dentre os quatro pontos considerados, somente o ponto EMGU00800 da CETESB (G000-01) recebe classificação variando de ótimo a bom, o que vem de encontro aos resultados obtidos neste trabalho para esse ponto.

Comparando os Boxplots (FIG. 51 a 57) de ocorrência dos compostos estudados durante o período amostrado, pode ser observado que agosto de 2011 foi o período que apresentou maiores concentrações para todos os compostos que puderam ser quantificados.

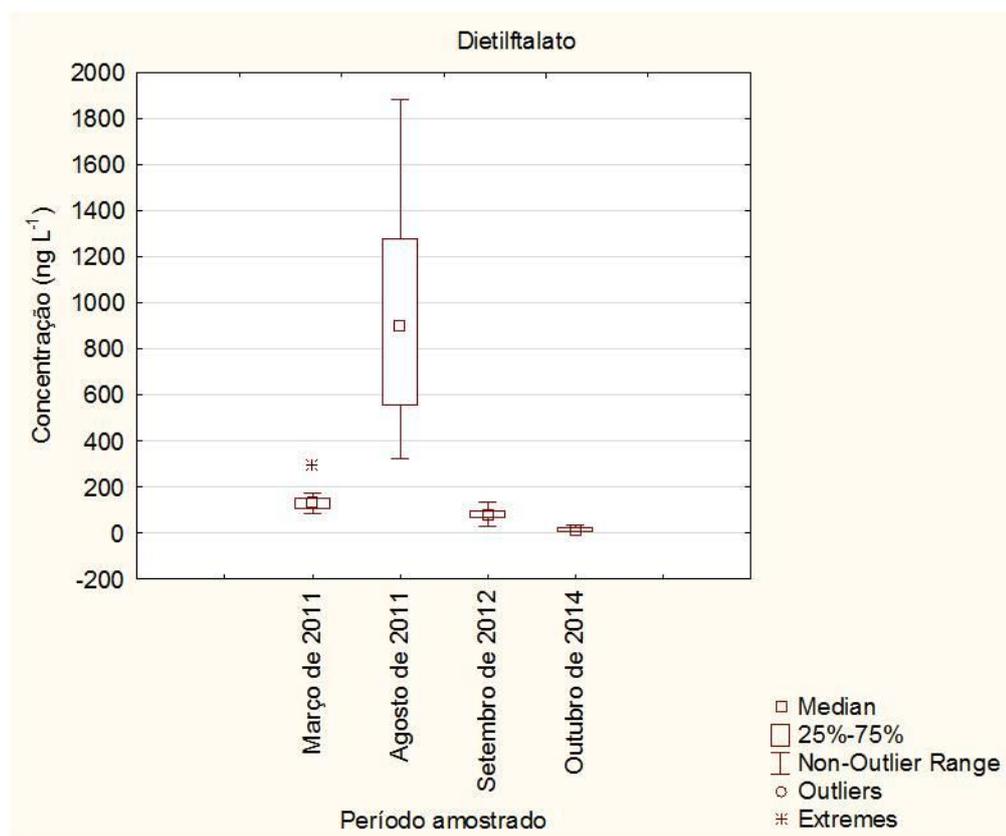


FIGURA 51. Distribuição de dietilftalato quantificado nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.

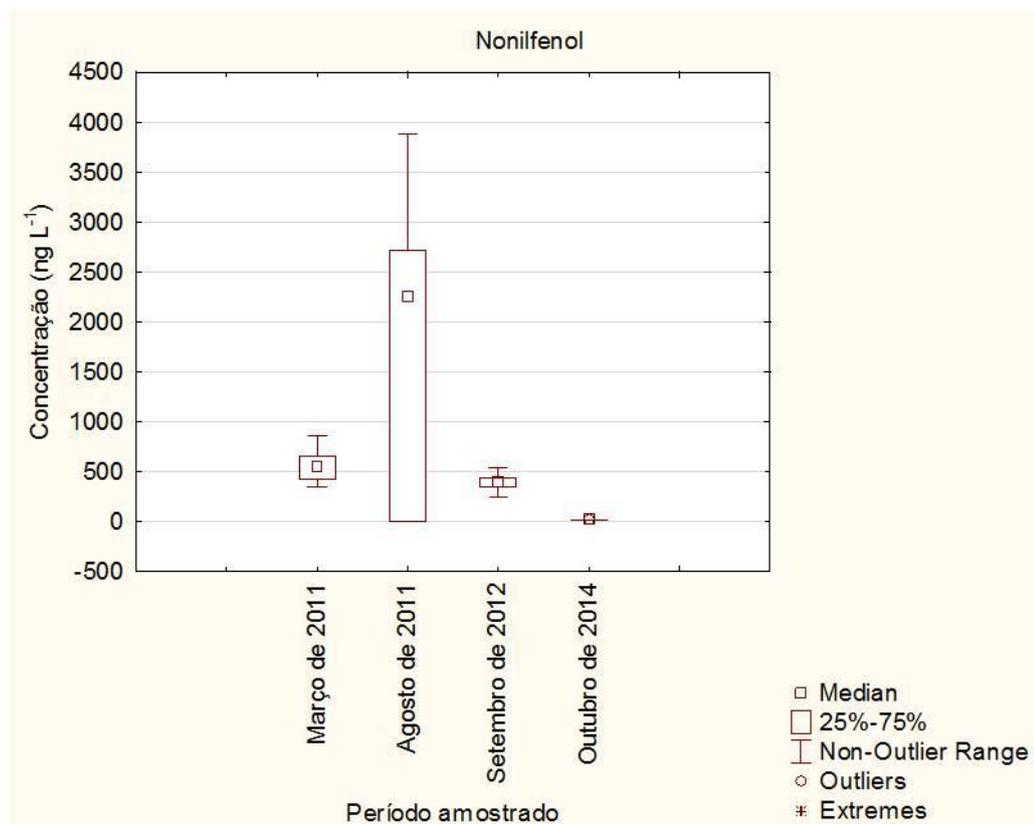


FIGURA 52. Distribuição de nonilfenol nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.

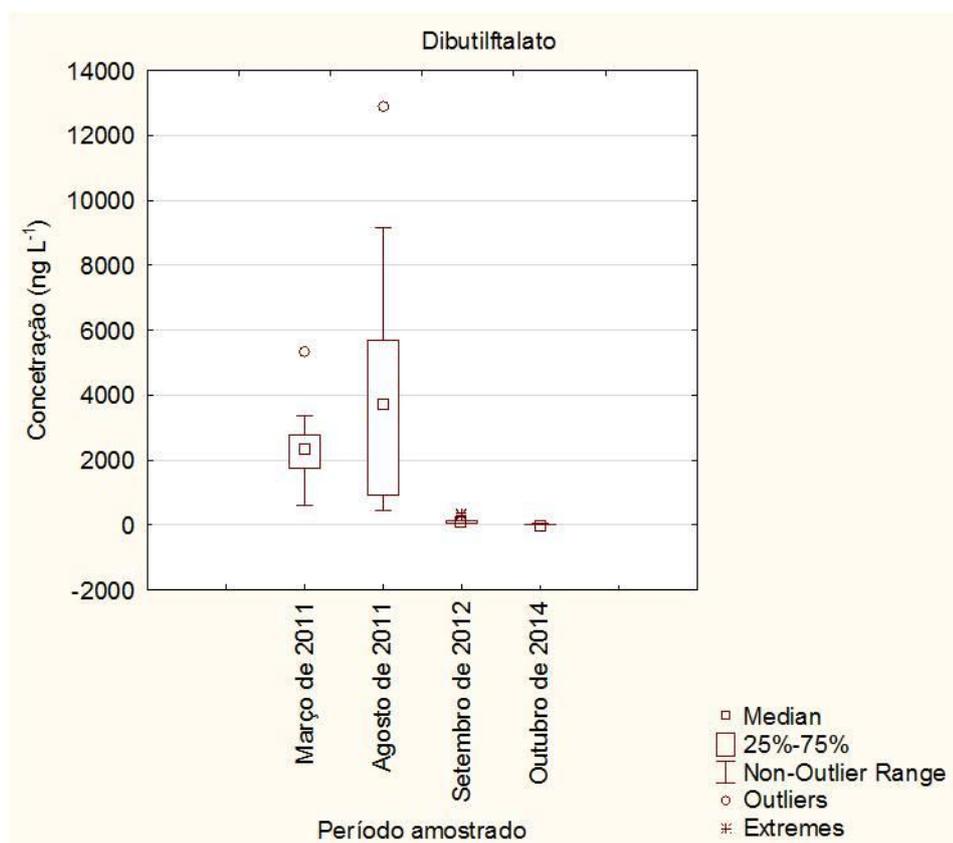


FIGURA 53. Distribuição de dibutilftalato nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.

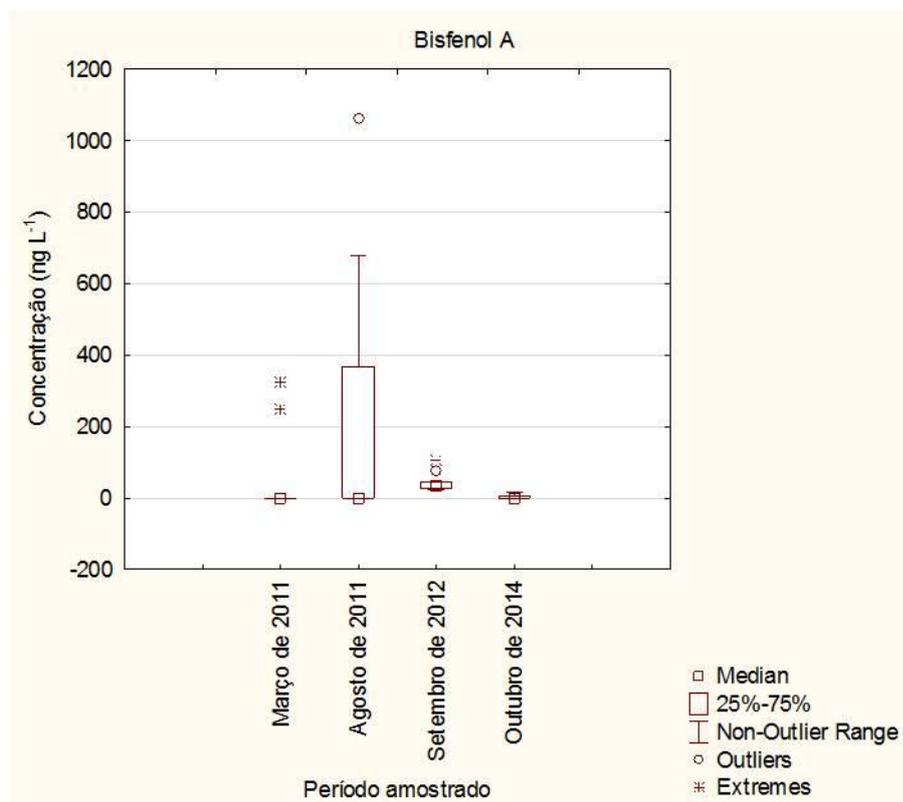


FIGURA 54. Distribuição de bisfenol A nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.

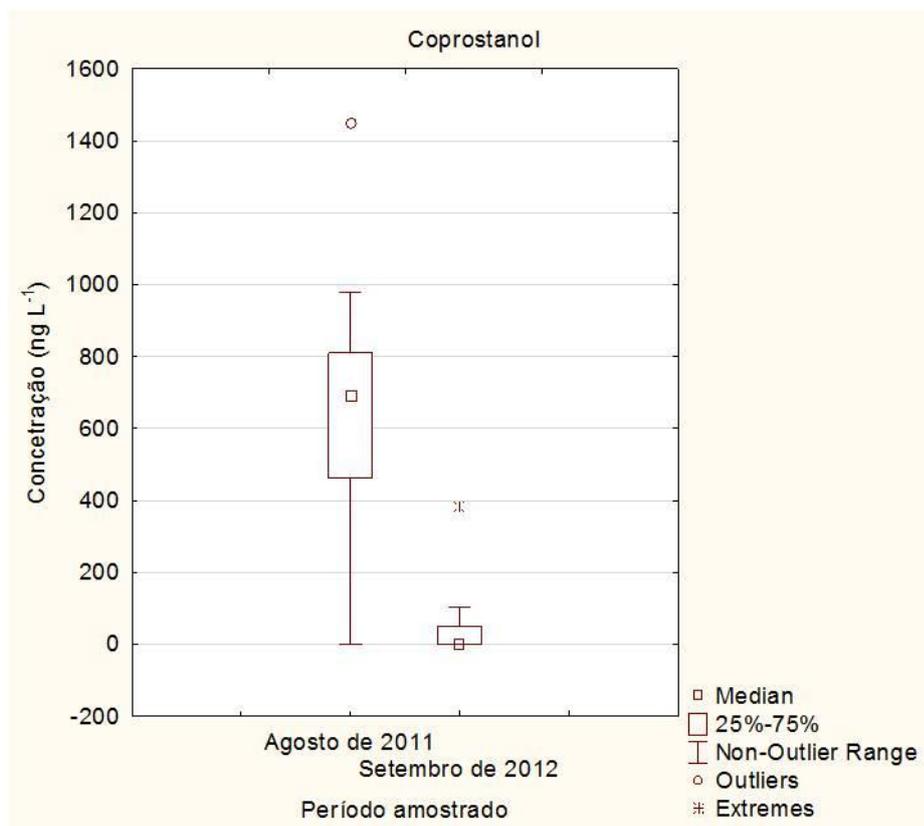


FIGURA 55. Distribuição de coprostanol nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.

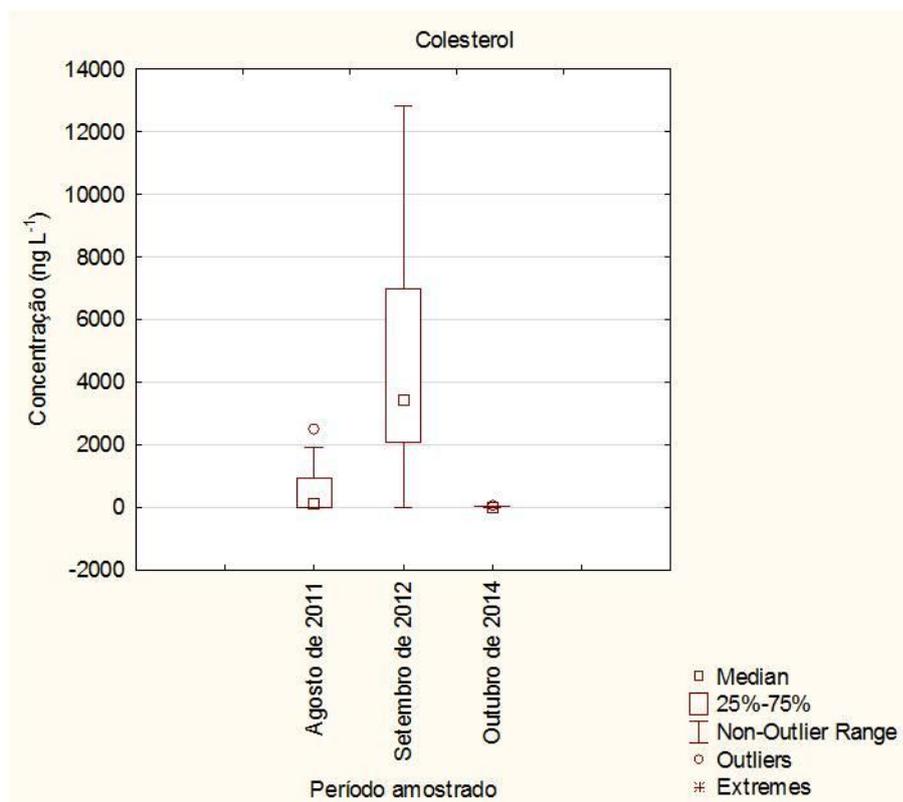


FIGURA 56. Distribuição de colesterol nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.

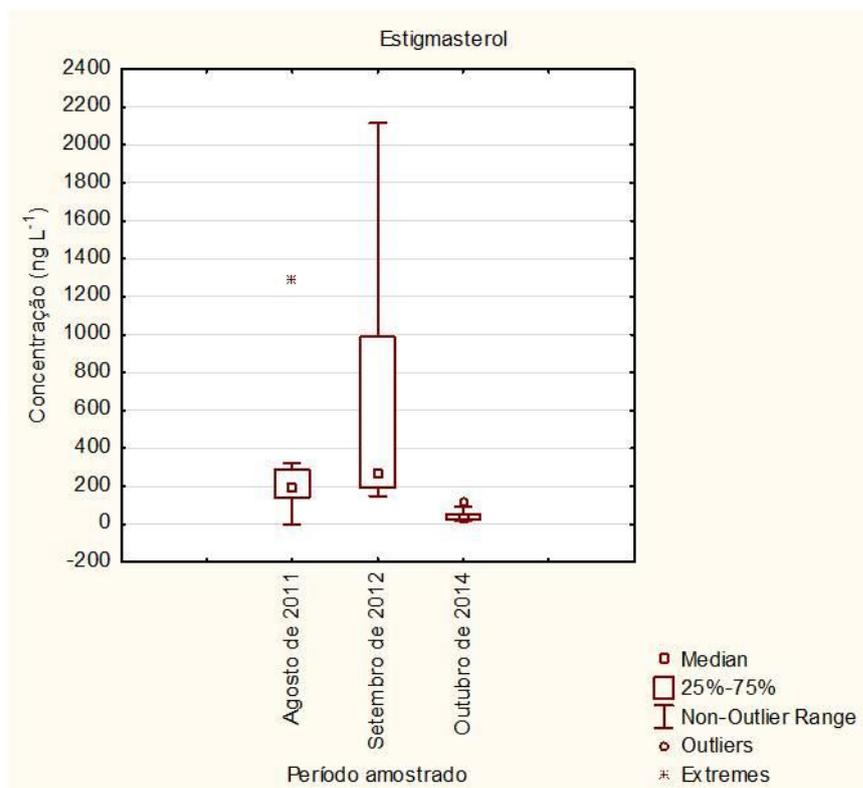


FIGURA 57. Distribuição de estigmasterol nas amostras de água superficial da represa Guarapiranga.

Os dados foram avaliados de forma temporal, portanto uma grande diferença entre os resultados foi observada, principalmente durante a coleta de agosto de 2011. Para compostos como DEP e DBP a concentração observada em agosto de 2011 chegou a ser 90 vezes superior à observada em setembro de 2012. Em um diagnóstico ambiental é necessário levar em consideração as características físico-químicas do ambiente no momento em que o mesmo está sendo amostrado. Na 58 estão apresentados os dados de alguns parâmetros medidos na água superficial durante as coletas (agosto/2011, setembro/2012 e outubro/2014) como: oxigênio dissolvido (OD), potencial hidrogeniônico (pH), Condutividade elétrica e temperatura além da profundidade da coluna d'água de cada ponto amostrado.

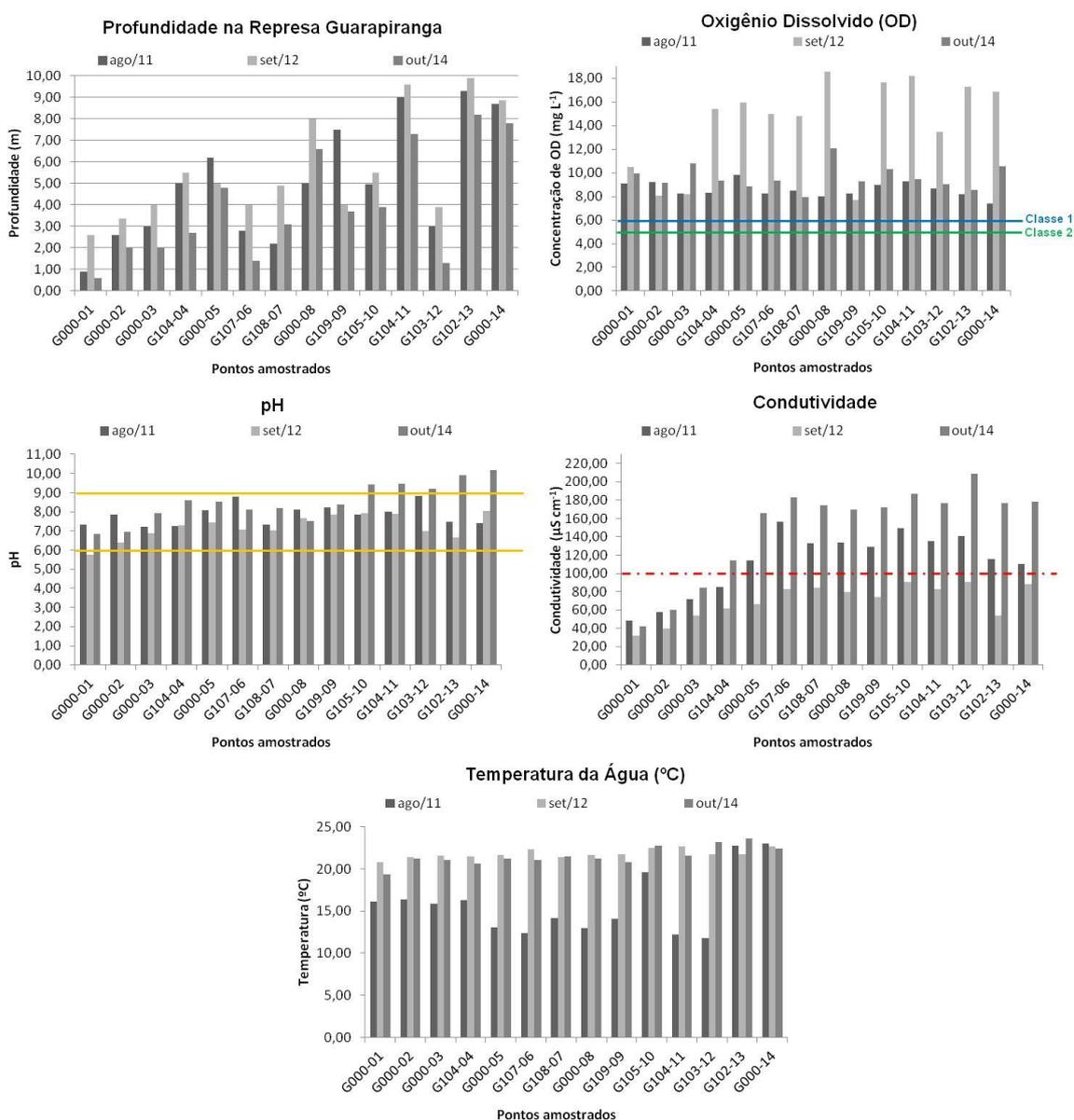


FIGURA 58. Parâmetros físico-químicos medidos durante as coletas de agosto de 2011, setembro de 2012 e outubro de 2014.

Considerando os parâmetros apresentados podem ser consideradas algumas hipóteses que explicam a grande diferença de concentração entre as campanhas amostradas.

- 1) A Profundidade da coluna d'água é dependente da pluviosidade na represa. Na FIG. 59 pode ser observado a ocorrência de chuvas nos três meses que antecederam a realização de cada coleta e pluviometria diária do mês amostrado bem como o dia exato em que foi realizada a coleta. As chuvas foram bem distribuídas nos três meses que antecederam a coleta de agosto de 2011 o que pode ter contribuído para o carreamento de poluentes do solo para

a represa. Enquanto nos meses que antecederam a coleta de setembro a chuva foi intensa em junho e julho, sendo agosto quase sem chuvas, ficando um intervalo de um mês sem precipitação em relação ao dia da coleta. Na coleta de outubro de 2014 também pode ser observado a pouca contribuição da chuva para o carreamento de contaminantes para a represa, havendo acúmulo de 60 mm de chuva, semelhante ao volume observado em 2011, entretanto em 2014 o acúmulo ocorreu apenas em um mês enquanto em 2011 o acúmulo ocorreu com a mesma intensidade nos três meses que antecederam a coleta de agosto de 2011.

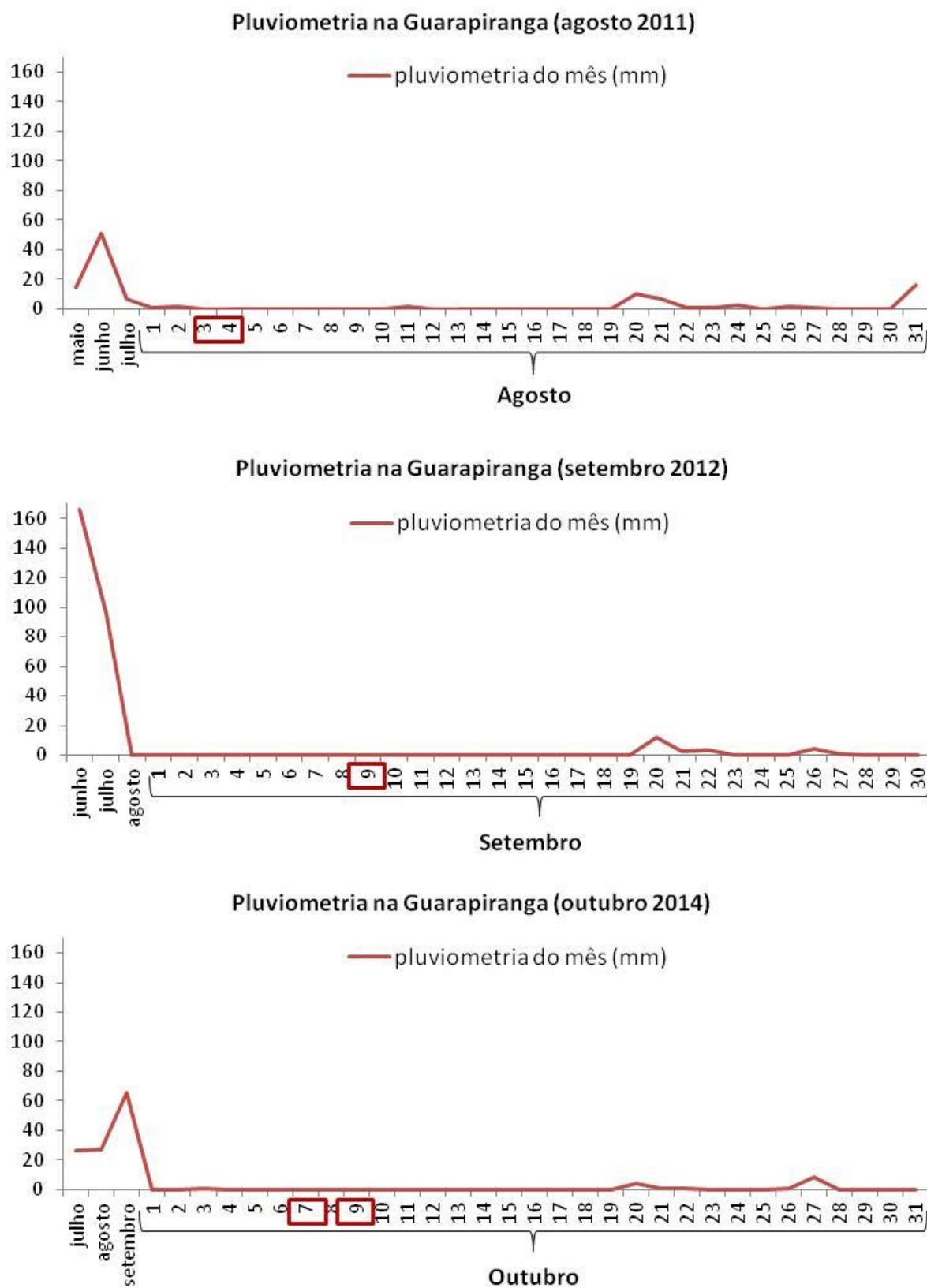


FIGURA 59. Pluviometria média de 3 meses anteriores a coleta e pluviometria diária do mês de coleta.

- 2) O pH das amostras foi mais elevado em agosto de 2011 e outubro de 2014, neste último período chegou a ultrapassar o valor determinado pelo CONAMA para corpos d'água classe II;
- 3) A condutividade elétrica da água foi superior a  $100 \mu\text{S cm}^{-1}$  em agosto de 2011 e outubro de 2014, nesta última coleta foi ainda superior à primeira;
- 4) As temperaturas das amostras registradas em setembro de 2012 e outubro de 2014 foram bem superiores às observadas em agosto de 2011, o que pode ter favorecido a fotodegradação dos poluentes.

O conjunto desses parâmetros alteram as reações químicas das substâncias presentes na água, o que pode ter contribuído com a diminuição da concentração das substâncias estudadas.

Shihomatsu (2015) que também avaliou a qualidade da água superficial na represa Guarapiranga ao avaliar a presença de fármacos e drogas de abuso no período de 2011 a 2013, também observou maiores concentrações no período de agosto de 2011 com realção aos outros períodos amostrados. Em seu estudo observou que o volume de água armazenado na represa Guarapiranga, durante a coleta de agosto de 2011 foi menor do que o armazenado na coleta de setembro de 2012, indicando que pode ter ocorrido a concentração dos contaminantes orgânicos no período mais seco.

#### **5.4. Análise das Amostras de Sedimento Superficial**

As amostras de sedimento foram coletadas em agosto de 2011 e em outubro de 2014, entretanto nesta última coleta, não foi possível amostrar todos os 14 pontos, sendo coletados apenas os pontos G000-01, G000-08 e G109-09.

Os resultados obtidos para as amostras de sedimento coletados em agosto de 2011 estão representados na TAB. 39e na sequência estão apresentados graficamente nas FIG. 60 e 61. Os resultados obtidos nas amostras de sedimento coletadas em outubro de 2014 estão apresentados na forma de gráfico, pois somente nonilfenol foi detectado.

TABELA 39. Resultados da determinação dos compostos de interesse nas amostras de sedimento superficial da represa Guarapiranga, coleta: agosto/2011

Compostos (LQ)	Pontos amostrados													
	G000-01 (ng g <sup>-1</sup> )	G000-02 (ng g <sup>-1</sup> )	G000-03 (ng g <sup>-1</sup> )	G106-04 (ng g <sup>-1</sup> )	G000-05 (ng g <sup>-1</sup> )	G107-06 (ng g <sup>-1</sup> )	G108-07 (ng g <sup>-1</sup> )	G000-08 (ng g <sup>-1</sup> )	G109-09 (ng g <sup>-1</sup> )	G105-10 (ng g <sup>-1</sup> )	G104-11 (ng g <sup>-1</sup> )	G103-12 (ng g <sup>-1</sup> )	G102-13 (ng g <sup>-1</sup> )	G000-14 (ng g <sup>-1</sup> )
Dietilftalato (2,4 ng g <sup>-1</sup> )	7±0,4	3±0,2	5±0,3	7±0,4	5±0,3	9±0,5	7±0,4	8±0,4	5±0,4	9±1	8±0,5	6±1	8±0,5	8±0,4
Nonilfenol (2,7 ng g <sup>-1</sup> )	19±1	10±1	26±2	37±2	110±10	184±11	42±3	92±7	96±8	190±11	104±10	872±78	104±6	138±9
Pentaclorofenol (1,8 ng g <sup>-1</sup> )	< LQ													
Dibutilftalato (2,1 ng g <sup>-1</sup> )	19±3	7±1	12±2	15±1	19±2	18±2	10±1	21±1	6±1	24±2	13±2	16±3	11±2	21±1
Androstano (4,2 ng g <sup>-1</sup> )	< LQ													
Bisfenol A (1,6 ng g <sup>-1</sup> )	20±1	2±0,4	10±1	11±1	3±0,4	< LQ	5±0,5	5±1	< LQ	6±1	< LQ	< LQ	8±1	6±1
Estrona (1,7 ng g <sup>-1</sup> )	< LQ	< LQ	< LQ	2±0,2	< LQ	< LQ	3±0,2	6±1	< LQ	2±0,2				
Estradiol (1,1 ng g <sup>-1</sup> )	< LQ	< LQ	3±0,4	3±0,3	2±0,1	< LQ	2±0,2	< LQ	3±0,3	2±0,1				
Etinilestradiol (1,3 ng g <sup>-1</sup> )	< LQ													
Progesterona (12,6 ng g <sup>-1</sup> )	< LQ	< LQ	17±2	< LQ	16±2	17±2	< LQ	17±3	23±4	< LQ	35±4	19±2	66±8	< LQ

LQ = Limite de Quantificação

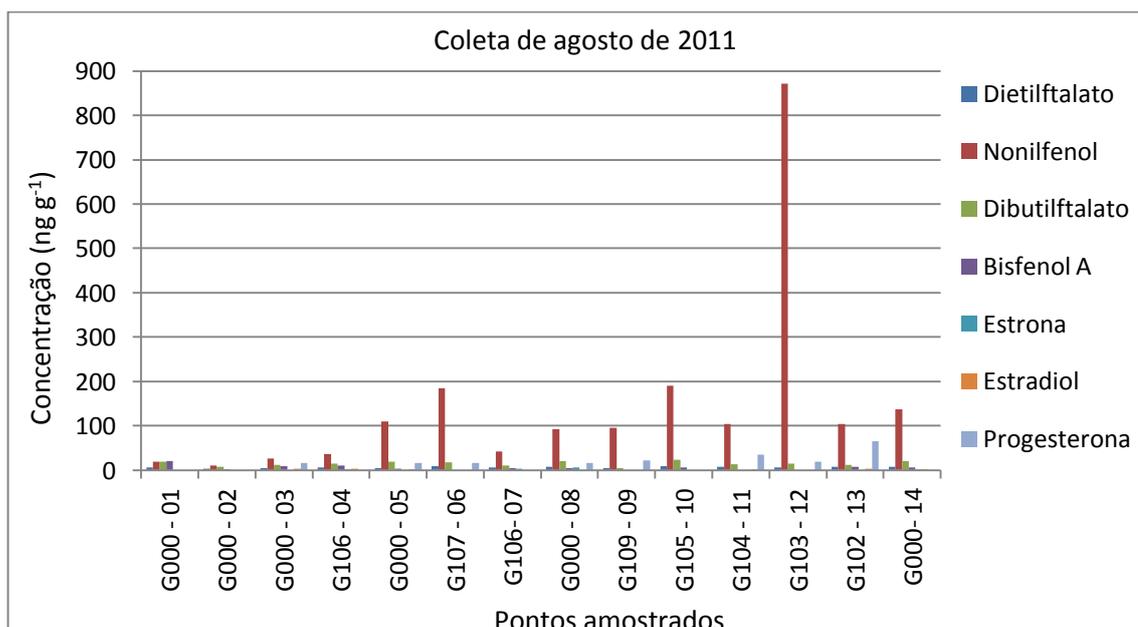


FIGURA 60. Distribuição espacial dos compostos estudados em amostras de sedimento superficial da represa Guarapiranga, coleta de agosto de 2011.

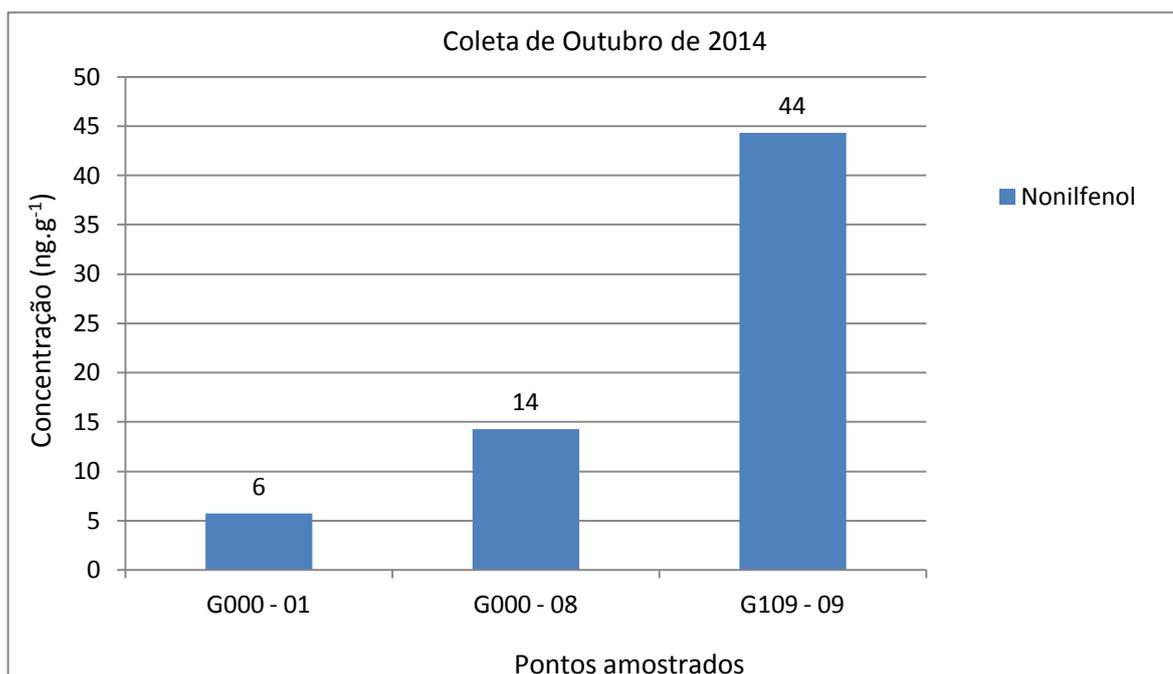


FIGURA 61. Concentração de nonilfenol observada nas amostras de sedimento superficial da Guarapiranga na coleta de outubro de 2014.

Os compostos nonilfenol, dietilftalato e dibutilftalato apresentaram-se acima do LQ em todos os pontos amostrados em agosto de 2011. Assim como foi observado nas amostras de água superficial, nas amostras de sedimento o ponto

G103-12 apresentou as maiores concentrações para nonilfenol ( $870 \pm 80 \text{ ng g}^{-1}$ ) em agosto de 2011.

Os resultados obtidos nas amostras de sedimento da represa Guarapiranga foram comparados com estudos realizados em diversos países, como mostra a TAB. 40. Esses estudos foram realizados em regiões altamente populosas e industrializadas, avaliando a influência de lançamentos de efluentes por estações de tratamento de esgoto e confluência de rios tributários em conhecida situação de poluição.

TABELA 40. Comparativo dos resultados obtidos neste estudo, para matriz de sedimento, com estudos da literatura consultada. As concentrações estão apresentadas em  $\text{ng g}^{-1}$

Composto	Faixas de Concentração em $\text{ng g}^{-1}$						
	Guarapiranga (min. – max.)	Literatura consultada					
DEP	3 - 9	< 0,6 – 218 <sup>1</sup>	28 – 1050 <sup>2</sup>				
NP	10 - 872	< 1,7 – 5 <sup>3</sup>	10 - 259 <sup>4</sup>	21,5 - 86,3 <sup>5</sup>	5,5 – 31 <sup>6</sup>	300 – 2600 <sup>7</sup>	
DBP	6 - 24	34 – 241 <sup>1</sup>	60 – 2080 <sup>8</sup>	82 – 1260 <sup>2</sup>			
BPA	2 - 20	< 3,4 - 9 <sup>3</sup>	n.d. – 15 <sup>4</sup>	18 – 190 <sup>8</sup>	134 – 1750 <sup>6</sup>	< 30 <sup>7</sup>	7,7 - 56,1 <sup>i</sup>
E1	2 - 6	0,4 - 3,3 <sup>10</sup>	2 <sup>11</sup>	< 4 - 38,8 <sup>12</sup>	< 0,05 - 5,8 <sup>9</sup>	< 9,5 <sup>13</sup>	
E2	2 - 3	< 0,03 - 1,2 <sup>10</sup>	1,5 <sup>11</sup>	< 0,1 <sup>12</sup>	< 0,06 - 1,1 <sup>9</sup>	< 4,5 <sup>13</sup>	
PROG	16 - 65	< 0,04 - 6,8 <sup>14</sup>					

<sup>1</sup>China (Sun, 2013); <sup>2</sup>China (Zeng, et al., 2008); <sup>3</sup>Reino Unido (Liu, et al., 2004); <sup>4</sup>Alemanha (Bolz, 2001); <sup>5</sup>Estados Unidos (Klosterhaus, 2013); <sup>6</sup>Coréia (Li, et al., 2003); <sup>7</sup>Itália (Patrolecco, et al., 2004); <sup>8</sup>Alemanha (Fromme, 2002); <sup>9</sup>Reino Unido (Hibberd, 2009); <sup>10</sup>Reino Unido (Labadie & Hill, 2007); <sup>11</sup>Alemanha (Ternes, et al., 1999); <sup>12</sup>Reino Unido (Williams, 2003); <sup>13</sup>Grécia (Arditsoglou, 2008); <sup>14</sup>Espanha (Lopez de Alda, et al., 2002)

A presença de ftalatos (DEP e BDP) e fenóis (NP e BPA) em matrizes ambientais como sedimento são comumente relacionadas à presença de indústrias nos arredores das áreas estudadas. As concentrações observadas na literatura consultada encontram-se na mesma faixa de concentração observada no sedimento da Guarapiranga para nonilfenol e bisfenol A, enquanto para os ftalatos, foram observadas concentrações mais elevadas que as observadas na Guarapiranga.

Os estrógenos por sua vez, são relacionados à presença de descartes de efluentes de estações de tratamento de esgoto. As concentrações observadas nas amostras de sedimento da Guarapiranga estão na mesma faixa de concentração que as observadas na literatura consultada.

## 6. CONCLUSÕES

1. O objetivo de avaliar simultaneamente 14 compostos orgânicos, considerados entre interferentes endócrinos e marcadores de atividade antrópica, foi demonstrado pelos resultados de validação apresentados, assegurando que o método é adequado à análise proposta por apresentar seletividade, linearidade, precisão, exatidão e recuperação satisfatórias;
2. O mesmo pode ser considerado para o método desenvolvido para análise de 10 (dos 14 compostos analisados em água, com exceção dos 4 esteróis) compostos em sedimento, validado nos mesmos parâmetros citados;
3. Os resultados obtidos pelas análises das amostras e avaliação pelos dendogramas mostram que o ponto G103-12 é um ponto crítico na represa, uma vez que nesse local foram encontradas as concentrações mais elevadas de dibutilftalato, nonilfenol e coprostanol, substâncias essas que têm origem exclusivamente antrópica comumente associadas a lançamentos de efluentes industriais e domésticos. Além disso, as razões de esteróis calculadas comprovam que a presença do coprostanol é proveniente de contaminação fecal humana. Essa observação sugere a adição deste ponto no programa de monitoramento dos órgãos competentes como CETESB e SABESP;
4. Os resultados obtidos neste estudo são compatíveis com áreas estudadas em diferentes estados e cidades brasileiras, bem como em outros países, salientando a preocupação global em investigar esses compostos nas diferentes matrizes ambientais e principalmente a dificuldade em remover essas substâncias de águas destinadas ao abastecimento;
5. É plausível considerar que há fortes indícios que a ocupação do Jd São Luiz (bacia contribuinte 4) não apresenta tratamento de esgoto tendo em vista os resultados obtidos no ponto G103-12. Indicando que a densidade demográfica e a proximidade com o corpo d'água influenciam mais que a população absoluta e o tamanho relativo da sub-bacia;

6. Represas como Guarapiranga são sistemas abertos suscetíveis a diferentes fontes de poluição podendo ser temporárias, acidentais ou permanentes. A avaliação temporal demonstrou que além de realizar um diagnóstico que contemple períodos secos e chuvosos, dados obtidos em campo no momento da coleta auxiliam no entendimento sobre o impacto que a ocupação urbana oferece à qualidade das águas de uma represa destinada ao abastecimento público.
7. Os resultados obtidos nas análises das amostras de água coletadas na Represa Guarapiranga permitiram uma avaliação da ocorrência e distribuição de alguns dos compostos, mesmo que em baixas concentrações. Estes resultados demonstram a forte influência antrópica na região podendo afetar não só a qualidade da água superficial como a qualidade da água de distribuição;
8. Foi possível observar que alguns dos compostos estudados, como o bisfenol A e o estigmasterol, foram detectados em 100% das amostras coletadas em setembro de 2012. Embora esses compostos não sejam contemplados pela legislação atual, já podem representar uma ameaça à saúde ambiental e da população abastecida pelas águas dessa represa;
9. A avaliação da matriz de sedimento apresentou a ocorrência dos compostos estudados em quase todos os pontos amostrados, demonstrando assim a importância de avaliar esse compartimento em conjunto com a avaliação da coluna d'água, a fim de realizar um diagnóstico completo da região.

## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Muitos esforços estão sendo empregados para elucidar com precisão os efeitos adversos e o risco que os interferentes endócrinos podem causar aos humanos, animais e biota. Como sugestão para novos trabalhos que auxiliem a comunidade científica no sentido de obter uma maior compreensão sobre o risco oferecido pelos IEs, propõe-se os trabalhos a seguir.

1. Estudos que avaliem a associação dos compostos IEs com o material particulado em suspensão.
2. Estudos que realizem avaliação química associada a ensaios biológicos devem ser considerados.
3. Avaliação da eficiência do tratamento empregado nas estações de tratamento de água e esgoto, com relação à remoção de interferentes endócrinos.
4. Avaliação da presença de resíduos sólidos na bacia e no reservatório como contribuição difusa;

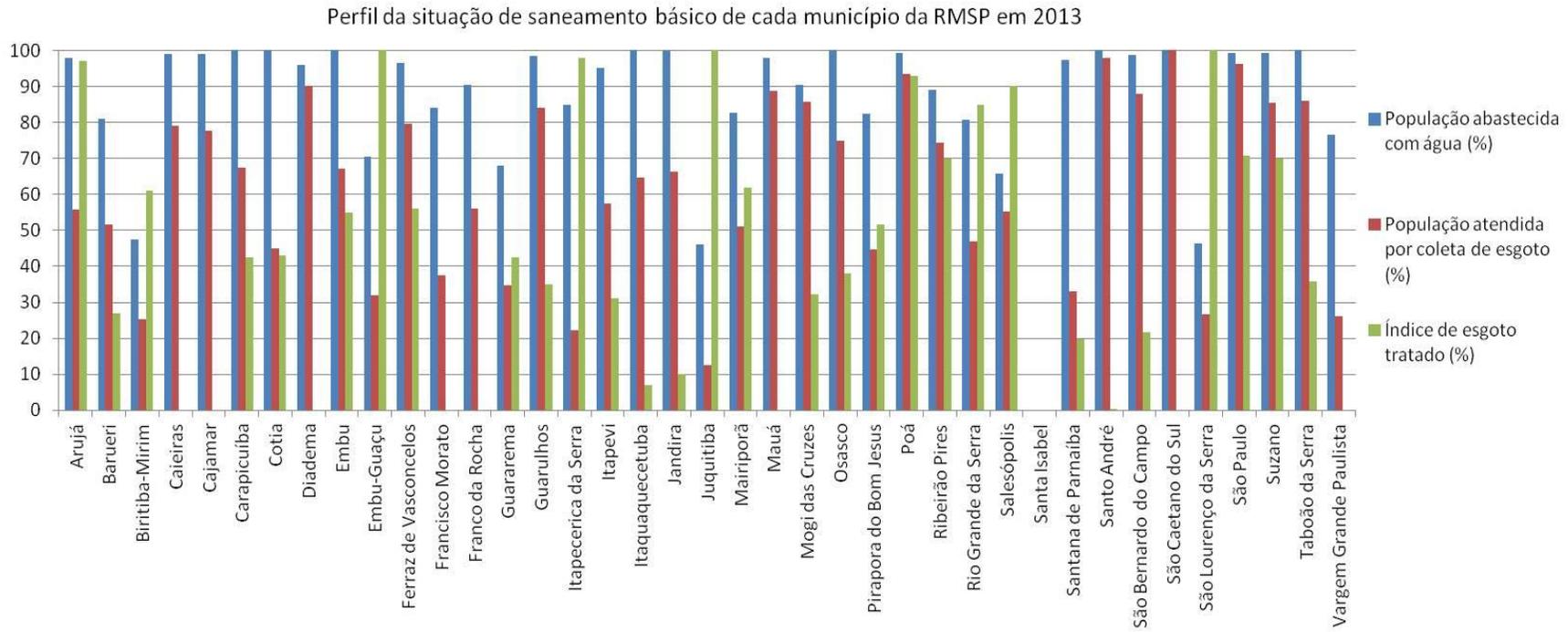


FIGURA 62. Situação de saneamento básico nos 39 municípios pertencentes a RMSP.  
 Fonte: Dados obtidos pelo aplicativo disponível em < <http://www.cidades.gov.br/serieHistorica/#>>

TABELA 41. Resultados do teste de seletividade (teste F de Snedecor e t de Student, n=7) na matriz Água superficial da Guarapiranga para os 14 compostos estudados. Adição de padrão na matriz e sem matriz. Considerando  $F_{\text{tabelado}} = 4,28$  e  $t_{\text{tabelado}} = 2,179$ .

Dietilftalato								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,6	3,2	4,8	8,0	12,0	16,0	24,0	32,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	4,95	4,71	14,01	2,46	14,69	8,35	0,59	37,21
t <sub>calculado</sub> (Student)	31,04	1,67	18,07	59,74	21,79	51,19	94,41	43,92
Nonilfenol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2,4	3,6	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	0,15	0,56	0,90	3,03	0,17	1,63	0,77	84,10
t <sub>calculado</sub> (Student)	11,98	5,84	1,36	4,48	6,80	13,32	15,21	6,41
Pentaclorofenol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,6	3,2	4,9	8,1	12,2	16,2	20,3	24,3
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	0,92	5,72	3,30	2,60	3,3103	5,14	1,55	0,05
t <sub>calculado</sub> (Student)	2,66	29,37	24,91	65,67	52,48	50,93	106,08	62,90
Dibutilftalato								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,6	3,3	4,9	8,2	12,4	16,5	20,6	24,7
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	55,49	15,20	27,75	44,94	106,09	11,78	17,13	3,21
t <sub>calculado</sub> (Student)	6,95	15,55	25,74	56,01	25,88	69,83	65,20	84,31
Androstano								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	4,0	6,0	10,0	15,0	20,0	025,0	35,0	40,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	2,39	2,41	5,76	2,79	3,56	8,04	1,71	2,04
t <sub>calculado</sub> (Student)	49,65	20,06	34,01	46,61	45,45	87,40	54,89	35,67
Bisfenol A								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,4	2,8	4,1	6,9	10,4	13,8	17,3	20,7
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	0,23	1,30	21,82	0,58	0,59	3,59	10,22	0,79
t <sub>calculado</sub> (Student)	4,52	2,31	12,84	22,89	3,45	8,45	11,88	22,50
Estrona								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,0	1,9	2,9	4,8	7,2	9,6	12,0	14,4
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	7,98	2,75	6,32	0,64	1,06	0,21	0,67	0,06
t <sub>calculado</sub> (Student)	5,35	33,04	58,08	73,42	19,60	20,31	20,90	22,79
Estradiol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,0	1,9	2,9	4,8	7,2	9,6	12,0	14,4
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	12,95	9,90	12,07	2,76	24,59	25,30	4,00	2,49
t <sub>calculado</sub> (Student)	5,32	7,33	12,69	39,08	13,33	34,77	25,04	69,89

CONTINUAÇÃO: TABELA 41

Etinilestradiol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	0,8	1,7	2,5	4,2	6,3	8,4	12,6	14,7
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	0,29	1,85	1,41	0,42	0,60	6,98	1,88	9,07
t <sub>calculado</sub> (Student)	12,14	12,93	14,21	26,84	19,44	19,51	53,06	16,51
Progesterona								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	9,6	14,4	24,0	36,0	48,0	60,0	72,0	84,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	1,86	3,12	27,34	13,18	57,25	27,72	4,70	7,30
t <sub>calculado</sub> (Student)	74,78	82,83	37,58	49,55	68,08	64,37	112,37	101,60
Coprostanol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	3,2	6,4	9,6	16,0	24,0	32,0	40,0	48,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	0,21	0,95	7,99	3,75	4,59	1,82	2,31	0,86
t <sub>calculado</sub> (Student)	13,40	4,31	0,39	4,78	11,50	0,60	3,61	12,41
Colesterol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2,1	4,2	6,2	10,4	15,6	20,8	26,0	31,2
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	1,35	87,12	10,21	234,32	52,58	30,57	9,79	128,44
t <sub>calculado</sub> (Student)	92,85	87,00	147,67	110,47	56,21	126,03	61,09	55,81
Coletanol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,6	3,2	4,8	8,0	12,0	16,0	20,0	24,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	5,04	4,57	0,99	21,14	6,30	0,68	3,74	3,78
t <sub>calculado</sub> (Student)	1,78	19,61	15,87	24,26	33,23	49,17	35,81	48,90
Estigmaterol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	3,2	4,8	8,0	12,0	16,0	20,0	24,0	28,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	5,65	0,08	3,20	36,07	0,72	2,67	1,41	0,24
t <sub>calculado</sub> (Student)	46,95	47,90	41,99	19,25	75,90	37,92	70,24	86,57

TABELA 42. Resultados do teste de seletividade (teste F de Snedecor e t de Student, n=7) na matriz Sedimento superficial da Guarapiranga para os 10 compostos estudados. Adição de padrão na matriz e sem matriz. Considerando F<sub>tabelado</sub> = 4,28 e t<sub>tabelado</sub> = 2,179.

Dietilftalato								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,6	3,2	4,8	8,0	12,0	16,0	24,0	32,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	1,47	2,85	12,91	15,05	26,91	17,92	1,70	69,68
t <sub>calculado</sub> (Student)	49,40	44,81	27,15	0,18	9,50	1,48	16,95	10,53
Nonilfenol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	2,4	3,6	6,0	9,0	12,0	15,0	18,0	21,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	0,10	0,22	0,30	0,25	0,12	0,87	0,34	9,09
t <sub>calculado</sub> (Student)	40,22	44,28	43,66	112,74	42,00	81,55	57,39	56,14

CONTINUAÇÃO: TABELA 42

Pentaclorofenol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,6	3,2	4,9	8,1	12,2	16,2	20,3	24,3
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	0,18	3,70	0,61	1,30	0,31	1,73	1,28	0,43
t <sub>calculado</sub> (Student)	4,04	27,71	32,75	70,60	89,47	56,38	93,40	42,66
Dibutilftalato								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,6	3,3	4,9	8,2	12,4	16,5	20,6	24,7
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	16,70	5,72	65,57	421,76	125,14	68,72	12,46	50,25
t <sub>calculado</sub> (Student)	26,42	13,59	15,25	10,32	39,68	30,34	75,18	23,67
Androstano								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	4,0	6,0	10,0	15,0	20,0	25,0	35,0	40,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	1,80	10,02	28,67	3,22	51,62	71,03	2,01	7,03
t <sub>calculado</sub> (Student)	94,09	28,70	42,77	116,59	29,24	58,88	134,68	61,98
Bisfenol A								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,4	2,8	4,1	6,9	10,4	13,8	17,3	20,7
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	0,02	0,79	140,39	3,41	1,55	0,78	5,74	1,43
t <sub>calculado</sub> (Student)	29,52	15,57	11,06	20,86	7,09	28,77	27,90	17,98
Estrona								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,0	1,9	2,9	4,8	7,2	9,6	12,0	14,4
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	1,10	0,86	39,29	11,38	0,43	1,28	0,55	0,55
t <sub>calculado</sub> (Student)	15,24	17,41	7,67	7,75	7,71	13,55	12,47	5,91
Estradiol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	1,0	1,9	2,9	4,8	7,2	9,6	12,0	14,4
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	5,50	14,06	8,47	3,58	18,94	10,52	0,45	1,01
t <sub>calculado</sub> (Student)	3,86	11,31	21,38	24,35	16,95	35,88	49,36	67,80
Etinilestradiol								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	0,8	1,7	2,5	4,2	6,3	8,4	12,6	14,7
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	1,19	1,92	1,84	2,11	1,10	19,17	12,25	1,61
t <sub>calculado</sub> (Student)	9,64	13,67	15,64	23,76	31,40	21,29	32,72	28,52
Progesterona								
Concentração (ng mL <sup>-1</sup> )	9,6	14,4	24,0	36,0	48,0	60,0	72,0	84,0
F <sub>calculado</sub> (Snedecor)	15,38	5,37	4,91	147,87	629,69	220,13	0,36	78,97
t <sub>calculado</sub> (Student)	85,91	181,37	137,03	27,53	31,66	31,23	302,51	46,83

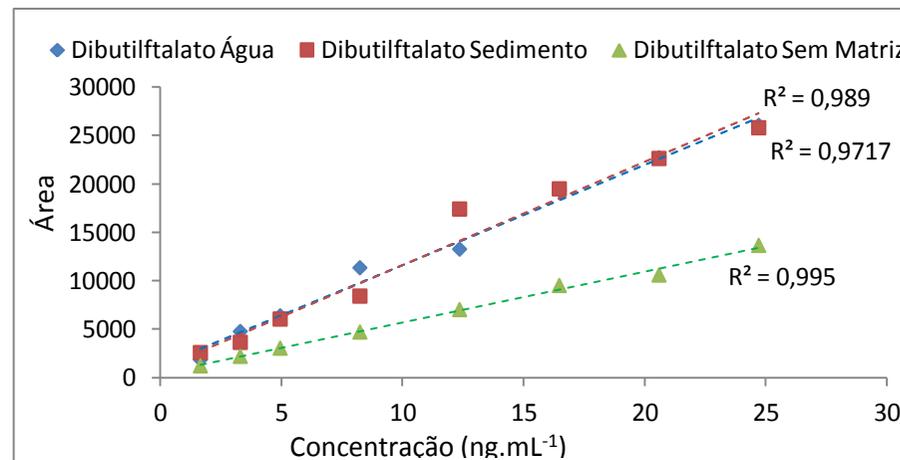
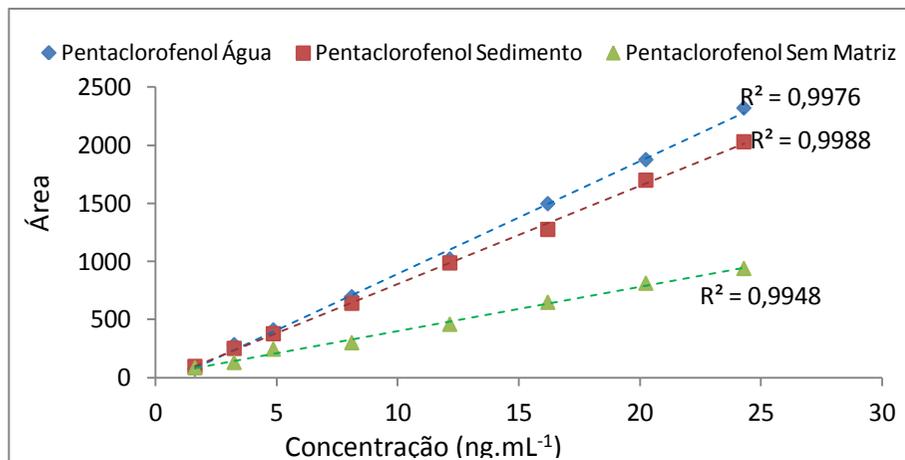
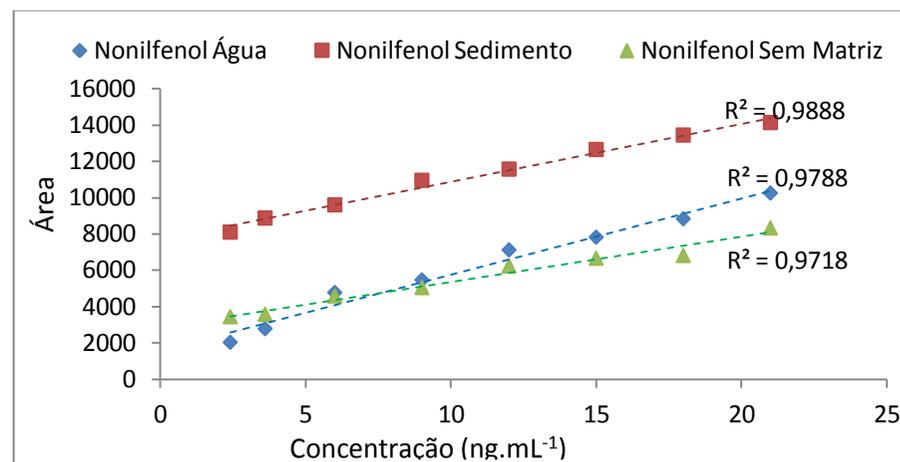
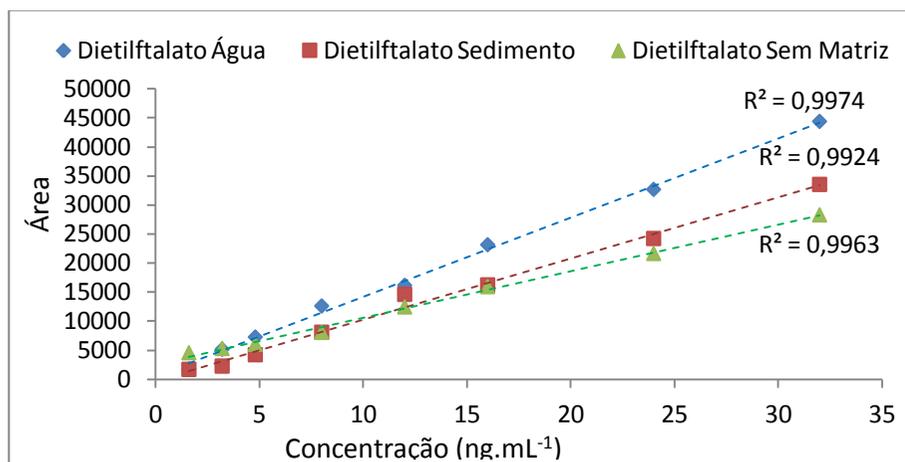


FIGURA 63. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial, sedimento superficial e no ensaio sem matriz

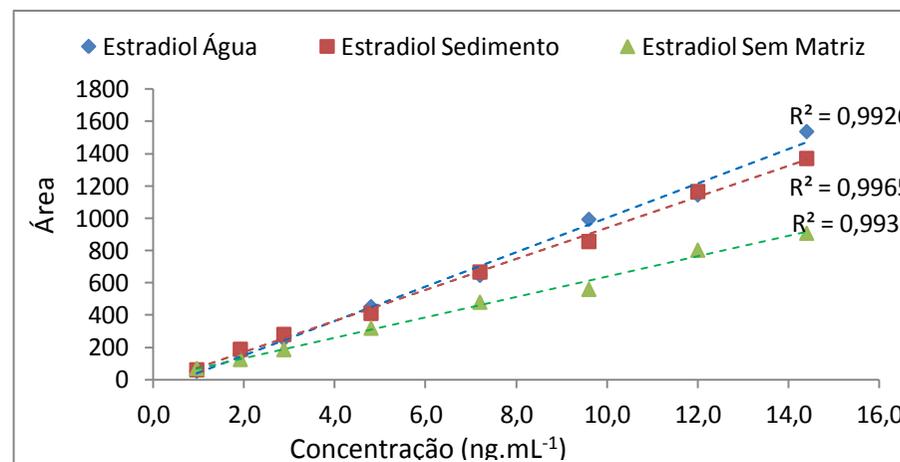
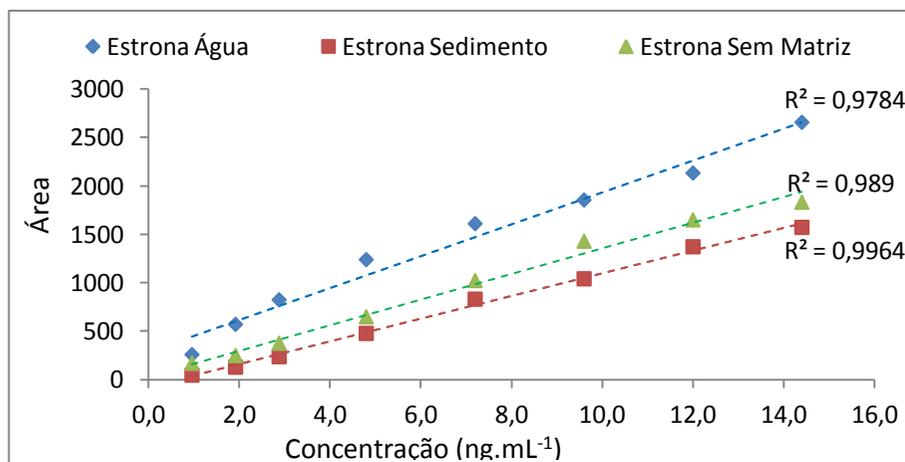
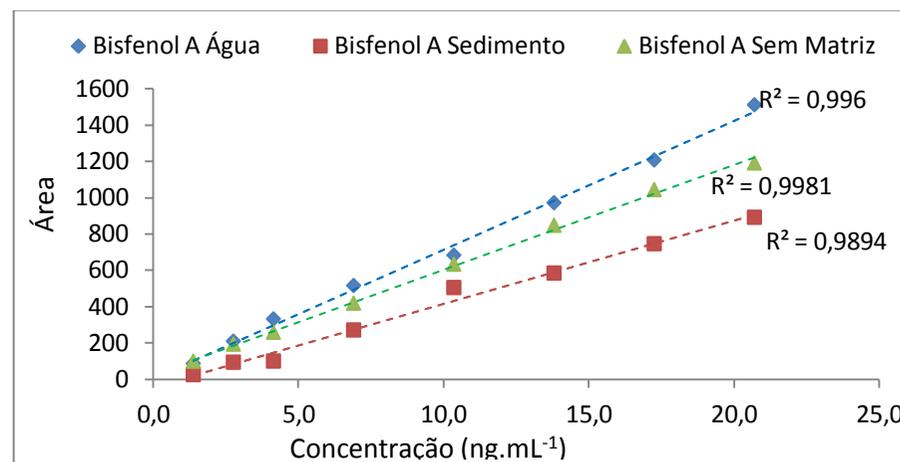
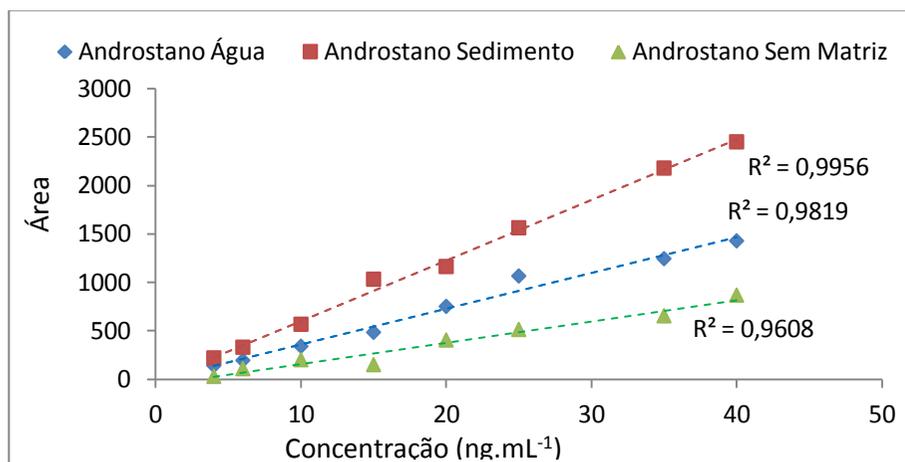


FIGURA 64. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial, sedimento superficial e no ensaio sem matriz

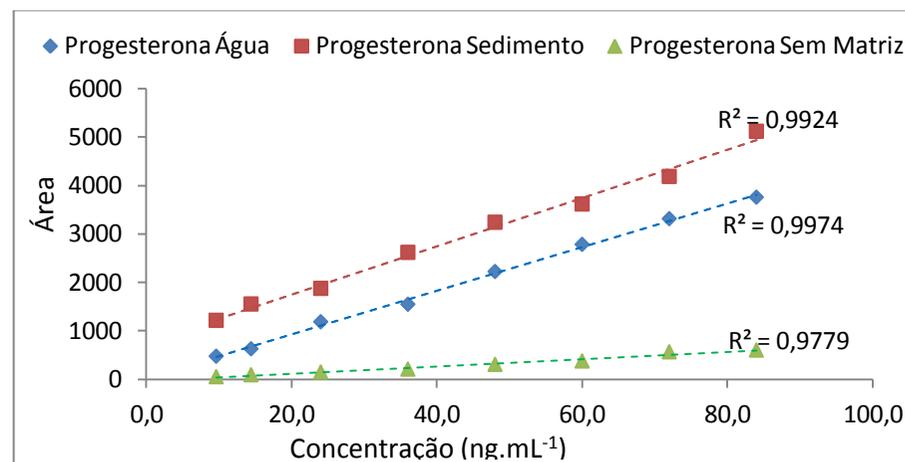
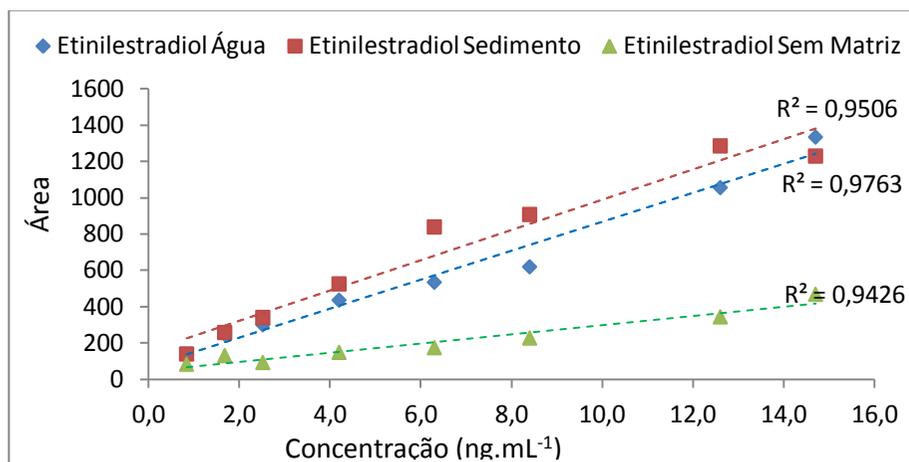


FIGURA 65. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial, sedimento superficial e no ensaio sem matriz

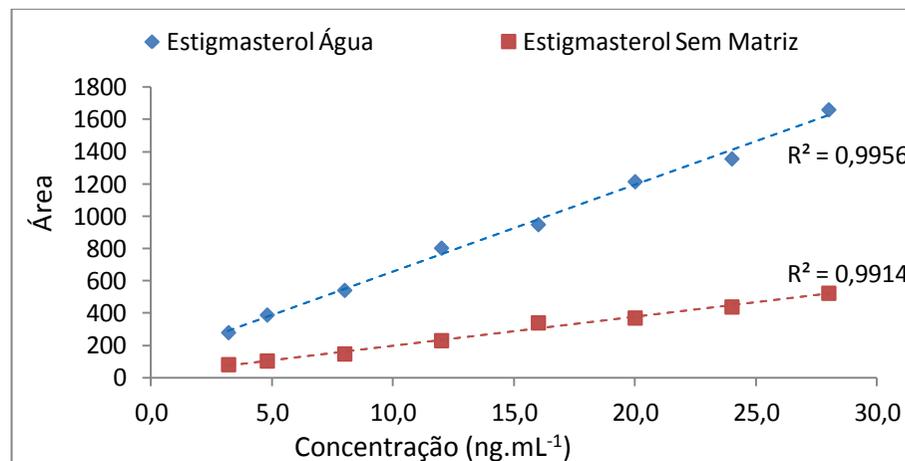
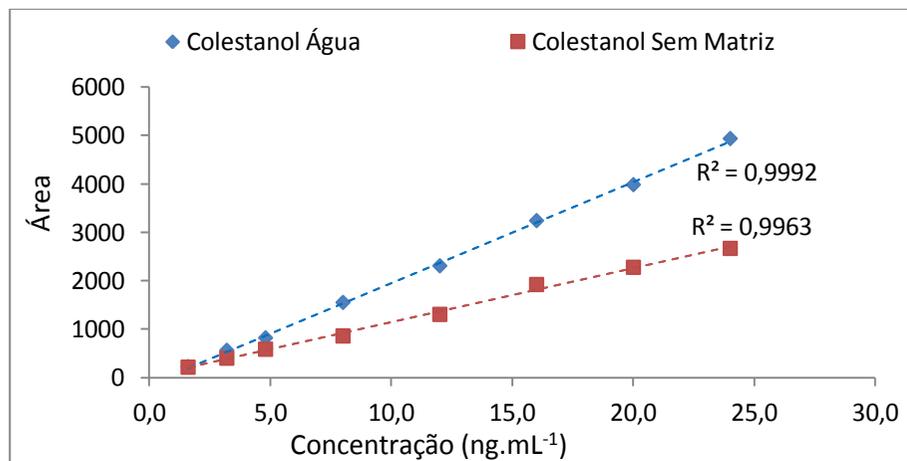
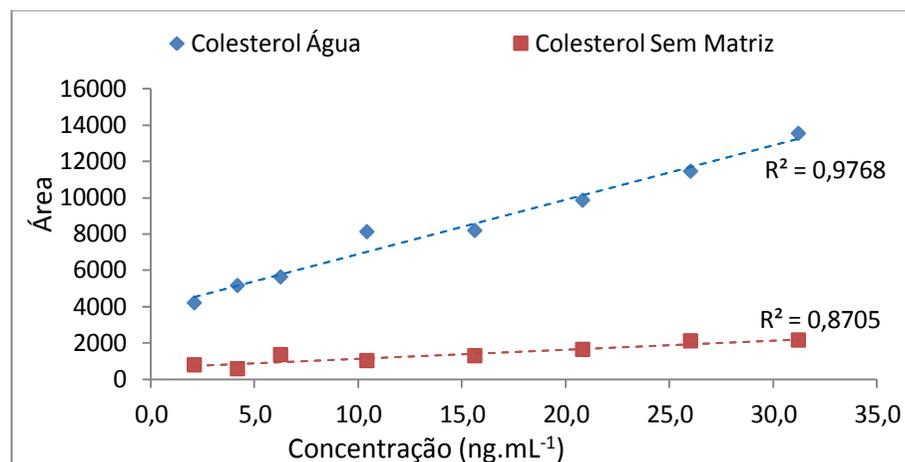
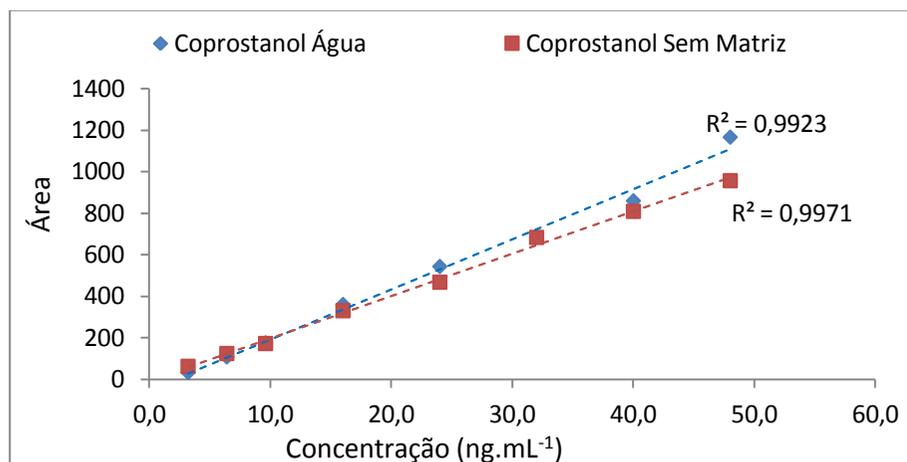


FIGURA 66. Representação gráfica da seletividade para matriz de água superficial e no ensaio sem matriz

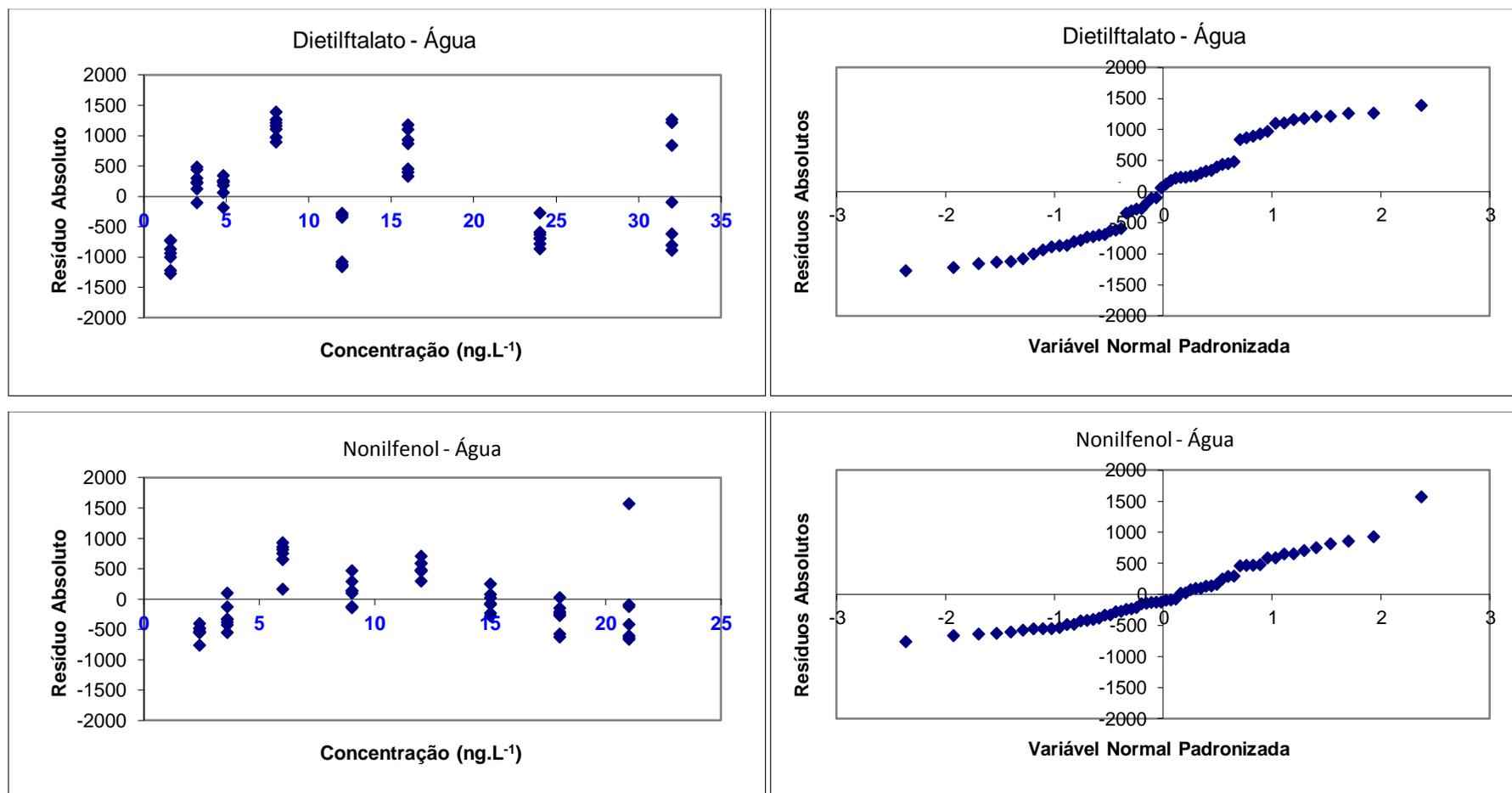


FIGURA 67. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Dietilftalato e Nonylfenol em matriz de água superficial da Guarapiranga.

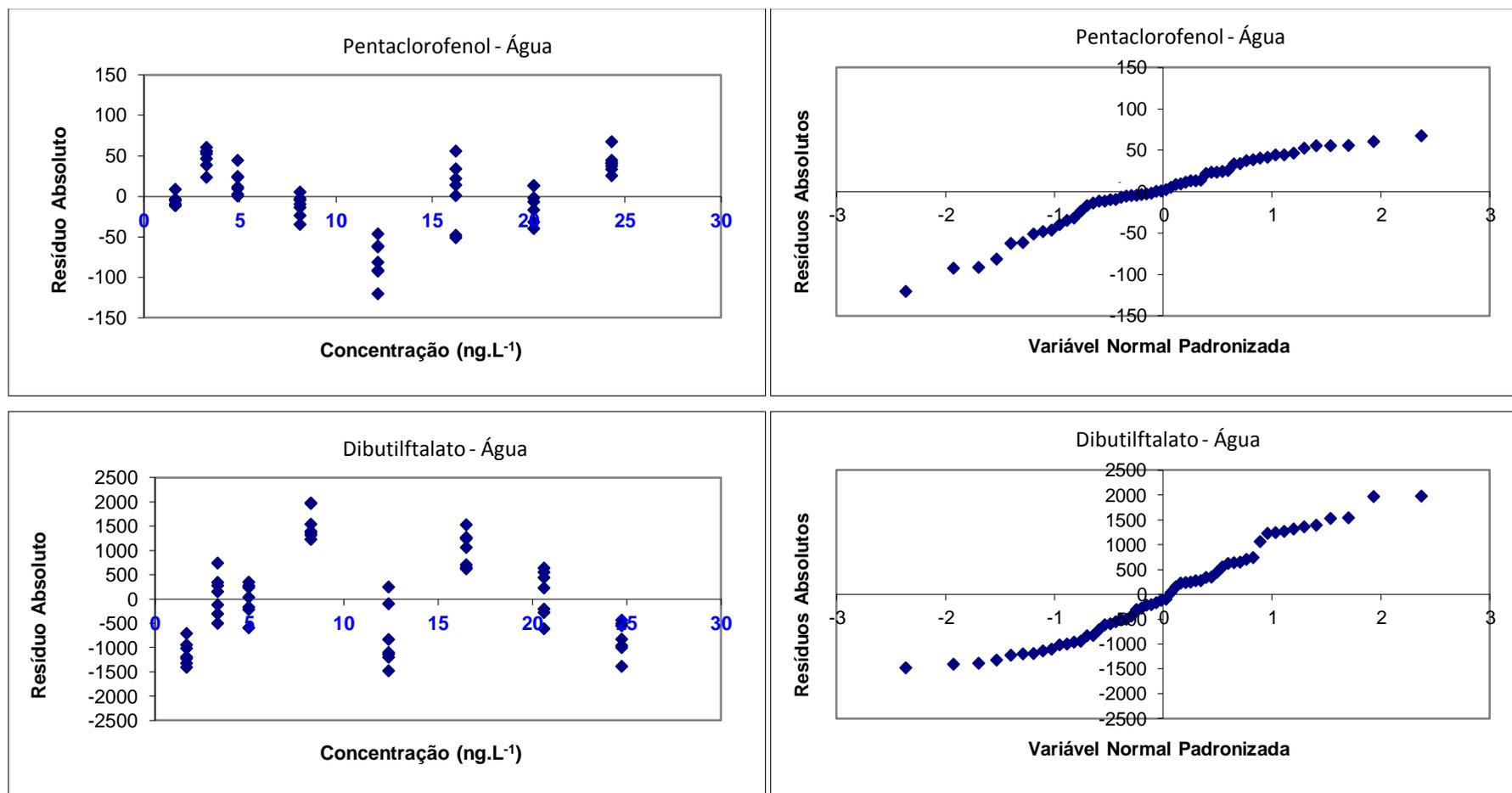


FIGURA 68. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Pentaclorofenol e Dibutilftalato em matriz de água superficial da Guarapiranga.

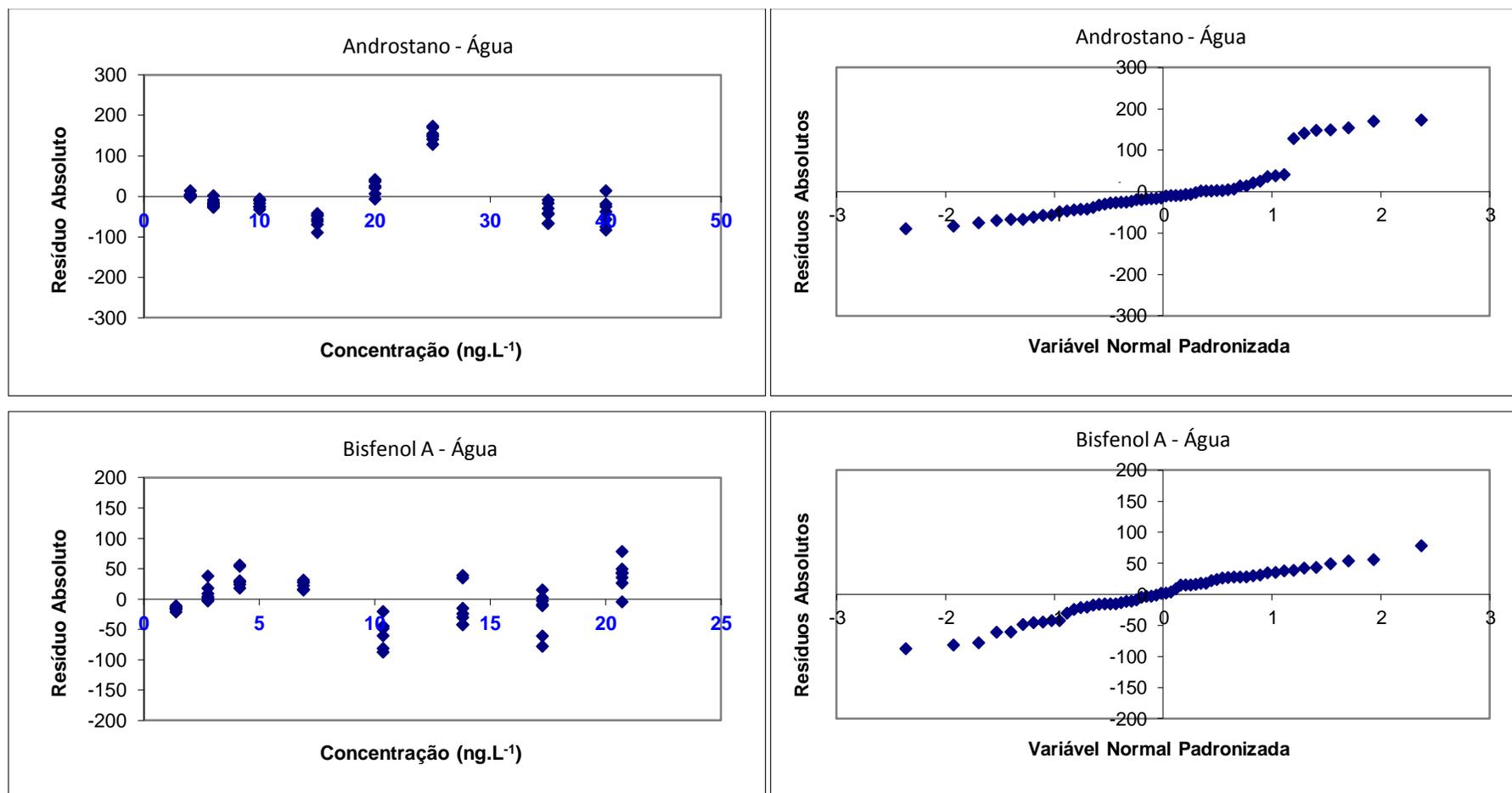


FIGURA 69. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Androstano e Bisfenol A em matriz de água superficial da Guarapiranga.

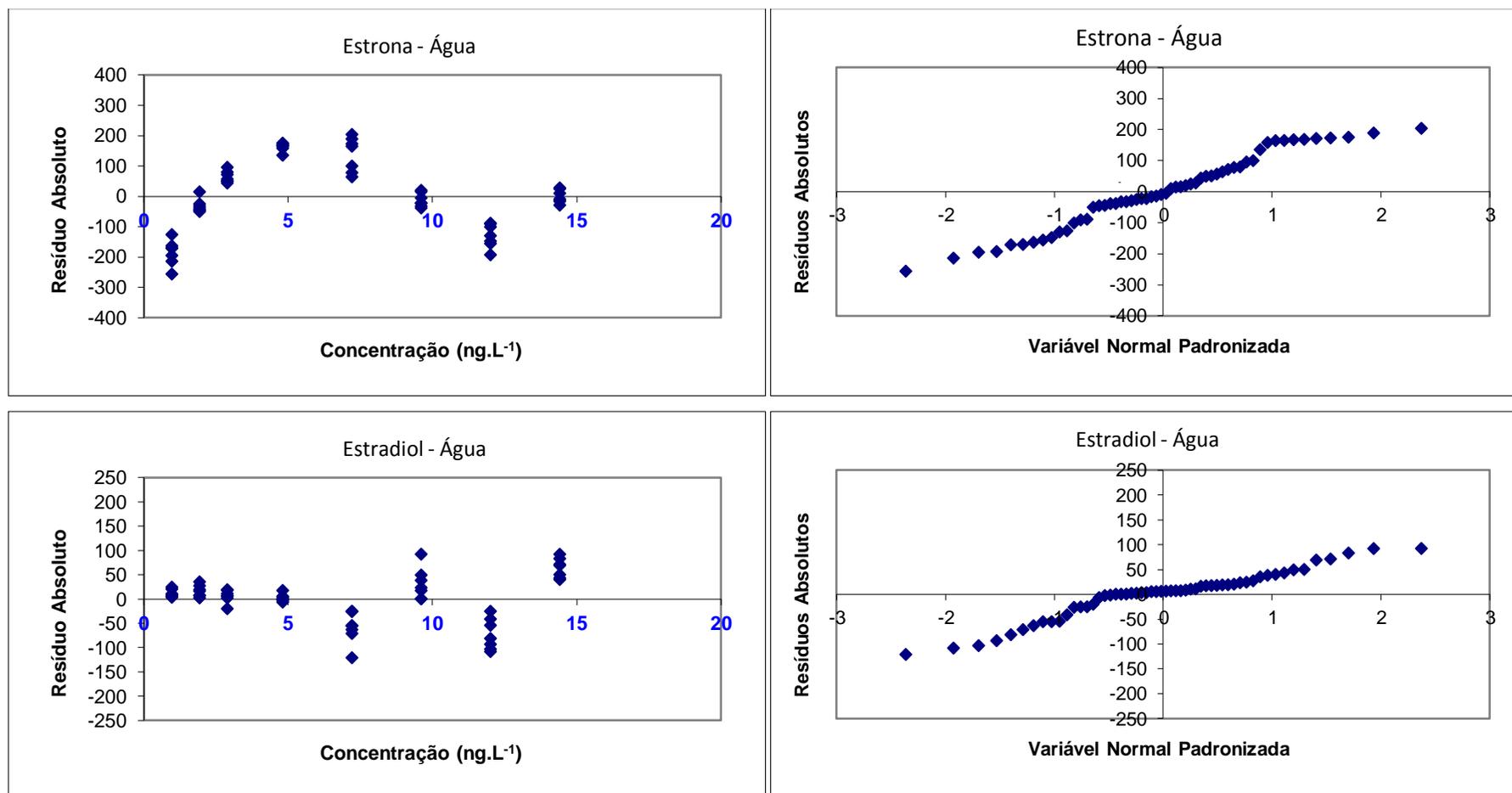


FIGURA 70. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Estrona e Estradiol em matriz de água superficial da Guarapiranga.

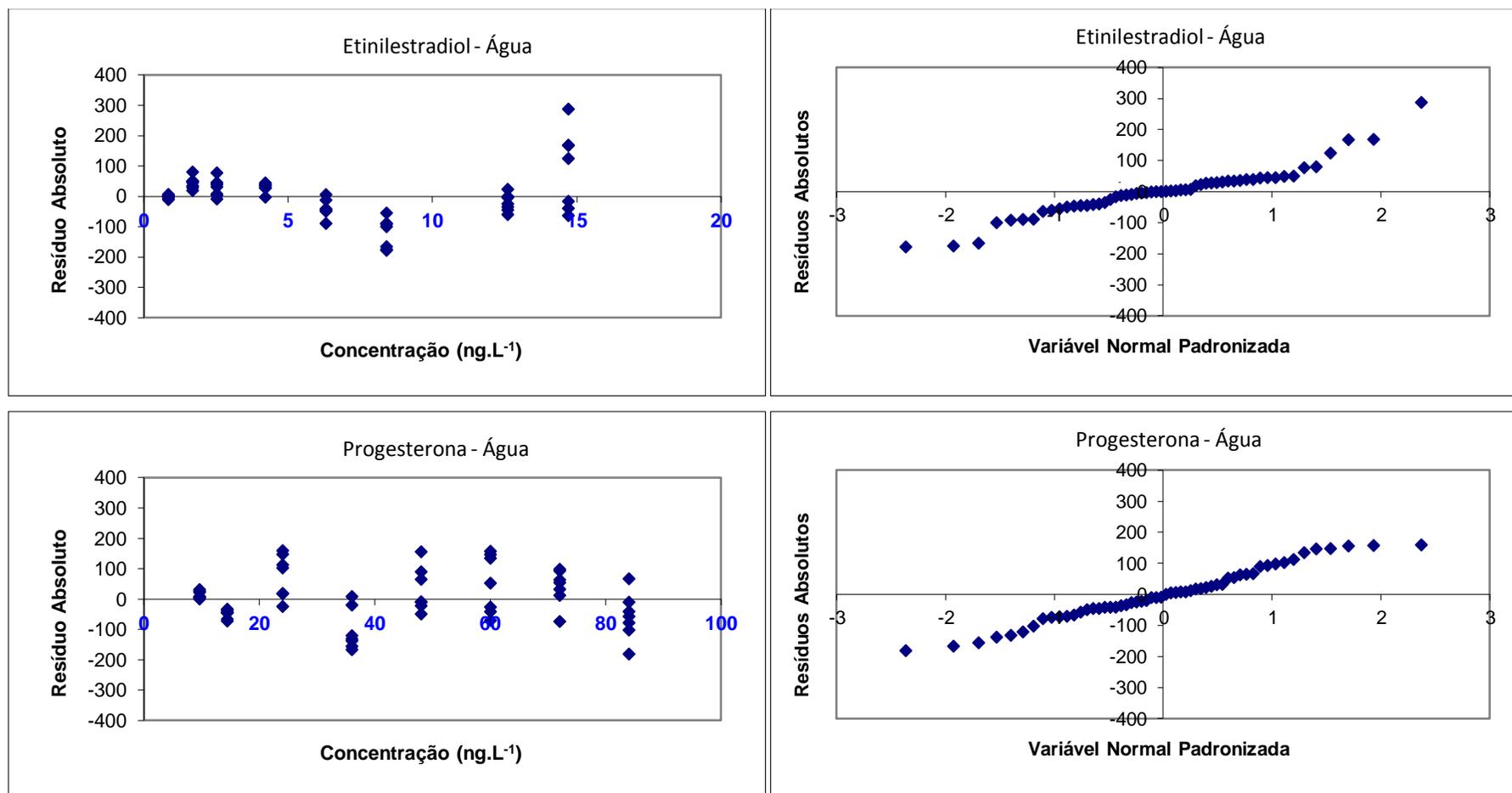


FIGURA 71. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Etinilestradiol e Progesterona em matriz de água superficial da Guarapiranga.

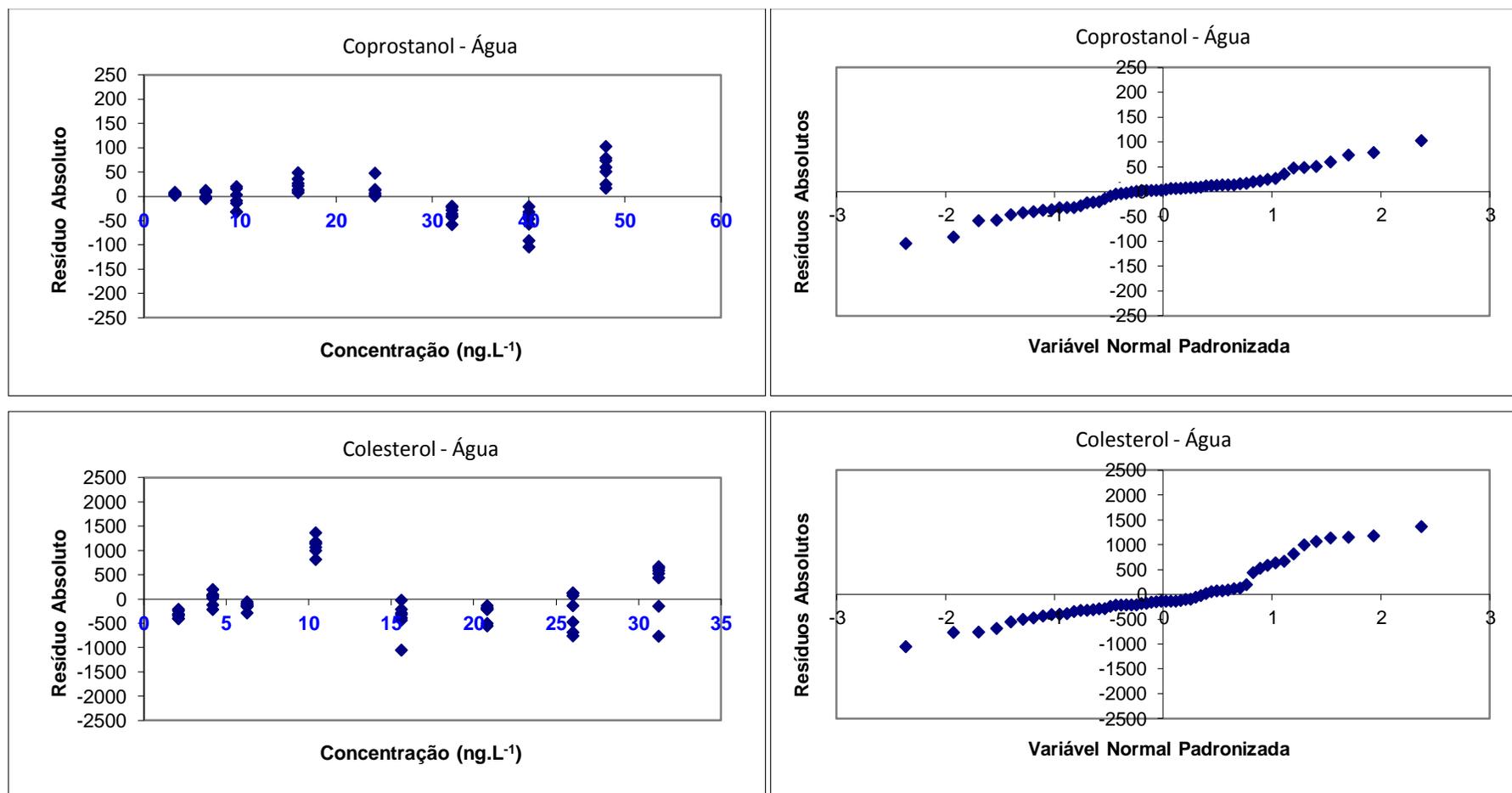


FIGURA 72. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Coprostanol e Colesterol em matriz de água superficial da Guarapiranga.

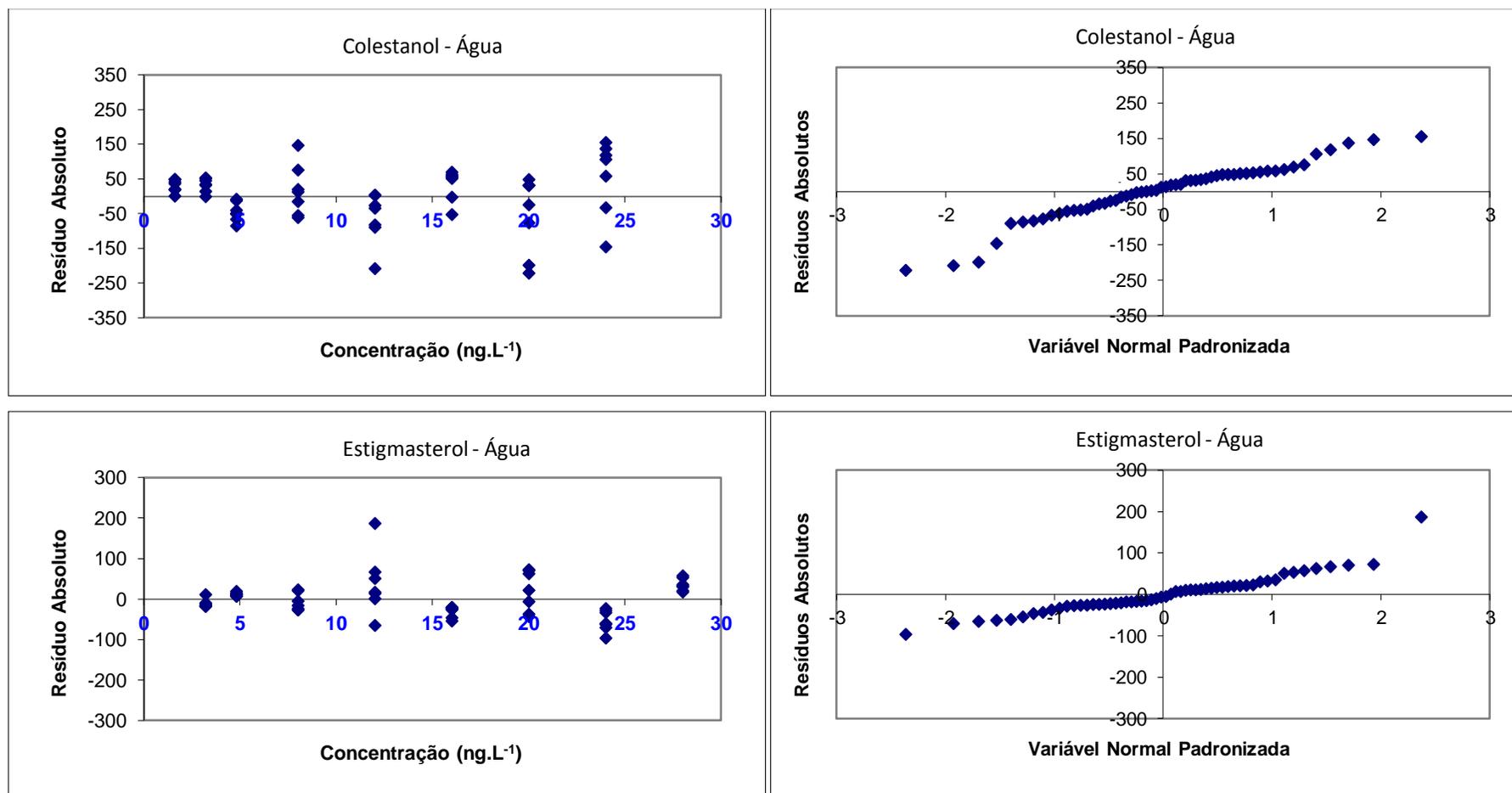


FIGURA 73. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Colestanol e Estigmasterol em matriz de água superficial da Guarapiranga.

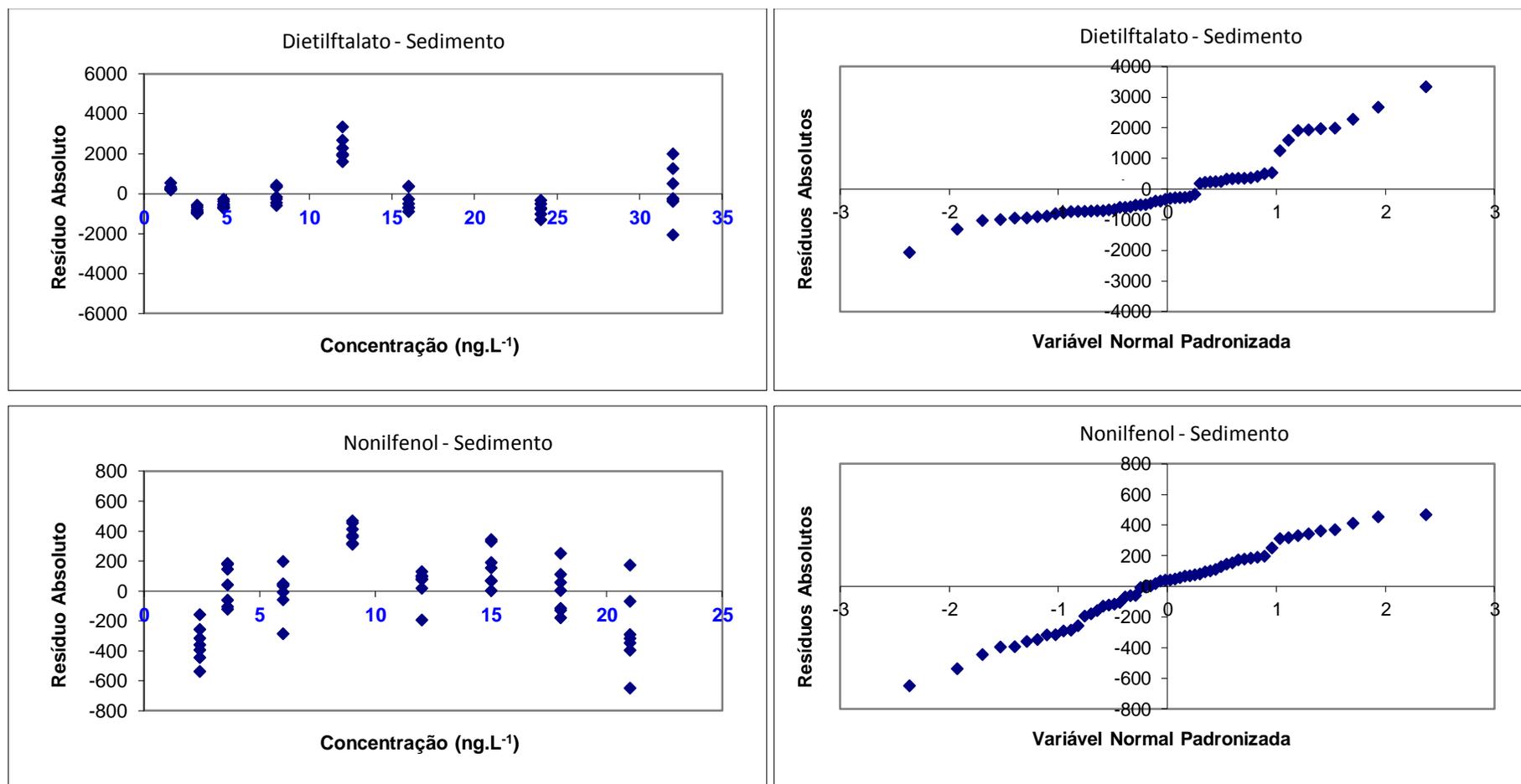


FIGURA 74. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Dietilftalato e Nonylfenol em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

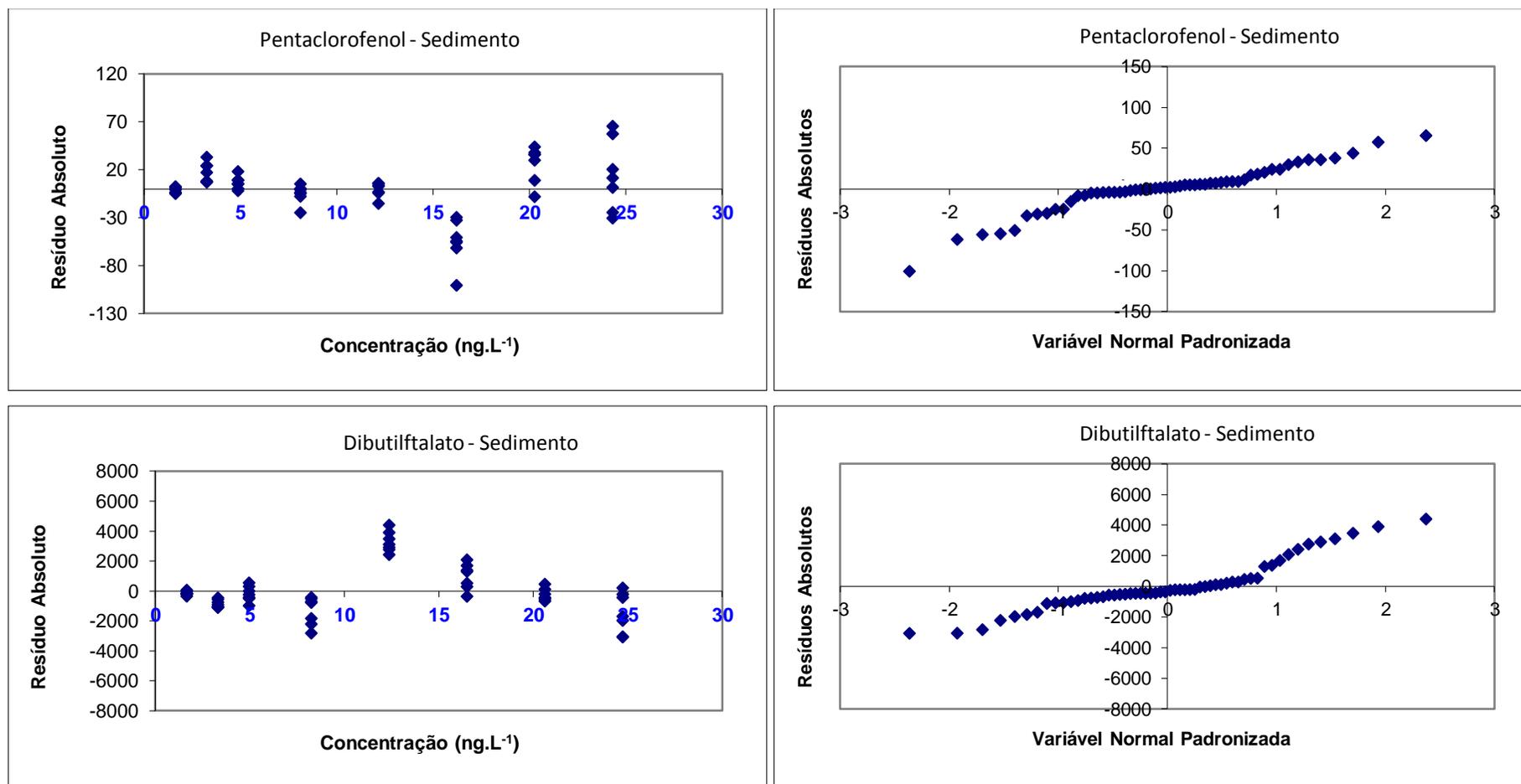


FIGURA 75. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Pentaclorofenol e Dibutilftalato em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

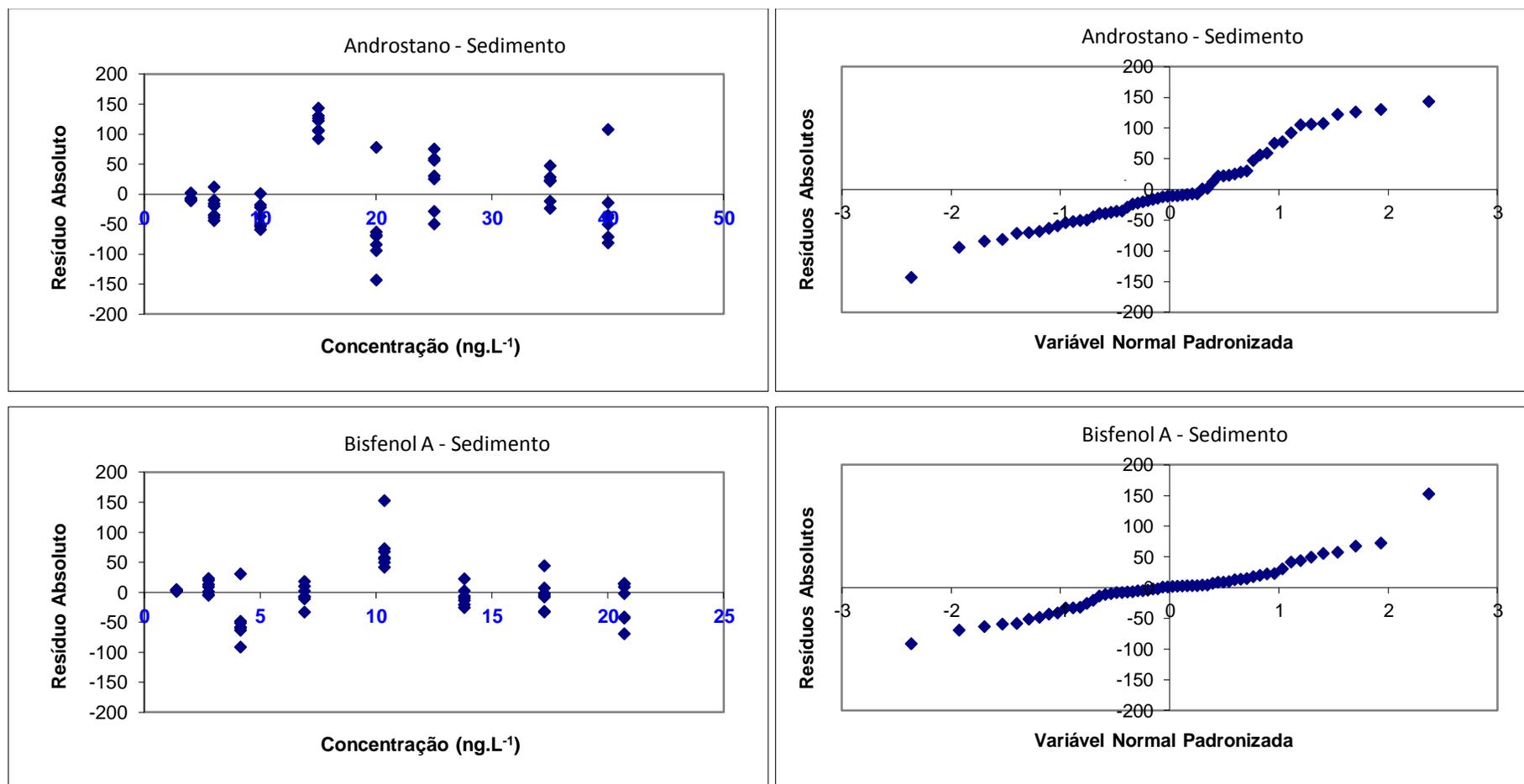


FIGURA 76. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Androstano e Bisfenol A em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

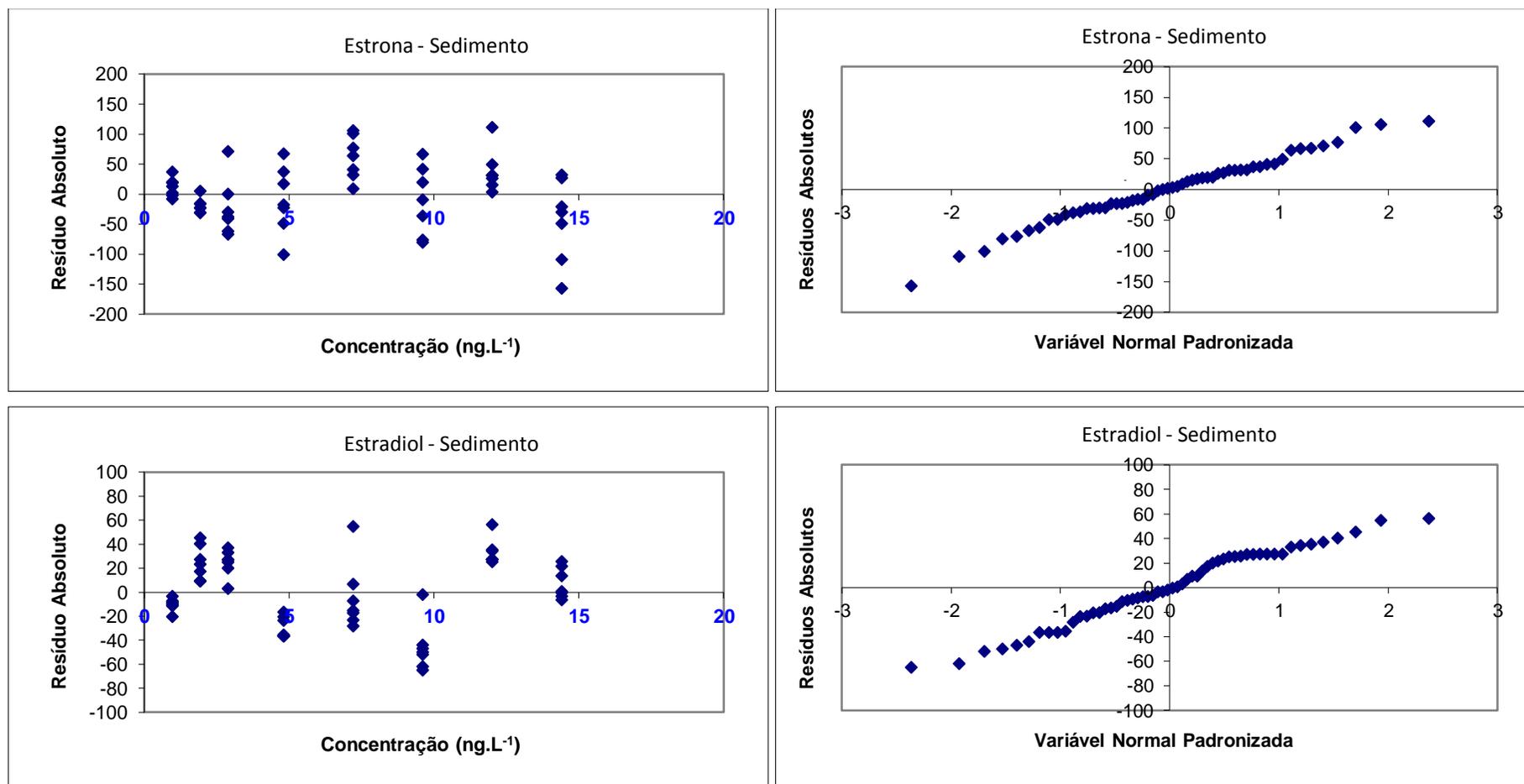


FIGURA 77. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Estrona e Estradiol em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

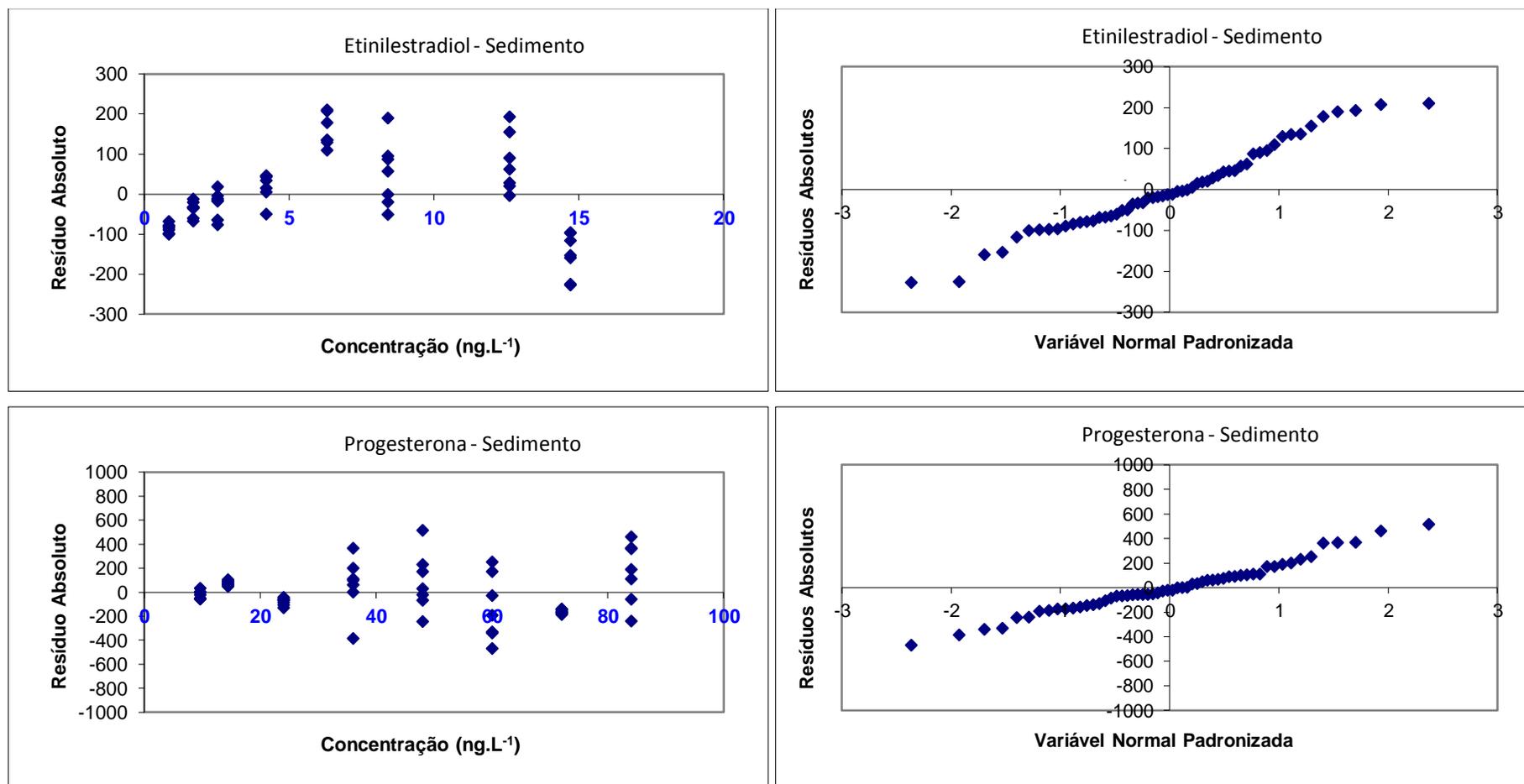


FIGURA 78. Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Etinilestradiol e Progesterona em matriz de sedimento superficial da Guarapiranga.

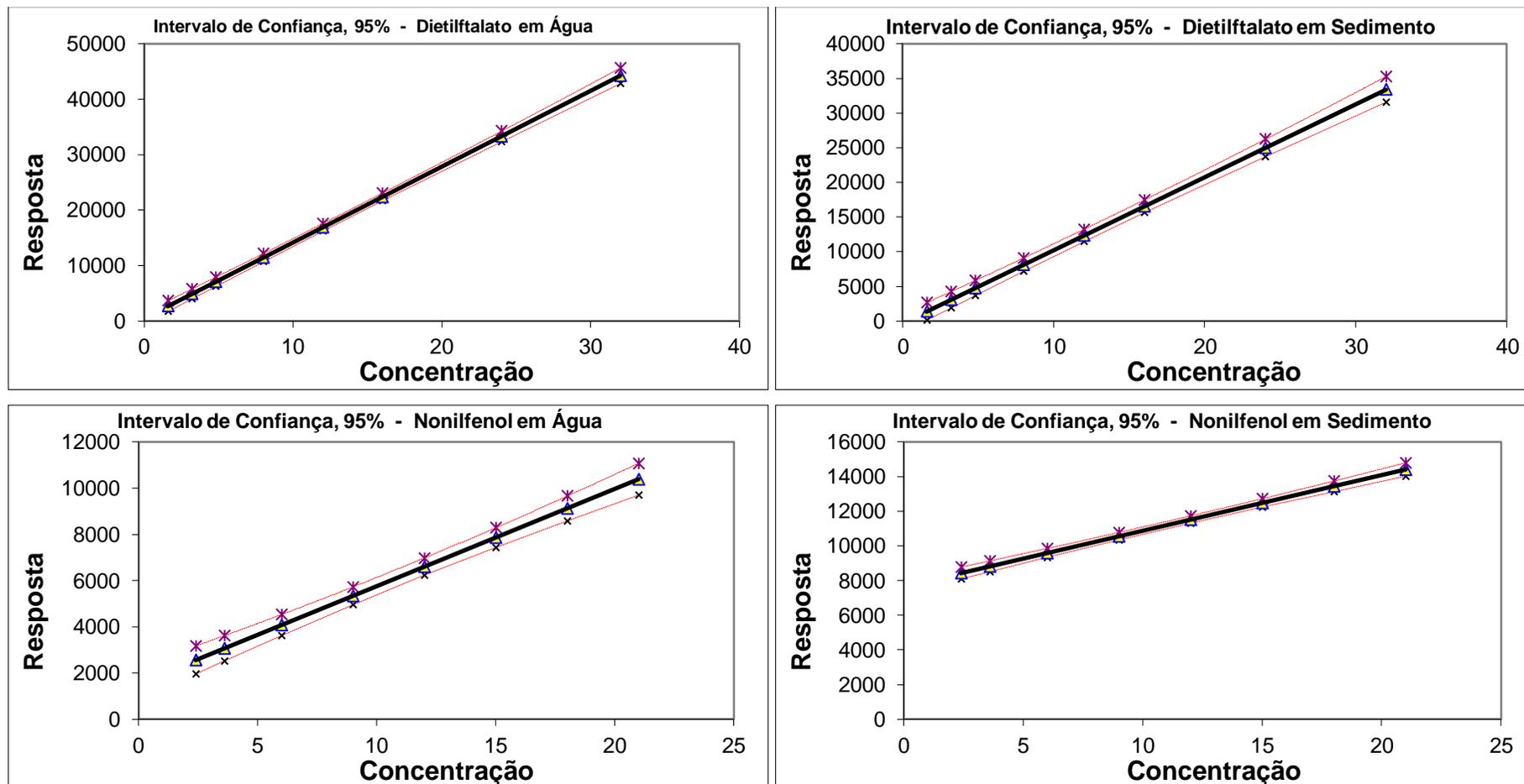


FIGURA 79. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Dietilftalato e Nonilfenol em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga

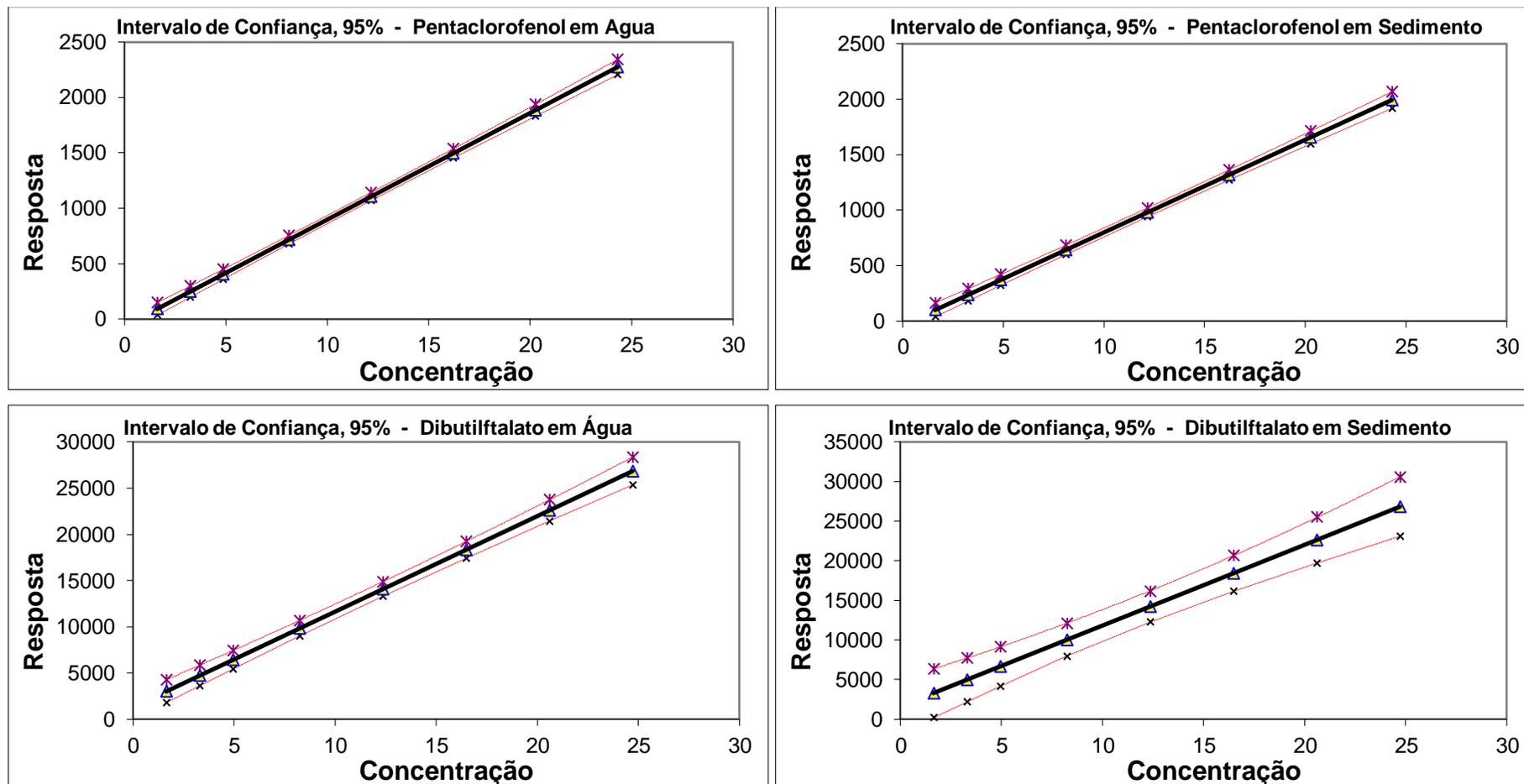


FIGURA 80. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Pentaclorofenol e Dibutilfthalato em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga

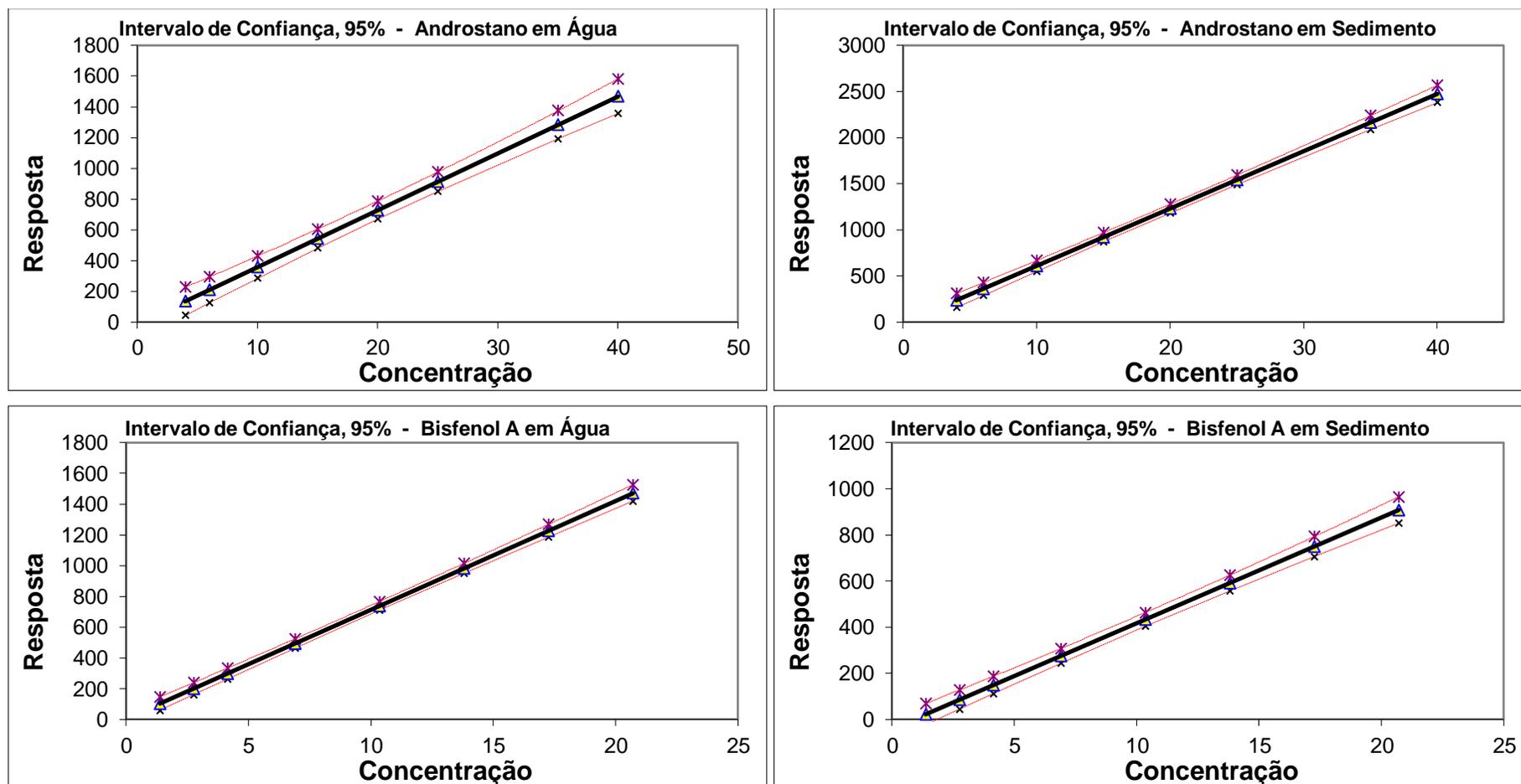


FIGURA 81. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Androstano e Bisfenol A em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga

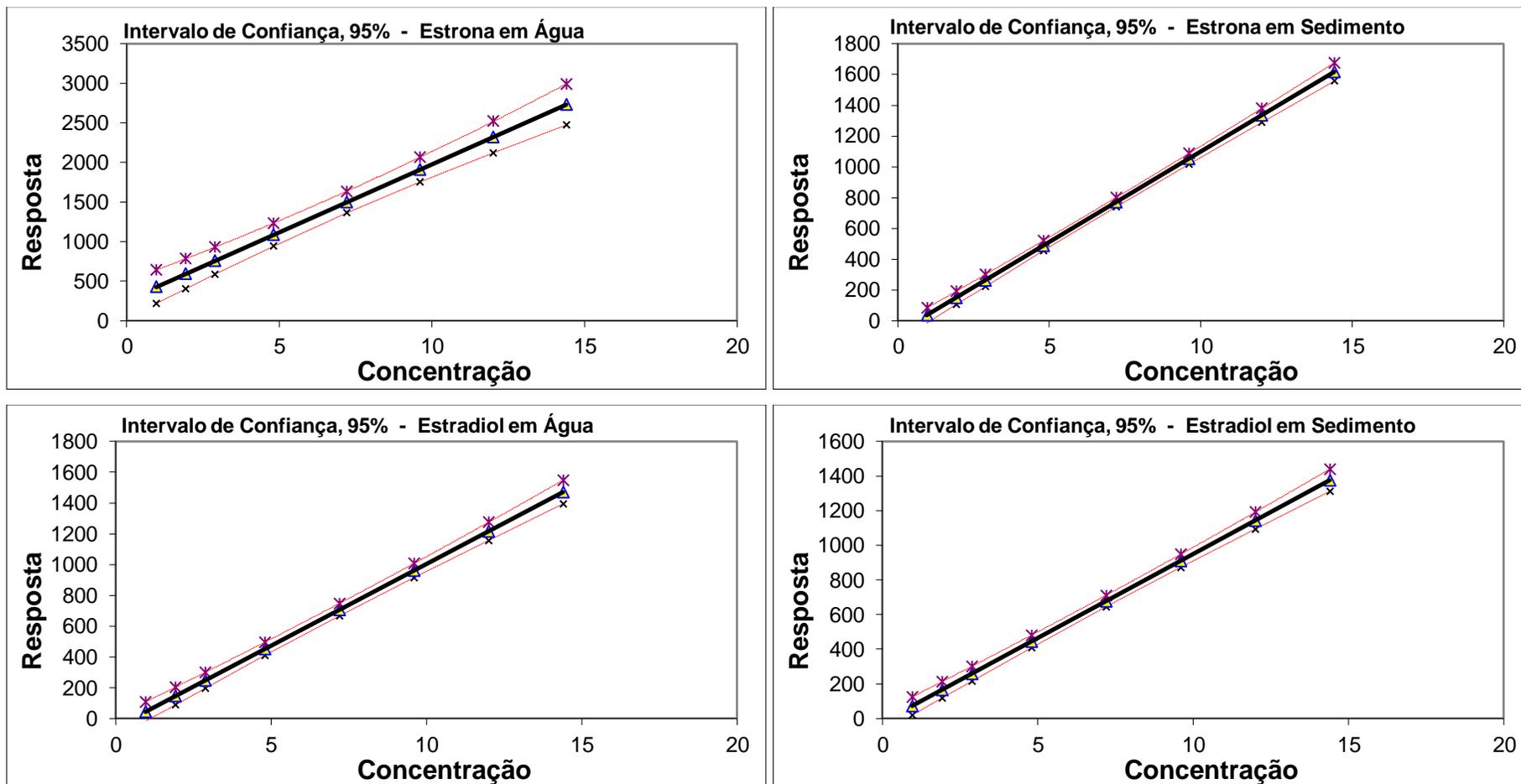


FIGURA 82. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Estrona e Estradiol em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga

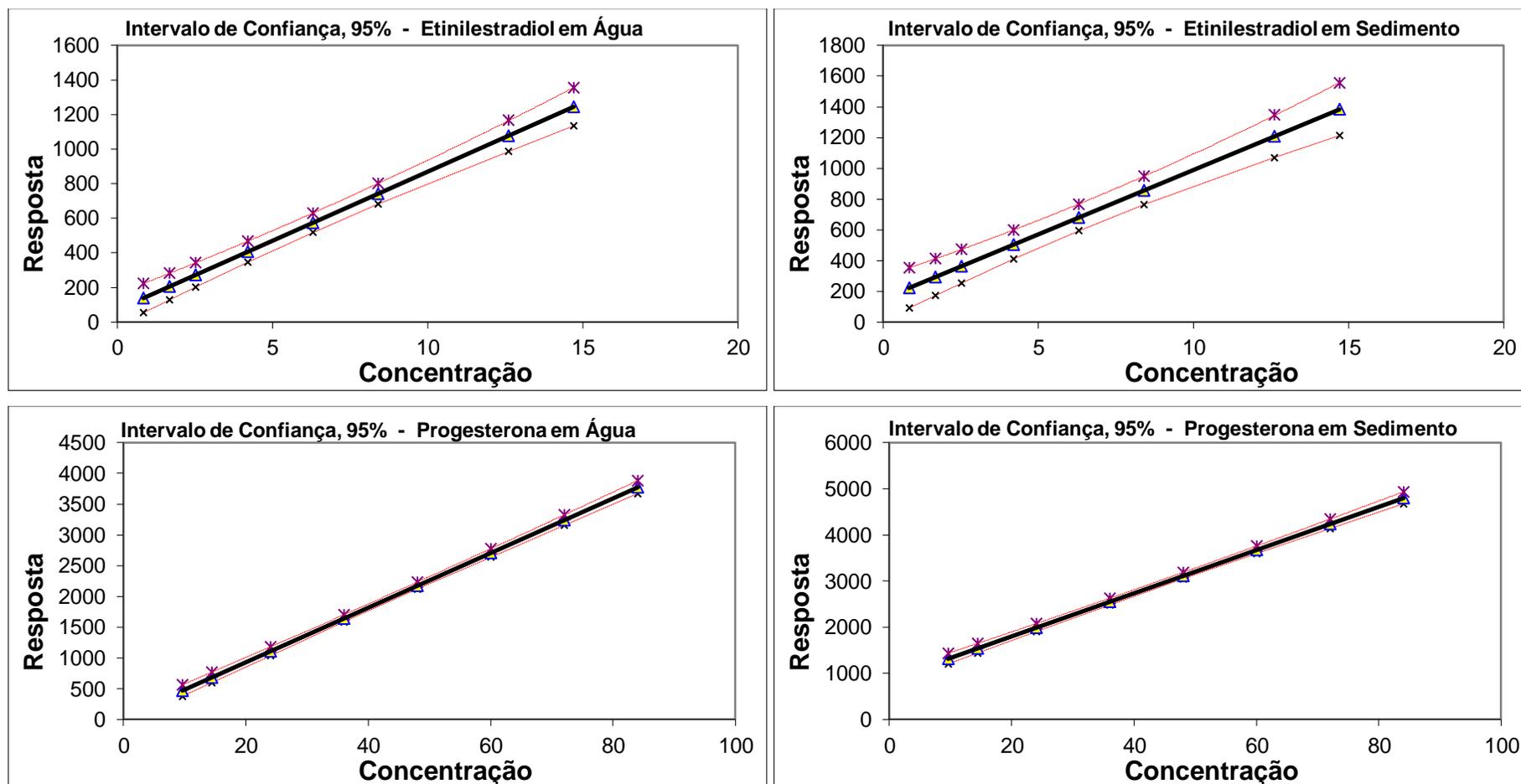


FIGURA 83. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Etinilestradiol e Progesteron em matriz de água e sedimento superficial da Guarapiranga

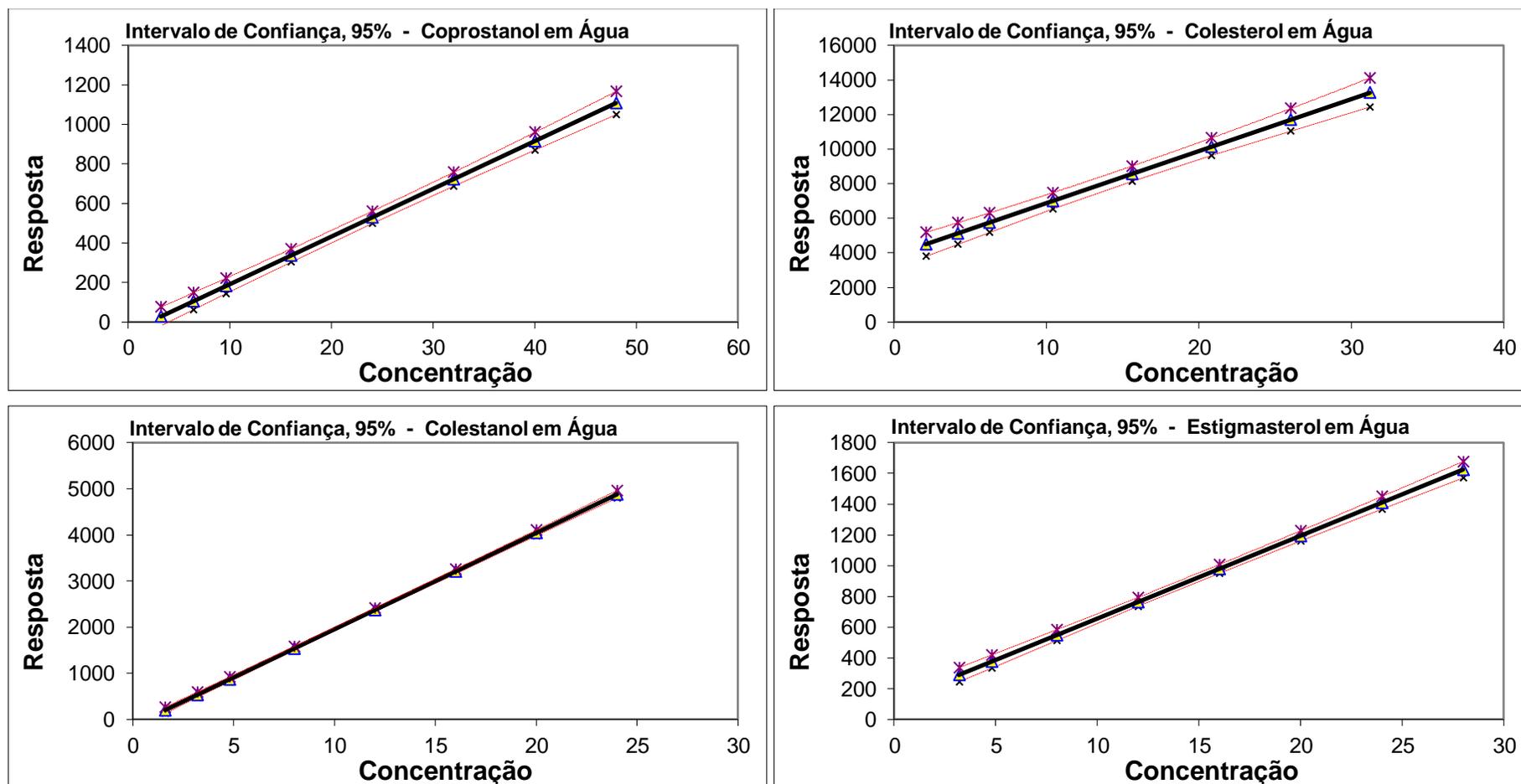


FIGURA 84. Gráficos de Faixa de Intervalo de confiança da faixa de trabalho para Coprostanol, Colesterol, Colestanol e Estigmasterol em matriz de água superficial da Guarapiranga.

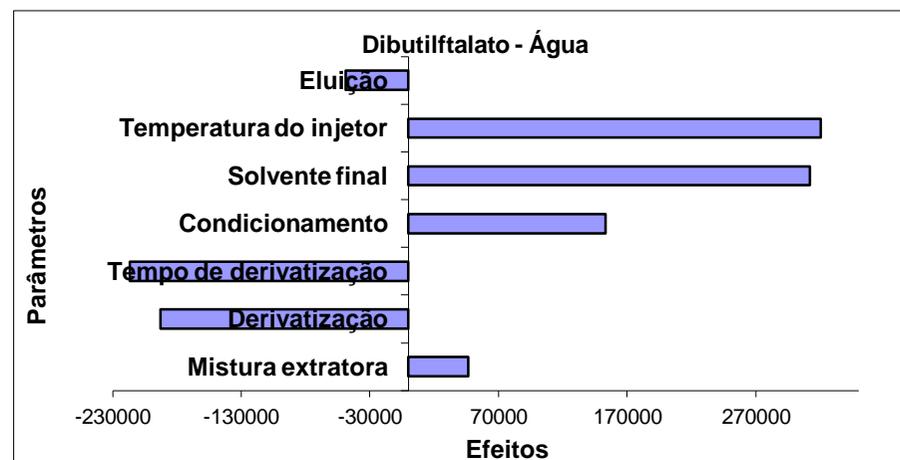
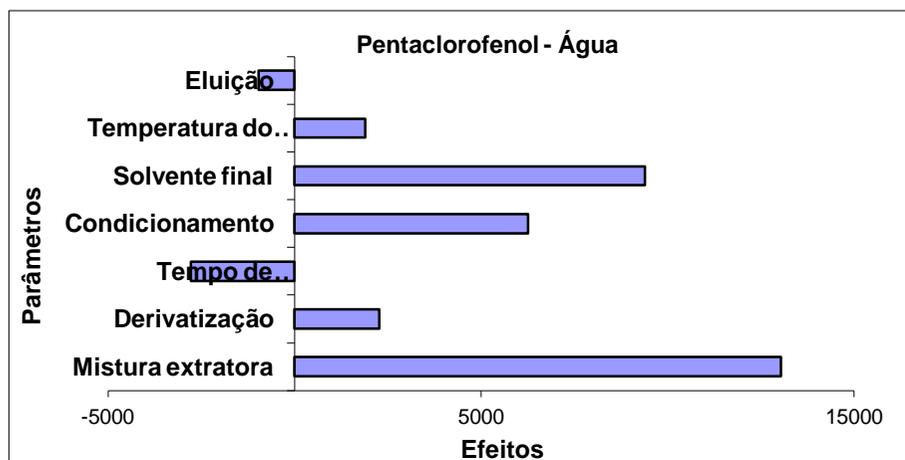
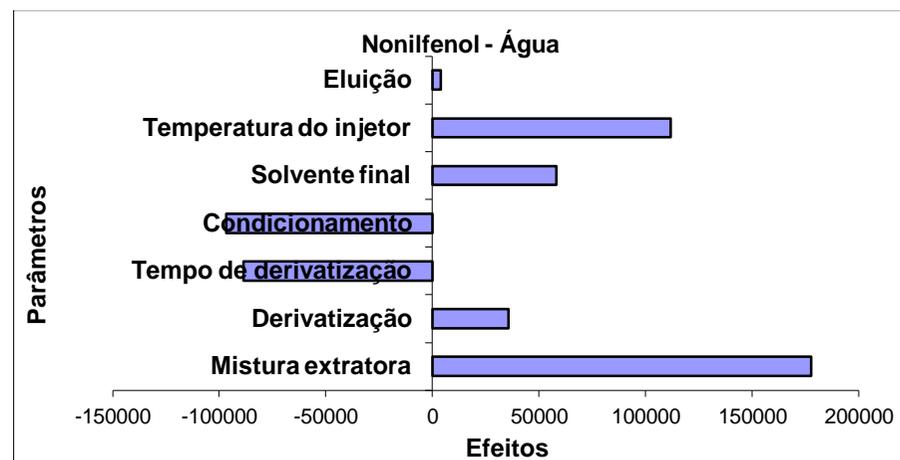
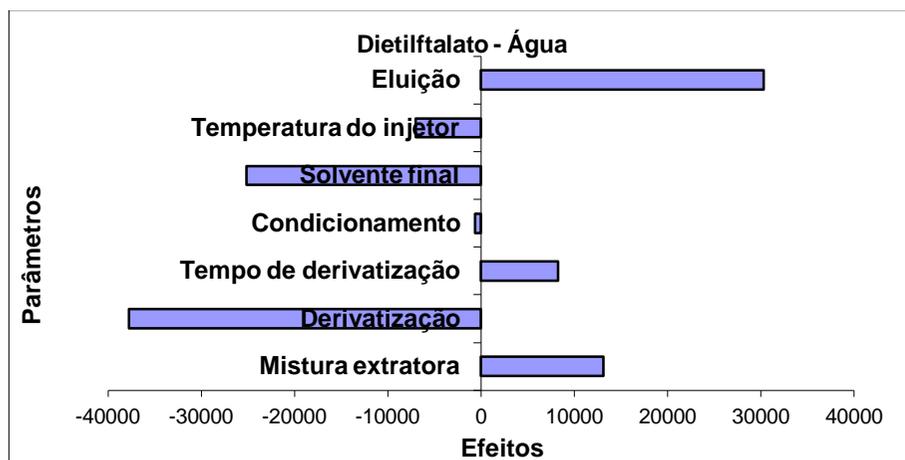


FIGURA 85. Gráficos para Dietilftalato, Nonilfenol, Pentaclorofenol e Dibutilftalato representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.

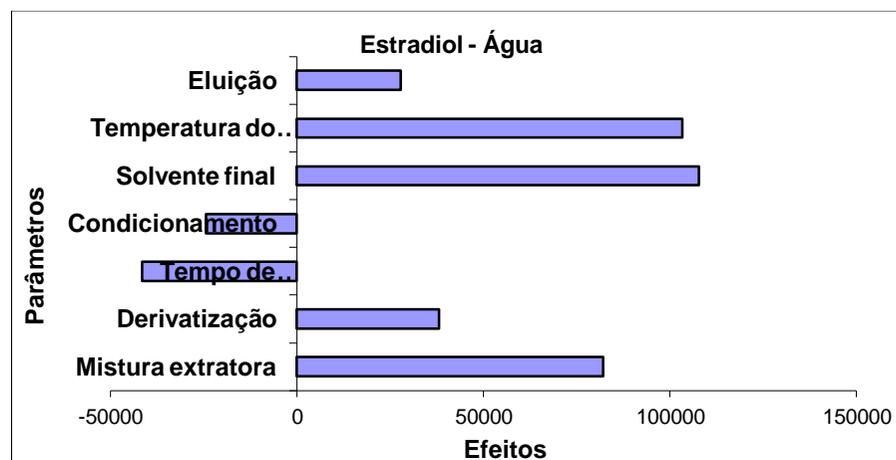
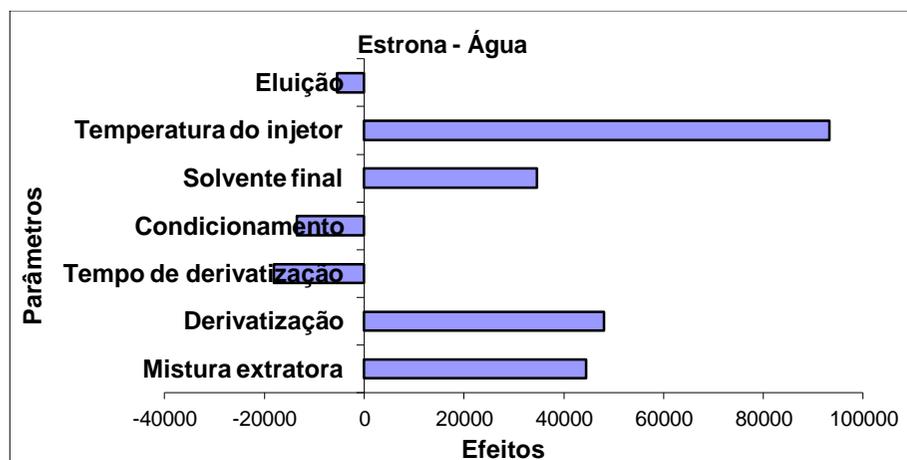
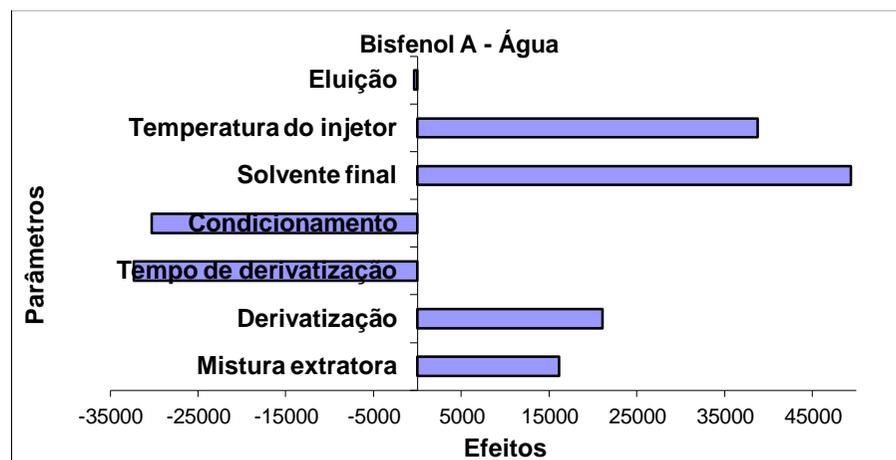
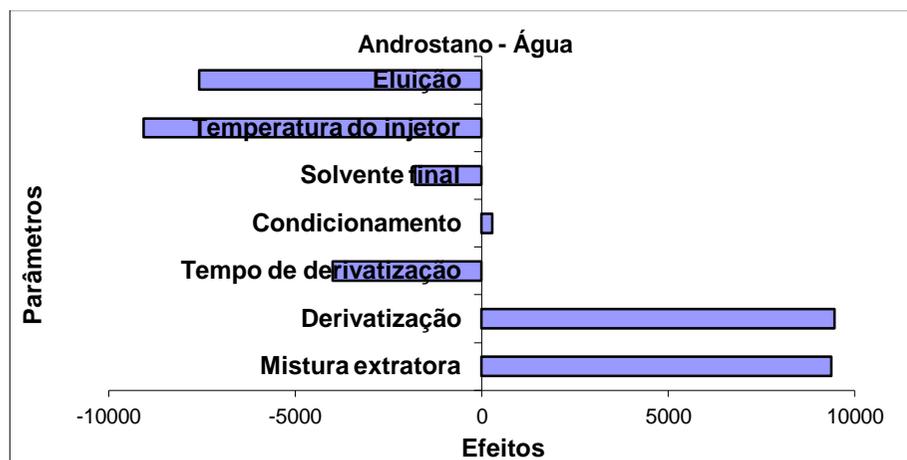


FIGURA 86. Gráficos para Androstano, Bisfenol A, Estrona e Estradiol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.

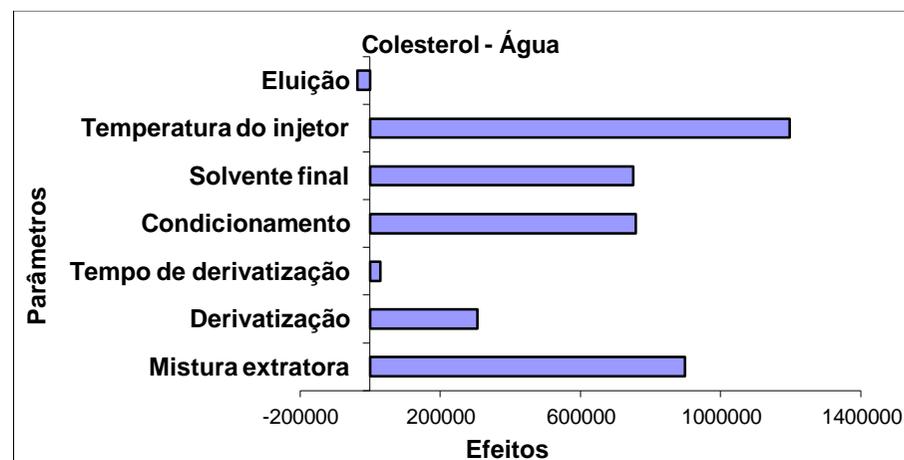
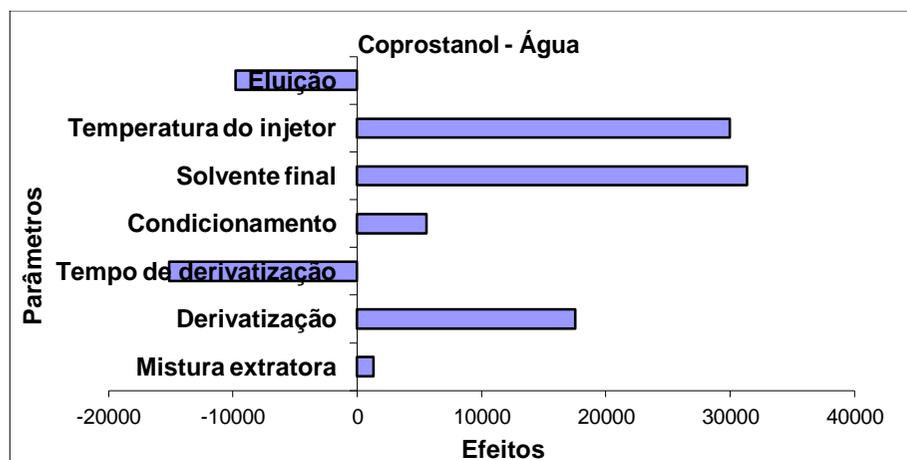
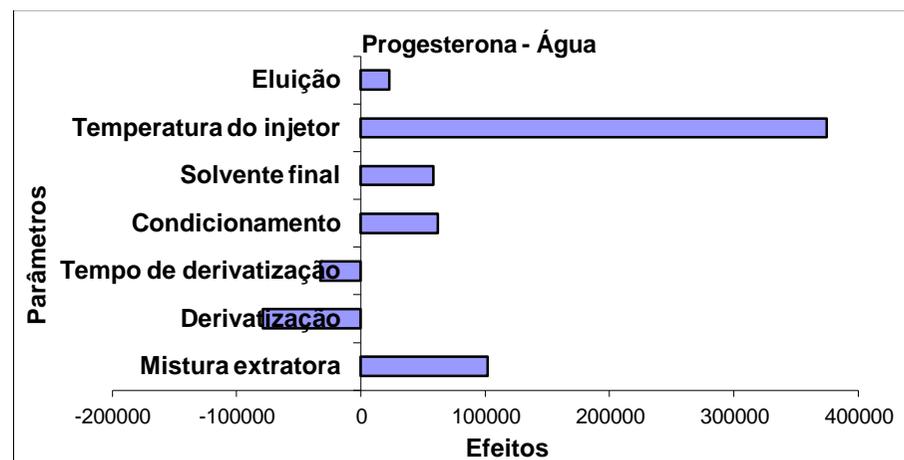
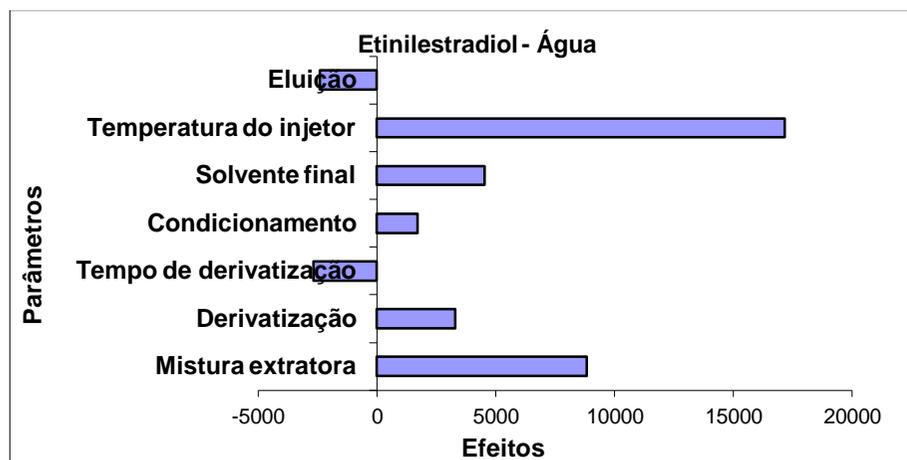


FIGURA 87. Gráficos para Etinilestradiol, Progesterona, Coprostanol e Colesterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.

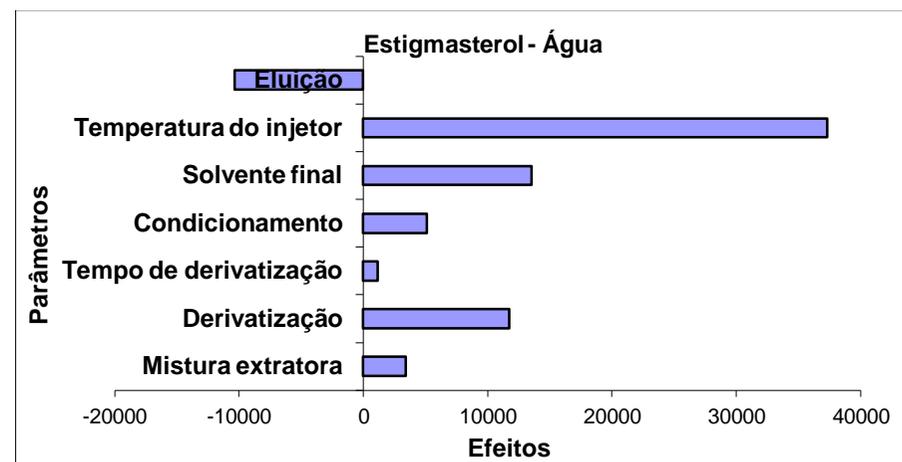
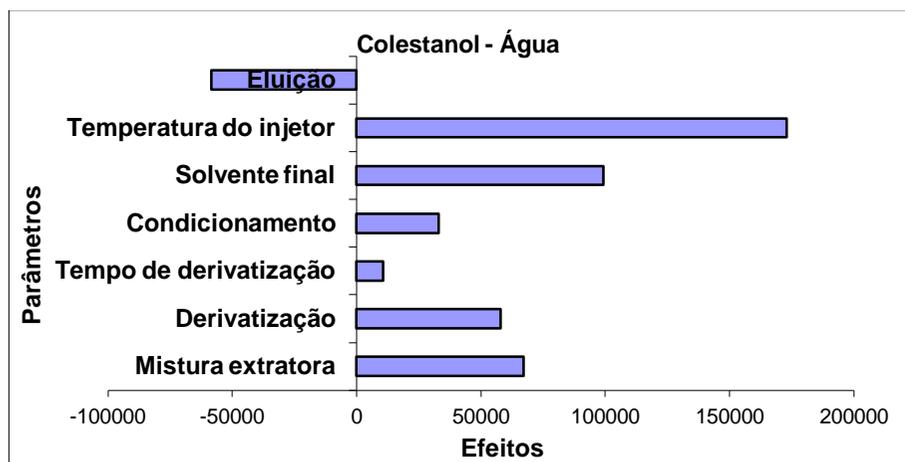


FIGURA 88. Gráficos para Colestanol e Estigmasterol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Água superficial da Guarapiranga.

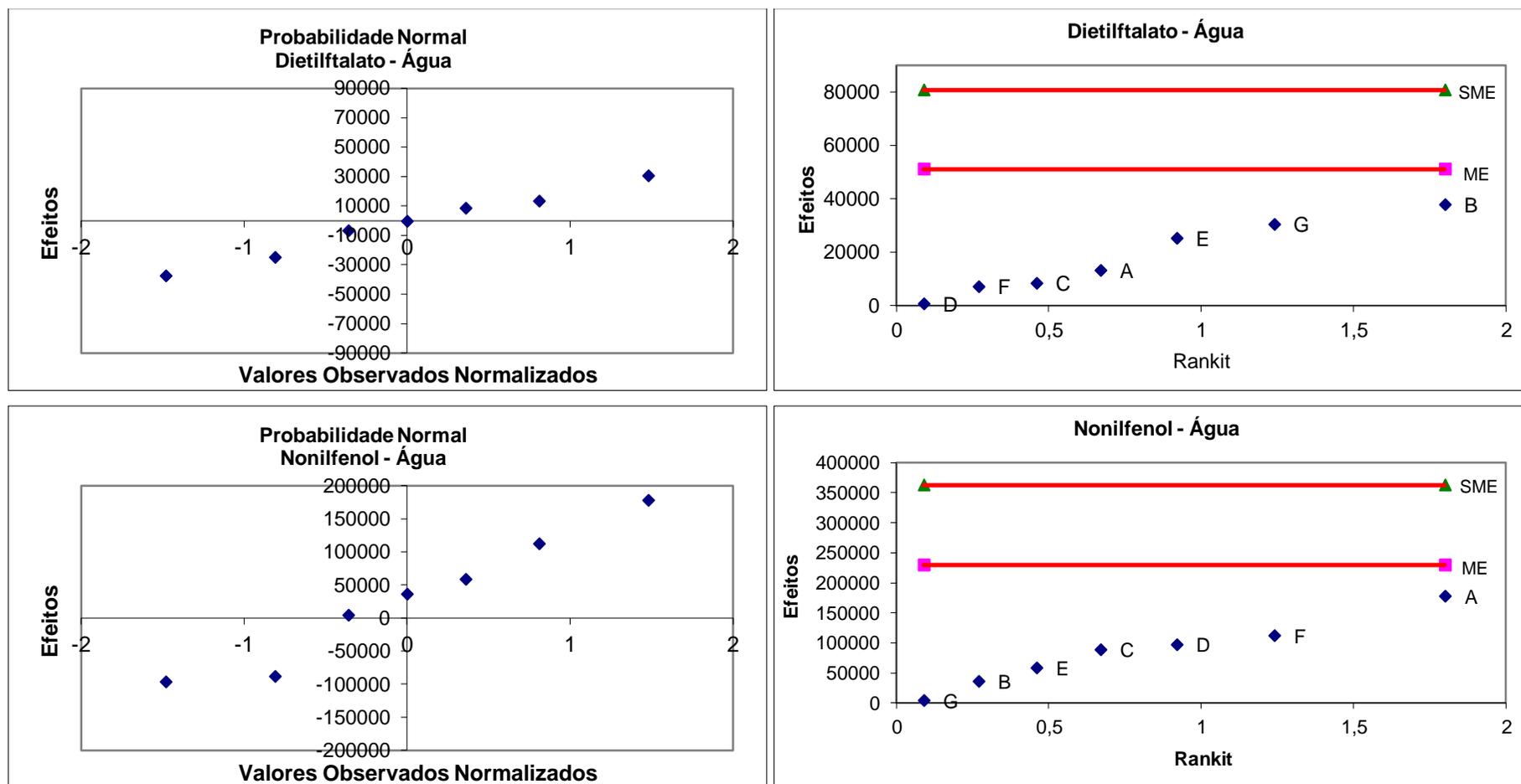


FIGURA 89. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Dietilftalato e Nonilfenol.

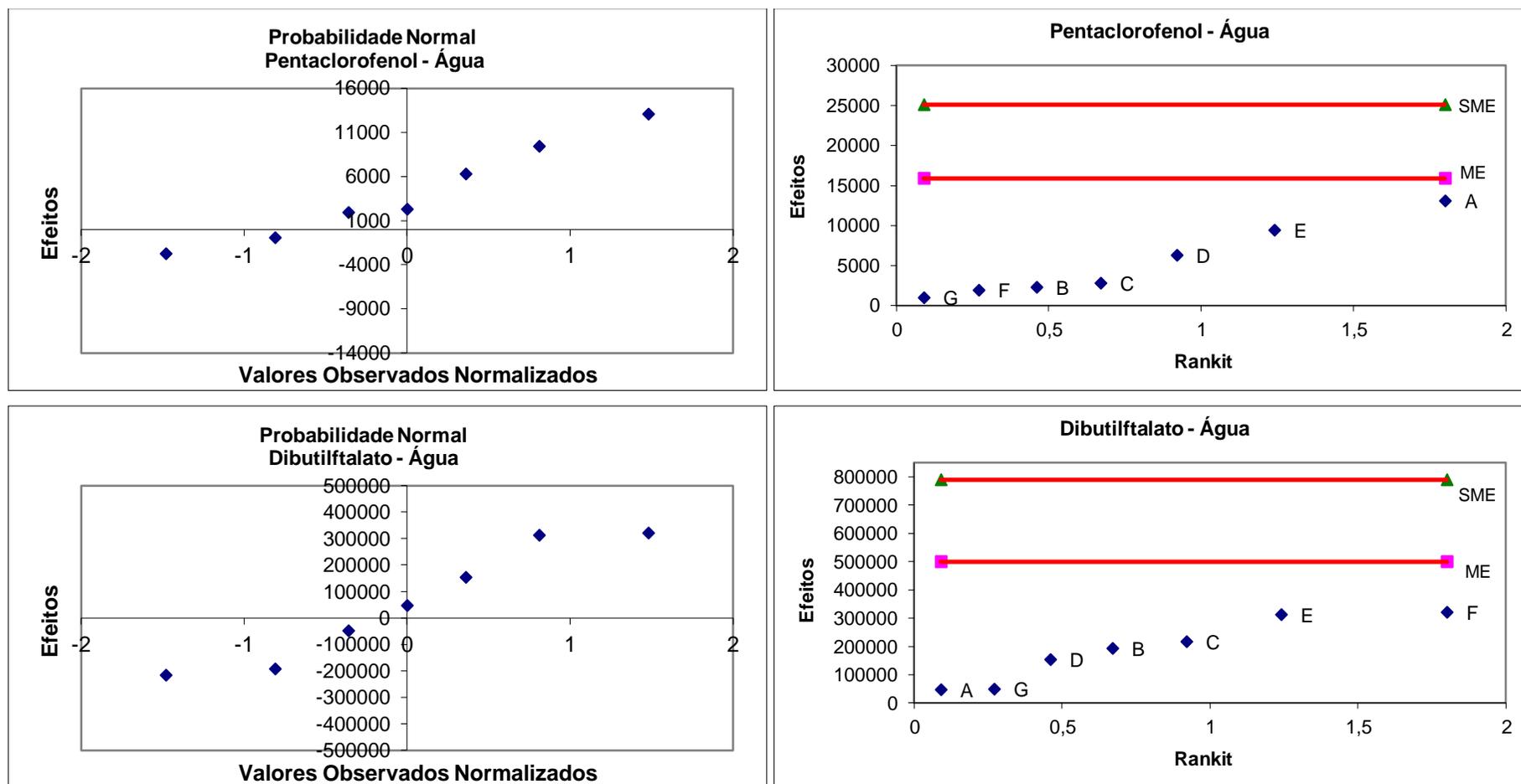


FIGURA 90. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Pentaclorofenol e Dibutilftalato.

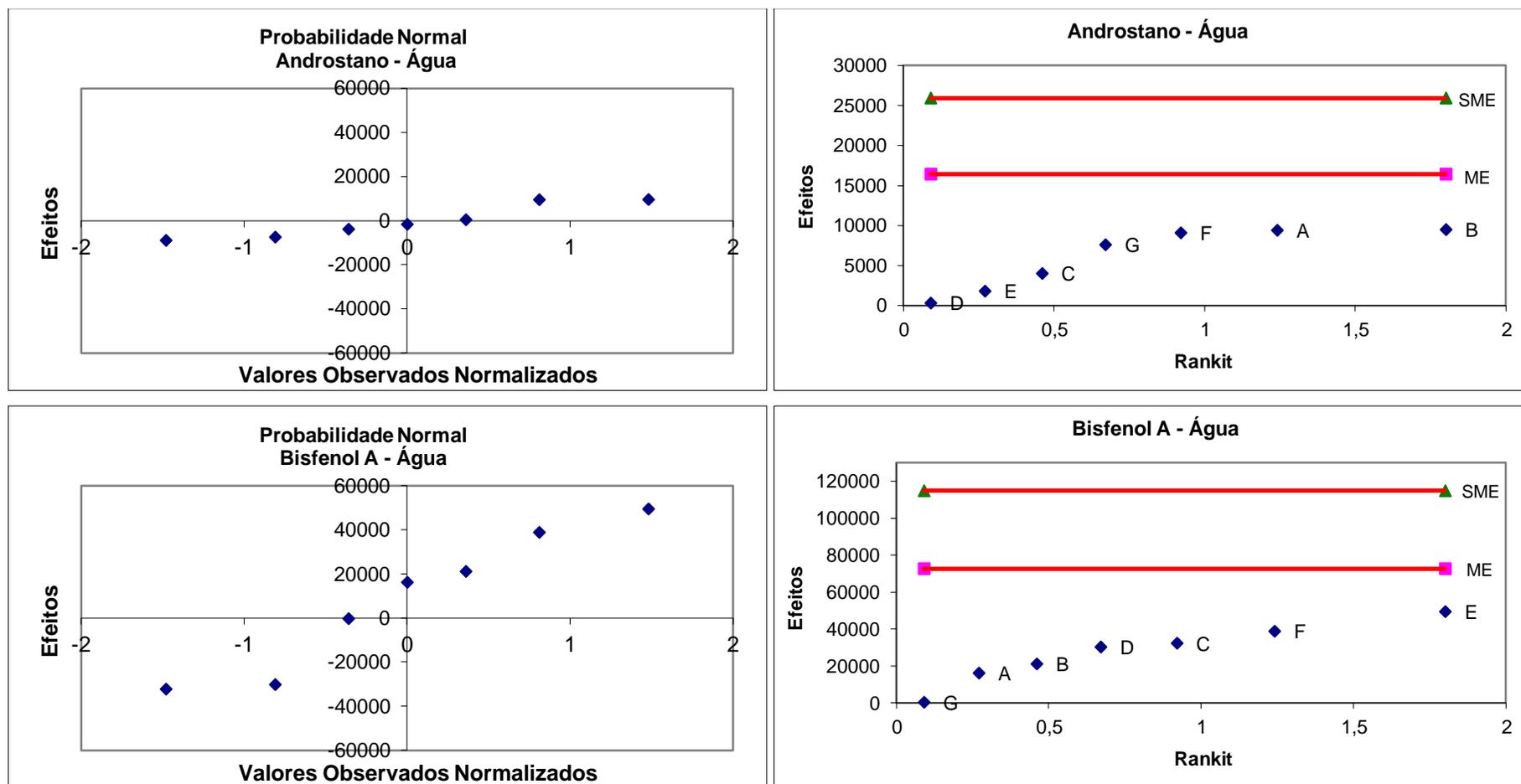


FIGURA 91. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Androstano e Bisfenol A.

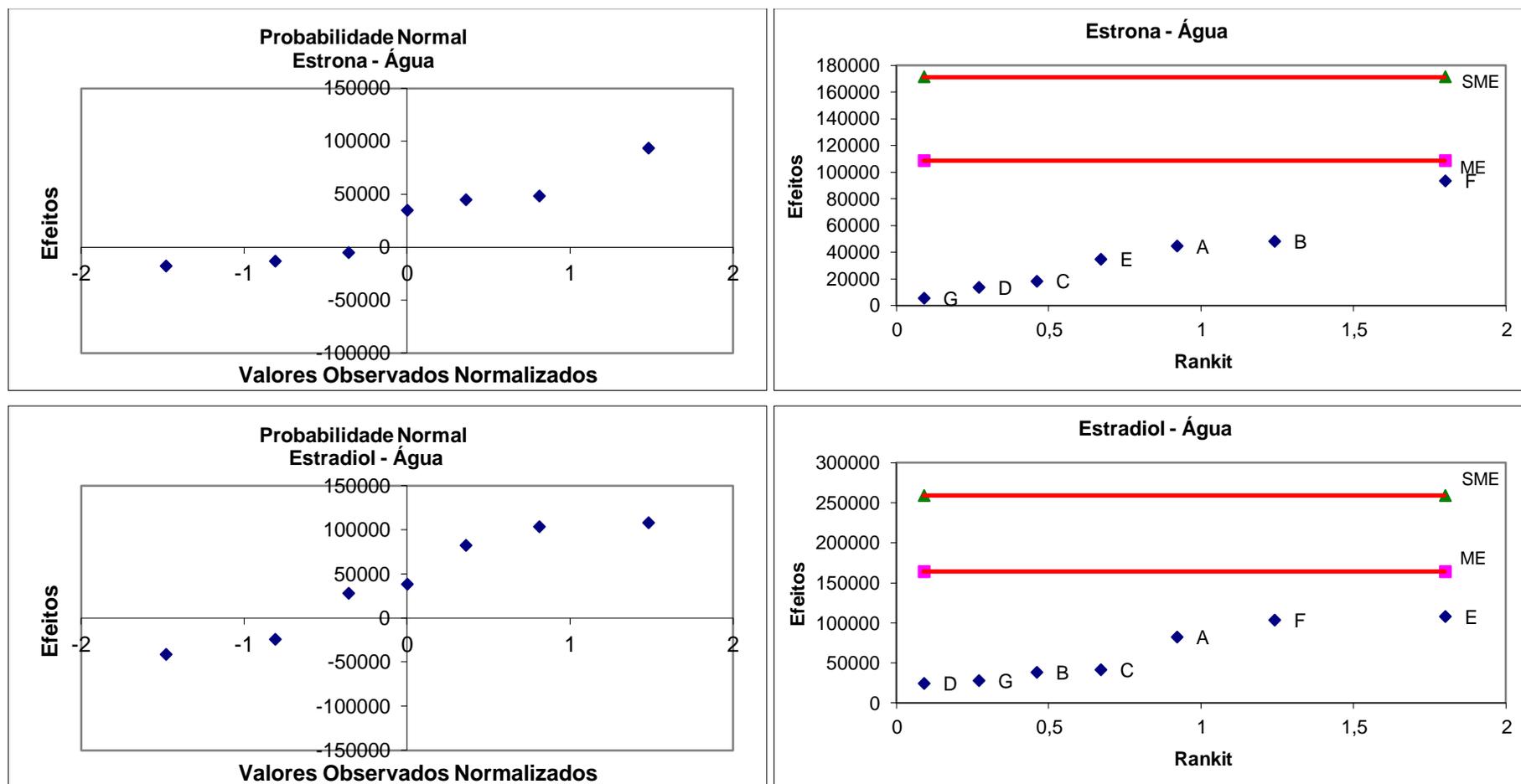


FIGURA 92. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Estrona e Estradiol.

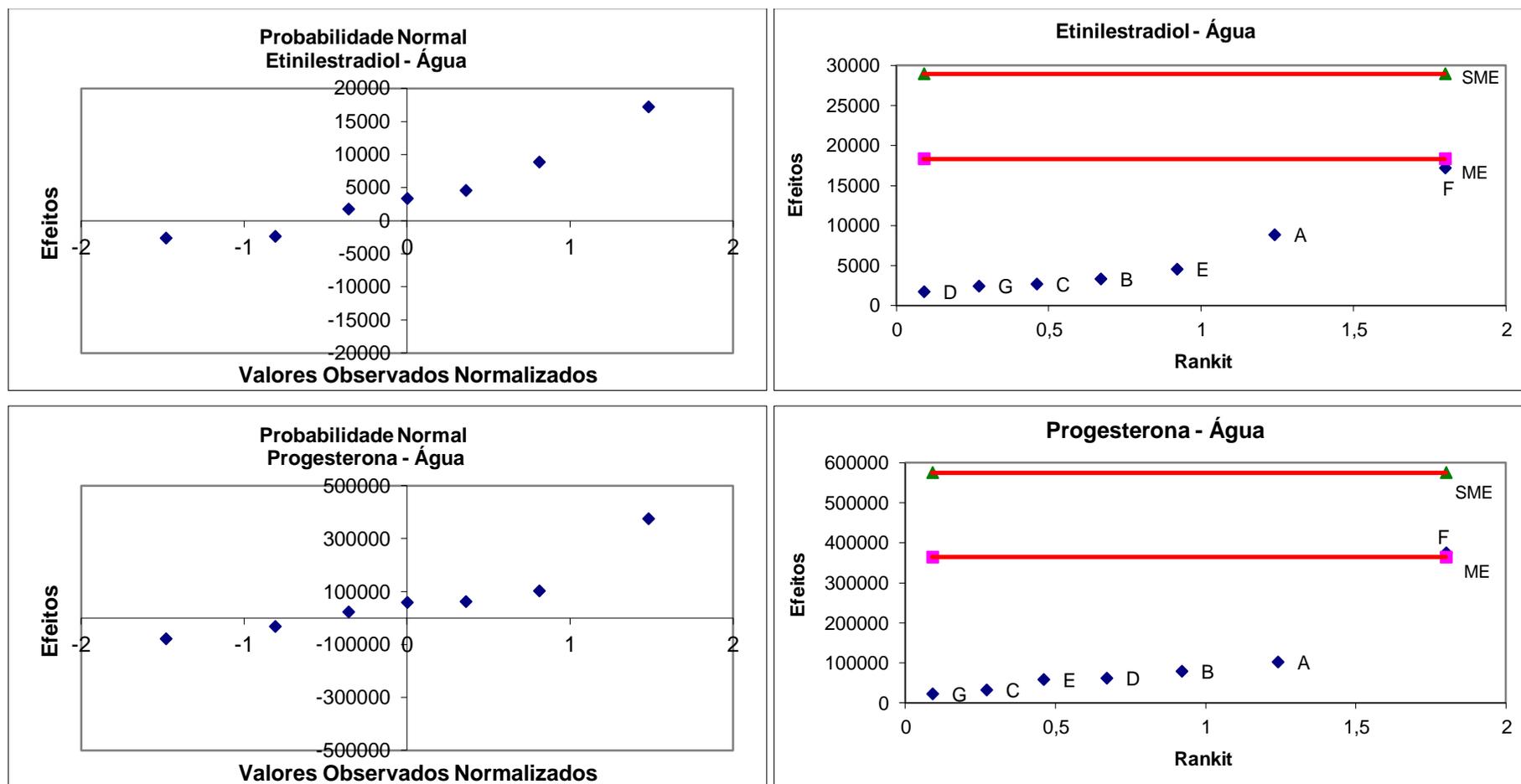


FIGURA 93. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Etinilestradiol e Progesterona.

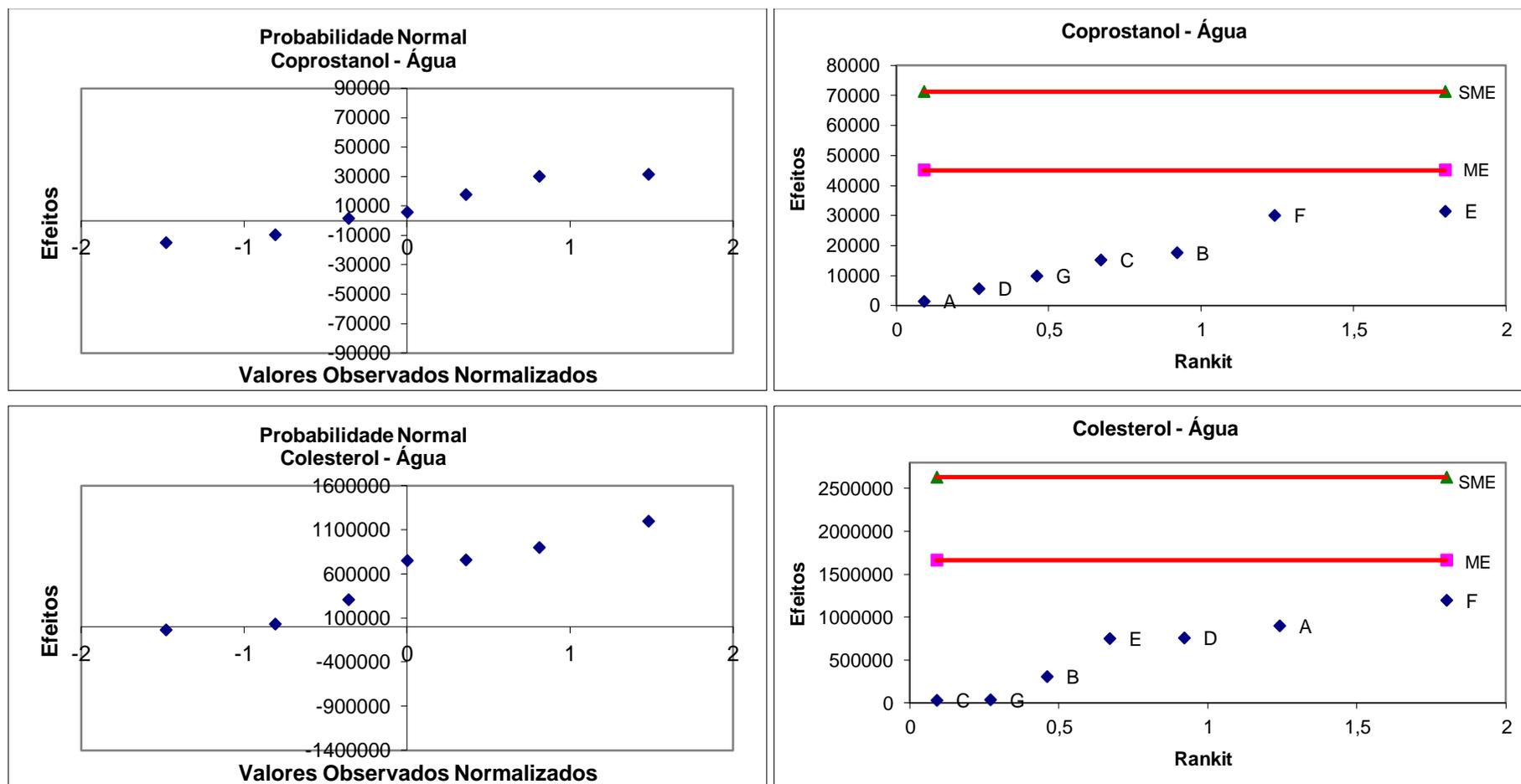


FIGURA 94. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Coprostanol e Colesterol.

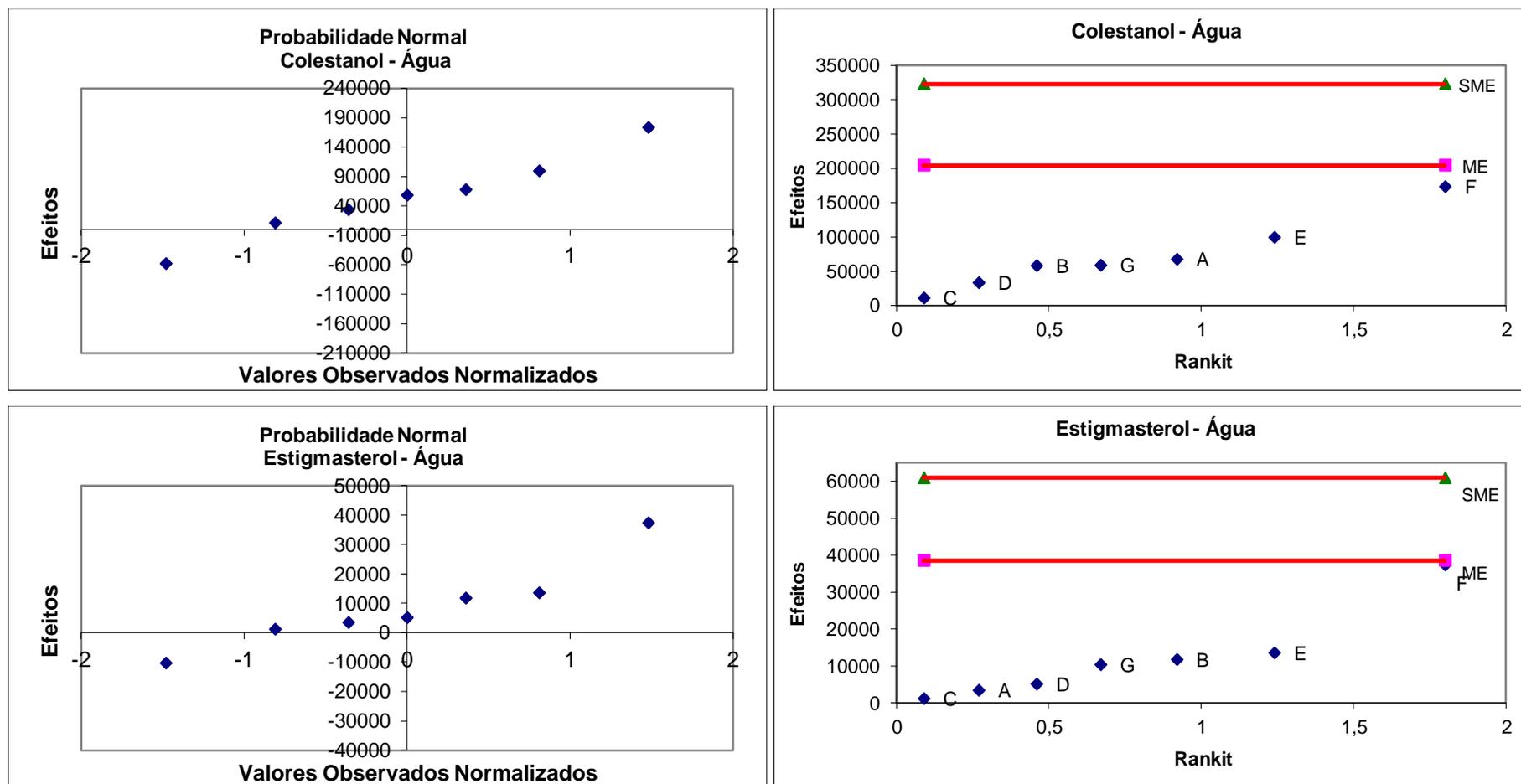


FIGURA 95. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Água superficial da Guarapiranga para os compostos Colestanol e Estigmasterol.

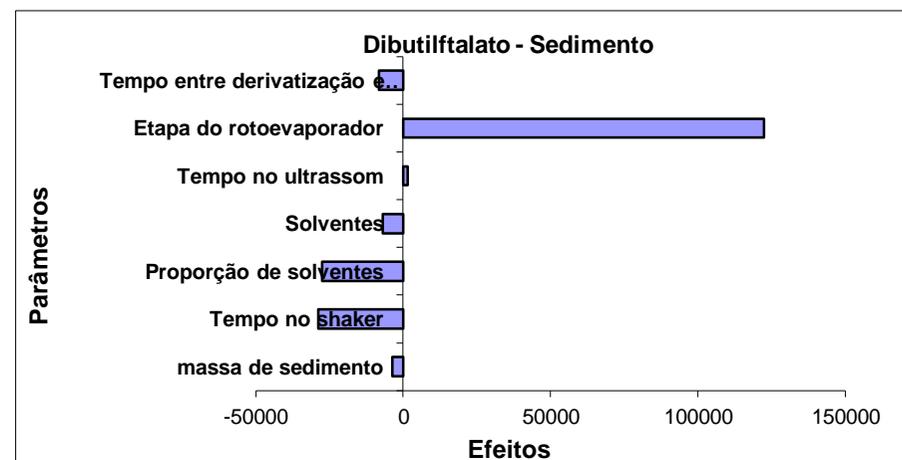
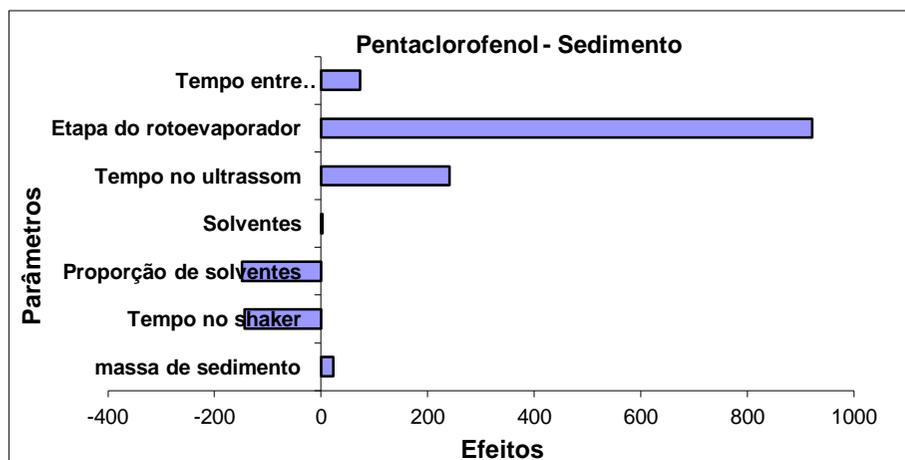
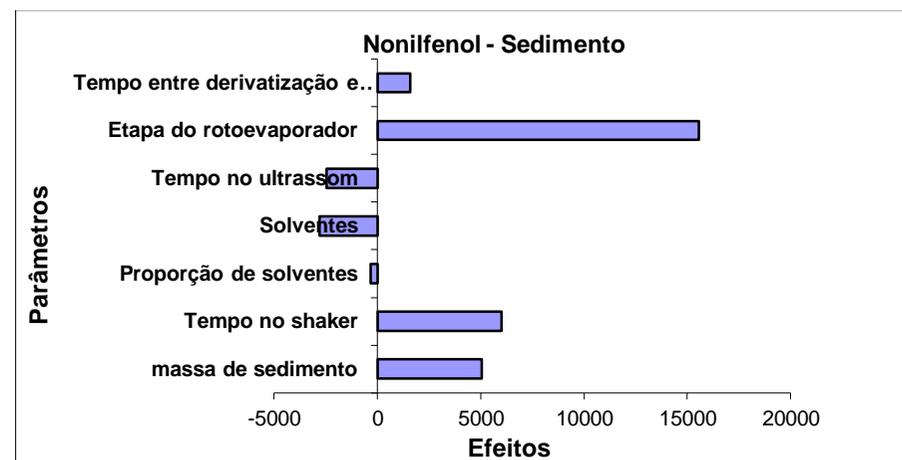
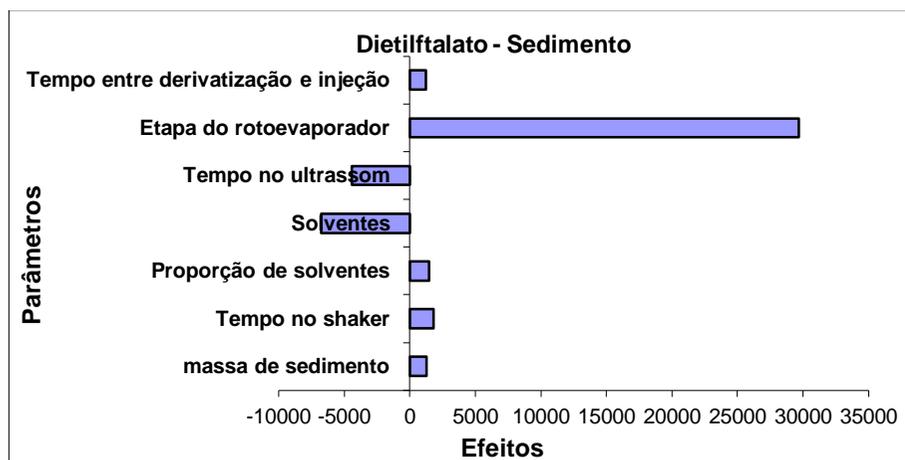


FIGURA 96. Gráficos para Dietilftalato, Nonilfenol, Pentaclorofenol e Dibutilftalato representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.

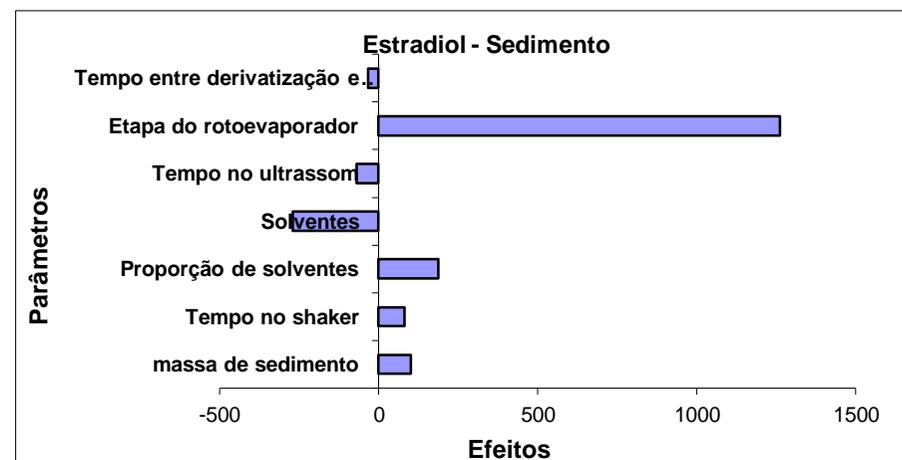
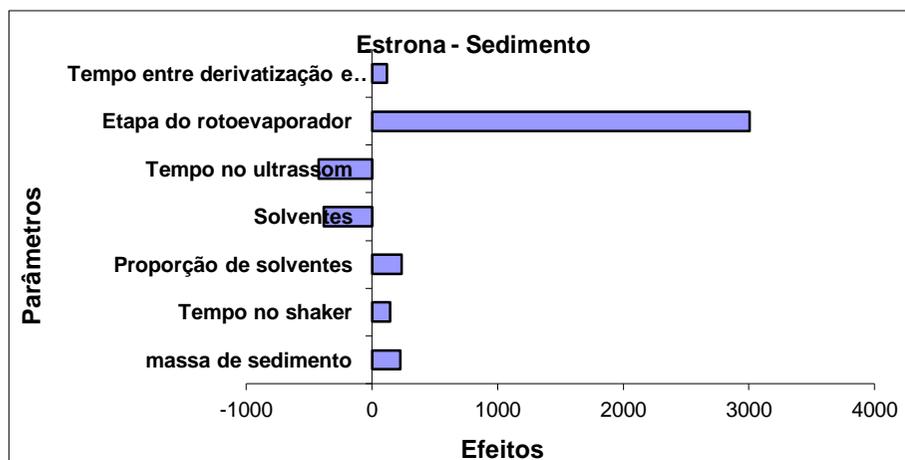
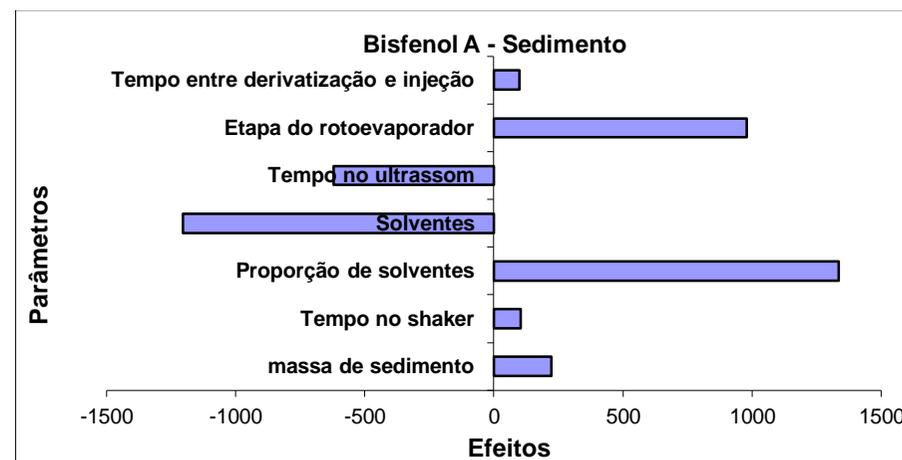
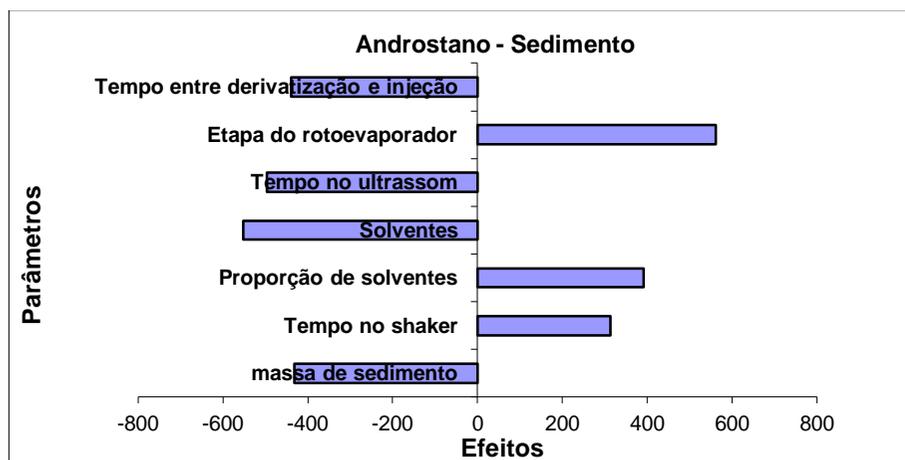


FIGURA 97. Gráficos para Androstano, Bisfenol a, Estrona e Estradiol representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.

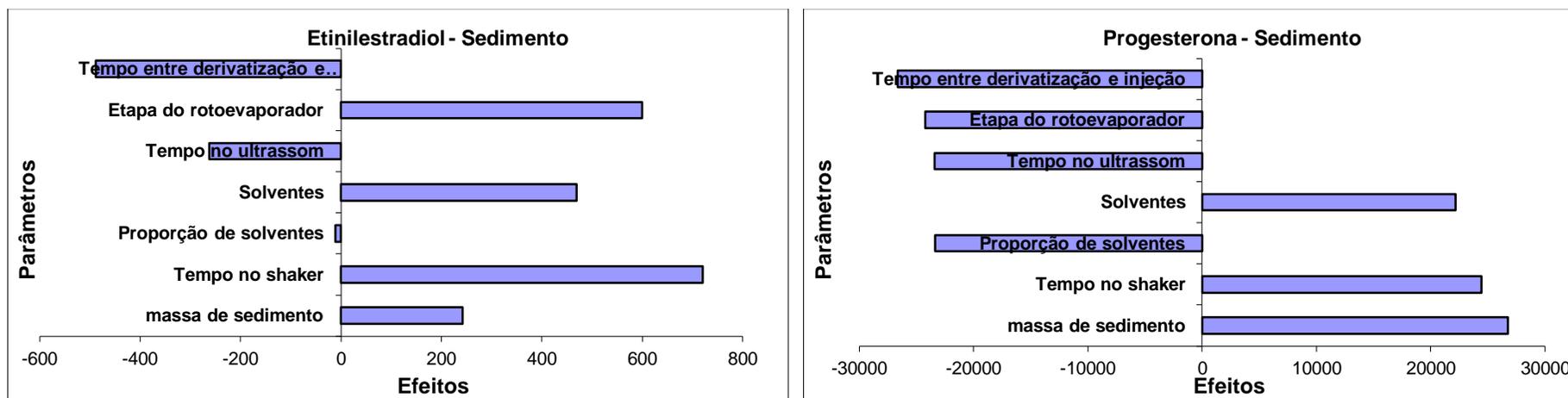


FIGURA 98. Gráficos para Etinilestradiol e Progesterona representando o teste de verificação de significância dos efeitos em ensaio com matriz de Sedimento superficial da Guarapiranga.

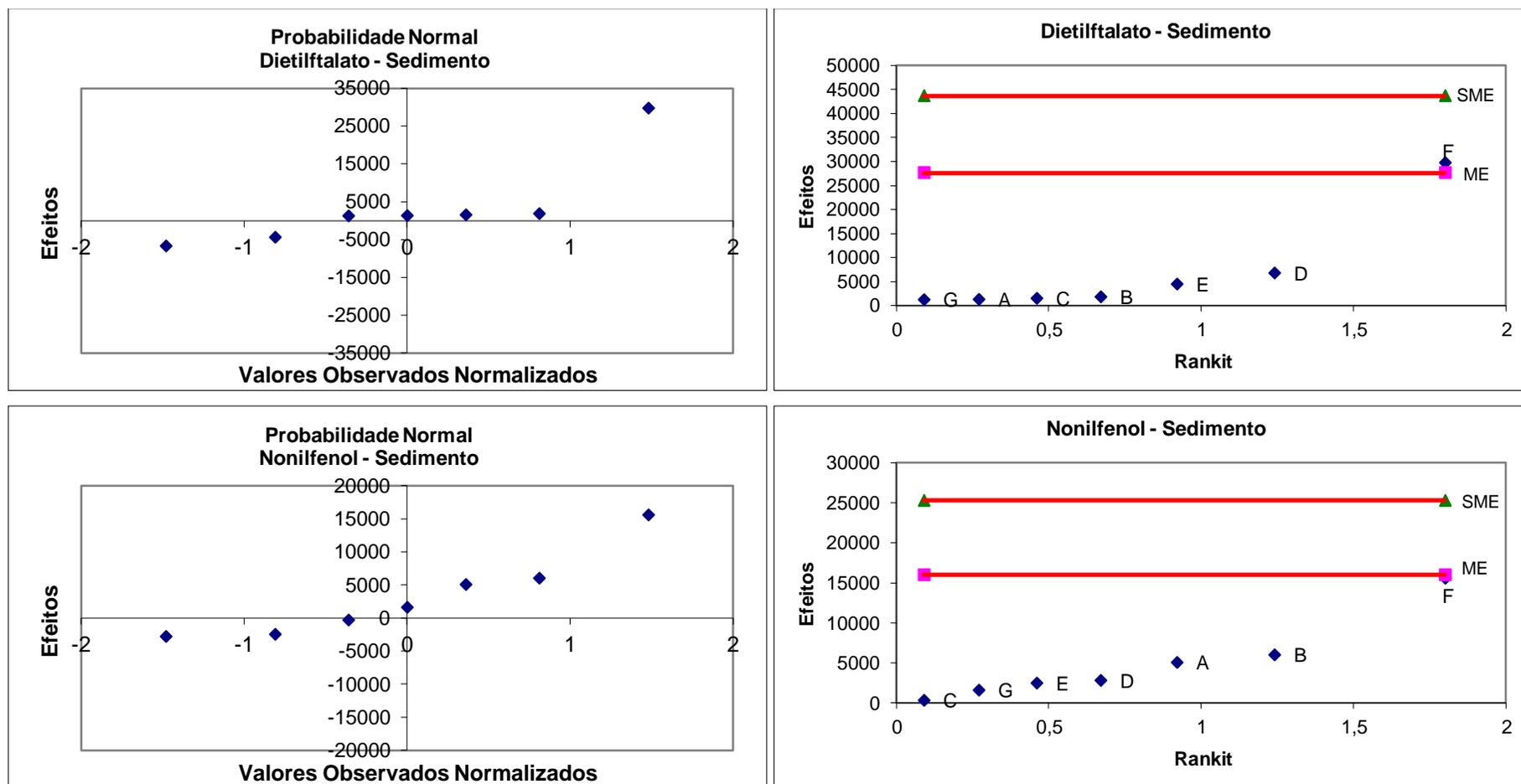


FIGURA 99. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Dietilftalato e Nonilfenol.

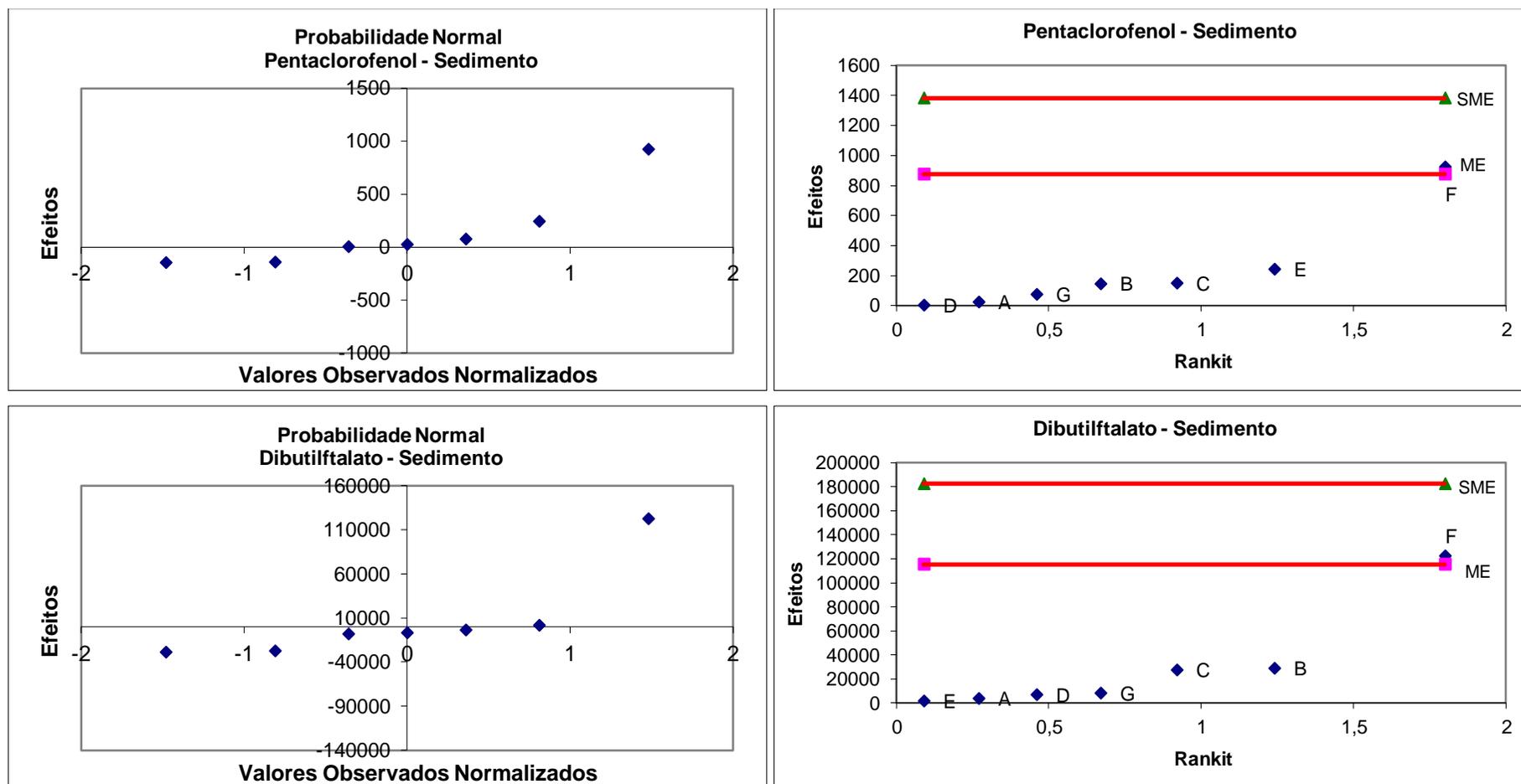


FIGURA 100. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Pentaclorofenol e Dibutilfthalato.

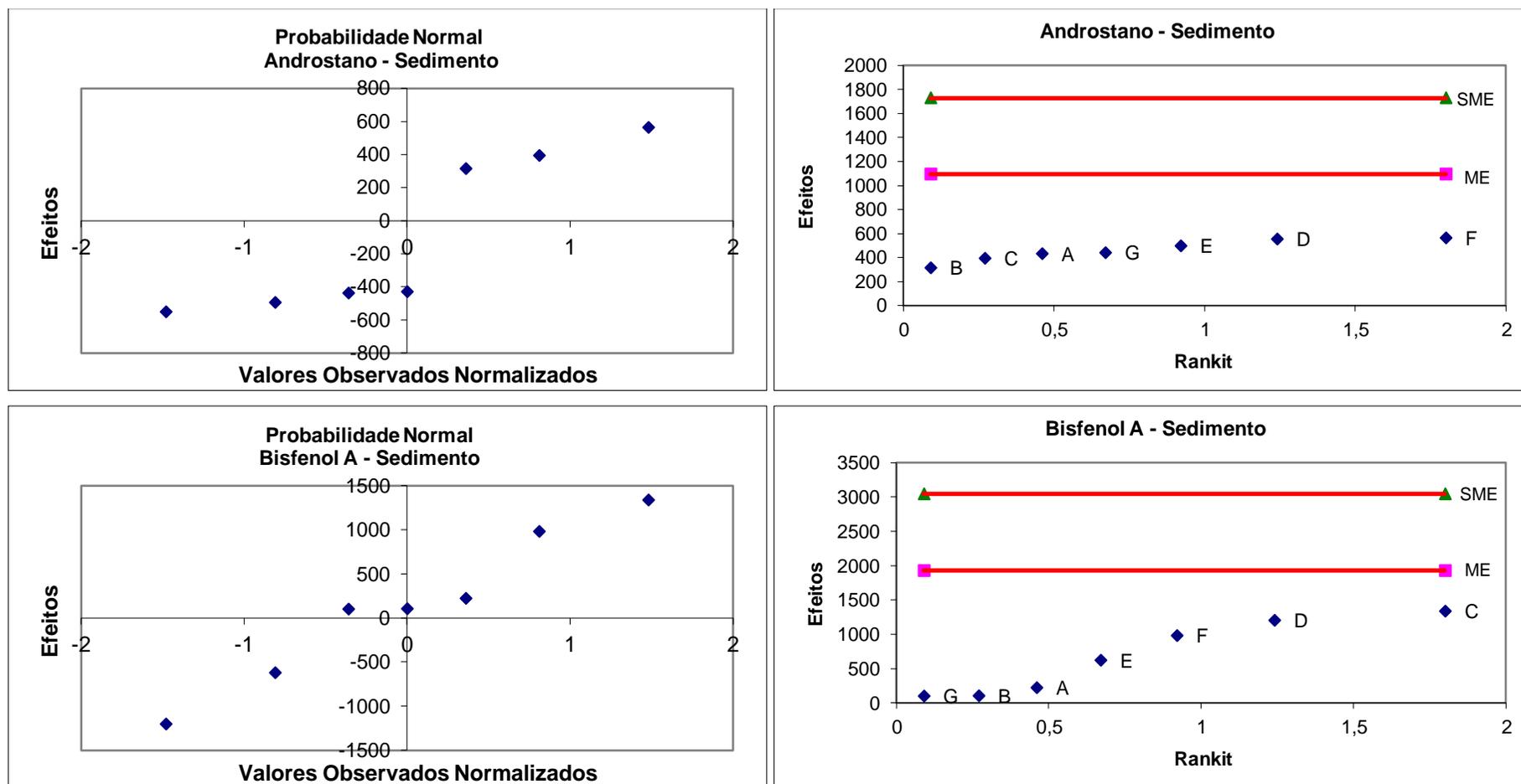


FIGURA 101. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Androstano e Bisfenol A.

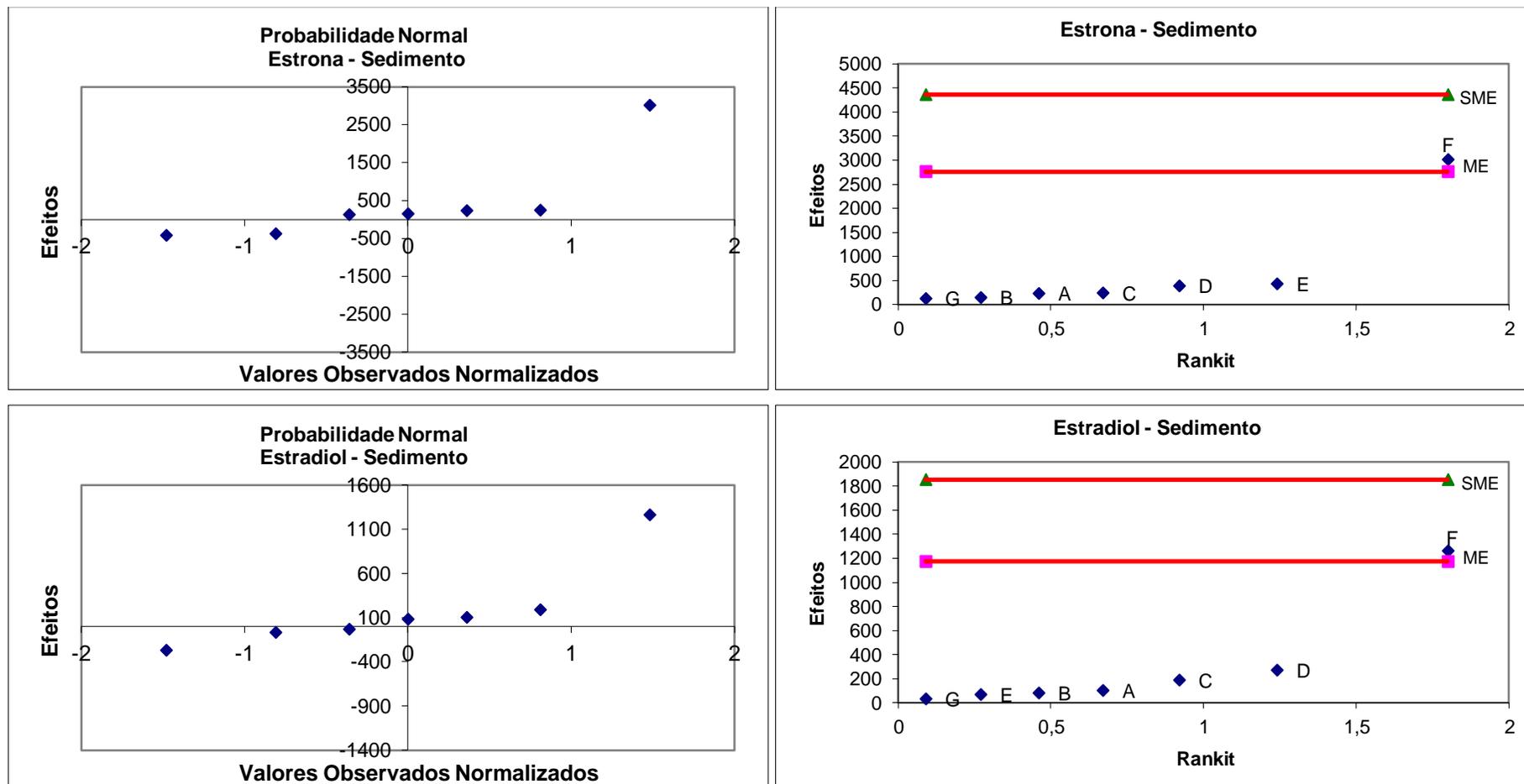


FIGURA 102. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Estrona e Estradiol.

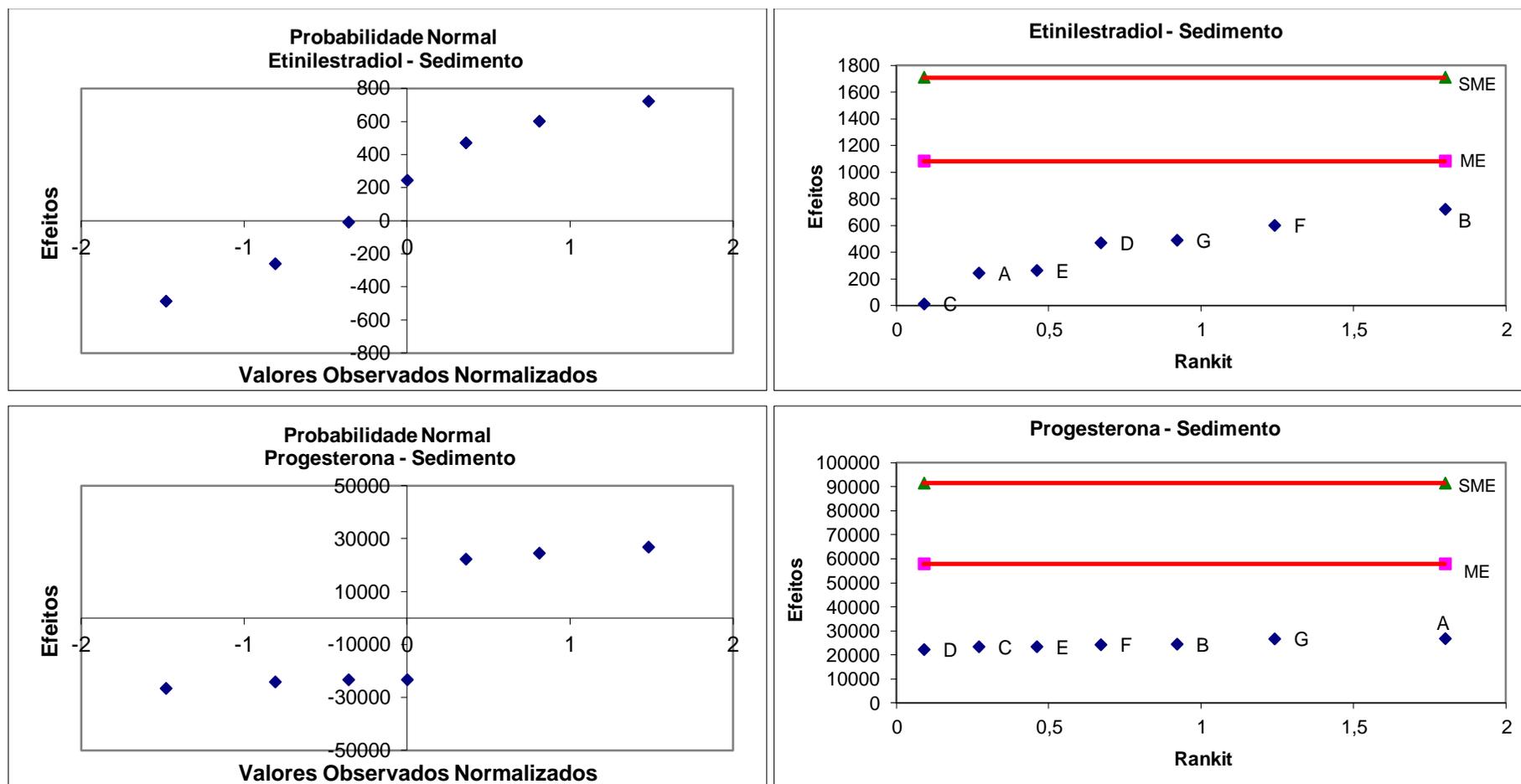


FIGURA 103. Gráficos de probabilidade normal e rankit obtidos no ensaio com Sedimento superficial da Guarapiranga para os compostos Etinilestradiol e Progesterona.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AHMED, W., KIRS, M., GILPIN, B. **Microbial Source Tracking: Methods, Applications and Case Studies**. 2011. p. 485.
2. ALVES, C.; FLORES, L. C.; CERQUEIRA, T. S.; TORALLES, M. B. P. Exposição ambiental a interferentes endócrinos com atividade estrogênica e sua associação com distúrbios puberais em crianças. **Cad. Saúde Pública**, v. 23, n. 5, 2007.
3. ANA - Agência Nacional de Águas. Atlas Brasil - Abastecimento urbano de Água. Disponível em <<http://atlas.ana.gov.br/Atlas/forms/analise/RegiaoMetropolitana.aspx?rme=24>>. Acessado em 21 de março de 2015.
4. ANDRADE, M. R. M.; SALIM, A.; ROSSINI-PENTEADO, D.; COSTA, J. A.; SOUZA, A. A.; SAAD, A. R.; OLIVEIRA, A. M. S. Mapeamento de uso da terra para avaliação da qualidade das águas do reservatório Guarapiranga. *Submetido*. 2015. A ser publicado, no prelo.
5. ANKLEY, G.; MIHAICH, E.; STAHL, R.; TILLITT, D.; COLBORN, T.; MCMASTER, S.; MILLER, R.; BANTLE, J.; CAMPBELL, P.; DENSLOW, N.; DICKERSON, R.; FOLMAR, L.; FRY, M.; GIESY, J.; GRAY, L. E.; GUINEY, P.; HUTCHINSON, T. H.; KENNEDY, S.; KRAMER, V.; LEBLANC, G. Overview of a workshop on screening methods for detecting potential (anti-) estrogenic/androgenic chemicals in wildlife. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 17, p. 68-87, 1998.
6. ARAÚJO, R. P. A.; BOTTA-PASCHOAL, C. M. R.; SILVÉRIO, P. F.; ALMEIDA, F. V.; RODRIGUES, P. F.; UMBUZEIRO, G. A.; JARDIM, W. F.; MOZETO, A. A. Application of toxicity identification evaluation to sediment in a highly contaminated water reservoir in southeastern Brazil. **Environ. Toxicol. Chem.** v. 25, 2006.
7. ARDITSOGLOU, A.; VOUTSA, D. Determination of Phenolic and Steroid Endocrine Disrupting Compounds in Environmental Matrices. **Env. Sci. Pollut. Res.**, v. 15, p. 228, 2008.
8. AZEVEDO, D. A.; LACORTE, S.; VIANA, P.; BARCELÓ, D. Occurrence of Nonylphenol and Bisphenol-A in surface water from Portugal. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 4, 2001.
9. BATTARBEE, R. W.; ANDERSON, N. J.; JEPPESEN, E.; LEAVITT, P. R. Combining paleolimnological and limnological approaches in assessing lake ecosystem response to nutrient reduction. **Freshwater Biology**, v. 50, p. 1772-1780, 2005.
10. BICUDO, E. C. M. *Reconstrução paleolimnológica da Represa Guarapiranga e diagnóstico da qualidade atual da água e dos sedimentos de mananciais da RMSP com vistas ao gerenciamento do abastecimento. Projeto temático, 2010-2015*. 2010.

11. BILA, D. M. **Degradação e remoção da atividade estrogênica do desregulador endócrino 17 $\beta$ -estradiol pelo processo de ozonização.** 2005. Tese (doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
12. BIRKETT, J. W.; LESTER, J. N. **Endocrine Disruptors in Wastewater and Sludge Treatment Process.** Lewis Publishers, 2003.
13. BOLZ, U.; HAGENMAIER, H.; KORNER, W. Phenolic xenoestrogens in surface water, sediments, and sewage sludge from Baden-Wurttemberg, south-west Germany. **Environmental Pollution.**, v. 115, p. 291, 2001.
14. BORELLI, E. A Bacia do Guarapiranga: ocupação em áreas de mananciais e a legislação ambiental. **Revista de Ciências Sociais**, v. 25, 2006.
15. BRASIL. Conselho nacional do meio ambiente (CONAMA). Resolução n. 357, D.O.U. de 17/03/05. *Ministério do desenvolvimento urbano e meio ambiente.* 2005.
16. BRASIL. Contribuição da Pós-Graduação Brasileira para o Desenvolvimento Sustentável: Capes na Rio+20. 2012. Disponível em <<http://www.ufgd.edu.br/face/mestrado-agronegocios/downloads/anexo-rio-20-livro-final>>. Acesso em: 17 de abril de 2015.
17. BRITO, C. F. **Avaliação dos efeitos da construção do rodôanel na qualidade da água e sedimento na represa do Parque Pedroso, Santo André-SP. Estudo geoquímico de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), metais e elementos traços com vistas ao abastecimento público.** 2014. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
18. BUENO, P. C. P. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica em cromatografia gasosa para o controle de qualidade de *Eucalyptus globulus* e seus produtos: planta desidrata, extratos, óleo essencial e xarope de eucalipto.** 2007. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
19. CCME - Canadian Council of Ministers of the Environment. Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. *Canadian Council of Ministers of the Environment.* Disponível em <<http://ceqg-rcqe.ccme.ca/download/en/317>>. Acesso em 15 de abril de 2015..
20. CCME - Canadian Council of Ministers of the Environment. Summary tables Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life. *Canadian Council of Ministers of the Environment.* Disponível em <<http://st-ts.ccme.ca/en/index.html>>. Acesso em 17 de abril de 2015.
21. CCME - Canadian Council of Ministers of the Environment. Water Quality Guidelines for Protection of Aquatic Life. *Canadian Council of Ministers of the Environment.* Disponível em <<http://st-ts.ccme.ca/en/index.html>>. Acesso em 15 de abril de 2015.

22. CCME - Canadian Council of Ministers of the Environment. *Canadian Council of Ministers of the Environment*. Disponível em <<http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/water-eau/drink-potab/guide/index-eng.php>>. Acesso em 01 de julho de 2014.
23. CETESB & ANA. **Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras: Água, Sedimento, Comunidades Aquáticas e Efluentes Líquidos**. São Paulo: CETESB, 2011.
24. CETESB-Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Relatório de qualidade das águas superficiais do Estado de São Paulo 2011. relatório técnico. São Paulo; 2012
25. CETESB-Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Relatório de qualidade das águas superficiais do Estado de São Paulo 2012. relatório técnico. São Paulo; 2013
26. CETESB-Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Relatório de qualidade das águas superficiais do Estado de São Paulo 2013. relatório técnico. São Paulo; 2014
27. CETESB-Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Relatório de qualidade das águas superficiais do Estado de São Paulo 2014. relatório técnico. São Paulo; 2015
28. CHEMSPIDER. 2015. Chemspider, search and share chemistry. Disponível em <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.6413.html>>. Acesso em 17 de abril de 2015.
29. COBRAPE. **Relatório complementar ao "Meio ambiente Paulista - Relatório de Qualidade Ambiental 2011"**. São Paulo: SMA/CPLA, 2011.
30. COSTA, T. L. F.; ARAÚJO, M. P.; KNOPPERS, B. A.; CARREIRA, R. S. Sources and distribution of particulate organic matter of a tropical estuarine lagoon system from NE Brazil as Indicated by Lipid Biomarkers. ***Aquat Geochem.***, v. 17, p. 119, 2011.
31. CSTEE. **Opinion on Human and wildlife health effects of endocrine disrupting chemicals, with emphasis on wildlife and on ecotoxicology test methods**. Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, 1999.
32. DASTON, G. P.; GOOCH, J. W.; BRESLIN, W. J.; SHUEY, D. L.; NIKIFOROV, A. I.; FICO, T. A.; GORSUCH, J. W. Environmental estrogens and reproductive health: A discussion of the human and environmental data. ***Reproductive Toxicology.***, v. 11, n. ), p. 465-481, 1997.
33. EC - European Community. Priority substances under the Water Framework Directive. *European Commission*. 2008. Disponível em <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008L0105&from=EN>>. Acesso em 15 de abril de 2015.

34. EC - European Community. Criteria for the assessment of sediment quality in Quebec and application frameworks prevention, dredging and remediation. Quebec. Environment Canada and Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2008.
35. EDMAR. **Endocrine disruption in marine environment**. Endocrine disruption in marine environment (EDMAR). London, UK: EDMAR Secretariat, Department for Environment, Food and Rural Affairs, 2002. p. 67.
36. ELKINS, C. A.; MULLIS, L. B. Mammalian Steroid Hormones Are Substrates for the Major RND- and MFS-Type Tripartite Multidrug Efflux Pumps of Escherichia coli. **Journal of Bacteriology.**, v. 188, n. 3, p. 1191–1195, 2006.
37. EMPLASA. **Por Dentro da Região Metropolitana de São Paulo**. São Paulo, 2011.
38. EURACHEM, Guia. 2002. Determinando a incerteza na medição analítica. 2002. Versão brasileira, 2ª ed.
39. FARRINGTON, J. W. Biogeochemical Processes Governing Exposure and Uptake of Organic Pollutant Compounds in Aquatic Organisms. **Environmental Health Perspectives.**, v. 90, p. 75-84, 1991.
40. FENSKE, M.; MAACK, G.; SCHAFERS, C.; SEGNER, H. An environmentally relevant concentration of estrogen induces arrest of male gonad development in zebrafish, Danio rerio. **Environmental Toxicology and Chemistry.**, v. 24, n. 5, p. 1088–1098, 2005.
41. FENSKE, M.; VAN AERLE, R.; BRACK, S.; TYLER, C. R.; SEGNER, H. Development and validation of a homologous zebrafish (Danio rerio Hamilton-Buchanan) vitellogenin enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its application for studies on estrogenic chemicals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C 129.**, p. 217-232, 2001.
42. FROMME, H.; KUCHLER, T.; OTTO, T.; PILZ, K.; MULLER, J.; WENZEL, A. Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. **Water Research.**, v. 36, p. 1429, 2002.
43. FURTULA, V.; OSACHOFF, H.; DERSEN, G.; JUAHIR, H.; COLODEY, A.; CHAMBERS, P. Inorganic nitrogen, sterols and bacterial source tracking as tools to characterize water quality and possible contamination sources in surface water. **Water Research.**, v. 46, p. 1079-1092, 2012.
44. FURUSAWA, H. A. *Validação de Ensaio Químicos. IPEN-CNEN/SP, (adaptação eletrônica baseada no documento DOQ-CGCRE-008 de 01/03/2003 do INMETRO)*. São Paulo, 2007.
45. G1. Sabesp faz novo cálculo de nível do Cantareira após pedido do MP. G1 São Paulo, 17 de março de 2015. Disponível em <<http://g1.globo.com/sao-paulo/noticia/2015/03/sabesp-faz-novo-calculo-de-nivel-do-sistema-cantareira-apos-pedido-do-ministerio-publico.html>>. Acesso em 23 de março de 2015.

46. G1. Crise da água. Acompanhe o nível dos reservatórios de São Paulo, Rio e Belo Horizonte. 2015a. Disponível em <<http://especiais.g1.globo.com/economia/crise-da-agua/nivel-dos-reservatorios/#sao-paulo>>. Acessado em 21 de março de 2015.
47. GEROLIN, E. R. R.. **Ocorrência e remoção de disruptores endócrinos em águas utilizadas para abastecimento público de Campinas e Sumaré – São Paulo**. 2005. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de engenharia civil, arquitetura e urbanismo, Campinas.
48. 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. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
49. GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Quím. Nova.**, v. 30, n. 3, p. 695-706, 2007.
50. GIBBS, P. E.; BRYAN, G. W. Reproductive failure in populations of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints. **J Mar Biol Assoc UK.**, v. 66, p. 767-777, 1986.
51. Gilli, G.; Rovere, R.; Traversi, D.; Schiliro, T. P. C. Faecal sterols determination in waste water and surface water. **Journal of Chromatography B.**, v. 842, p. 120-124, 2006.
52. GIROTTO, G.; NOGUEIRA, K. L.; MOURA, J. A.; SOUZA, J. B.; GIACOMETTI, L. L.; MARCHI, M. Estrógenos em água: otimização da extração em fase sólida utilizando ferramentas quimiométricas. **Eclética Química.**, v. 32, n. 2, p. 61-68, 2007.
53. GOETTLICH, P. What are endocrine disruptors? In *Fundamentals of Naturopathic Endocrinology*. 2006. Disponível em <<http://www.mindfully.org/Pesticide/EDs-PWG-16jun01.htm>>.
54. GOONAN, P. **Risks from endocrine disrupting substances in the South Australian aquatic environment**. Environment Protection Authority, Austrália, 2008.
55. GROVER, D. P. **Emerging pollutants: their analysis, occurrence and removal in aquatic environments**. 2012. Tese (Doutorado) - University of Sussex, Falmer.
56. HIBBERD, A. P. **Sampling analysis and behaviour of emerging pollutants in the aquatic environment**. 2010. Tese (Doutorado) - University of Sussex, Falmer.
57. HIBBERD, A.; MASKAOUI, K.; ZHANG, Z.; ZHOU, J. L. An improved method for the simultaneous analysis of phenolic and steroidal estrogens in water and sediment. **Talanta.**, v. 77, p. 1315, 2009.
58. HORWITZ, W.; ALBERT, R. The Horwitz ratio (HorRat): a useful index of method performance with respect to precision. **Journal of AOAC International**, v. 89, n; 4, 2006.

59. INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia - 2011. **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQ-CGCRE-008.** Rio de Janeiro, 2011. Vol. Revisão 04.
60. INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia - 2010. **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQ-CGCRE-008.** Rio de Janeiro, 2010. Vol. Rev. 03.
61. INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia - 2003. **Quality management systems-guidelines for performance improvements. NBR ISO 9004:2000.** Rio de Janeiro, 2003. Vol. Revisão 01.
62. IOMC - Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals. **State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012.** Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2013.
63. IPCS - International Programme on Chemicals Safety. **Global Assessment of the State-of-the-science of Endocrine Disruptors.** Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2002.
64. ISOBE, K. O.; TARAO, M.; CHIEM, N. H.; MINH, L. Y.; TAKADA, H. Effect of Environmental Factors on the Relationship between concentrations of Coprostanol and Fecal Indicator Bacteria in Tropical (Mekong Delta) and Temperate (Tokyo) Freshwaters. **Applied and Environmental Microbiology.**, v. 70, n. 2, p. 814–821, 2004.
65. KATSUÓKA, L. **Avaliação do impacto da atividade agropecuária na qualidade da água em áreas de captação superficial nas Bacias Hidrográficas dos rios Mogi-Guaçu e Pardo, São Paulo.** 2001. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
66. KAVLOCK, R. J.; DASTON, G. P.; DEROSA, C.; FENNER-CRISP, P.; GRAY, L. E.; KAATTARI, S.; LUCIER, G.; LUSTER, M.; MAC, M. J.; MACZKA, C.; MILLER, R.; MOORE, J.; ROLLAND, R.; SCOTT, G.; SHEEHAN, D. M.; SINKS, T.; TILSON, H. A. **Research Needs for the Risk Assessment of Health and Environmental Effects of Endocrine Disruptors: A Report of the U.S. EPA-sponsored Workshop Environmental Health Perspectives.** 1996. Disponível em <<http://www.mindfully.org/Pesticide/RJ-Kavlock-et-al-Aug96.htm>>.
67. KLOSTERHAUS, S. L.; GRACE, R.; HAMILTON, M. C.; YEE, D. Method validation and reconnaissance of pharmaceuticals, personal care products, and alkylphenols in surface waters, sediments, and mussels in an urban estuary. **Environment International.**, v. 54, p. 92-99, 2013.
68. KUCH, H. M.; BALLSCHMITER, K. Determination of endocrine-disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the pictogram per liter range. **Environment Science Technology.**, v. 35, p. 3201-3206, 2001.
69. LABADIE, P.; HILL, E. M. Analysis of estrogens in river sediments by liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. Comparison of tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A.**, v. 1141, p. 174, 2007.

70. LEITE, M.; ALMEIDA, L.; GERAQUE, E.; CANZIAN, F.; GARCIA, R.; AMORA, D. Tudo sobre a crise hídrica. **Folha uol**, São Paulo, 2015. Disponível em <<http://arte.folha.uol.com.br/ambiente/2014/09/15/crise-da-agua/sistemas/>>. Acesso em 23 de março de 2015.
71. LI, D.; OH, J.; PARK, J. Direct extraction of alkylphenols, chlorophenols and bisphenol A from acid-digested sediment suspension for simultaneous gas chromatographic-mass spectrometric analysis. **Journal of Chromatography A.**, v. 1012, p. 207, 2003.
72. LIBÂNIO, M. **Fundamentos de qualidade e tratamento de água**. 2ª ed. Campinas: Editora Átomo, 2008.
73. LINTELMANN, J.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; SHORE, L.; WENZEL, A. Endocrine disruptors in the environment – IUPAC Technical Report. **Pure Appl. Chem.**, v. 75, n. 5, p. 631-681, 2003.
74. 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.**, v. 1038, p. 19, 2004.
75. LOPEZ DE ALDA, M. J.; GIL, A.; PAZ, E.; BARCELO, D. Occurrence and analysis of estrogens and progestogens in river sediments by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry. **Analyst.**, v. 127, p. 1299, 2002.
76. LOUREIRO, I. R. **A importância e ocorrência de ftalatos em água potável e no ecossistema da baía de Guanabara**. 2002. Tese (Doutorado) - Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro.
77. MALDONADO, C.; DACHS, J.; BAYONA, J. M. Trialkylamines and Coprostanol as Tracers of Urban Pollution in Waters from Enclosed Seas: The Mediterranean and Black Sea. **Environ. Sci. Technol.**, v. 33, p. 3290-3296, 1999.
78. MANSILHA, C.; MELO, A.; REBELO, H.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; DOMINGUES, V.; PINHO, C.; GAMEIRO, P. Quantification of endocrine disruptors and pesticides in water by gás chromatography-tandem mass spectrometry. Method validation using weighted linear regression schemes. **Journal of Chromatography A.**, v. 1217, p. 6681–6691, 2010.
79. MARTINS, C. C.; GOMES, F. B. A.; FERREIRA, J. A.; MONTONE, R. C. Marcadores de contaminação por esgotos sanitários em sedimentos superficiais da baía de Santos, São Paulo. **Química Nova.**, v. 31, n. 5, p. 1008-1014, 2008.
80. MARTINS, C.C. **Avaliação de introdução de esteroides fecais e hidrocarbonetos marcadores geoquímicos em sedimentos da baía da Almirantado, Península Antártica**. 2001. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oceanográfico, São Paulo.
81. MARTINS, E. A. J. *Estimativa da incerteza em ensaios químicos*. São Paulo, IPEN-CNEN/SP (adaptação eletrônica baseada no documento EURACHEM/CITAC Guide. Second Edition, 2000). 2010.

82. MARTINS, E. A. J.; FURUSAWA, H. A.; OTOMO, J. I.; SOUZA, R. R.; OLIVEIRA, C. L.; COTRIM, M. E. B.; PIRES, M. A. F. Avaliação de incerteza de medição na determinação de interferentes endócrinos em água superficial por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas. *In: XIII INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENGINEERING AND TECHNOLOGY EDUCATION*. Guimarães, Portugal: 2014. **Proceedings ...**
83. MOZETO, A. A.; SILVÉRIO, P. F.; SOARES, E. A. Estimates of benthic fluxes of nutrients across the sediment -water interface (Guarapiranga reservoir, Sao Paulo, Brazil). ***The Science of the Total Environment.***, p. 135-142, 2001.
84. NHMRC - National Health and Medical Research Council. Guidelines for Managing Risks in Recreational Water. 2008. Disponível em <[https://www.nhmrc.gov.au/\\_files\\_nhmrc/publications/attachments/eh38.pdf](https://www.nhmrc.gov.au/_files_nhmrc/publications/attachments/eh38.pdf)>. Acesso em 15 de abril de 2015.
85. NUNES, M. T. Hormônios tireoideanos: mecanismo de ação e importância biológica. ***Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia.***, v. 47, n. 6, 2003.
86. OEHHA - Occupational and Environmental Health Library. ***Evidence on the developmental and reproductive toxicity of Progesterone.*** Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency, 2004.
87. OEHLMANN, J.; OETKEN, M.; SCHULTE-OEHLMANN, U. A critical evaluation of the environmental risk assessment for plasticizers in the freshwater environment in Europe, with special emphasis on bisphenol A and endocrine disruption. ***Environmental research.***, v. 108, p. 140-149, 2008.
88. OKETOLA, A. A.; FAGBEMIGUN, T. K. Determination of nonylphenol, octylphenol and bisphenol-A in water and sediments of two major rivers in lagos, Nigeria. ***Journal of Environmental Protection.***, v. 4, p. 38-45, 2013.
89. OLIVEIRA, C. L. ***Estudo de esteróis como marcadores químicos em águas destinadas ao abastecimento público na Região do rio Paraíba do Sul, SP. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica.*** 2012. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
90. ONU - Organização das Nações Unidas. Synthesis report of the Secretary-General on the post-2015 sustainable development agenda. ***Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento.*** Disponível em <[http://www.pnud.org.br/arquivos/relatorio\\_sintese\\_ods.pdf](http://www.pnud.org.br/arquivos/relatorio_sintese_ods.pdf)>. Acesso em 17 de abril de 2015.
91. OTOMO, J. I. ***Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de hormônios, considerados disruptores endócrinos, nas águas destinadas ao abastecimento público na região do rio Paraíba do Sul, SP.*** 2010. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

92. OTOMO, J. I.; MARTINS, E. A. J.; SOUZA, R. R.; FURUSAWA, H. A.; PIRES, M. A. F. Avaliação de estrógenos nas águas destinadas ao abastecimento público na região do rio Paraíba do Sul, SP. In: 2º CONGRESSO INTERNACIONAL DE TECNOLOGIAS PARA O MEIO AMBIENTE-FIEMA, 2010<sup>a</sup>, Porto Alegre, v. 2010, p. 1-8. **Proceedings ...**
93. OTOMO, J. I.; MARTINS, E. A. J.; FURUSAWA, H. A.; PIRES, M. A. F. Avaliação de hormônios em águas de abastecimento público no vale do Paraíba, SP. In: **ÁGUA: IMPACTOS DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS SOBRE OS RECURSOS HÍDRICOS**, 2011, Recife. v. 6. **Proceedings ...**
94. OTOMO, J. I.; CARDOSO-SILVA, S.; SANTOS, W. D. S.; MARTINS, E. A. J.; POMPÊO, M. Avaliação de políticas para preservação e recuperação de mananciais de abastecimento público da Região Metropolitana de São Paulo. In: **Ecologia de reservatórios e interfaces**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2015, p. 376-395.
95. OTOMO, J. I.; MARTINS, E. A. J.; SILVA, L. L.; CONTRIM, M. E. B.; PIRES, M. A. F. Evaluation of the input of phthalates in public water supply of the Metropolitan Region of Sao Paulo, Brazil: Guarapiranga dam. In: XXXIV CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANIATARIA Y AMBIENTAL, 2014, Monterrey, p. 1-6. **Proceedings ...**
96. PATROLECCO, L.; CAPRI, S.; DE ANGELIS, S.; POLESELLO, S.; VALSECCHI, S. Determination of endocrine disrupting chemicals in environmental solid matrices by extraction with a non-ionic surfactant (Tween 80). **Journal of Chromatography A.**, v. 1022, p. 1–7, 2004.
97. PENG, X.; WANG, Z.; YANG, C.; CHEN, F.; MAI, B. Simultaneous determination of endocrine-disrupting phenols and steroid estrogens in sediment by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A.**, v. 1116, p. 51-56, 2006.
98. PNSB. **Pesquisa Nacional de Saneamento básico**. Rio de Janeiro: IBGE, 2008.
99. POMPÊO, M. L. M. **Projeto Yporã – Proliferação de Plantas Aquáticas na Guarapiranga**. Instituto Sócio Ambiental, 2008.
100. RAIMUNDO, C. C. M. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
101. REBOUÇAS, A. C. Água doce no mundo e no Brasil. In: REBOUÇAS, A.C., BRAGA, B. & TUNDISI, J.G. (orgs.). **Águas doces do Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. São Paulo: Escrituras Editora, 1999. p. 1-37.
102. REIS FILHO, R. W.; ARAÚJO, J. C.; VIEIRA, E. M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. **Química Nova.**, v. 29, n. 4, 2006.
103. RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova.**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

104. RUBENSTEIN, N. I.; GILLIAM, W. T.; GREGORY, N. R. Dietary accumulation of PCBs from a contaminated sediment source by a demersal fish (*Leiostomus xanthurus*). *Aquatic Toxicology*, v. 5, p. 331–342, 1984.
105. SABESP. **DOSSIÊ – Sistema Cantareira. Espaço das Águas Fundação Patrimônio Histórico da Energia e Saneamento**. São Paulo: Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo – Sabesp, 2008.
106. SABESP. Complexo Metropolitano. 2015. Disponível em <<http://site.sabesp.com.br/site/interna/Default.aspx?secaold=36>>. Acesso em 21 de março de 2015.
107. SABESP. Guarapiranga passa Cantareira. 2015a. Disponível em <<http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=4&proj=investidoresnovo&pub=T&par=not&db=&docidPai=F8C240A5E71426DF8325768C0051BFFF&docid=AF019D1E6ABFADBBD83257E0500723392>>. Acessado em 21 de março de 2015.
108. SABESP. Condições de Armazenamento dos Mananciais que Abastecem a RMSP. 2015b. Disponível em <[http://site.sabesp.com.br/site/uploads/file/boletim/boletim\\_mananciais\\_14jun15.pdf](http://site.sabesp.com.br/site/uploads/file/boletim/boletim_mananciais_14jun15.pdf)>. Acessado em 15 de junho de 2015.
109. SAIM, N.; OSMAN, R.; SPIAN, D. R. S. A.; JAAFAR, M. Z.; JUAHIR, H.; ABDULLAH, M.; GHANI, F. A. Chemometric approach to validating faecal sterols as source tracer for faecal contamination in water. *Water Research*, v. 43, p. 5023-5030, 2009.
110. SCOTT, A. P.; KATSIADAKI, I.; WITTHAMES, P.R.; HYLLAND, K.; DAVIES, I. M.; MCINTOSH, A. D.; THAIN, J. Vitellogenin in the blood plasma of male cod (*Gadus morhua*): A sign of oestrogenic endocrine disruption in the open sea? *Marine Environmental Research*, v. 61, p. 149-170, 2006.
111. SDM. Subsecretaria de desenvolvimento metropolitano. 2015. Disponível em <<http://www.sdmropolitano.sp.gov.br/portalsdm/sao-paulo.jsp>>. Acesso em 10 de março de 2015.
112. SEADE. Fundação sistema estadual de análise de dados. Informações dos municípios paulistas. 2014. Disponível em <<http://www.seade.gov.br>>. Acesso em 09 de março de 2015.
113. SERÔDIO, P. E NOGUEIRA, J. M. F. Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water. *Water Research*, v. 40, p. 2572–2582, 2006.
114. SHIHOMATSU, H. M. **Desenvolvimento e Validação de Metodologia SPE-LC-MS/MS para a determinação de fármacos e droga de abuso nas águas da represa Guarapiranga-São Paulo/SP, Brasil**. 2015. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
115. SHIHOMATSU, H. M.; MARTINS, E. A. J.; COTRIM, M. E. B.; LEBRE, D. T.; PIRES, M. A. F. Metodologia para determinação de cocaína e benzoilecgonina em águas superficiais. In: *XIII INTERNATIONAL CONFERENCE ON ENGINEERING AND TECHNOLOGY EDUCATION*. Guimarães, Portugal: 2014a, v. 13, p. 296-301. **Proceedings ...**

116. SHIHOMATSU, H. M.; MARTINS, E. A. J.; COTRIM, M. E. B.; LEBRE, D. T.; PIRES, M. A. F. Occurrence of  $\beta$ -blocker and antihypertensive in water supply reservoir, Guarapiranga dam, São Paulo, SP, Brazil. In: XXXIV CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANIATARIA Y AMBIENTAL, 2014b, Monterrey, p. 1-6. **Proceedings ...**
117. SMA - Secretaria do Meio Ambiente. **Guarapiranga - Caderno ambiental**. São Paulo: SMA/CEA, 2008.
118. SMA - Secretaria do Meio Ambiente. **Meio Ambiente Paulista - Relatório de Qualidade Ambiental**. São Paulo: SMA/CPLA, 2011.
119. SNIS - Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento. Banco de dados - Aplicativo série histórica. 2015. Disponível em <<http://www.cidades.gov.br/serieHistorica/#>>. Acesso em 09 de março de 2015.
120. SOUZA, R. R. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de disruptores endócrinos resultantes de atividades antrópicas nas águas da região do rio Paraíba do Sul, SP**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, São Paulo.
121. STAPLES, C. A.; PETERSON, D. R.; PARKERTON, T. F.; ADAMS, W. J. The environmental fate of phthalate esters: a literature review. **Chemosphere.**, v. 35, n. 4, 1997.
122. SUN, J.; HUANG, J.; ZHANG, A.; LIU, W.; CHENG, W. Occurrence of phthalates esters in sediments in Qiantang River, China and inference with urbanization and river flow regime. **Journal of Hazardous Material.**, v. 248, p. 142, 2013.
123. TAYLOR, J. R.; SELHORST, J. B.; HOUFF, S. A.; MARTINEZ, A. J. Chlordecone intoxication in man. I. Clinical observations. **Neurology.**, v. 28, n. 7, p. 626-30, 1978.
124. TERNES, T. A.; KRECKEL, P.; MUELLER, J. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - II. Aerobic batch experiments with activated sludge. **The Science of the Total Environment.**, v. 225, p. 91-99, 1999.
125. TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de textos, 2008. p. 631.
126. TUNDISI, J. G. **Recursos Hídricos no Brasil: Problemas, desafios e estratégias para o futuro**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 2014. ISBN: 978-85-85761-36-3.
127. U.S.EPA - United State Environmental Protection Agency. National Recommended Water Quality Criteria. Disponível em <<http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/current/index.cfm>>. Acesso em 15 de abril de 2015.
128. U.S.EPA - United State Environmental Protection Agency. Bisphenol A Action Plan. 2010. Disponível em <<http://www.epa.gov/oppt/existingchemicals/pubs/actionplans/bpa.html>>.

129. U.S.EPA - United State Environmental Protection Agency Contaminant Information Sheets for the Final CCL 3 Chemicals. 2009.
130. U.S.EPA - United State Environmental Protection Agency Reregistration Eligibility Decision for Pentachlorophenol. Washington, 2008.
131. U.S.EPA. - United State Environmental Protection Agency. *Research Plan for Endocrine Disruptors*. Washington, 1998.
132. VANDER HEYDEN, Y.; NIJHUIS, A.; SMEYERS-VERBEKE, J.; VANDEGINSTE, B. G. M.; MASSART, D. L. Guidance for robustness/ruggedness tests in method validation. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 24, 2001.
133. Veja. *Os problemas ambientais da Represa de Guarapiranga*. São Paulo: Abril, 2015. Vol. 25 de março de 2015.
134. WANG, H-X.; ZHOU, Y.; JIANG, Q-W. Simultaneous screening of estrogens, progestogens, and phenols and their metabolites in potable water and river water by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Microchemical Journal.**, v. 100, p. 83-94, 2012.
135. WESTER, P. W.; CANTON, J. H. Histopathological study of *Oryzias latipes* (medaka) after long-term  $\beta$ -hexachlorocyclohexane exposure. **Aquat. Toxicol.**, v. 9, p. 21-45, 1986.
136. WESTERHOFF, P.; YOON, Y.; SNYDER, S.; WERT, E. Fate of Endocrine-Disruptor, Pharmaceutical, and Personal Care Product Chemicals during Simulated Drinking Water Treatment Processes. **Environ. Sci. Technol.**, v. 39, p. 6649-6663, 2005.
137. WHATELY, M.; CUNHA, P. **Guarapiranga 2006: Como e por que São Paulo está perdendo este manancial: Resultados e diagnóstico**. Instituto sócio ambiental. São Paulo, 2006, p. 51.
138. WHATELY, M.; DINIZ, L. T. **Água e esgoto na grande São Paulo - Situação atual, nova lei de saneamento e programas governamentais propostos**. Instituto Socioambiental. São Paulo, 2009.
139. WILLIAMS, R. J.; JOHNSON, A. C.; SMITH, J. J. L.; KANDA, R. Steroid estrogens profiles along tiver Stretches arising from sewage treatment works discharges. **Environ. Sci. Technol.**, v. 37, p. 1744, 2003.
140. YING, G.; WILLIAMS, B.; KOOKANA, R. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates – a review. **Environment International.**, v. 28, p. 215-226, 2002.
141. ZAFRA-GOMÉZ, A.; BALLESTEROS, O.; NAVALÓN, A.; VÍLCHEZ, J. L. Determination of some endocrine disrupters chemicals in urban wastewater samples using liquid chromatography – mass spectrometry. **Microchemical Journal.**, v. 88, p. 87-94, 2008.
142. ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática, Princípios e Aplicações**. 1ª ed. São Carlos: RIMA, 2006.

143. ZEAITER, M.; ROGER, J. M.; BELLON-MAUREL, V.; RUTLEDGE, D. N. Robustness of models developed by multivariate calibration. Part I: The assessment of robustness. *Trends Anal. Chem.* 2004, Vol. 23(2).
144. ZENG, F.; CUI, K.; XIE, Z.; LIU, M.; LI, Y.; LIN, Y.; ZENG, Z., LI, F. Occurrence of phthalate esters in water and sediment of urban lakes in a subtropical city, Guangzhou, South China. *Environment International.*, v. 34, p. 372-380, 2008.
145. ZHAO, J. L.; YING, G. G.; WANG, L.; YANG, J. F.; YANG, X. B.; YANG, L. H.; XU, L. Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acidic pharmaceuticals in surface water of the Pearl Rivers in South China by gas chromatography–negative chemical ionization–mass spectrometry. *Science of the total environment.*, v. 407, p. 962 – 974, 2009.