

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

AMANDA GONÇALVES RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA
NA FOTÓLISE DE COMPOSTOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS**

Porto Alegre

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

AMANDA GONÇALVES RODRIGUES

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA MATÉRIA ORGÂNICA
NA FOTÓLISE DE COMPOSTOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico” do Curso de Química Industrial, como requisito parcial para a obtenção do grau de Químico Industrial.

Prof^a. Andreia Neves Fernandes
Orientadora

Porto Alegre
2017

AGRADECIMENTOS

Eu não poderia começar meus agradecimentos de outra maneira... Primeiramente, agradeço ao meu Deus por me dar a oportunidade de cursar uma das melhores Universidades do Brasil, por chegar à conclusão desta etapa, e por ter me dado Sua força, graça e persistência durante os anos de estudo. Tu és, e sempre serás, a fonte inesgotável de Sabedoria!

Agradeço com muito amor aos meus queridos pais Jorge e Vera Rodrigues, por estarem ao meu lado nessa jornada, me amando, acreditando, investindo e me incentivando a continuar no curso, onde por tantas vezes, o final do caminho já não parecia tão possível. Meu obrigada não será suficiente para agradecê-los.

Ainda agradeço...

Ao André e a Andresa, os melhores irmãos. Ao Dirceu, meu cunhado, que muitas vezes me ouviu e sempre teve um conselho para me dar. A Cris, minha cunhada, e aos sobrinhos Pâmela, André Júnior, Gabriel e Matheus, que sempre trouxeram alegria a minha vida.

Aos meus amigos e irmãos da Juventude Restauração por todos os momentos de alegria nesses anos. Vocês foram parte especial na realização dessa etapa, e tenham certeza, tornaram a jornada mais leve.

A Professora Andreia Neves Fernandes por todos os anos de orientação e em especial, por sua amizade, paciência e confiança. Agradeço também por ter aceito orientar-me nesse trabalho.

Aos colegas do laboratório (LAPACE), Suzimara Rovani, Leonardo Medeiros, Aline Nectoux, Crislaine Bertoldi e Chrys Hoinacki por todas as ajudas e momentos que passamos juntos no laboratório.

Aos professores do Instituto de Química, por serem mestres e compartilhadores do conhecimento.

A UFRGS pela formação concedida.

RESUMO

Contaminantes emergentes são substâncias químicas cujo efeito toxicológico ainda é pouco conhecido, e os estudos associados à ocorrência e seus efeitos no ambiente são recentes. Muitos deles ainda não são contemplados pela legislação vigente, e podem causar problemas adversos no sistema endócrino e reprodutivo de humanos e animais. Esses compostos, geralmente, estão presentes em baixas concentrações no ambiente aquático, por isso, os tratamentos de água convencionais não são eficientes na identificação e remoção dos mesmos. A proposta tecnológica aqui apresentada visa agregar aos métodos convencionais de tratamento de água, uma alternativa eficiente para a degradação desses contaminantes. Diante desses aspectos, a motivação do trabalho consiste em estudar o método de fotólise para a degradação dos compostos 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3), que são hormônios naturais, avaliando a influência da matéria orgânica no processo. Foi realizado o estudo de interação entre os compostos e a matéria orgânica, para análise da biodisponibilidade dos mesmos em solução. A cinética e a toxicidade dos compostos também foram estudadas. A avaliação da influência da matriz aquosa foi feita utilizando água de abastecimento público de Porto Alegre/RS e água superficial da Lagoa do Patos. Os resultados de interação demonstraram que a quando a matéria orgânica está incluída no processo de fotólise, ela favorece a degradação, pois os compostos estarão mais biodisponíveis em solução. Com água da Lagoa dos Patos, alcançou-se 98,7% de degradação para E2, e 98,0% para o E3. Com água do abastecimento público de Porto Alegre, obteve-se 95,5% e 98,1% para o E2 e E3, respectivamente. Os resultados comprovaram que é possível propor a fotólise como uma alternativa para a recuperação de ambientes eventualmente contaminados.

Palavras-chave: Fotólise ; contaminantes emergentes; 17 β -estradiol; estriol; matéria orgânica; fluorescência.

ABSTRACT

Emerging contaminants are chemicals whose toxic effect is still poorly understood, and the studies associated with the occurrence and their effects on the environment are recent. Many are still not covered by current legislation, and can cause adverse problems in the endocrine and reproductive system of humans and animals. Such compounds are generally present in low concentrations in the aquatic environment, therefore, conventional water treatments are not efficient in identifying and removing them. The technological proposal available here aims to aggregate conventional methods of water treatment, an efficient alternative for the degradation of contaminants. Because of that, a work motivation is to study the method of photolysis for the degradation of the 17 β -estradiol (E2) and estriol (E3) compounds, which are natural hormones, evaluating an influence of organic matter in the process. The study of the interaction between the compounds and organic matter was carried out to analyze the bioavailability of the same in solution. A kinetics and toxicity of the compounds have also been studied. The evaluation of the influence of the water matrix was made with water supply public of Porto Alegre/RS and surface water of the Lagoa dos Patos. The results of the interaction demonstrate that when the matter organic is included in the photolysis process, it favors the degradation. With water from the Patos Lagoon, it reached 98.7% degradation for E2, and 98.0% for E3. With water from the public supply of Porto Alegre, 95.5% and 98.1% were obtained for E2 and E3, respectively. The results proved that it is possible to propose a photolysis as an alternative for a recovery of potentially contaminated environments.

Palavras-chave: Photolysis; emerging contaminants; 17 β -estradiol; estriol; organic matter; fluorescence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rotas de contaminação e exposição dos seres humanos aos EDCs	14
Figura 2. O sistema endócrino humano	16
Figura 3. Estrutura básica dos estrogênios estudados	18
Figura 4. Regiões do Brasil onde foram estudadas a presença de contaminantes em diferentes matrizes	21
Figura 5. Esquema da fotólise direta e indireta em sistemas aquáticos.	26
Figura 6. Exemplo de uma substância húmica	28
Figura 7. Frequências e comprimentos de onda do espectro eletromagnético.	30
Figura 8. Lagoa dos Patos, Tapas/RS.....	34
Figura 9. Agitador mecânico de 5 eixos utilizado nos processos de interação.....	36
Figura 10. Sistema de fotólise utilizado na degradação dos EDCs.	36
Figura 11. Curva analítica de calibração obtida para o composto E2 (a) e para o composto E3 (b).	43
Figura 12. Estudo da supressão de fluorescência para os compostos E2 (a) e E3 (b) em função da concentração de AFSR e MONSR.	47
Figura 13. Fotólise direta do 17 β -estradiol (E2) (a) e estriol (E3) (b).....	49
Figura 14. Comparativo entre a fotólise direta e indireta do E2 (a) e E3 (b).....	51
Figura 15. Degradação do E2 e do E3 em função do tempo de irradiação.	53
Figura 16. Comparativo entre as degradações das diferentes matrizes estudadas.	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características químicas dos estrogênios 17 β -estradiol e estriol.	17
Tabela 2. Excreção diária em $\mu\text{g L}^{-1}$ de estrona, 17 β -estradiol, estriol e 17 α -etinilestradiol	20
Tabela 3. Concentração em ng L^{-1} de EDCs em águas superficiais de países desenvolvidos	21
Tabela 4. Resultado para o teste de toxicidade do composto E2.	41
Tabela 5. Resultado para o teste de toxicidade para do composto E3.	41
Tabela 6. Coeficientes da regressão linear da curva de calibração E2 e E3.	42
Tabela 7. Limites de detecção e quantificação para E2 e E3.	44
Tabela 8. Composições elementares e razões isotópicas estáveis das amostras da IHSS.	45
Tabela 9. Grupos funcionais ácidos das amostras da IHSS.	45
Tabela 10. Valores de Koc obtidos para o E2 e E3.	46
Tabela 11. Percentuais de degradação para o E2 e E3 obtidos por meio de fotólise direta (ausência de MONSR).	50
Tabela 12. Percentuais de degradação para E2 e E3 obtidos por meio de fotólise indireta (presença de MONSR).	51
Tabela 13. Percentuais de degradação para E2 e E3 obtidos por meio de fotólise indireta utilizando água da torneira.	53
Tabela 14. Parâmetros cinéticos da degradação de soluções de E2 e E3 sem MONSR com lâmpada de vapor de mercúrio.	55
Tabela 15. Parâmetros cinéticos da degradação de soluções de E2 e E3, com MONSR, para as diferentes matrizes estudadas.	56
Tabela 16. Custo de materiais e reagentes para a fotólise utilizando espectroscopia de fluorescência molecular	58

LISTA DE ABREVIATURAS

AF - Ácido Fúlvico

AFRS - Ácido Fúlvico do Rio Suanne

AH - Ácido Húmico

ARs - Relação de atividade de estrutura

DOM - Matéria Orgânica Dissolvida

E2 - 17 β -estradiol

E3 - Estriol

EC - Contaminantes Emergentes

ECOSAR - Programa de Relacionamento de Atividade de Estrutura

EDCs - Compostos Desreguladores Endócrinos

EPA - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IHSS - Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada

Koc - Constante de Supressão de Fluorescência

LD - Dose Letal

MO - Matéria Orgânica

MON - Matéria Orgânica Natural

MONRS - Matéria Orgânica do Rio Suanne

SH - Substâncias Húmicas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. ESTADO DA ARTE	13
2.1. CONTAMINANTES EMERGENTES	13
2.2. COMPOSTOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS (EDC)	14
2.3. COMPOSTOS EM ESTUDO	17
2.4. OCORRÊNCIA NO MEIO AMBIENTE.....	18
2.5. DANOS AO AMBIENTE E AOS SERES HUMANOS	22
2.6. MÉTODOS DE REMOÇÃO	23
2.6.1. FOTÓLISE	24
2.7. MATÉRIA ORGÂNICA.....	26
2.8. ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR.....	29
2.8.1. Supressão de Fluorescência.....	31
3. OBJETIVOS	32
3.1. OBJETIVO GERAL.....	32
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
4. PROPOSTA TECNOLÓGICA	33
5. MATERIAIS E MÉTODOS	34
5.1. REAGENTES QUÍMICOS	34
5.2. MATRIZES AQUOSAS ESTUDADAS	34
5.3. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS EDCs	35
5.4. INTERAÇÃO DOS EDCs COM MATÉRIA ORGÂNICA	35
5.5. FOTÓLISE COM LÂMPADA DE VAPOR DE MERCÚRIO.....	36
5.5.1. Avaliação do Efeito Matriz.....	37
5.6. ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR.....	37
5.7. ESTUDO CINÉTICO.....	38
5.8. VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE	38
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40

6.1. AVALIAÇÃO PROBABILÍSTICA DE TOXICIDADE	40
6.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	42
6.2.1. Ajuste da Curva e Teste de Linearidade	42
6.2.2. Sensibilidade: LD e LQ	43
6.3. INTERAÇÃO DOS EDCs COM MATÉRIA ORGÂNICA	44
6.4. FOTÓLISE DOS EDCs EMPREGANDO LÂMPADA DE VAPOR DE MERCÚRIO	48
6.4.1. Avaliação do efeito da matriz na fotólise dos EDCs	52
6.5. CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO	55
7. ANÁLISE DE CUSTOS DE IMPLEMENTAÇÃO	58
7.1 CUSTOS DA FOTÓLISE	58
7.2. RISCOS LABORAIS E IMPACTO AMBIENTAL	59
8. CONCLUSÃO	60
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1. INTRODUÇÃO

Para que haja uma adequada gestão dos recursos hídricos, são necessários o monitoramento e a avaliação das águas, tanto superficiais quanto subterrâneas. Problemas como escassez, racionamento e a qualidade das águas vêm sendo temas de grande preocupação mundial nos últimos anos, ganhando assim, a qualidade das águas, relevância nos estudos de Química Ambiental. Isso porque a demanda de água abrange setores fundamentais, como: a agricultura, a produção de energia, o uso industrial, e propriamente o abastecimento humano.

O aumento da concentração de pessoas nas cidades, o saneamento ineficiente em muitas localidades e os novos hábitos de consumo da sociedade, não tem levado em conta o meio ambiente. Assim, eles têm contribuído para o lançamento nos mananciais (rios, lagos e depósitos subterrâneos) de muitas substâncias conhecidas como contaminantes emergentes (EC, do termo inglês *Emerging Contaminants*), causadores de problemas ambientais, e sérios problemas aos seres humanos e animais que estão expostos aos seus potenciais tóxicos.

Dentre os contaminantes emergentes presentes nos corpos aquáticos, encontram-se os chamados compostos desreguladores endócrinos (EDCs, do termo em inglês *Endocrine Disrupting Compounds*), que são substâncias capazes de alterarem as funções dos sistemas reprodutivo e endócrino, causando problemas adversos em humanos e animais. EDCs podem ser encontrados em frutas e verduras que ingerimos; em embalagens plásticas; nos produtos de higiene pessoal, como perfumes, maquiagens e filtros solares e na água que bebemos. A ocorrência ambiental e os efeitos negativos que estão associados a esses compostos, reforçam a importância do estudo sobre a biodisponibilidade, persistência e fototransformação.

Atualmente, diferentes técnicas de tratamento para remover esses contaminantes têm sido estudadas, tais como: processos oxidativos avançados, filtração em carvão ativado, processos com membranas de nanofiltração, osmose reversa e cloração. Entretanto, nos últimos anos a fotólise tem sido estudada na degradação de EDCs, pois a literatura demonstra que a fotólise desempenha um papel fundamental na atenuação desses compostos, sendo uma das principais vias de fototransformação em águas superficiais.

A matéria orgânica dissolvida (DOM, do termo inglês *Dissolved Organic*

Matter), que naturalmente está presente no ambiente aquático, é considerada um dos fatores importantes que influenciam o processo de fotólise natural dos contaminantes em ambientes aquáticos, pois se trata de uma mistura complexa de compostos orgânicos de diferentes tamanhos e propriedades estruturais e funcionais. A fototransformação dos contaminantes em águas superficiais iluminadas pelo sol está fortemente relacionada ao teor de matéria orgânica dissolvida. Sendo assim, os contaminantes presentes em matrizes aquáticas são parcialmente degradados, necessitando de um processo alternativo de completa degradação.

Diante desses aspectos, o presente trabalho visa avaliar a biodisponibilidade do 17 β -estradiol (E2) e do estriol (E3) por meio da interação com matéria orgânica; investigar a eficiência do processo de fotólise em soluções contendo os hormônios 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3); e avaliar a influência da matéria orgânica na fotólise dos compostos selecionados. Com base nos resultados obtidos, o estudo prevê a avaliação de uma alternativa para a recuperação de ambientes eventualmente contaminados.

2. ESTADO DA ARTE

A revisão bibliográfica a seguir aborda a definição de contaminantes emergentes; apresenta as ocorrências no meio ambiente; descreve o mecanismo de ação dos desreguladores endócrinos; aborda, também, os malefícios que esses compostos causam ao meio ambiente, aos animais e aos seres humanos; os meios de exposição, a ocorrência no meio ambiente, e principalmente, discorre sobre algumas técnicas de degradação usadas no tratamento de EDCs.

2.1. CONTAMINATES EMERGENTES

Desde os anos de 1990, os contaminantes emergentes vêm despertando grandes preocupações na comunidade científica, pois estudos demonstraram um potencial tóxico agregado a eles, e efeitos negativos que eles causam ao ambiente aquático e a saúde humana. Tais substâncias podem ser naturais ou sintéticas, e geralmente não são monitoradas (SILVA et al., 2016).

Os contaminantes emergentes estão presentes nas águas em quantidades muito pequenas, na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , e são substâncias altamente tóxicas podendo causar transtornos como câncer ou mutações. Em função de estarem presentes em níveis de concentração muito baixos, atualmente, as estações de tratamento operam com tecnologias convencionais que não são efetivas na remoção desses compostos (OLIVEIRA et al., 2016).

O tipo de tratamento efetuado nas águas urbanas residuais é o tratamento convencional, que é aquele onde a água bruta passa por tratamento completo em uma estação de tratamento de água (ETA), ou seja, dotado dos processos de floculação, decantação, filtração e desinfecção (cloração), antes de ser distribuída à população. Também poderão ocorrer neste tipo de tratamento as etapas correspondentes à correção de pH e fluoretação. (IBGE, 2011)

Por serem recentes os estudos sobre contaminantes emergentes, as legislações ambientais vigentes ainda não os contemplam. Ainda são desconhecidas as concentrações seguras de exposição, isso dificulta o processo de regularização. O fato de muitas dessas substâncias não estarem previstas em legislação, tornam-se comum serem detectadas em vários tipos de ambientes, aumentando assim a

exposição humana a elas. Além disso, ainda existe falta de estudos toxicológicos que possam subsidiar a regulação de muitos contaminantes emergentes (SANTANA, 2013).

Esses contaminantes podem ser classificados ainda como substâncias xenobióticas ou antropogênicas, pois não ocorrem espontaneamente no ambiente, mas dependem da ação humana para entrarem nos recursos hídricos (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017). Na **Figura 1** estão representadas algumas das formas de entradas e destino desses contaminantes em águas superficiais.

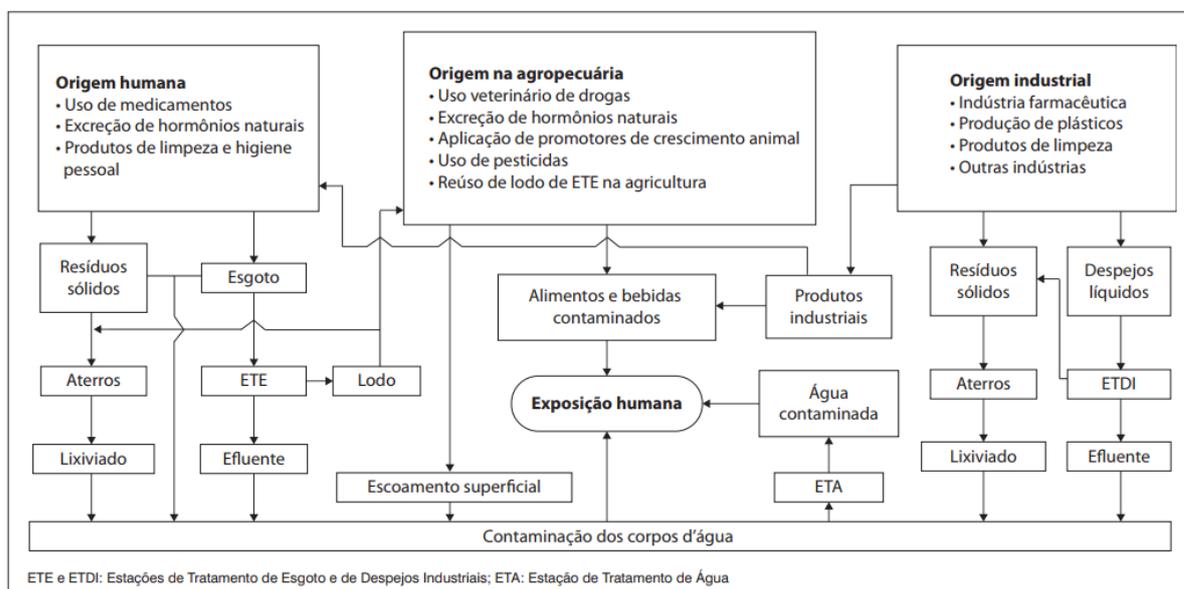


Figura 1. Rotas de contaminação e exposição dos seres humanos aos EDCs (adaptado de AQUINO; BRANDT; CHERNICHARO, 2013).

2.2. COMPOSTOS DESREGULADORES ENDÓCRINOS (EDC)

Os chamados compostos desreguladores endócrinos (EDCs, do termo em inglês *endocrine disrupting compounds*), que na tradução para a língua portuguesa também são chamados de interferentes endócrinos, xenoestrogênios, fitoestrogênios, disruptores endócrinos, estrogênios ambientais, dentre outras (SODRÉ et al., 2007), podem causar problemas no sistema endócrino,

interrompendo assim as funções essenciais do organismo, como a reprodução e o desenvolvimento.

As substâncias que compõem a classe dos EDCs podem ser classificadas como naturais, que são produzidos e excretados por organismos humanos e animais; e por compostos sintetizados, oriundos das indústrias químicas e farmacêuticas. Essas substâncias podem ser encontradas em diversas matrizes aquáticas, por estarem presentes no nosso dia a dia, como nos cosméticos, fármacos, retardantes de chama, compostos organoclorados, pesticidas e nos hormônios.

O número total de compostos suspeitos de interagirem com o sistema endócrino é estimado, em aproximadamente, 38.000. Muitos desses compostos são utilizados em quantidades significantes no nosso cotidiano, desde a agricultura até as indústrias, como citado anteriormente. Diferentes produtos e compostos com atividade estrogênica têm sido citados na literatura, tais como: pesticidas (lindano, glifosato e atrazina); compostos aromáticos halogenados formados nos processos de combustão; alquilfenóis usados na produção de plásticos e surfactantes; hormônios naturais e hormônios sintéticos (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017).

Em 1996 foi proposta uma das definições mais precisas para um desregulador endócrino, proposta pela Comunidade Científica Européia. Tal definição diz que um desregulador endócrino é uma substância exógena que causa efeitos adversos na saúde em um organismo intacto, devido a mudanças na função endócrina (SODRÉ et al., 2007).

Já em maio de 1997, a agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (EPA, do termo em inglês *Environmental Protection Agency*), de forma mais ampla, definiu um desregulador endócrino como sendo uma substância ou mistura química exógena que altera uma ou mais funções do sistema endócrino, bem como a sua estrutura, causando efeitos adversos tanto sobre um organismo e sua descendência, como em populações ou subpopulações de organismos, tendo como base estudos científicos, dados, evidências de peso e princípios de precaução (SODRÉ et al., 2007).

Todos os processos fisiológicos do corpo humano são governados por dois sistemas, o nervoso e o endócrino. O sistema nervoso controla os processos fisiológicos por meio de impulsos nervosos conduzidos por hormônios, e o sistema

endócrino utiliza os hormônios para mediar esses processos. O conjunto de células responsáveis pela síntese e excreção dos hormônios na corrente sanguínea é chamado de glândula (SODRÉ et al., 2007). Na **Figura 2** são representadas as glândulas pertencentes ao sistema endócrino de humanos.

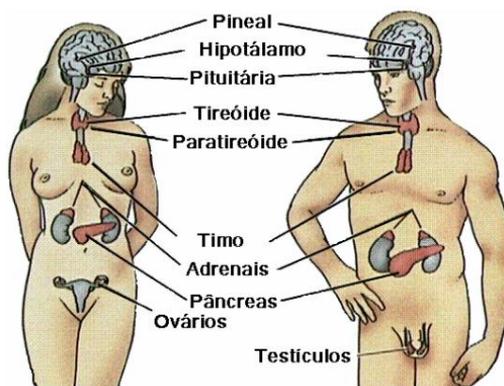


Figura 2. O sistema endócrino humano (SODRÉ et al., 2007).

Os EDCs podem agir através dos mecanismos fisiológicos mimetizando os hormônios naturais (adquirir forma, aspecto), acionando os seus receptores específicos, estimulando a formação de mais receptores hormonais e bloqueando sítios receptores de uma célula (SODRÉ et al., 2007). Eles ainda podem interferir na produção, transporte, metabolismo e excreção de hormônios que agem naturalmente, gerando efeitos desconhecidos e a longo prazo.

Esses compostos também podem bloquear o crescimento hormonal e afetar as atividades dos hormônios endógenos, causando alterações no metabolismo dos hormônios naturais, modificando os receptores hormonais em uma célula e mimetizando os receptores do sistema endócrino (TIJANI; FATOBA; PETRIK, 2013). Ainda são responsáveis pelas características secundárias femininas relacionadas ao crescimento, ao desenvolvimento e ao metabolismo. O composto com maior potencial estrogênico produzido pelos humanos é o 17β -estradiol (E2), seguido pela estrona (E1) e estriol (E3) (SODRÉ et al., 2007).

Segundo a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), “os esteróides compreendem uma classe de hormônios que tem em sua estrutura o ciclofenantreno. Ainda nessa estrutura podem ter ligações duplas, metilas,

carbonilas e hidroxilas, originando diversos hormônios esteróides” (SODRÉ et al., 2007).

2.3. COMPOSTOS EM ESTUDO

Neste trabalho, serão avaliados os hormônios estrogênicos 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3), que são hormônios naturais mais comumente encontrados no meio ambiente, considerados os principais causadores de atividade estrogênica em corpos aquáticos e águas residuais, alta adsorção a solos e sedimentos, e são produzidos por organismos humanos e animais (MOMPELAT; BOT; THOMAS, 2009). Na **Tabela 1** estão apresentadas algumas propriedades químicas dos hormônios estrogênicos em estudo: 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3).

Tabela 1. Características químicas dos estrogênios 17 β -estradiol e estriol.

	17 β -estradiol	Estriol
Sigla	E2	E3
CAS	50-28-2	50-27-1
Fórmula Molecular	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	C ₁₈ H ₂₄ O ₃
Massa Molar (g mol⁻¹)	272,30	288,37
Log K_{ow}	4,01	2,45
K Sorção	3300	1944
Solubilidade em água mg L⁻¹ (20°C)	3,6	116
pK_a	10,44	---

pK_a: cologarítimo da constante de dissociação ácida; Log K_{ow}: coeficiente de partição octanol-água; k sorção: constante de sorção (GHISELLI; JARDIM, 2007; SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012).

O comportamento físico-químico dos EDCs em fase aquosa, como coeficiente de partição e transformação, é afetado por vários fatores ambientais, tais como pH, sal, microorganismos, matéria orgânica dissolvida (DOM, do termo em inglês *dissolved organic matter*) e coloides (ZHU et al., 2012). Analisando a Tabela 1 é

possível notar que os compostos estudados são levemente hidrofóbicos, com valores de coeficientes de partição octanol-água maiores que 2,81. A baixa solubilidade e altos valores de K_{ow} podem indicar baixa dissolução dos hormônios em meios aquosos. Observando os altos valores do coeficiente de sorção pode-se esperar que eles tivessem alto potencial de sorção em sedimentos e solos, o que causa redução de suas concentrações em ambientes aquáticos (SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012).

O foco de estudo nesse trabalho foram os compostos 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3). A molécula do 17 β -estradiol, que está representada na **Figura 3a**, possui 18 carbonos, um grupo hidroxila ligada ao anel de cinco membros e um anel fenólico, responsável pela alta afinidade em ligar-se ao receptor de estrogênio e mimetizar a resposta estrogênica (HUBER, 2003). O hormônio E2, no organismo de humanos e animais, pode ser oxidado a estrona, e ainda ser convertido a estriol, sendo o principal produto de excreção (GUEDES-ALONSO et al., 2014). A molécula do estriol, que está representada na **Figura 3b**, está presente na circulação sanguínea de homens e mulheres, sendo excretado principalmente por mulheres em período gestacional.

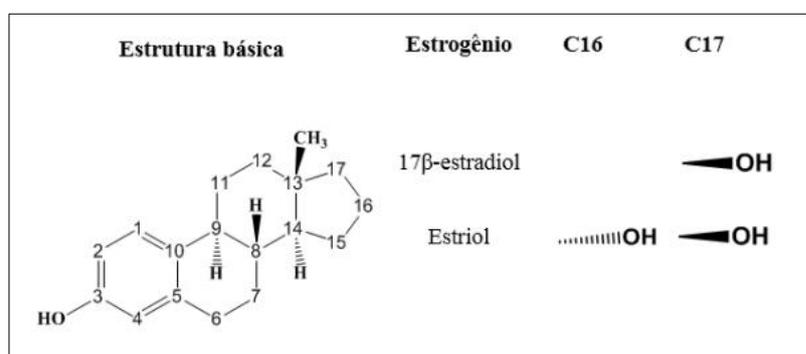


Figura 3. Estrutura básica dos estrogênios estudados

2.4. OCORRÊNCIA NO MEIO AMBIENTE

Os locais onde apresentam maior contingente populacional são também aqueles que apresentam os maiores riscos potenciais à poluição dos recursos hídricos, e de comprometimento da qualidade dos mananciais por lançamento de efluentes de esgoto e/ou lodo de tratamento. Ações de lançamento de esgoto e lodo

ocorrem principalmente nos maiores adensamentos humanos, elevando o perigo de contaminação dos mananciais e a vulnerabilidade, tanto das populações quanto dos ecossistemas aquáticos (IBGE, 2011).

Existem duas fontes de entrada dos EDCs no ambiente, as pontuais e as difusas. Fontes pontuais apresentam o ponto de entrada bem caracterizado, geralmente através dos cursos d'água, por exemplo, descarga de efluentes industriais e esgotos domésticos, derramamentos acidentais, atividades de mineração, enchentes, entre outras. São descargas diretas para os corpos d'água. Já as fontes difusas definidas como fontes que não apresentam o ponto de entrada no meio ambiente bem caracterizado, como deposições atmosféricas e escoamentos superficiais, provenientes das atividades agrícolas (GHISELLI; JARDIM, 2007).

Como estes compostos são utilizados em quantidades significativas no nosso dia a dia, os EDCs, são descarregados em estações de tratamento de águas residuais e, com isso podem entrar em águas superficiais. As estações de tratamento de águas residuais que operam com tecnologias convencionais não são eficazes na remoção de EDCs. Processos como coagulação, floculação, sedimentação ou filtração são em grande parte ineficientes (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017) (OLIVEIRA et al., 2016).

Um dos principais agentes poluidores dos mananciais é o esgoto sanitário. No cenário brasileiro é possível perceber que alto número de municípios que ainda não coletam e tratam seus efluentes torna a situação preocupante. Segundo o atlas de saneamento do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011) mostra que *“a maioria (68%) dos distritos-sede encontra-se na faixa dos que coletam entre 51% e 75% do esgoto no País. Essa faixa percentual de coleta de esgoto chama atenção, ainda, por concentrar 80% da população, distribuída ao longo de quatro bacias costeiras (incluindo o rio São Francisco) e uma interior (rio Paraná), esta com mais de 60 milhões de habitantes.”* Assim, o lançamento de esgotos não tratados e a baixa eficiência dos sistemas atuais de tratamento de efluentes cumulam para as causas de contaminação dos recursos hídricos.

Apesar dos hormônios serem compostos importantes e essenciais para a vida, a fração dos mesmos, que não for absorvido pelo organismo, será excretado por humanos e animais na forma de urina e de fezes, e esta pode ser a causa da presença de EDCs em rios, mananciais de abastecimento e em água potável. Tanto

estrogênios naturais, quanto os sintéticos são excretados como conjugados solúveis em água, e em menor proporção por fezes.

A excreção será diferente para cada organismo, pois a mesma depende de fatores como idade, estado de saúde, dieta ou estado de gestação JOHNSON et al., 2000. A **Tabela 2** mostra uma estimativa das taxas de excreção diária dos principais estrógenos naturais em seres humanos, e também um dos principais estrógenos sintéticos, o 17 α -etinilestradiol, utilizado em pílulas contraceptivas. Segundo o estudo realizado por Johnson et al., tanto homens quanto mulheres excretam taxas de hormônios, sendo que mulheres excretam, praticamente o dobro, diariamente em $\mu\text{g L}^{-1}$, e a maior quantidade de hormônios excretados por mulheres é quando estão em período gestacional.

Tabela 2. Excreção diária em $\mu\text{g L}^{-1}$ de estrona, 17 β -estradiol, estriol e 17 α -etinilestradiol (adaptado de JOHNSON et al., 2000).

Categoria	Estrona	17β-estradiol	Estriol	17α-etinilestradiol
Homens	3,9	1,6	1,5	-
Mulheres em menstruação	8,0	3,5	4,8	-
Mulheres em menopausa	4,0	2,3	1	-
Mulheres em gestação	600	259	6000	-
Mulheres	-	-	-	35

Muitos estudos realizados em países desenvolvidos têm evidenciado a ocorrência dos EDCs, não só em efluentes e esgotos, mas também em águas superficiais. Os estudos ainda apontam que mesmo nos países mais desenvolvidos, onde o índice de tratamento de esgoto é elevado, os EDCs são encontrados em concentrações significativas. Hormônios naturais como estrona, 17 β -estradiol e estriol, estão presentes em concentrações de alguns poucos ng L^{-1} , embora sejam encontrados níveis de estrona de até 40 ng L^{-1} (SODRÉ et al., 2007).

Uma das fontes de contaminação por EDCs para os seres humanos é a alimentação, já que muitas substâncias são usadas durante a produção de alimentos industrializados, no processo de fabricação da embalagem dos mesmos, ou ainda

na ingestão de água potável contaminada (GHISELLI; JARDIM, 2007). A **Tabela 3** apresenta as faixas de concentração dos desreguladores endócrinos detectados nas águas dos rios da França e Holanda.

Tabela 3. Concentração em ng L⁻¹ de EDCs em águas superficiais de países desenvolvidos (adaptado de SODRÉ et al, 2007).

Composto	País	Concentração (ng L ⁻¹)	Referência
Estriol	França	1 – 2,5	(PERDIZ et al., 2004)
17β-estradiol	Holanda	5,5	(BELFROID et al., 1999)
	França	1,4 – 3,2	(PERDIZ et al., 2004)
Estrona	Holanda	3,4	(BELFROID et al., 1999)
	França	1,1 - 3	(PERDIZ et al., 2004)

Ainda sobre o comportamento e o destino dos contaminantes emergentes em estações de tratamento de esgoto do Brasil, um estudo realizado encontrou 10 trabalhos em revistas indexadas que avaliaram a presença e/ou a remoção de hormônios, bisfenol A, alquilfenóis e drogas ilícitas, em cinco estados (Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Ceará) e no Distrito Federal, destacadas na **figura 4**. (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

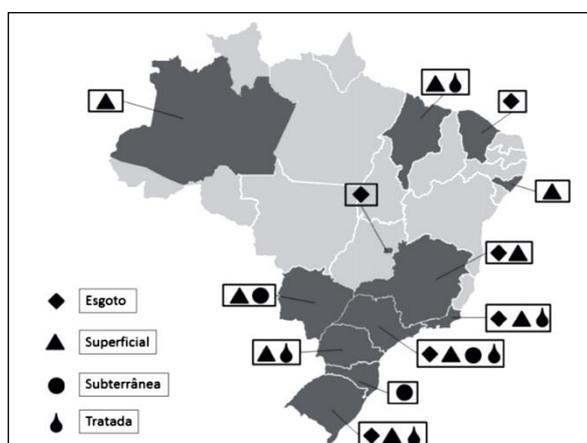


Figura 4. Regiões do Brasil onde foram estudadas a presença de contaminantes em diferentes matrizes (adaptado de MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

As concentrações dos contaminantes no esgoto bruto variaram quatro ordens de grandeza, entre 0,56 e 9717 ng L⁻¹. Já no esgoto tratado as concentrações variaram entre 0,09 e 2080 ng L⁻¹ para os hormônios, e entre 680 e 78250 ng L⁻¹ para os fármacos e compostos de origem industrial. A presença destas substâncias nos diversos efluentes é preocupante, pois eles podem ser considerados a maior fonte de contaminação para o ambiente (MONTAGNER; VIDAL; ACAYABA, 2017).

Quando comparadas as quantidades de EDCs encontrados em águas superficiais nos países desenvolvidos às quantidades encontradas no Brasil, é possível perceber que o cenário brasileiro ainda apresenta maior risco de exposição a humanos e animais, pois as concentrações são muitas vezes mais elevadas.

2.5. DANOS AO AMBIENTE E AOS SERES HUMANOS

Como essas substâncias não são facilmente degradadas, e geralmente permanecem em águas residuais, o efeito cumulativo gerado pelo tempo de exposição culminará no aparecimento dos efeitos negativos. A literatura descreve alguns efeitos causados pelos EDCs na saúde de humanos e animais, tais como redução da produção de espermatozoides, diformismo sexual, má formação de órgãos reprodutores, aumento da incidência de câncer de mama, ovários, testículos e próstata (WOLFF; TONIOLO, 1995) efeitos neurológicos (BRODY; RUDEL, 2003), aumento na incidência de doenças como criptoquirdia e hipospádia em crianças e aumento da incidência de ovários policísticos em mulheres (HARRISON; HOLMES; HUMFREY, 1997)

Em organismos animais, os impactos na saúde incluem anormalidades reprodutivas (LYE, 1997), feminização de machos (RODGER-GRAY et al., 2001) e masculinização de fêmeas, mesmo quando presentes em concentrações muito baixas, ou seja, vários ng L⁻¹. A maioria dos EDCs são produtos químicos orgânicos sintéticos sendo introduzidos para o meio ambiente por atividades antropogênicas, incluindo produtos químicos industriais.

O uso do estrogênio sintético dietilbestrol (DES) em mulheres grávidas, nos anos de 1948 a 1970, exemplifica uma das maiores problemáticas relacionadas à desregulação endócrina. Este fármaco era prescrito por médicos para evitar abortos

e promover o crescimento fetal. Filhas de mães que ingeriram esse estrógeno apresentam disfunções dos órgãos reprodutivos, gravidez anormais, redução da fertilidade e problemas no sistema imunológico (SANTOS; DUARTE; ESTEVES, 2007). Os efeitos relatados a curto, médio e longo prazo do DES têm servido como exemplo e de comparação para os efeitos da exposição de seres humanos aos EDCs.

Outro exemplo da ação tóxica dos EDCs é o do diclorodifeniltricloroetano (DDT) e seus subprodutos, um pesticida muito utilizado em todo mundo durante as décadas de 1950 e 1960, e que ainda hoje é usado em alguns países. Estudos mostraram que o DDT é persistente no meio ambiente, apresenta atividade estrogênica e pode afetar o sistema reprodutivo de mamíferos e pássaros (BILA, 2007).

No Brasil, recentemente foram relatados alguns efeitos relacionados à exposição de EDCs no meio ambiente. Resultados de um estudo epidemiológico, que relaciona a exposição a pesticidas durante os anos de 1980 e distúrbios reprodutivos, tais como, câncer de mama, ovário e próstata, taxas de avaliação de esperma, observados nos anos de 1990 em estados brasileiros (BILA, 2007).

2.6. MÉTODOS DE REMOÇÃO

É conhecido, por estudos publicados, que esses micropoluentes não são completamente removidos pelos processos convencionais nas estações de tratamento. Diante dessa problemática surge a necessidade do desenvolvimento de novos métodos de remoção desses compostos. Atualmente, diversos são os processos de tratamento utilizados para a remoção dos EDCs.

Dentre eles podemos citar os processos oxidativos avançados (POA's), que são baseados na geração de radicais livres, em especial o radical hidroxil ($\cdot\text{OH}$), utilizando peróxido de hidrogênio. Este radical possui alto poder oxidante e pode promover a degradação de vários compostos poluentes em poucos minutos. O peróxido de hidrogênio é muito utilizado em processos de degradação de compostos recalcitrantes e também para eliminar a coloração persistente de efluentes pós tratamento biológicos. (ALESSANDRA et al., 2009).

Outro método é a ozonização, onde os estrogênios são rapidamente oxidados com as baixas doses de ozônio que são usadas em estações de tratamento de água potável, alcançando altas remoções (> 97%). Contudo, em alguns estudos, apesar da atividade estrogênica ter diminuído consideravelmente, uma estrogenicidade residual permaneceu, provavelmente, devido aos subprodutos de oxidação (BILA, 2007).

O processo de adsorção, na categoria de método físico, é geralmente considerado de baixo custo, eficaz e amplamente utilizado para a remoção de poluentes em efluentes. A adsorção apresenta a vantagem da remoção de substâncias dissolvidas, como é o caso dos compostos fenólicos (BARBOSA, 2014). Dependendo da natureza química de superfície, os carvões ativados podem ainda agir diretamente como catalisadores em diferentes reações químicas, acelerando o processo de adsorção.

Processos com membranas de nanofiltração e osmose reversa, são processos particularmente efetivos na remoção de micropoluentes inorgânicos (tais como, nitrato, arsênico e flúor) e orgânicos (tais como, pesticidas, estrogênios entre outros) (BILA, 2007). Em geral, cada tipo de tratamento possui vantagens e desvantagens que devem ser consideradas.

Ainda, nos últimos anos, o processo de fotólise tem sido bastante estudado para a remoção dos EDCs. Além disso, o uso de luz UV para desinfetar a água tem sido utilizado há várias décadas (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017). Diante disso, nesse trabalho foi estudada a degradação de EDCs por meio de fotólise, a fim de agregar a mesma aos métodos convencionais de tratamento de água.

2.6.1. FOTÓLISE

A fotólise é um processo alternativo e importante para degradação de EDCs, que tem sido muito estudado nos últimos anos, e pode ser definido como uma reação de decomposição que ocorre na presença de uma fonte de radiação. É um dos métodos mais simples disponíveis para a degradação fotoquímica de contaminantes orgânicos sintéticos no ambiente aquático.

Diferentes aplicações podem ser citadas à fotólise na área química, como a aplicação no tratamento de efluentes, processos de descontaminação de alimentos, degradação de alimentos, preparo de amostras para determinações analíticas, tratamento de poluentes, entre outros (STÜLP; CARVALHO, 2014). Os comprimentos de onda da radiação UV estendem-se de 40 a 400 nm e podem ser divididas em: UV A (400-315 nm), UV B (315- 280 nm) e UV C (<280 nm).

Dois processos de fotólise podem ocorrer em sistemas aquáticos, a direta e a indireta, conforme exemplificado na **figura 5**. Nos processos de fotólise, o elemento mais importante é a luz. Seja UV ou luz visível, ela atua quebrando ligações químicas e formando novos compostos simples (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017). Nos casos em que a radiação direta é usada, não é necessário usar substâncias adicionais.

Na fotólise direta, podem ser usadas lâmpadas UV, lâmpadas de xenônio ou simuladores solares, que emitem luz visível, ou ainda, propriamente a luz solar. O processo ocorre quando o próprio produto absorve fótons capazes de induzir transformações químicas (OLIVEIRA et al., 2016). A fotólise direta é o resultado da absorção de luz pelos poluentes causando sua degradação molecular.

O processo de fotólise indireta ocorre quando a fototransformação é indiretamente induzida por determinadas substâncias, conhecidas como fotossensibilizadores, que absorvem radiação para atingir um estado excitado, gerando, conseqüentemente, espécies reativas, por exemplo, radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$), o que, por sua vez, causa a degradação do composto. Em um mecanismo de fotólise indireta, o contaminante não precisa absorver a luz porque outro cromóforo no sistema, como a matéria orgânica dissolvida (DOM), por exemplo, que atua como uma espécie sensibilizante, desempenhando um papel fundamental no processo de degradação dos poluentes (SILVA; OTERO; ESTEVES, 2012).

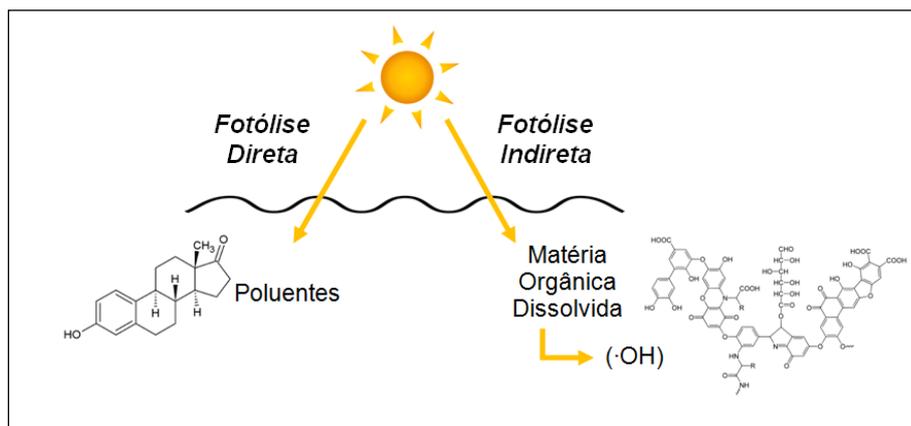


Figura 5. Esquema da fotólise direta e indireta em sistemas aquáticos.

A fotólise é afetada por vários parâmetros: o pH da solução (dissociação dos compostos), o teor de matéria orgânica (a absorção competitiva de radiação ou a possibilidade formação de espécies com oxigênio), ou a concentração de oxigênio (a possibilidade da aparência de espécies reativas de oxigênio). Muitas substâncias orgânicas absorvem radiação principalmente na faixa de 250 nm, que é uma pequena porcentagem de radiação solar (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017).

A banda de absorção do E2 se sobrepõe parcialmente com o espectro de energia solar, e este composto pode, portanto, estar sujeito à degradação através de fotoreação direta. Por sua vez, o E3 tem considerável absorção de luz solar na região de comprimento de onda de 290 a 360 nm, espera-se que a fotólise direta desempenhe um papel crucial em sua redução em ambientes aquáticos. O mesmo comportamento pode ser observado para o processo de fotólise indireta (CHEN; ZHANG; ZUO, 2013).

2.7 MATÉRIA ORGÂNICA

A matéria orgânica dissolvida (DOM) é uma mistura complexa de componentes orgânicos, de ácidos de baixo massa molar até proteínas de alto massa molar, carboidratos, e matéria orgânica natural (ZHU et al., 2012). A DOM, que é encontrada em ambiente aquático, é considerada um dos fatores importantes

que influenciam o processo de fotólise dos contaminantes orgânicos (LIANG, 2012). Suas propriedades físico-químicas desempenham um papel importante na química e no tratamento da água.

Sabe-se que a matéria orgânica, presente no ambiente aquático natural, desempenha um papel importante na solubilidade, biodisponibilidade, processos de destino e transporte ambiental de contaminantes (GADAD, 2007; BOTERO, 2011). Pode interagir com os EDCs de forma a transportá-los para locais distantes de sua origem, ocasionando contaminação em locais que não estavam contaminados (AZEVEDO; NOZAKI, 2008). Ainda pode servir como microrreator nas reações físico-químicas de compostos orgânicos a nível traço (por exemplo, EDCs) em águas naturais (ZHU et al., 2012). Também desempenha algumas funções como a melhoria da cinética de fotólise através da produção de várias espécies reativas de oxigênio, como estado tripleto excitado da matéria orgânica, oxigênio singleto e radical hidroxila (REN et al., 2017).

Foi relatado que a estrogenicidade do E2 é afetada por sua interação com a DOM presente em um ambiente aquático, que é constituída por duas frações, húmica e não húmica. A fração húmica, conhecida como substâncias húmicas, é constituída pelo ácido fúlvico (AF) e ácido húmico (AH), classificada como hidrofóbica. A fração não húmica é constituída pela humina, classificada como hidrofílica. O ácido húmico, um dos mais hidrofóbicos, absorve E2 devido à sua estrutura aromática e, portanto, diminui a atividade estrogênica de E2. O tamanho do DOM varia entre 1 nm e 1 mm também afeta a sorção de estrogênios e suas atividades estrogênicas (HO; ZHOU; DON, 2011).

As substâncias húmicas (SH) são misturas complexas e heterogêneas (**Figura 6**) de materiais polidispersos formados em solos, sedimentos e águas naturais por reações bioquímicas e químicas durante a decaência e transformação de vegetais e resíduos microbianos (um processo chamado humificação). Ainda podem ser definidas operacionalmente de acordo com sua solubilidade em água. O AH é insolúvel em condições ácidas ($\text{pH} < 2$); AF é solúvel em toda a faixa de pH e a humina é insolúvel em qualquer valor de pH (AZEVEDO; NOZAKI, 2008)

As substâncias húmicas estão envolvidas em muitos processos nos solos e nas águas naturais: por exemplo, intempérie do solo, nutrição das plantas, diminuição do pH, mobilidade e toxicidade dos traços metálicos, biodisponibilidade, degradação e transporte de produtos químicos orgânicos hidrofóbicos, formação de

subprodutos de desinfecção durante o tratamento da água, e produção heterotrófica em ecossistemas de águas negras.

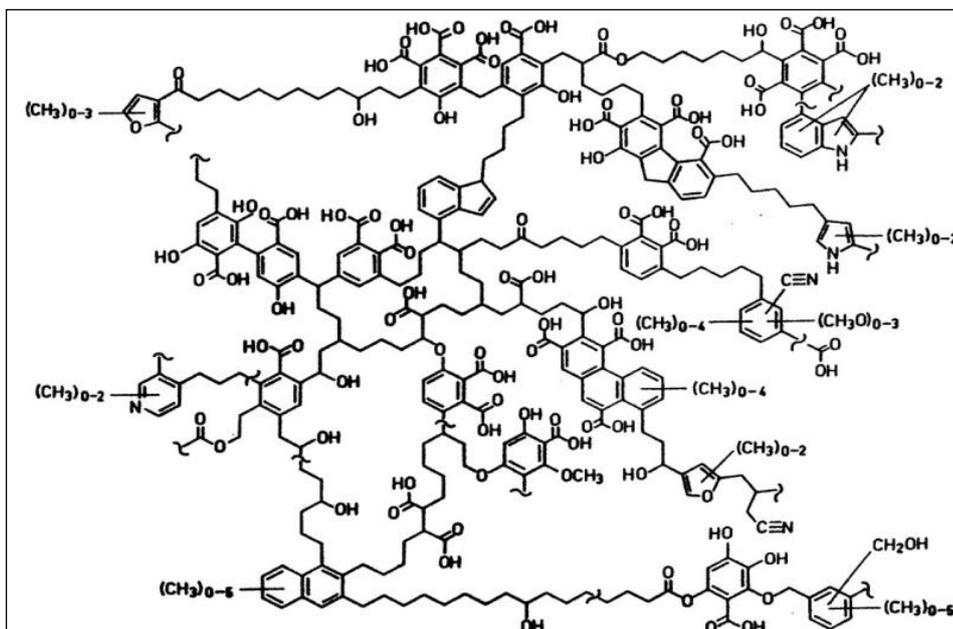


Figura 6. Exemplo de uma substância húmica (estrutura proposta para o ácido húmico SCHULTEN, 1995).

A matéria orgânica dissolvida apresenta propriedades cromóforas, devido à presença de mistura de polímeros policíclicos aromáticos oriundos, principalmente, da decomposição da matéria orgânica vegetal, sendo a fração húmica desses polímeros a principal responsável pela absorção de luz ultravioleta e visível (UV-Vis) (PEDROSA, 2010). Por ser uma mistura complexa de compostos orgânicos de diferentes tamanhos e propriedades estruturais e funcionais, a DOM pode interagir com os compostos desreguladores endócrinos.

A absorção da luz solar pela DOM induz a múltiplas fotoreações. Como uma consequência, a DOM é quebrada e parcialmente mineralizada e sua massa molecular é reduzida. A fotodegradação está associada a contribuições para o aumento do carbono inorgânico dissolvido e nutrientes (TONIETTO, 2009).

As propriedades de fluorescência da DOM são parâmetros muito importantes para a caracterização química e a avaliação de fontes em águas naturais. Um dos parâmetros físico-químicos utilizados para avaliar estes processos é o coeficiente de sorção de fluorescência (K_{oc}), o qual é afetado por vários fatores ambientais, tais

como pH, salinidade, microorganismos, coloides (LEE et al., 2011). Sendo possível avaliar a interação entre desreguladores endócrinos e DOM por meio da supressão de fluorescência (XIAOQIAO; RUDOLF, 2001).

2.8. ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

A espectroscopia de fluorescência mostrou-se uma técnica valiosa para caracterizar e monitorar as águas residuais e superficiais, e para rastreamento de fontes de poluição. A técnica também apresenta vantagens como rapidez, baixo custo associado, sem reagentes, requer pouco preparo de amostra e possui alta sensibilidade de observação (CARSTEAD et al., 2016). A matéria orgânica fluorescente é um dos constituintes de águas de rios, sendo de 40 a 60% da matéria orgânica natural é fluorescente. Este material fluorescente compreende, principalmente, proteínas e ácidos orgânicos derivados da decomposição de matéria vegetal e animal (BAKER, 2001).

Fluorescência é a emissão de luz a partir de um estado excitado singlete, no qual o elétron excitado não muda a orientação de spin, continuando desemparelhado. O retorno ao estado fundamental é permitido e ocorre rapidamente via emissão de um fóton. A taxa da emissão de fluorescência é da ordem de 10^8 s^{-1} , então o tempo de vida de fluorescência típico é na ordem de 10^{-9} s . O tempo de vida de um fluoróforo é a média de tempo que ele passa no seu estado excitado antes de retornar ao estado fundamental (CARSTEAD et al., 2016). Nesse tipo de espectroscopia de absorção, dois tipos importantes de orbitais são considerados: o orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO) e o orbital molecular não ocupado de mais baixa energia (LUMO). Ambos referem-se ao estado fundamental da molécula.

Os fluoróforos são divididos em duas classes. Os intrínsecos, que são os que emitem luz naturalmente; e os extrínsecos, que são aqueles adicionados à amostra para desempenharem a função sonda. Os fluoróforos emitem luz geralmente na faixa de comprimentos de onda do espectro visível, ou seja, entre o infravermelho e o violeta (**Figura 7**).

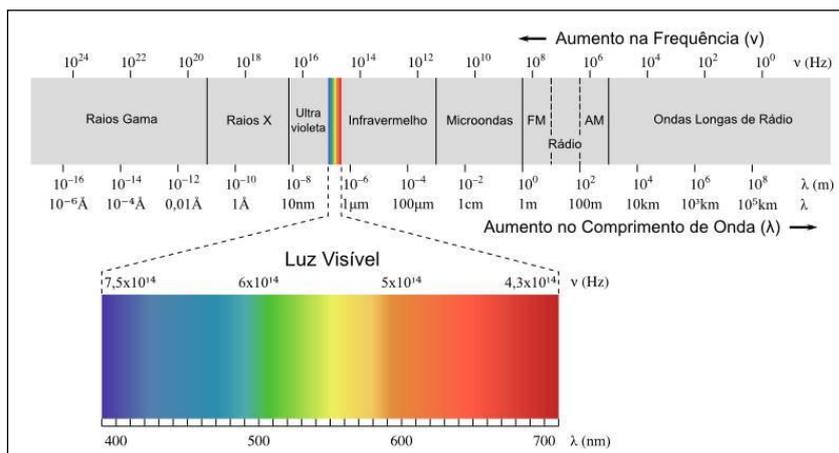


Figura 7. Frequências e comprimentos de onda do espectro eletromagnético.

Em compostos orgânicos, o fenômeno de fluorescência ocorre tipicamente em estruturas aromáticas, isso contribui para a análise dos EDCs estudados, visto que são compostos que apresentam em sua estrutura características aromáticas. Os espectros de fluorescência geralmente são apresentados como espectros de emissão, onde uma curva de intensidade de fluorescência *versus* comprimento de onda (λ) em nanômetros ou número de onda (cm^{-1}). A sensibilidade do espectro de emissão se dará em função da estrutura química dos fluoróforos e à polaridade do solvente na qual estão dissolvidos.

O equipamento espectrofotômetro UV-vis típico é composto por uma fonte de luz, um monocromador e um detector. A fonte de luz, geralmente, é uma lâmpada de deutério que emite radiação eletromagnética na região UV do espectro. Uma lâmpada de tungstênio é usada como uma segunda fonte de luz que é usada para comprimentos de onda na região visível do espectro. O monocromador é uma rede de difração com a função de separar o feixe de luz nos comprimentos de onda componentes. Normalmente, utilizam um feixe duplo. Esses dois feixes funcionam em conjunto para diminuir o ruído criado a partir de flutuações de energia radiante.

O transdutor que detecta a fluorescência criada a partir do feixe superior está localizado a uma distância da amostra e em um ângulo de 90 graus do incidente, feixe superior. O equipamento é construído assim para diminuir a luz dispersa do feixe superior que pode atingir o detector.

2.8.1. Supressão de Fluorescência

A intensidade da fluorescência em compostos pode ser diminuída por uma ampla variedade de processos, essas diminuições de intensidade são chamadas de supressão, e podem ocorrer por diferentes mecanismos. A supressão é resultado do encontro difusivo entre fluoróforo e supressor durante o tempo de vida do estado excitado do fluoróforo.

A supressão ocorre quando o fluoróforo de estado excitado é desativado após contato com alguma outra molécula em solução, que é chamada de supressor. As moléculas não são quimicamente alteradas no processo. Há um grande número de substâncias que agem como supressores de fluorescência, uma das mais conhecidas é a molécula de oxigênio. Outros supressores eficientes são os aromáticos, halogênios, aminas alifáticas, purinas, etc.

Na supressão, a diminuição da intensidade de fluorescência é descrita pela equação de Stern-Volmer (GREEN; PIMBLOTT; TACHIYA, 1993) (PAN et al., 2007):

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{oc} [Q] \quad (1)$$

Onde:

F_0 e F são as intensidades de fluorescência na ausência e na presença do supressor, respectivamente; K_{oc} é a constante de supressão de Stern-Volmer; Q é a concentração de supressor na solução.

Geralmente, as medidas de supressão são apresentados em um gráfico de F_0/F versus $[Q]$. Espera-se que F_0/F seja linearmente dependente da concentração de supressor. A constante de supressão de Stern-Volmer (K_{oc}) indica a sensibilidade do fluoróforo a um supressor. Um fluoróforo ligado a uma macromolécula geralmente é inacessível à solução aquosa de supressores, de modo que o valor de K_{oc} seja baixo. Valores maiores de K_{oc} são encontrados se o fluoróforo estiver livre em solução ou na superfície de uma biomolécula. Esta técnica tem sido utilizada para expressar o valor K_{oc} de compostos orgânicos hidrofóbicos (MARQUEZIN, 2008).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem por objetivo investigar a eficiência do processo de fotólise na degradação dos compostos desreguladores endócrinos 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3). Também avaliar a influência da matéria orgânica na fotólise dos compostos selecionados.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar a interação entre os EDCs selecionados e a matéria orgânica, avaliando a biodisponibilidade dos mesmos em solução;
- Estudar o comportamento dos compostos E2 e E3 após o processo de fotólise na ausência e na presença de matéria orgânica em água ultrapura;
- Estudar o comportamento dos compostos E2 e E3 após o processo de fotólise na presença de matéria orgânica em água do abastecimento público de Porto Alegre e água da Lagoa dos Patos;
- Validar o método de análise de espectroscopia de fluorescência molecular;
- Avaliar a viabilidade técnica, econômica e ambiental da implementação da tecnologia proposta.

4. PROPOSTA TECNOLÓGICA

A proposta tecnológica deste trabalho visa verificar a viabilidade técnica e econômica da fotodegradação dos estrogênios E2 e E3 presentes em água de abastecimento público e de lagoa, por meio da fotólise direta e indireta. Pretende-se, com isso, apresentar o método de fotólise para a remoção de compostos desreguladores endócrinos de águas superficiais, que possa oferecer resultados satisfatórios de degradação.

Neste contexto, o estudo contribui para ampliar o conhecimento sobre o tema, no sentido de propor uma alternativa viável, considerando a minimização de custos e com uma perspectiva ambientalmente correta. Acredita-se que esse método de remoção, por meio de fotólise, seja vantajoso, pois apresenta baixo custo operacional, elevada degradação dos compostos, aproveitamento do material orgânico presente em corpos aquáticos, entre outras vantagens em relação aos processos mais comumente estudados para degradação de contaminantes emergentes.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 REAGENTES QUÍMICOS

Foram usados os padrões de estrogênios 17 β -estradiol (> 98% pureza), estriol (> 97% pureza) e acetonitrila adquiridos da Sigma–Aldrich. Também utilizou-se NaCl, Vetec, 99% pureza. As amostras de matéria orgânica estudadas foram ácido fúlvico do rio Suwannee - AFRS (1S101F) e matéria orgânica natural do rio Suwannee - MONRS (1R101N), adquiridas da Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas (IHSS). Ambas foram extraídas do Rio Suwannee, que é um importante rio que atravessa a Geórgia do Sul, na Flórida, Estados Unidos. A água utilizada no trabalho foi a ultrapura (Milli-Q).

5.2 MATRIZES AQUOSAS ESTUDADAS

As matrizes aquosas usadas nesse trabalho foram: água do abastecimento público da cidade de Porto Alegre/RS e água superficial da Lagoa dos Patos (**Figura 8**), coletada na cidade de Tapes/RS. A água da lagoa foi coletada a 10 m da beira da praia, armazenada em frasco âmbar de 2L, previamente descontaminado. A amostra ficou imediatamente acondicionada sobre refrigeração até a realização dos testes. Ocorreu uma etapa de preparo da amostra, antes da realização da fotólise, ou seja, a mostra foi filtrada, primeiramente, em filtro comum de papel, e posteriormente, em filtro de membrana de acetato de celulose de 0,45 μ m, utilizando sistema de filtração equipado com bomba de vácuo.



Figura 8. Lagoa dos Patos, Tapes/RS.

5.3. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS EDCs

O estudo sobre a possível toxicidade aguda e crônica dos hormônios E2 e E3 foi realizado pelo *software* ECOSAR (do termo em inglês *Ecological Structure Activity Relationships*), que dá um perfil de toxicidade padrão. As previsões do ECOSAR não substituem a necessidade para avaliação experimental dos riscos ambientais causados pelos estrogênios, mas podem servir como uma ferramenta inicial para estimar o potencial de perigo de tais compostos no meio ambiente.

Os cálculos são realizados com uma estrutura quantitativa - abordagem de relacionamento de atividade, com base em regressão linear específica de classe (VIONE et al., 2015). O *software* ECOSAR pode ser baixado gratuitamente acessando a página da EPA. Ele estima a toxicidade aguda (curto prazo) de uma substância química e a toxicidade crônica (prolongada ou adiada) para organismos aquáticos, como peixes, invertebrados e plantas aquáticas, utilizando as relações de atividade estrutural. Os SARs (SARs, do termo inglês *structure activity relationships*) no ECOSAR são usados para prever a toxicidade aquática dos produtos químicos com base na semelhança de estrutura com produtos químicos para os quais a toxicidade aquática foi previamente medida em oposição a abordagem teórica (SANDERSON et al., 2003).

5.4. INTERAÇÃO DOS EDCs COM MATÉRIA ORGÂNICA

Os estudos de interação foram realizados em um agitador mecânico de 5 eixos (**Figura 9**), utilizando 50 mL de solução dos EDCs, com concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, em diferentes concentrações de matéria orgânica: 0; 0,50; 2,0; 5,0; 10 e 20 mg L^{-1} . Para fins de análise e comparação, dois tipos de matéria orgânica foram empregados: AFRS e MONRS.

O tempo de contato foi mantido fixo em 24 h e velocidade de agitação foi de 200 rpm, em pH natural ($\sim 6,5$). O experimento foi mantido no escuro. A temperatura foi controlada em 25°C por meio de um banho termostático. A força iônica foi mantida utilizando o eletrólito cloreto de sódio (NaCl) $0,02 \text{ mol L}^{-1}$. Os estudos foram realizados para cada desregulador endócrino separadamente e em triplicata. Os

experimentos foram acompanhados por espectroscopia de fluorescência molecular empregando curva de calibração externa.

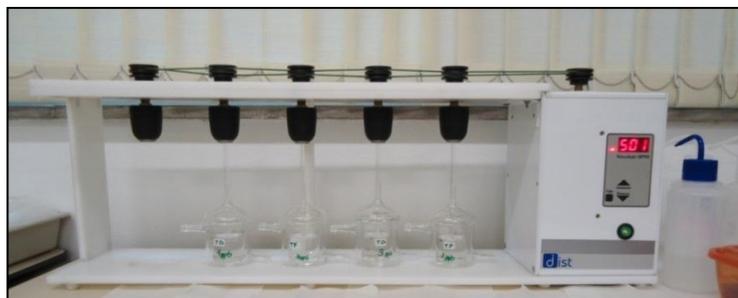


Figura 9. Agitador mecânico de 5 eixos utilizado nos processos de interação.

5.5. FOTÓLISE COM LÂMPADA DE VAPOR DE MERCÚRIO

Para verificar a estabilidade química dos EDCs todas as amostras foram irradiadas com lâmpada de vapor de mercúrio. Os estudos foram realizados em um sistema de degradação (**Figura 10**) tendo como fonte de radiação UV uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão, sem o bulbo externo, com potência de 250 W, que emite luz principalmente em 254 nm. Previamente aos experimentos, a lâmpada permaneceu ligada por 15 min para que houvesse a estabilização da radiação.



Figura 10. Sistema de fotólise utilizado na degradação dos EDCs.

Os testes foram realizados separadamente para cada hormônio, por meio da irradiação direta em 50 mL das soluções (preparadas com água ultrapura) contendo E2 ou E3 na ausência e na presença de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ MONRS. E2 e E3 foram estudados nas concentrações de 500, 750 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Alíquotas de 3 mL foram coletadas nos tempos: 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120 e 180 min. Cada vez que era coletada uma alíquota, o mesmo volume era repostado com água. A força iônica foi mantida utilizando 0,02 mol L^{-1} de solução de cloreto de sódio. Os testes foram realizados para cada composto separadamente e em triplicata. A degradação dos compostos foi acompanhada por espectroscopia de fluorescência molecular empregando curva de calibração externa.

5.5.1. Avaliação do Efeito Matriz

Para avaliar o efeito da matriz aquosa no processo de fotólise realizaram-se experimentos utilizando a água de abastecimento público (água da torneira) e água superficial da Lagoa dos Patos. Os testes foram realizados separadamente para cada hormônio, por meio da irradiação direta em 50 mL das soluções (preparadas com água da torneira ou água superficial) contendo E2 ou E3 na concentração de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$, adicionando 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de MONRS. Alíquotas de 3 mL foram coletadas nos tempos: 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120 e 180 min. Cada vez que era coletada uma alíquota, o mesmo volume era repostado com água. Os testes foram realizados para cada composto separadamente, em triplicata e acompanhados por espectroscopia de fluorescência molecular empregando curva de calibração externa.

5.6. ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR

As análises de espectroscopia de fluorescência molecular das amostras foram realizadas em um espectrofluorímetro Shimadzu RF – 5301 PC, equipado com uma lâmpada de xenônio. Utilizou-se uma velocidade de varredura de 500 nm min^{-1} , no intervalo de 220 a 450 nm. As fendas de excitação e emissão do monocromador foram ajustadas em 5 nm e comprimento de onda de excitação (λ_{exc}) de 280 nm. A

intensidade da banda de emissão usada para o monitoramento da supressão de fluorescência dos EDCs em solução e para a curva de calibração foi de ~ 310 nm.

5.7. ESTUDO CINÉTICO

Para as degradações com a lâmpada de mercúrio foram realizados estudos cinéticos. Os parâmetros cinéticos são necessários na determinação do decaimento da concentração do contaminante e foram calculados seguindo a equação abaixo.

$$\ln \frac{C_f}{C_0} = -kt \quad (2)$$

Onde: C_f é a concentração final do composto (mg L^{-1}); C_0 é a concentração inicial do composto (mg L^{-1}); k é a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem (min^{-1}); t é o tempo de reação.

A constante de velocidade de pseudo-primeira ordem da degradação dos EDCs foi determinada por regressão linear do logaritmo natural da concentração remanescente sobre o tempo de irradiação. Baseado na constante de pseudo-primeira ordem, o tempo de meia foi calculado seguindo a equação 3.

$$t_{\frac{1}{2}} = \ln \frac{2}{k} \quad (3)$$

Onde: $t_{1/2}$ é o tempo em que a concentração de um composto diminui em 50%.

5.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE

A validação de método de análise para os compostos E2 e E3 foi realizado utilizando uma planilha de validação, uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados, que é uma ferramenta alternativa aos *softwares* comerciais para a etapa de validação de métodos. A

ferramenta permite a rápida estimativa das figuras de mérito, e o usuário apenas introduz as informações referentes ao sinal analítico e às concentrações das espécies.

A planilha utilizada foi desenvolvida por pesquisadores da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e Universidade de São Paulo (USP) (MORANO et al., 2008), elaborada no *software Excel* da *Microsoft® Office 2003*. Os parâmetros de validação que a planilha contempla são: desvio padrão relativo associado ao sinal analítico para cada nível de calibração, os coeficientes linear (a_0), angular (a_1) e de correlação (r) do ajuste linear, o resultado do teste de linearidade para 95, 99 e 99,9% de confiança e os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para a 95, 99 e 99,9% de confiança.

A linearidade foi avaliada pela construção de curvas de calibração do E2 e E3 contendo 6 pontos de diferentes concentrações: 25, 50, 100, 300, 600 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. As soluções analíticas foram preparadas por meio da diluição em água da solução padrão de trabalho, e a análise das soluções para cada concentração foi realizada em triplicata.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. AVALIAÇÃO PROBABILÍSTICA DE TOXICIDADE

Os riscos associados à ocorrência de EDCs em recursos hídricos são, em grande parte, desconhecidos, por isso surge a necessidade da toxicidade dos mesmos. Os estrogênios naturais e sintéticos contribuem significativamente para a estrogenicidade nas estações de tratamento de esgoto (FONSECA; LIMA; ESTEVES, 2011). A avaliação probabilística de toxicidade foi realizada para ambos os compostos, e foi fundamental para a motivação e compreensão desse trabalho.

Desde 1981, a Agência de Proteção Ambiental Norte Americana usa SARs para prever a toxicidade aquática de novos produtos químicos industriais na ausência dos dados do teste (SANDERSON et al., 2003). A dose letal, LD50 (LD50, do termo em inglês median lethal dose) é a dose necessária de uma substância, que causa a morte de 50% (metade) de uma população de animais de teste. A LD50 é uma maneira de medir o potencial de intoxicação a curto prazo (toxicidade aguda) de uma substância. Quanto maior a dose que será letal, menos tóxica é considerada. O EC50 (EC50, do termo em inglês half maximal effective concentration) é a concentração na qual a substância provoca efeito adverso observado em 50% dos indivíduos em teste.

Foi aplicado à análise pelo software ECOSAR para o composto E2, os resultados de toxicidade foram baseados na estrutura química de fenóis. Conforme a Tabela 4, foi observado que para peixes, após um período de exposição de 96 h, o valor de LC50 foi muito baixo, 1,71 mg L⁻¹. O mesmo correu para a dáfnia (pulga de água), que após 48 h de exposição, apresentou o valor de 1,78 mg L⁻¹. Sendo assim, o composto é considerado muito tóxico para essas duas espécies, pois é necessária uma baixa dose de ambos, para provocar a morte de 50% da população observada. Para a alga verde o composto também se apresentou muito tóxico, pois uma concentração de apenas 0,16 mg L⁻¹ já provocaria efeito adverso em 50% da população em teste.

Tabela 4. Resultado para o teste de toxicidade do composto E2.

Organismo	LC50 (mg L⁻¹)	EC50 (mg L⁻¹)	Tempo de exposição
Peixe	1,71	-	96 h
Dáfnia	1,78	-	48 h
Alga Verde	-	0,16	96 h

O efeito da toxicidade do composto E3 foi analisado pelo mesmo método, e os resultados também foram baseados na estrutura química de fenóis. Conforme os dados da **Tabela 5**, o composto E3 pode ser considerado menos tóxico, quando comparado ao E2. Para provocar a morte de 50% da população observada, em peixes, seria necessário uma dose, aproximadamente, 6 vezes maior que a dose do E2 no ambiente. O LC50 para peixes foi de 10,88 mg L⁻¹. Também, o LC50, para dáfnia, apresentou valor de concentração mais alto, 6,8 mg L⁻¹. E para a alga verde também necessitaria de uma concentração mais alta, comparado ao E2, para provocar efeito adverso em 50% da população em teste.

Tabela 5. Resultado para o teste de toxicidade para do composto E3.

Organismo	LC50 (mg L⁻¹)	EC50 (mg L⁻¹)	Tempo de exposição
Peixe	10,88	-	96 h
Dáfnia	6,8	-	48 h
Alga Verde	-	0,99	96 h

Com os dados obtidos pelo *software* ECOSAR foi possível prever que, quando disponível em ambientes aquáticos, o E2 representa maior toxicidade aos organismos vivos. Mesmo sendo apenas uma previsão, a informação torna-se bastante relevante e corrobora para o objetivo proposto pelo trabalho.

6.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

6.2.1. Ajuste da Curva e Teste de Linearidade

A linearidade expressa a faixa na qual o sinal analítico é linearmente proporcional à sua concentração. Essa dependência pode ser escrita por uma equação matemática, a curva de calibração. O ajuste de qualquer equação matemática é feito pelo método dos quadrados mínimos, no qual a melhor curva será aquela que fornecerá o menor valor para a soma quadrática dos resíduos obtidos entre o sinal analítico medido e o sinal analítico predito, para um conjunto de N pontos experimentais (MORANO et al., 2008).

Segundo MORANO (2008), *a soma quadrática dos resíduos caracterizam as fontes de variação em um modelo, e o melhor modelo de regressão será aquele que minimizar a soma quadrática. O teste de linearidade aplicado na planilha eletrônica é feito pela comparação dos resíduos do ajuste linear e do ajuste quadrático utilizando-se um teste-F de significância, dando resultados com 95, 99 e 99,9% de confiança. Esta comparação é feita estimando-se as somas quadráticas dos resíduos no sinal analítico a partir dos desvios padrões obtidos em cada ajuste.*

Por meio da espectroscopia de fluorescência foram obtidas as curvas analíticas de calibração, com concentrações conhecidas, na faixa de 25 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o E2 e E3. Os parâmetros das curvas estão apresentados na **Tabela 6** e as curvas de calibração obtida para o E2 e E3 estão representadas na **Figura 11**. Pelo teste de significância utilizado na planilha de validação foi possível avaliar que a faixa investigada foi linear entre 25 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. As curvas para E2 e E3 apresentaram um comportamento linear para a faixa de concentração estudada. Cada curva analítica apresentou um coeficiente de correlação, r, que estima o quão bem uma reta se ajusta ao modelo proposto, sendo os valores acima de 0,9995.

Tabela 6. Coeficientes da regressão linear da curva de calibração E2 e E3.

Composto	Coeficientes da Equação Linear*			Linearidade Faixa Linear**
	a_0	a_1	r	
E2	1,3912	0,5213	0,9995	25 - 1000
E3	-0,7641	0,2532	0,9998	25 - 1000

* a_0 = coeficiente linear; a_1 = coeficiente angular; r = coeficiente de correlação; ** valores em $\mu\text{g L}^{-1}$.

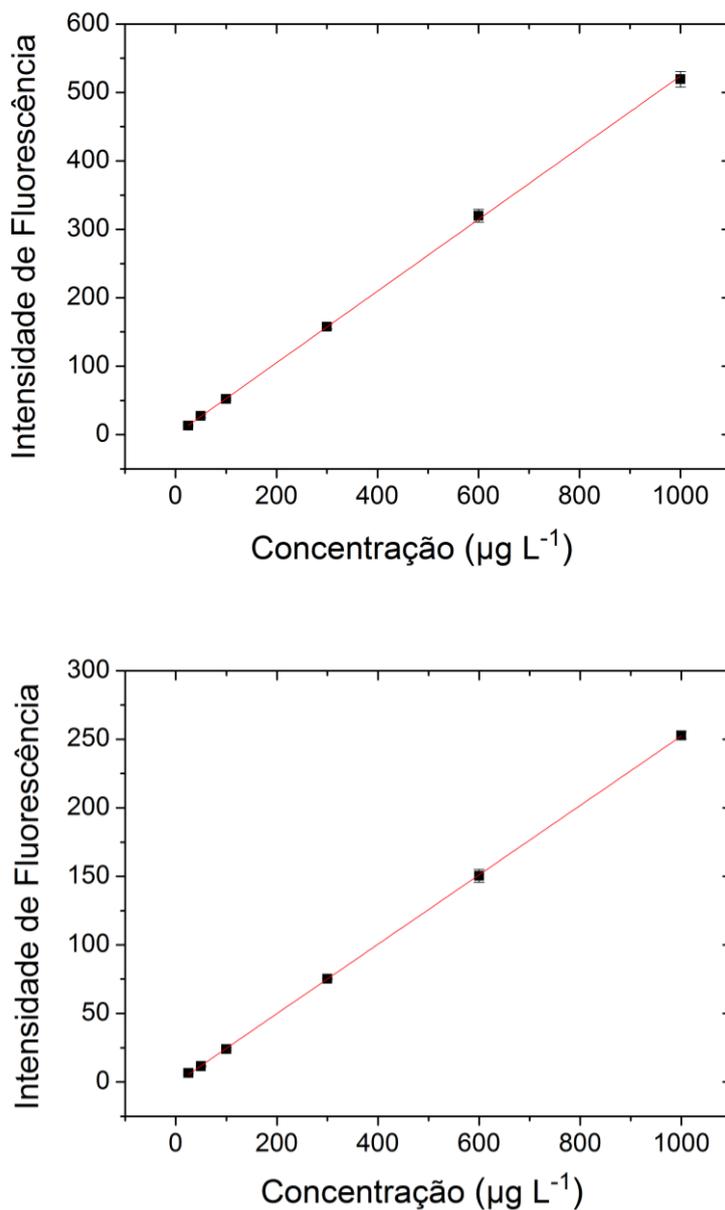


Figura 11. Curva analítica de calibração obtida para o composto E2 (a) e para o composto E3 (b).

6.2.2. Sensibilidade: LD e LQ

A sensibilidade da técnica é definida pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ). O método escolhido para a estimativa do limite de detecção (LD) da planilha eletrônica foi baseado nos parâmetros da curva analítica. Esse método

foi escolhido, pois apresenta maior confiabilidade estatística, já que leva em consideração o intervalo de confiança da regressão.

Nesse caso, o LD foi definido como sendo a concentração mínima do composto de interesse, que pode ser medida e informada com 99% ou 95% de confiança (MORANO et al., 2008). A estimativa do sinal analítico a partir da equação de regressão apresenta um erro padrão, e o produto deste erro pelo valor apropriado de t da distribuição de Student permite calcular o intervalo de confiança da curva analítica. O LQ foi estimado pelo mesmo método, considerando o intervalo de confiança da curva analítica, e é definido como sendo a mais baixa concentração dos compostos de interesse, que pode ser quantificada dentro dos limites de precisão e exatidão do método (MORANO et al., 2008).

Os limites de detecção e quantificação para o E2 e E3 foram calculados baseados nos parâmetros da curva de calibração, levando em consideração o teste-F de significância. A **Tabela 7** apresenta os valores obtidos para LD e LQ, a 95, 99 e 99,9% de confiança. Para os trabalhos realizados, o mais interessante seria considerar os limites de detecção e quantificação calculados com 95% de confiança, pois considera um erro de 5%. Trabalhando com os valores de LD e LQ a 99 ou 99,9% seria necessário ser mais flexível com o resultado, pois o erro seria de apenas 1%.

Tabela 7. Limites de detecção e quantificação para E2 e E3.

Composto	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)			LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	95%	99%	99,9%	95%	99%	99,9%
E2	53,3	73,3	146,7	78,7	88,8	102,6
E3	37,0	51,0	83,4	54,6	61,6	71,2

6.3. INTERAÇÃO DOS EDCs COM MATÉRIA ORGÂNICA

A associação da MONSR ou AFSR a um contaminante pode originar num aumento ou num decréscimo da intensidade de fluorescência observada, pois ocorre o contato molecular entre o fluoróforo e o supressor de fluorescência. Tratando-se

de um fenômeno de extinção de fluorescência a equação considerada para a determinação da interação entre os compostos, foi a constante de Stern-Volmer (Equação 1).

As informações de caracterização das amostras de MONSR e AFSR utilizadas no trabalho foram coletadas da página da IHSS, de onde as mesmas foram adquiridas. As composições elementares e as razões isotópicas de ambas estão apresentadas na **Tabela 8**.

Tabela 8. Composições elementares e razões isotópicas estáveis das amostras da IHSS.

	N ^o	H ₂ O*	Cinzas**	C	H	O	N	S	P	δ ¹³ C	δ ¹⁵ N
AF	1S101F	8,8	0,46	52,44	4,31	42,20	0,72	0,44	<0,01	-27,6	-1,85
MON	1R101N	8,15	7,0	52,47	4,19	42,69	1,10	0,65	0,02	Nd	nd

O AFSR apresentou maior quantidade de grupos carboxílicos, e a MONSR apresentou maior quantidade de grupos fenólicos. Os grupos funcionais ácidos das amostras estão apresentados na **Tabela 9**, sendo a amostra de MONSR com maior quantidade de grupo fenólico e menor teor de grupo carboxílico.

Tabela 9. Grupos funcionais ácidos das amostras da IHSS.

Amostra	N ^o	Carboxílico*	Fenólico**
AFSR	1S101F	11,44	2,91
MONSR	1R101N	9,85	3,94

*Densidade de carga (meq g⁻¹ C) a pH 8,0. **Duas vezes a mudança na densidade de carga (meq g⁻¹ C) entre pH 8,0 e pH 10,0.

A representação gráfica de F_0/F versus a concentração do supressor, origina uma reta de ordenada na origem igual 1 e a declividade igual ao K_{oc} . A aplicação de fenômenos de extinção de fluorescência permite determinar a acessibilidade do agente extintor, nesse caso AFSR ou MONSR, aos estrogênios (E2 e E3). De

acordo com a literatura, baixos valores de K_{oc} indicam a blindagem do fluoróforo, estando ele menos disponível para a interação. Por outro lado, altos valores de K_{oc} indicam que existe interação mais forte, envolvendo ligação entre as moléculas (MARQUEZIN, 2008). Este parâmetro também aumenta com o aumento da hidrofobicidade de uma substância, isto é, quanto maior a hidrofobicidade, maior será o valor de K_{oc} (GHISELLI; JARDIM, 2007). A **Tabela 10** apresenta os valores de K_{oc} obtidos por meio de regressão linear para os compostos estudados, com AFSR e MONSR.

Tabela 10. Valores de K_{oc} obtidos para o E2 e E3.

	AFSR		MONSR	
	K_{oc}	r^2	K_{oc}	r^2
17 β -Estradiol (E2)	0,0539	0,9393	0,1253	0,9643
Estriol (E3)	0,1656	0,9411	0,0714	0,9607

Conforme observado na **Tabela 10**, o composto E2 apresentou maior valor de K_{oc} quando interagiu com a MONSR, e o composto E3 apresentou maior valor de K_{oc} quando interagiu com o AFSR. Segundo LEE (2011), esperaria-se que o AFSR estivesse mais disponível para interação com os EDCs, pois apresenta maior quantidade de grupos carboxílicos em sua estrutura (**Tabela 9**), favorecendo as interações π - π , as quais são formadas pela sobreposição lateral de dois orbitais p paralelos. A maior interação justificaria uma menor degradação desses compostos.

Uma vez que eles têm maior interação, a quebra das moléculas é dificultada no momento da fotólise direta. Moléculas que interagem mais, estão menos disponíveis e mais protegidas da luz ultravioleta, ocasionando menor degradação. Substâncias químicas sorvidas não reagem com foto-oxidantes indiretos como os radicais hidroxilas, muitas vezes gerados nos ambientes aquáticos (GHISELLI; JARDIM, 2007; SODRÉ et al., 2007).

Na **Figura 12** encontram-se representados os gráficos da variação F_0/F versus o aumento da concentração de extintor de fluorescência (AFSR e MONSR). De acordo com os resultados encontrados foi possível observar que a supressão de fluorescência aumentou à medida que aumentou a concentração de fluoróforo

(AFRS ou MONRS) no estudo. O aumento da concentração do supressor favorece o experimento de interação.

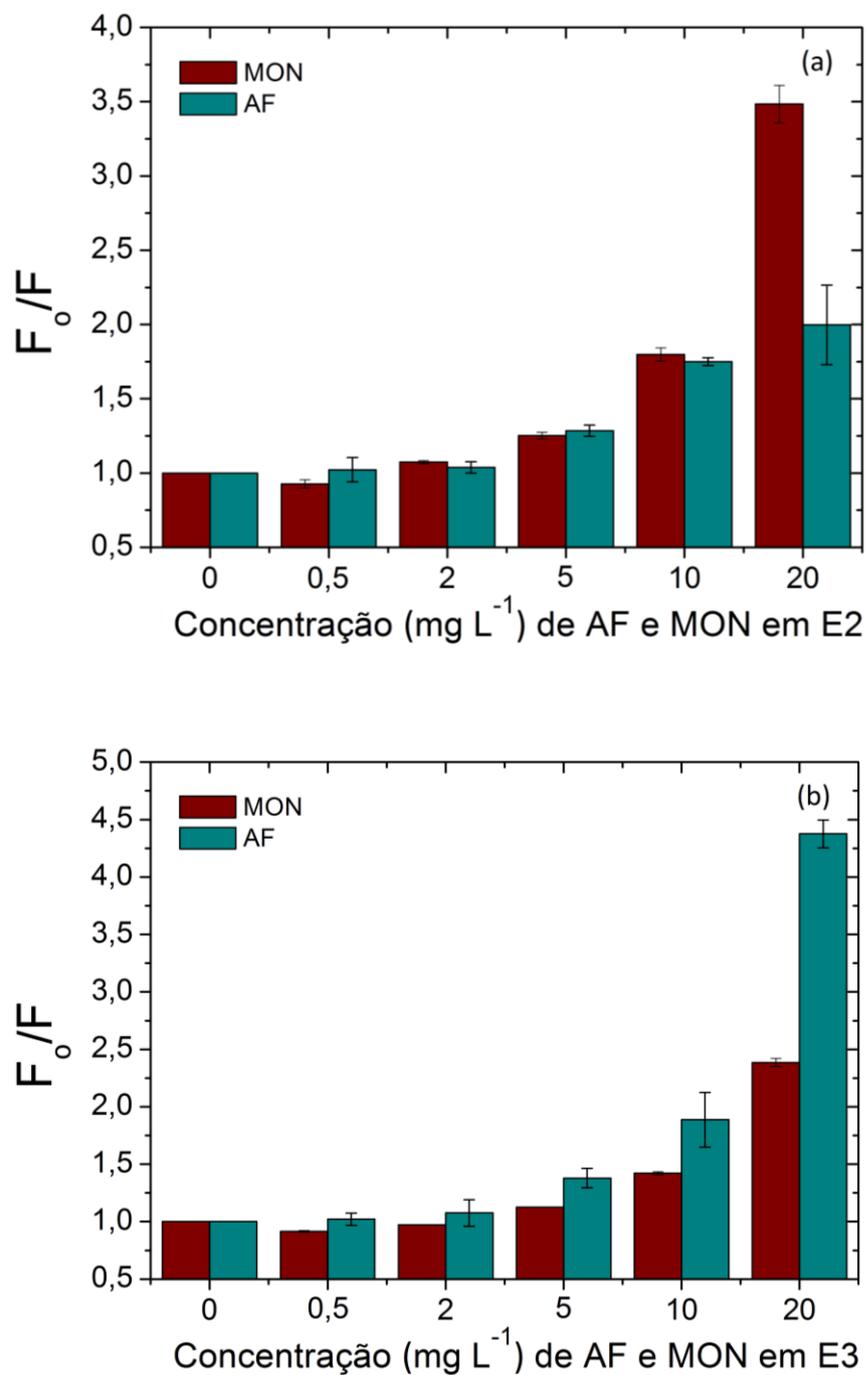


Figura 12. Estudo da supressão de fluorescência para os compostos E2 (a) e E3 (b) em função da concentração de AFSR e MONSR.

Por meio do experimento de interação foi possível verificar que realmente existe interação entre os EDCs e matéria orgânica. E esta comprovação torna-se importante, pois a matéria orgânica tem papel fundamental no destino e na degradação desses compostos, quando eles estão presentes no ambiente aquático.

Nesse trabalho estudou-se a MON e o AF, sendo que o AF é uma fração que constitui a matéria orgânica. Como no ambiente aquático não ocorre 100% a separação dessa fração de AF, ou seja, a matéria orgânica permanece integrada, optou-se por fazer os testes de degradação por fotólise direta utilizando a combinação EDCs + MONSR; pois nesse caso, os resultados seriam aproximados ao que acontece no ambiente aquático.

6.4. FOTÓLISE DOS EDCs EMPREGANDO LÂMPADA DE VAPOR DE MERCÚRIO

Pelos resultados do experimento de interação, foi possível notar que tanto a MONRS quanto o AFRS apresentam algum tipo de associação com os EDCs. Para avaliar o efeito que essa associação tem na degradação dos contaminantes, foi realizada a fotólise direta e indireta dos dois EDCs, na ausência e presença de matéria orgânica, respectivamente.

A degradação dos compostos E2 e E3 em solução padrão, foi investigada pelo processo de fotólise direta (ausência de matéria orgânica), em concentrações diferentes: 500, 750 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. Conforme pode ser visto na Figura 13, a medida que o tempo passa, a concentração inicial de EDC diminui em função da alteração da molécula pela luz ultravioleta para ambos os compostos estudados.

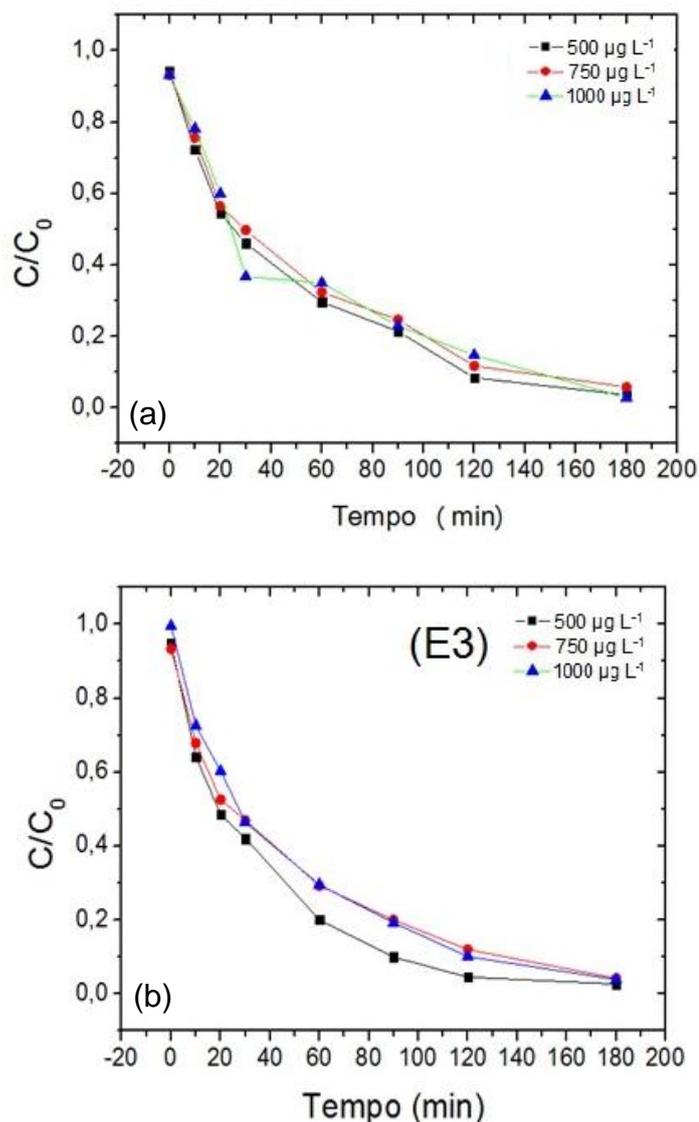


Figura 13. Fotólise direta do 17β -estradiol (E2) (a) e estriol (E3) (b).

A molécula que absorve luz ultravioleta aumenta sua energia eletrônica, vibracional ou rotacional, então para retornar ao nível de energia original, a molécula pode fornecer o excesso de energia em forma de calor ou radiação fluorescente. Observa-se essa tendência na diminuição da concentração de EDC com o tempo, nas três concentrações estudadas, sendo os maiores resultados de degradação obtidos para a maior concentração de estrogênio, ou seja, $1000 \mu\text{g L}^{-1}$. Para as três concentrações, o perfil de degradação foi, praticamente, o mesmo.

A **Tabela 11** apresenta os valores de degradação para o E2 e E3 na ausência de MON e seus respectivos valores de desvio padrão. Conforme pode ser observado, o aumento de concentração dos EDCs causa um ligeiro aumento dos

percentuais de degradação, chegando ao maior resultado em $1000 \mu\text{g L}^{-1}$. Para o composto E2, os percentuais de degradação alcançados, após 180 min de fotólise direta, foram de 94,0; 93,7; e 96,5% para as concentrações de 500, 750 e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, o que caracteriza a eficiência do processo de fotólise, devido aos altos valores de degradação. Os percentuais de degradação alcançados após 180 min de fotólise, para o estrogênio E3, foram de 93,1; 94,0; e 95,8% para as concentrações de 500, 750 e $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 11. Percentuais de degradação para o E2 e E3 obtidos por meio de fotólise direta (ausência de MONSR).

	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	500	750	1000
Degradação de E2 (%)	$94,0 \pm 4,13$	$93,7 \pm 3,48$	$96,5 \pm 2,01$
Degradação de E3 (%)	$93,1 \pm 1,17$	$94,0 \pm 2,01$	$95,8 \pm 5,39$

Como o AF é uma fração isolada da MON, optou-se realizar o experimento de fotólise direta dos EDCs, apenas na presença de MONSR, pretendendo simular a situação real que ocorre em um ambiente aquático. A adição da matéria orgânica ao experimento de fotólise, em geral, favoreceu a degradação, pois conforme a **Tabela 12** e **Figura 13**, os percentuais de degradação para algumas concentrações foi ligeiramente maior. E esse resultado satisfatório, pois confirma que a matéria orgânica dissolvida no ambiente aquático não interfere negativamente na degradação, pelo contrário, favorece a mesma.

Tabela 12. Percentuais de degradação para E2 e E3 obtidos por meio de fotólise indireta (presença de MONSR).

	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)		
	500	750	1000
Degradação de E2 (%)	$98,4 \pm 2,92$	$94,3 \pm 0,97$	$93,4 \pm 0,91$
Degradação de E3 (%)	$90,7 \pm 1,45$	$96,1 \pm 2,37$	$97,8 \pm 1,96$

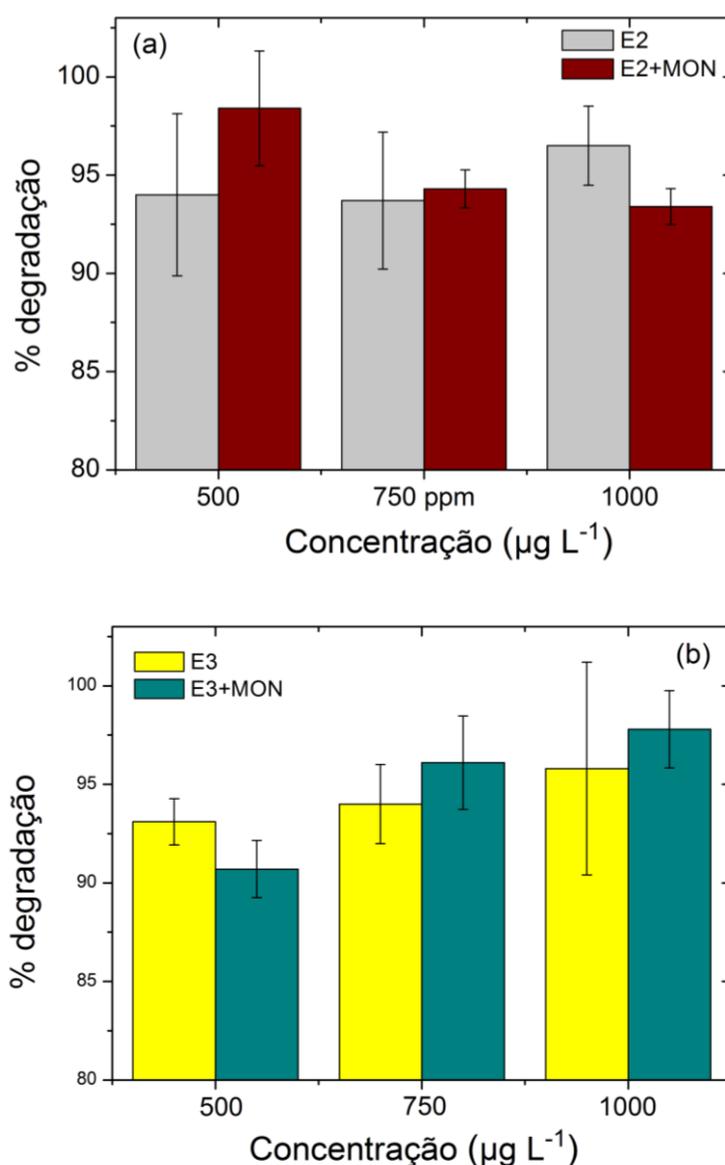


Figura 14. Comparativo entre a fotólise direta e indireta do E2 (a) e E3 (b).

Como a MONSR tende ter menor interação com os EDCs, isso facilita a quebra das moléculas na fotólise. Moléculas que não estão sorvidas estão mais biodisponíveis e menos protegidas da luz ultravioleta, ocasionando maior degradação. As substâncias não sorvidas reagem com foto-oxidantes indiretos como os radicais hidroxilas, muitas vezes gerados nos ambientes aquáticos (SODRÉ et al., 2007).

A fotólise dos EDCs sem e com MONRS, foi realizada por meio de radiação da luz UV por 3h (180 min), porém partir de 120 min, ou seja, 2 h de experimento, não se observou mudanças significativas no percentual de degradação dos compostos. Com isso, conclui-se que não seria necessário um tempo superior a 3 h para a degradação desses compostos.

Embora, a fotólise realizada apenas com os estrogênios em solução padrão, tenha alcançado altos e satisfatórios percentuais de degradação, não demonstra uma aproximação da situação real de corpo aquático. Por isso, surgiu a necessidade da análise da degradação adicionando MONSR a matrizes aquosas.

6.4.1. Avaliação do efeito da matriz na fotólise dos EDCs

Como na fotólise das soluções padrão de EDCs a adição de matéria orgânica ao meio não diminuiu significativamente os valores de degradação, escolheu-se realizar a fotólise dos compostos E2 e E3, na concentração de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, na presença de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de MONSR, utilizando água da torneira para o preparo das soluções.

Para a fotólise utilizando água da torneira foi observado que de 20 a 30 min de degradação o composto já apresentava elevados valores de degradação. Um resultado um pouco atípico do comportamento que estava sendo observado na fotólise com solução padrão. Possivelmente, a presença dos diferentes eletrólitos na água da torneira, que passa por uma estação de tratamento, contribuiu para geração de espécies radicalares, aceleradoras do processo de degradação. Além disso, ainda pode ter ocorrido a associação da MONSR com algum composto presente na água, gerando assim, espécies que contribuíram para o processo de fotodegradação. Conforme a **Tabela 13**, os valores de degradação utilizando água de torneira foram 95,5% e 98,1% para o E2 e E3, respectivamente.

Tabela 13. Percentuais de degradação para E2 e E3 obtidos por meio de fotólise indireta utilizando água da torneira.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1000
Degradação de E2 (%)	$95,5 \pm 11,63$
Degradação de E3 (%)	$98,1 \pm 9,59$

Também foi realizada a fotólise indireta de uma amostra real, na presença de MONRS, com água superficial da Lagoa dos Patos. Foram feitos testes de degradação dos compostos E2 e E3 na concentração de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, adicionando $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ de MONSR, utilizando água da Lagoa dos Patos para o preparo das soluções. No experimento, a degradação aumenta com o aumento da concentração dos EDCs. A **Figura 15** permite comparar a variação da concentração do E2 e E3 ao longo do tempo, na concentração estudada.

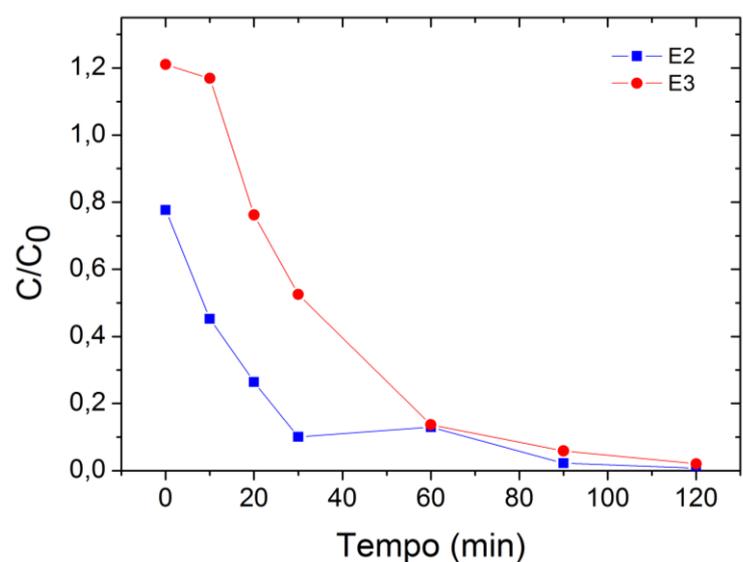


Figura 15. Degradação do E2 e do E3 em função do tempo de irradiação.

A fotólise com a água superficial da Lagoa ocorreu efetivamente até 120 min, a partir desse tempo não se observou mais alteração no percentual de degradação. Para o E2 alcançou-se 98,7% de degradação, e para o E3 98,0%. Embora os valores de percentual de degradação tenham sido inferiores, quando

comparados aos resultados dos experimentos realizados com solução padrão e água de torneira, os valores são bastante satisfatórios, principalmente porque a matriz de uma amostra real é bem mais complexa.

Para a água da Lagoa dos Patos, não se sabe ao certo a composição da matéria orgânica que está dissolvida no ambiente, mas com base nos resultados obtidos, pode-se prever que as moléculas de matéria orgânica estão mais biodisponíveis e menos protegidas da luz ultravioleta, permitindo maior degradação.

Com a finalidade de comparar as três matrizes utilizadas foi feito o gráfico do percentual de remoção para cada um dos EDCs, nas três matrizes estudadas, quando acrescentado MONSR as soluções. A **Figura 16** representa essa comparação. O composto E2 apresenta maior percentual de degradação na matriz água superficial da Lagoa dos Patos, com 98,7%. Seguido da matriz água do abastecimento público, com 95,5%. E por último, 93,4% de degradação para a matriz solução padrão. Já o composto E3 apresentou praticamente percentuais semelhantes para as três matrizes estudadas. Apesar de haver pouca diferença entre os resultados encontrados, pode-se observar um pequeno efeito da matriz na fotólise dos compostos, em especial ao E2.

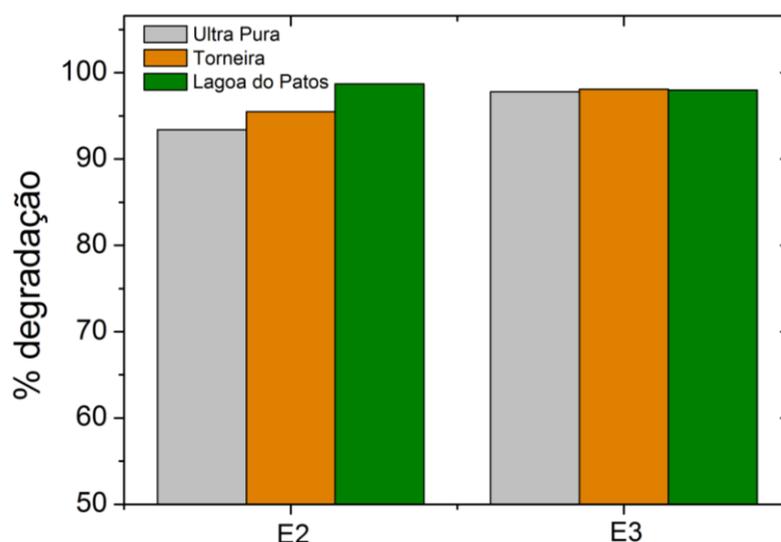


Figura 16. Comparativo entre as degradações das diferentes matrizes estudadas.

6.5. CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO

Com base na literatura, partiu-se de que a reação de degradação por meio da fotólise de compostos orgânicos é descrita pela equação de primeira ordem (REN et al., 2017). A constante cinética para a degradação foi obtida pela relação linear de $\ln C/C_0$ versus tempo de degradação. Também foram calculados os valores dos tempos meia vida ($t_{1/2}$), para cada um dos compostos, isto é, o tempo necessário para remover 50% da concentração inicial utilizada. Esse dado é importante para dimensionamento de reatores para aplicação em escala real.

Os parâmetros cinéticos calculados para o E2 e E3 na ausência de MONSR são apresentados na **Tabela 14**. A comparação das constantes de cinética de pseudo-primeira ordem (k) que descrevem a degradação do E2 e E3, mostram que houve pouca variação na constante, para as diferentes concentrações estudadas, não revelando diferenças significativas entre os ensaios realizados. Para os valores calculados dos tempos de meia vida ($t_{1/2}$) obteve-se em média 4,7 min para as concentrações dos E2 em solução. O mesmo comportamento pode ser observado para o E3 na ausência de MONSR, onde as constantes de cinética de degradação não apresentaram significativas diferenças, e o $t_{1/2}$ foi de 4,7 min.

Tabela 14. Parâmetros cinéticos da degradação de soluções de E2 e E3 sem MONSR com lâmpada de vapor de mercúrio.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	k (min^{-1})	R^2	$t_{1/2}$ (min)
17β-Estradiol (E2)			
500	0,0177	0,9874	4,727
750	0,0152	0,9884	4,880
1000	0,0175	0,9491	4,739
Estriol (E3)			
500	0,0204	0,9710	4,585
750	0,0162	0,9940	4,816
1000	0,0175	0,9954	4,738

Por outro lado, o estudo cinético realizado para os experimentos com E2 e E3 acrescentando MONSR, com diferentes matrizes, demonstrou que ambos os compostos são fotodegradados mais rapidamente em água de torneira, uma vez que a constante cinética para o E2 foi de $0,0623 \text{ min}^{-1}$, e para o E3 foi de $0,1346 \text{ min}^{-1}$, conforme apresentado na **Tabela 15**. Quando comparado à cinética de degradação em água da Lagoa com a cinética em solução padrão, notou-se que a cinética para fotólise com água da lagoa é maior. Para o E2 tem-se $0,0341 \text{ min}^{-1}$, frente a $0,0132 \text{ min}^{-1}$ em solução padrão, cerca de 3x maior. O mesmo comportamento é observado para o composto E3, onde a cinética de degradação na solução em água da lagoa foi de $0,0357 \text{ min}^{-1}$.

Tabela 15. Parâmetros cinéticos da degradação de soluções de E2 e E3, com MONSR, para as diferentes matrizes estudadas.

Matriz	k (min⁻¹)	R²	t_{1/2} (min)
17β-Estradiol (E2)			
Solução padrão	0,0132	0,9084	5,0207
Água de torneira	0,0623	0,7956	3,4689
Água da Lagoa	0,0341	0,9254	4,0716
Estriol (E3)			
Solução padrão	0,0207	0,9917	4,5707
Água de torneira	0,1346	0,9713	2,6985
Água da Lagoa	0,0357	0,9930	4,0257

Na avaliação da fotólise direta, nas diferentes matrizes (solução padrão, água de abastecimento público e água superficial da Lagoa dos Patos), pode-se observar a maior degradação para os compostos E2 e E3 em água da torneira e água da Lagoa. Essas duas matrizes possuem constituições distintas, sendo que a água da Lagoa contribui significativamente com o aumento da matéria orgânica dissolvida em solução, contribuindo com compostos geradores de radicais hidroxilas, favorecedores do processo de fotólise. O conhecimento da composição exata dessas matrizes seria necessário para maior compreensão e discussão dos resultados de cinética.

7. ANÁLISE DE CUSTOS DE IMPLEMENTAÇÃO

7.1 CUSTOS DA FOTÓLISE

Uma análise de custos de implementação foi realizada para o processo de fotólise, utilizando a técnica de espectroscopia de fluorescência molecular para análise. Os valores dos reagentes foram cotados diretamente com os fornecedores. O custo aproximado dos equipamentos e reagentes necessários para a implantação de cada uma das técnicas está apresentado na Tabela 16.

Tabela 16 - Custo de materiais e reagentes para a fotólise utilizando espectroscopia de fluorescência molecular.

FOTÓLISE DIRETA	
Material/Reagente	Custo (R\$)
Espectrofluorímetro	72.000,00
Lâmpada de vapor de Mercúrio, 250W	29,90
Padrão estrogênio E2 (> 98% pureza) – 250mg	242,00
Padrão estrogênio E3 (>97% pureza) – 250mg	188,00
Padrão AFRS (1S101F) 100 mg	412,50
Padrão MONRS (1R101N) 100 mg	99,00
Energia Elétrica (3h de irradiação = 0,75KW/h)*	0,36
Total	R\$ 72.971,76

*Valores calculados pela a CEEE.

O custo total apresentado é o valor mínimo para implantar o processo de fotólise em escala laboratorial. Entretanto, não foi contabilizada a variável tempo de análise. As vantagens da técnica de fluorescência é a simplicidade do método e a pequena geração de resíduos, dispensando o custo da hora técnica de um analista.

7.2. RISCOS LABORAIS E IMPACTO AMBIENTAL

Um dos problemas a serem analisados é a toxicidade dos EDCs a serem trabalhados, pois ainda não são conhecidos e determinados os limites tóxicos para a saúde humana. A exposição crônica pode ocasionar câncer e outras complicações no sistema endócrino e reprodutivo. Por isso, o descarte dos reagentes usados para as soluções padrão deve ser feito de forma correta e adequada, sendo possível utilizar, por exemplo, o processo de fotólise, pois o descarte inadequado cumula para contaminação dos recursos hídricos, gerando problemas ambientais.

8. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho demonstram a eficiência do processo de fotólise na degradação dos compostos desreguladores endócrinos 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3). O estudo da interação entre os EDCs selecionados e a matéria orgânica, a fim de avaliar a biodisponibilidade dos mesmos em solução, comprova que a interação dos compostos desreguladores endócrinos é bastante influenciada pela presença da matéria orgânica dissolvida.

Além disso, o fato da matéria orgânica estar presente no ambiente aquático colabora com o processo de fotólise, em função dos compostos hidroxilas gerados no meio. A vantagem da fotólise direta em águas residuais reside, justamente, no fato de que o próprio material presente no meio ambiente contribui para o alcance de altos valores de degradação dos compostos.

O estudo do comportamento dos compostos E2 e E3 após o processo de fotólise na ausência e na presença de matéria orgânica em água ultrapura, demonstram que é possível alcançar altos valores de degradação desses compostos. Utilizando água superficial da Lagoa dos Patos, que é uma matriz real, os percentuais de degradação alcançaram valores de 98,7% e 98,0% para os compostos E2 e E3, respectivamente. Também a técnica de espectroscopia de fluorescência molecular mostrou-se eficiente na detecção e quantificação desses compostos. Os limites de detecção para o E2 e E3, com 95% de confiança foram, respectivamente, de 53,3 e 37 $\mu\text{g L}^{-1}$. Já os limites de quantificação para o E2 e E3, com 95% de confiança foram, respectivamente, de 78,7 e 54,6 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A utilização do software ECOSAR, como ferramenta de previsão de toxicidade, comprovou que ambos os compostos estudados apresentam alto potencia tóxico agregado a eles. Esses resultados são aproximações do que realmente acontece em um sistema aquático, mas mesmo assim, foram bastante satisfatórios. É de extrema importância o estudo da interação e da fotólise em amostras reais, pois essas são matrizes mais complexas.

Por fim, pode-se considerar que o processo de fotólise necessita de um baixo investimento, quando comparado a outras técnicas de remoção de EDCs, sendo viável a implementação da técnica, e que o processo proposto é limpo e menos complexo do que muitos outros métodos disponíveis para o mesmo fim.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALESSANDRA, S. et al. DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS RESIDUAIS POR PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 188–197, 2009.

AQUINO, S. F. DE; BRANDT, E. M. F.; CHERNICHARO, C. A. DE L. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. **Eng Sanit Ambient**, v. 18, p. 187–204, 2013.

BELFROID, A. C. et al. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. 1999.

BRODY, J. G.; RUDEL, R. A. Environmental Pollutants and Breast Cancer. v. 111, n. 8, p. 1007–1019, 2003.

CARSTEA, E. M. et al. Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring: A review. **Water Research**, v. 95, p. 205–219, 2016.

CHEN, Y.; ZHANG, K.; ZUO, Y. Direct and indirect photodegradation of estriol in the presence of humic acid, nitrate and iron complexes in water solutions. **Science of the Total Environment**, v. 463–464, p. 802–809, 2013.

ECOSAR; <http://www.epa.gov/oppt/exposure/docs/episui-tedl.htm>, acessado em 14/12/2017.

EM, P. D. E. P.; APLICADA, F.; BIOLOGIA, À. M. E. Técnicas de fluorescência no monitoramento de membranas modelo. 2008.

FONSECA, A. P.; LIMA, D. L. D.; ESTEVES, V. I. Degradation by Solar Radiation of Estrogenic Hormones Monitored by UV – Visible Spectroscopy and Capillary Electrophoresis. p. 441–447, 2011.

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

GMUREK, M.; OLAK-KUCHARCZYK, M.; LEDAKOWICZ, S. Photochemical decomposition of endocrine disrupting compounds – A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 310, p. 437–456, 2017.

GREEN, N. J. B.; PIMBLOTT, S. M.; TACHIYA, M. Generalizations of the Stern-Volmer relation. **Journal of Physical Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 196–202, 1993.

GUEDES-ALONSO, R. et al. Trends in Environmental Analytical Chemistry Liquid chromatography methodologies for the determination of steroid hormones in aquatic environmental systems. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 3–4, p. 14–27, 2014.

HARRISON, P. T. C.; HOLMES, P.; HUMFREY, C. D. N. Reproductive health in humans and wildlife: are adverse trends associated with environmental chemical exposure? v. 205, p. 97–106, 1997.

HO, J.; ZHOU, J. L.; DON, S. Chemosphere Effects of biodegradation and sorption by humic acid on the estrogenicity of 17 β -estradiol. **Chemosphere**, v. 85, n. 8, p. 1383–1389, 2011.

LEE, J. et al. Influence of 17 β -estradiol binding by dissolved organic matter isolated from wastewater effluent on estrogenic activity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 5, p. 1280–1287, 2011.

MACLEOD, M. et al. Policy Analysis Comparing Estimates of Persistence and Long-Range Transport Potential among Multimedia Models. v. 39, n. 7, 2005.

MOMPELAT, S.; BOT, B. LE; THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. **Environment International**, v. 35, n. 5, p. 803–814, 2009.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Quim. Nova,. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094–1110, 2017.

MORANO, S. C. et al. PLANILHA DE VALIDAÇÃO: UMA NOVA FERRAMENTA PARA ESTIMAR FIGURAS DE MÉRITO NA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS UNIVARIADOS Fabiana Alves de Lima Ribeiro e Márcia Miguel Castro Ferreira. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164–171, 2008.

OLIVEIRA, C. et al. Photodegradation behaviour of estriol: An insight on natural aquatic organic matter influence. **Chemosphere**, v. 159, p. 545–551, 2016.

PAN, B. et al. Investigating interactions of phenanthrene with dissolved organic matter: Limitations of Stern-Volmer plot. **Chemosphere**, v. 69, n. 10, p. 1555–1562, 2007.

PERDIZ, D. et al. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). **Science of the Total Environment**, v. 324, p. 55–66, 2004.

Relatório do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011

REN, D. et al. Photodegradation of 17 α -ethynylestradiol in dissolved humic substances solution: Kinetics, mechanism and estrogenicity variation. **Journal of Environmental Sciences**, v. 54, p. 196–205, 2017.

SANDERSON, H. et al. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish , daphnids and algae by ECOSAR screening. v. 144, 2003.

SANTOS, M.; DUARTE, A. C.; ESTEVES, V. I. Development and application of a capillary electrophoresis based method for the simultaneous screening of six antibiotics in spiked milk samples. v. 71, p. 731–737, 2007.

SILVA, C. P. et al. Effect of natural aquatic humic substances on the photodegradation of estrone. **Chemosphere**, v. 145, p. 249–255, 2016.

SILVA, C. P.; OTERO, M.; ESTEVES, V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water : A review. **Environmental Pollution**, v. 165, p. 38–58, 2012.

SODRÉ, F. F. et al. Origem E Destino De Interferentes Endócrinos Em Águas Naturais. **Caderno Temático**, v. 6, 2007.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften*, 1993. 80, 29-30.

TIJANI, J. O.; FATOBA, O. O.; PETRIK, L. F. A Review of Pharmaceuticals and Endocrine-Disrupting Compounds : Sources , Effects , Removal , and Detections. 2013.

UNICAMP - Planilha eletrônica <http://lqta.iqm.unicamp.br>, acessado em 01/12/2017.

VIONE, D. et al. Science of the Total Environment The role of direct photolysis and indirect photochemistry in the environmental fate of ethylhexyl methoxy cinnamate (EHMC) in surface waters. **Science of the Total Environment, The**, v. 537, p. 58–68, 2015.

WOLFF, MARY S;TONIOLO, P. G. Environmental Organochlorine Exposure as a Potential Etiologic Factor in Breast Cancer. p. 141–145, 1995.

ZHU, F. D. et al. Interaction of bisphenol A with dissolved organic matter in extractive and adsorptive removal processes. **Chemosphere**, v. 87, n. 8, p. 857–864, 2012.