

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO

**Determinação de nonilfenol em águas superficiais da bacia hidrográfica do rio
Guandu por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção em ultravioleta**

Frederico Goytacazes de Araujo

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Determinação de nonilfenol em águas superficiais da bacia hidrográfica do rio Guandu por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção em ultravioleta

FREDERICO GOYTACAZES DE ARAUJO

Sob Orientação da Professora

Yara Peluso Cid

E Co-orientação do Professor

Glauco Favilla Bauerfeldt

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, no Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica

Seropédica, RJ

Outubro, 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FREDERICO GOYTACAZES DE ARAUJO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau Mestre em Ciências, no Programa de Pós Graduação em Química, área de concentração Química Analítica.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: _____ / _____ / _____

Prof. Dra. Yara Peluso Cid, DEQUIM-UFRRJ
(Orientadora)

Prof. Dr. Glauco Favilla Bauerfeldt, DEQUIM-UFRRJ
(Co-Orientador)

Prof. Dra. Samira da Guia Mello Portugal, UNIRIO

Prof. Dra. Vanessa Gomes Kelly Almeida, UFRRJ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos pilares da minha vida, primeiramente a **Deus e Nossa Senhora Aparecida, minha família**, Pai (Jorge Luiz de Araujo), Mãe (Inúbia Ribeiro Goytacazes de Araujo) e irmão (Bernardo Goytacazes de Araujo) e a **meus dois anjos bons** que infelizmente não podem estar fisicamente mas com certeza do céu estão muito felizes (Vô Jair e Vó Therezinha).

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Comitê de Bacias do Rio Guandu pelo apoio financeiro ao projeto, que viabilizou a coleta dessas amostras em outras cidades, não restringindo o estudo para Seropédica, mas sim para uma grande área da Região Metropolitana do Rio de Janeiro.

Gostaria de agradecer a Professora Doutora Yara Peluso Cid, pela orientação sempre objetiva, sincera e dinâmica. Gostaria de agradecer também ao Professor Doutor Glauco Favilla Bauerfeldt pela co-orientação sempre presente, instrutiva e expositiva e dizer que me espelho no senhor. Muito obrigado a vocês dois, por poder me tornar mestre em Química Analítica, sem vocês, isso jamais teria acontecido.

Gostaria de agradecer à Professora Doutora Rosane Nora Castro, minha “mãe” aqui na Rural, pois sempre que precisei vinha ajudar e quando passei por um problema de saúde, não me deixou abandonar, me deu força e coragem necessário para continuar. Muito obrigado mãe Rosane!!

Agradecer a todos os amigos do LQEPV, em especial a Thaís, parceira de disciplinas, parceira de apresentação de seminários, parceira de congressos e cursos. Thaís, muito obrigado por toda a ajuda durante a etapa de validação do método, sem sua ajuda, aquela semana teria se aumentado para duas semanas de duração. Pessoal do LQEPV, obrigado por terem alegrado cada dia que ia ao laboratório, com causos, músicas, piadas, brincadeiras. Sem vocês esses dois anos não seriam tão alegres e intenso.

Agradecer ao amigo Fernando Martins, por sempre embarcar nas minhas idéias furadas. Obrigado pela ajuda pra montar o aparato de extração, por ter projetado o dispositivo de coleta de água superficial e por ter ajudado nas coletas durante o transcorrer desse trabalho.

Gostaria de agradecer a todos que torceram por mim, que de maneira direta e indireta participaram desse trabalho, muito obrigado!!!

“...É dia de sol, mas o tempo pode fechar,
a chuva só vem quando tem que molhar,
na vida é preciso aprender, se colhe o bem que plantar,
é Deus quem aponta a estrela que tem que brilhar...”

(Xande de Pilares; Gilson Bernini; Carlinhos Madureira)

RESUMO

de ARAUJO, Frederico Goytacazes. **Método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção em ultravioleta para determinação de nonilfenol em águas superficiais da bacia hidrográfica do rio Guandu**. 2015. 69 p. Dissertação (Mestrado em Química, Química Analítica). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Desreguladores endócrinos são substâncias que prejudicam o funcionamento normal do sistema endócrino de animais, incluindo seres humanos. Entre eles está o nonilfenol (NP), produto de degradação do alquilfenol etoxilado (APE), surfactante não iônico largamente utilizado. O desenvolvimento de metodologias adequadas para a determinação destes xenobióticos torna-se essencial. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um procedimento analítico empregando cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta (CLAE-UV) para determinação de nonilfenol em águas superficiais. Para o procedimento de concentração e de extração do nonilfenol da matriz, utilizou-se a extração em fase sólida (cartucho com fase estacionária de C18 e 500 mg). A separação foi feita utilizando-se uma coluna cromatográfica C18 Zorbax Eclipse Plus (4,6 mm ID x 100 mm, 3,5 µm), com um tempo de corrida de 15 minutos, com a fase móvel de acetonitrila e água ultra pura em modo isocrático com uma vazão de 1 mL min⁻¹, e comprimento de onda de 225 nm. O método foi validado utilizando-se os parâmetros de validação da USEPA (*United States Environmental Protection Agency*), metodologia 8000D. A taxa de recuperação de nonilfenol ficou na faixa de 85 %, e a repetibilidade foi adequada (desvio padrão relativo < 10 %). O limite de detecção e quantificação do método foram 0,2 e 1,15 µg L⁻¹ respectivamente. Após a validação da metodologia, a mesma foi aplicada em amostras de água coletadas na bacia hidrográfica do rio Guandu, Rio de Janeiro, Brasil. As amostras foram coletadas em Itaguaí, Seropédica, Piraí, Paracambi, Santa Cruz (Rio de Janeiro), Queimados e Japeri. Foi observada a ocorrência do nonilfenol em seis dos sete pontos de coleta, nos quais a concentração do nonilfenol variou de valores abaixo do limite de quantificação até valores de 2,32 µg L⁻¹, encontrado no município de Paracambi. O resultado pode sugerir que a região em estudo pode estar sendo impactada com a presença de nonilfenol, promovendo danos ao meio ambiente e ao homem. O método analítico proposto por EFS (extração em fase sólida) e CLAE-UV se mostrou eficiente na determinação do nonilfenol dentro da região da bacia hidrográfica do rio Guandu.

Palavras-chave: Desregular Endócrino, Nonilfenol, cromatografia líquida alta eficiência (CLAE), bacia hidrográfica do rio Guandu.

ABSTRACT

de ARAUJO, Frederico Goytacazes. **Analytical method by high performance liquid chromatography with UV detection for the determination of nonylphenol in surface water in the basin of the river guandu.** 2015. 69 p. Dissertação (Mestrado em Química, Química Analítica). Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

Endocrine disrupters are substances that impair the normal functioning of the endocrine system of animals, including humans. They include nonylphenol (NP), a degradation product of alkylphenol ethoxylate (APE), widely used nonionic surfactant. The development of appropriate method for determining these xenobiotics becomes essential. The goal of this study is to develop an analytical procedure used high performance liquid chromatography with ultraviolet detection (HPLC-UV) for the determination of nonylphenol in surface waters. In the procedure of the concentration and also extraction of nonylphenol was achieved using solid phase extraction (cartridge C18, 500 mg). The separation was performed using the Zorbax Eclipse Plus C18 chromatographic column (4.6 mm ID x 100 mm, 3.5 μm), with a 15 minute running time, with a mobile phase of acetonitrile and ultra pure water isocratic mode with a flow rate of 1 mL min^{-1} and a wavelength of 225 nm. The method was validated for the parameters listed USEPA 8000D method. The recovery of nonylphenol was found in the range of 85% and the repeatability was adequate (relative standard deviation < 10%). The method detection and quantification limits were 0.18 and 1,15 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectively. After validation of the method was applied in surface water samples collected in the hydrographic basin of the river Guandu, Rio de Janeiro, Brazil. The samples were collected in Itaguai, Seropédica, Pirai, Paracambi, Santa Cruz (Rio de Janeiro), Queimados and Japeri. The occurrence of nonylphenol was observed in six of the seven collection points, where the concentration of nonylphenol ranged from values below the quantification limit to values of 2.32 $\mu\text{g L}^{-1}$, the latter found in the municipality of Paracambi. The result may suggest that the region under consideration may be impacted by the presence of nonylphenol, promoting damage to the environment and to humans. The test procedure proposed by SPE and HPLC-UV was efficient in determining nonylphenol within the watershed of the Guandu River region.

Keywords: Endocrine disrupters, Nonylphenol, high performance liquid chromatography, basin of the river Guandu.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo de transporte de defensivos agrícolas (LOURENCETTI, RIBEIRO, 2007).	5
Figura 2. Estrutura do alquilfenol etoxilado.....	6
Figura 3. Rotas de exposição de desreguladores endócrinos no ambiente. (FERREIRA, 2013).	8
Figura 4. Fórmula estrutural do nonilfenol.....	11
Figura 5. Distribuição das espécies no sistema ácido-base do nonilfenol em função do pH. ..	12
Figura 6. Rotas de biodegradação do alquilfenol etoxilado (SILVA et al., 2007).	13
Figura 7. Estrutura dos metabolitos (a) NP, (b) NPnEO (n=1 ou 2) e (c) NPnEC (n=1 ou 2) via produto de biodegradação do alquilfenol etoxilado.	13
Figura 8. Região integrante da bacia do Rio Guandu (INEA, 2015).....	19
Figura 9. Índice pluviométrico mensal das cidades de coleta de amostras. Fonte: Climatempo	19
Figura 10. Aparato de extração.....	26
Figura 11. Pontos de coleta de água superficial do Rio Guandu e seus afluentes da região metropolitana do Rio de Janeiro: (E) Rio Ribeirão das Lages, próximo a hidrelétrica de Paracambi, (F) Queimados e da zona oeste da cidade do Rio de Janeiro, (G) Santa Cruz.....	33
Figura 12. Visualização de satélite de todas as cidades, bem com todos os pontos de coleta abrangidos por essa dissertação.....	34
Figura 13. Cromatograma do nonilfenol com as condições otimizadas.....	37
Figura 14. Curvas analíticas da amostra sintética e da amostra padrão em metanol.....	39
Figura 15. Gráfico de resíduos para o nonilfenol.	41
Figura 16. Linearidade.....	42
Figura 17. Faixa linear de trabalho.	43
Figura 18. Gráfico de resíduos para faixa linear de trabalho.	44
Figura 19. Comparação entre a curva analítica feita na validação e a curva analítica de verificação.	46
Figura 20. Faixa linear de trabalho.....	48
Figura 21. Amostras coletadas no mês de abril de 2015.	58
Figura 22. Amostras coletadas no mês de maio de 2015.....	58
Figura 23. Amostras coletadas no mês de junho de 2015.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concentrações máximas aceitáveis ($\mu\text{g L}^{-1}$) de desreguladores endócrinos em água potável (1) e água superficial (2) de acordo com as legislações nacionais e internacionais. ...	10
Tabela 2. Propriedades físicas e químicas do nonilfenol.....	11
Tabela 3. Parâmetros aferidos na validação (USEPA, 1992).....	17
Tabela 4. Testes para extração do nonilfenol.	25
Tabela 5. Comparação dos parâmetros cromatográficos entre as fases móveis testadas.	36
Tabela 6. Volume de injeção	37
Tabela 7. Valores de recuperação e precisão dos testes realizados.	38
Tabela 8. Equação da reta obtida e o coeficiente de correlação para o nonilfenol.....	40
Tabela 9. Valores de t calculados, obtido pelo teste t de Student	41
Tabela 10. Resultados da linearidade	42
Tabela 11. Valores de limite de detecção e limite de quantificação.....	44
Tabela 12. Valores de limite de detecção do método e limite de quantificação do método.....	45
Tabela 13. Exatidão (recuperação) e precisão da metodologia analítica.....	45
Tabela 14. Comparação entre as duas curvas	47
Tabela 15. Valores de concentração, área, relação área/concentração e desvio-padrão	47
Tabela 16. Teste F.	47
Tabela 17. Determinação do nonilfenol em amostras de água.	49
Tabela 18. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Queimados, nos meses de abril, maio e junho de 2015.	51
Tabela 19. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Japeri, nos meses de abril, maio e junho de 2015.....	52
Tabela 20. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas no Distrito Industrial de Santa Cruz – RJ, nos meses de abril, maio e junho de 2015.	53
Tabela 21. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Seropédica, km 39, nos meses de abril, maio e junho de 2015.	54
Tabela 22. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Paracambi (Piraí), nos meses de abril, maio e junho de 2015.....	55
Tabela 23. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Paracambi, nos meses de abril, maio e junho de 2015.....	56
Tabela 24. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Itaguaí, nos meses de abril, maio e junho de 2015.....	57
Tabela 26. Determinação de nonilfenol nas amostras de água coletadas na bacia hidrográfica do Rio Guandu.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

APE - Alquilfenol

AP1EC - Ácido alquilfenóxiacético

AP2EC - Ácido alquilfenóxiatoxiacético

AP1EO – Alquilfenol Etoxilado

AP2EO – Alquilfenol Dietoxilado

C18 - Sílica modificada com hidrocarboneto linear C18

CG-MS – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

CLAE-FLU - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de fluorescência

CLAE-MS - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas

CLAE-UV - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de ultravioleta

CLUE-UV – Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada ao detector de ultravioleta.

DDT – Diclorodifeniltricloroetano

EFS – Extração em fase sólida

ELL - Extração líquido-líquido

EtOH - Etanol

HCB - Hexaclorobenzeno

HCH - Hexaclorociclohexano

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês High Performance Liquid Chromatography)

ipropOH – Álcool Isopropílico

IQA_{NSF} – Índice de Qualidade da Água segundo *National Standard Foundation* (NSF)

LD - Limite de detecção

LQ - Limite de quantificação

LSS – Lauril sulfato de sódio

MEFS – Microextração em fase sólida

MS - Espectrometria de massas

MeOH - Metanol

NP - Nonilfenol

NP1EC - Ácido nonilfenoxiacético

NP1EO - Nonilfenol etoxilado

NP2EO - Nonilfenol dietoxilado

POP - Poluentes orgânicos persistentes

SPE - Extração em fase sólida

SPME - Microextração em fase sólida

UE - União Européia

UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

UV - Ultravioleta

Sumário

1	Introdução.....	1
2	Revisão de Literatura	3
2.1	Contaminação Ambiental	3
2.2	Desreguladores Endócrinos	7
2.2.1	Legislações nacionais e internacionais sobre desregulador endócrino em águas.....	9
2.3	Nonilfenol.....	11
2.4	Métodos Analíticos para Determinação de Nonilfenol	15
2.5	Validação da Metodologia Analítica	16
2.6	A Bacia Hidrográfica do Rio Guandu	18
3	Material e Métodos.....	23
3.1	Material e equipamento utilizados:	23
3.2	Métodos	24
3.2.1	Desenvolvimento de método analítico para a determinação de nonilfenol por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta.....	24
3.2.2	Validação do método para determinação de nonilfenol	26
3.2.3	Análise das amostras de águas superficiais da bacia hidrográfica do rio Guandu	31
4.	Resultados e Discussão	35
4.1	Desenvolvimento do método cromatográfico.....	35
4.1.1	Condições Cromatográficas	35
4.1.2	Volume de injeção.....	35
4.2	Validação do método para determinar nonilfenol	39
4.2.1	Linearidade.....	39
4.2.2	Faixa de trabalho	43
4.2.3	Limite de quantificação e de detecção.	44
4.2.4	Exatidão e Precisão	45
4.3	Verificação da calibração	46

4.4	Comparação com a literatura.....	48
4.5	Análise das amostras de água coletadas	50
5	Conclusões	61
6	Perspectivas Futuras.....	62
7	Referências Bibliográficas	63
8	Anexos.....	72
8.1	Anexo A.....	72
8.2	Anexo B.....	73
8.3	Anexo C.....	74

1 INTRODUÇÃO

Após a segunda guerra mundial, a venda e comercialização de substâncias químicas, como fertilizantes e inseticidas aumentou de maneira drástica. O aumento da produção e comercialização de defensivos agrícolas é justificado pelo acelerado desenvolvimento industrial e pela necessidade de suprir a demanda da população por alimentos e de melhorar a qualidade das culturas. Os defensivos agrícolas, como o HCB (hexaclorobenzeno), HCH (hexaclorocicloexano) e o DDT (diclorodifeniltricloroetano), foram usados em ampla escala nos anos que permearam esse período entre 1945 e 1970 (COLBORN *et al.*, 1993; REYS, 2001; El SHAHAWI *et al.*, 2010).

O objetivo de suprir a demanda por alimentos foi atingido. Surgiu porém, um problema (não previsto) da poluição ambiental, principalmente no tocante a águas, solo e ar (BERALDO, 2012). Os compostos orgânicos lançados no meio ambiente, ou formados a partir da degradação de outros compostos primários, apresentam, geralmente, alta toxicidade podendo causar alterações crônicas no desenvolvimento e na reprodução da vida aquática (JARDIM, GHISELLI, 2007).

Nos dias de hoje, a preocupação crescente com a disponibilidade dos recursos hídricos justifica-se pelo fato de que a água possui papel fundamental no desenvolvimento socioeconômico da humanidade. Disponibilidade essa que é afetada não apenas pela escassez da água em algumas regiões, ou pelo aumento da demanda mundial, mas também pela depreciação de sua qualidade. Em função do crescimento desordenado das cidades e das atividades antrópicas no entorno das bacias hidrográficas, é notório o aumento da poluição das águas superficiais e subterrâneas (REBOUÇAS, 2001; DIAS, BARROS, 2007; TUNDISI, 2008). No Brasil, mesmo com investimentos em redes coletoras de esgoto e estações de tratamento, apenas uma pequena parcela do volume de esgoto gerado pelas cidades é efetivamente tratado antes de chegar ao rio. O despejo de esgoto nos corpos hídricos sem qualquer tratamento é uma das principais causas da depreciação da qualidade da água. Dessa forma, a falta de saneamento adequado compromete um dos usos prioritários deste recurso, o abastecimento público, fazendo necessária a busca por fontes de captação mais distantes e tratamentos químicos mais complexos e dispendiosos para tornar a água potável (TUCCI, 2008).

Assim, a contaminação por compostos orgânicos clorados, como DDT, HCH e HCB, que foram usados como defensivos agrícolas, confere características ecotóxicas aos corpos hídricos impedindo seu uso para diversos fins, como alimentação humana, dessedentação animal ou até mesmo a balneabilidade. Além dos clorados, destaca-se nos últimos 50 anos a identificação de uma ampla variedade de compostos xenobióticos em ambientes aquáticos, tais como compostos orgânicos fosforados, fenóis e metais. Muitos destes xenobióticos já foram caracterizados como potencialmente carcinogênicos e prováveis mutagênicos. Recentemente, identificou-se entre os poluentes propriedades também de desregulação do sistema endócrino. O nonilfenol é um exemplo neste último grupo (SCHIAVINI, CARDOSO, RODRIGUES, 2011)

Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento e validação de metodologia de análise de um composto orgânico, nonilfenol (NP) e posterior monitoramento em matrizes aquáticas no entorno da bacia hidrográfica do rio Guandu. Para fins de monitoramento ambiental, concentrações na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ serão desejadas na faixa linear de trabalho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Contaminação Ambiental

A crescente escassez da água foi definida pela Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura (UNESCO) como o problema ambiental mais grave desse século (SIQUEIRA, 2012). Uma das possíveis causas da escassez de água é a poluição dos recursos hídricos. A disponibilidade desses recursos, que são utilizados para diversos fins, tais como: abastecimento de populações, irrigação de lavouras, diluição de esgoto doméstico e industrial e geração de energia, tem acentuado conflitos entre países (SIQUEIRA, 2012). Situações desfavoráveis referentes ao acesso à água potável, destinação de dejetos (saneamento) e habitação contribuem para a mortalidade significativa de adultos, idosos e principalmente de crianças nos chamados países em desenvolvimento. É perceptível o crescimento da preocupação mundial com a contaminação do meio ambiente (atmosfera, solo, florestas, animais, rios e oceanos) por agentes químicos resultantes de atividades industriais, de exploração mineral e produção agrícola e sua possível relação com o aumento observado em anos recentes na prevalência de malformações congênitas, asma, câncer e distúrbios neurológicos e comportamentais em crianças (GODOI, FAVORETO, SANTIAGO-SILVA, 2003; MELLO-DA-SILVA, FRUCHTENGARTEN, 2005).

Dentre os agentes químicos mais comuns destacam-se chumbo (Pb), mercúrio (Hg) e outros metais encontrados em rejeitos industriais, como por exemplo, cromo (Cr), níquel (Ni), zinco (Zn) e cobre (Cu), agrotóxicos largamente utilizados na agricultura e, por último, os poluentes orgânicos persistentes (POP's).

Os metais têm sido considerados contaminantes relevantes, devido a sua reatividade, toxicidade e, em alguns casos, carcinogenicidade e mutagenicidade. Uma vez no ambiente, esses elementos tendem a distribuir-se nos diversos compartimentos ambientais, especialmente os sedimentos e a biota, podendo também ser encontrados nas águas, dependendo das condições ambientais (CARMO et al., 2011). As principais fontes emissoras de chumbo são a mineração e a fundição de chumbo primário (do minério) e secundário (recuperação de sucatas ou baterias). O metal é depositado nos lagos, rios e oceanos, proveniente da atmosfera ou do escoamento superficial do solo (FAUSTO, 2009).

A preocupação com a contaminação de sistemas aquáticos superficiais e subterrâneos por agrotóxicos tem crescido no mundo. Nos países industrializados, a Revolução Verde da década de 1960 aumentou significativamente a produtividade agrícola em função do aumento das superfícies cultivadas, mecanização, controle de praga, dentre outras. Para o controle de praga, foi necessário o uso massivo de agrotóxicos, que são produtos químicos perigosos destinados a repelir ou matar roedores, fungos, insetos que possivelmente prejudicariam a agricultura intensiva. Esses produtos químicos largamente utilizados, em um primeiro momento representaram um grande benefício para a saúde humana, via aumento da produtividade agrícola. Por outro lado, muitos agrotóxicos de primeira geração, são prejudiciais para o ambiente. Alguns deles podem persistir em solos e sedimentos aquáticos, bioacumular nos tecidos de invertebrados e vertebrados, movendo-se nas cadeias tróficas, e afetar os predadores de topo (ROIG et al., 2011).

Os agrotóxicos, além da morbidade e mortalidade significativa relacionada às exposições agudas, em especial nos países em desenvolvimento, representam preocupação quanto aos possíveis efeitos em longo prazo para a saúde de crianças, idosos e adultos expostos através da contaminação do solo, água e resíduos alimentares (MELLO-DA-SILVA, FRUCHTENGARTEN, 2005).

Os recursos hídricos, sejam superficiais ou subterrâneos, aparecem como o destino final principal dos agrotóxicos. Solo e água atuam interativamente e qualquer ação que cause efeito adverso em um destes afetará o outro. É importante ressaltar que, em alguns casos, menos de 0,1% da quantidade de agrotóxicos aplicados alcançam a espécie alvo, enquanto o restante (99,9%) tem potencial para se mover para outros compartimentos ambientais, como as águas superficiais e subterrâneas. Os processos naturais que governam a velocidade e o transporte de agrotóxicos no ambiente (figura 1) podem ser agrupado nas seguintes categorias: lixiviação, volatilização, degradação, sorção e absorção pelas plantas (LOURENCETTI, RIBEIRO, 2007).

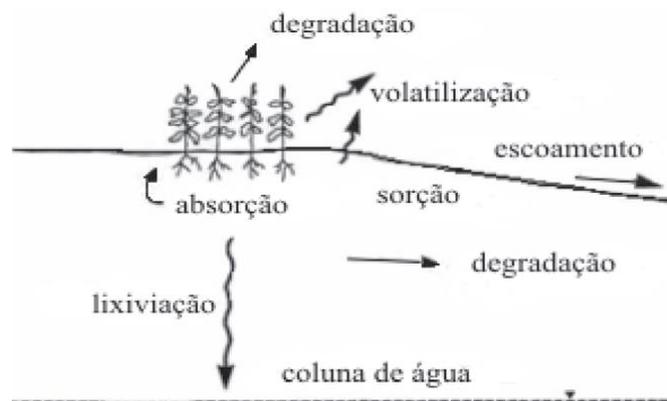


Figura 1. Processo de transporte de defensivos agrícolas (LOURENCETTI, RIBEIRO, 2007).

Os inseticidas organoclorados (DDT, hexaclorobenzeno, entre outros) apresentam grande persistência ambiental e, apesar de terem sido retirados do mercado ou da atual restrição de sua aplicação, ainda são detectáveis tanto em solos de cultivo agrícola como em áreas industriais onde foram produzidos no passado. Estudos em animais têm demonstrado a relação de agentes desse grupo com carcinogênese, teratogênese, efeitos imunotóxicos e desregulação endócrina (MELLO-DA-SILVA, FRUCHTENGARTEN, 2005).

Inseticidas organofosforados (malation, clorpirifós, diazinon, carbamatos, carbaril, entre outros), são os agentes mais utilizados em todo o mundo. Seu mecanismo de ação está relacionado à inibição da enzima acetilcolinesterase. Parece estar bem estabelecido o papel importante da acetilcolinesterase na fase de desenvolvimento das conexões neuronais no sistema nervoso central. Assim, não se descarta a possibilidade de que crianças expostas de forma continuada a esses agentes possam sofrer prejuízos, com consequentes possíveis distúrbios neurocomportamentais (MELLO-DA-SILVA, FRUCHTENGARTEN, 2005).

Na formulação dos agrotóxicos, há presença de componentes tais como adjuvantes e modificadores de utilidade, além do próprio princípio ativo. São listados entre os adjuvantes, os surfactantes, os espalhantes adesivos, agentes condicionantes de água dentre outros possíveis adjuvantes. Ainda entre os modificadores de utilidade, encontram-se agentes tamponantes, para alteração e estabilização do pH da solução de aplicação, visando melhorar a solubilidade do princípio ativo, e os agentes de compatibilidade, que melhoram a combinação de dois ou mais agrotóxicos ou agrotóxicos com fertilizantes (FRAGA, 2012).

Os surfactantes são compostos caracterizados pela capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaces de uma mistura líquida. Formam agregados chamados de micelas, geralmente em baixas concentrações em solução, diminuindo a tensão superficial do sistema e contribuindo para a estabilidade da mistura, garantindo a homogeneidade do sistema. Os surfactantes consistem em um grupo hidrofílico, ligado a um grupamento hidrofóbico (que pode ser alifático, aromático ou ainda uma composição de cadeias aromáticas e alifáticas). Surfactantes podem ser classificados em quatro tipos, onde se leva em conta o caráter do grupo hidrofílico: não-iônicos, aniônicos, catiônicos e anfotéricos (PREVIDELLO et al, 2006). Após seu uso, os surfactantes residuais são diretamente lançados em sistema de tratamento de esgotos ou diretamente em águas superficiais, ocasionando uma poluição deste corpo hídrico e formando produtos de degradação (ALOU, KCHAOU, SAYADI, 2009).

Compostos da classe dos alquilfenóis etoxilados (APE), são surfactantes não-iônicos (figura 2) amplamente utilizados em resinas fenólicas, aditivos plásticos, detergentes, emulsificantes, formulações de pesticidas dentre outras. O alquilfenol etoxilado mais relevante é o nonilfenol etoxilado (NP_nEO), representando cerca de 80% da produção, dos quais 60% possuem como destino final o meio ambiente (RENNER, 1997; SOLÉ et al, 2000; ZGOLA-GRZESKOWIAK et al., 2009).

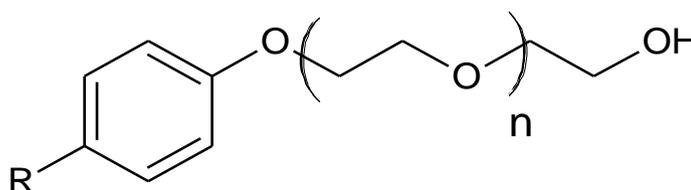


Figura 2. Estrutura do alquilfenol etoxilado

Alquilfenóis etoxilados são comumente encontrados em quantidades consideráveis no meio ambiente, como por exemplo em águas superficiais de rios e lagos, acumulados em espécies aquáticas, incluindo plantas, algas e peixes e principalmente em estações de tratamento de esgoto, onde eles são biodegradados formando vários metabólitos, como por exemplo o nonilfenol etoxilado (NP₁EO), nonilfenol dietoxilado (NP₂EO), ácido nonilfenoxiacético (NP₁EC), alquilfenol etoxilado (AP₁EO), alquilfenol dietoxilado (AP₂EO), nonilfenol (NP) e octilfenol (OC) entre outros. Estudos já demonstraram que tais metabólitos dos APE, são mais persistentes e tóxicos do que as substâncias de origem, possuindo ainda a

capacidade de causar desregulação dos hormônios naturais, por interagir com o receptor de estrogênio (RENNER, 1997; SILVA et al., 2007).

Devido à rápida biodegradação do alquilfenol etoxilado, gerando metabólitos mais tóxicos, com potencial desregulação endócrina, a Comissão Européia, através da Diretiva n ° 2003/53/CE, proibiu a utilização destes surfactantes na União Européia. No entanto, o controle da aplicação destes compostos na agricultura não é fácil, uma vez que muitos dos agroquímicos disponíveis no mercado trazem em rótulo informação restrita ou nenhuma acerca da presença de surfactantes em sua formulação (ZGOLA-GRZESKOWIAK et al., 2009).

2.2 Desreguladores Endócrinos

Poluentes emergentes, como produtos farmacêuticos, hormônios naturais e sintéticos, pesticidas, substâncias tensoativas, polímeros de baixa massa molecular, produtos de uso veterinário, solventes e outros contaminantes orgânicos presentes em efluentes municipais e industriais, podem atuar como desreguladores endócrinos (FILHO, LUVIZOTTO-SANTOS, VIEIRA, 2007). Uma grande preocupação relacionada a essa classe de substâncias é que podem produzir efeitos adversos aos organismos expostos em concentrações realmente muito baixas (DEZOTTI, BILA, 2007). A figura 3 ilustra a rota de um hormônio genérico, que atua como desregulador endócrino, em vários estágios ambientais.

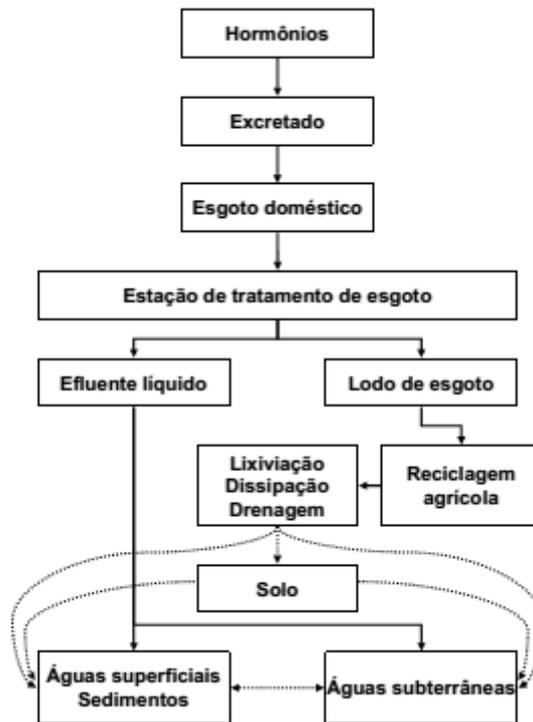


Figura 3. Rotas de exposição de desreguladores endócrinos no ambiente. (FERREIRA, 2013).

A agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (*United States Environmental Protection Agency, USEPA*) define um composto desregulador endócrino como “um agente exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, metabolismo, ligação ou eliminação dos hormônios naturais do corpo, os quais são responsáveis pela homeostase, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento”. Já o programa internacional de segurança química (*International Programme on Chemical Safety, IPCS*), juntamente com o Canadá, o Japão, os Estados Unidos, a OEDC (*Organization for Economic Co-operation and Development*) e a União Européia, utiliza uma definição mais abrangente, e entende que um desregulador endócrino seja “uma substância ou uma mistura de substâncias exógenas que alteram uma ou várias funções do sistema endócrino e, conseqüentemente, causam efeitos adversos sobre a saúde de um organismo intacto, sua descendência, e/ou (sub) populações” (USEPA, 1998; CEC, 1999).

A desregulação ou alteração das funções endócrinas pode estar associada a interferências na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação dos hormônios naturais dos organismos, desencadeando assim uma nova resposta hormonal. Uma substância,

ao imitar a ação de um hormônio endócrino, desencadeia de modo exagerado ou em tempo inadequado um estímulo falso (VERAS, 2006).

2.2.1 Legislações nacionais e internacionais sobre desregulador endócrino em águas

A preocupação sobre a exposição a produtos químicos que podem interagir com o sistema endócrino e causar efeitos adversos sobre a fauna e os seres humanos aumentaram gradativamente em importância nos últimos anos. Estudos apontam a presença desses produtos químicos, os chamados desreguladores endócrinos, em estações de tratamento de águas residuais, águas superficiais e águas subterrâneas, devido a baixa eficiência de remoção destes no processo de tratamento da água. Ou seja, mesmo após tratamento convencional, o corpo hídrico receptor poderá se apresentar contaminado (MEYER et al., 1999; BILA et al., 2007). Devido ao problema da escassez de água enfrentado por diversos países, inclusive o Brasil, se faz muito necessário cada vez mais estudos sobre os impactos desses desreguladores em todos os seres incluídos nesse cenário, estudos sobre a qualidade da água dentre outros.

Referente a legislação, seja nacional, seja internacional, nem todas as substâncias classificadas como desreguladores endócrinos são contempladas nas regulamentações referentes à temática água. Muitos dos compostos incluídos nas legislações referentes à qualidade da água são pesticidas.

Na tabela 1 estão mostrados os valores máximos permitidos de alguns desreguladores endócrinos vigentes nas legislações atualmente em vigor no Brasil e nos Estados Unidos, para águas superficiais e de abastecimento assim como o valor de orientação fornecido pelo Guia de Qualidade de Água Potável da Organização Mundial da Saúde. Alguns compostos recentemente caracterizados como desreguladores endócrinos, como o bisfenol A, não estão contemplados nas regulamentações apresentadas nessa tabela.

Tabela 1. Concentrações máximas aceitáveis ($\mu\text{g L}^{-1}$) de desreguladores endócrinos em água potável (1) e água superficial (2) de acordo com as legislações nacionais e internacionais.

Composto	Valores Máximos Permitidos ($\mu\text{g L}^{-1}$)				
	Brasil		Estados Unidos		OMS
	1 ^a	2 ^b	1 ^c	2 ^d	1 ^e
Benzo[a]pireno	0,7	0,018 ^c	0,2	n.m. ^f	0,7
Nonilfenol	n.m.	n.m.	n.m.	28 ^g /7 ^h	n.m.
Pentaclorofenol	9	3	1	19 ^g /13 ^h	9
di(2-hexil)ftalato	20	n.m	6	n.m.	8

a: Portaria MS 2914/2011 (Brasil, 2011).

b: Resolução CONAMA 357/2005 (Brasil, 2005).

c: Lei de Água Potável Segura (SDWA, Safe Drinking Water Act) (USEPA, 2015b).

d: Recomendação Nacional dos Critérios de Qualidade da Água (USEPA, 2009).

e: Guia de Qualidade da Água Potável (WHO,2008).

f: valor não mencionado

g: água doce

h: água salgada

O guia com as diretrizes sobre a qualidade da água para consumo dos EUA é dada pelo Safe Drinking Water Act (Lei da Água Potável Segura). Essa legislação estabelece o nível máximo dos contaminantes (MCL, do inglês maximum contaminant level), que representa a concentração mais alta do poluente que pode ser aceita na água potável, e a meta do nível máximo dos contaminantes (MCLG, maximum contaminant level goal), que embora não tenha força de lei, representa a concentração abaixo da qual não são previstos riscos para a saúde humana, além da presença de um outro guia de Recomendação Nacional dos Critérios de Qualidade da Água (USEPA, 2015a).

Já no Brasil, há dois guias: um guia que dita o enquadramento e classificação dos corpos de águas doces, salobras ou salinas, regidos pela resolução n° 357/2005 pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA e um outro guia que dita o controle e vigilância da qualidade da água para abastecimento da população, assim como os padrões de potabilidade, são definidos pela Portaria n° 2914 do Ministério da Saúde de 2011 (BRASIL, 2005; BRASIL, 2011).

2.3 Nonilfenol

Fenol e compostos substituídos do fenol são geralmente disseminados no ambiente através de resíduos de processos industriais, como por exemplo, na fabricação de plásticos, corantes, drogas e antioxidantes, na indústria de papel. Fenóis clorados são formados pela hidrólise e fotólise de herbicidas clorados. A presença de fenóis e de seus derivados no meio ambiente é identificada em diversas partes o planeta (SIQUEIRA, 2012).

Nonilfenol (figura 4) consiste em fenol monossustituído por uma cadeia de nove átomos de carbono na posição *para*. Sob as condições ambientais, é um líquido viscoso, com baixa densidade e imiscibilidade com a água como pode ser visto na tabela 2.

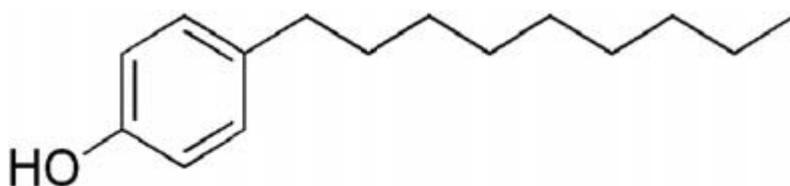


Figura 4. Fórmula estrutural do nonilfenol.

Tabela 2. Propriedades físicas e químicas do nonilfenol

Propriedades	Valor
CAS N°	104-40-5
Massa Molecular (g mol ⁻¹)	220,35
Fórmula	C ₁₅ H ₂₄ O
Densidade (g mL ⁻¹ a 20° C)	0,6
Ponto de Fusão (° C)	- 10
Ponto de Ebulição (° C)	304
pKa	10,7
Solubilidade em água (mg L ⁻¹)	4,90
Pressão de Vapor Pa (20° C)	1,33 Pa
Log Kow	4,36 – 4,60

Em solução aquosa, comporta-se como um ácido fraco, com $pK_a = 10,7$. A figura 5 apresenta a distribuição de espécies no sistema ácido-base do nonilfenol em função do pH.

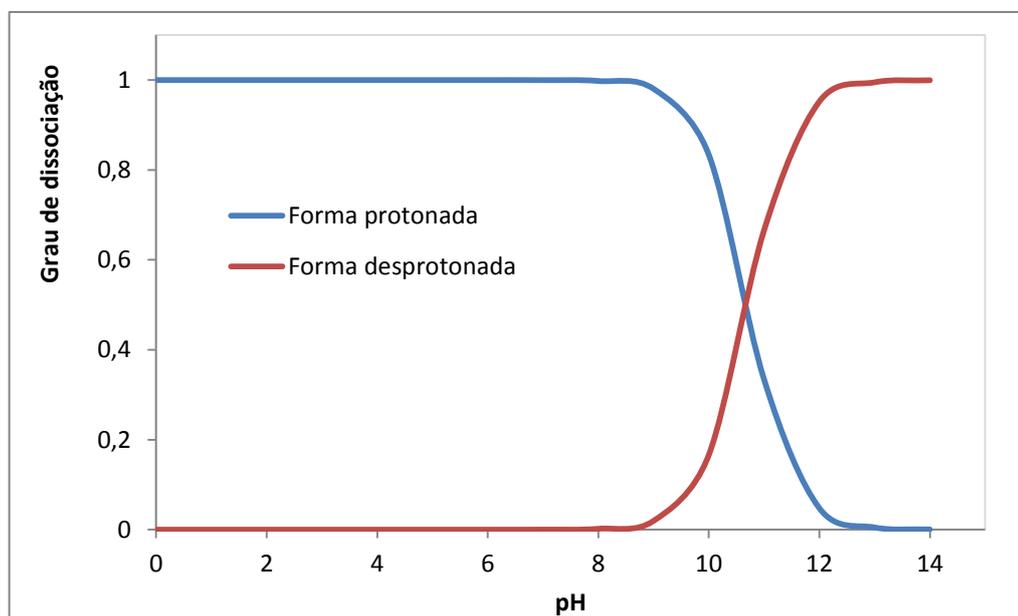


Figura 5. Distribuição das espécies no sistema ácido-base do nonilfenol em função do pH.

O nonilfenol é inserido no meio ambiente a partir da degradação dos alquilfenóis etoxilados (figura 2). A degradação dos alquilfenóis etoxilados, se dá através da perda de unidades de óxido de etileno, como ilustrado na figura 6, para formar etoxilados de baixo peso molecular ou através da formação de etoxilados carboxilados e em dióxido de carbono (CO_2) e água em último estágio, formando vários metabólitos, incluindo o nonilfenol etoxilado, nonilfenol dietoxilado, ácido nonilfenoxiacético, alquilfenol etoxilado, alquilfenol dietoxilado, nonilfenol e octilfenol entre outros, como ilustra a figura 7. Estudos já demonstraram que os alquilfenóis etoxilados são mais persistentes e tóxicos do que as substâncias de origem, possuindo ainda a capacidade de causar desregulação dos hormônios naturais, por interagir com o receptor de estrogênio (RENNER, 1997). O nonilfenol é formado durante a quebra anaeróbica dos alquilfenóis etoxilados, onde nessa condição de ausência de oxigênio, a continuação destes metabólitos até a transformação final em nonilfenol é favorecida (de 4 a 8 vezes) quando comparado com condição aeróbica. Ahel e colaboradores (1994) demonstraram que o nonilfenol pode ser degradado por processos fotoquímicos. Em períodos de alta exposição solar, o nonilfenol perto da superfície da água tem uma meia-vida de 10-15 horas. Em outro estudo, Ahel e colaboradores (1996) demonstraram que a concentração de nonilfenol pode diminuir em águas subterrâneas, devido a infiltração no solo.

Os autores propuseram que essa redução envolve processos biológicos, que ocorrem na parte do aquífero mais próximo ao rio, desde que a temperatura da água subterrânea não se torne fria o bastante para a degradação biológica (AHEL et al., 1994; AHEL et al., 1996; SOLÉ et al, 2000; ZGOLA-GRZESKOWIAK *et al.*, 2009).

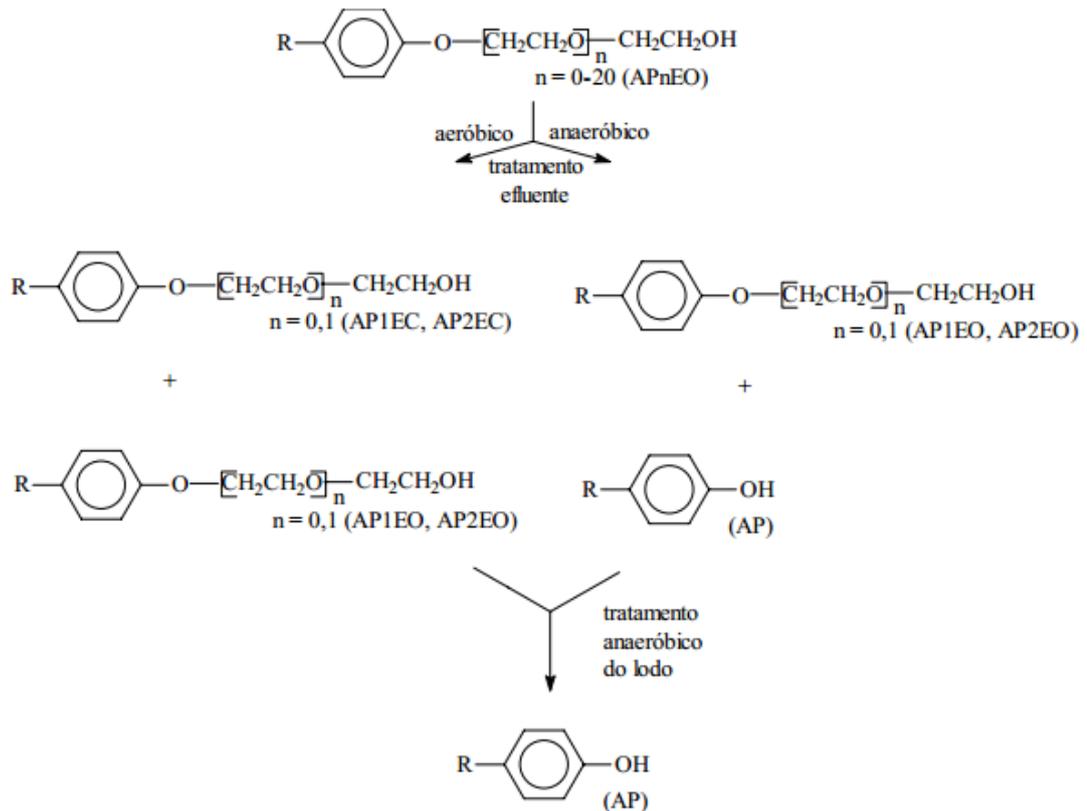


Figura 6. Rotas de biodegradação do alquilfenol etoxilado (SILVA et al., 2007).

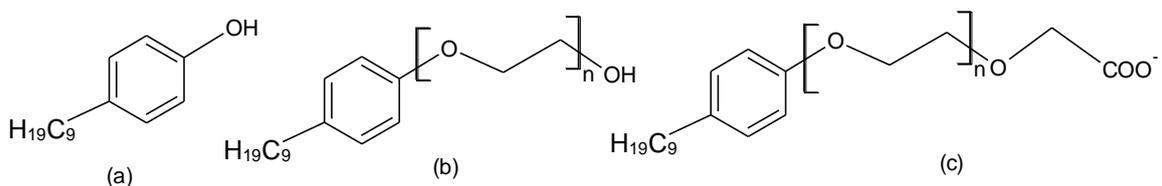


Figura 7. Estrutura dos metabolitos (a) NP, (b) NPnEO (n=1 ou 2) e (c) NPnEC (n=1 ou 2) via produto de biodegradação do alquilfenol etoxilado.

Tanto o alquilfenol etoxilado como o nonilfenol escoam para estações de tratamento de águas residuais e se acumulam no lodo anaeróbio digerido, porque ambos são resistentes à degradação sob condições aeróbias (GIGER, BRUNNER, SCHAFFNER, 1984; WETTSTEIN, 2004).

Um dos problemas devido à acumulação do nonilfenol na lama da estação de tratamento de esgoto se dá quando esta é utilizada na agricultura como adubo orgânico ou fertilizante, pois organismos vivos presentes no solo ficam expostos aos contaminantes existentes nas lamas. O risco ambiental sobre o solo irá depender da biodisponibilidade, da degradação, e da toxicidade dos contaminantes presentes na lama. Muitos seres vivos presentes no solo vivem principalmente na parte aeróbica do solo (parte superior), e por condições anaeróbicas, outros tipos de seres vivos são encontrados em uma região mais interna (menos aerada). Com isso, alguns seres vivos não podem estar expostos a produtos químicos orgânicos adsorvidos no interior das partículas da lama. Por outro lado, pode haver organismos presentes no solo que digerem moléculas orgânicas presentes na lama, ocasionando um aumento na exposição de tais contaminantes em outros organismos que antes não estavam expostos (WETTSTEIN, 2004).

Os efeitos de alquilfenol etoxilado e do nonilfenol no ambiente têm sido extremamente controversos. Preocupações surgiram pela primeira vez em meados da década de 1980 quando Giger e colaboradores (1984) estabeleceram que o alquilfenol etoxilado e os produtos de degradação são mais tóxicos para a vida aquática do que os seus precursores (GIGER, BRUNNER, SCHAFFNER, 1984). Mais tarde, Soto e colaboradores (1991) observaram, inadvertidamente, que nonilfenol era capaz de induzir a proliferação de células de tumor da mama. A capacidade de competição destes com o local de ligação do receptor de estrogênios naturais, como por exemplo, o hormônio 17β -estradiol também já foi observado (SOARES *et al.*, 2008). Após a descoberta dos perigos que o nonilfenol e seus precursores poderiam causar nas pessoas, seu uso e de seu precursor foi banido em muitos países sendo substituído por outros tensoativos que apresentassem maior segurança para a população e o ambiente.

A avaliação da toxicidade dos contaminantes ambientais frente aos organismos aquáticos é realizado através de testes de ecotoxicidade. Nestes testes, algas, bactérias, invertebrados aquáticos, zooplâncton e outros organismos são usados como organismos teste. Nesses estudos são considerados desde os parâmetros do teste de toxicidade padronizados, até parâmetros bioquímicos, fisiológicos, comportamentais dentre outros. A toxicidade aguda do nonilfenol para animais de água doce pode variar de $20,7 \mu\text{g L}^{-1}$ para o anfípode *Hyalella*

azteca até 774 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o caracol *Physella virgata*. Já a toxicidade crônica do nonilfenol para animais de água doce varia de 10,18 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a espécie de peixe *Pimephales promelas* até 157,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ para o crustáceo *Daphnia magna* (USEPA, 2005). Azevedo e colaboradores (2001), citam que a faixa de concentração mais comumente encontrada nos rios fica entre 0,2 e 12 $\mu\text{g L}^{-1}$, valores que já são passíveis de causar problemas a alguns organismos (AZEVEDO et al., 2001).

2.4 Métodos Analíticos para Determinação de Nonilfenol

A maioria dos métodos encontrados na literatura disponível nos remete a determinação de nonilfenol em água superficial, águas residuais bem como no lodo/lama utilizando-se métodos cromatográficos. O nonilfenol já foi determinado em águas superficiais por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) (AZEVEDO et al., 2001; ZHOU, LIU, WILDING, 2004; SOUZA, 2011; BERALDO, 2012; SIQUEIRA, 2012) e por cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a fluorescência (CLAE-FLU) (JIANG et al., 2003; ZGOLA-GRZESKOWIAK et al., 2009; YIANTZI et al., 2010; FILHO, 2012); em águas residuais por CLAE-UV (MARCONINI, CAPRI, GIGER, 1987; FYTIANOS et al., 1997; AHEL et al., 2000; RAIMUNDO, 2007; ZHAO, WANG, YUAN, 2009) e por CLAE-MS (MOREIRA, 2008); e em resíduos de esgoto por CLAE-UV (BERNACKA et al., 2009) por CLAE-MS (LEITE, AFONSO, AQUINO, 2010; ANDREU et al., 2011;) e por CG-MS (GATIDOU et al., 2007). Além de determinações em matrizes ambientais, nonilfenol foi quantificado em amostras de leite por CLAE-UV (MARTÍN-ESTEBAN, BARAHONA, TURIEL, 2011).

Em relação aos métodos de extração mais utilizados pode-se destacar a extração líquido-líquido (ELL), extração em fase sólida (EFS) incluindo extrações em leiteo fluidizado e carvão ativado e microextração em fase sólida (MEFS).

A literatura descreve métodos de extração do nonilfenol de águas superficiais por extração ELL (MARCOMINI; GIGER, 1987; WETTSTEIN, 2004), EFS (RAIMUNDO, 2007; SOUZA, 2011; BERALDO, 2012; SIQUEIRA, 2012) e MEFS (DIAZ et al., 2004). Em amostras de resíduos de tratamento de esgoto a EFS (HENRIQUES, 2004) e carvão ativado já foram utilizados para extração do nonilfenol (VERAS, 2006). A utilização de um leiteo

fluidizado como técnica de extração já foi descrita para amostras de lodo de esgoto (MINAMIYAMA, OCHI, SUZUKI, 2008).

2.5 Validação da Metodologia Analítica

Os princípios para o desenvolvimento de uma metodologia analítica são simples e podem ser resumidos em três etapas. A primeira etapa consiste na importância e na utilidade de tal método. A segunda é o desenvolvimento do método e a obtenção de resultados consistentes e a última etapa envolve o estabelecimento de procedimentos de controle de qualidade adequados para garantir o êxito na primeira e segunda etapa. O objetivo da validação é garantir que os dados sejam cientificamente válidos, de precisão conhecida e adequado para o seu propósito, com resultados confiáveis (USEPA, 1992).

A validação do método é geralmente considerada quando se desenvolve um método de análise não padronizada. Muitas características de desempenho do método estão associadas com o processo de validação da metodologia (EURACHEM, 2014).

Para a validação do método analítico, serão adotados os critérios de qualidade globais de validação de ensaios de compostos orgânicos descritos no método USEPA 8000D – DETERMINATIVE CHROMATOGRAPHIC SEPARATIONS (USEPA, 1992). Este guia também recomenda a utilização do método USEPA 8310 – POLYNUCLEAR AROMATIC HYDROCARBONS, para determinações por cromatografia líquida de fase reversa com detecção por ultravioleta ou por fluorescência. Ainda que o analito de interesse neste trabalho não seja contemplado no método USEPA 8310, as recomendações específicas de garantia da qualidade em ensaios por HPLC serão seguidas.

Tabela 3. Parâmetros aferidos na validação (USEPA, 1992)

Parâmetro	Definição
Robustez	Capacidade de o método permanecer inalterado frente a pequenas alterações nos parâmetros (teste de Youden).
Recuperação	Eficiência da extração do método analítico que foi desenvolvido. Deve estar entre 70% e 130%.
Precisão	Grau de repetibilidade dos resultados de medições repetidas mantendo-se as mesmas condições. O coeficiente de variação (CV) deve ser menor do que 20%.
Repetibilidade	Representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição em um curto intervalo de tempo. Deve apresentar um CV menor que 20%.
Limite de detecção	Concentração mínima de uma substância que pode ser detectada com confiança de 99% quando a concentração do analito é maior do que zero.
Limite de quantificação	Menor concentração de um analito que se pode quantificar. É a concentração mais baixa na curva analítica.
Curva analítica	Gráfico de concentrações de padrões conhecidos contra a resposta do instrumento para os analitos de interesse. Para uma curva ser aceita será avaliado o coeficiente de determinação ($R^2 > 0,99$), coeficiente de correlação ($r > 0,995$), incerteza $< 20\%$, erro (efeito de matriz) $< 30\%$ para cada nível de concentração e erro padrão relativo $< 20\%$.
Faixa linear	É o intervalo entre os níveis inferior e superior de concentração do analito, no qual pode-se demonstrar precisão, exatidão e linearidade.

2.6 A Bacia Hidrográfica do Rio Guandu

A bacia hidrográfica do rio Guandu possui fundamental importância para a vida principalmente da região metropolitana do Rio de Janeiro, pois engloba quinze municípios (figura 8) de forma integral e parcial, onde grande parte desses municípios pertencem à região metropolitana, servindo de fonte de água para o abastecimento humano (captação para a Estação de Tratamento do Guandu, da Companhia Estadual de Águas e Esgotos (CEDAE) abastecendo quase um milhão de habitantes e também para diversos setores produtivos, como a indústria siderúrgica, petroquímica, indústrias de alimentos e bebidas, vestuário, dentre outras formas industriais além de corpo hídrico coletor de esgotos industriais e domésticos (ANA, 2006).

Devido ao fato da região metropolitana possuir uma ampla densidade de moradores, e somado ao fato da existência de vários parques industriais, os problemas ambientais na bacia do rio Guandu passam por lançamento *in natura* de esgotos sanitários, poluição e a contaminação dos mananciais por efluentes industriais e agropecuários, além da extração mineral de areia. A poluição e contaminação das águas, como os principais problemas avaliados, decorrem da precariedade de infraestrutura de saneamento básico (CASTRO, 2012).

Por ser de importância vital para o abastecimento da metrópole fluminense (capital e região da baixada fluminense) e para a manutenção das inúmeras atividades produtivas dependentes das águas desta bacia, se faz imprescindível a adoção de práticas de gestão que assegurem a qualidade das águas e a integração das ações dos dois comitês de bacias existentes (o Comitê da Bacia do Rio Paraíba do Sul – Ceivap e o Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio Guandu), dada a interdependência e complexidade das bacias graças à intervenção sócio-econômica e política com base em redes técnicas de infraestrutura. Somado a esse fato, mensalmente, o Instituto Estadual do Ambiente (INEA) coleta amostras de águas superficiais nessa bacia, e faz uma classificação de qualidade desta água analisada. Esta classificação de qualidade varia entre excelente, boa, média, ruim e muito ruim, de acordo com os resultados encontrados em outras análises como: demanda biológica de oxigênio (DBO), fósforo total, nitrato, oxigênio dissolvido, pH, turbidez, coliformes termotolerantes, sólidos dissolvidos, temperatura da água e temperatura do ar. Essas análises consolidam em um único valor de Índice de Qualidade da Água (IQA_{NSF}) como pode ser visto no anexo A.

Para a realização desta pesquisa, foram coletadas amostras em seis municípios localizados na região da baixada fluminense, trecho da bacia hidrográfica do Rio Guandu: Seropédica, Rio de Janeiro, Paracambi, Queimados, Japeri e Itaguaí. A divisão territorial dos 15 municípios que pertencem à bacia, na figura 8, esta representado pela região RH-II. A figura 9 ilustra o balanço hídrico mensal dos municípios onde ocorreu a coleta de acordo com o site: Climatempo, 2015.

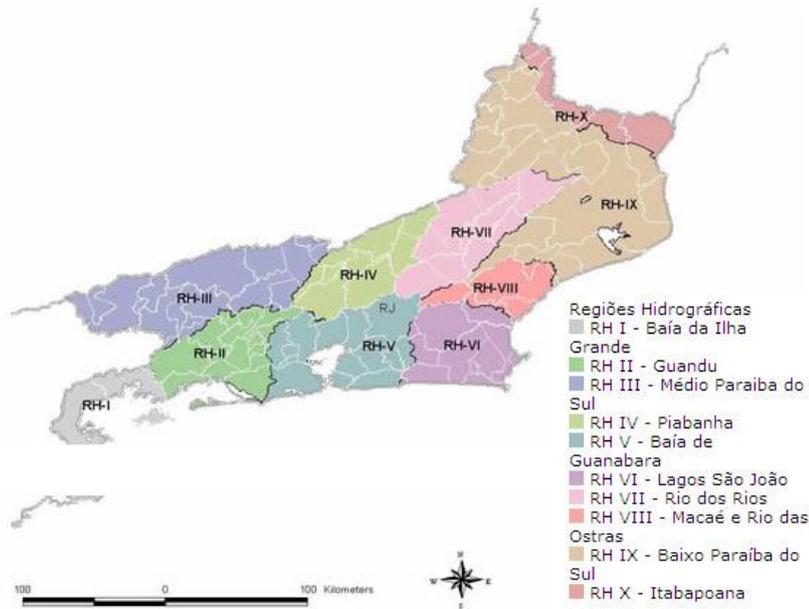


Figura 8. Região integrante da bacia do Rio Guandu (INEA, 2015).

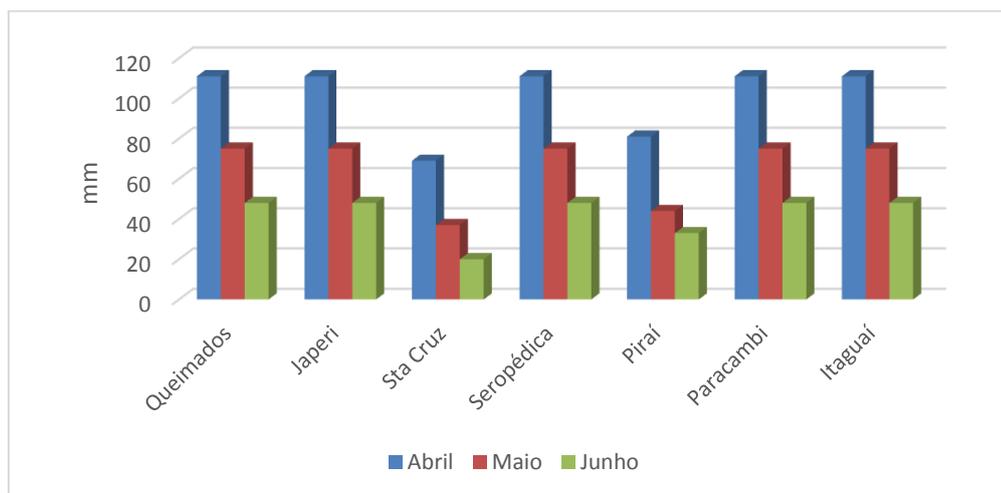


Figura 9. Índice pluviométrico mensal das cidades de coleta de amostras. Fonte: Climatempo

Rio de Janeiro (Bairro de Santa Cruz):

O ponto de coleta na cidade do Rio de Janeiro, foi no bairro de Santa Cruz, Zona Oeste da cidade (22°53'48,55"S 43°44'13,58"O). A cidade do Rio de Janeiro, possui uma população residente de 6.320.446 habitantes, com sua totalidade residindo em zona urbana segundo o Censo de 2010. A área territorial é de 1.197.463 km². Segundo o Censo de 2012, Rio de Janeiro contém quase 2,9 milhões de pessoas ocupadas distribuídos entre as quase 197 mil empresas atuantes no município. A cidade do Rio de Janeiro possui um volume total de água tratada distribuída por dia de 2.877.120 m³, o que atinge cerca de 1,7 milhões de economias ativas residenciais, de acordo com o Censo de 2008. Segundo a última análise do IQA_{NSF} do Boletim Consolidado de Qualidade das Águas da Região Hidrográfica II – Guandu, de março de 2015, este ponto no rio Guandu apresentou IQA_{NSF} médio.

Queimados:

Localizada a 57 km da capital do estado, Queimados (22°43'38,89"S 43°38'26,55"O) possui uma população residente de 47.124 habitantes, com sua totalidade residindo em zona urbana segundo o Censo de 2010. A área territorial é de 75.695 km². Segundo o Censo de 2012, Queimados contém quase 25 mil pessoas ocupadas distribuídos entre as 1354 unidades de empresas atuantes do município. A cidade de Queimados possui um volume total de água tratada distribuída por dia de 56.280 m³, o que atinge cerca de 16 mil economias ativas residenciais, de acordo com o Censo de 2008. O último boletim de análise da qualidade das águas interiores do Rio de Janeiro não continha tal ponto de coleta feito neste estudo.

Paracambi:

Localizada a 86 km da capital do estado, Paracambi (22°40'06,67"S 43°44'56,26"O) possui uma população residente de 137.962 habitantes, com 88% dessa população residindo em zona urbana segundo o censo de 2010. A área territorial é de 179.680 km². Segundo o censo de 2012, Paracambi contém quase 10 mil pessoas ocupadas distribuídos entre as 778 unidades de empresas atuantes do município. No Censo de 2008, não consta o volume total de água tratada na cidade de Paracambi, porém tal sistema de tratamento de água atinge cerca de 6 mil economias ativas residenciais. Segundo a última análise do IQA_{NSF} do Boletim Consolidado de Qualidade das Águas da Região Hidrográfica II – Guandu, de julho de 2015, este ponto no rio Ribeirão das Lages apresentou IQA_{NSF} bom.

Japeri:

Localizada a 80 km da capital do estado, Japeri (22°39'56,49"S 43°38'03,40"O) possui uma população residente de 95.492 habitantes, com 82% dessa população residindo em zona urbana segundo o Censo de 2010. A área territorial é de 81.869 km². Segundo o Censo de 2012, Japeri contém quase 7 mil pessoas ocupadas distribuídos entre as 619 unidades de empresas atuantes do município. A cidade de Japeri possui um volume total de água tratada distribuídas por dia de 28.940 m³, o que atinge cerca de 9 mil economias ativas residenciais, de acordo com o Censo de 2008. O último boletim de análise da qualidade das águas interiores do Rio de Janeiro, não continha tal ponto de coleta feito neste estudo.

Seropédica:

Localizada a 73 km da capital do estado, Seropédica (22°48'58,53"S 43°37'29,77"O) possui uma população residente de 78.186 habitantes, com de residindo em zona urbana. A área territorial é de 283.762 km². Segundo o censo de 2012, Seropédica contém quase 14 mil pessoas ocupadas distribuídos entre as 847 unidades de empresas atuantes do município. No Censo de 2008, não consta o volume total de água tratada na cidade de Seropédica, porém tal sistema de tratamento de água atinge cerca de 10 mil economias ativas residenciais. Segundo a última análise do IQA_{NSF} do Boletim Consolidado de Qualidade das Águas da Região Hidrográfica II – Guandu, de julho de 2015, este ponto no rio Guandu apresentou IQA_{NSF} médio.

Itaguaí:

Localizada a 38 km da capital do estado, Itaguaí (22°53'33,36"S 43°41'40,89"O) possui uma população residente de 109.091 habitantes, com um total de 104.209 pessoas residindo em zona urbana e 4.882 pessoas residindo em zona rural. A área territorial é de 275.877 km². Segundo o censo de 2013, Itaguaí contém quase 45 mil pessoas ocupadas distribuídos entre as 2.367 unidades de empresas atuantes do município. No Censo de 2008, a cidade de Itaguaí distribui cerca de 43 mil metros cúbicos de água tratada para a população, na cidade de Seropédica, porém tal sistema de tratamento de água atinge cerca de 24 mil economias ativas residenciais. Segundo a última análise do IQA_{NSF} do Boletim Consolidado de Qualidade das Águas da Região Hidrográfica II – Guandu, de março de 2015, este ponto no canal do Itá apresentou IQA_{NSF} ruim.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material e equipamento utilizados:

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram empregados:

- Reagentes para extração: metanol (MeOH), diclorometano (DCM), hexano (HEX), isopropanol (ipropOH), todos de grau HPLC da marca Tedia® e água ultrapurificada (condutividade abaixo de $1 \mu\text{S cm}^{-1}$) através do equipamento Ultrapurificador Master P&d, da Gehaka, acoplado ao sistema de purificação por osmose reversa OS 10 LZ da Gehaka;
- Cartuchos de extração: Phenomenex Strata X (200 mg; 3 mL), Waters Oasis HLB (60 mg; 3 mL) e Supelco Discovery 18-LT (500 mg; 3 mL).
- Padrão analítico nonilfenol SIGMA ALDRICH (99,9%) CAS N° 104-40-5;
- Equipamentos: SPE Vacuum Supelco Visiprep™, sistema cromatográfico Agilent composto por um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), modelo Infinity 1260 acoplado a um detector de arranjo de diodo (DAD) e ultravioleta;
- Coluna Cromatográfica: Zorbax Eclipse Plus (4,6 mm ID x 100 mm, 3,5 μm);
- pHmetro Tecnal Tec-3MP;
- Condutivímetro Tecnal Tec-4MP;
- Balança analítica Tecnal Mark 210A; precisão de 0,1 mg;
- Software Agilent ChemStation Data Analysis.

3.2 Métodos

3.2.1 Desenvolvimento de método analítico para a determinação de nonilfenol por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por ultravioleta

O desenvolvimento do método analítico adotado neste trabalho, foi baseado em condições propostas pelo Método USEPA 8310 – *POLYNUCLEAR AROMATIC HYDROCARBONS*, utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector ultravioleta, utilizando-se coluna cromatográfica de fase reversa. Foram feitos alguns ajustes para determinar um analito diferente daqueles previstos no método original tais como, escolha dos solventes da fase móvel, composição da fase móvel, para uma maximização de parâmetros cromatográficos adequados, entre eles simetria de sinal (AS), relação sinal ruído (S/R), resolução (R) dentre outros.

3.2.1.1 Preparo de padrões: solução padrão, solução estoque e soluções de trabalho

Soluções padrão e estoque de nonilfenol em metanol foram preparadas aos níveis de concentração de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente e armazenadas em geladeira, em frasco de vidro âmbar. Soluções de trabalho em metanol foram preparadas por diluições sucessivas da soluções estoque em concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$) de 1000, 500, 250, 125, 62,5 e 23.

3.2.1.2 Volume de injeção

Tal procedimento teve como objetivo, monitorar qual o volume máximo poderia ser injetado sem haver perda de simetria do pico do analito. Para esse monitoramento, adotou-se uma solução de trabalho $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ e fez-se injeções, com volumes os seguintes volumes, 10 μL , 20 μL , 30 μL , 40 μL e 50 μL e verificou-se a simetria do pico específico do analito.

3.2.1.3 Preparação das amostras sintéticas e método de extração

Para o desenvolvimento do método de extração, amostras aquosas sintéticas foram preparadas por fortificação com padrão $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ em metanol. A fortificação se deu, adicionando $500 \mu\text{L}$ de solução padrão $10,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ em metanol a 20 mL de isopropanol e levando essa solução a banho de ultrassom por 2 minutos. Após o ultrassom, avolumou-se a amostra para 100 mL com água ultrapura e levou-se a solução final a banho de ultrassom por 5 minutos. A solução aquosa final continha ipropOH a 20% e nonilfenol a $50 \mu\text{g L}^{-1}$. A adição de isopropanol foi necessária para garantir a presença do nonilfenol em solução e evitar perdas para a parede.

Um outro teste, foi realizado substituindo-se o isopropanol por solução aquosa de lauril sulfato de sódio (LSS) a $0,0005 \text{ mol L}^{-1}$. A solução aquosa final continha LSS em concentração $0,0001 \text{ mol L}^{-1}$ e nonilfenol a $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

Foram feitos seis testes de extração, como pode ser visto na tabela 5, incluindo as variações de cada teste realizado. A extração foi feita percolando-se 100 mL da amostra sintética. Para o procedimento de extração, foi desenvolvido um aparato, como pode ser visto na figura 10.

Tabela 4. Testes para extração do nonilfenol.

Teste	Cartucho	Condicionamento	Eluição
1	Polimérico hidrofílico-lipofílico ^a	MeOH/H ₂ O ^d	4 mL MeOH
2	Polimérico de fase reversa ^b	MeOH/LSS ^e	4 mL MeOH
3	C18 ^c	MeOH/H ₂ O ^d	4 mL MeOH
4	C18 ^c	MeOH/H ₂ O ^d	4 mL Hexano
5	C18 ^c	MeOH/H ₂ O ^d	4 mL DCM
6	C18 ^c	MeOH/H ₂ O ^d	5 mL MeOH

a: Cartucho OASIS HLB (60 mg; 3 mL)

b: Cartucho STRATA X (200 mg; 3 mL)

c: Cartucho SUPELCO DSC DISCOVERY 18-LT (500 mg; 3 mL)

d: 5 mL MeOH + 5 mL água ultra pura

e: 5 mL MeOH + 5 mL solução aquosa de LSS $0,0001 \text{ mol L}^{-1}$



Figura 10. Aparato de extração.

3.2.2 Validação do método para determinação de nonilfenol

O método cromatográfico desenvolvido e otimizado foi validado segundo parâmetros de linearidade, precisão, exatidão, faixa linear e seletividade, seguindo os parâmetros de validação do método USEPA 8000D (USEPA, 1992).

3.2.2.1 Linearidade

Para verificar a linearidade do método, foram feitos dois testes distintos. No primeiro procedimento, as soluções padrão em concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$) 1000, 500, 250, 125, 62,5 e 23 (soluções trabalho) foram analisadas por CLAE-UV. No seguinte procedimento, amostras sintéticas foram preparadas por fortificação (em procedimento igualte ao descrito em 3.2.1.3) em concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$) 50,0, 25,0, 12,5, 6,25, 3,10 e 1,15. Com isso, dois grupos de padrões (em MeOH e em H_2O) foram utilizados. Nota-se que, com o procedimento de extração, as amostras sintéticas são concentradas 20 vezes e recuperadas em MeOH e, portanto, esses dois grupos de padrões deveriam ser, a princípio, idênticos.

As análises por CLAE-UV foram realizadas em dois dias distintos. Os dados foram analisados através da construção de uma curva analítica, definida pela área em função da concentração.

A regressão linear foi realizada pelo método dos mínimos quadrados e os coeficientes de correlação, angular e linear foram calculados para as curvas analíticas obtidas para as análises dos padrões (em metanol) e das amostras sintéticas (aquosa). O cálculo da incerteza da curva foi realizado, como o quociente entre a média de todos os valores de relação área/concentração pelo desvio padrão de todos os valores de relação área/concentração.

$$Incerteza(\%) = \frac{\langle x \rangle_{a/c}}{\sigma_{a/c}} \times 100 \quad \text{(Equação 1)}$$

onde:

$\langle x \rangle_{a/c}$ = média de todos os valores do quociente área/concentração.

$\sigma_{a/c}$ = desvio padrão de todos os valores do quociente área/concentração.

O desvio padrão de recuperação da solução trabalho em meio aquoso e a solução trabalho metanólica pode ser expressa como a equação abaixo:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (RF_1 - RF_p)^2}{n-1}} \quad \text{(Equação 2)}$$

onde:

RF_1 = recuperação para solução trabalho aquosa;

RF_p = recuperação para solução trabalho metanólica.

O efeito de matriz pode ser calculado como sendo a relação:

$$RSD = \frac{SD}{RF_p} \times 100 \quad \text{(Equação 3)}$$

O erro padrão relativo, pode ser calculado da seguinte forma:

$$RSE = \sqrt{\frac{(x_i^* - x_i)^2}{x_i(n-p)}} \quad \text{(Equação 4)}$$

O coeficiente de correlação (r) expressa a relação entre x e y, que permite avaliar a curva analítica. Quanto mais próximo da unidade for o valor de r, seja -1 ou +1, maior será a correlação entre os valores de x e y, corroborando para minimização da incerteza. Um coeficiente de correlação +1, indica uma correlação positiva entre as duas variáveis, enquanto uma correlação -1, indica uma correlação negativa entre as variáveis. O coeficiente de correlação pode ser calculado como:

$$r = \frac{n \sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{\sqrt{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} \sqrt{n \sum_{i=1}^n y_i^2 - (\sum_{i=1}^n y_i)^2}} \quad \text{(Equação 5)}$$

Assim como o coeficiente de correlação (r), há também o coeficiente de determinação, que serve como uma boa ferramenta, para aferir a qualidade da curva analítica, visto que tal coeficiente demonstra a dispersão dos valores com relação aos valores esperados, os resíduos.

A análise dos resíduos pelo teste t Student e pelos gráficos dos resíduos é possível verificar se o ponto considerado desvia da linearidade da reta, e é calculado pela equação 6.

$$t_{\text{calculado}} = \frac{\text{resíduo}}{(s_r / \sqrt{n})} \quad \text{(Equação 6)}$$

onde:

$$\text{resíduo} = |x_{\text{medido}} - x_{\text{calculado}}|$$

σ = desvio padrão dos resíduos

n = número de amostras (número de pontos)

O valor de $t_{\text{calculado}}$ é comparado com o valor de t_{tabelado} .

A linearidade das curvas analíticas foi validada a partir de sete injeções de cada solução de trabalho ou amostra sintética. As injeções das soluções de trabalho (padrões em MeOH) em concentrações, em $\mu\text{g L}^{-1}$, 1000, 500, 250, 125, 62 e 23 foram feitas no mesmo dia. As injeções

das soluções metanólicas obtidas a partir das extrações das amostras sintéticas (padrões aquosos em concentrações, em $\mu\text{g L}^{-1}$, 50,0, 25,0, 12,5, 6,25, 3,10 e 1,15) foram feitas em três dias.

Em ambos os ensaios de validação, adotou-se seis graus de liberdade e um nível de confiança de 95%. O valor de t_{tabelado} é 2,365.

3.2.2.2 Limite de quantificação

Assim como descrito na tabela 3, o limite de quantificação foi definido como o ponto de menor concentração do analito que se pode quantificar com precisão e exatidão (USEPA, 1992), respeitando os critérios de exatidão entre 70 e 130% e precisão superior a 80%.

Como foram testadas duas curvas analíticas, duas definições de limites de quantificação deverão ser adotadas. Será definido limite de quantificação (LQ), aquele determinado através da validação da curva analítica obtida com as soluções trabalho (padrões em MeOH). Uma vez que o método passa por extração de amostras e posterior análise de extratos metanólicos, será definido o limite de quantificação do método (LQM) aquele determinado por validação da curva analítica obtida com as amostras sintéticas (padrões aquosos).

3.2.2.3 Limite de detecção

O limite de detecção foi determinado como a concentração mínima de uma substância que pode ser medida com confiança de 99% (USEPA, 1992).

Como foram testadas duas curvas analíticas, duas definições de limites de detecção deverão ser adotadas. Será definido limite de detecção (LD), aquele determinado através da validação da curva analítica obtida com as soluções trabalho (padrões em MeOH). Uma vez que o método passa por extração de amostras e posterior análise de extratos metanólicos, será definido o limite de detecção do método (LDM) aquele determinado por validação da curva analítica obtida com as amostras sintéticas (padrões aquosos).

A determinação do limite de detecção (LD) foi feita com base no desvio padrão (σ) das concentrações obtidas por quantificação das áreas observadas em cinco injeções de solução de trabalho em menor nível de concentração ($23 \mu\text{g L}^{-1}$), em sequência durante um mesmo dia.

A determinação do limite de detecção do método (LDM) foi feita com base no desvio padrão (σ_m) das concentrações obtidas por quantificação das áreas observadas em sete injeções dos extratos metanólicos de amostras sintéticas em menor nível de concentração ($1,15 \mu\text{g L}^{-1}$), em sequência, em dois dias seguidos.

O desvio padrão das concentrações calculadas é então multiplicado pelo fator t student para um nível de confiança de 99%.

O limite de detecção pode ser calculado da seguinte forma:

$$\text{LD} = t_{(n-1; \alpha=99\%)} \cdot \sigma \quad \text{(Equação 7)}$$

$$\text{LDM} = t_{(n-1; \alpha=99\%)} \cdot \sigma_m \quad \text{(Equação 8)}$$

onde t é o fator t student, n é o número de análise e σ e σ_m são desvios padrão.

Neste trabalho, o limite de detecção foi estimado por ferramentas estatísticas, e não pode ser validado, pois o sinal relativo a padrões de concentrações inferiores a correspondente ao LQ (ou LQM) eram de difícil integração e se confundiam com o ruído. Baseado nisso, valores de concentração estimados entre os limites de detecção e quantificação não poderão ser relatados.

3.2.2.4 Precisão

Foram preparadas seis amostras sintéticas (três para a precisão inter-dia 1 e mais três para inter-dia 2), com as seguintes concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$): 1,15, 6,25 e 50,0. As amostras sintéticas foram extraídas e analisadas utilizando o método proposto em dois dias distintos, no dia do seguinte ao preparo e o subsequente. Foi calculado o desvio padrão relativo (DPR%) para cada nível de concentração de um mesmo dia (precisão intra-dia) e de dias diferentes (precisão inter-dia).

3.2.2.5 Exatidão

Foram preparadas seis amostras sintéticas (três para a exatidão inter-dia 1 e mais três para exatidão-dia 2) com as seguintes concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$): 1,15, 6,25 e 50,0. As amostras sintéticas foram extraídas e analisadas utilizando o método proposto em dois dias distintos, no dia do seguinte ao preparo e o subsequente. Foi determinada a porcentagem de recuperação das amostras para cada nível de concentração de um mesmo dia (exatidão intra-dia) e de dias diferentes (exatidão inter-dia) através da comparação da concentração amostra com a concentração nominal.

3.2.3 Análise das amostras de águas superficiais da bacia hidrográfica do rio Guandu

3.2.3.1 Área de estudo

Para a realização desta pesquisa, foram coletadas amostras em seis municípios localizados na região da baixada fluminense, trecho da bacia hidrográfica do Rio Guandu. Os municípios onde as coletas foram realizadas foram: Seropédica, Rio de Janeiro, Paracambi, Queimados, Japeri e Itaguaí. Esses pontos de coleta são apresentados na figura 11 e a área de abrangência deste trabalho pode ser visto na figura 12. As campanhas para coleta de amostras foram divididas entre os meses de abril, maio e junho de 2015.

3.2.3.2 Amostragem

A etapa de amostragem foi baseada no Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras: Águas, sedimentos, comunidades aquáticas e efluentes líquidos, guia elaborado pela CETESB juntamente com a Agência Nacional de Águas (ANA). Antes de todas as idas ao campo, era elaborado um planejamento das atividades, com o planejamento da rota e possíveis rotas alternativas, elaboração e impressão de etiquetas para identificação das amostras, separação do material a ser utilizado na coleta dentre outros. O volume de amostra coletado foi de 1000 mL. As amostras foram acondicionamento em caixas térmicas com gelo e mantidas sob refrigeração até o momento da análise. Os dados de data, hora, local de coleta, medidas de campo (clima, temperatura e umidade) foram registrados no momento da coleta na etiqueta, como apresentado no anexo B. As amostras foram coletadas em frascos âmbar de

500 mL com *batok* e tampa em duplicata. Tais amostras foram preservadas em gelo durante o transporte para a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, para que fossem realizados os ensaios de quantificação/detecção de nonilfenol, pH e condutividade. As análises de pH foram feitas em triplicatas, após a calibração do equipamento. Ensaios de condutividade foram realizados segundo método USEPA 9050A – *SPECIFIC CONDUCTANCE*, que preconiza o uso do padrão de KCl 0,01 mol L⁻¹ (condutividade = 1413 μS cm⁻¹). O ensaio foi garantido por determinações de condutividade em soluções obtidas por sucessivas diluições deste padrão e construção de curva analítica. A condutividade corrigida foi obtida por interpolação na curva analítica.

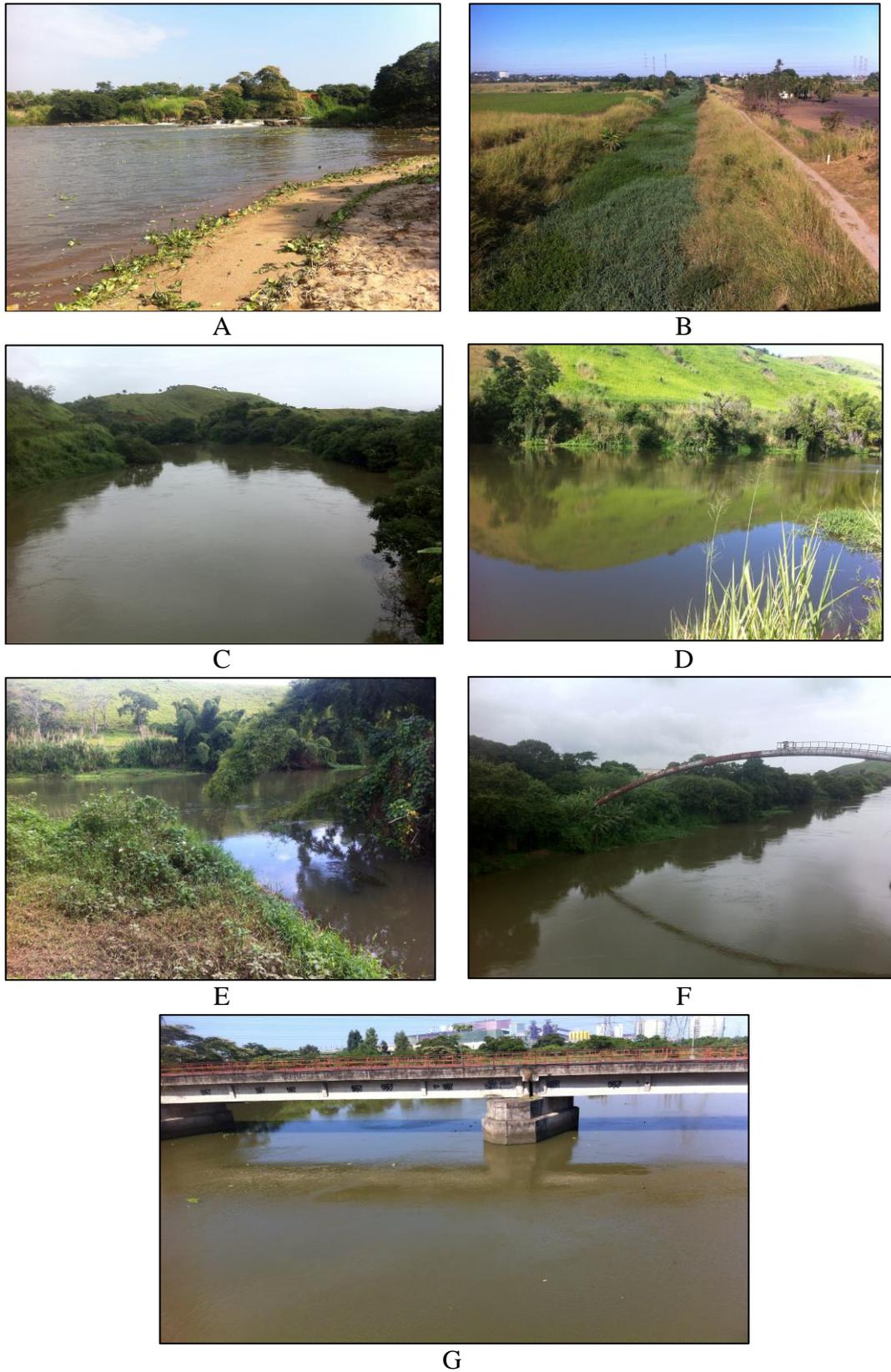


Figura 11. Pontos de coleta de água superficial do Rio Guandu e seus afluentes da região metropolitana do Rio de Janeiro: (E) Rio Ribeirão das Lages, próximo a hidrelétrica de Paracambi, (F) Queimados e da zona oeste da cidade do Rio de Janeiro, (G) Santa Cruz.



Figura 12. Visualização de satélite de todas as cidades, bem com todos os pontos de coleta abrangidos por essa dissertação.

3.2.2.3 Ensaio de determinação de nonilfenol em águas superficiais

Para determinação de nonilfenol, foram utilizados 100 mL de alíquota das amostras coletas e as análises foram feitas triplicatas. Procedeu-se então a extração através de cartucho de C18 previamente condicionado com 5 mL de metanol e 5 mL de água ultra pura. O cartucho foi eluído com metanol, sendo o volume do extrato completado a 5,00 mL em balão volumétrico. Os extratos foram submetidos a análise por CLAE-UV.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento do método cromatográfico

4.1.1 Condições Cromatográficas

Para a melhor escolha da composição da fase móvel, fez-se vários testes, para uma maximização dos parâmetros cromatográficos. Os resultados de cada teste fornecidos pelo software são apresentados na tabela 6.

Como pode ser visto pela tabela 6, o teste em que se utilizou acetonitrila e água, na composição de 90% de acetonitrila e 10% de água ultrapura como fase móvel, apresentou os melhores resultados, visto que se desejava sinais com pequena largura e um sinal bastante alto, contribuindo para um aumento da área do sinal, que trouxe ganho de sensibilidade ao método. Com a adoção desta fase móvel, foram obtido melhores valores e simetria do sinal, resolução e uma maior eficiência de separação (pratos teóricos).

Após testes, definiu-se o método de ensaio de nonilfenol usando o equipamento HPLC, com coluna cromatográfica de fase reversa. A corrida cromatográfica, utilizou como fase móvel a mistura de ACN/H₂O (90/10) com duração de 15 minutos, visto que em aproximadamente doze minutos há um sinal de um interferente da matriz, como apresentado na figura 13.

4.1.2 Volume de injeção.

Assim como descrito em 3.2.1.3, para a obtenção de um melhor volume de injeção, fez-se vários testes, injetando-se diferentes volumes e observou-se a simetria do sinal gerado. Os resultados, retirados dos cromatograma de cada teste pode ser visto na tabela 7.

Tabela 5. Comparação dos parâmetros cromatográficos entre as fases móveis testadas.

Fase Móvel	Área	Largura	Altura	Simetria	Tempo de Retenção (min)	Pratos teóricos	Resolução
90-10 (ACN/H ₂ O)	6,5389	0,0998	0,596	0,89	3,672	4379	2,65
80-20 (ACN/H ₂ O)	2,5872	0,1792	0,207	0,78	6,762	5236	0,88
Gradiente(ACN/H ₂ O)							
0 -3 min (80/20)	5,6544	0,1276	0,276	0,81	4,075	5125	0,85
3-15 min (90/10)							
80-20 (MeOH/H ₂ O)	5,0087	0,2432	0,2575	0,96	12,334	8672	0,73

Tabela 6. Volume de injeção

Analito	Conc	Volume de Injeção	Simetria
Nonilfenol	1000 $\mu\text{g L}^{-1}$	10 μL	0,94
		20 μL	0,99
		30 μL	1,34
		40 μL	2,02
		50 μL	2,67

Como pode ser visto na tabela acima, o melhor valor de simetria do pico cromatográfico foi observado com a injeção de 20 μL de padrão. Nos testes em que um volume de injeção superior a 20 μL foram usados, a perda de simetria do pico foi observada. A simetria do pico cromatográfico obtido pela injeção de 10 μL de padrão foi inferior ao valor observado para a injeção de 20 μL . Assim, definiu-se 20 μL como o melhor volume de injeção.

Nas condições otimizadas de trabalho, utilizou-se como fase móvel a mistura ACN/ H_2O (90/10) em modo isocrático, com volume de injeção 20 μL . Cada corrida, transcorreu durante teve 15 minutos de duração. O detector operou em comprimento de onda 225 nm.

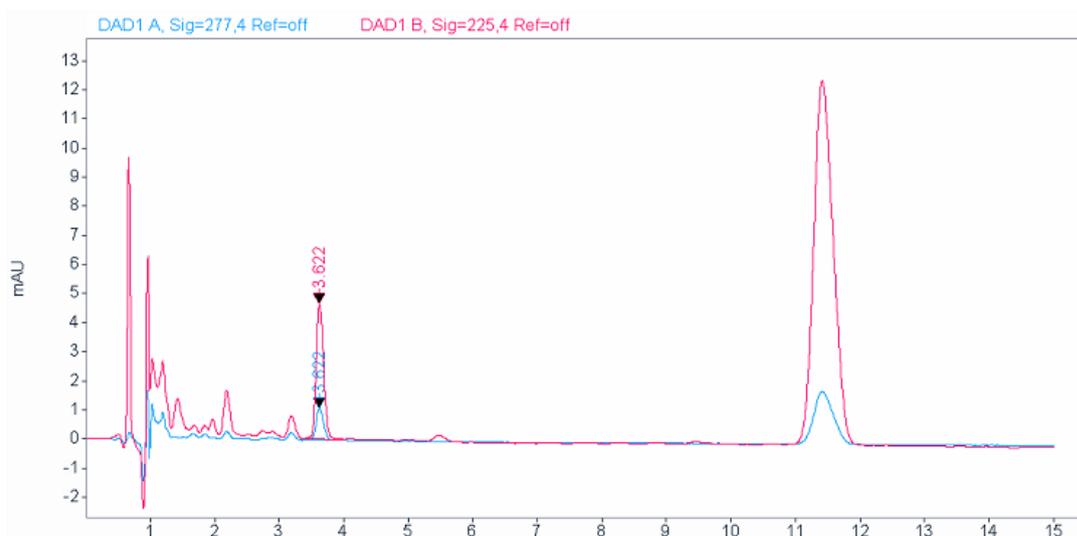


Figura 13. Cromatograma do nonilfenol com as condições otimizadas.

4.1.3 Método de extração

Para a escolha do método de extração a ser utilizado, testou-se algumas variáveis, entre elas, a característica de composição do adsorvente do cartucho, o solvente de eluição, o volume de eluição. A tabela 7 demonstra os valores de recuperação e precisão para os testes realizados para a otimização da extração.

Tabela 7. Valores de recuperação e precisão dos testes realizados.

Teste	Recuperação	Precisão
1	6,2%	72,5%
2	15,7%	48,2%
3	92,5%	2,4%
4	57,3%	7,2%
5	72,7%	3,5%
6	93,6%	2,0%

Como pode ser visto na tabela 5 e também pelos resultados da tabela 8, percebe-se que para cartuchos com fase sólida em C18 (teste 3 a 6) apresentaram-se melhores valores de recuperação e precisão em comparação com cartuchos de fase sólida polimérica (testes 1 e 2). Com isso, adotou-se o cartucho com fase sólida C18 como o cartucho de extração. Dentre os testes nos quais os cartuchos foram utilizados, pode-se perceber que o teste que forneceu melhores valores tanto para recuperação, quanto para precisão, foi o teste 6 em que 5 mL de metanol foram utilizados como solvente de eluição. Além desse fato de melhor taxa de recuperação e precisão, tal método ainda é mais vantajoso com relação ao tempo, visto que nos testes 4 e 5 houve a utilização de hexano e diclorometano respectivamente como solventes de eluição, e fez-se necessário evaporá-los, seguida de uma ressuspensão em metanol para posterior injeção.

4.2 Validação do método para determinar nonilfenol

4.2.1 Linearidade

Para a avaliação da seletividade do método, foram preparadas seis amostras sintéticas com diferentes concentrações como mostrada no item 3.2.3.1 e foram extraídas conforme método descrito em 3.2.1.3. Além das amostras sintéticas, fez-se a análise também para soluções trabalho (padrões em metanol), para se determinar o efeito de matriz no método desenvolvido. As curvas analíticas (amostra sintética e padrões em metanol) são mostrados na figura 13.

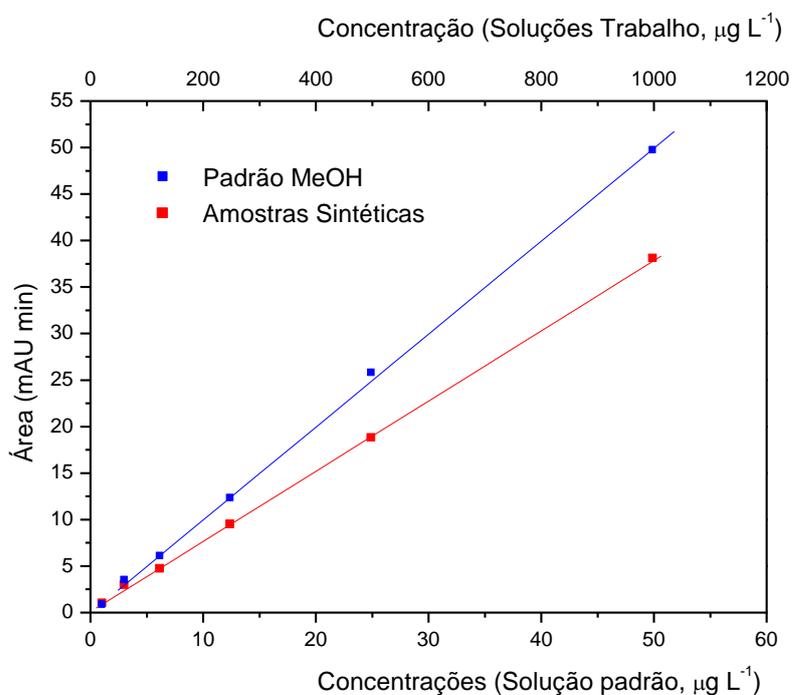


Figura 14. Curvas analíticas da amostra sintética e da amostra padrão em metanol.

Os parâmetros das duas curvas são mostrados na tabela 8.

Tabela 8. Equação da reta obtida e o coeficiente de correlação para o nonilfenol

	Padrão MeOH	Amostras Sintética
a	0,051	0,737
δa	0,001	0,013
b	-0,302	0,222
δb	0,27	0,17
R^2	0,9987	0,9990
R	0,9993	0,9995
erro padrão	0,04	0,025
incerteza	6,34	10,99

O parâmetro **a** refere-se ao coeficiente angular e o erro padrão no coeficiente angular é dado por δa . É importante notar que as escalas de concentração das amostras sintéticas e das soluções trabalho são distintas e a comparação direta entre os dois coeficientes angulares não pode ser feita. Entretanto, considerando que esses coeficientes angulares diferem por um fator teórico de 20, o coeficiente angular corrigido para a amostra sintética será 0,037, menor que o valor observado para o coeficiente angular da curva analítica obtida para as soluções trabalho, com desvio de 27%. Segundo a metodologia de validação USEPA 8000D, um desvio igual ou superior a 30%, sugere a existência de efeito de matriz. Considerando o valor encontrado (27%) bem próximo a este limite, admitiu-se o efeito de matriz. Os erros encontrados para os coeficientes angulares são pequenos (2%), o que contribui para uma incerteza pequena na determinação da concentração através da equação da reta.

Os coeficientes lineares são não nulos e introduzem tendência na linearidade. Como o coeficiente linear na equação da curva analítica das soluções trabalho é negativo, a tendência observada leva a um erro positivo na quantificação. O contrário é observado para a curva analítica das amostras sintéticas. Os erros nos coeficientes lineares representam grande fonte de incerteza nos valores finais de concentração.

Os coeficientes de regressão (r e R^2) sugerem excelente correlação e linearidade. Os erros padrão de regressão e a incerteza da curva analítica sugerem possíveis as quantificações das amostras tanto pela equação da reta quanto pelos fatores de resposta.

O efeito de matriz também foi avaliado estatisticamente assim como a análise de resíduos. O efeito de matriz e análise de resíduos, foram verificados via utilização do teste *t* de *Student*, conforme equação 6 do item 3.2.3.1. Esse teste possui como resultado, os valores de $t_{\text{calculados}}$ acima do valor t_{tabelado} , indicam que o ponto não pode ser considerado pertencente

a curva de regressão. Para esta avaliação, utilizou-se o $t_{\text{tabelado}(6,95\%)} = 2,447$, que indica seis graus de liberdade (n-1) e um nível de confiança de 95%.

Tabela 9. Valores de t calculados, obtido pelo teste t de Student

$\mu\text{g L}^{-1}$	50	25	12,5	6,25	3,1	1,15
t calc	6,77	3,85	0,81	0,39	0,29	0,030

Os resultados mostrados pela tabela 9, demonstram que dois pontos ($50 \mu\text{g L}^{-1}$ e $25 \mu\text{g L}^{-1}$) que estão acima do valor tabelado ($t_{\text{tab}} = 2,447$), significando que os mesmos não são pertencentes à reta de regressão linear, que estatisticamente confirmam o efeito de matriz, visto visualmente na figura 13. O gráfico de resíduos apresentada a distribuição espacial dos resíduos em função das concentrações e, pode-se observar, visto visualmente, um comportamento que varia com a concentração, o que sugere uma distribuição heterocedástica. O gráfico de resíduos corrobora com a afirmativa anterior de efeito de matriz, visto que há dois pontos que a estatística comprova que não pertencem a curva de amostra sintética, como pode ser visto pelo gráfico de resíduos, figura 15, os dois pontos apresentam altos valores de resíduos quando comparados com os demais pontos.

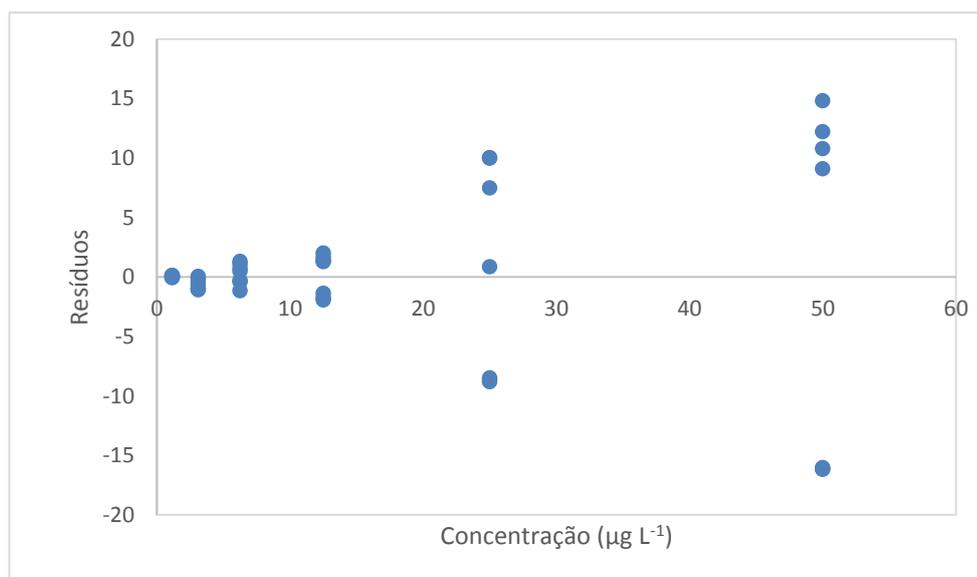


Figura 15. Gráfico de resíduos para o nonilfenol.

Os resultados do coeficiente angular (a), o erro padrão associado ao coeficiente angular (δa), o coeficiente linear (b), o erro padrão associado ao coeficiente linear (δb), o coeficiente de correlação, o erro padrão total e a incerteza de linearidade das amostras sintéticas do intra dia 1 e 2 e também da linearidade inter dia são mostrados na tabela 10.

Tabela 10. Resultados da linearidade .

	Intra dia		Inter dia
	dia 1	dia 2	
A	0,745	0,741	0,738
Δa	0,019	0,015	0,013
B	0,064	0,088	0,222
Δb	0,39	0,31	0,173
R^2	0,9979	0,9986	0,9990
R	0,9989	0,9993	0,9995
erro padrão	0,054	0,046	0,026
incerteza	14,4	14,41	14,44

De posse da tabela 10, foi possível confeccionar as curvas analíticas para cada dia, como apresentado na figura 16 a seguir.

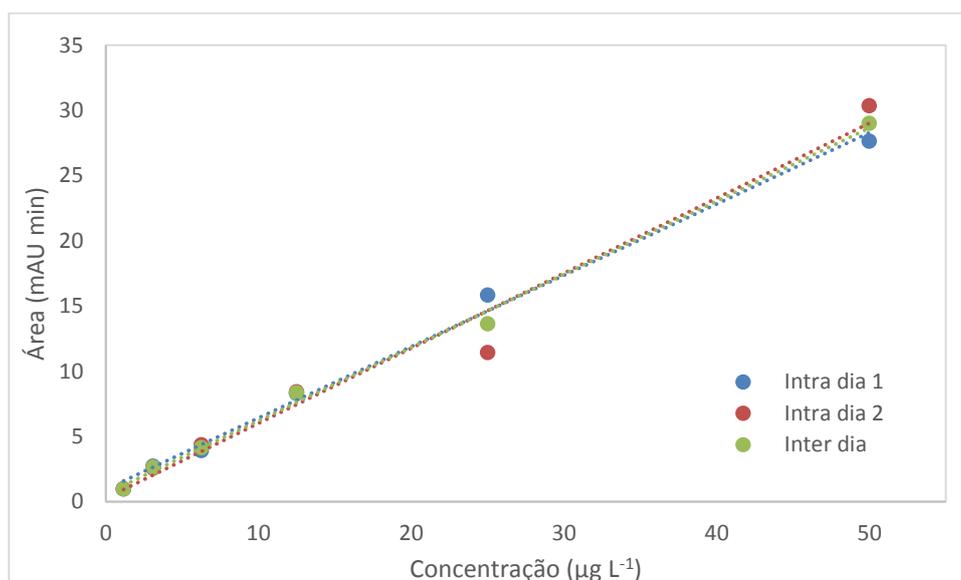


Figura 16. Linearidade.

Os valores de r , R^2 , incerteza estão de acordo com a especificação do USEPA 8000 D. O método preconiza valores de $R^2 > 0,99$, valores de $r > 0,995$, incerteza $< 20\%$ e erro padrão relativo $< 20\%$. Porém, foi possível identificar que há efeito de matriz na comparação das curvas analíticas das amostras sintética e padrão em MeOH, como observou-se estatisticamente.

4.2.2 Faixa de trabalho

Como visto no item anterior, conseguiu-se validar a curva analítica com seis pontos, com todos os valores aceitáveis de acordo com o método da USEPA que se utilizou para validar este trabalho, inclusive com valores de incerteza abaixo de 15%, porém há dois valores que apresentam um grande desvio (resíduos) entre os valores esperado e calculado, que não pertencem a curva analítica da amostra sintética.

Com esse resultado, eliminou-se os dois pontos que não pertenciam a reta e adotou-se uma faixa linear de trabalho $1,15 \mu\text{g L}^{-1}$ até $12,5 \mu\text{g L}^{-1}$. Tal faixa de trabalho se justifica, pois não se esperava encontrar valores de nonilfenol em amostras de água superficiais em concentrações tão elevadas e sim em baixas concentrações, exatamente dentro da faixa linear de trabalho. Tais resultados são mostrados nas figuras 17 e 18 a seguir. Pode-se observar, que a faixa de trabalho ainda possui uma distribuição heterocedástica, mesmo após a retirada dos dois pontos que não pertenciam a curva analítica como mostrado estatisticamente.

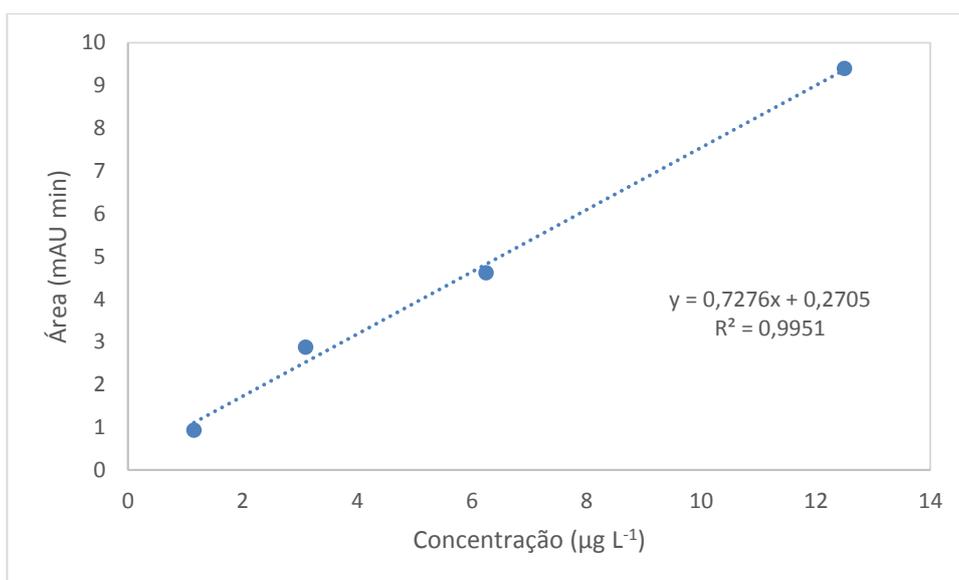


Figura 17. Faixa linear de trabalho.

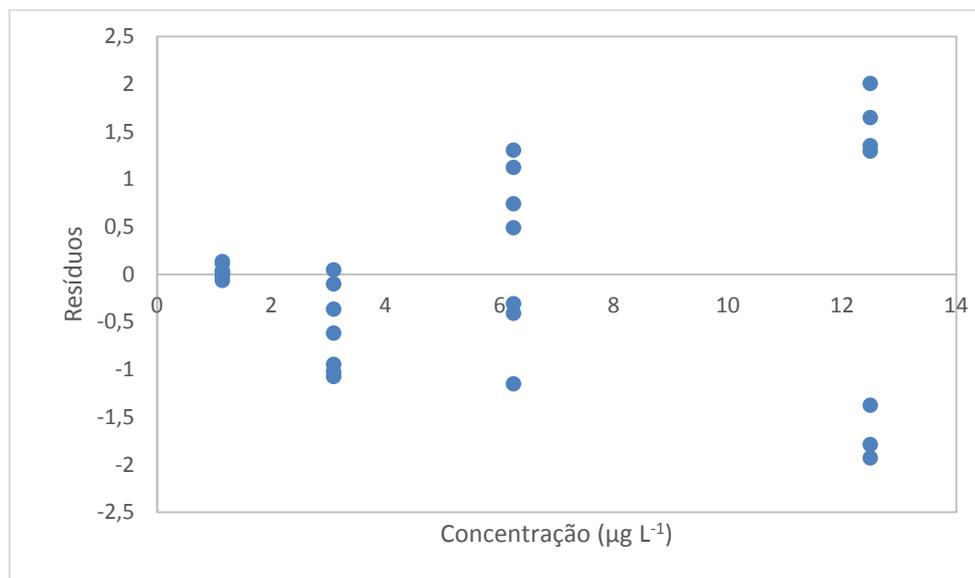


Figura 18. Gráfico de resíduos para faixa linear de trabalho.

4.2.3 Limite de quantificação e de detecção.

A tabela 11 demonstra os valores obtidos para limite de quantificação e limite de detecção para um nível de confiança de 99% e um intervalo de aceitação de dois sigma (2σ).

Tabela 11. Valores de limite de detecção e limite de quantificação.

inj	Conc Nominal		Conc calculada	
	(µg L ⁻¹)	Área	(µg L ⁻¹)	(%)
1	23	1,1109	1,409	122,54%
2	23	1,0538	1,337	116,24%
3	23	1,4047	1,782	154,95%*
4	23	1,129	1,432	124,54%
5	23	1,1519	1,461	127,06%
Média resposta		1,1114		
Desvio padrão Conc calculada			0,001	
LQ (µg L ⁻¹)			23	
LD (µg L ⁻¹)			3,8	

* valor aberrante segundo o teste de Grubbs.

A tabela 12 demonstra os valores obtidos para limite de quantificação do método e limite de detecção do método para um nível de confiança de 99% e um intervalo de aceitação de dois sigma (2σ).

Tabela 12. Valores de limite de detecção do método e limite de quantificação do método.

inj	Conc Nominal		Conc Calculada	
	($\mu\text{g L}^{-1}$)	área/conc	($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação
1	1,15	0,847	1,061	92,26%
2	1,15	0,819	1,026	89,20%
3	1,15	0,876	1,097	95,42%
4	1,15	0,809	1,014	88,19%
5	1,15	0,744	0,933	81,12%
6	1,15	0,825	1,033	89,86%
7	1,15	0,757	0,949	82,48%
Desvio padrão resposta			0,058	
LDM ($\mu\text{g L}^{-1}$)			0,184	
LQM ($\mu\text{g L}^{-1}$)			1,15	

4.2.4 Exatidão e Precisão

A tabela 13 demonstra os valores obtidos para exatidão e precisão do método proposta para três níveis de concentração diferentes. Para este procedimento, utilizou-se as concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$): 1,15, 6,25 e 50, injetadas em quintuplicata para cada nível de concentração em dois dias distintos.

Tabela 13. Exatidão (recuperação) e precisão da metodologia analítica

Conc ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	Exatidão (Recuperação)			Precisão (DPR)		
	Intra dia*		Inter dia**	Intra dia*		Inter dia**
	Dia 1	Dia 2		Dia 1	Dia 2	
1,15	79,8	84,52	82,15	4,44	12,20	9,60
6,25	83,07	96,73	89,90	5,03	12,92	9,91
50,0	81,65	82,97	82,24	4,58	14,3	10,4

* n= 5 ; ** n=10

Como pode ser visto na tabela 13, a metodologia proposta por esse trabalho, apresentou valores adequados de exatidão (recuperação), visto que o guia preconiza valores entre 70% e 130% e precisão conforme o guia utilizado para a validação, já que o guia preconiza valores inferiores a 20%.

4.3 Verificação da calibração

Para a quantificação das amostras, revalidou-se a curva analítica da validação. Para esse procedimento, fez-se uma nova curva analítica (verificação – 02/05/15), onde esta curva passou pelo mesmo procedimento que a curva analítica validada (26/02/2015) e comparou-se as duas. A figura que mostra as duas curvas está mostrado abaixo. Após, fez-se o teste F, para verificar se as curvas apresentavam diferença significativa ou não.

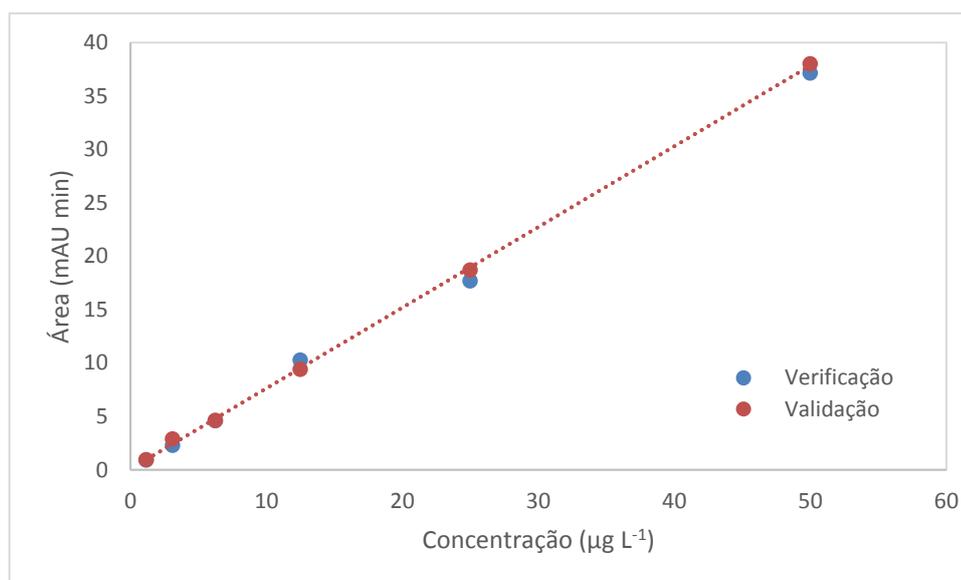


Figura 19. Comparação entre a curva analítica feita na validação e a curva analítica de verificação.

Os coeficientes angulares, linearidades, erro padrão, valores de r , R^2 podem ser vistos na tabela 14 a seguir.

Tabela 14. Comparação entre as duas curvas

	Confirmação	Validação
a	0,713	0,738
δa	0,036	0,013
b	0,306	0,222
δb	0,468	0,173
R^2	0,9922	0,9990
R	0,996	0,9995
erro padrão	0,007	0,025
incerteza	5,466	9,10

Tabela 15. Valores de concentração, área, relação área/concentração e desvio-padrão

Conc ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Área média		Área/Conc		Desvio-padrão (σ)	
	validação	confirmação	validação	confirmação	validação	confirmação
50,0	37,99	37,14	37,99	37,14		
25,0	18,70	17,67	37,40	35,35		
12,5	9,40	10,28	37,59	41,12	3,590	2,065
6,25	4,62	4,60	36,93	36,78		
3,10	2,87	2,29	46,31	36,97		
1,15	0,93	0,90	40,55	39,25		

Tabela 16. Teste F.

Teste F	
σ_1 (validação)	3,590
σ_2 (confirmação)	2,065
$(\sigma_1)^2$	12,888
$(\sigma_2)^2$	4,262
$F_{\text{cal}} =$	$(\sigma_1)^2 / (\sigma_2)^2$
$F_{\text{cal}} =$	3,024
$F_{\text{tab}} =$	5,05

Como pode ser visto pela tabela 16, após o final do tratamento estatístico entre as duas curvas, uma curva analítica feita durante a validação e uma segunda curva analítica de

verificação, percebe-se que o valor de $F_{\text{calculado}}$ (3,024) é menor do que F_{tabelado} (5,05) o que indica que as duas curvas não apresentam diferença significativa, para um nível de confiança de 95% e utilizando 5 graus de liberdade (n-1). Como as duas curvas não possuem diferença significativa, escolheu-se a curva mais recente. A equação da curva referente a faixa linear de trabalho, esta que foi utilizada para a quantificação das amostras coletas, como já descrito em 4.1.3 pode ser visto pela figura 19.

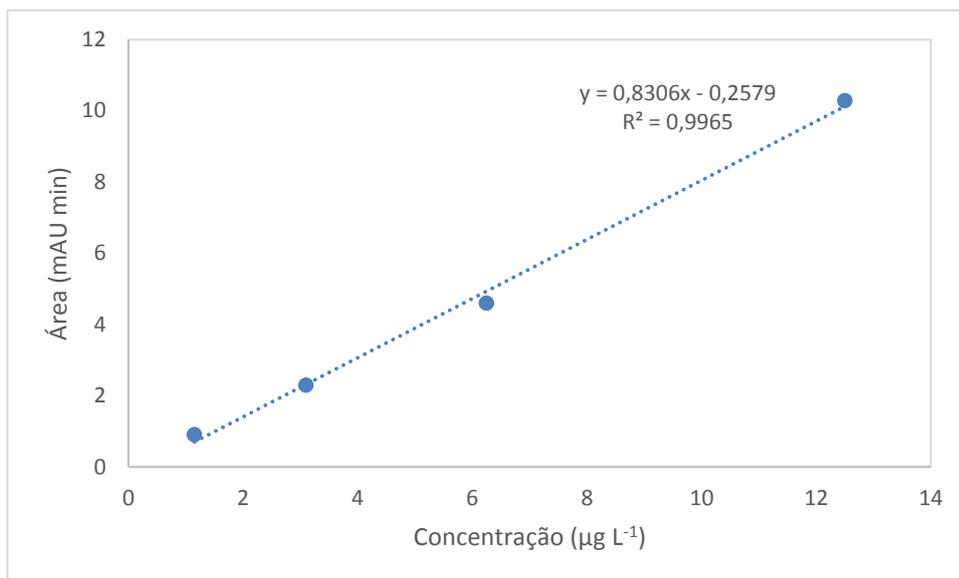


Figura 20. Faixa linear de trabalho.

4.4 Comparação com a literatura.

O desenvolvimento do método para determinação de nonilfenol em amostras de águas superficiais, apresentou valores de limites de detecção e quantificação de 3,8 e 23 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente e limites de detecção e quantificação do método de 0,18 e 1,15 $\mu\text{g L}^{-1}$. Garantiu-se a linearidade dentro de uma faixa de 1,15 $\mu\text{g L}^{-1}$ até 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, porém adotou-se uma faixa de trabalho mais restritiva, de 1,15 $\mu\text{g L}^{-1}$ até 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. De acordo com a literatura, a concentração média de nonilfenol em águas superficiais é 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$, valor próximo ao limite inferior da faixa linear de trabalho. O limite inferior da faixa linear de trabalho é coerente com os dados reportados na literatura, para ensaios por CLAE-UV. Valores ainda menores são atingidos com detectores mais sensíveis, como detectores de fluorescência e espectrômetros de massa. A tabela 18 resume parâmetros de validação e

características analíticas de métodos comumente usados para determinação de nonilfenol em águas superficiais.

Tabela 17. Determinação do nonilfenol em amostras de água.

Técnica	LQ e LD	Condição Analítica	Detecção	Referência
CG	LD = 0,8 ng L ⁻¹ LQ = 2,6 ng L ⁻¹	Gás arraste: He Coluna: ZB5 Temperatura: 100° C – 300° C Tempo de análise: 25 minutos Derivatização: Piridina + BSTFA	EM	Zhou, Liu, Wilding, 2004.
CLAE	LD = 0,02 µg L ⁻¹ LQ = 0,13 µg L ⁻¹	Coluna: C18 (250 mm x 4,6 mm i.d , 13 Å) Fase Móvel: H ₂ O/THF (1:1) Fluxo: 1 mL min ⁻¹ Eluição: isocrático Tempo de análise: 15 minutos	Fluorescência λ _{exi} = 225 nm λ _{emi} = 300 nm	Zgola-grzeskowiak et al., 2009
CLAE	LQ < 4 µg L ⁻¹	Coluna: C8 e aminosilica C18 - (250 mm x 4,6 mm i.d , 10 µm, com pré coluna 30 mm x 4 mm i.d Amino - 100 mm x 4 mm i.d, 3 µm Fase Móvel: ipropOH/H ₂ O/ACN/ACN:H ₂ O (45:55) Fluxo: 1,2 mL min ⁻¹ Eluição: gradiente Tempo de análise: 25 minutos	UV λ _{fase reversa} = 225 nm λ _{fase normal} = 277 nm Fluorescência λ _{exi} = 230 nm λ _{emi} = 295 nm	Marconini, Capri, Giger, 1987.
CLAE	LD = 0,03 µg L ⁻¹ LQ = 0,08 µg L ⁻¹	Coluna: C8 (125 mm x 3 mm i.d, 5 µm) Fase móvel: hexano/2-propanol (98,5:1,5) Fluxo: 0,6 mL min ⁻¹ Eluição: isocrático Tempo de análise: 10 minutos	Fluorescência λ _{exi} = 228 nm λ _{emi} = 305 nm	Ahel et al., 2000
CLUE	LD = 9 µg L ⁻¹ LQ = 29 µg L ⁻¹	Coluna: C18 (50 mm x 2 mm i.d, 5 µm) Fase móvel: ACN/H ₂ O Fluxo: 0,12 mL min ⁻¹ Eluição: gradiente	Fluorescência λ _{exi} = 280 nm λ _{emi} = 306 nm	Filho, 2012.

		Tempo de análise: 10 minutos Temperatura: 60° C		
CLAE	LD = 34 $\mu\text{g L}^{-1}$ LQ = 118 $\mu\text{g L}^{-1}$	Coluna: C18 (250 mm x 4,6 mm i.d) Fase móvel: ACN/H ₂ O Fluxo: 0,8 mL min ⁻¹ Eluição: gradiente Tempo de análise: 40 minutos	DAD = 277 nm	Raimundo, 2007.
CLAE	LD = 4,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ LQ = 16,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	Pré-Coluna: C18 (4 mm x 2 mm i.d) Fase móvel: MeOH/H ₂ O Fluxo: 0,2 mL min ⁻¹ Eluição: gradiente Tempo de análise: 23 minutos	EM	Moreira, 2008.

A metodologia analítica desenvolvida e validada neste trabalho apesar de não atingir valores de limite de quantificação e limite de detecção na faixa dos valores atingidos nos trabalhos com a utilização de MS/MS e FLU (Zhou, Liu, Wilding, 2004; Zgola-grzeskowiak et al., 2009; Ahel et al., 2000) apresenta valores inferiores quando comparados com outros métodos que utilizam UV (Marconini, Capri, Giger, 1987; Raimundo, 2007), MS/MS (Moreira, 2008), FLU (Filho, 2012). O método é uma alternativa simples e de baixo custo para determinação de nonilfenol em águas superficiais, visto que é uma metodologia com bons valores de recuperação (exatidão), precisão, baixa incerteza além de apresentar um limite de quantificação abaixo do nível máximo de contaminantes (MCL) como preconizado pela USEPA, que mostra grande utilidade no monitoramento desse desregulador endócrino em diversos pontos de coleta.

4.5 Análise das amostras de água coletadas

Aplicando-se a metodologia validada nas amostras de água superficial provenientes da bacia do rio Guandu, na região da baixada fluminense, foi possível realizar a determinação de nonilfenol em amostras coletadas na bacia hidrográfica do rio Guandu. Também verificou-se as características físico-químicas dessas amostras coletadas, medindo-se pH, condutividade, temperatura dentre outros itens. As propriedades físico-químicas das amostras pode ser visto nas tabelas 18 – 24.

Tabela 18. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Queimados, nos meses de abril, maio e junho de 2015.

	Queimados		
	Abril	Maio	Junho
Data	07.04.15	04.05.15	01.06.15
Hora	13.22	8.08	7.43
Temp amb (°C)	23,5	28,1	23,9
Umidade	63%	51%	67%
Temp amostra (°C)	25,5	25,2	22,3
pH	5,67	6,63	6,65
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	87,14	83,65	87,76
Cor	lev. amarelado	lev. amarelado	lev. amarelado
Odor	inodoro	inodoro	inodoro
Aspecto	turva	turva	límpida
OBS	material particulado fino	material particulado fino	-----

Tabela 19. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Japeri, nos meses de abril, maio e junho de 2015.

	Japeri		
	Abril	Maio	Junho
Data	07.04.15	04.05.15	01.06.15
Hora	14.32	9.22	8.12
Temp amb (°C)	26,2	32,5	22,1
Umidade	72%	35%	75%
Temp amostra (°C)	25,7	25,6	22,6
pH	5,93	6,52	6,54
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	91,15	89,87	90,76
Cor	lev. amarelado	lev. amarelado	lev. amarelado
Odor	inodoro	característico	inodoro
Aspecto	límpida	límpida	límpida
OBS	-----	-----	-----

Tabela 20. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas no Distrito Industrial de Santa Cruz – RJ, nos meses de abril, maio e junho de 2015.

	Santa Cruz		
	Abril	Maio	Junho
Data	13.04.15	11.05.15	08.06.15
Hora	7:45	8.54	8.56
Temp amb (°C)	27,3	26,4	24,8
Umidade	57%	61%	68%
Temp amostra (°C)	26,9	24,5	23,7
pH	6,47	6,16	6,69
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	94,29	93,54	94,08
Cor	lev. amarelado	lev. amarelado	lev. amarelado
Odor	inodoro	inodoro	inodoro
Aspecto	límpida	límpida	límpida
OBS	-----	-----	-----

Tabela 21. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Seropédica, km 39, nos meses de abril, maio e junho de 2015.

	Seropédica		
	Abril	Maio	Junho
Data	13.04.15	11.05.15	08.06.15
Hora	8.57	8.10	8.13
Temp amb (°C)	25,4	25,0	24,5
Umidade	65%	63%	66%
Temp amostra (°C)	26,2	24,6	22,5
pH	6,26	6,04	6,59
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	100,5	103,43	102,45
Cor	lev. amarelado	lev. amarelado	lev. amarelado
Odor	característico	característico	característico
Aspecto	turva	límpida	límpida
OBS	sólidos em suspensão	-----	-----

Tabela 22. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Paracambi (Piraí), nos meses de abril, maio e junho de 2015.

	Piraí		
	Abril	Maio	Junho
Data	27.04.15	25.05.15	22.06.15
Hora	8.49	8.19	9.00
Temp amb (°C)	26,3	25,6	22,1
Umidade	74%	57%	82%
Temp amostra (°C)	24,7	23,4	21,6
pH	6,49	6,24	6,31
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	96,79	100,65	98,82
Cor	lev. amarelado	incolor	marrom
Odor	característico	característico	característico
Aspecto	Límpida	Límpida	turva
OBS	-----	-----	Espuma e vegetação

Tabela 23. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Paracambi, nos meses de abril, maio e junho de 2015.

	Paracambi		
	Abril	Maio	Junho
Data	27.04.15	25.05.15	22.06.15
Hora	9.22	7.47	8.17
Temp amb (°C)	29,7	25,4	23,1
Umidade	71%	53%	64%
Temp amostra (°C)	26,2	23,4	22,2
pH	6,39	6,08	6,28
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	97,05	99,54	100,31
Cor	lev. amarelado	incolor	incolor
Odor	característico	característico	inodoro
Aspecto	límpida	límpida	límpido
OBS	-----	-----	-----

Tabela 24. Resultados das análises físico-químicas das amostras coletadas em Itaguaí, nos meses de abril, maio e junho de 2015.

	Itaguaí		
	Abril	Maio	Junho
Data			08.06.15
Hora			9.24
Temp amb (°C)			27,1
Umidade			56%
Temp amostra (°C)			24,8
pH			5,99
Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	Não houve coleta	Não houve coleta	105,65
Cor			lev. amarelado
Odor			característico
Aspecto			límpido
OBS			rio totalmente coberto por vegetação

Foram analisadas 19 amostras coletadas nos pontos da baixada fluminense, como mostrado no item 4.1, entre os meses de abril, maio e junho do ano de 2015. Nas Figuras 21 - 23, pode-se ver as características visuais de todos os pontos de coletas nos meses de abril, maio e junho de 2015. Os resultados podem ser vistos na tabela 26.

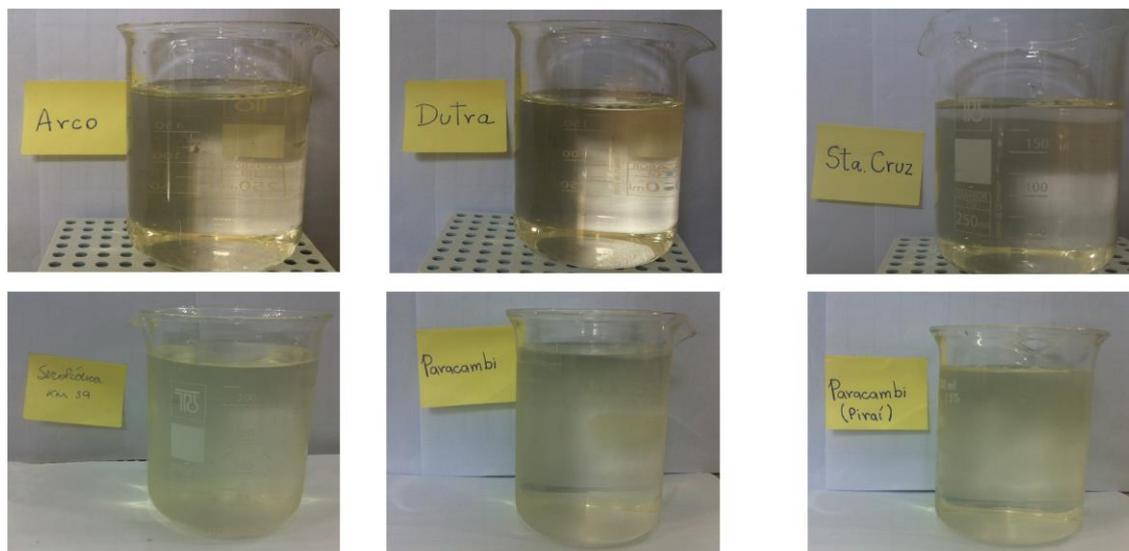


Figura 21. Amostras coletadas no mês de abril de 2015.

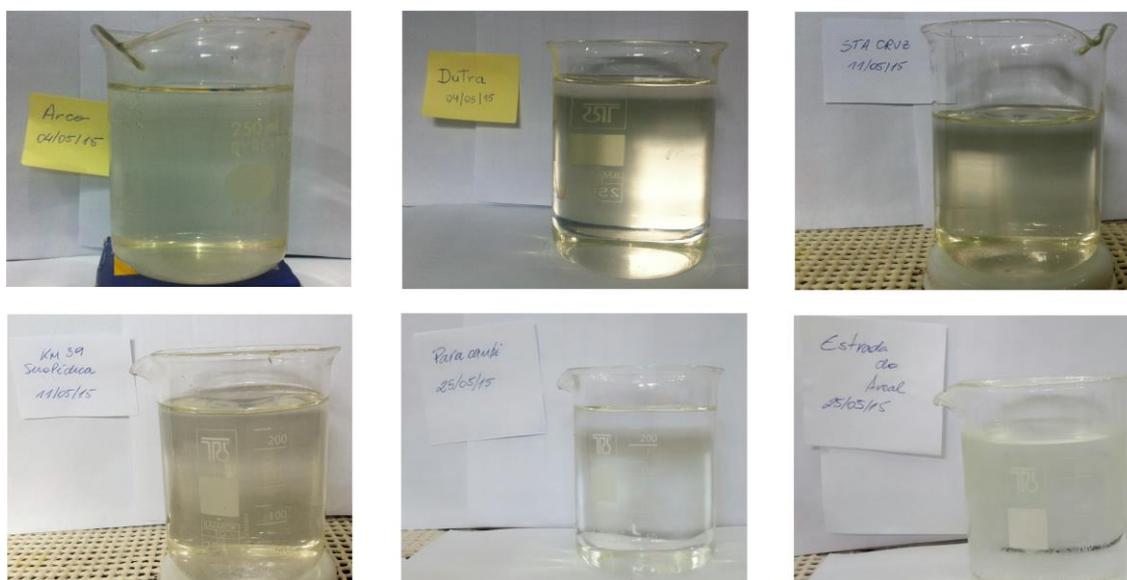


Figura 22. Amostras coletadas no mês de maio de 2015.

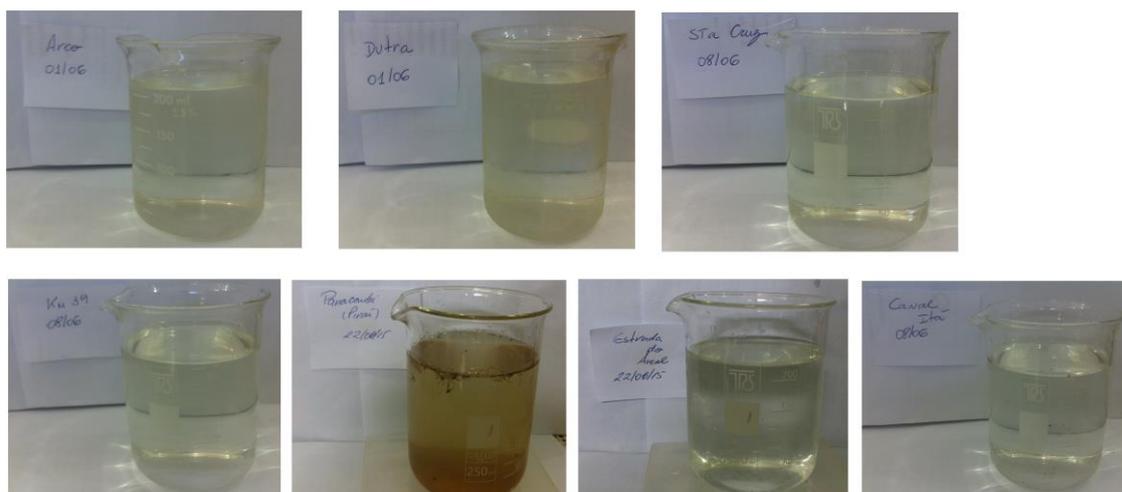


Figura 23. Amostras coletadas no mês de junho de 2015.

As figuras 21, 22 e 23, mostram o aspecto das amostras. Como pode ser observado, o aspecto das amostras variou de turva a límpida. Já a coloração das amostras, variou entre incolor a levemente amarelado com exceção da amostra coletada em Piraí no mês de junho, onde tal amostra apresentava uma coloração marrom, com espuma na superfície. Com relação ao odor das amostras, houve uma variação entre amostras inodoras e amostras com odor característico.

Tabela 25. Determinação de nonilfenol nas amostras de água coletadas na bacia hidrográfica do Rio Guandu.

		Concentrações ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
Queimados		Japeri	Sta Cruz	Seropédica	Piraí	Paracambi	Itaguaí
Abril	d	nd	d	d	d	d	nc
Maio	d	nd	d	d	d	d	nc
Junho	nd	nd	1,73	nd	d	2,32	d

d = detectado abaixo do limite de quantificação.

nd = não detectado.

nc = não coletado.

Numa primeira análise, observando a tabela 26 e também a figura 9, não houve influência na quantificação/deteccção do nonilfenol em função dos índices pluviométricos.

Dentre os municípios investigados, apenas no município de Japeri não houve detecção do nonilfenol, muito em razão ao local de coleta, distante de indústrias ou residências, o que minimiza presença desses poluentes, além de ser o ponto de coleta menos sujeito à ação antrópica, uma vez que o município apresenta o menor número de habitantes e também que possui menor índice de industrialização da baixada fluminense. Em outras duas amostras coletadas em 1 e 8 de junho de 2015 não foi detectado, vindas de Queimados e Seropédica respectivamente. Dentro dos pontos de coleta investigados, houve um que levantou suspeita desde o início, que foi Santa Cruz, pois o ponto de coleta era dentro do distrito industrial que possui várias fontes fontes antropogênicas. Nesse ponto de coleta, quantificou-se o nonilfenol em $1,73 \mu\text{g L}^{-1}$, um valor abaixo do MCL, porém tal ponto necessita de uma atenção extra, devido ao desague no mar, onde o MCL diminui drasticamente seu valor.

Outro ponto onde se quantificou a presença de nonilfenol, foi no município de Paracambi. O local de coleta neste município, não se mostrava um local em potencial para encontrar o nonilfenol, visto que o ponto de coleta é afastado do centro da cidade. O ponto de coleta era em um afluente do rio Guandu, o rio Ribeirão das Lajes. No mês de junho encontrou-se um valor de concentração de nonilfenol de $2,32 \mu\text{g L}^{-1}$, superior ao limite de quantificação. Assim como em Santa Cruz, já há um risco a todo tipo de vida que ali existe e também que se utiliza dessa água ou por exemplo peixes desse rio para seu próprio alimento.

Outros pontos de coleta também merecem atenção, como por exemplo Seropédica, onde nonilfenol foi detectado (ainda que tenham sido registrados valores de área que não poderiam ser quantificadas). O local de coleta, foi onde moradores da área costumam pescar e depois comercializam o pescado na BR-465. A concentração de nonilfenol ali é baixa, mas o problema que envolve este local está ligado com o fenômeno da bioacumulação. Uma outra forma de visualizar tal problema é que essa água superficial, que serviu como amostra para este trabalho, serve como água de captação, para posterior tratamento e distribuição para a população.

5 CONCLUSÕES

O processo de validação da metodologia analítica forneceu confiabilidade estatística aos dados, confirmando a exatidão, precisão, além de boa linearidade nas faixas de trabalho consideradas. O método de extração por fase sólida se mostrou eficiente na recuperação do nonilfenol, uma vez que a recuperação variou entre 80% e 96%.

Os limites de detecção e quantificação alcançados, após concentração de 100 mL de amostra se mostram coerentes com os limites necessários para tais análises ambientais e abaixo do nível máximo de contaminantes (MCL), o que torna o método uma importante ferramenta para análise de rotina para determinação de nonilfenol pelos órgãos responsáveis, visando sempre uma melhor qualidade da água distribuída a população.

Pela aplicação da metodologia nas amostras de água provenientes da bacia do rio Guandu, foi possível verificar a presença do nonilfenol, em baixas e altas concentrações nas amostras de água superficial. O nonilfenol foi identificado em seis municípios dos sete coletados. Apenas 5 amostras das 19 coletadas, não houve a detecção de nonilfenol e em duas dessas 19, houve a quantificação de nonilfenol, uma em Santa Cruz e uma outra em Paracambi, ambas no mês de junho de 2015. Esses resultados demonstram que as atividades antrópicas na região influenciam a qualidade da água utilizada para a captação para posterior distribuição para população.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Este trabalho desenvolvido deixa algumas grandes perspectivas futuras para novos projetos. Poderia-se pensar em aumentar a área de estudo, abrangendo assim novos municípios da Baixada Fluminense e avaliar a influência da sazonalidade na concentração deste analito em amostras de água superficiais. Uma segunda perspectiva, seria a inclusão de novos analitos, como por exemplo, outros desreguladores endócrinos, tais como 17α -etinilestradiol, β -estradiol, octilfenol, bisfenol A, e otimizar tal método, para uma análise cada vez mais completa das amostras a serem analisadas dentro da região. Adicionar testes ecotóxicos e com isso avaliar os efeitos das concentrações do analito e proposição de novas técnicas de degradação do nonilfenol em estações de tratamento de esgoto, para uma minimização deste em águas superficiais. O laboratório deve investir na garantia da qualidade e na acreditação à norma 17025, para cada vez mais, análises com qualidade certificada. Uma outra perspectiva, que transcorria em paralelo a adequação à norma 17025, seria a tentativa de diminuir o valor de limite de quantificação para verificar e confirmar as concentrações mais baixas. Além disso, deve haver continuidade de coletas nesses pontos e um maior engajamento com os órgãos ambientais no sentido de incluir os desreguladores endócrinos na lista dos poluentes legislados monitorados no meio ambiente. Cabe aqui ressaltar, será que na estação de tratamento de água, há métodos para retirada desse nonilfenol da água, seja método de oxidação ou não?? Será que a água distribuída a população é distribuída sem essa devida atenção aos desreguladores endócrinos, tornando toda a população exposta ao processo de bioacumulação??

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Nacional de Águas (ANA). 2006. Plano Estratégico de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica dos Rios Guandu, Guarda e Guandu-Mirim. Relatório do Diagnóstico – Final. **GDU-30-0003** RE. Revisão 0/0. Brasília, Sondotécnica Engenharia de Solos S.A., Superintendência de Planejamento de Recursos Hídricos, SPR/ANA.

AHEL, M.; GIGER, W.; KOCH, M.: Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment-I. Occurrence and transformation in sewage treatment. **Water Research**, n. 28, p. 1131-1142, 1994.

AHEL, M.; GIGER, W.; MOLNAR, E.; IBRIC, S.; Determination of nonylphenol polyethoxylates and their lipophilic metabolites in sewage effluents by normal-phase high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Croatica Chemica Acta**, vol. 73, nº 1, p. 209-227, 2000.

AHEL, M.; SCHAFFNER, C.; GIGER, W.: Behavior of alkylphenol polyethoxylates surfactants in the aquatic environmental-III. Occurrence and elimination of their persistent metabolites during infiltration of river water to groundwater. **Water Research**, n. 30, p. 37-46, 1996.

ALOUI, F.; KCHAOU, S.; SAYADIS, S.: Physicochemical treatments of anionic surfactants wastewater: Effect on aerobic biodegradability. **Journal of Harzardous Materials**, v. 164, n. 1, p. 353-359, 2009. ISSN 1873-3336 (electronic) 0304-3894 (linking). Disponível em:<
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18799262> ;

ANDREU, V.; FERRER, E.; RUBIO, J.L.; FONT, G.; PICÓ, Y.: Quantitative determination of octylphenol, nonylphenol, alkylphenol ethoxylates and alcohol ethoxylates by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry in soils treated with sewage sludges. **Science of the total Environment**, vol 378, p. 124-129, 2011.

AZEVEDO, D.A.; LACORTE, S.; VIANA, P.; BARCELO, D.; Occurrence of nonylphenol and bisphenol-A in surface waters from Portugal. **J.Brazil Chem. Soc**, vol. 12, nº 4, p. 532-537, 2001.

BERALDO, D.A.S.; Desenvolvimento e validação de método analítico para análise de bisfenol A e nonilfenol em águas superficiais da cidade de Americana, SP. **Dissertação de Mestrado**. USP-São Carlos, 2012.

BERNACKA, J.; PAWLOWSKA, L.; CHABER, P.; GÓRSKA, S.; KONDZIELSKI, I.; POLUBIEC, E.; Determination of the content of 4-nonylphenols and their ethoxylates in sewage sludge from polish municipal wastewater treatment plants. **Environment Protection Engineering**, vol.35, nº 3, p.65-79, 2009.

BILA, D. M.; MONTALVÃO, A. F.; AZEVEDO, D. A.; DEZOTTI, M. Estrogenic activity removal of 17 β -Estradiol by ozonation and identification of by-products. **Chemosphere**, v. 69, n. 5, p. 736-746, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Portaria nº 2914** de 2011, Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério do desenvolvimento urbano e meio ambiente. Conselho nacional do meio ambiente (CONAMA). **Resolução n. 357**, D.O.U. de 17/03/2005, Brasília, 2005.

CARMO, C.A.; ABESSA, D..S.; NETO, J.G.M.: Metais em águas, sedimentos e peixes coletados no estuário de São Vicente-SP, Brasil. **O mundo da Saúde**, vol. 35, p. 64-70, 2011.

CASTRO, C.M.; FERREIRINHA, M.M.: A problemática ambiental na bacia hidrográfica do rio Guandu: Desafios para a gestão dos recursos hídricos. **Anuário do Instituto de Geociências – UFRJ**, vol. 35, n. 2, p. 71-77, 2012.

CEC. Commission of the European communities. Community strategy for endocrine disrupters: a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of

humans and wildlife. Communication from the commission to the council and the European parliament, Brussels, COM (1999) 706 final, 1999.

COLBORN, T.; vom SAAL, F.S.; SOTO, A.M.: *Developmental effects on endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans*. **Environmental health perspectives**, vol 101, nº 5, 1993.

DEZOTTI, M.; BILA, D.M.; Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, vol. 30, nº 3, p. 651-666, 2007.

DIAS, T.F.; BARROS, H.O.M.; *A gestão dos recursos hídricos no Brasil: avanços legais e a experiência pelo uso da água*. In: A. S. Messias; M. R. N. Costa. (Org.). *Água – Tratamentos e políticas públicas*. **Série Encontro das águas**, n.04. Recife: UNICAP. Recife/PE, 2007.

DIAZ, A.; VÁSQUEZ, L.; VENTURA, F.; GALCERAN, M.T.; Estimation of measurement uncertainty for the determination of nonylphenol in water using solid-phase extraction and solid-phase microextraction procedures. **Analytica Chimica Acta**, vol 506, nº 1, p. 71-80, 2004.

EL SHAHAWI, M.S.; HAMZA, A.; BASHAMMAKH, A.S; AL SAGGAF, W.T. *An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants*. **Talanta**, vol 80, p. 587-1597, 2010.

EURACHEM: The fitness for purpose of analytical methods. **A laboratory guide to method validation and related topics**. Second Edition, 2014.

FAUSTO, L.; Exposição ocupacional ao chumbo. Monografia para grau de especialista em Enfermagem. Faculdade Iguazu, Pato Branco, 2009.

FERREIRA, A, P.: Endocrine disruptors in sludge wastewater treatment plants: environmental complications. **Acta Scientiarum Technology** , v. 35, n. 2, p. 307-316, 2013.

FILHO, N.S.L.: Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de interferentes endócrinos: aplicação em amostras de água da Baía de Todos os Santos, Ba. **Dissertação de Mestrado**. UFBA, 2012.

FILHO, R.W.R.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E.M.: Poluentes emergentes como desreguladores endócrinos. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, vol. 2, n. 3, p. 283-188, 2007

FRAGA, W.G.: Identificação e determinação dos principais ingredientes ativos em agrotóxicos ilegais apreendidos pela Polícia Federal do Brasil. **Dissertação de Mestrado**. Unb, 2012.

FYTIANOS, K.; PEGIADOU, S.; RAIKOS, N.; ELEFThERIADIS, I.; TSOUKALI, H.; Determination of non-ionic surfactants (polyethoxylated-nonylphenols) by HPLC in waste water. **Chemosphere**, vol. 35, nº7, p. 1423-1429, 1997.

GATIDOU, G.; THOMAIDIS, N.S.; STASINAKIS, A.S.; LEKKAS, T.D.: Simultaneous Determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1138, p. 32-41, 2007.

GIGER, W.; BRUNNER P.H.;, SCHAFFNER C.: 4-Nonylphenol in sewage-sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. **Science**, vol 225, p. 623-625, 1984.

GODOI, A.F.L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M.; Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. **Química Nova**, vol. 26, nº 5, p. 708-716, 2003.

HENRIQUES, M.D.; Degradação de nonilfenol polietoxilado e de efluente têxtil por meio da eletrocoagulação e processo fenton. **Dissertação de Mestrado**. UFSM, 2004.

INEA – Instituto Estadual do Ambiente. Disponível em: <
<http://www.inea.antigo.rj.gov.br/mais/financeiro.asp>>. Acessado em 01/08/2015

JARDIM, W.F.; GHISELLI, G.; Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, vol. 30, nº 3, p. 695-706, 2007.

JIANG, G.; CAI, Y.; LIU, J.; ZHOU, Q.; Multiwalled carbon nanotubes as a solid-phase Extraction adsorbent for the determination of bisphenol A, 4-n-nonylphenol, and 4-tert-octylphenol. **Anal. Chem.**, vol.75, p. 2517-2521, 2003.

LEITE, G.S.; AFONSO, R.J.de C.; AQUINO,S.F.: Caracterização de contaminantes presentes em sistemas de tratamento de esgotos, por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas tandem em alta resolução. **Química Nova**, vol. 33, n. 3, p. 734-738, 2010.

LOURENCETTI, C.; RIBEIRO, M.L.; Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar, **Química Nova**, vol. 30, nº3, p. 688-694, 2007.

MARCOMINI, A.; GIGER, W.; CAPRI, S.; Determination of linear alkylbenzenesulphonates, alkylphenol polyethoxylates and nonylphenol in waste water by high-performance liquid chromatography after enrichment on octadecylsilica. **Journal of Chromatography**, vol. 403, p. 243-252, 1987.

MARCOMINI, A.; GIGER.; Simultaneous determination of linear alkylbenzenesulphonates, alkylphenol polyethoxylates and nonylphenol by high-performance liquid chromatography. **Anal. Chem.**, vol. 59, p. 1709-1715, 1987.

MARTÍN-ESTEBAN, A.; BARAHONA, F.; TURIEL, E.; Determination of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in powdered milk infant formula by HPLC-FL. **Journal of Chromatography Science** vol. 49, p. 243-248, 2011.

MELLO-DA-SILVA, C.A.; FRUCHTENGARTEN, L.; Riscos químicos e ambientais à saúde da criança. **Jornal de Pediatria**, vol. 81, nº5, 2005.

MEYER, A.; SARCINELLI, P.; MOREIRA, J. C. Estarão alguns grupos populacionais brasileiros sujeitos à ação dos disruptores endócrinos? **Cadernos de Saúde Pública**, v. 15, n. 4, p. 845-850, 1999.

MINAMIYAMA, M.; OCHIA, S.; SUZUKI, Y.; Extraction of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates from sewage sludge using the pressurized fluid extraction method and the supercritical fluid extraction method by HPLC-FL. **Journal of Chromatography Science**, vol. 49, p. 243-248, 2011.

MOREIRA, D.S: Desenvolvimento de metodologia analítica por cromatografia /espectrometria de massas para avaliação da ocorrência de perturbadores endócrinos em mananciais de abastecimento da região metropolitana de Belo Horizonte. **Dissertação de Mestrado**. UFOP, 2008.

PREVIDELLO, B.A.F.; CARVALHO, F.R.; TESSARO, A.L.; SOUZA, V.R.; HIOKA, N. O pKa de indicadores ácido-base e os efeitos de sistemas coloidais. **Química Nova**, vol.29, n.3, p.600-606, 2006.

RAIMUNDO, M.C.C.; Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia. **Dissertação de Mestrado**. Unicamp, 2007.

REBOUÇAS, A.D.; *Água e desenvolvimento rural*. **Estudos Avançados**, vol 15, nº 43, 2001.

RENNER, R.: European Bans on surfactants trigger transatlantic debate. **Environmental Science & Technology**, v. 31, n. 7, p. 316A-320A, 1997.

REYS, L.L.; Tóxicos ambientais desreguladores do sistema endócrino. **RFML**, vol. 8, p. 213-225, 2001.

ROIG, B.; MNIF, W.; HASSINE, A.I.H.; BOUAZIZ, A.; BARTEGI, A, OLIVIER T.; Effect of endocrine disruptor pesticides: **A review**. **Int. J. Res. Public Health**, vol 8, p. 2265-2303, 2011.

SCHIAVINI, J.A.; CARDOSO, C.E.; RODRIGUES, W.C.: Desreguladores endócrinos no meio ambiente e uso de potenciais bioindicadores. **Revista Eletrônica TECCEN**, vol. 4, n.3, p. 33-48, 2011.

SILVA, F.V.; RODRIGUES, J.L.; BATISTA, B.L.; OLIVEIRA, D.P.: Alquilfenóis e alquilfenóis etoxilados: uma visão ambiental. **Revista Brasileira de Toxicologia**, vol. 20, n. 1, p.1-12, 2007.

SIQUEIRA, R.R.: Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de poluentes orgânicos persistentes na água do Rio dos Sinos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Feevale – Novo Hamburgo, 2012.

SOARES, A.; GUIEYSSE, B.; JEFFERSON, B.; CARTMELL, E.; LESTER, J.N.; Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. **Environment International**, vol. 34, p. 1033-1049, 2008.

SOLÉ, M.; ALDA, M.J.L.D.; CASTILLO, M.; PORTE, C.; LADEGAARD-PEDERSEN, K.; BARCELÓ, D.: Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from the Catalonian area (NE Spain). **Environmental Science & Technology**, v. 34, n. 24, p. 5076-5083, 2000.

SOTO, A.M.; JUSTICIA, H.; WRAY, J.W.; SONNENSCHNEIN, C.: P-Nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from “modified” polystyrene. **Environ Health Perspect**, vol. 92, p. 167-173, 1991.

SOUZA, R.R.: Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de disruptores endócrinos resultantes da atividade antrópicas nas águas da região do rio Paraíba do Sul, SP. **Dissertação de Mestrado**. USP, 2011.

TUCCI, C.E.M.; *Águas urbanas*. **Estudos Avançados**, vol 22, nº 63, 2008.

TUNDISI, J.G.; *Recursos hídricos no futuro: problemas e soluções. Estudos Avançados*, vol 22, nº 63, 2008.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Drinking Water Contaminants. National Primary Drinking Water Regulations.** Disponível em: <<http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm>>. Acesso em 07 maio 2015a.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **National Recommended water Quality Criteria.** Washington, 2009. Disponível em: <<http://water.epa.gov/scitech/swguidance/waterquality/standards/current/upload/nrwqc-2009.pdf>>. Acesso em 07 maio 2015.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Quality Control, SW 846.** Washington, 1992. Disponível em: <<http://www.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/aqlife/pollutants/nonylphenol/index.cfm>>. Acesso em 07 maio 2015.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Safe Drinking Water Act (SDWA).** Disponível em: < <http://water.epa.gov/lawsregs/rulesregs/sdwa/>>. Acesso em 07 mai. 2015b.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Aquatic Life Ambient Water Quality Criteria – Nonylphenol – Final.** Washington, 2005. Disponível em: < <http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/aqlife/pollutants/nonylphenol/index.cfm>>. Acesso em 15 de março 2015.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Research Plan for Endocrine Disruptors,** Washington, 1998.

VERAS, D.F.; Remoção dos perturbadores endócrinos 17 β -estradiol e p-nonylfenol por diferentes tipos de carvão ativado em pó (cap) produzidos no Brasil – Avaliação em escala de bancada. **Dissertação de Mestrado.** UnB, 2006.

WETTSTEIN, E.F; Auftreten und Verhalten von Nonylphenoxyessigsäure und weiteren Nonylphenolverbindungen in der Abwasserreinigung. **Tese de Doutorado**, Zurich, 2004.

WHO – World Health Organization. **Guidelines for Drinking-water Quality**. 3ed. WHO Library: Geneva, 2008.

YIANTZI, E.; PSILLAKIS, E.; TYROVOLA, K.; KALOGERAKIS, N.: Vortex-assisted liquid-liquid microextraction of octylphenol, nonylphenol and bisphenol-A. **Talanta**, vol.80, p.2057-2062, 2010.

ZGOLA-GRZESKOWIAK, A.; GRZESKOWIAK, T.; RYDLICHOWSKI, Z.L.; LUKASZEWSKI, Z.; Determination of nonylphenol and short-chained nonylphenol ethoxylates in drain water from an agricultural area. **Chemosphere**, vol 75, p. 513-518, 2009.

ZHAO,R.; WANG, X.; YUAN, J.: Solid-phase extraction of bisphenol-A, nonylphenol and 4-octylphenol from environmental water samples using microporous bamboo charcoal, and their determination by HPLC. **Microchim Acta**, vol. 165, p. 443-447, 2009.

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

8 ANEXOS

8.1 Anexo A

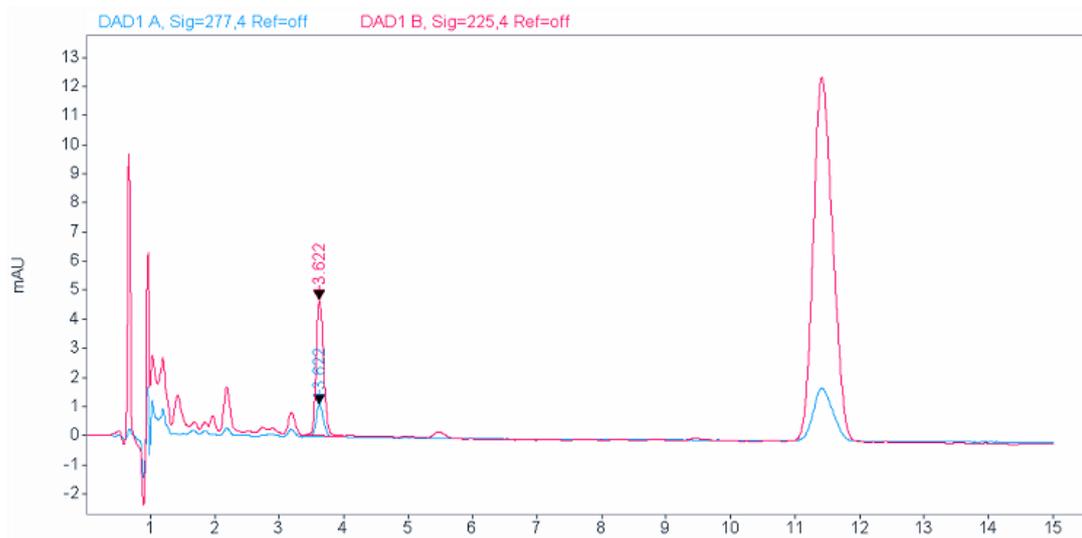
Estação de amostragem	Localização	Município	Data	IQA _{NSF}	Demanda Bioquímica Oxigênio (DBO) -mg/L	Fósforo Total (P _T) -mg/L	Nitrato (NO ₃) - mg/L	Oxigênio Dissolvido (OD) -mg/L	Potencial Hidrogeniônico (pH)	Turbidez (T) -uT	Coliformes Termotolerantes - NMP/100mL	Sólidos Dissolvidos Totais (SDT) - mg/L	*Temperatura da água - °C	*Temperatura do ar - °C
CA140	Rio Cação	Itaguaí												
CU650	Rio Cabuçu	Nova Iguaçu	14/7/15	21,7	18,0	0,92	0,02	0,8	7	8,40	> 1.600.000	207	20	35
EN670	Rio Engenho Velho	Rio de Janeiro												
GM180	Rio Guandu-Mirim													
GN200	Rio Guandu	Nova Iguaçu	14/7/15	63,8	< 2,0	0,12	1,52	8,6	7	2,20	3.000	79	18	25
GN201		Seropédica	14/7/15	66,5	< 2,0	0,05	1,52	9,2	6,9	1,90	780	83	18	30
GR100	Rio da Guarda	Itaguaí												
IG010	Rio Ingaíba	Mangaratiba	1/7/15	68,5	< 2,0	0,07	0,22	9,2	7,2	2,50	330	594	15	21
IG301	Rio Itaguaí	Itaguaí												
IR251	Rio Ipiranga	Nova Iguaçu	14/7/15	26,6	12,0	0,97	0,03	2,0	6,9	4,90	> 1.600.000	176	19	34
IT040	Canal do Itá	Rio de Janeiro												
IU100	Rio Itinguçu	Mangaratiba												
LG350	Ribeirão das Lajes	Piraí	14/7/15	71,8	2,2	0,08	1,50	8,4	6,9	1,60	230	77	17	26
LG351	Ribeirão das Lajes	Paracambi	14/7/15	73,4	< 2,0	0,08	1,49	8,4	6,9	2,00	230	72	18	25

*Na composição do IQA_{NSF} usa-se o valor de temperatura corresponde à diferença entre a temperatura da água no ponto de coleta e a temperatura do ar.

Obs: A ausência de resultado, referente a pelo menos um dos nove parâmetros, inviabiliza a aplicação do índice.

Categoria de Resultados	EXCELENTE	BOA	MÉDIA	RUIM	MUITO RUIM
IQA _{NSF}	100 ≥ IQA ≥ 90	90 > IQA ≥ 70	70 > IQA ≥ 50	50 > IQA ≥ 25	25 > IQA ≥ 0

8.2 Anexo B



8.3 Anexo C

Código: _____

Data: _____

Hora: _____

Localização: _____

Clima dia anterior: _____

Clima coleta: _____

Temp Amb: _____

Temp Amostra: _____

Umidade: _____

pH: _____

Condutividade: _____

Assinatura: _____