



**UnB**

Universidade de Brasília  
Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

**Determinação de contaminantes emergentes em  
mananciais de água bruta e na água para  
consumo humano do Distrito Federal**

**Joyce da Silva Santana**

Dissertação de Mestrado

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fabríz Sodré

Co-orientador: Prof. Dr. Wilson Figueredo Jardim

Brasília

Fevereiro de 2013

**JOYCE DA SILVA SANTANA**

**Determinação de contaminantes emergentes em  
mananciais de água bruta e na água para  
consumo humano do Distrito Federal**

Dissertação apresentada à  
Universidade de Brasília como parte  
das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Química para obtenção  
do título de Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fabríz Sodré

Co-orientador: Prof. Dr. Wilson Figueredo Jardim

Brasília

Fevereiro de 2013

## Dedicatória

Ao velho, por aquilo que ele chama de “investimento”.

## Agradecimentos

Antes de todas as coisas, a Deus por toda força dada nesse período.

Aos meus pais, Salomão e Eraína, pelo incentivo, amor, compreensão e tudo que me deram em toda a minha vida. Ao meu irmão Ramon pela constante alegria. Aos meus primos, Cléia e Edelzo, e seus filhos, Henrique e Guilherme, pelas visitas de domingo, comilanças de pão de queijo e eternas conversas sobre a vida. A todos meus primos e tios que, apesar das perdas que tivemos, continuamos a ser uma família.

Às minhas queridas amigas Talita e Gabriela por todo apoio que me deram nesses últimos tempos. Obrigada pelo ombro, pelo chocolate e pela companhia até em fila de hospital. Tenho muito amor por vocês duas!

Aos amigos de escola Hélder, Andrey, Elias, Tiago, Rodrigo, Zé, Paulo César, Camila e Angélica que, apesar da distância, sempre se fizeram presentes nos momentos importantes. Em especial à senhorita Heliane que me deu bons conselhos nos últimos meses.

Aos companheiros de laboratório Everaldo, Gabi, João, Douglas, Rosy, Tati, Rafael Feitosa, Raphael Monforte, Marina, Natasha, Carla, Nancy, Arthur, Lilian, Lorena e os demais AQQUAmigos!

Aos amigos de graduação Janaína, Thaíssa, Diego, Paulo, Carol, Guilherme, André, Polly, Júlio e Leandro. A amizade de vocês foi muito importante para mim!

Um agradecimento mega especial ao cara mais bem apessoado que já pisou na UnB: Ítalo Rafael! Parceiro, se não fosse por você eu acho que não teria sobrevivido à graduação!!

Outro agradecimento, também muito especial, àquele que foi muito além de um namorado, foi também químico, amigo e um grande companheiro. Obrigada, Msc Denio Costa! Um agradecimento também à família desse rapaz que me acolheu tão bem!

Um obrigado também ao casal 20, Adolfo e Moema, que compartilharam comigo muitos momentos de ansiedade nesses últimos anos. Principalmente pelas conversas psicodélicas sobre óvnis e afins.

À professora Adriana Helena, a melhor química que já conheci!

Aos professores do AQQUA.

À professora Dra. Cristina Célia Brandão pela disponibilidade das instalações de seu laboratório e pelo auxílio de toda sua equipe.

Ao meu orientador professor Dr. Fernando Fabríz Sodré e meu co-orientador professor Dr. Wilson Figueredo Jardim pela orientação e auxílio nas análises.

A Igor Pescara e Cristiane Vidal pelas análises realizadas.

Ao INCTAA por viabilizar a realização das análises.

À Capes e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Ao IQ e à UnB.

## Resumo

Contaminantes emergentes referem-se às substâncias químicas cujo interesse por estudos associados à ocorrência e efeitos no ambiente é recente. Ainda há uma escassez de dados relacionados à ocorrência destes contaminantes no Brasil, o que motivou a realização do presente trabalho. Foram selecionadas amostras de águas superficiais do Lago Paranoá e de dois mananciais de água do Distrito Federal (DF): Rio Descoberto e Córrego Cabeça de Veado. Também foram analisadas águas para consumo humano, coletadas ao longo do DF. As amostras, coletadas em diferentes épocas do ano, foram investigadas por meio de duas abordagens distintas. A primeira abordagem, baseada no desenvolvimento de um novo método nas dependências da UnB, consistiu na determinação de quatro contaminantes pertencentes a diferentes classes, ou seja, cafeína, atenolol, atrazina e DEET, enquanto que a segunda consistiu em analisar as amostras com vistas à determinação de 16 contaminantes emergentes dentro de um programa de monitoramento encabeçado pelo Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA). A determinação dos analitos foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em um equipamento do tipo triplo quadrupolo (LC-MS/MS). A análise das amostras pelo método INCTAA, realizada na Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), revelou a presença de cinco contaminantes emergentes nas amostras do Lago Paranoá: cafeína, atrazina, bisfenol A, triclosan e fenolftaleína, sendo a primeira a mais frequentemente detectada. Por outro lado, o método desenvolvido e validado na UnB, revelou a presença de todos os contaminantes investigados nas águas do Lago Paranoá. A cafeína foi a substância mais abundante, com concentrações de até 228 ng/L, seguida do atenolol, do DEET e da atrazina. Foram observados níveis mais elevados de concentração durante o período de estiagem para todos os compostos com exceção da atrazina que apresentou um comportamento inverso, indicando possíveis diferenças quanto à origem da contaminação. As amostras em mananciais de água e água para abastecimento urbano apresentaram concentrações sempre muito baixas, não ultrapassando 20 ng/L na maior parte dos casos.

## Abstract

Emerging contaminants are chemicals whose interest in studies regarding their occurrence or their effects in the environment is still recent. There is little information related to the occurrence of these contaminants in Brazilian waters, which motivated this work. Samples of surface water from Paranoa's Lake and two water bodies in the Federal District (FD) — Descoberto river and Cabeça de Veado stream — were selected. Drinking water samples were also analyzed. Samples were collected at different seasons and were investigated through two distinct approaches. The first one, which was based on the development of a new method at the University of Brasília (UnB), consisted in the determination of four contaminants from different classes, i.e., caffeine, atenolol, atrazine, and DEET. The second one was based on the determination of 16 emerging contaminants according to guidelines established by researchers from the National Institute of Advanced Analytical Science and Technology (INCTAA). The analysis was performed by liquid chromatography coupled to mass spectrometry using a triple quadrupole equipment (LC-MS/MS). Analyzes using the INCTAA method were held at the University of Campinas (Unicamp) revealing the occurrence of five emerging contaminants in samples from Paranoa's Lake: caffeine, atrazine, bisphenol A, triclosan and phenolphthalein. On the other hand, the method developed and validated at UnB, revealed the presence of all contaminants investigated in Paranoa's Lake water. Both methods revealed that caffeine was the most frequent contaminant in the samples. Results from method UnB showed that caffeine was also the most abundant analyte, with concentrations up to 228 ng/L, followed by atenolol, DEET and atrazine. When samples from different seasons were compared, higher levels were observed, for all compounds, during the dry season except for atrazine, which showed an opposite behavior, indicating possible differences in the origin of contamination. Samples from raw and drinking water presented the lowest concentrations, not exceeding 20 ng/L in most cases.

## Lista de Figuras

Figura 1: Vias de entrada de contaminantes emergentes em águas superficiais. ....	4
Figura 2: Esquema do funcionamento de um triplo quadrupolo no modo MRM o íon precursor é mostrado em roxo e os íons produto em diversas cores. ....	12
Figura 3: Estrutura molecular da cafeína. ....	15
Figura 4: Estrutura molecular do atenolol.....	16
Figura 5: Estrutura molecular do DEET.....	18
Figura 6: Estrutura molecular da atrazina. ....	20
Figura 7: Pontos de amostragem no Lago Paranoá. Círculos vermelhos indicam a localização das ETE Sul e Norte.....	24
Figura 8: Fotografias dos pontos amostrais no Lago Paranoá (Adaptado de Google Earth®). ....	25
Figura 9: Localização dos pontos amostrais no Rio Descoberto (DC) e no Córrego Cabeça de Veado (CV) (Adaptado de Google Maps®). ....	26
Figura 10: Rede de abastecimento de água para consumo humano no Distrito Federal. (Adaptado de CAESB, 2011) .....	27
Figura 11: Localização dos pontos amostrais de água de consumo humano (Adaptado de Google Maps®).....	29
Figura 12: Pontos de acesso típicos de água para consumo humano utilizados neste trabalho. O ponto TAPAN é mostrado na fotografia A e o ponto TAPCL na fotografia B. ....	30
Figura 13: Incidência de chuvas no Distrito Federal durante o período de realização deste trabalho (Adaptado de INMET, 2012).. ....	31
Figura 14: Sistema utilizado para a extração em fase sólida dos analitos nas amostras de água. ....	34
Figura 15: Principais componentes do espectrômetro de massas em triplo quadrupolo utilizado nesta etapa do trabalho. Em português, Source – Fonte, Curtain Plate – Placa da cortina, Orifice Plate – Placa de orifício, Curtain Gas – Cortina de gás, Skimmer – Escumadeira (Adaptado de Applied Biosystems®, 2009). ....	46

Figura 16: Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da pressão do gás na célula de colisão (CAD). cps: <i>counts per second</i> .....	49
Figura 17: Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da pressão do gás CUR. cps: <i>counts per second</i> .....	49
Figura 18: Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da pressão do gás de nebulização (GS1). cps: <i>counts per second</i> . ....	50
Figura 19: Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da pressão do gás de secagem (GS2). cps: <i>counts per second</i> .....	51
Figura 20: Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da voltagem aplicada na agulha da fonte de íons (IS). cps: <i>counts per second</i> .....	51
Figura 21: Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da temperatura do gás (TEM) na fonte ESI. cps: <i>counts per second</i> . ....	52
Figura 22: Intensidade do sinal analítico obtido para cada analito sob diferentes constituições da fase móvel. ....	54
Figura 23: Cromatograma obtido para cafeína, atenolol, atrazina e DEET empregando-se eluição isocrática água:acetonitrila 1:1 (v/v).....	57
Figura 24: Localização espacial dos pontos amostrais e concentrações de cafeína no Lago Paranoá. Colunas em laranja representam dados coletados no período de estiagem. Colunas verdes indicam dados referentes ao período chuvoso. Círculos vermelhos representam as estações de tratamento de esgoto.....	67
Figura 25: Localização espacial dos pontos amostrais e concentrações de atenolol no Lago Paranoá. Colunas em laranja representam dados coletados no período de estiagem. Colunas verdes indicam dados referentes ao período chuvoso. Círculos vermelhos representam as estações de tratamento de esgoto.....	70
Figura 26: Localização espacial dos pontos amostrais e concentrações de DEET no Lago Paranoá. Colunas em laranja representam dados coletados no período de estiagem. Colunas verdes indicam dados referentes ao período chuvoso. Círculos vermelhos representam as estações de tratamento de esgoto.....	72
Figura 27: Localização espacial dos pontos amostrais e concentrações de atrazina no Lago Paranoá. Colunas em laranja representam dados coletados no período de estiagem. Colunas verdes indicam dados referentes ao período chuvoso. Círculos vermelhos representam as estações de tratamento de esgoto.....	73

Figura 28: *Box plot* das substâncias e suas concentrações nas amostras de água para consumo humano. O “X” representa os valores máximo e mínimo de cada analito. O “–” representa os 1º e 99º percentil, as barras que encerram a linha vertical; os 5º e 95º percentil. De forma ascendente; cada barra horizontal do retângulo representa o primeiro, o segundo (mediana) e o terceiro quartil – ou os 25º, 50º e 75º percentis, respectivamente. A média é representada pelo quadrado ..... 81

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Exemplos de ocorrência de contaminantes emergentes no mundo em amostras de água superficial.....	7
Tabela 2: Algumas classes de contaminantes emergentes e seus usos.....	13
Tabela 3: Localizações geográficas dos pontos amostrais de água bruta.....	28
Tabela 4: Pontos amostrais e sistemas produtivos representados.....	28
Tabela 5: Pontos amostrais de água para consumo humano por endereço, tipo de local e sigla.....	30
Tabela 6: Composição da fase móvel cromatográfica durante as análises pelo Método INCTAA.....	36
Tabela 7: Parâmetros MRM empregados para a determinação dos analitos pelo Método INCTAA.....	37
Tabela 8: Parâmetros de mérito analítico do Método INCTAA.....	38
Tabela 9: Substâncias investigadas pelo Método UnB.....	39
Tabela 10: Íons precursor e produto selecionados para cada analito, energia de colisão e referências bibliográficas que utilizaram os mesmos íons.....	45
Tabela 11: Valores obtidos para os parâmetros dependentes da substância.....	47
Tabela 12: Valores iniciais utilizados para a otimização dos parâmetros dependentes da fonte e do parâmetro CAD.....	48
Tabela 13: Valores otimizados dos parâmetros dependentes da fonte e do parâmetro CAD.....	52
Tabela 14: Concentrações dos aditivos ácido fórmico e formiato de amônio na água e na acetonitrila para cada condição testada.....	53
Tabela 15: Concentrações dos aditivos ácido acético e acetato de amônio na água e na acetonitrila para cada condição testada.....	54
Tabela 16: Composição de cada condição utilizada para encontrar a melhor fase móvel....	56

Tabela 17: Tempo de retenção em minutos de todos os analitos para cada condição testada. ....	56
Tabela 18: Nível de concentração, desvio padrão (S) e o coeficiente de variação (CV).....	58
Tabela 19: Nível de concentração, desvio padrão (S) e coeficiente de variação (CV).....	59
Tabela 20: Equações das curvas analíticas em diferentes faixas de concentração. ....	60
Tabela 21: Coeficientes de correlação das curvas analíticas em diferentes faixas de concentração. ....	61
Tabela 22: Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do instrumento e do método.	62
Tabela 23: Recuperação analítica para as substâncias estudadas. ....	63
Tabela 24: Concentrações médias dos analitos, em ng/L, nas águas do Lago Paranoá coletadas durante as segunda e terceira campanhas amostrais. ....	66
Tabela 25: Concentrações dos analitos nos mananciais de água bruta em ng/L. ....	75
Tabela 26: Concentrações de cafeína pelo mundo. ....	76
Tabela 27: Frequência de detecção percentual das substâncias investigadas em águas superficiais do DF .....	77
Tabela 28: Concentrações médias dos analitos em ng/L em um intervalo de confiança de 95% para amostras de água para consumo humano da segunda e terceira campanhas amostrais, realizadas no período de estiagem e de chuva, respectivamente. ....	78
Tabela 29: Concentrações, em ng/L, das substâncias nas amostras do Lago Paranoá coletadas nas três campanhas amostrais. ....	84
Tabela 30: Frequência de detecção das substâncias nas amostras do Lago Paranoá. ....	86
Tabela 31: Concentrações, em ng/L, das substâncias nas amostras de mananciais de água bruta para abastecimento urbano nas três campanhas amostrais .....	88
Tabela 32: Concentrações, em ng/L, das substâncias nas amostras de água para consumo humano nas três campanhas amostrais.....	90
Tabela 33: Concentração de cafeína, em ng/L, na água para consumo humano.....	92

## Lista de Siglas e Abreviaturas

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATN – Atenolol

ATZ – Atrazina

BPA – Bisfenol A

CAD- Colision Gas

CAESB – Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal

CAF – Cafeína

CE – *Collision Energy*

CEP – *Collision Cell Entrance Potential*

CFM – Composição da Fase móvel

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CUR – *Curtain Gas*

CV – Coeficiente de Variação

CXP – *Collision Cell Exit Potential*

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DEET – N,N-dietil-meta-toluamida

DES – dietilestilbestrol

DF – Distrito Federal

DP– *Declustering Potential*

DPR – Desvio Padrão Relativo

*E. coli* – *Escherichia coli*

E1 – estrona

E2 – estradiol

E3 – estriol

EE2 – 17 $\alpha$ -etinilestradiol

EP – *Entrance Potential*

ESI – *Electrospray Ionization*

ETE – Estação de tratamento de esgoto

ETE Norte – Estação de Tratamento de Esgoto Brasília Norte

ETE Sul – Estação de Tratamento de Esgoto Brasília Sul

EUA – Estados Unidos da América

GC – *gas chromatography*

GC-MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

GC-MS/MS – Cromatografia gasosa acoplada ao triplo quadrupolo

GS1 – *Gas 1*

GS2 – *Gas 2*

HPLC – *high performance liquid chromatography*

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

INCTAA – Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas

Inmetro – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

IS- *Ion Spray Voltage*

IT – *ion trap*

LC – *liquid chromatography*

LC-MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

LC-MS/MS – Cromatografia líquida acoplada ao triplo quadrupolo

LD – Limite de Detecção

LP – Lago Paranoá

LQ – Limite de Quantificação

MEE – Mestranol

MRM – *Multiple Reaction Monitoring*

MS – *mass spectrometry*

NGT – Levonorgestrel

NP – Nonilfenol

OP – Octilfenol

PHT – Fenolftaleína

PPCP – *Pharmaceuticals and Personal Care Products*

PROG – Progesterona

PTFE – politetrafluoretileno

Q – quadrupolo

Q1 – primeiro quadrupolo

Q2 – célula de colisão

Q3 – terceiro quadrupolo

QqQ – triploquadrupolo

SPE – *solid phase extraction*

TAP – água para consumo humano

TCS – Triclosan

TEM. *Temperature*

TOF – *time-of-flight*

TTN – Testosterona

UPLC – *ultra performance liquid chromatography*

USEPA – *United States Environmental Protection Agency*

USGS – *United States Geological Survey*

UV – ultravioleta

VMP – Valor máximo permitido

# Sumário

<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Revisão Bibliográfica.....</b>	<b>3</b>
2.1. <i>Contaminantes emergentes</i> .....	3
2.1.1. Características dos contaminantes emergentes .....	6
2.1.2. Principais Técnicas .....	9
2.1.3. Classificação de Contaminantes emergentes .....	12
2.1.3.1. Cafeína .....	14
2.1.3.2. Atenolol .....	16
2.1.3.3. DEET .....	17
2.1.3.4. Atrazina.....	19
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>22</b>
<b>4. Materiais e Métodos.....</b>	<b>23</b>
4.1. <i>Localização dos Pontos amostrais</i> .....	23
4.1.1. Lago Paranoá .....	23
4.1.2. Mananciais de água bruta para abastecimento .....	25
4.1.3. Água para consumo humano .....	28
4.2. <i>Campanhas amostrais</i> .....	31
4.3. <i>Amostragem e preservação</i> .....	32
4.4. <i>Preparo das amostras</i> .....	33
4.5. <i>Análise das amostras pelo Método INCTAA</i> .....	35
4.6. <i>Análise das amostras pelo Método UnB</i> .....	39
4.7. <i>Cálculos para Validação do Método UnB</i> .....	41
4.7.1. Precisão.....	41
4.7.2. Ensaio de recuperação .....	42
<b>5. Resultados e Discussão .....</b>	<b>44</b>
5.1. <i>Desenvolvimento e validação do Método UnB</i> .....	44
5.1.1. Desenvolvimento do Método.....	44
5.1.1.1. Escolha de íons precursor e produto .....	44
5.1.1.2. Otimização de parâmetros do espectrômetro de massas. ....	46
5.1.1.3. Escolha do aditivo da fase móvel .....	53
5.1.1.4. Separação cromatográfica.....	55
5.1.2. Validação do método.....	57
5.1.2.1. Precisão .....	58
5.1.2.2. Curva Analítica e Linearidade .....	59
5.1.2.4. Ensaio de recuperação.....	63
5.2. <i>Determinação de Cafeína, Atenolol, Atrazina, DEET pelo Método UnB</i> . ....	65
5.2.1. Lago Paranoá .....	65
5.2.2. Mananciais de água bruta para abastecimento .....	75
5.2.3. Água para consumo humano .....	78

5.3. <i>Determinação de contaminantes emergentes em águas pelo Método INCTAA</i> .....	82
5.3.1. Lago Paranoá .....	83
5.3.2. Mananciais de água bruta para abastecimento .....	87
5.3.3. Água para consumo humano .....	89
5.3.4. Método UnB e Método INCTAA.....	92
<b>6. Conclusão</b> .....	<b>95</b>
<b>7. Referências Bibliográficas</b> .....	<b>97</b>

# 1.Introdução

Diferentes definições têm sido empregadas em estudos envolvendo a presença de contaminantes emergentes no ambiente. As várias maneiras de abordar o tema surgem em função de inúmeros aspectos tais como ocorrência em diferentes reservatórios ambientais, efeitos adversos diferenciados sobre a biota ou mesmo a demanda da sociedade por novas informações acerca de uma dada espécie química.

Nesse sentido, os contaminantes emergentes podem ser definidos como espécies cujo interesse em estudos ambientais tem crescido exponencialmente nos últimos anos. O fato é que nem sempre a definição de contaminante emergente implica em tratar-se de uma substância recentemente produzida. Na realidade, um contaminante emergente pode ser definido como uma substância ou um microrganismo cuja ocorrência ou relevância no ambiente foi constatada recentemente, sendo que seus efeitos ainda permanecem incertos. Este grupo de contaminantes tem sido dividido em diversas classes como forma de direcionar estudos e tomadas de decisão. Algumas das classes investigadas são os fármacos, os produtos de higiene pessoal, os plastificantes e os agrotóxicos (Matamoros et al., 2012).

De uma maneira mais ampla, a origem de muitos contaminantes emergentes está diretamente associada às águas residuárias urbanas, seja por meio do descarte de produtos ou pela excreção de substâncias metabolizadas ou inalteradas. Considerando que grande parte do esgoto bruto, tratado ou não, é descartado em corpos aquáticos naturais, é possível que esses resíduos sejam encontrados nesses corpos.

O estudo sobre contaminantes emergentes é recente e, por isso, as legislações ambientais vigentes ainda não os contemplam. Além disso, existe uma carência de estudos toxicológico e ecotoxicológicos que possam subsidiar a regulação de muitos contaminantes emergentes. Neste sentido, a determinação quantitativa desses contaminantes em matrizes ambientais reveste-se de importância, pois passa a ser possível o estabelecimento do verdadeiro cenário de

contaminação do ambiente. Além disso, com base em dados de monitoramento, é possível propor medidas para controlar a contaminação, seja por meio de uma melhor adequação dos sistemas de tratamento da água e esgoto, ou pela formação de uma legislação pertinente.

Por se tratar de estudos recentes, ainda há carência de dados referentes à ocorrência de muitos contaminantes emergentes em matrizes ambientais brasileiras. Também são muito escassos os dados relativos à ocorrência na região do Distrito Federal (DF). Dessa maneira, o presente trabalho teve como objetivo principal suprir a carência de dados relativos à ocorrência de contaminantes emergentes no Distrito Federal por meio do desenvolvimento de um método para a determinação de quatro contaminantes emergentes, a saber: cafeína, atenolol, atrazina e DEET (N,N-dietilmeta-toluamida). Os objetivos específicos consistiram em estabelecer pontos amostrais de relevância ambiental, desenvolver um método para a determinação dos quatro contaminantes selecionados e realizar a determinação e quantificação das substâncias de interesse por meio HPLC-MS/MS de amostras coletadas em diferentes épocas do ano. Além dos resultados gerados para os quatro contaminantes emergentes supramencionados, a demanda do Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA) por informações sobre contaminantes emergentes em águas brasileiras também foi atendida por meio da determinação de outros 16 contaminantes emergentes. Cabe ressaltar que o termo “contaminante emergente” não é o único utilizado para essa classe de substâncias, porém esse é o mais clássico. Dessa forma, optou-se por utilizá-lo nesse trabalho.

## 2. Revisão Bibliográfica

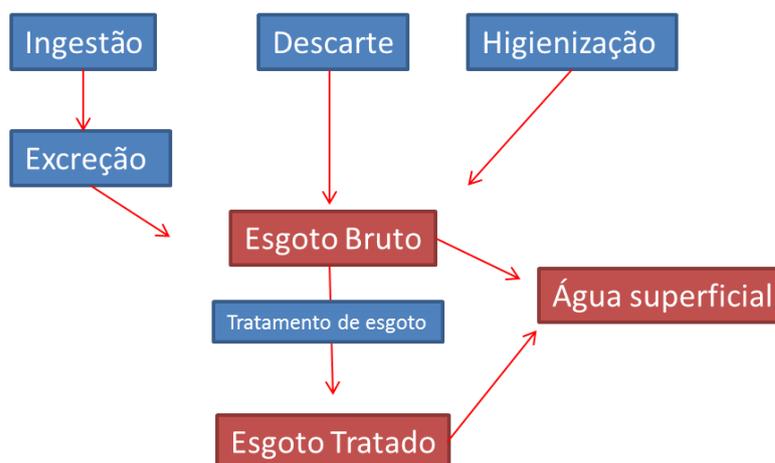
### 2.1. Contaminantes emergentes

A qualidade dos corpos aquáticos tem sido motivo de preocupação de diversas esferas da sociedade. Essa preocupação tem crescido devido à alta taxa de ocupação urbana, que proporciona um risco elevado de contaminação dos corpos aquáticos situados próximos a essas áreas. Na maioria das vezes, esses corpos contaminados são os mesmos a serem utilizados para o abastecimento urbano. Dessa forma, áreas densamente urbanizadas podem acabar utilizando uma água com qualidade inferior àquela considerada ideal para diferentes tipos de usos.

Recentemente, um dos principais focos das comunidades científicas e regulatórias refere-se à presença de um grupo de contaminantes de interesse recente, denominados comumente de contaminantes emergentes. Há diversas definições para este grupo de contaminantes. A Agência de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos (USGS, do inglês *United States Geological Survey*) é um dos institutos de pesquisa que mais investigam a ocorrência de contaminantes emergentes no mundo. Segundo a USGS, um contaminante emergente pode ser definido, em termos gerais, como *“uma substância química, de ocorrência natural ou antrópica, ou qualquer microrganismo que não é normalmente controlado no ambiente, mas que tem potencial para entrar no ambiente e causar efeitos adversos ecológicos e (ou) sobre a saúde humana, sendo estes efeitos conhecidos ou suspeitos.”* (USGS, 2012).

Outra definição, com um enfoque maior nas possíveis legislações pertinentes, é dada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, do inglês *United States Environmental Protection Agency*). Segundo a USEPA, contaminantes emergentes são *“poluentes (bióticos e abióticos) que, atualmente, não são incluídos em programas de monitoramento e que podem se tornar candidatos para legislações futuras dependendo de pesquisas sobre (eco)toxicidade, efeitos sobre a saúde, percepção pelo público e dados sobre sua ocorrência em vários compartimentos ambientais”*. (USEPA, 2011)

O estilo de vida das populações urbanas, caracterizado pelo alto consumo de medicamentos, produtos de higiene pessoal, surfactantes, plastificantes, entre outros, faz do esgoto doméstico uma das principais vias de entrada de inúmeros contaminantes emergentes no ambiente. A Figura 1 mostra, esquematicamente, como esses contaminantes podem alcançar as redes de esgoto e, posteriormente, as águas superficiais.



**Figura 1:** Vias de entrada de contaminantes emergentes em águas superficiais.

Por meio da Figura 1 é possível observar que os contaminantes emergentes têm sua origem associada a mecanismos de descarte, higienização e excreção comumente praticados nas grandes cidades. Esse esgoto, tratado ou não, chega às águas superficiais levando ao aparecimento de muitas espécies químicas estranhas ao meio, incluindo os contaminantes emergentes. Há também outras fontes de contaminação, que incluem a lixiviação de substâncias e o lodo proveniente das estações de tratamento de esgoto, por exemplo. Considerando-se que, no Brasil, apenas 46,2% do esgoto é coletado e, deste total, 37,8% é tratado (SNIS, 2012), acredita-se que os problemas associados à ocorrência de muitos contaminantes sejam bastante relevantes em comparação a países ou regiões que mantêm índices elevados de coleta e tratamento. No Brasil, a ocorrência de grande parte desses contaminantes surge em função do descarte de esgoto bruto diretamente nas águas superficiais. A região do Distrito Federal (DF), no entanto, é uma exceção quando se diz respeito ao tratamento de esgoto. No DF, 93,7% da população é atendida com

coleta de esgoto e 100% do esgoto coletado é tratado, mostrando como essa região está à frente das demais regiões brasileiras (SNIS, 2012). Acredita-se que, desta maneira, os dados gerados sobre a presença de contaminantes emergentes nas águas do DF possam servir como uma boa referência de comparação para diferentes localidades brasileiras.

O Distrito Federal é a unidade da Federação que abriga Brasília, capital do Brasil, que é a sede do Governo Federal. Brasília foi inaugurada em 1960 e planejada para abrigar 500 mil habitantes. O crescimento demográfico nessa região foi mais rápido que o previsto e o DF alcançou essa população num período de dez anos (Fonseca, 2001).

O Distrito Federal tem hoje uma população de 2,5 milhões de pessoas (IBGE, 2012). Uma elevada população pré-dispõe a cidade a diversos problemas relacionados à urbanização, um deles é a contaminação de águas superficiais por esgoto tratado ou bruto. Este fato traz um risco ainda maior ao considerar que a região do DF abriga três das mais importantes bacias hidrográficas do Brasil: São Francisco (Rio Preto), Tocantins/Araguaia (Rio Maranhão) e Paraná (rios São Bartolomeu e Descoberto).

O Lago Paranoá, objeto de estudo do presente trabalho, está situado na Bacia do Paranoá que é a única bacia localizada integralmente do território do DF. O Lago Paranoá possui uma área superficial de 37,50 km<sup>2</sup> e uma profundidade média de 12,42 m, além de um volume total de 498×10<sup>6</sup>m<sup>3</sup>. O Lago formou-se a partir do fechamento da barragem do Rio Paranoá, represando águas do Riacho Fundo, do Ribeirão do Torto, do Córrego do Bananal, do Ribeirão do Gama, do Córrego Cabeça de Veado e de outros tributários menores (Fonseca, 2001).

Além de receber águas de seus afluentes, o Lago Paranoá também recebe águas de drenagem pluvial urbana e efluentes de duas estações de tratamento de esgoto, nas regiões sul e norte. Dessa forma, o Lago também pode sofrer com a ocorrência de contaminantes emergentes, tendo-se em vista o lançamento de efluentes oriundos de ambas as estações e as águas pluviais.

### 2.1.1. Características dos contaminantes emergentes

Segundo a USGS, a liberação de substâncias químicas ou contaminantes microbianos emergentes pode ocorrer durante muito tempo. No entanto, sua ocorrência não pôde ser atestada até que novas técnicas de detecção, suficientes o bastante para acessarem níveis muito baixos de concentração, fossem desenvolvidas (USGS, 2012). Por outro lado, novas fontes de contaminantes emergentes surgiram devido à síntese de substâncias ou às mudanças nos mecanismos de uso e descarte de bens de consumo (USGS, 2012).

As concentrações de muitos contaminantes emergentes em ambientes aquáticos naturais são, geralmente, muito baixas, situando-se na faixa de  $\mu\text{g/L}$  a  $\text{ng/L}$ . Em alguns casos, níveis de concentração de  $\text{pg/L}$  já foram reportados. (Weigel et al., 2002; Kuch e Balschimiter, 2001). Tendo-se em vista esses níveis de concentração, é possível perceber a necessidade do uso de técnicas e métodos analíticos que apresentem limites de detecção baixos o suficiente para detectar a presença de contaminantes emergentes no ambiente. Todavia, muitas dessas técnicas surgiram somente há pouco tempo, sendo que apenas mais recentemente foi possível atestar a presença destes contaminantes sob concentrações baixas em muitas amostras de interesse ambiental.

Um exemplo de quão baixas são as concentrações dessas substâncias no ambiente é o trabalho realizado com amostras de água superficial retiradas da Região Metropolitana do Rio de Janeiro (Kuster et al., 2009). Nesse trabalho, os autores determinaram a ocorrência de uma série de contaminantes emergentes, entre eles o hormônio estriol (E3), que foi detectado em 14 de 20 amostras com uma concentração média de  $3,7 \text{ ng/L}$ .

A Tabela 1 mostra alguns exemplos de ocorrência de contaminantes emergentes e suas respectivas concentrações.

**Tabela 1:** Exemplos de ocorrência de contaminantes emergentes no mundo em amostras de água superficial

Contaminante	Uso	Concentração máxima (ng/L)	Referência	Tipo de corpo d'água	Local
Cafeína	Estimulante	7,8	Kurissery et al., 2012	Lago	Canadá
		16,1	Weigel, et al, 2002	Mar	Alemanha
Bisfenol A	Plastificante	1760	Sodré et al., 2007	Rio	Brasil
		14	Kuch e Ballschimiter et al., 2001	Rio	Alemanha
17 $\alpha$ -etinilestradiol	Anticoncepcional	831	Kolpin et al., 2002	Rio	EUA
Atrazina	Herbicida	460	Glassmeyer et al., 2005	Rio	EUA
Estrona	Hormônio	22	Mozaz et al., 2004	Rio	Espanha
DEET	Repelente De Inseto	69	Kim et al., 2007	Rio	Coréia do Sul
Triclosan	Agente Antimicrobiano	35	Matamoros et al., 2012	Rio	Dinamarca
Amoxicilina	Antibiótico	17	Locatelli et al., 2011	Rio	Brasil
Diclofenaco	Antiinflamatório	266	Spongberg et al., 2011	Rio	Costa Rica
Diazepam	Antidepressivo	90	Valcárcel et al., 2011	Rio	Espanha
Acetaminofeno	Analgésico	70	Wang et al.,2011	Rio	EUA
Atenolol	Anti-hipertensivo	690	Kim et al., 2009	Rio	Coréia do Sul

Mesmo sob concentrações baixas, suspeita-se que muitos contaminantes emergentes possam causar danos à saúde de ecossistemas e, em alguns casos, à saúde humana. Um importante trabalho acerca dos efeitos de um contaminante emergente frente à biota foi realizado por Kidd et al. (2007). Os pesquisadores investigaram a feminização de peixes em um lago natural localizado no Canadá que foi submetido a adições periódicas do hormônio sintético 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) ao longo de 7 anos. As adições procuravam manter as águas do lago a um nível constante de concentração de EE2, mais especificamente, entre 5 e 6 ng/L. As adições eram contínuas para compensar a existência de mecanismos naturais de degradação dessa substância que poderiam culminar com a alteração significativa da concentração da espécie alvo. A exposição crônica da população de peixes do lago frente ao hormônio ao longo dos anos proporcionou a feminização de peixes da espécie *Pimephales promelas*. Essa feminização ficou caracterizada pela produção de vitelogenina, uma proteína produzida por peixes fêmeas durante a maturação dos ovócitos.

Contaminantes como o EE2 são também classificados como interferentes endócrinos. Segundo a USEPA, um interferente endócrino é “*um agente exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais que são responsáveis pela manutenção da homeostase, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento*” (USEPA, 2012). Interferentes endócrinos são capazes de mimetizar ou bloquear a ação de hormônios no organismo. Estes também podem afetar a síntese, o transporte, o metabolismo e a excreção desses hormônios; desregulando, portanto, o sistema endócrino de cada indivíduo (Ghiselli e Jardim, 2007).

Cabe ressaltar que, para a maioria dos contaminantes emergentes, há grande incerteza quanto aos riscos ocasionados pela exposição a essas substâncias. O estudo de Kidd et al. (2007) demonstrou como a exposição crônica a um destes contaminantes pode prejudicar a saúde do meio ambiente. Ainda que a exposição aguda exija concentrações maiores para causar danos, a exposição crônica foi capaz de causá-los mesmo sob concentrações baixas. Dessa forma, são necessários mais estudos envolvendo outros contaminantes para garantir limites seguros de concentração e de exposição a essas substâncias. Essa falta de informação traz grande insegurança relacionada à presença de contaminantes

emergentes no ambiente e tem sido alvo recente de investigação no Brasil e no mundo (Umbuzeiro, 2012).

Tendo-se em vista os potenciais efeitos dessas substâncias, é essencial que sejam apropriadamente investigadas em matrizes complexas, mesmo sob níveis baixos de concentração. Para tanto, são utilizadas técnicas analíticas distintas e, na maioria das vezes, hifenadas, que garantem que os objetos de estudo sejam apropriadamente abordados.

### 2.1.2. Principais Técnicas

Considerando-se tanto as baixas concentrações dos contaminantes emergentes no ambiente quanto a elevada complexidade das matrizes de trabalho, técnicas cromatográficas acopladas a sistemas de detecção e interfaceamento adequados são comumente empregados para fins de separação, identificação e quantificação.

Os primeiros trabalhos com contaminantes emergentes foram realizados com cromatografia gasosa (GC, do inglês *gas chromatography*). Tendo-se em vista que grande parte dos contaminantes emergentes é polar e, conseqüentemente, hidrofílicos, os estudos envolvendo GC exigem, em muitas ocasiões, uma etapa de derivatização, por vezes laboriosa. Por outro lado, métodos baseados em cromatografia líquida (LC, do inglês *liquid chromatography*) tornam a etapa de derivatização quase sempre desnecessária. Por este motivo, tanto a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*), quanto, mais recentemente, a de ultra eficiência (UPLC, do inglês *ultra performance liquid chromatography*) têm sido muito utilizadas em análises ambientais voltadas a investigação de contaminantes emergentes (Mozaz et al., 2004). Como grande parte dos trabalhos investigam contaminantes de diferentes classes e, por muitas vezes, incluem também substâncias de elevada polaridade, a cromatografia líquida tem sido a mais utilizada (Daneshvar et al., 2012; Ye et al., 2008; Vystavna et al., 2012, Mozaz et al., 2004, Verlicchi et al., 2012).

Normalmente, a técnica de LC, responsável pela separação analítica das substâncias de interesse, é acoplada a outras técnicas de identificação como a espectroscopia de absorção molecular nas regiões do UV e visível e a fluorimetria. Contudo, a técnica de identificação e quantificação mais comumente empregada é a espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*). Essa junção de técnicas foi muito importante para o progresso nos estudos sobre contaminantes emergentes no ambiente. São muitos os trabalhos na literatura que utilizaram técnicas cromatográficas aliadas à espectrometria de massas para a determinação de contaminantes emergentes (Sun et al., 2009; Roldán et. al, 2010; Daneshvar et. al, 2012, Wang et. al, 2011, Nogueira et. al, 2012).

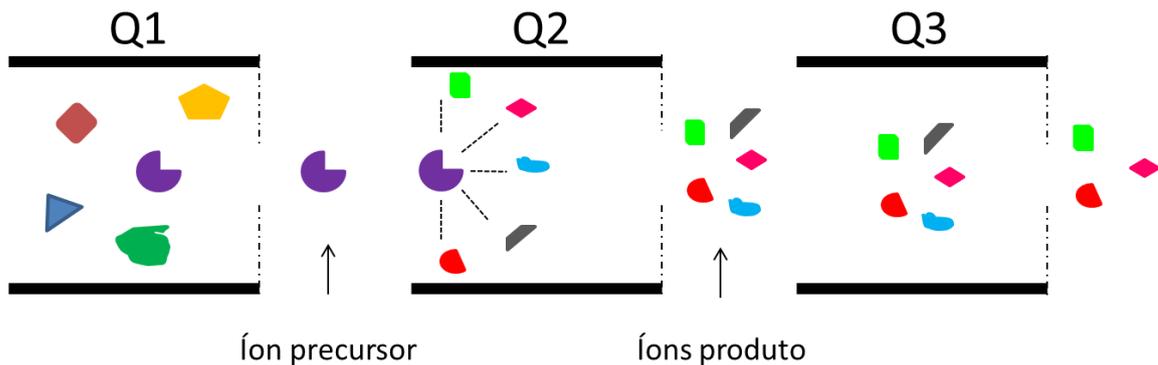
Existem diferentes tipos de espectrômetros e a análise pretendida determina qual deve ser o utilizado. Há os espectrômetros do tipo quadrupolo (Q), que atuam como filtros ou guias de íons; do tipo captura de íon (IT, do inglês *ion trap*), capaz de acumular íons para depois medi-los; do tipo tempo de voo (TOF, do inglês *time-of-flight*), que se baseia no tempo que os íons levam para percorrer determinada distância. Os primeiros trabalhos sobre contaminantes emergentes no ambiente foram realizados com cromatografia acoplada à espectrometria de massas do tipo GC-MS e LC-MS, ou seja, com um único espectrômetro de massas. Castillo e Barceló (1997) realizaram a determinação de interferentes endócrinos em efluentes industriais utilizando um instrumento do tipo GC-MS, no qual a medida de massa ocorria por impacto de elétrons. Os trabalhos mais recentes, contudo, têm utilizado mais de um espectrômetro de massas em linha em uma configuração comumente denominada *in tandem*.

Os modelos *in tandem* possuem espectrômetros de massa em sequência, como QqQ, Q-IT, Q-TOF, IT-TOF entre outros. Espectrômetros de massas do tipo triplo quadrupolo (QqQ) são muito utilizados em análises ambientais por proporcionarem limites de detecção e quantificação pequenos o suficiente e compatíveis com o nível de concentração de contaminantes emergentes no ambiente. Benotti et al. (2009) detectaram contaminantes emergentes na água para consumo humano coletada na rede de distribuição de Las Vegas (EUA) em concentrações na faixa de ng/L. Nesse estudo foi utilizada cromatografia líquida e gasosa, ambas acopladas a espectrômetros de massa do tipo triplo quadrupolo (LC-MS/MS e GC-MS/MS,). Nesse trabalho, foram investigadas 51 substâncias em água

para consumo humano antes e após o tratamento. O meprobamato foi a substância mais frequentemente detectada, com a presença confirmada em 16 de 19 amostras.

O triplo quadrupolo é composto por quadrupolos em sequência, sendo que no centro está localizada uma célula de colisão (Q2). Na realidade, a célula de colisão de todos os equipamentos disponíveis no mercado consiste de um hexapolo, que oferece maior capacidade de seleção de íons em comparação a um quadrupolo comum. Os outros dois quadrupolos agem como filtros de massa, filtrando íons da substância de interesse.

O modo de aquisição mais comum em espectrômetros do tipo QqQ é denominado monitoramento de reações múltiplas (MRM, do inglês *Multiple Reaction Monitoring*). Em métodos MRM, o primeiro quadrupolo (Q1), é responsável por selecionar um íon precursor, característico da substância de interesse. Esses íons podem ser produtos da protonação, da desprotonação ou da formação de adutos entre o analito e demais íons presentes durante a medida. Em seguida, os íons selecionados em Q1 são transferidos à célula de colisão (Q2) onde serão fragmentados por meio de colisões com um gás inerte, geralmente N<sub>2</sub>, sob diferentes níveis de potencial elétrico aplicados. Alguns íons gerados na célula de colisão serão então filtrados no terceiro quadrupolo (Q3). Estes íons, denominados íons produto, são característicos de uma determinada substância e, portanto, possuem uma ligação direta com o íon precursor. As reações precursor→produto são únicas para cada substância e são utilizadas para fins de quantificação e identificação de cada substância. Equipamentos do tipo QqQ tornam-se mais vantajosos frente aos quadrupolos simples por fornecerem mais informações sobre o analito. A Figura 2 apresenta um esquema de funcionamento de um triplo quadrupolo.



**Figura 2:** Esquema do funcionamento de um triplo quadrupolo no modo MRM o íon precursor é mostrado em roxo e os íons produto em diversas cores.

O uso da cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas possibilitou grandes avanços no estudo de contaminantes emergentes. As baixas concentrações junto à elevada polaridade de algumas classes de contaminantes fez desta junção de técnicas a preferida de muitos trabalhos (Gros et al., 2006; Sun et al., 2009; Locatelli et al., 2011; Wang et al., 2011). Uma interface que possibilitou essa junção foi a ionização por eletronebulização (ESI, do inglês *Electrospray Ionization*). Nela, o solvente vindo da cromatografia é evaporado através de um gás nebulizador, geralmente  $N_2$ , e os íons são arrastados para o espectrômetro de massas.

### 2.1.3. Classificação de Contaminantes emergentes

Além dos interferentes endócrinos, há outros tipos de contaminantes emergentes pertencentes a diferentes classes, tais como, herbicidas, surfactantes, plastificantes, fármacos e produtos de higiene pessoal (PPCP, do inglês *Pharmaceuticals and Personal Care Products*), entre outros. Essas são algumas das principais classes de contaminantes emergentes.

Na realidade, não existe uma classificação formal dos grupos ou das classes de substâncias investigadas. Ao contrário, muitas classificações que surgem são propostas por diferentes autores tanto em função do uso de uma substância, como no caso dos PPCP, quanto considerando-se suas formas de atuação nos seres vivos

ou na biota, como os interferentes endócrinos. A Tabela 2 mostra algumas das classes de contaminantes emergentes comumente investigadas em função de seus usos, assim como exemplos de substâncias.

**Tabela 2:** Algumas classes de contaminantes emergentes e seus usos.

<b>Classe</b>	<b>Exemplo de substâncias</b>	<b>Uso</b>
Fármacos	Cafeína	Estimulante
	Atenolol	Anti-hipertensivo
	Carbamazepina	Antiepilético
	Codeína	Analgésico
	Fluoxetina	Antidepressivo
	Amoxicilina	Antibiótico
Produtos de higiene pessoal	DEET	Repelente de inseto
	Triclosan	Agente antimicrobiano
	Isoborneol	Fragrância
	Galaxolide	Fragrância
Hormônios	Estrona	Hormônio reprodutivo
	Estradiol	Hormônio reprodutivo
	Estriol	Hormônio reprodutivo
	Progesterona	Hormônio reprodutivo
	Dietilestilbestrol	Antineoplásico
	Levonorgestrel	Anticoncepcional
	Mestranol	Anticoncepcional
	Testosterona	Hormônio reprodutivo
Etinilestradiol	Anticoncepcional	
Plastificantes	Bisfenol A	Plastificante
	Dietilftalato	Plastificante
	Di-2-etilhexilftalato	Plastificante
Pesticidas	Metolaclo	Herbicida
	Atrazina	Herbicida
Surfactantes não iônicos	Nonilfenol	Surfactante
	Octilfenol	Surfactante

Por meio das informações da Tabela 2, é possível perceber que existe uma grande diversificação de classes de contaminantes emergentes. Além das classes

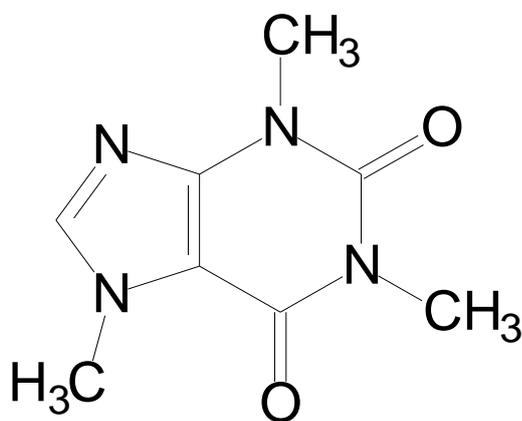
mencionadas, é possível, por exemplo, detalhar ainda mais algumas classes mostradas na Tabela 2 dependendo do foco específico de cada tipo de estudo. Por exemplo, a classe dos hormônios pode ser desmembrada em hormônios endógenos, ou seja, aqueles produzidos por seres vivos, e hormônios sintéticos, comumente utilizados como contraceptivos ou em terapias de reposição hormonal. Os fármacos também podem ser diferenciados em função do objetivo de um determinado estudo. É possível classificar as drogas em prescritas e não-prescritas, em função da necessidade de apresentação de receita médica, ou ainda em proscritas, para os casos nos quais os objetos de estudo são drogas de abuso ilícitas como cocaína, anfetaminas e opióides. Finalmente, ainda é possível estabelecer um terceiro nível de detalhamento, no caso, por exemplo, de usos específicos de uma determinada droga prescrita, como o estudo de antibióticos ou antidepressivos no ambiente.

Tendo-se em vista as inúmeras possibilidades quanto à classificação de contaminantes emergentes é importante mencionar que muitos são suspeitos de apresentarem efeitos tóxicos sobre o meio ambiente como é o caso dos hormônios, dos alquilfenóis, do bisfenol A e da atrazina, que são interferentes endócrinos (Kidd et al., 2007; Hayes et al., 2003, Laws et al., 2000). Contudo, nem todo contaminante emergente é, comprovadamente, danoso à saúde humana ou ao ambiente. Estes compostos surgem no ambiente por meio das mesmas vias que os interferentes endócrinos e, por este motivo, são importantes indicadores de contaminação. Neste trabalho, foram investigados inúmeros contaminantes emergentes, com ênfase em compostos suspeitos de promoverem efeitos deletérios, tal qual a atrazina, ou em serem indicadores de contaminação sem, necessariamente, possuírem efeitos tóxicos associados à exposição sob baixos níveis de concentração, tal qual a cafeína (CAF), o DEET e o atenolol (ATN).

#### *2.1.3.1. Cafeína*

A cafeína é encontrada em fármacos, refrigerantes, chás, bebidas à base de café, bebidas energéticas, produtos de higiene pessoal e também em inúmeras matrizes de interesse ambiental. Assim como os demais contaminantes, a cafeína encontra-se no ambiente sob concentrações muito baixas. Todavia, ainda não

existem evidências sobre possíveis danos à biota ou à saúde humana sob condições de exposição crônica, conforme tem sido observado para outros contaminantes emergentes. A Figura 3 mostra a estrutura molecular da cafeína.



**Figura 3:** Estrutura molecular da cafeína.

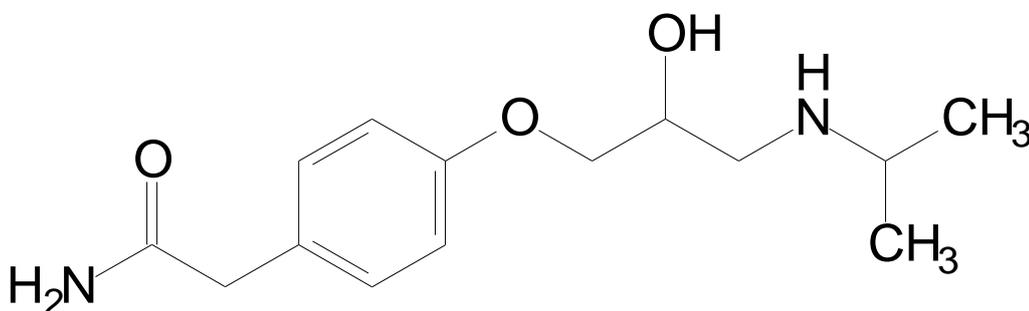
A cafeína possui um papel especial dentro das substâncias classificadas como contaminantes emergentes, uma vez que sua ocorrência em uma matriz pode indicar a presença de outras substâncias. O papel da cafeína como indicadora pode ser visto comparativamente ao teste do *E. coli* que consiste em encontrar no ambiente a bactéria do tipo *E. coli*, proveniente do grupo de coliformes termotolerantes. Essa bactéria é utilizada como um organismo marcador para indicar a presença de microorganismos patogênicos que possuem a mesma origem do *E. coli*, ou seja, as fezes. Esses testes são assim realizados, pois seria muito onerosa a realização de testes para todos os patógenos potencialmente presentes no ambiente. (Ferreira, 2005). O *E. coli* funciona apenas como um indicador da qualidade do ambiente. A cafeína mostra, de maneira análoga, a qualidade química do ambiente em questão. Assim como os demais contaminantes emergentes, a cafeína possui origem antrópica e pode ser vista como uma boa indicadora de de esgoto e, conseqüentemente, de outras substâncias no ambiente (Ferreira, 2005).

Muitos estudos mostram que a ocorrência de cafeína está associada à presença de diversos tipos de contaminantes emergentes (Ferreira, 2005; Froehner et al., 2011; Sodré et al., 2007; Sodré et al., 2010a; Montagner e Jardim, 2011;

Ghiselli, 2006). Montagner e Jardim (2011), por exemplo, determinaram cafeína na concentração de 127 µg/L em água superficial na região de Campinas, quantidade relativamente alta ao se tratar de contaminantes emergentes. Além da cafeína, neste trabalho foram encontradas concentrações consideráveis de outros contaminantes emergentes, demonstrando como a presença da cafeína e de outras substâncias estão relacionadas. Jardim e Umbuzeiro (2012)<sup>1</sup> evidenciaram ainda que a cafeína comporta-se como uma indicadora eficaz de atividade estrogênica em amostras de águas superficiais coletadas em diferentes mananciais do Estado de São Paulo. Isto não significa que a cafeína é um interferente endócrino, mas que sua ocorrência pode indicar efeitos associados a este tipo de contaminante.

#### 2.1.3.2. Atenolol

O Brasil é o nono mercado em medicamentos no mundo e movimenta cerca de R\$ 28 bilhões por ano (BRASIL, 2012). O atenolol é um medicamento bastante utilizado no Brasil, sendo contemplado no rol de medicamentos distribuídos gratuitamente à população por meio do Programa Farmácia Popular. É um fármaco do tipo beta-bloqueador muito utilizado para o controle de doenças cardiovasculares e hipertensão arterial (MS, 2010). A excreção renal do atenolol varia de 40 a 50% do total da droga consumida e a excreção pelas fezes é de 50% da droga, ambas na forma inalterada (MS, 2010). Sua estrutura molecular é mostrada na Figura 4.



**Figura 4:** Estrutura molecular do atenolol.

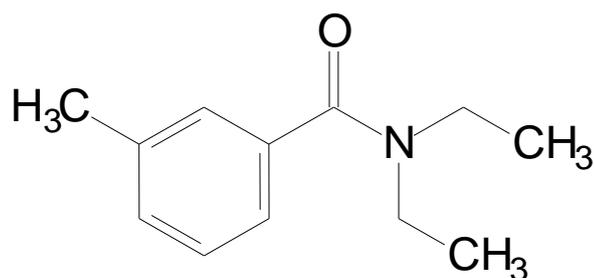
<sup>1</sup> Comunicação pessoal dos professores Dr. Wilson F Jardim e Dra. Gisela A. Umbuzeiro, da Unicamp, Campinas (SP), para o Dr. Fernando F Sodré, professor da UnB, em março de 2012.

Bendz et al. (2005) realizaram um estudo no qual as concentrações de diversos fármacos foram medidas em diferentes pontos do Rio Høje, na Suécia. As determinações foram realizadas à jusante e à montante de uma estação de tratamento de esgoto (ETE). Os autores demonstraram que, mesmo a cerca de 7 km de distância à jusante da ETE, o atenolol ainda foi encontrado a uma concentração de 60 ng /L.

Cleuvers (2005) realizou um estudo ecotoxicológico com atenolol, metropolol e propranolol, outros dois fármacos  $\beta$ -bloqueadores, para três espécies aquáticas: *Daphnia magna*, conhecida como pulga-de-água; *Desmodesmus subspicatus* e *Lemna minor*, duas espécies de plantas aquáticas. Comparativamente aos demais fármacos, o atenolol mostrou-se menos tóxico para a espécie *Desmodesmus subspicatus*. Contudo, o próprio autor recomenda a realização de bioensaios crônicos para determinar melhor a estimativa de risco ambiental.

#### 2.1.3.3. DEET

Produtos de higiene pessoal, como o DEET (N,N-dietil-meta-toluamida), também tiveram a presença atestada em ambientes aquáticos em alguns estudos (Glassmeyer et al., 2005; Benotti et al., 2009; Costanzo et al., 2007). O DEET é um repelente de inseto que permite a proteção contra mosquitos durante horas (Calza et al., 2011). Um exemplo de outro repelente de inseto, também muito comercializado, é a icaridina, princípio ativo nos repelentes Expositis® da Osler®. As loções Repelex® e OFF!® são os principais produtos comercializados no Brasil que contêm DEET em sua composição. Valores inferiores a 20% dessa substância são absorvidos pela pele e, posteriormente, metabolizados ou excretados (Costanzo et al., 2007). Dessa forma, a entrada do DEET em ambientes aquáticos é realizada através de efluentes de esgoto, aonde chega por meio de higienização ou excreção (Costanzo et al., 2007). O DEET tem sua estrutura molecular mostrada na Figura 5.



**Figura 5:** Estrutura molecular do DEET.

Kolpin et al. (2002) realizaram um abrangente estudo em 139 rios norte-americanos à procura de diversas substâncias, entre elas o DEET. Neste estudo, o DEET se apresentou numa concentração média e máxima de 60 ng/L e 1,1 µg/L, respectivamente. Weigel et al. (2002), também encontraram DEET em água superficial numa concentração máxima de 1,09 ng/L. O estudo foi realizado em diversos pontos do Mar do Norte.

Um estudo que envolveu a remoção de DEET e outros contaminantes emergentes foi realizado por Westerhoff et al. (2005). Neste trabalho, foram utilizadas amostras de três rios: Rio Colorado, situado em Nevada; Rio Ohio, situado em Kentucky e o Rio Passaic, situado em Nova Jérsei. As amostras foram fortificadas com 62 diferentes contaminantes emergentes em concentrações entre 10 ng/L e 250 ng/L (Westerhoff et al., 2005). Realizou-se uma simulação do tratamento para produção de água de consumo humano e, ao final, calculou-se a remoção das substâncias. Em tratamentos com floculação, a remoção de DEET foi inexistente, mostrando a ineficiência deste tipo de tratamento. O tratamento com carvão ativado, contudo, apresentou uma remoção de 52%. Westerhoff et al. demonstraram que, não só a remoção do DEET é baixa em tratamentos de água convencionais, como também a remoção de outros contaminantes emergentes. A atrazina e a cafeína, por exemplo, também não apresentaram porcentagens significativas de remoção. Nota-se, portanto, que mananciais contaminados com essas substâncias demandam um tratamento com alta remoção, pois não se sabe ao certo os riscos corridos pela ingestão prolongada de contaminantes emergentes.

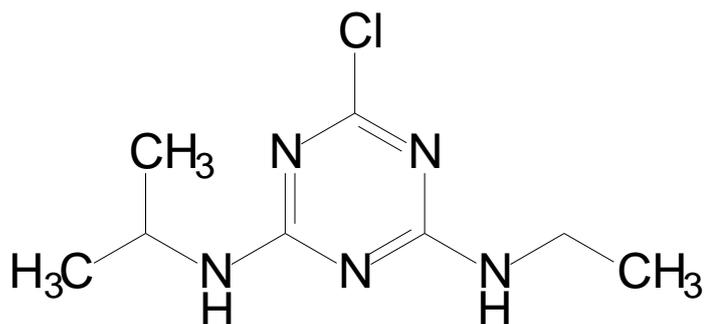
Os estudos realizados sobre a toxicidade do DEET são voltados principalmente para a toxicidade aguda desta substância (Costanzo et al., 2007).

Contudo, a toxicidade crônica é capaz de fornecer informações completamente diferentes sobre os riscos corridos (Sumpter e Johnson, 2005). Dessa forma, são necessários testes ecotoxicológicos aprofundados para dizer o risco que se corre com a exposição a DEET por longos períodos. Portanto, há uma grande incerteza associada à exposição prolongada a DEET.

#### *2.1.3.4. Atrazina*

A atrazina é um herbicida do grupo das triazinas, largamente utilizada em culturas de cana-de-açúcar e milho. Além dessas culturas, a atrazina possui registro para o uso em outras cinco culturas: abacaxi, pinus, seringueira, sisal e sorgo (IBAMA, 2010). É um dos agroquímicos mais utilizados no Brasil, estando em sétimo lugar no ranking dos ingredientes ativos mais comercializados no ano de 2009 (IBAMA, 2010). No Brasil, a venda total de atrazina chegou a 8180 toneladas no ano de 2009 (IBAMA, 2010). Segundo o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), o estado de Mato Grosso foi o maior consumidor de atrazina no ano de 2009 (IBAMA, 2010). Como este é um estado com grande produção agrícola, o consumo de agrotóxicos e produtos afins também é alto e, logo, há uma preponderante contaminação dos mananciais de água com essas substâncias químicas. O estado de Goiás, que cerca a região do Distrito Federal, é o quinto maior consumidor de atrazina no país (IBAMA, 2010). O Rio Descoberto, um dos mananciais de água bruta para abastecimento urbano do Distrito Federal, atravessa regiões desse estado e pode sofrer com contaminações de atrazina.

A estrutura molecular da atrazina está mostrada na Figura 6.



**Figura 6:** Estrutura molecular da atrazina.

Como a atrazina é um potencial interferente endócrino e também um dos produtos agrícolas mais usados no país, estudos sobre a ocorrência desta substância no ambiente tornam-se necessários. Um estudo norte-americano realizado por Glassmeyer et al. (2005) investigou a presença de 110 substâncias em rios que recebiam efluente de estações de esgoto. A atrazina se apresentou numa concentração máxima de 0,46 µg/L.

No Brasil, a atrazina é um dos poucos contaminantes emergentes que possui legislação para sua concentração no ambiente. Essa legislação, contudo, não veio com o intuito de estabelecer limites para a atrazina como contaminante emergente, mas por ela apresentar efeitos carcinogênicos. A resolução 357/05 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) traz o valor máximo permitido (VMP) para diversas substâncias. Nela, o VMP para atrazina é de 2 µg/L para corpos de água doce das classes 1, 2 e 3. Não há um VMP estabelecido para águas salobras e salinas e para a classe 4 de águas doces.

Um estudo realizado por Nogueira et al. (2012) encontrou concentrações de atrazina de até 9,3 e 18,9 µg/L em águas superficiais e subterrâneas, respectivamente. O estudo de Nogueira et. al. foi realizado em Mato Grosso nas regiões vizinhas às cidades de Campo Verde e Lucas do Rio Verde que são grandes produtoras de milho, algodão e soja. Os níveis encontrados estão situados acima do que permite a resolução 357/05 do CONAMA.

Hayes et al. (2003) realizaram um trabalho no qual sapos da espécie *Rana pipiens* foram expostos a concentrações de atrazina maiores ou igual a 0,1 µg/L.

Segundo os autores, sob este nível de concentração, os organismos-teste apresentaram hermafroditismo e um retardo no desenvolvimento das gônadas. Além disso, este trabalho também observou a existência de disgenesia gonadal, ou seja, a perda da potência reprodutora.

### 3. Objetivos

Sabe-se que a origem da maior parte dos contaminantes emergentes está associada ao esgoto. Dessa forma, corpos d'água receptores de esgoto, tratado ou não, estão sujeitos à contaminação por essas substâncias. Outro fator que torna pior a situação é que a remoção desses contaminantes pelos tratamentos utilizados nem sempre é suficiente (Westerhoff et al., 2005). Sabe-se também que o risco ambiental associado à presença de grande parte dessas substâncias é desconhecido. Dessa forma, faz-se necessária a determinação dessas substâncias em matrizes ambientais e em água para consumo humano para obter o cenário de contaminação. O presente trabalho tem como objetivo geral produzir dados referentes à ocorrência de contaminantes emergentes no DF. Já os objetivos específicos são:

- Estabelecer pontos amostrais de relevância ambiental.
- Desenvolver um método para a determinação dos quatro contaminantes selecionados.
- Coletar amostras em diferentes épocas do ano.
- Realizar a determinação das substâncias de interesse por meio de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas do tipo triplo quadrupolo, HPLC-MS/MS.

## 4. Materiais e Métodos

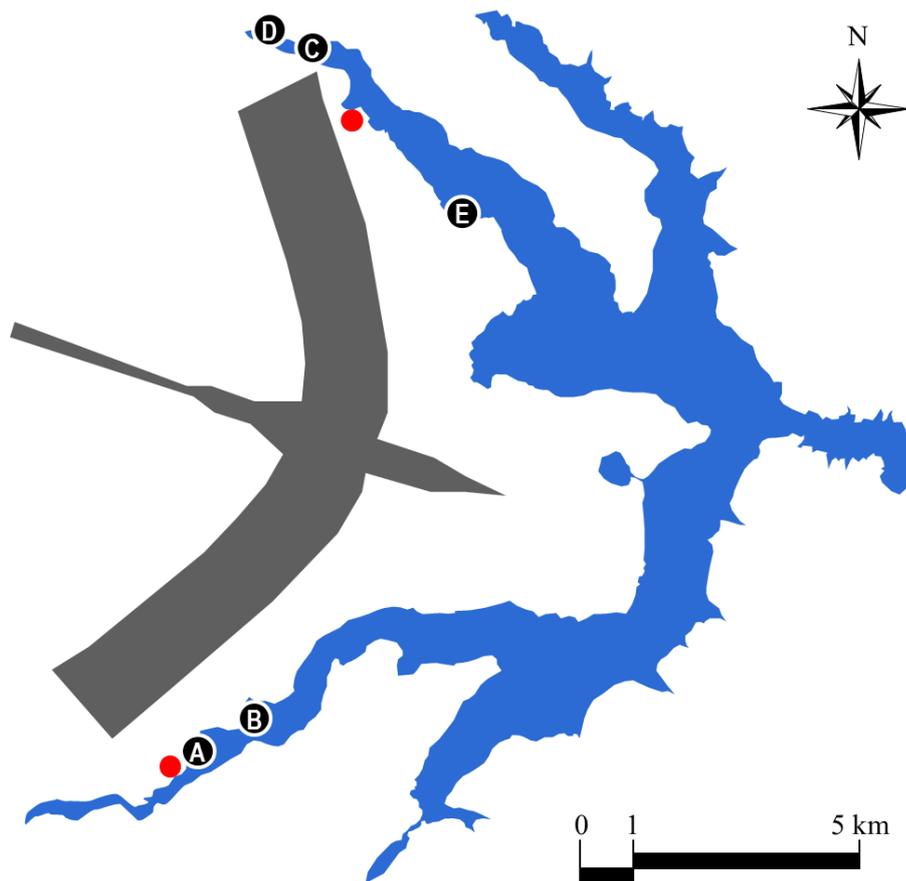
Este capítulo descreve os procedimentos e os materiais envolvidos em cada etapa do trabalho. Aqui, também são identificados os pontos amostrais selecionados e o que motivou a escolha de cada um. Além dos pontos amostrais, são relatados detalhes das análises realizadas.

### 4.1. Localização dos Pontos amostrais

Pontos amostrais são locais voltados à realização de coletas de amostras. Neste trabalho, dividiram-se esses pontos em pontos de água bruta e pontos de água para consumo humano. Os pontos de água para consumo humano consistiram de torneiras ligadas diretamente à rede de abastecimento, enquanto os pontos de água bruta foram localizados no Lago Paranoá e nos mananciais de água utilizados para abastecimento urbano.

#### 4.1.1. Lago Paranoá

A acessibilidade, a relevância para o trabalho e a proximidade de possíveis fontes poluidoras foram os fatores que mais influenciaram a escolha dos pontos amostrais no Lago Paranoá. O acesso foi um fator limitante, pois não havia a disponibilidade de barco para a coleta das amostras. Dessa maneira, o acesso ao Lago foi realizado pela orla. Também foram priorizados os pontos situados nas proximidades das estações de tratamento de esgoto, localizadas à beira do Lago, pois o efluente do esgoto tratado pode ser uma fonte em potencial de contaminação. A Figura 7 mostra os pontos amostrais estabelecidos no Lago Paranoá e, em vermelho, as estações de tratamento de esgoto.

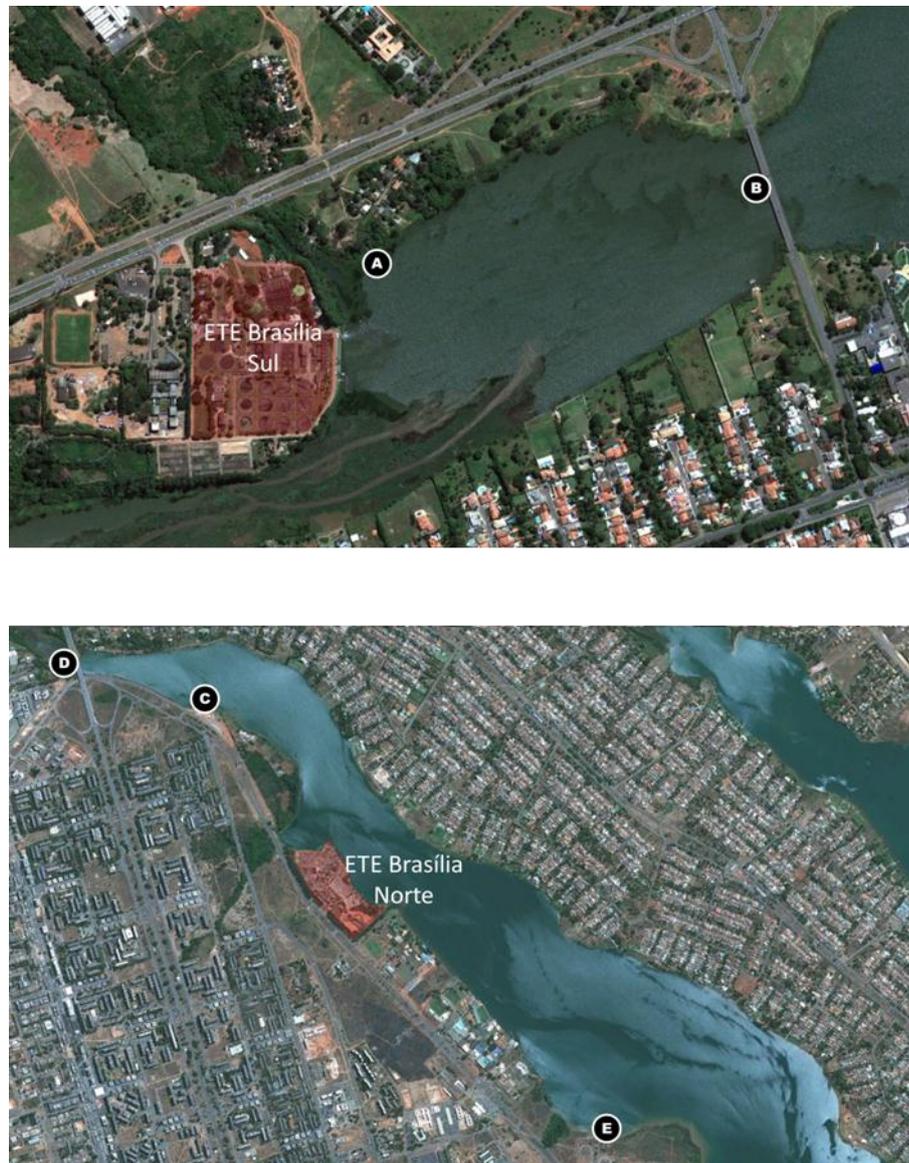


**Figura 7:** Pontos de amostragem no Lago Paranoá. Círculos vermelhos indicam a localização das ETE Sul e Norte.

Os pontos A e B localizam-se na região sul do lago, enquanto que os demais, ao norte. O ponto D foi utilizado para a coleta de amostras apenas na primeira campanha amostral. Após esta campanha, notou-se que seria interessante selecionar um ponto à montante da ETE Norte. Dessa forma, o ponto E foi incluído nas campanhas amostrais posteriores. Para que não houvesse um número excessivo de pontos amostrais, o ponto D foi excluído nas campanhas subsequentes. Pontos a jusante na ETE Sul não foram estabelecidos, pois se trata de área de alagamento com acesso bastante limitado.

A Figura 8 mostra fotografias de satélite das regiões norte e sul do Lago Paranoá evidenciando os pontos amostrais localizados em cada região. Por meio das informações disponíveis no software Google Earth®, foi possível estimar a distância entre as ETEs e os pontos amostrais de cada região do Lago. Ao sul, os pontos amostrais A e B localizam-se à jusante da ETE Sul a distâncias de 200 e

1000 m, respectivamente. Os pontos C e D situam-se a 2500 e 3000 m, respectivamente, após a ETE Norte, enquanto que o ponto E, à jusante, foi estabelecido a 2000 m.



**Figura 8:** Fotografias dos pontos amostrais no Lago Paranoá (Adaptado de Google Earth®).

#### 4.1.2. Mananciais de água bruta para abastecimento

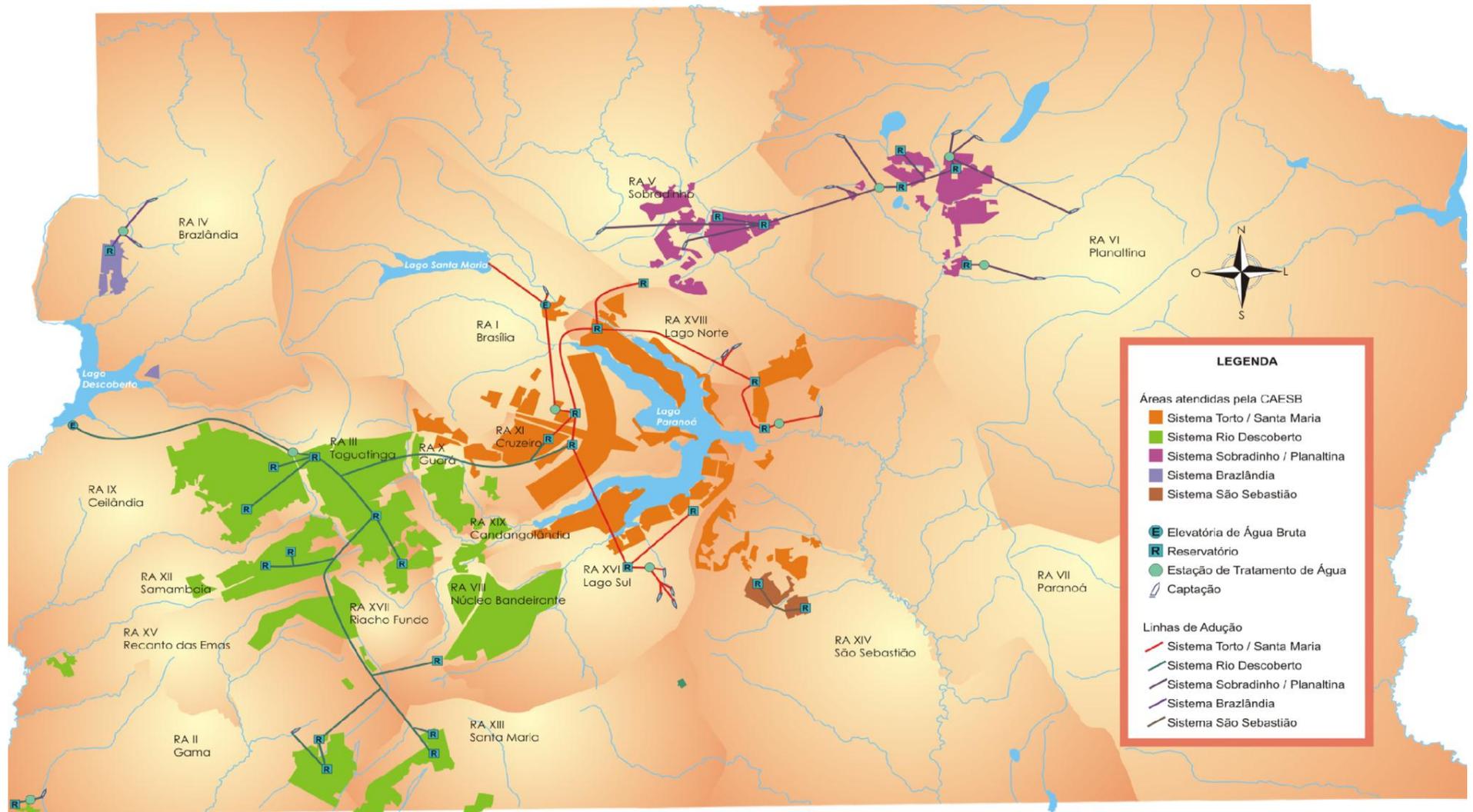
A escolha dos pontos de mananciais de água bruta levou em consideração a produção de água tratada em cada região do DF, realizada pela Companhia de

Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB) em cinco sistemas: Torto/Santa Maria, Descoberto, Brazlândia, São Sebastião e Planaltina/Sobradinho. Os sistemas Torto/Santa Maria e Descoberto são os de maior representatividade, com captação de respectivamente 27,51% e 59,53% do total captado (CAESB, 2011). Como estes sistemas representam juntos 87,04% de toda água captada, optou-se por coletar amostras em mananciais que abastecem estes sistemas. Para o sistema Torto/Santa Maria, um ponto no Córrego Cabeça de Veado foi selecionado e, para o sistema do Descoberto foi selecionado outro ponto logo após a barragem do Rio Descoberto. Ambos os pontos amostrais foram estabelecidos logo após a captação de água da CAESB.

A Figura 9 mostra a localização dos pontos de amostragem de água bruta para abastecimento urbano, enquanto que a Figura 10 traz o mapa de abastecimento público do Distrito Federal evidenciando os cinco sistemas de produção de água para consumo humano.



**Figura 9:** Localização dos pontos amostrais no Rio Descoberto (DC) e no Córrego Cabeça de Veado (CV) (Adaptado de Google Maps®).



**Figura 10:** Rede de abastecimento de água para consumo humano no Distrito Federal. (Adaptado de CAESB, 2011)

A Tabela 3 traz as coordenadas dos pontos amostrais de água bruta do Lago Paranoá (LP) e nos mananciais de água para abastecimento urbano.

**Tabela 3:** Localizações geográficas dos pontos amostrais de água bruta.

Ponto	Latitude	Longitude
LPA	15°50'27.73	47°54'23.89
LPB	15°50'23.34	47°53'54.39
LPC	15°43'58.61	47°53'13.52
LPD	15°43'51.21	47°53'38.13
LPE	15°43'34.49	47°51'35.53
ABCV	15°51'31.47	47°51'22.18
ABDC	15°47'3.36	48°37'56.54

AB – Água bruta de manancial de abastecimento

LP – Lago Paranoá

#### 4.1.3. Água para consumo humano

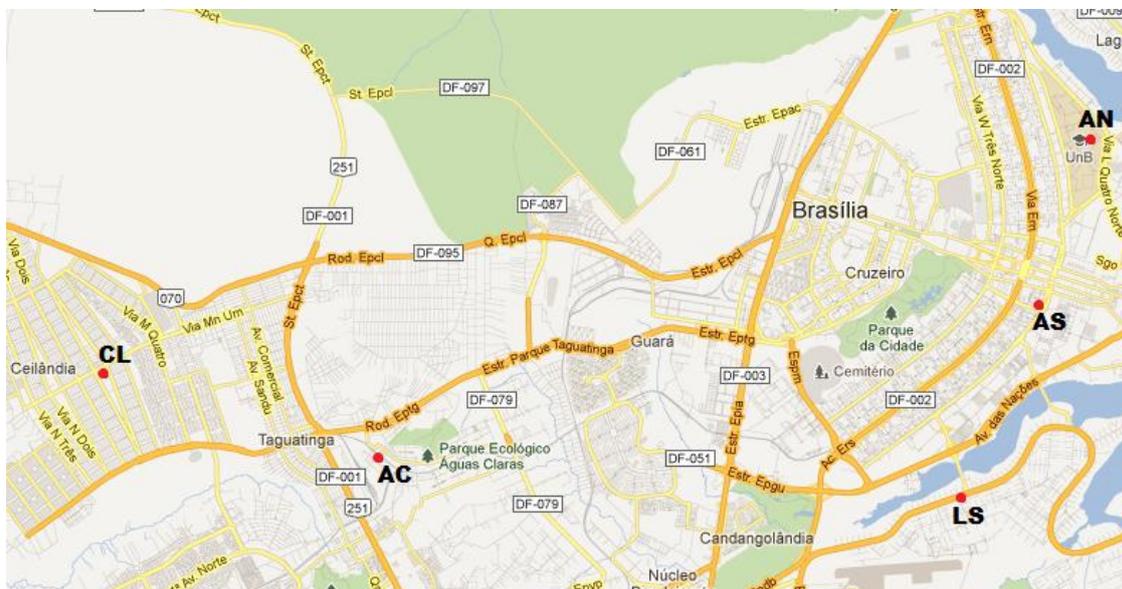
No caso dos pontos amostrais de água para consumo humano, a escolha foi realizada de forma a cobrir diferentes sistemas de produção, conforme são mostrados na Figura 10. Por exemplo, a amostra coletada no posto policial de Ceilândia Centro relaciona-se a água proveniente, em sua maioria, do sistema do Descoberto. Dessa maneira, esse foi o ponto escolhido no sistema Descoberto. Na Tabela 4 são mostrados os pontos amostrais de água bruta para consumo humano (TAP), assim como os sistemas representados.

**Tabela 4:** Pontos amostrais e sistemas produtivos representados.

Ponto amostral	Região do DF	Sistema
TAPCL	Ceilândia	Descoberto
TAPAC	Águas Claras	Descoberto
TAPAS	Asa Sul	Descoberto e Torto/Santa Maria
TAPLS	Lago Sul	Torto/Santa Maria
TAPAN	Asa Norte	Torto/Santa Maria

TAP – água de torneira

Na Figura 11 é mostrada a distribuição espacial dos pontos amostrais de água para consumo humano no Distrito Federal.



**Figura 11:** Localização dos pontos amostrais de água de consumo humano (Adaptado de Google Maps®).

Cabe mencionar que a localização dos pontos de acesso às amostras de água para consumo humano foram estabelecidos em torneiras públicas, ou seja, de livre acesso, localizadas em prédios públicos. Além disso, estes pontos de acesso não poderiam estar diretamente ligados a reservatórios locais tais como caixas d'água. Estes poderiam contaminar as amostras coletadas, pois os cuidados com a higienização de cada reservatório é desconhecido. Dessa maneira, foi necessário certificar de que as torneiras onde as amostras foram coletadas forneciam água diretamente da rede de abastecimento, não tendo passado por nenhum reservatório de água, a não ser os reservatórios de distribuição da própria CAESB.

A Tabela 5 mostra os endereços e a descrição dos pontos de acesso de água para consumo humano utilizados, neste trabalho, como pontos amostrais.

**Tabela 5:** Pontos amostrais de água para consumo humano por endereço, tipo de local e sigla.

Ponto amostral	Local	Endereço
TAPCL	Posto policial	CNM 01, Ceilândia Centro
TAPAC	Posto policial	Av. Araucárias rua 34/35 sul em frente ao Lote 06, Águas Claras
TAPAS	Edifício sede da Previdência Social	SAS Quadra 2, Próximo ao Edifício Sede da Previdência Social, Asa Sul
TAPLS	Posto policial	SHIS QI 05, Próximo à Ponte das Garças, Lago Sul
TAPAN	Reitoria da UnB	Prédio da Reitoria, Campus Darcy Ribeiro, Asa Norte

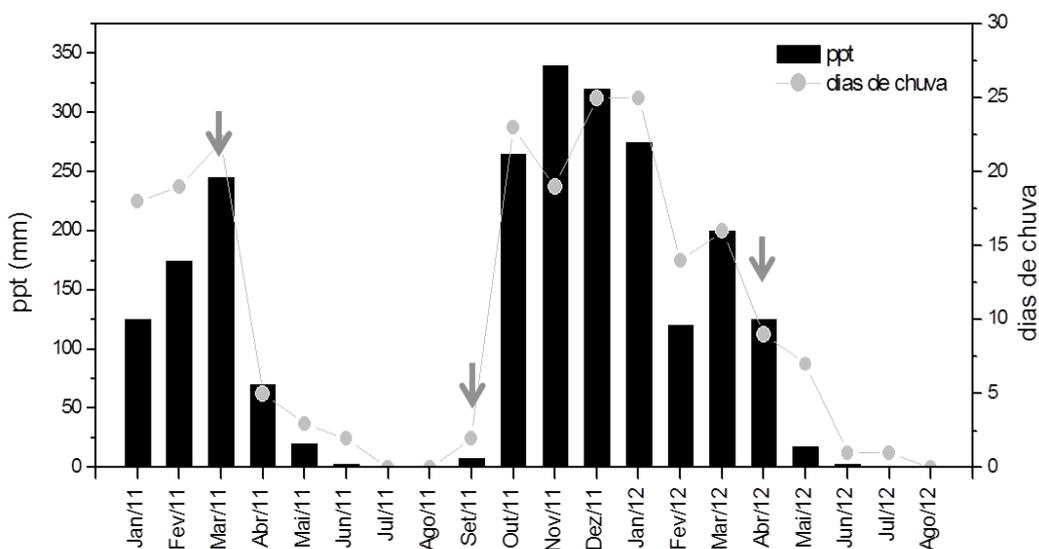
O ponto TAPAS foi o único localizado em via pública, enquanto que os demais consistiram de cavaletes com torneiras construídos juntos às edificações de cada estabelecimento, conforme mostra a Figura 12.



**Figura 12:** Pontos de acesso típicos de água para consumo humano utilizados neste trabalho. O ponto TAPAN é mostrado na fotografia A e o ponto TAPCL na fotografia B.

## 4.2. Campanhas amostrais

Após escolha dos pontos, foram realizadas três campanhas amostrais, duas delas em 2011 e outra em 2012. A primeira campanha amostral foi realizada em março de 2011, ao final da estação chuvosa, e a segunda no mês de setembro do mesmo ano, abrangendo o final da estação de estiagem. A terceira e última campanha foi realizada no final de mês de abril e início de maio de 2012, compreendendo o final do período chuvoso e início do período de estiagem. As campanhas amostrais foram realizadas em diferentes épocas do ano, com o intuito de averiguar se há relação entre as concentrações das substâncias investigadas e as estações climáticas do ano. A Figura 13 mostra a chuva mensal acumulada e o número de dias com chuva em cada mês dos anos de 2011 e 2012 (até agosto).



**Figura 13:** Incidência de chuvas no Distrito Federal durante o período de realização deste trabalho (Adaptado de INMET, 2012). As setas indicam os períodos em que foram realizadas as campanhas amostrais.

A Figura 13 mostra que existem diferenças evidentes com relação à incidência de chuva no Distrito Federal que se caracteriza por períodos bastante distintos de estiagem e chuva. Nota-se que, entre outubro e abril, há mais chuva acumulada em relação ao período compreendido entre maio e setembro, estação em

que se observa estiagem bastante significativa. Com base nas informações mostradas na Figura 13, é possível observar que a primeira e terceira campanhas amostrais, realizadas em maio de 2011 e abril de 2012, respectivamente, ocorreram durante situações de chuva intensa a moderada, enquanto que as coletas realizadas em setembro de 2011 representam um período de baixíssima incidência de chuvas.

### 4.3. Amostragem e preservação

As etapas de amostragem e preservação são fundamentais para manter a composição da amostra desde a coleta até o preparo e posterior análise da amostra. Se a amostra não for devidamente preservada, as substâncias de estudo podem se transformar e a amostra apresentar composição diferente da inicial.

As amostras de água bruta foram coletadas com o auxílio de um balde de polietileno previamente ambientado com a amostra a ser coletada. As amostras foram então transferidas para frascos de vidro âmbar, previamente limpos, com capacidade de 4 L. As amostras de água para consumo humano foram coletadas diretamente nos frascos de vidro âmbar a partir dos pontos de acesso. Todas as coletas foram realizadas por duas pessoas. A primeira pessoa, sem luvas, coletou a amostra com o balde sem manter contato direto com a amostra enquanto que a segunda pessoa transferia a amostra do balde para o frasco âmbar. Por manter um maior contato com a amostra, a segunda pessoa fez uso de luvas de látex sem talco. O contato com a amostra sempre foi realizado com o uso de luvas para minimizar contaminações cruzadas.

Terminada a coleta, as amostras foram imediatamente transportadas para o laboratório em caixas de isopor. Após o transporte, as amostras foram filtradas e, em seguida, alíquotas de 1 L foram separadas para as etapas seguintes e estocadas a 4 °C para diminuir a atividade biológica. As amostras foram armazenadas até a realização da extração, que foi feita em no máximo 24h.

#### 4.4. Preparo das amostras

Em laboratório, as amostras foram filtradas à vácuo (Prismatec 121-2cv) em sistema de vidro, previamente descontaminado, utilizando membranas de nitrato de celulose de 0,45 µm de tamanho de poro (Millipore). Quando as amostras aparentavam possuir muito material particulado, uma filtração com discos de microfibras de vidro (Sartorius) era realizada antes da filtração com as membranas de nitrato de celulose. Este procedimento foi realizado para aumentar a velocidade da análise e para diminuir o número de membranas utilizadas, pois estas possuem um custo mais elevado em comparação aos filtros de fibra de vidro.

A etapa de extração dos analitos foi realizada em até 24 h. As extrações foram realizadas em fase sólida (SPE, do inglês, *solid phase extraction*) empregando cartuchos comerciais preenchidos com fase sólida constituída de sítios lipofílicos e hidrofílicos (HLB Oasis® 500 mg, Waters®). As amostras filtradas foram retiradas da refrigeração sendo que a extração somente era realizada quando à temperatura ambiente.

A passagem da amostra pelo cartucho foi realizada com o auxílio de uma bomba peristáltica (Minipuls Evolution, Gilson) acoplada a um sistema de extração desenvolvido em laboratório (Sodré et al., 2010b). Este sistema é composto por uma válvula esfera e peças de politetrafluoretileno (PTFE) que permitem a ligação entre o cartucho e o frasco que contém a amostra. Para evitar vazamentos, as juntas das válvulas e a rosca das garrafas foram vedadas com fita de PTFE. A Figura 14 mostra o sistema de extração montado e unido ao frasco âmbar contendo a amostra.



**Figura 14:** Sistema utilizado para a extração em fase sólida dos analitos nas amostras de água.

O método de extração adotado foi o mesmo empregado em trabalho realizado anteriormente envolvendo a análise multirresíduos de águas naturais quanto ao conteúdo de estrogênios (Sodré et al., 2010a). Antes da extração, os cartuchos foram condicionados para ativar os sítios que interagem com os analitos. O condicionamento foi realizado com 6 mL de metanol (Grau HPLC, Honeywell), seguido de 6 mL de água purificada em sistema de osmose reversa (OS10LX, Gehaka). Após o condicionamento, foi iniciada a passagem da amostra pelo cartucho a um fluxo de 10 mL/min. Durante todo o processo de extração, tomou-se o cuidado para que a passagem, tanto dos solventes condicionantes quanto da amostra, fosse contínua, a fim de evitar a secagem do cartucho e a possível ocorrência de fissuras e rachaduras na fase sólida. As rachaduras podem promover caminhos preferenciais permitindo que os analitos presentes na amostra acabem não interagindo com os sítios ativos do cartucho.

Após a extração dos analitos, os cartuchos foram submetidos a um fluxo de nitrogênio para retirar o excesso de água. Em seguida, era realizada a eluição à

vácuo dos analitos com 6 mL de metanol em um manifold de 12 portas (Visipred DL, Supelco). Posteriormente, o extrato resultante foi levado à secura com nitrogênio por meio de um aparelho concentrador (TE-019, Tecnal) que mantinha o extrato à temperatura constante de 25 °C durante a secagem. Em seguida, o extrato foi avolumado com 6 mL de metanol e, neste momento, dividido em duas alíquotas de 3 mL cada acondicionadas em *vials* de vidro âmbar.

Uma das alíquotas foi novamente levada à secura sob temperatura controlada e enviada para análise no Laboratório de Química Ambiental (LQA) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), em atendimento à demanda do INCTAA que, desde 2010, mantém uma rede de pesquisa envolvendo a ocorrência de contaminantes emergentes em amostras de águas coletadas em todo o Brasil. A segunda alíquota foi separada para análise no Laboratório de Análise de Água (LAA) da UnB, de acordo com método desenvolvido neste trabalho e aqui denominado “Método UnB”. Para fins de comparação, a alíquota enviada para a Unicamp foi analisada pelo método aqui denominado “Método INCTAA”.

#### 4.5. Análise das amostras pelo Método INCTAA

O método desenvolvido na Unicamp e utilizado nas rotinas analíticas do INCTAA envolveu a determinação de 16 contaminantes emergentes de diferentes classes, a saber, cinco hormônios endógenos (estrone (E1), estradiol (E2), estriol (E3), progesterona (PROG) e testosterona (TTN)), quatro hormônios sintéticos (dietilestilbestrol (DES), etinilestradiol, levonorgestrel (NGT) e mestranol (MEE)), três substâncias de uso industrial/doméstico (bisfenol A, octilfenol (OP) e nonilfenol (NP)), duas substâncias de uso geral, comumente utilizadas em medicamentos (caféina e fenolftaleína), um produto de higiene pessoal (triclosan (TCS)) e um herbicida de uso geral (atrazina).

Em laboratório, o material contido nos *vials* foi redissolvido com solução mistura água:metanol (70:30) enriquecida com 0,01% (v/v) de hidróxido de amônio. Esta solução corresponde à composição da fase móvel empregada no início na análise cromatográfica pelo método INCTAA. As determinações dos analitos de

interesse foram realizadas empregando-se um cromatógrafo líquido Agilent 1200 acoplado a um espectrômetro de massas em triplo quadrupolo modelo 6410, também da Agilent. A análise cromatográfica foi realizada em uma coluna Zorbax SB-18 (30 mm x 2,1 mm x 3,5 µm, Agilent) à 25 °C com uma vazão constante da fase móvel de 0,3 mL/min. A fase móvel consistiu de gradiente água:metanol sendo que ambos os solventes foram enriquecidos com hidróxido de amônio 0,01%. A composição da fase móvel durante a análise cromatográfica é mostrada na Tabela 6.

**Tabela 6:** Composição da fase móvel cromatográfica durante as análises pelo Método INCTAA.

Composição (%v/v)		Tempo total (min)
H <sub>2</sub> O	MeOH	
70	30	0
30	70	3
0	100	6
0	100	12
70	30	17

Após a separação cromatográfica a fase móvel contendo os analitos foi submetida à etapa de ionização por eletronebulização. A fonte de ionização foi operada nos modos positivo e negativo a uma voltagem de ±4000 V. Gás nitrogênio, produzido por meio da vaporização de N<sub>2</sub> líquido, foi utilizado como gás de arraste e secagem a uma vazão de 10 L/min e à 350 °C. A pressão do N<sub>2</sub> no nebulizador foi fixada em 35 psi.

As substâncias foram identificadas e quantificadas empregando-se o método de aquisição baseado no monitoramento de duas transições específicas de cada substância, o MRM. Este método foi conduzido com um *dwel time* de 80 ms. Os parâmetros MRM são mostrados na Tabela 7.

**Tabela 7:** Parâmetros MRM empregados para a determinação dos analitos pelo Método INCTAA.

Analito	Massa exata (g/mol)	Fragmentor (V)	Transição (massas em m/z)	Energia de colisão (V)
ESI (+)				
Cafeína	194,1	110	195,1 → 138,1 195,1 → 110,1	15 20
Atrazina	215,1	100	216,2 → 174,1 216,2 → 132,1	15 15
Testosterona	288,3	130	189,3 → 97,1 189,3 → 109,1	20 25
Progesterona	314,3	130	315,3 → 97,2 315,3 → 109,1	15 25
Levonorgestrel	312,3	130	313,3 → 91,2 313,3 → 109,1	60 20
Mestranol	310,2	110	311,2 → 121,0 311,2 → 159,2	20 50
ESI (-)				
Dietilstilbestrol	268,3	130	267,2 → 251,1 267,2 → 237,1	15 25
Estrona	270,3	100	269,3 → 144,9 269,3 → 182,9	30 35
Estradiol	272,3	90	271,1 → 144,9 271,1 → 182,9	30 35
Estriol	288,3	110	287,0 → 170,9 287,0 → 144,9	30 35
Etinilestradiol	296,4	100	295,0 → 144,9 295,0 → 158,9	30 30
Bisfenol A	228,2	110	227,0 → 13,29 227,0 → 210,9	25 30
Triclosan	288,3	70	287,0 → 35,1 287,0 → 37,1	5 5
Fenolftaleína	318,1	90	317,1 → 93,1 317,1 → 272,0	5 15
Octilfenol	206,3	120	205,0 → 106,0 205,0 → 132,0	15 25
Nonilfenol	220,3	120	219,0 → 106,0 219,0 → 119,0	15 35

Os parâmetros de mérito analítico do Método INCTAA, mostrados na Tabela 8, envolveram a determinação dos limites de detecção e quantificação, além da precisão, sensibilidade analítica, faixa de trabalho, linearidade da curva analítica e recuperação em amostras de água bruta.

**Tabela 8:** Parâmetros de mérito analítico do Método INCTAA.

<b>Analito</b>	<b>Faixa de trabalho (pg na coluna)</b>	<b>Linearidade (R)</b>	<b>Sensibilidade (b)*</b>	<b>Precisão (%)**</b>	<b>Limite de detecção (ng/L)***</b>	<b>Limite de quantificação (ng/L)***</b>	<b>Recuperação em água bruta (%)****</b>
Cafeína	5 a 2000	0,980	46,3	12	0,2	0,8	91
Atrazina	5 a 2000	0,999	1286	5	0,2	0,7	83
Testosterona	12,5 a 2000	0,998	967	5	1,3	4,2	80
Progesterona	5 a 2000	0,998	491	7	1,3	4,5	82
Levonorgestrel	5 a 2000	0,998	148	6	1,4	4,6	84
Mestranol	12,5 a 2000	0,994	29,4	16	2,5	8,2	68
Dietilstilbestrol	12,5 a 2000	0,990	9,37	13	3,1	10,2	25
Estrona	12,5 a 2000	0,979	4,78	8	4,5	15,1	41
Estradiol	50 a 2000	0,976	2,52	8	3,3	11	46
Estriol	50 a 2000	0,964	2,06	5	5,0	17	42
Etinilestradiol	125 a 2000	0,974	0,79	3	7,9	26	51
Bisfenol A	12,5 a 2000	0,941	1,26	10	1,8	6,1	64
Triclosan	25 a 2000	0,994	4,18	3	2,9	9,8	21
Fenolftaleína	5 a 2000	0,993	48,2	7	0,9	2,9	67
Octilfenol	50 a 2000	0,948	5,40	22	4,2	14	31
Nonilfenol	25 a 2000	0,983	4,93	26	1,9	6,4	17

\* Inclinação da curva analítica

\*\* Precisão intermediária medida como o coeficiente de variação de cinco replicatas

\*\*\* Limites de detecção e de quantificação calculados pela relação sinal/ruído

\*\*\*\* Recuperação média obtida em três amostras distintas de água bruta enriquecidas com 100 ng/L dos analitos

## 4.6. Análise das amostras pelo Método UnB

Quatro substâncias foram selecionadas para serem investigadas em amostras de águas do DF pelo Método UnB. Assim como no Método INCTAA, cafeína e atrazina também foram selecionadas para compor o grupo de substâncias investigadas, além do atenolol, um fármaco empregado como anti-hipertensivo e do DEET, utilizado em formulações de repelentes de insetos. A Tabela 9 traz informações sobre os padrões analíticos utilizados durante o desenvolvimento do Método UnB.

**Tabela 9:** Substâncias investigadas pelo Método UnB.

<b>Substância</b>	<b>CAS</b>	<b>Marca</b>	<b>Pureza</b>
Cafeína	58-08-2	Fluka Analytical	99,0%
Atrazina	1912-24-9	Fluka Analytical	98,8%
Atenolol	29122-68-7	Sigma-Aldrich	98,0%
DEET	134-62-3	Fluka Analytical	97,6%

O método foi desenvolvido empregando-se um espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo da Applied Biosystems®, modelo 3200, acoplado a um sistema de cromatografia líquida com injeção manual, ambos alocados no Laboratório de Análise de Águas da UnB, sob responsabilidade da Profa. Dra. Cristina Celia S. Brandão. O sistema de cromatografia líquida foi composto por uma bomba quaternária Agilent®, modelo 1200 Series e uma coluna cromatográfica Hichrom RP18-5 da Lichrospher com dimensões de 12,5 cm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno.

O desenvolvimento do método envolveu a busca por condições ótimas para uso dos equipamentos em questão, tais como o estabelecimento de parâmetros para a determinação dos compostos de interesse, assim como a validação do método por meio da obtenção de parâmetros de mérito analítico relevantes. Detalhes sobre o desenvolvimento e a validação do método UnB são mostrados na seção de Resultados e Discussões.

Devido às baixas concentrações dos analitos nas amostras, todos os procedimentos de preparo de vidrarias e manuseio de amostras e padrões foram realizados mediante o uso de técnicas limpas como forma de evitar contaminação cruzada.

A limpeza das vidrarias baseou-se na lavagem com água corrente, detergente e escova, seguido do enxágue exaustivo com água corrente. Em vidrarias nas quais a limpeza com escova não era possível, pérolas de vidro foram inseridas no interior do material juntamente com solução detergente. Os conjuntos foram levados à lavadora ultrassônica (Ultracleaner 1400A) por 20 minutos e, em seguida, agitados para que as pérolas cumprissem o papel de uma escova. Depois disso, as pérolas foram retiradas e os materiais eram enxaguados com água corrente, seguido de água destilada e água desionizada.

Ao final do enxágue com água, as vidrarias eram enxaguadas com etanol e acetona comerciais, nesta ordem, para fins de remoção de água e impurezas. Vidrarias não volumétricas foram colocadas em forno mufla (SPLabor 200FD) a 400 °C por três horas para eliminar qualquer traço de substâncias orgânicas remanescentes. Esse procedimento foi aplicado a frascos de vidro âmbar utilizados para amostragem e armazenamento das soluções estoque e padrão, além de tubos de ensaio utilizados para o processamento de extratos. Vidrarias volumétricas eram deixadas protegidas para secagem ao ar. Todos os materiais foram armazenados após fechamento de orifícios com papel alumínio.

Soluções estoque foram preparadas a partir da pesagem dos analitos em balança analítica com 0,1 mg de precisão (Shimadzu AX200) e dissolução em metanol Grau HPLC. Todas as soluções estoque foram armazenadas em frascos de vidro âmbar com tampa e batoque. Os frascos foram selados com fitas de PTFE e filmes plásticos (Parafilm) e, em seguida, estocados em freezer (-16 °C). Soluções padrão, empregadas para construção de curvas analíticas, foram preparadas por meio de diluições sucessivas da solução estoque, previamente levada à temperatura ambiente, empregando micropipetas de volume variável (Labmate Soft).

As soluções padrão foram preparadas em mistura de solventes de composição idêntica à da fase móvel no início na análise cromatográfica, ou seja, água:acetona (1:1) enriquecida com ácido fórmico e formiato de amônio. As

concentrações desses aditivos foram otimizadas e são mostradas no capítulo de resultados e discussão. Este procedimento procurou evitar erros relativos aos tempos de retenção e de formação de picos cromatográficos causados pela mudança da força dos solventes a cada injeção. Os extratos resultantes da etapa de preparo de amostras eram levados à secura sob temperatura controlada e, em seguida, redissolvidos em mistura água:acetonitrila (1:1) enriquecida com ácido fórmico e formiato de amônio.

## 4.7. Cálculos para Validação do Método UnB

Também foi necessário realizar a validação do método UnB, por este ser um método novo. Segue adiante como foram calculados alguns parâmetros de mérito analítico.

### 4.7.1. Precisão

A precisão exhibe a concordância entre diversas medições analíticas de uma mesma amostra ou padrão (Inmetro, 2011). A precisão pode ser expressa através da repetitividade, precisão intermediária e da reprodutibilidade. Para a expressão dessas grandezas, é comum utilizar o desvio padrão ou o coeficiente de variação (CV), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), que é calculado pelo Inmetro da seguinte forma (Inmetro, 2011):

$$C.V. = DPR = \frac{S}{CMD} \times 100$$

Sendo:

S= Desvio padrão

CMD=Concentração média determinada

As condições de repetitividade, segundo o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro), são aquelas em que os resultados são obtidos com: o mesmo procedimento de medição; o mesmo instrumento, utilizado sob condições idênticas; o mesmo observador; o mesmo local e repetições com o menor espaço de tempo. (Inmetro, 2011)

Os ensaios, segundo o Inmetro, podem ser realizados com padrões, material de referência ou o branco da amostra com a adição de analito.

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o teste pode ser realizado em três níveis de concentração: baixo, médio e alto. Para cada nível de concentração deve haver, no mínimo, três replicatas (Anvisa, 2003). No presente trabalho, realizaram-se dez replicatas em cada nível de concentração.

Já a precisão intermediária é realizada fazendo uso do mesmo método no mesmo laboratório. Contudo, na precisão intermediária, ao contrário da repetitividade, variam-se determinadas condições, como: o analista, o equipamento e o tempo (Inmetro, 2011).

#### 4.7.2. Ensaio de recuperação

Para a realização dos ensaios de recuperação, uma mesma amostra foi dividida em duas partes. À primeira metade da amostra foi adicionado 100 µL de uma solução estoque a 10 mg/L contendo todas as substâncias, a fim de obter uma concentração final de 1 µg/L. Este é o procedimento de fortificação da amostra; que, no inglês, é chamado de *spike*. A extração e o preparo de amostra foram realizados normalmente. Finalizado o preparo de amostra, as determinações foram realizadas em ambas as partes (Inmetro, 2011).

Da metade que foi fortificada é subtraída a concentração encontrada na metade que não sofreu modificações. Dessa maneira, resta apenas a concentração do analito que foi adicionado à amostra. Levando em consideração a concentração esperada e a concentração medida, pode-se observar o percentual de recuperação do método. O Inmetro calcula a recuperação pela seguinte fórmula (Inmetro, 2011):

$$\text{Recuperação (\%)} = \left( \frac{C1 - C2}{C3} \right) \times 100$$

Sendo:

C1 = concentração do analito na amostra fortificada,

C2 = concentração do analito na amostra não fortificada,

C3 = concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

Os ensaios de recuperação do presente trabalho foram realizados como descrito.

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Desenvolvimento e validação do Método UnB

Como forma de estabelecer uma rotina analítica voltada à determinação de contaminantes emergentes, uma das etapas desta dissertação consistiu no desenvolvimento de um método para a determinação de quatro contaminantes emergentes em amostras de água.

É importante mencionar que, apesar da atrazina e da cafeína já pertencerem ao rol de compostos investigados pelo método INCTAA, é fundamental que análises de interesse ambiental voltadas à investigação sobre a ocorrência de contaminantes emergentes também sejam realizadas de maneira descentralizada. Ao desenvolver um método baseado no uso de equipamento alocado no DF, esta dissertação também buscou contribuir para a disseminação de conhecimentos analíticos envolvidos na determinação de contaminantes emergentes em águas naturais brasileiras. Além do exposto, cabe ressaltar que um dos quatro compostos selecionados nesta etapa, ou seja, DEET foi, pela primeira vez, estudado em águas do DF, o que confere um caráter de ineditismo ao trabalho.

O desenvolvimento do método envolveu a busca por condições ótimas para uso dos equipamentos, tais como o estabelecimento de parâmetros MRM, assim como a validação do método por meio da obtenção de parâmetros de mérito analítico relevantes.

#### 5.1.1. Desenvolvimento do Método

##### *5.1.1.1. Escolha de íons precursor e produto*

Em espectrometria de massas, parâmetros MRM referem-se ao monitoramento de reações específicas de fragmentação de um íon precursor em um íon produto. Conforme a grande maioria dos trabalhos envolvendo a determinação

de contaminantes emergentes por LC-MS/MS, buscou-se como íon precursor a molécula protonada de cada analito, ou seja  $[M+H]^+$ , para ser monitorada e guiada no primeiro quadrupolo do espectrômetro de massas.

Após a identificação dos íons precursores, foram realizados experimentos voltados à fragmentação seletiva destes íons na célula de colisão como forma de selecionar adequadamente íons produto para cada analito. Estes novos íons, denominados íons produto, são formados por meio de colisões dos íons precursores com  $N_2$  sob diferentes níveis de potencial aplicado. Diversos íons produto foram formados a partir da fragmentação dos íons precursores, contudo, apenas alguns foram escolhidos para a identificação de cada analito, por serem característicos das substâncias e/ou por produzirem uma abundância relativa desejável. A Tabela 10 mostra os parâmetros MRM selecionados para cada analito.

**Tabela 10:** Íons precursor e produto selecionados para cada analito, energia de colisão e referências bibliográficas que utilizaram os mesmos íons.

Analito	Íon precursor (m/z)	Íon produto (m/z)	Energia de colisão (V)	Referências
Atenolol	267,2	190,0*	23	Mozaz et al.(2004); Kim et al.(2009)
		145,0	35	
Atrazina	216,2	174,3*	23	Cahil et al.(2011); Vanderford et al. (2003); Trenholm et al. (2008)
		104,1	37	
		132,1	29	
Cafeína	195,2	138,3*	23	Vanderford et al. (2003); Pedrouzo et al. (2011)
		110,2	31	
		123,2	39	
DEET	192,2	119,2*	23	Vanderford et al. (2003); Trenholm et al. (2008)
		65,20	59	
		91,20	39	

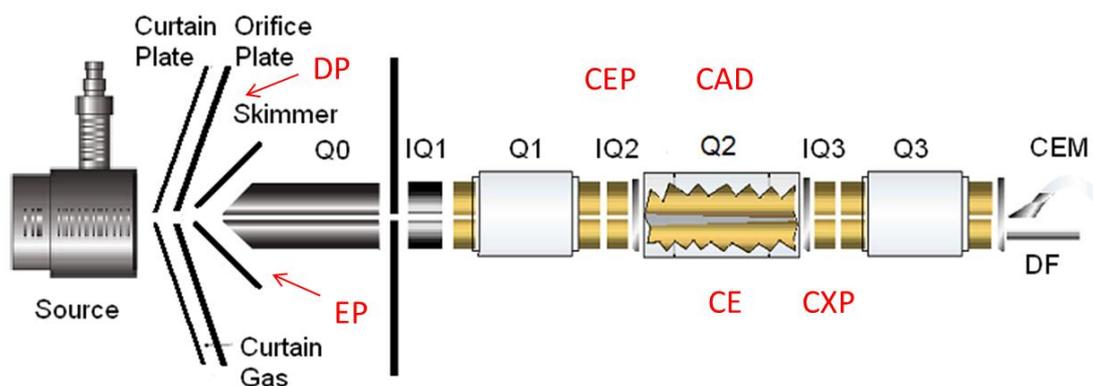
\*reações utilizadas para a quantificação. Demais reações de monitoramento são usadas para fins confirmatórios.

Todas as referências mostradas na Tabela 10 utilizaram os mesmos íons para identificar e quantificar cada um dos analitos por espectrometria de massas em triplo quadrupolo. Estes íons foram os mesmos selecionados neste trabalho para construção do método em MRM. Para tanto, utilizou-se diferentes transições (reações) precursor-produto específicas para identificação e quantificação dos

analitos. Para a quantificação, somente a transição com o íon produto de maior intensidade foi utilizada, enquanto que as demais transições foram usadas para identificar o analito. É importante mencionar que um composto só é identificado durante as análises se ambas as transições se fizeram presentes em um mesmo tempo de retenção cromatográfico e dentro de um mesmo perfil de abundância relativa, tal qual observada para os padrões analíticos.

#### 5.1.1.2. Otimização de parâmetros do espectrômetro de massas.

Após a escolha das transições precursor-produto, foi realizada a otimização de outros parâmetros do espectrômetro de massas como forma de aumentar a intensidade do sinal analítico. Os parâmetros se dividem em dois grupos: (1) parâmetros dependentes da fonte de ionização e (2) parâmetros dependentes de cada substância. A Figura 15 ilustra os principais componentes do instrumento utilizado e identifica as regiões nas quais houve otimização de parâmetros instrumentais relevantes ao método.



**Figura 15:** Principais componentes do espectrômetro de massas em triplo quadrupolo utilizado nesta etapa do trabalho. Em português, Source – Fonte, Curtain Plate – Placa da cortina, Orifice Plate – Placa de orifício, Curtain Gas – Cortina de gás, Skimmer – Escumadeira (Adaptado de Applied Biosystems®, 2009).

Os parâmetros dependentes da substância, com exceção do CAD, foram otimizados automaticamente pelo instrumento através do *software* Analyst® (Applied Biosystems). São eles:

- DP– *Declustering Potential*: Controla a diferença de potencial entre *skimmer* e o *orifice plate*. É utilizado para minimizar os chamados *clusters* de íons com o solvente. Os *clusters* são agrupamentos de íons com solvente.
- EP- *Entrance Potential*: Controla a diferença de potencial entre a voltagem em Q0 e o *skimmer*. Ele orienta o íon pela região de Q0.
- CEP- *Collision Cell Entrance Potential*: Controla o potencial de entrada na célula de colisão (Q2), que é a diferença de potencial entre Q0 e IQ2. Ele guia o íon para dentro da célula de colisão.
- CE- *Collision Energy*: Controla a energia de colisão. É a diferença de potencial entre Q0 e Q2.
- CXP- *Collision Cell Exit Potential*: Controla o potencial de saída da célula de colisão. É usado para guiar e acelerar o íon para fora da célula de colisão.
- CAD- Colision Gas: Controla a pressão do gás de colisão na célula de colisão durante uma análise do tipo MS/MS. O gás de colisão age fragmentando o íon precursor.

A otimização dos parâmetros dependentes de cada substância foi realizada através da infusão direta de uma solução padrão contendo 500 µg/L dos analitos. O valores otimizados, com exceção do CAD e do CE (mostrado na Tabela 10), são apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11:** Valores obtidos para os parâmetros dependentes da substância

Analito	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CXP (V)
Cafeína	51	5	12	4
Atenolol	46	3	16	4
Atrazina	46	10	14	4
DEET	41	5	12	4

Os parâmetros dependentes da fonte de íons, juntamente com o CAD, foram otimizados de maneira experimental e univariada. São eles:

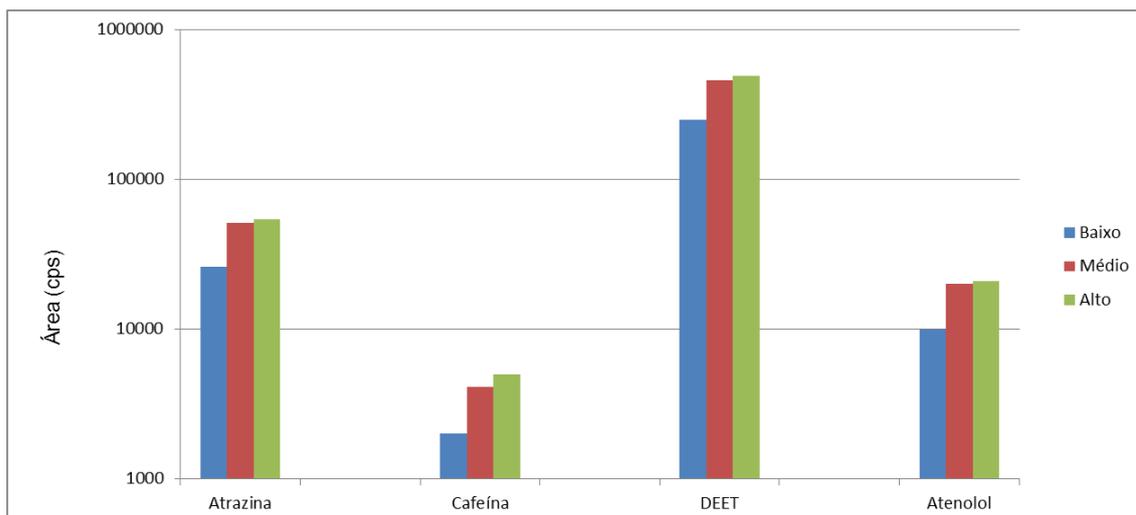
- CUR- *Curtain Gas*: Controla o fluxo de gás da interface *curtain gas*, localizada entre o *curtain plate* e *orifice*. Este fluxo de gás impede que gotas de solvente entrem no caminho dos íons.
- GS1- *Gas 1*: Este parâmetro controla o gás do eletronebulizador. Ele ajuda a formar pequenas gotas da amostra.
- GS2- *Gas 2*: Controla o fluxo do gás auxiliar no eletronebulizador que é utilizado para evaporar as gotas pulverizadas. O GS2 age em conjunto com o parâmetro temperatura (TEM). O melhor resultado é encontrado quando a combinação dos dois faz com que o solvente vindo da coluna cromatográfica seja quase completamente vaporizado.
- IS- *Ion Spray Voltage*: Controla a voltagem aplicada na agulha da fonte de íons. Este parâmetro depende da polaridade e pode afetar a estabilidade do spray e a sensibilidade.
- TEM. *Temperature*: A temperatura na eletronebulização;

Para a otimização desses parâmetros, foram fixados valores iniciais típicos para cada parâmetro (Tabela 12). Além disso, foi empregada a mesma solução padrão com concentração de 500 µg/L utilizada para a otimização dos parâmetros dependentes da substância. Contudo, esta etapa não foi realizada através de infusões, mas com corridas cromatográficas. Uma nova corrida cromatográfica foi realizada a cada mudança no parâmetro estudado, sempre utilizando o valor otimizado dos parâmetros anteriores. Uma solução tampão ácido fórmico / formiato de amônio foram utilizadas como aditivos da fase móvel durante os experimentos.

**Tabela 12:** Valores iniciais utilizados para a otimização dos parâmetros dependentes da fonte e do parâmetro CAD.

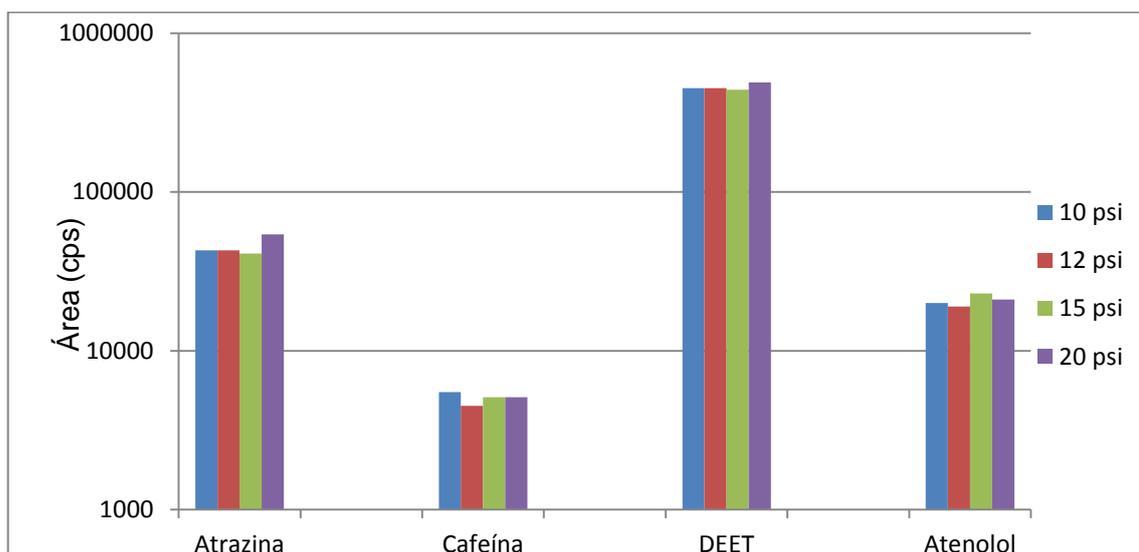
Parâmetro	CAD	CUR (psi)	GS1 (psi)	GS2 (psi)	IS (V)	TEM (°C)
Valor	Médio	20	45	45	5000	550

A Figura 16 mostra a área obtida para cada analito quando o parâmetro CAD foi variado.



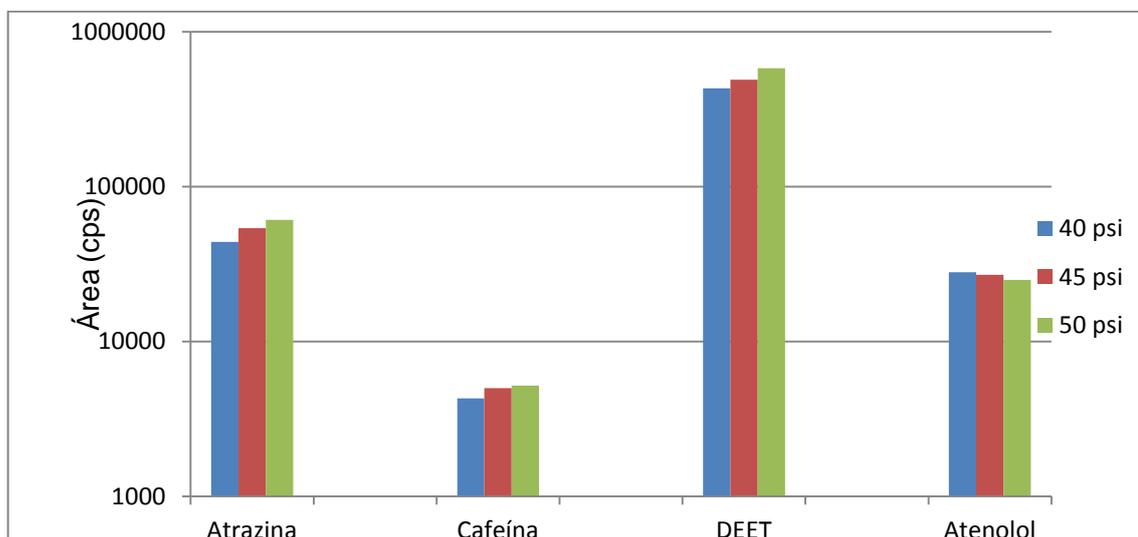
**Figura 16:** Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da pressão do gás na célula de colisão (CAD). cps: *counts per second*.

A partir dos dados mostrados na Figura 16 é possível observar que o parâmetro CAD no nível Alto produziu uma maior intensidade de sinal analítico para todas as substâncias, sendo este o nível escolhido. A Figura 17 exibe a área encontrada para cada variação de nível do parâmetro CUR.



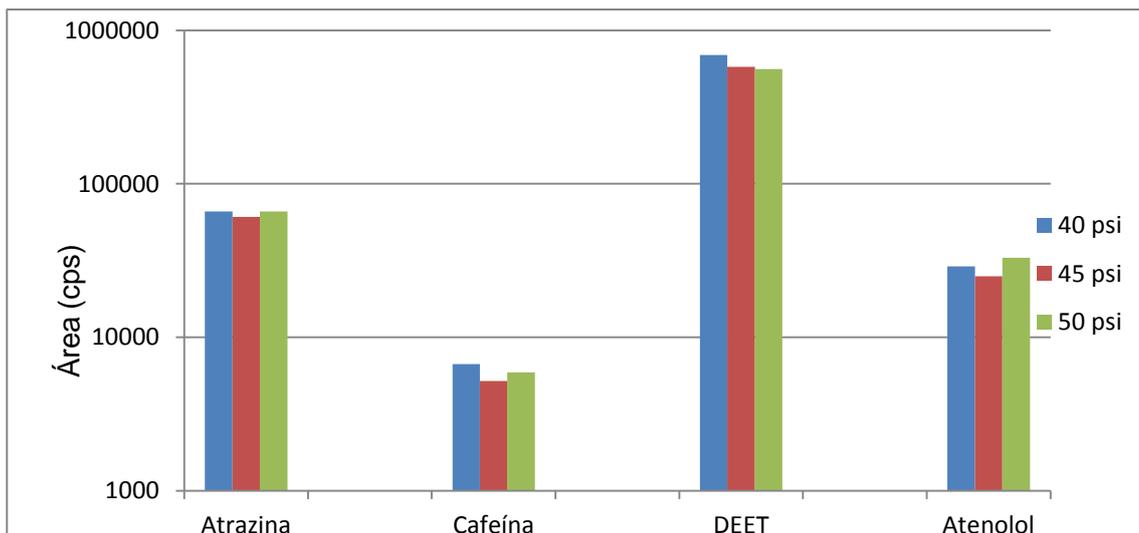
**Figura 17:** Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da pressão do gás CUR. cps: *counts per second*.

Por meio da Figura 17, nota-se que o parâmetro CUR a 20 psi produz a melhor área para atrazina e DEET. Para cafeína e atenolol, as maiores áreas foram obtidas em 10 e 15 psi, respectivamente. Por prover uma melhor área a dois analitos simultaneamente, o nível 20 psi foi escolhido para o parâmetro CUR. A Figura 18 apresenta os valores de área referentes ao parâmetro GS1.



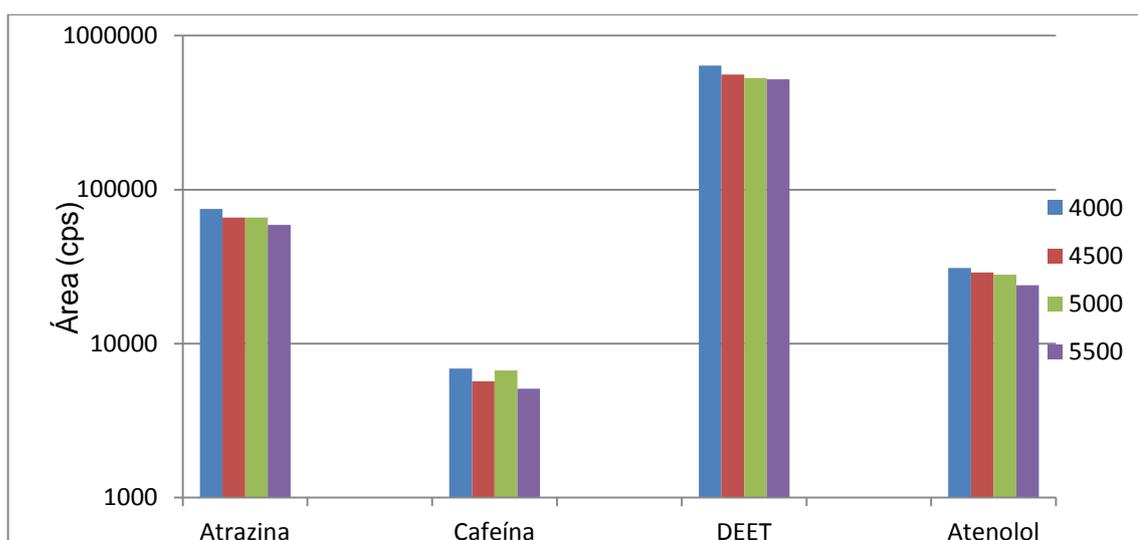
**Figura 18:** Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da pressão do gás de nebulização (GS1). cps: *counts per second*.

Nota-se, na Figura 18, que a pressão de 50 psi para o parâmetro GS1 produz a maior intensidade de sinal para atrazina, cafeína e DEET. Logo, este foi o nível escolhido para o parâmetro GS1. A Figura 19 mostra as áreas dos analitos para cada mudança de nível do parâmetro GS2.



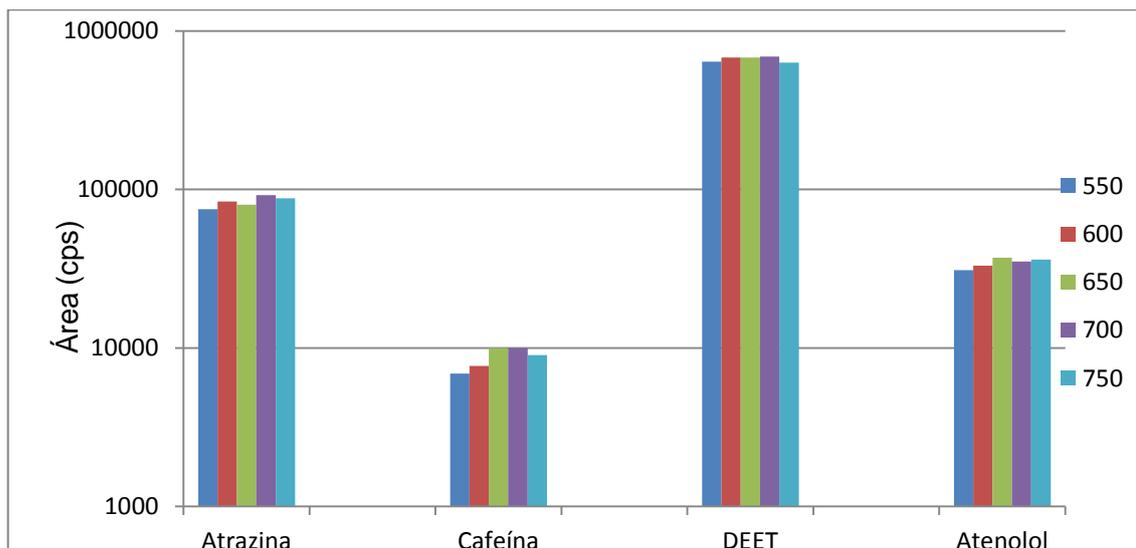
**Figura 19:** Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da pressão do gás de secagem (GS2). cps: *counts per second*.

É possível perceber, na Figura 19, que o parâmetro GS2 apresenta maiores intensidades de sinal para cafeína e DEET quando analisado em 40 psi. Como o atenolol apresenta seu melhor resultado em 50 psi e a atrazina não apresentou diferença significativa entre 40 e 50 psi, a pressão de 40 psi do gás de secagem foi escolhida. A Figura 20 exibe as áreas para cada analito quando o parâmetro IS é variado.



**Figura 20:** Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da voltagem aplicada na agulha da fonte de íons (IS). cps: *counts per second*.

Pela Figura 20 é possível observar que todas as substâncias apresentam a maior área quando o parâmetro IS é investigado a 4000 V. Dessa forma, este foi o nível escolhido. A Figura 21 exibe a variação da temperatura do gás na etapa de eletronebulização (TEM).



**Figura 21:** Áreas obtidas, para cada analito, nos experimentos de variação da temperatura do gás (TEM) na fonte ESI. cps: *counts per second*.

A Figura 21 mostra que as áreas obtidas para atrazina e DEET foram maiores em 700°C. Para cafeína, temperaturas de 700 e 650 °C produziram a mesma área. Já para o atenolol, a temperatura de 650°C ofereceu o melhor resultado. Por ter o maior número de analitos com as melhores áreas, a temperatura de 700°C foi escolhida. A Tabela 13 apresenta o quadro resumo dos parâmetros escolhidos.

**Tabela 13:** Valores otimizados dos parâmetros dependentes da fonte e do parâmetro CAD.

Parâmetro	CAD	CUR	GS1	GS2	IS	TEM
Valor	High	20	50	40	4000	700

### 5.1.1.3. Escolha do aditivo da fase móvel

Uma das maneiras de aumentar o sinal analítico em medidas realizadas por LC-MS/MS é promover condições ideais para aumentar a ionização dos analitos. Para esta finalidade, é comum o uso de aditivos na fase móvel. Neste trabalho, foram utilizadas duas soluções tampão: uma solução ácido fórmico / formiato de amônio e outra solução ácido acético / acetado de amônio.

Os experimentos foram conduzidos empregando solução padrão, preparada com água e acetonitrila na proporção 1:1 (v/v), contendo 50 µg/L de cafeína, atenolol e atrazina, além de 5,0 µg/L de DEET. Foi escolhida uma concentração inferior para o DEET devido ao maior sinal que este analito apresentou durante a etapa de otimização dos parâmetros instrumentais em comparação às demais substâncias.

Foram realizadas análises cromatográficas sucessivas, no modo isocrático (água:acetonitrila 1:1), variando-se o tampão empregado assim como suas concentrações percentuais em água e em acetonitrila, conforme mostrado nas Tabelas 14 e 15.

**Tabela 14:** Concentrações dos aditivos ácido fórmico e formiato de amônio na água e na acetonitrila para cada condição testada.

Sigla da condição	Água		Acetonitrila
	Concentração do Ácido	Concentração do Sal	Concentração do Ácido
AFM1	0,1%	5 mmol/L	1%
AFM2	0,1%	5 mmol/L	0,1%
AFM3	0,05%	5 mmol/L	0,05%
AFM4	0,05%	2 mmol/L	0,05%
AFM5	0,05%	10 mmol/L	0,05%

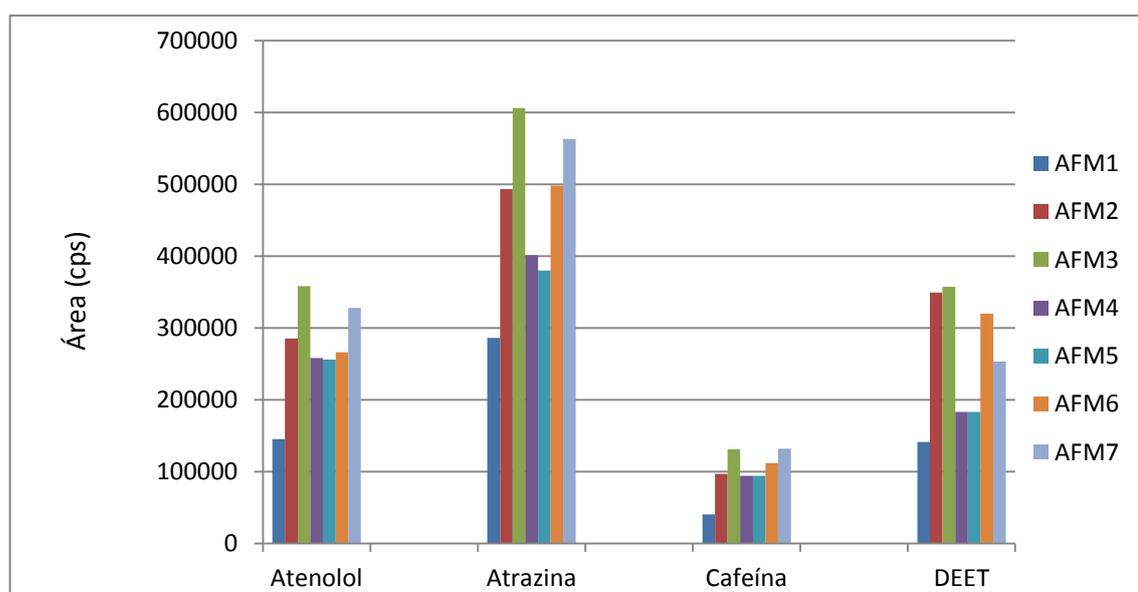
\*AFM – Aditivo da Fase Móvel

**Tabela 15:** Concentrações dos aditivos ácido acético e acetato de amônio na água e na acetonitrila para cada condição testada.

Sigla da condição	Água		Acetonitrila
	Concentração do Ácido	Concentração do Sal	Concentração do Ácido
<b>AFM6</b>	0,1%	5 mmol/L	0,1%
<b>AFM7</b>	1%	5 mmol/L	1%

\*AFM – Aditivo da Fase Móvel

A Figura 22 mostra a intensidade do sinal analítico para as substâncias estudadas em cada condição de composição da fase móvel testada.



**Figura 22:** Intensidade do sinal analítico obtido para cada analito sob diferentes constituições da fase móvel.

Por meio da Figura 22 é possível perceber que a condição AFM3 foi a que apresentou os maiores valores de áreas para atenolol, atrazina e DEET. Para a cafeína os melhores resultados foram obtidos em AFM3 e AFM7. Dessa forma, a condição AFM3, foi a que apresentou melhores resultados e foi, portanto, a escolhida neste método.

#### 5.1.1.4. Separação cromatográfica

O uso da cromatografia é normalmente necessária para a análise de misturas complexas como as matrizes ambientais. Como forma de estabelecer uma separação adequada dos analitos no método, foi iniciada uma série de testes empregando diferentes proporções de solventes da fase móvel.

Uma das principais características da cromatografia acoplada à espectrometria de massas em triplo quadrupolo é a capacidade que o método MRM fornece de diferenciar íons distintos pertencentes a transições específicas. Portanto, ainda que ocorra co-eluição, o espectrômetro de massas é capaz de distinguir os analitos em questão.

Salvia et al. (2012) desenvolveram um método multirresíduos onde há a co-eluição de diversos analitos. No trabalho de Salvia et al., por exemplo, as substâncias  $17\alpha$ -etinilestradiol e  $17\alpha$ -estradiol foram analisadas mesmo apresentando tempos de retenção de 15,83 e 15,82 min, respectivamente. Sodré et al. (2010a), também puderam investigar a presença de estrona e  $17\alpha$ -etinilestradiol em águas naturais em método que apresentava tempos de retenção de 6,36 e 6,35 min para cada substância, respectivamente. Ao contrário da espectrometria de massas em triplo quadrupolo, outros detectores, como o UV, promovem resultados satisfatórios, porém dependentes da separação cromatográfica completa dos analitos.

Considerando a elevada capacidade de distinção de espécies promovida pelo uso do espectrômetro de massas em triplo quadrupolo, a completa separação dos analitos não foi priorizada neste trabalho. Dessa maneira, optou-se por realizar uma corrida cromatográfica mais rápida.

Os testes para a obtenção da melhor corrida cromatográfica foram realizados com uma solução contendo 50  $\mu\text{g/L}$  cafeína, atenolol, e atrazina, assim como 5  $\mu\text{g/L}$  de DEET. Objetivou-se uma separação cromatográfica com eluição isocrática, embora gradientes também tenham sido testados, mas posteriormente descartados,

pois aumentavam muito o tempo de análise. A Tabela 16 mostra a composição da fase móvel (CFM) nas condições testadas.

**Tabela 16:** Composição de cada condição utilizada para encontrar a melhor fase móvel.

Sigla da condição	Solvente	
	Água (%)	Acetonitrila (%)
<b>CFM1</b>	50	50
<b>CFM2</b>	60	40
<b>CFM3</b>	40	60
<b>CFM4</b>	45	55

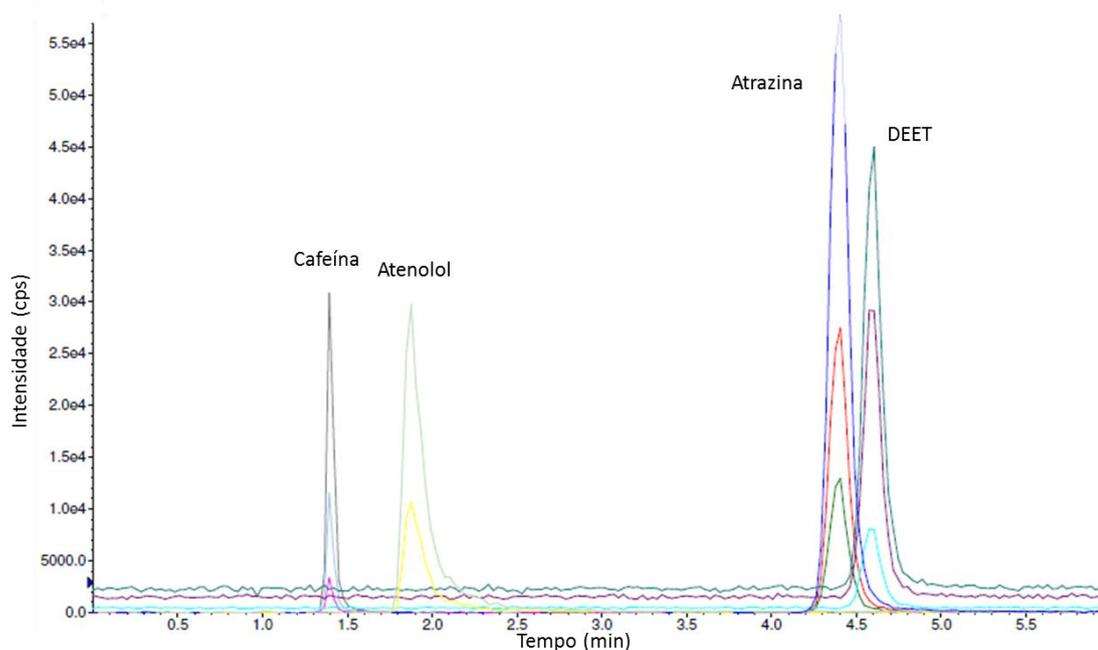
\*CFM – Composição da Fase Móvel

A Tabela 17 exhibe os tempos de retenção de cada analito nas condições testadas.

**Tabela 17:** Tempo de retenção em minutos de todos os analitos para cada condição testada.

	<b>CFM1</b>	<b>CFM2</b>	<b>CFM3</b>	<b>CFM4</b>
<b>Atenolol</b>	2,10	1,88	2,02	1,93
<b>Atrazina</b>	4,28	7,19	3,21	3,69
<b>Cafeína</b>	1,40	1,51	1,42	1,42
<b>DEET</b>	4,53	7,79	3,33	3,84

Com base nos valores apresentados na Tabela 17, a condição CFM1 foi a escolhida. Esta apresentou um tempo curto, necessário à corrida e uma separação que, ainda que incompleta, proporcionou a fácil visualização de todos os analitos. O uso da condição CFM1 ofereceu o cromatograma apresentado na Figura 23.



**Figura 23:** Cromatograma obtido para cafeína, atenolol, atrazina e DEET empregando-se eluição isocrática água:acetonitrila 1:1 (v/v).

### 5.1.2. Validação do método

Após a etapa de otimização das condições instrumentais, procedeu-se à validação do método proposto por meio do estabelecimento de uma série de parâmetros de mérito analítico. A validação tem como principal objetivo demonstrar que, sob determinadas condições, os resultados obtidos pelo método proposto possuem a qualidade necessária para o uso pretendido. Esta qualidade traz credibilidade ao método utilizado. Segundo Lanças (2004), a validação é definida como o “*ato ou efeito de validar, dar validade, tornar válido*”. A validação, através de um trabalho matemático, é que dá confiabilidade ao método desenvolvido.

No Brasil, a Anvisa e o Inmetro lançaram documentos relacionados à validação de métodos. A Anvisa publicou a Resolução nº 899 que versa sobre validação de métodos analíticos e bioanalíticos (Anvisa, 2003), enquanto o Inmetro trouxe um documento de caráter orientativo intitulado “Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos” (Inmetro, 2011). Estes dois documentos foram as principais referências utilizadas para a validação do método neste trabalho. Cabe ressaltar que

não foi encontrado, no Brasil, nenhum documento que tratasse especificamente sobre análises de amostras de interesse ambiental.

A validação do método analítico consistiu na obtenção de informações sobre: precisão, limites de detecção e quantificação, curvas analíticas e ensaios de recuperação.

### 5.1.2.1. Precisão

A precisão é comumente expressada por meio da repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. Sua grandeza pode ser mostrada por meio do coeficiente de variação.

A repetitividade foi realizada em três diferentes níveis de concentração com o mesmo analista no menor intervalo de tempo possível. As concentrações das soluções foram de 15, 90 e 250 µg/L. Para cada nível de concentração, foram realizadas medidas de dez replicatas. A Tabela 18 mostra o desvio padrão e o coeficiente de variação para cada nível de concentração estudado.

**Tabela 18:** Nível de concentração, desvio padrão (S) e o coeficiente de variação (CV).

Nível (µg/L)	Cafeína			Atrazina			Atenolol			DEET		
	15	90	250	15	90	250	15	90	250	15	90	250
<b>S</b>	1,48	2,45	5,57	0,44	1,46	2,72	3,69	2,92	3,53	0,58	1,35	10,52
<b>CV (%)</b>	7,00	2,64	2,22	2,83	2,06	1,06	21,3	2,18	1,38	3,21	1,43	3,75

Por meio da Tabela 18, é possível observar que os CV variaram entre 1,06 e 21,3%. A Anvisa recomenda que o CV não ultrapasse o valor de 5% para métodos analíticos que buscam determinar fármacos e/ou outras substâncias em produtos farmacêuticos (Anvisa, 2003). Em matrizes biológicas, tais como soro e plasma, a Anvisa recomenda que o CV esteja abaixo de 15%. Como a complexidade desta matriz se assemelha com a complexidade das matrizes biológicas, consideraram-se aceitáveis os coeficientes de variação abaixo de 15%. Por meio da Tabela 18, é possível perceber que apenas um dos valores obtidos (21,3 %) apresentou-se acima

do limiar estabelecido pela Anvisa. Dessa forma, acredita-se que os resultados mostraram-se, de uma maneira geral, satisfatórios.

A precisão intermediária também foi realizada sob condições idênticas ao experimento de repetitividade, porém em dias diferentes. A Tabela 19 exibe o desvio padrão e o coeficiente de variação em cada nível de concentração.

**Tabela 19:** Nível de concentração, desvio padrão (S) e coeficiente de variação (CV).

	Cafeína			Atrazina			Atenolol			DEET		
Nível (µg/L)	15	90	250	15	90	250	15	90	250	15	90	250
<b>S</b>	2,35	11,0	33,3	0,64	5,49	23,7	4,41	14,2	29,3	0,52	5,26	17,6
<b>CV(%)</b>	12,2	13,4	15,2	4,28	8,36	10,2	28,3	11,8	12,9	2,89	5,85	6,64

É possível perceber que quase todos os coeficientes de variação, com exceções do obtido para o atenolol (15 µg/L) e para a cafeína (250 µg/L) não ultrapassam o limiar de 15% recomendado pela Anvisa. Dessa maneira, pode-se considerar satisfatória a precisão intermediária do método.

#### 5.1.2.2. Curva Analítica e Linearidade

Curvas analíticas foram obtidas através de calibração externa. Foram construídas mais de uma curva para cada analito com o intuito de que os valores referentes às amostras se situassem no meio de cada curva, onde o erro é menor. Como a cafeína apresentou concentrações mais elevadas nas amostras analisadas, foi realizada uma curva que cobria concentrações também mais elevadas. A Tabela 20 mostra as curvas analíticas obtidas para cada faixa de trabalho.

**Tabela 20:** Equações das curvas analíticas em diferentes faixas de concentração.

<b>Faixas</b>	<b>2ng/L-30 ng/L</b>	<b>10ng/L-115ng/L</b>	<b>110ng/L-320ng/L</b>	<b>30 ng/L -520 ng/L</b>
<b>Atenolol</b>	$y = 2,56 * 10^3 x + 874$	$y = 2,52 * 10^3 - 1,16 * 10^4$	$y = 2,96 * 10^3 x + 3,01 * 10^4$	-
<b>Atrazina</b>	$y = 2,74 * 10^3 x + 867$	$y = 3,78 * 10^3 x + 8,89 * 10^3$	$y = 2,74 * 10^3 x - 9,32 * 10^3$	-
<b>Cafeína</b>	$y = 757x + 630$	$y = 1,10 * 10^3 x + 2,44 * 10^3$	$y = 1,17 * 10^3 x - 1,99 * 10^4$	$y = 1,85 * 10^3 x - 2,47 * 10^3$
<b>DEET</b>	$y = 4,67 * 10^4 x + 2,49 * 10^4$	$y = 5,27 * 10^4 x + 1,69 * 10^5$	$y = 3,99 * 10^4 x + 4,16 * 10^5$	-

Cada curva analítica apresentou um coeficiente de correlação, R, que estima quão bem uma reta se adéqua ao modelo proposto. Este coeficiente também é capaz de atestar a linearidade da resposta (Inmetro, 2011; Miller e Miller, 2005). A Tabela 21 mostra os coeficientes de correlação obtidos de cada curva analítica para cada analito.

**Tabela 21:** Coeficientes de correlação das curvas analíticas em diferentes faixas de concentração.

Faixas	2-30 ng/L	10-115 ng/L	110-320 ng/L	30-520 ng/L
Atenolol	0,9966	0,9967	0,9914	-
Atrazina	0,9994	0,9985	0,9951	-
Cafeína	0,9971	0,9925	0,9963	0,9972
DEET	0,9990	0,9983	0,9915	-

Para determinação de fármacos e metabólitos em matrizes biológicas, a Anvisa recomenda um coeficiente de correlação igual ou superior a 0,98. Como todas as curvas, para todos os analitos, superaram o valor de 0,99, os resultados foram considerados altamente satisfatórios.

### 5.1.2.3. Limites Detecção e Quantificação

O presente trabalho utilizou a relação sinal-ruído (S/N) para quantificar os limites de detecção e de quantificação. Para o limite de detecção, foi utilizada uma relação de 3 vezes S/N, enquanto para o limite de quantificação essa relação foi de 10 vezes S/N. Na literatura, há diversos trabalhos que utilizam esta relação (Sodré et. al., 2010a; Trenholm et al., 2008).

Para obtenção dos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), foram realizadas diluições sucessivas de uma solução padrão até que as relações S/N fossem obtidas. Todas as diluições foram realizadas com a fase móvel do método. A Tabela 22 mostra os valores encontrados para os LD e LQ do instrumento (LDin e

LQin) e do método (LDmt e LQmt). O LD e LQ do método consideram o fator de concentração da amostra.

**Tabela 22:** Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do instrumento e do método.

<b>Analito</b>	<b>LDin (µg/L)</b>	<b>LQin (µg/L)</b>	<b>LDmt (ng/L)</b>	<b>LQmt (ng/L)</b>
Atenolol	0,71	2,09	0,71	2,09
Atrazina	0,27	0,53	0,27	0,53
Cafeína	0,32	1,01	0,32	1,01
DEET	0,76	2,37	0,76	2,37

É possível notar que os limites de detecção do método variam entre 0,27 e 0,76 ng/L, enquanto o limite de quantificação varia entre 1,01 e 2,37 ng/L. Os limites de detecção do instrumento são mil vezes maiores, encontrando-se na faixa de µg/L. O método consegue alcançar limites tão baixos devido à concentração das substâncias durante o preparo das amostras. A amostra que parte de um volume inicial de 1 L, após todas as etapas do preparo, é reduzida a um volume de 1 mL. Dessa forma, os analitos partem para uma concentração mil vezes maior que a inicialmente encontrada na amostra.

A necessidade de limites de detecção e de concentração tão baixos vem de encontro às concentrações em que contaminantes emergentes se encontram no ambiente. Por exemplo, Mozaz et al. (2004) encontraram atrazina em rios espanhóis sob concentrações de até 2 ng/L. Vanderford et al. (2003) encontraram cafeína a 3 ng/L e atrazina a 1,2 ng/L em um lago norte-americano. Estes valores, situados na faixa de ng/L, evidenciam que um estudo voltado à determinação destes analitos em matrizes ambientais deve apresentar limites de detecção e de quantificação compatíveis com suas concentrações. O presente método possui limites de detecção e de quantificação na faixa de ng/L, sendo capaz de detectar e quantificar com confiabilidade as concentrações dos analitos encontrados neste intervalo. Desse modo, o método desenvolvido é apropriado para a determinação dos analitos sob condições naturais.

#### 5.1.2.4. Ensaio de recuperação

Os ensaios de recuperação são capazes de informar qual é a quantidade de analito extraída pelo método aplicado. No presente trabalho os ensaios foram realizados com dois tipos diferentes de água, água bruta e água para consumo humano, em função de possíveis diferenças que as matrizes poderiam apresentar. O procedimento de preparo de amostra e de fortificação foram os mesmos para ambas as matrizes. Seguem, na Tabela 23, os valores percentuais referentes aos ensaios de recuperação realizados.

**Tabela 23:** Recuperação analítica para as substâncias estudadas.

<b>Substância</b>	<b>Água para consumo humano</b>	<b>Água bruta</b>
<b>Atenolol</b>	23,7%	28,4%
<b>Atrazina</b>	61,9%	64,8%
<b>Cafeína</b>	41,0%	33,9%
<b>DEET</b>	40,2%	39,2%

Por meio da Tabela 23, é possível notar que os valores de recuperação para água para consumo humano variaram entre 23,7% e 61,9%. Para água bruta, estes percentuais variaram entre 28,4% e 64,8%.

Na literatura, é possível observar casos em que os ensaios de recuperação apresentam valores acima de 90% para os mesmos analitos (Mozaz et al., 2004; Cahil et al., 2011; Aga e Batt, 2005). Dessa maneira, valores presentes na Tabela 23 apresentaram-se abaixo do esperado. Contudo, é importante mencionar que o método de extração em questão foi o mesmo empregado para as amostras do Método INCTAA que prioriza compostos estrogênicos. Os analitos investigados pelo Método UnB, ao contrário, não incluem nenhum hormônio, seja natural ou sintético.

Cabe deixar claro que o desenvolvimento e a validação do Método UnB surgiu em função de uma parceria entre o Grupo de Automação, Quimiometria e Química Ambiental da UnB (AQQUA) e o LAA da Faculdade de Tecnologia da Universidade de Brasília. No entanto, a investigação com respeito à ocorrência de contaminantes

emergentes em águas já havia sido iniciada por meio da análise das amostras pelo Método INCTAA. Como o método em questão incluía a determinação de outros contaminantes, optou-se por manter o mesmo procedimento de preparo de amostra para análise das amostras pelo Método UnB.

Mesmo apresentando recuperações baixas, é importante mencionar que outros trabalhos da literatura também reportaram dificuldades em obter recuperações apreciáveis para alguns dos analitos investigados pelo Método UnB. Vanderford et al. (2003) trabalhou com três analitos em comum com o presente trabalho: cafeína, atrazina e DEET. Utilizou também o mesmo cartucho de extração em fase sólida, HLB Oasis® da Waters®. As recuperações variaram entre 23% e 67% para cafeína, 40% e 60% para atrazina e 39% e 67% para DEET. Da mesma forma que o presente trabalho, o estudo de Vanderford et al. consistiu de um método multirresíduos, pois eram determinados mais de trinta analitos. Dessa forma, é possível perceber que, ainda que alguns analitos possam apresentar boas recuperações, outros apresentarão recuperações inferiores e menos apreciáveis. Em métodos que buscam a determinação de muitas substâncias, a tarefa de obter excelentes recuperações para todas é complexa e de difícil realização.

## 5.2. Determinação de Cafeína, Atenolol, Atrazina, DEET pelo Método UnB.

O método desenvolvido e validado no presente trabalho foi utilizado para determinar cafeína, atenolol, atrazina e DEET em amostras de água. As amostras foram as mesmas utilizadas para o levantamento de contaminantes emergentes do INCTAA. Para a utilização das mesmas amostras nas duas análises, os extratos de cada amostra foram divididos em duas metades e cada metade foi utilizada em um dos métodos.

Enquanto uma das metades foi enviada o Laboratório de Química Ambiental do Instituto de Química da Universidade de Campinas para a análise do primeiro grupo de contaminantes, a segunda foi analisada pelo método aqui desenvolvido. A divisão dos extratos foi realizada apenas para a segunda e a terceira campanha amostral. Quando a primeira campanha amostral foi realizada, o método desenvolvido ainda não estava pronto para ser utilizado.

### 5.2.1. Lago Paranoá

A Tabela 24 traz os resultados das concentrações encontradas dos analitos investigados nas amostras do Lago Paranoá coletadas durante a segunda e terceira campanhas amostrais. A segunda campanha foi realizada em setembro de 2012 e representa uma situação típica de estiagem no DF. A terceira campanha foi realizada ao final do mês de abril e início de maio e representa uma situação típica de período chuvoso.

**Tabela 24:** Concentrações médias dos analitos, em ng/L, nas águas do Lago Paranoá coletadas durante as segunda e terceira campanhas amostrais.

Campanha amostral	Ponto amostral	Atrazina	DEET	Cafeína	Atenolol
2 <sup>a</sup> Período de Estiagem	LPA	<LQ	26,0±5,1	228±18	70,2±6,1
	LPB	1,23±0,89*	19,0±5,4*	142±19	90,0±19,7
	LPC	4,99±0,37	13,7±2,4	85,2±3,5	39,5±1,7
	LPE	5,47±0,42	16,3±0,3	68,7±0,4	30,4±2,6
3 <sup>a</sup> Período Chuvoso	LPA	3,62±0,65	17,4±0,5	29,0±3,4	18,8±1,9
	LPB	5,15±0,92	10,0±0,8	13,1±1,5	13,0±1,6
	LPC	2,93±0,26	3,76±0,34	22,6±0,6	12,1±0,5
	LPE	4,07±1,06	4,36±1,64	20,1±0,9	4,72±0,39

As determinações foram realizadas em triplicata.

Médias acompanhadas de intervalo de confiança de 95%.

\*Apresentou um valor discrepante e foi considerada apenas a duplicata.

É possível perceber na Tabela 24 que todos os analitos foram quantificados nas amostras investigadas, independentemente da campanha amostral. Exceção é feita para a atrazina que foi detectada, mas apresentou concentração inferior ao limite de quantificação do método. Os resultados evidenciam uma frequência de detecção de 100% para todos os analitos investigados nas águas no Lago Paranoá.

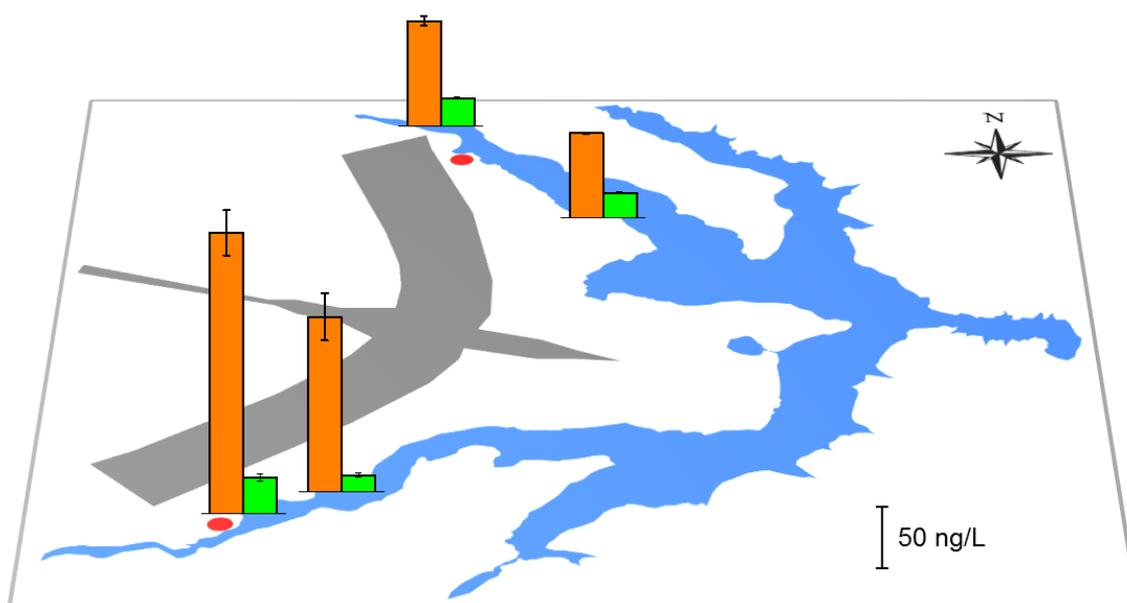
Dentre os compostos investigados, a cafeína apresentou valores de concentração mais elevados que variaram entre 13,1±1,5 e 228±18 ng/L. Como mencionado anteriormente, a cafeína é um composto muito empregado como estimulante tanto em formulações farmacêuticas quanto em bebidas e alimentos, notadamente refrigerantes, chás, cafés e energéticos. Por este motivo, a cafeína pode ser considerada uma boa traçadora de contaminação antrópica. O atenolol apresentou níveis de concentração variando entre 4,72±0,39 e 90,0±19,7 ng/L sendo o segundo composto mais prevalente neste estudo. Considerando-se que nem todo o medicamento ingerido é metabolizado no organismo, boa parte do princípio ativo é excretado de forma inalterada, atingido os sistemas de esgotamento sanitário e, conseqüentemente, os corpos aquáticos naturais.

Em seguida, o DEET apresentou concentrações de 3,76±0,34 a 26,0±5,1 ng/L evidenciando o seu uso frequente como repelente de insetos pela população. Finalmente, a atrazina foi o composto que apresentou as menores concentrações, que variaram entre 1,23±0,89 e 5,47±0,42 ng/L. A baixa concentração deste herbicida, em comparação aos demais compostos investigados, pode estar

associada ao uso minoritário deste princípio ativo em ambientes urbanos em comparação às áreas rurais. Mesmo assim, a região estudada, assim como o restante da cidade de Brasília, apresenta uma cobertura vegetal significativa sujeita ao uso de uma série de agrotóxicos voltados ao controle de pestes.

É possível perceber com base nos dados mostrados na Tabela 24, que os períodos de chuva e estiagem exerceram influência sobre as concentrações dos analitos. De uma maneira geral, no período chuvoso, as concentrações foram, em média, menores que no período de estiagem. É possível que, durante este período, a ocorrência de eventos de chuva na região contribua para a diluição na concentração dos analitos nas amostras. De maneira análoga, no período de estiagem, os analitos podem apresentar concentrações mais elevadas em função da diminuição da vazão dos corpos de água afluentes que contribuem para a diminuição do nível das águas do Lago. Obviamente que estas hipóteses levam em consideração um aporte constante dos analitos no ambiente, o que nem sempre pode ser facilmente investigado em função da grande variabilidade de fontes discretas e, igualmente, de processos de poluição.

A Figura 24 mostra a variação das concentrações de cafeína nos pontos amostrais localizados no Lago Paranoá, próximos às ETE Brasília Sul e Norte.



**Figura 24:** Localização espacial dos pontos amostrais e concentrações de cafeína no Lago Paranoá. Colunas em laranja representam dados coletados no período de estiagem. Colunas verdes indicam dados referentes ao período chuvoso. Círculos vermelhos representam as estações de tratamento de esgoto.

É possível observar na Figura 24 que as concentrações de cafeína são dispostas na forma de colunas acompanhadas de barras de erro que representam o intervalo de confiança de 95%. Para cada ponto amostral, duas colunas representam concentrações de cafeína obtidas no período de estiagem, em laranja, e no período chuvoso, em verde. No canto inferior direito da figura uma barra vertical indica a magnitude da concentração da cafeína nas amostras.

O mapa mostrado na Figura 24 evidencia que, independentemente da sazonalidade, as concentrações de cafeína são maiores nos pontos LPA e LPB, localizados da região sul do Lago Paranoá. Por outro lado, os pontos LPC e LPE, localizados na região norte do Lago apresentaram níveis de concentração mais baixos. Esta diferença pode ocorrer devido à quantidade de efluente de esgoto tratado lançada por cada estação de tratamento, localizadas à beira do lago. A ETE Brasília Sul, estação de tratamento localizada na região ao sul do lago, atende uma população maior que a ETE Brasília norte, localizada ao norte do lago. Segundo a CAESB (2008), a ETE Brasília Sul lançou no Lago Paranoá, em 2008, uma vazão média mensal de mais de 3 milhões de metros cúbicos de esgoto tratado, enquanto na ETE Brasília Norte, uma média mensal de 1,2 milhão de metros cúbicos foi verificada para o mesmo ano. Há também a influência do Córrego Vicente Pires que é um afluente do Lago. Esse é um córrego que, por ser poluído, leva contaminantes ao Lago Paranoá elevando a concentração dessas substâncias no lado sul do Lago. Devido a esses fatores, as concentrações de cafeína tornam-se mais elevadas na região sul.

Outro fator que também pode ter influenciado a diferença entre os níveis de concentração da substância investigada é a distância dos pontos amostrais em relação às estações de tratamento. Os pontos LPA e LPB estão situados à jusante da ETE Brasília Sul e a distâncias de 200 m e 1000 m, respectivamente. Já os pontos LPC e LPE, situam-se a 1600 m e 2800 m da ETE Brasília Norte. Além disso, cabe mencionar que o ponto LPC encontra-se à montante da ETE, enquanto que o ponto LPE localiza-se à jusante. É possível, portanto, que à medida que os pontos amostrais se distanciam das fontes de poluição, as concentrações de cafeína diminuem por conta da mistura entre o efluente descartado pelas ETE e a água do Lago.

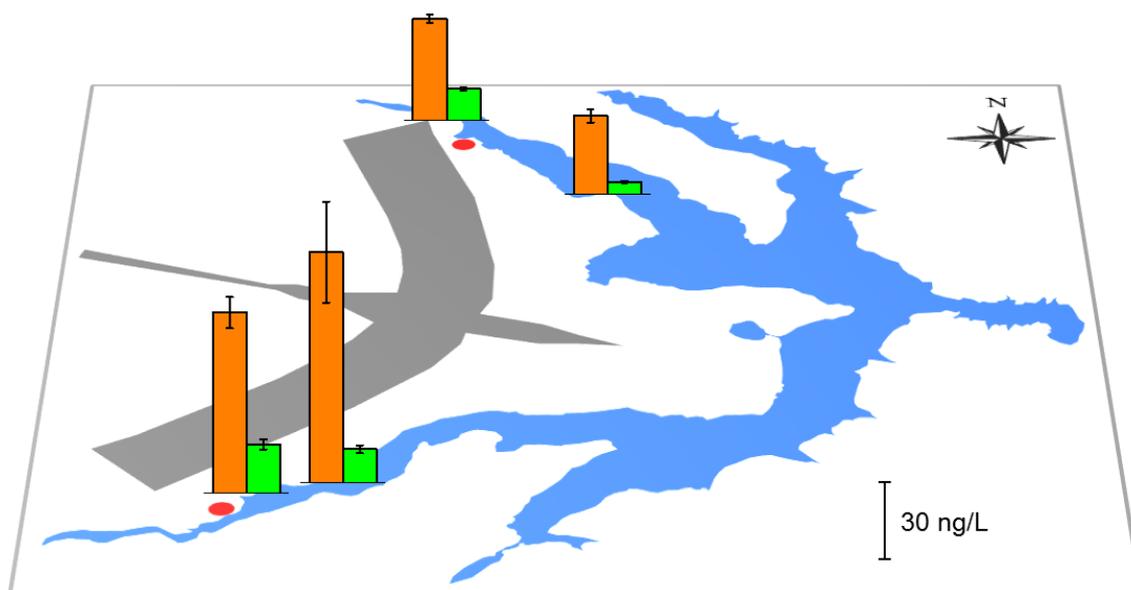
De fato, efluentes de ETE são fontes em potencial de cafeína para águas superficiais. Froehner et al. (2011) correlacionaram a ocorrência de cafeína com variáveis de qualidade de água associadas à contaminação por esgoto doméstico, tais como nitrato, coliformes fecais e demanda bioquímica de oxigênio (DBO). Os autores observaram correlações positivas e foram capazes de indicar que a cafeína encontrada nas amostras coletadas era proveniente de lançamentos de esgoto. Além de Froehner et al., diversos autores também vêm relacionando a ocorrência de cafeína com esgoto doméstico (Valcárcel et al., 2011; Kurissery et al., 2012; Spongberg et al., 2011). Valcárcel et al. (2011) encontraram elevadas concentrações de cafeína em rios que recebiam aporte de efluente de estações de tratamento de esgoto da região de Madrid, Espanha. A concentração máxima de cafeína foi de 13,17 µg/L.

Ainda na Figura 24, fica evidenciado o efeito da sazonalidade associada aos níveis de cafeína nas águas do Lago. Para todas as amostras investigadas, níveis mais elevados foram obtidos durante o período de estiagem. Este comportamento já foi evidenciando em outros trabalhos presentes na literatura que envolvem a determinação de contaminantes emergentes em águas superficiais. Raimundo (2007) realizou determinações de cafeína e outros contaminantes emergentes em águas superficiais e demonstrou que, durante o período de menor ocorrência de chuvas, as concentrações foram maiores que no período de maior pluviosidade devido ao efeito de diluição realizado pelas precipitações. A concentração máxima de cafeína durante o período de maior precipitação foi de 5,8 µg/L, enquanto que um valor de 127 µg/L foi determinado durante o período de estiagem.

Buerge et al. (2003) relacionam as concentrações de cafeína em rios e lagos da região de Zurique com a população circundante a esses corpos d'água. Essa correlação foi capaz de demonstrar como a cafeína pode ser utilizada como um indicador de atividade antrópica. Segundo Buerge et al., a cafeína tem o esgoto como fonte específica e, portanto, pode ser utilizada como indicadora de contaminação por este tipo de água residuária. Esta possibilidade também foi confirmada em trabalho realizado por Glassmeyer et al. (2005) que investigaram a ocorrência de 110 contaminantes emergentes passíveis de serem utilizados como indicadores de atividade antrópica. Recentemente, a Câmara Técnica de Saúde Pública da ABES (Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental)

sugeriu, com base em trabalhos publicados na literatura, o monitoramento de cafeína em mananciais de água bruta, como forma de subsidiar a revisão da Portaria MS 518/2004 (BRASIL, 2004) que versa sobre os padrões de potabilidade da água (Umbuzeiro e Silvério, 2010). Entretanto, segundo Buerge et al., o uso da cafeína para este fim limita-se a áreas que não possuem fontes óbvias de contaminação, sejam elas naturais ou industriais. Spongber et al. (2011) encontraram níveis bastante elevados de cafeína em águas superficiais da Costa Rica, mas atribuíram os níveis observados à cultura do café, predominante na área estudada.

A Figura 25 mostra as concentrações de atenolol determinadas nas amostras coletadas no Lago Paranoá. Assim como na Figura 24, as colunas em laranja e em verde representam concentrações médias obtidas nos períodos de estiagem e chuva, respectivamente, enquanto que as barras de erro representam o intervalo de confiança.



**Figura 25:** Localização espacial dos pontos amostrais e concentrações de atenolol no Lago Paranoá. Colunas em laranja representam dados coletados no período de estiagem. Colunas verdes indicam dados referentes ao período chuvoso. Círculos vermelhos representam as estações de tratamento de esgoto.

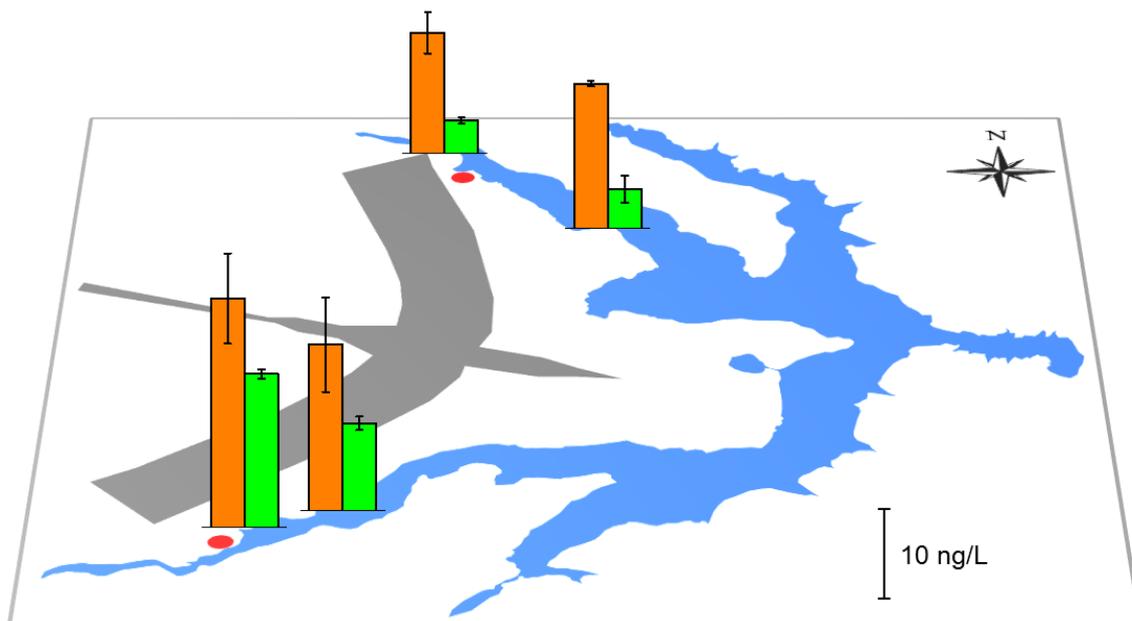
É possível observar na Figura 25 que as concentrações de atenolol são mais elevadas na estação de estiagem, em comparação ao período chuvoso. Este

comportamento foi similar ao observado para a cafeína evidenciando que efeitos sazonais são, de fato, importantes para a compreensão dos mecanismos de contaminação de águas superficiais por contaminantes emergentes. Como mencionado anteriormente, essa diferença de concentração se dá, principalmente, devido ao efeito de diluição causado pela elevada pluviosidade e pelas vazões dos corpos d'água afluentes ao Lago Paranoá que também são aumentadas durante a estação chuvosa.

Da mesma forma que a cafeína, o atenolol também pode ser utilizado como um indicador de contaminantes emergentes devido ao seu consumo elevado. (Benotti et al., 2009). Segundo Benotti et al. (2009), além do atenolol, substâncias como o DEET e a estrona também podem ser utilizadas como indicadores de contaminação. Da mesma forma que a cafeína, o atenolol tem uma abundância relativamente elevada em relação a outros produtos farmacêuticos e de higiene pessoal comumente investigados no ambiente em função de sua origem associada ao esgoto doméstico. Essas elevadas concentrações certamente proporcionam uma maior detectabilidade para este composto.

Valcárcel et al. (2011) investigaram a presença de atenolol em rios que recebiam efluentes de estações de tratamento de esgoto na região de Madrid. Os valores de concentração encontrados variaram entre 318 ng/L e 6187 ng/L, com uma média de 2225 ng/L, valores bem superiores aos encontrados no Lago. Além desses elevados valores de concentração, outros 21 fármacos também tiveram sua presença confirmada neste estudo, evidenciando que o atenolol também pode ser utilizado como uma substância indicadora da presença de outros contaminantes emergentes.

A Figura 26 mostra as concentrações de DEET nos pontos amostrais para a primeira e segunda campanha amostral. A representação das concentrações durante os períodos de estiagem e de chuva é similar ao mostrado nas Figuras 24 e 25.



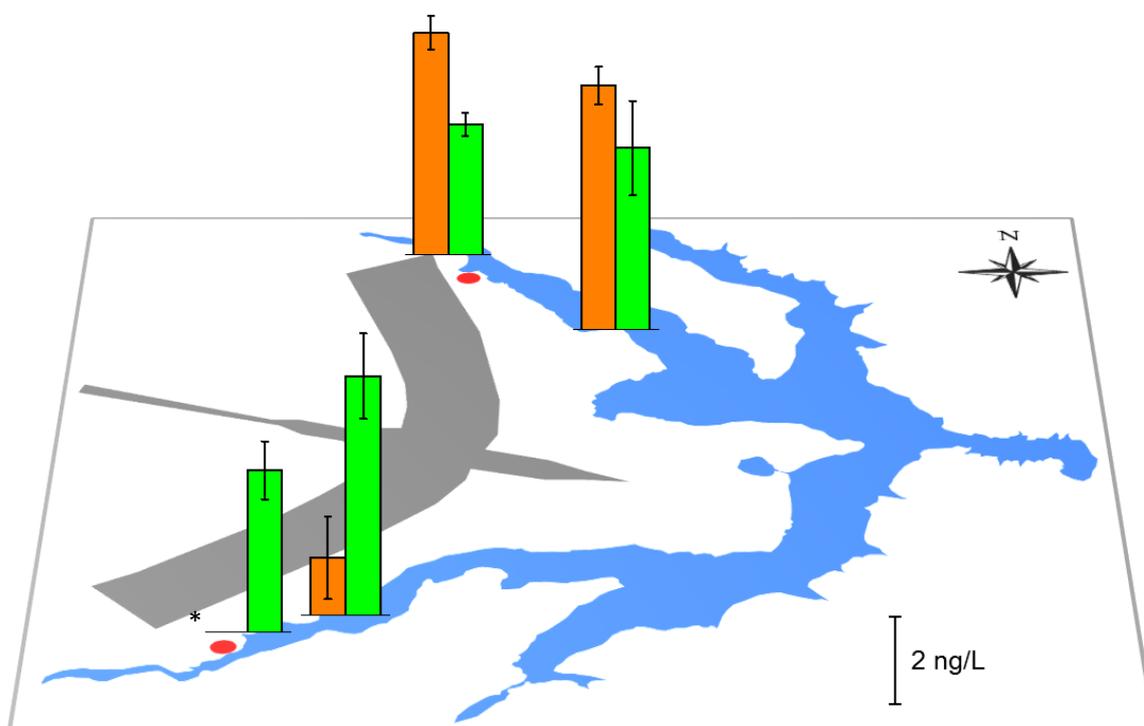
**Figura 26:** Localização espacial dos pontos amostrais e concentrações de DEET no Lago Paranoá. Colunas em laranja representam dados coletados no período de estiagem. Colunas verdes indicam dados referentes ao período chuvoso. Círculos vermelhos representam as estações de tratamento de esgoto.

De maneira semelhante à cafeína e ao atenolol, é possível observar que, ao sul do Lago, as concentrações de DEET são maiores que ao norte. Neste caso, assim como mencionado para a cafeína e para o atenolol, as contribuições das estações de tratamento de esgoto ao longo do Lago ficam evidenciadas. Os pontos ao sul são aqueles que possuem maiores concentrações devido à maior vazão de efluente de esgoto liberado pela ETE Brasília Sul e, igualmente, à menor distância entre os pontos amostrais e a ETE. Dessa forma, é possível afirmar que a principal fonte de DEET para as águas do Lago é a mesma atribuída à cafeína e ao atenolol.

Glassmeyer et al (2005) investigaram a ocorrência de diversas substâncias em rios norte-americanos que recebiam efluente de estações de tratamento de esgoto. Dentre as 110 substâncias estudadas, 35 apresentaram frequência de detecção maior que 50%. O DEET foi detectado em 70% das amostras coletadas próximas às ETEs investigadas. Os autores constataram que, à jusante, as concentrações eram maiores em pontos amostrais mais próximos às ETEs. O DEET apresentou concentrações médias entre 0,117 e 0,145  $\mu\text{g/L}$  à jusante e concentrações abaixo do LD à montante da ETE. Como é possível observar, esses

valores se situaram bem acima do que foi determinado no Lago Paranoá. Dessa forma, os autores concluíram que o aporte de esgoto tratado foi a principal fonte de contaminação dos rios por inúmeros contaminantes emergentes, incluindo o DEET. O grupo de Glassmeyer também realizou uma análise por similaridade (dendrograma) que colocou o DEET no mesmo grupo da cafeína, evidenciando que ambas as substâncias podem atuar como indicadoras de atividades antrópicas.

As concentrações de atrazina nas águas do Lago Paranoá são mostradas na Figura 27 e seguem o mesmo padrão adotado nas demais figuras envolvendo a determinação de contaminantes nas águas do Lago.



\*Não quantificada.

**Figura 27:** Localização espacial dos pontos amostrais e concentrações de atrazina no Lago Paranoá. Colunas em laranja representam dados coletados no período de estiagem. Colunas verdes indicam dados referentes ao período chuvoso. Círculos vermelhos representam as estações de tratamento de esgoto.

Ao contrário das demais substâncias investigadas neste trabalho, a atrazina apresentou um comportamento diferente nas águas do Lago Paranoá. De acordo

com a Figura 27, é possível notar que esta substância apresentou concentrações muito baixas, mesmo apresentando uma elevada frequência de detecção. Além disso, o comportamento da atrazina também foi diferente ao comparar os níveis de concentração entre as regiões norte e sul do Lago. Observa-se que, ao norte, as concentrações de atrazina são maiores durante o período de estiagem, enquanto que, ao sul, este comportamento é invertido, evidenciando níveis mais elevados durante o período chuvoso. Neste caso, a previsão da origem da substância no Lago Paranoá deve levar em consideração outros aspectos além do descarte de esgoto tratado proveniente das ETE Brasília Norte e Sul. Além disso, é importante mencionar que, ao contrário dos demais analitos investigados, que podem ser classificados como produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, a atrazina é um herbicida muito utilizado na agricultura e também na jardinagem (IBAMA, 2010).

Na região Norte, o comportamento da atrazina em função da sazonalidade foi similar ao mostrado para as demais substâncias investigadas, ou seja, cafeína, atenolol e DEET. Neste caso, suspeita-se que a origem da atrazina possa ser relacionada ao descarte de esgoto tratado proveniente da ETE Brasília Norte. Entretanto, a definição precisa da origem destas substâncias na região norte do Lago ainda carece de mais evidências que sustentem uma hipótese adequada. Suspeita-se, por exemplo, que atividades de preservação de áreas verdes na região durante a estiagem, tanto nos clubes que circundam o Lago, quanto nas residências localizadas no Lago Norte, possam contribuir para o aumento nos níveis de atrazina. Entretanto, esta suspeita precisa levar em consideração dinâmicas diferenciadas entre as duas regiões do Lago, informação esta que ainda não se encontra disponível.

Ao contrário do comportamento evidenciado na região norte do Lago, é possível que o escoamento de água fluvial na região sul, seja responsável por levar uma série de contaminantes às águas do Lago, o que explica o motivo pelo qual os pontos LPA e LPB apresentaram níveis mais elevados de atrazina na estação chuvosa. Essa substância pode ser aplicada em jardins e gramados e carregada pelas águas pluviais, chegando, dessa forma, ao Lago. Neste período, a maior precipitação foi responsável pelo aporte da substância para águas superficiais evidenciando a ocorrência de fontes de poluição difusa.

Thurman et al. (1991) mostraram que a concentração de herbicidas, incluindo a atrazina, aumentou significativamente em águas superficiais localizadas em áreas agrícolas de acordo com a etapa de plantio. Tanto no pré-plantio quanto na época de colheita, os herbicidas apresentaram, em alguns casos, concentrações até dez vezes menores que na época de pós-plantio, momento no qual o herbicida já havia sido aplicado na lavoura. Ainda segundo os autores, foi possível perceber que a lixiviação consistiu na principal fonte de contaminação dos corpos d'água estudados com relação às substâncias. O estudo também mostrou, dentro de um regime amostral bastante amplo, que as concentrações de atrazina superavam o limite estabelecido pela USEPA durante os eventos de chuva.

Pereira et al (1993) também mostraram que as concentrações de herbicidas triazínicos, incluindo a atrazina, foram elevadas durante a primavera e o verão, quando os escoamentos em terras agrícolas eram maiores devido à maior incidência de chuvas. Essas concentrações diminuíam durante o outono e o inverno, períodos com menos precipitação.

### 5.2.2. Mananciais de água bruta para abastecimento

A Tabela 25 mostra as concentrações das substâncias estudadas em mananciais de água bruta durante a segunda e a terceira campanha amostral. O ponto ABDC é localizado imediatamente após a captação de água do rio Descoberto, enquanto que o ponto ABCV localiza-se no córrego Cabeça de Veado, em ponto também situado à jusante da captação de água.

**Tabela 25:** Concentrações dos analitos nos mananciais de água bruta em ng/L.

Campanha amostral	Ponto amostral	Cafeína	Atenolol	DEET	Atrazina
2 <sup>a</sup> Período de Estiagem	ABDC	10,20 ± 1,18	<LD	2,66 ± 0,98	<LQ
	ABCV	2,00 ± 1,29	<LD	2,38 ± 0,04	<LD
3 <sup>a</sup> Período Chuvoso	ABDC	8,91 ± 0,99	<LD	<LD	3,70 ± 0,56
	ABCV	3,16 ± 0,59	<LD	<LD	<LD

Com base nos dados mostrados na Tabela 25, é possível perceber que, da mesma forma que no Lago Paranoá, houve diferenças de acordo com o período do ano em que a campanha amostral foi realizada.

Mais uma vez, a cafeína foi a substância mais frequentemente detectada e, igualmente, a que apresentou concentrações mais elevadas. É possível verificar na Tabela 25 que as concentrações desta substância no ponto ABCV foram inferiores às concentrações encontradas em ABDC, evidenciando a menor interferência antrópica no Córrego Cabeça de Veado. Não ficou evidenciado nenhum efeito sazonal relacionado à concentração de cafeína nas águas estudadas. A Tabela 26 mostra a concentração máxima de cafeína determinada em águas superficiais de diferentes regiões do mundo.

**Tabela 26:** Concentrações de cafeína pelo mundo.

País	Amostra	Concentração máxima (ng/L)	Referência
Canadá	Lago	7,8	Kurissery et al., 2012
Coréia do Sul	Rios	194	Kim et al., 2007
Dinamarca	Rios	382	Matamoros et al., 2012
Espanha	Rios	13167	Valcárcel et al., 2011
Brasil	Rios	123450	Froehner et al., 2011
EUA	Rios	224	Wang et al., 2011
Brasil	Rios	41000	Sodré et al., 2007
Brasil	Lago	228	Este trabalho
Brasil	Rios	10,2	Este trabalho

Quando comparada a outras regiões do mundo, as concentrações de cafeína nos rios que abastecem o DF mostram-se muito baixas. Cada região, contudo, reflete seu respectivo grau de interferência antrópica através dessas concentrações. Dessa forma, nota-se que os mananciais de água bruta brasilienses recebem pouca interferência antrópica. Ao contrário, no Lago Paranoá, as concentrações são mais elevadas, refletindo uma maior contaminação deste ambiente por meio de poluentes antropogênicos.

Durante a segunda campanha amostral, período de estiagem, houve detecção de DEET, fato que não ocorreu no período chuvoso. Isto pode ser atribuído à diluição causada pela elevada pluviosidade do período chuvoso.

Notou-se também que a atrazina foi quantificada no Rio descoberto somente no período chuvoso ( $3,70 \pm 0,56$  ng/L), enquanto que, durante a estiagem, apresentou concentração menor que o limite de quantificação do método. O Rio Descoberto atravessa regiões muito utilizadas para agricultura e, por isso, pode ter sido contaminado por fontes de poluição difusas oriundas dessas regiões, notadamente durante o período chuvoso. Ao contrário, a ausência de atrazina nas amostras coletadas no Córrego Cabeça de Veado, pode ser consequência da localização da estação de captação de águas deste corpo d'água que se localiza próximo à nascente, numa região que sofre pouco com interferência antrópica.

As frequências de detecção de cada analito para amostras de água bruta, incluindo tanto as amostras do Lago Paranoá quanto as amostras dos mananciais de água bruta, são mostradas na Tabela 27.

**Tabela 27:** Frequência de detecção percentual das substâncias investigadas em águas superficiais do DF

Analito	2ª Campanha	3ª Campanha	Totalidade
Cafeína	100,00%	100,00%	100,00%
Atenolol	66,67%	66,67%	66,67%
DEET	100,00%	66,67%	83,33%
Atrazina	83,33%	83,33%	83,33%

Conforme esperado, a cafeína foi a substância mais frequentemente detectada aparecendo em todas as amostras investigadas. De maneira análoga à *E. coli*, a cafeína pode ser utilizada como indicadora de contaminação devido a sua abundância, sempre apresentando concentrações elevadas o suficiente para quantificação (Ferreira, 2005; Buerge et al., 2003). A atrazina e o DEET apresentaram a segunda maior frequência de detecção total. É possível observar que somente para o DEET houve mudança significativa na frequência de detecção quando as duas campanhas amostrais são comparadas, sendo maior na estiagem e menor no período chuvoso. O atenolol apresentou a menor frequência de detecção

dentre as substâncias investigadas. Também foi possível notar que não houve diferenças na detectabilidade desta substância entre as campanhas investigadas, comportamento este similar ao da atrazina.

### 5.2.3. Água para consumo humano

A Tabela 28 traz as concentrações das substâncias investigadas durante os períodos de estiagem e chuvoso na água para consumo humano coletada em diferentes regiões do DF. Da mesma forma que para as amostras de água bruta, as medidas foram realizadas em triplicata e a média é apresentada com um intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 28:** Concentrações médias dos analitos em ng/L em um intervalo de confiança de 95% para amostras de água para consumo humano da segunda e terceira campanhas amostrais, realizadas no período de estiagem e de chuva, respectivamente.

Campanha amostral	Ponto Amostral*	Atrazina	DEET	Cafeína	Atenolol
2 <sup>a</sup> Período de Estiagem	TAP CL	2,22 ± 0,54	<LD	15,6 ± 10,1	<LD
	TAP AC	2,34 ± 1,02	<LD	12,7 ± 4,76	<LD
	TAP LS	<LQ	<LD	3,98 ± 0,98	<LD
	TAP AS	<LQ	<LD	2,15 ± 2,26	<LD
	TAP NA	2,05 ± 2,07	<LD	<LQ	<LD
3 <sup>a</sup> Período Chuvoso	TAP CL	3,28 ± 1,48	<LD	13,6 ± 1,87	<LD
	TAP AC	3,34 ± 0,76	<LD	12,3 ± 0,75	<LD
	TAP LS	<LQ	<LD	3,57 ± 0,95	<LD
	TAP AS	<LQ	<LD	3,66 ± 1,23	<LD
	TAP NA	<LQ	<LD	12,8 ± 1,06	<LD

\* CL: Ceilândia, AC: Águas Claras, LS: Lago Sul, AS: Asa Sul e AN: Asa Norte

TAP: água de torneira

Nota-se na Tabela 28 que DEET e atenolol não foram detectadas em amostra alguma. Contudo, cafeína e atrazina foram detectadas em todas as amostras, mas não necessariamente quantificadas. Para a atrazina, a quantificação não foi possível em cinco amostras e, para a cafeína, em apenas uma. Dentre os compostos investigados, a cafeína apresentou concentrações entre  $3,57 \pm 0,95$  e  $15,6 \pm 10,1$

ng/L e, como sempre, se mostrou como a substância mais presente e de maior concentração nas amostras, evidenciando a capacidade de ser utilizada como um indicador de atividade antrópica. A atrazina apresentou concentrações entre  $2,22 \pm 0,54$  e  $3,34 \pm 0,76$  ng/L. A presença desses contaminantes em água para consumo humano pode estar associada à ineficiência do tratamento de água realizado com relação à remoção destes compostos. Na realidade, grande parte das estações de tratamento não foram projetadas para este fim, o que acarreta na ocorrência de inúmeros contaminantes emergentes na água para consumo humano, conforme têm sido relatado recentemente na literatura (Benotti et al., 2009; Mozaz et al., 2004, Sodré et al., 2010a).

Na  gua para consumo humano, apenas dois dos quatro analitos foram detectados e suas concentra es não foram tão elevadas quanto em outros trabalhos, como o de Valcárcel et al. (2011). Contudo, ainda foi possível quantificar atrazina e cafeína. Hayes et al. (2003) demonstraram que, mesmo sob concentra es baixas, a atrazina foi capaz de induzir a feminiliza o em sapos. Não se sabe ainda qual seu efeito em seres humanos expostos a estas concentra es de maneira constante.

Cabe ressaltar que as amostras dos pontos TAPCL e TAPAC apresentaram concentra es, em média, maiores que as dos demais pontos. Estes dois pontos pertencem ao sistema de abastecimento do Rio Descoberto que, conforme mostrado na Tabela 25, apresentou maiores concentra es para os compostos estudados em compara o ao Córrego Cabeça de Veado. Este Córrego   um manancial do sistema Torto/Santa Maria que abastece as regiões contempladas pelos demais pontos amostrais. Isso sugere que as amostras de água para consumo humano têm substâncias oriundas dos mananciais de água bruta que não foram removidas pelo tratamento aplicado.

Valcárcel et al. (2011) encontraram cafeína na água para consumo humano da região de Madrid, Espanha. As concentra es situaram-se entre 15 e 75 ng/L com uma média de 30 ng/L e 100% de frequência de detec o. Percebe-se que as concentra es de cafeína nas  guas para consumo humano do DF estão abaixo do estudo espanhol, porém este analito ainda está presente. Por ser considerada um indicador de atividade antrópica, a presença da cafeína mostra que   possível a

existência de outras substâncias nas amostras coletadas não incluídas no método e, eventualmente, sob concentrações bastante baixas.

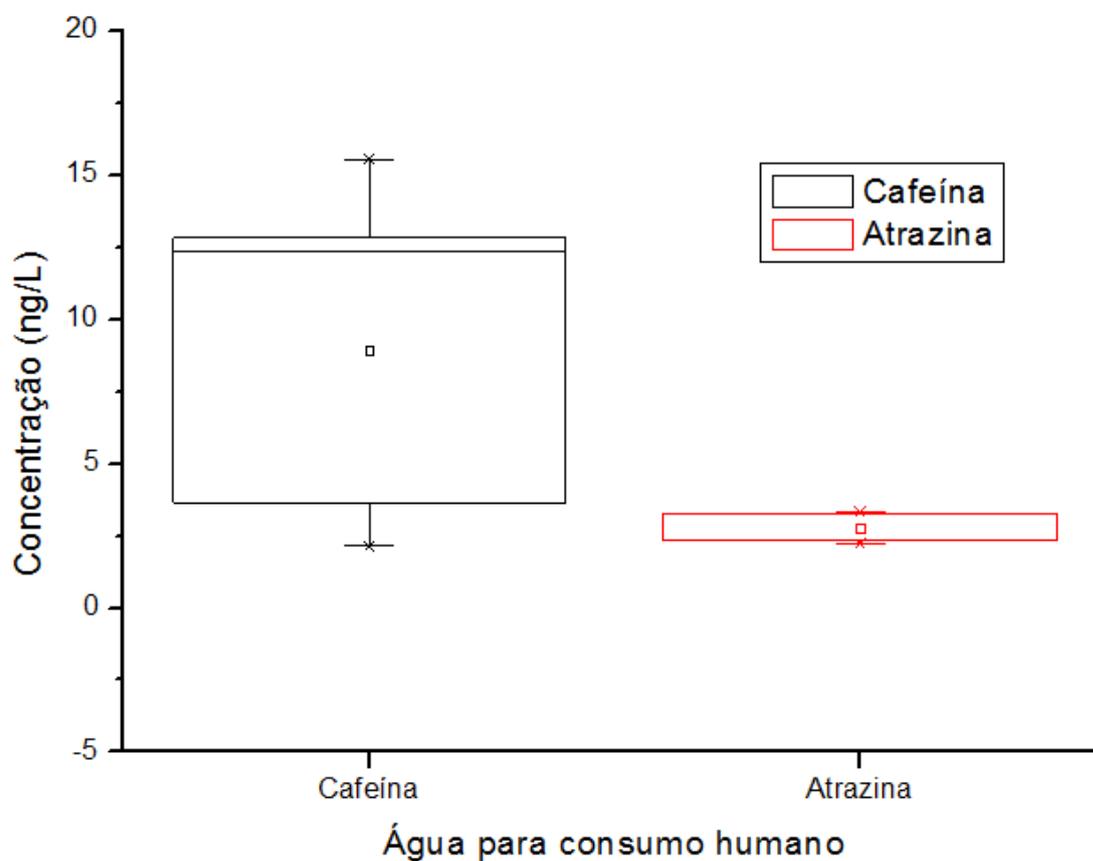
No presente trabalho, o DEET e o atenolol não foram detectados devido, provavelmente, à baixa interferência antrópica e específica sofrida pelos mananciais de água bruta e à remoção dessas substâncias realizada pelas ETAs. Benotti et al. (2009) encontraram DEET na água para consumo humano da rede de distribuição de Las Vegas, Estados Unidos, em concentrações de até 63 ng/L. Neste trabalho, foram determinadas as concentrações de 51 substâncias na água para consumo humano antes e após o tratamento. Benotti et al. mostraram que não há remoção completa desta e de outras substâncias por meio do tratamento de água convencional utilizado na produção de água para consumo humano. A remoção de DEET variou entre 5% e 20% para tratamentos com cloro e 50% e 80% para tratamentos com ozônio. (Benotti et al., 2009).

Cabe mencionar que o Lago Paranoá está sendo cotejado como uma futura fonte de água para consumo humano (Campos, 2009) em função de dois aspectos principais: (i) o aumento da população do DF nos últimos anos e (ii) o consórcio criado, em 2005, entre o Governo do DF e a Saneago (Saneamento de Goiás S/A) para o abastecimento do município de Águas Lindas de Goiás (GO) pela CAESB. Entretanto, o uso atual do Lago Paranoá, estritamente paisagístico, não garante que suas águas possam ser utilizadas para produção de água para consumo humano. De fato, como ficou evidenciado neste trabalho, este corpo d'água apresentou as substâncias determinadas. Dessa forma, surge certa preocupação em relação ao tratamento que será dado às águas deste futuro manancial.

A Tabela 28 também mostra que, mesmo em diferentes campanhas amostrais, as concentrações dos analitos não sofreram variações sazonais como nas amostras de água bruta.

Outro fator importante é como as concentrações variam nas amostras coletadas. O gráfico do tipo *box plot* das concentrações, exibido na Figura 29, mostra que a variabilidade das concentrações das amostras de água para consumo humano foi muito inferior em comparação à observada para as amostras de água bruta. Os mananciais de água bruta que fornecem água para tratamento possuem

baixas concentrações de todos os analitos e, por isso, as concentrações na água após o tratamento também são baixas e variam pouco.



**Figura 28:** *Box plot* das substâncias e suas concentrações nas amostras de água para consumo humano. O “X” representa os valores máximo e mínimo de cada analito. O “–” representa os 1º e 99º percentil, as barras que encerram a linha vertical; os 5º e 95º percentil. De forma ascendente; cada barra horizontal do retângulo representa o primeiro, o segundo (mediana) e o terceiro quartil – ou os 25º, 50º e 75º percentis, respectivamente. A média é representada pelo quadrado

A variabilidade das concentrações de atrazina foi menor devido, principalmente, às concentrações constantemente baixas nas amostras em que este analito foi detectado. Já para a cafeína, houve um maior número de amostras quantificadas e as concentrações apresentaram valores distintos entre si.

### 5.3. Determinação de contaminantes emergentes em águas pelo Método INCTAA

Estudos sobre contaminantes emergentes em águas superficiais foram realizados em diversas regiões no mundo (Kuch e Ballschmitter, 2001; Mozaz et al., 2004, Constanzo et al., 2007, Kim et al., 2007, Kuster et al., 2009, Locatelli et al., 2011). Contudo, no Brasil e, principalmente, no Distrito Federal, há certa carência de dados relativos à ocorrência destes contaminantes. O Brasil é um país de economia emergente cuja urbanização tem crescido de maneira considerável. Áreas relativamente urbanizadas são mais sujeitas a sofrerem com contaminação, seja industrial ou doméstica. Devido a essa elevada urbanização e carência de dados, surge a necessidade de um levantamento sobre a ocorrência de contaminantes emergente em ambientes naturais.

Com o intuito de realizar este levantamento, foi iniciado um trabalho coordenado pelo INCTAA. O INCTAA é um dos institutos do programa Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia (INCT) coordenado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). O INCT foi criado por meio de parcerias entre o CNPq e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), além de diversas fundações estaduais de amparo à pesquisa. O programa INCT mobiliza e agrega os melhores grupos de pesquisa do país a fim de articular e estimular a pesquisa em ciência básica aplicada e em tecnologia no Brasil.

O INCTAA conta com a participação de pesquisadores de mais de 20 instituições brasileiras, além de colaborações internacionais. As atividades contempladas pelo Instituto são desenvolvidas dentro de quatro grandes linhas de pesquisa, a saber, (1) desenvolvimento de métodos e instrumentação analítica de processo e instrumentação robusta de bancada para o monitoramento de insumos e produtos agrícolas e industriais, (2) desenvolvimento de métodos e instrumentação analíticos para uso forense, (3) desenvolvimento de métodos e instrumentos para sensoriamento remoto voltados ao monitoramento e compreensão de processos ambientais e (4) produção de materiais de referência e criação de uma rede interlaboratorial. A terceira linha de pesquisa tem gerado informações diversas acerca de

diferentes questões de importância ambiental, dentre elas, a ocorrência de contaminantes emergentes no ambiente. Com a colaboração do AQQUA e de outros centros de pesquisas, o INCTAA deu início a um projeto de mapeamento de cafeína e de outros contaminantes emergentes nas principais capitais estaduais brasileiras, incluindo Brasília. O mapeamento de contaminantes emergentes teve como objetivo principal mostrar a situação atual do Brasil em relação à ocorrência dessas substâncias em nosso cotidiano. Este mapeamento consistiu na análise de amostras de água para consumo humano coletadas na rede de abastecimento de diversas capitais brasileiras, incluindo Brasília.

No Distrito Federal, a abordagem acerca da presença de contaminantes emergentes foi além da coleta e análise da água para consumo humano de Brasília. Por meio de uma parceria entre o LQA da Unicamp e o AQQUA, foi possível estender o trabalho e contemplar também amostras de água brutas de mananciais e do Lago Paranoá. Todas as etapas envolvidas durante a amostragem e o preparo das amostras foram realizadas na UnB, enquanto que as determinações foram realizadas no LQA pelos membros do próprio laboratório.

### 5.3.1. Lago Paranoá

A Tabela 29 exibe as concentrações das substâncias investigadas nas amostras do Lago Paranoá durante as três campanhas amostrais.

**Tabela 29:** Concentrações, em ng/L, das substâncias nas amostras do Lago Paranoá coletadas nas três campanhas amostrais.

Campanha	Pontos	CAF	E3	BPA	EE2	E1	E2	NP	OP	PROG	TCS	DES	NGT	MEE	TTN	PHT	ATZ
<b>1ª Período Chuvoso</b>	<b>LPA</b>	186	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	<b>LPB</b>	46,8	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	<b>LPC</b>	452	<LD	2,4	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	<b>LPD</b>	123	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	39,8	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
<b>2ª Período de Estiagem</b>	<b>LPA</b>	351	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LQ
	<b>LPB</b>	201	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LQ
	<b>LPC</b>	122	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LQ
	<b>LPE</b>	90,8	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
<b>3ª Período Chuvoso</b>	<b>LPA</b>	73,3	<LD	19,8	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	9,2	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	4,2
	<b>LPB</b>	30,1	<LD	27,1	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	6,5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	5,3
	<b>LPC</b>	61,3	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,5
	<b>LPE</b>	65,4	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,7

LP – Lago Paranoá

\* Não houve determinação

A Tabela 29 mostra que apenas cinco substâncias, dentre as 16 investigadas, foram detectadas no Lago Paranoá. Dentre as substâncias encontradas, a cafeína foi a que apresentou maiores concentrações nas amostras, variando entre 30 e 452 ng/L. A segunda substância mais detectada foi a atrazina, com concentrações entre 3,5 e 5,3 ng/L, seguida do bisfenol A que apresentou concentrações entre 2,4 e 27 ng/L. A presença de atrazina nas amostras foi constante, porém sempre sob concentrações muito baixas. Na segunda campanha amostral, a determinação de bisfenol A ficou prejudicada devido a uma contaminação por esta substância, cuja fonte não foi identificada. Dessa forma, esta substância não pôde ser objeto de investigação nesta campanha. A determinação de bisfenol A também ficou prejudicada nas amostras de mananciais de água bruta e de água para consumo humano.

Observa-se, na Tabela 29, que as maiores concentrações de cafeína foram encontradas durante as duas primeiras campanhas amostrais. Neste caso, considerando-se que a primeira campanha foi realizada durante o período chuvoso e a segunda durante um período de menor precipitação, não foi possível evidenciar, neste caso, uma influência sazonal, tal como observado quando as amostras das segunda e terceira campanhas foram investigadas pelo Método UnB. Sabe-se que a maior pluviosidade do período chuvoso provoca um efeito de diluição das substâncias presentes em águas superficiais e se relaciona com baixas concentrações durante este período em comparação com as estações de estiagem (Locatelli et al., 2011; Raimundo, 2007; Sodr e et al. 2007). Devido a este efeito, esperavam-se concentrações menores durante a campanha realizada em março de 2011.

Ao se confrontar os resultados obtidos nas segunda e terceira campanhas, pode-se notar que as concentrações de cafeína se apresentaram mais elevadas durante o período de estiagem, o que demonstraria o efeito da sazonalidade. Conforme mostrado anteriormente, nas amostras investigadas pelo Método UnB, foi verificado o efeito sazonal nas concentrações de cafeína, atenolol e DEET. Desta maneira, acredita-se que os resultados gerados durante a primeira campanha pelo método INCTAA são, de fato, atípicos. Entretanto, não é possível estabelecer a origem das respostas encontradas que podem estar sujeitas tanto a aspectos

ambientais ainda não compreendidos, quanto a possíveis problemas de ordem analítica.

Ainda na Tabela 29, é possível observar que o triclosan também apresentou valores de concentração mais elevados num ponto amostral, investigado durante a primeira campanha, em comparação às demais amostras investigadas.

Mesmo que as informações acerca das concentrações de cafeína e triclosan sugeriram uma dificuldade em evidenciar efeitos sazonais nos resultados gerados, uma investigação baseada na frequência de detecção das substâncias pode revelar informações complementares sobre a presença das espécies nas amostras. A Tabela 30 mostra a frequência de detecção dos compostos estudados para as amostras do Lago Paranoá.

**Tabela 30:** Frequência de detecção das substâncias nas amostras do Lago Paranoá.

<b>Substância</b>	<b>1ª Campanha</b>	<b>2ª Campanha</b>	<b>3ª Campanha</b>	<b>Total</b>
<b>CAF</b>	100%	100%	100%	100%
<b>E3</b>	0%	0%	0%	0%
<b>BPA</b>	100%	*	75%	87,5%
<b>EE2</b>	0%	0%	0%	0%
<b>E1</b>	0%	0%	0%	0%
<b>E2</b>	0%	0%	0%	0%
<b>NP</b>	0%	0%	0%	0%
<b>OP</b>	0%	0%	0%	0%
<b>PROG</b>	0%	0%	0%	0%
<b>TCS</b>	25%	75%	50%	50%
<b>DES</b>	0%	0%	0%	0%
<b>NGT</b>	0%	0%	0%	0%
<b>MEE</b>	0%	0%	0%	0%
<b>TTN</b>	0%	0%	0%	0%
<b>PHT</b>	0%	100%	0%	33,3%
<b>ATZ</b>	75%	100%	100%	91,7%

\*Não houve determinação

Observa-se na Tabela 30 que substâncias como cafeína, bisfenol A e atrazina, foram as mais frequentemente detectadas independente da campanha amostral realizada. Por outro lado, observa-se que o triclosan, um agente antibacteriano largamente utilizado em pasta dental e sabonetes (Ye et al, 2008), apresentou maior frequência de detecção durante a segunda campanha amostral

que nas demais campanhas. Kolpin et al, (2002) realizaram um estudo em águas superficiais norte-americanas impactadas pelo aporte de esgoto tratado em que o triclosan se apresentou com uma frequência de detecção de 57,6% e em níveis de concentrações variando entre 0,14 e 2,3 µg/L.

Glassmayer et al. (2005), evidenciaram uma frequência de detecção de 60 e 70% em corpos de água localizados próximos a estações de tratamento de esgotos. Além disso, os autores também mostraram que o triclosan pode ser empregado como uma substância indicadora de contaminação antrópica, uma vez que sua presença em águas superficiais relaciona-se diretamente com a presença de efluentes gerados em estações de tratamento de esgotos. Finalmente, analisando os dados da Tabela 30, também é possível perceber que a fenolftaleína, uma substância comum em laboratórios e também utilizada como medicamento, foi detectada apenas na segunda campanha amostral e com uma frequência de 100%.

### 5.3.2. Mananciais de água bruta para abastecimento

A Tabela 31 apresenta as concentrações para as substâncias investigadas nos mananciais de água bruta.

**Tabela 31:** Concentrações, em ng/L, das substâncias nas amostras de mananciais de água bruta para abastecimento urbano nas três campanhas amostrais

Campanha	Pontos	CAF	E3	BPA	EE2	E1	E2	NP	OP	PROG	TCS	DES	NGT	MEE	TTN	PHT	ATZ	
1 <sup>a</sup> Período Chuvoso	ABDC	<LQ	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	ABCV	<LQ	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
2 <sup>a</sup> Período de Estiagem	ABDC	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	ABCV	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
3 <sup>a</sup> Período Chuvoso	ABDC	28,6	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,7
	ABCV	10,1	<LD	5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ

AB – água bruta

\* Análises não realizadas

Não foram realizadas determinações das substâncias para as amostras da segunda campanha amostral. Dessa forma, não foi possível avaliar a sazonalidade das substâncias encontradas, pois a segunda campanha amostral foi a única realizada em período de estiagem.

A Tabela 31 mostra que apenas três substâncias foram detectadas e, em apenas quatro casos, quantificadas. A cafeína apresentou concentrações de 10,1 e 28,6 ng/L. Além de cafeína, a atrazina e o bisfenol exibiram concentrações 3,7 e 5 ng/L, respectivamente.

### 5.3.3. Água para consumo humano

A Tabela 32 mostra as concentrações das substâncias investigadas nas amostras de água para consumo humano. Nesta Tabela, são mostradas as concentrações referentes a todas as campanhas amostrais realizadas.

**Tabela 32:** Concentrações, em ng/L, das substâncias nas amostras de água para consumo humano nas três campanhas amostrais.

Campanha	Pontos**	CAF	E3	BPA	EE2	E1	E2	NP	OP	PROG	TCS	DES	NGT	MEE	TTN	PHT	ATZ
<b>1ª Período Chuvoso</b>	TAPCL	<LQ	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	TAPAC	19,2	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	TAPLS	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	TAPAS	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	TAPAN	56,1	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
<b>2ª Período de Estiagem</b>	TAPCL	10,1	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	TAPAC	13,5	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	TAPLS	<LQ	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	TAPAS	<LQ	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
	TAPAN	<LQ	<LD	*	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LQ
<b>3ª Período Chuvoso</b>	TAPCL	29,2	<LD	12,4	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,9
	TAPAC	31,9	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,7
	TAPLS	10,7	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	2,0
	TAPAS	11,2	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,7
	TAPAN	38,3	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1,7

\* Não houve determinação

\*\* CL: Ceilândia, AC: Águas Claras, LS: Lago Sul, AS: Asa Sul e AN: Asa Norte

TAP: água de torneira

Com base nas informações mostradas na Tabela 32, nota-se que apenas quatro dos dezesseis compostos investigados foram detectados nas amostras analisadas. Também é possível observar que a cafeína foi, mais uma vez, encontrada em todas as amostras. Contudo, a quantificação dessa substância somente foi possível em nove das quinze amostras coletadas. A concentração desta substância variou entre 10,1 e 56,1 ng/L. Mesmo que, sob estes níveis de concentração, não cause danos diretos à saúde humana, a presença da cafeína é um indicativo da presença de fontes antropogênicas de contaminação das águas dos mananciais, além de outras substâncias não investigadas que também podem estar presentes nas amostras. Pelo fato destas substâncias não serem conhecidas e/ou investigadas, ainda há incerteza em relação aos possíveis danos que podem causar à saúde humana.

A atrazina também foi detectada em todas as amostras investigadas com exceção de duas amostras referentes à primeira campanha amostral. Apresentou concentrações inferiores às da cafeína, variando entre 1,7 e 3,9 ng/L, e foi quantificada apenas na terceira campanha amostral.

O bisfenol A, conhecido por ser um potencial interferente endócrino (Kuch e Balschimiter, 2001), foi a terceira substância mais frequentemente detectada nas amostras de água para consumo humano. Mozaz et al. (2004) avaliaram a remoção de contaminantes emergentes, incluindo o bisfenol A no tratamento de água. A presença desta substância foi atestada em uma das seis amostras avaliadas após todo o processo de purificação da água sob uma concentração de 5 ng/L. No presente trabalho, bisfenol A foi encontrado durante a terceira campanha amostral sob uma concentração de 12,4 ng/L em uma amostra proveniente da região de Ceilândia. Esta concentração é mais que o dobro da concentração determinada por Mozaz et al. Cabe mencionar que os níveis de bisfenol A na água para consumo humano foram, como esperado, inferiores às aquelas encontradas nas amostras de águas superficiais do Lago Paranoá. Contudo, mesmo sob concentrações baixas, a presença dessa substância pode representar riscos ainda desconhecidos à saúde (Saal e Hughes, 2005).

O Triclosan foi detectado em apenas uma amostra referente à primeira campanha amostral.

Da mesma forma que nas amostras do Lago Paranoá, nas amostras de água para consumo humano, foram poucas as substâncias cuja presença foi atestada. No entanto, a cafeína novamente esteve presente. Da mesma forma que nas amostras do Lago, as concentrações nas amostras de água para consumo humano variaram muito para cafeína e pouco para atrazina. Este fato demonstra que há pontos mais contaminados com cafeína em relação a outros e que a atrazina está distribuída de maneira mais uniforme e em baixas concentrações.

### 5.3.4. Método UnB e Método INCTAA

O presente trabalho fez uso de diferentes métodos (método UnB e método INCTAA) para a determinação de dois grupos de contaminantes. Embora as análises tenham sido realizadas com as mesmas amostras, os dados obtidos a partir dos dois métodos foram distintos entre si. Esses métodos foram desenvolvidos e validados com instrumentos, laboratórios e pesquisadores diferentes, mas independentemente disso, deveriam reproduzir resultados bastante próximos entre si. Duas substâncias estiveram presentes em ambos os métodos: cafeína e atrazina. Como forma de exemplificativa, a Tabela 33 mostra as concentrações de cafeína, nos dois métodos, na água para consumo humano para a segunda e terceira campanha amostral.

**Tabela 33:** Concentração de cafeína, em ng/L, na água para consumo humano.

Campanha amostral	Ponto amostral*	Método UnB	Método INCTAA
<b>2ª</b> <b>Período de</b> <b>Estiagem</b>	TAP CL	15,6 ± 10,1	10,1
	TAP AC	12,7 ± 4,76	13,5
	TAP LS	3,98 ± 0,98	<LQ
	TAP AS	2,15 ± 2,26	<LQ
	TAP AN	<LQ	<LQ
<b>3ª</b> <b>Período</b> <b>Chuvoso</b>	TAP CL	13,6 ± 1,87	29,2
	TAP AC	12,3 ± 0,75	31,9
	TAP LS	3,57 ± 0,95	10,7
	TAP AS	3,66 ± 1,23	11,2
	TAP AN	12,8 ± 1,06	38,3

\* CL: Ceilândia, AC: Águas Claras, LS: Lago Sul, AS: Asa Sul e AN: Asa Norte  
TAP: água de torneira

É possível ver, por meio da Tabela 33, que as concentrações de cafeína foram diferentes em cada método. Nota-se que, para as amostras de setembro de 2011, existe uma grande semelhança entre as concentrações medidas por ambos os métodos. Nas amostras TAP CL e TAP AC, pode-se observar que os níveis de concentração permanecem dentro de uma mesma ordem de grandeza. Nota-se ainda que, ao considerar os desvios padrão dos resultados, não é possível afirmar que existem diferenças entre as concentrações medidas. Nas amostras, TAP LS e TAP AS de setembro de 2011, observa-se que o método INCTAA não foi capaz de quantificar cafeína. Por outro lado, o método UnB foi capaz de quantificar a substância, mas somente sob níveis de concentração baixos, ou seja, menores que 4 ng/L. Este aspecto também indica conformidade entre os métodos e, além disso, evidenciam a maior capacidade de quantificação do método UnB.

Ao contrário do comportamento observado na coleta de setembro de 2011, as amostras obtidas em abril de 2012 e analisadas por ambos os métodos não apresentaram resultados comparáveis entre si. Na realidade, os dados obtidos sugerem a ocorrência de possíveis problemas associados a erros sistemáticos em um dos dois métodos, uma vez que os valores apresentaram-se sob diferentes magnitudes, mas guardando certa proporcionalidade entre si. Ou seja, para ambos os métodos é possível observar dois grupos distintos de concentração, um formado pelos resultados das amostras TAP CL, AC e AN (valores mais elevados) e outro formado pelas amostras TAP LS e AS (valores comparativamente mais baixos).

Como mencionado, essas distinções podem ser atribuídas, entre outros aspectos, a flutuações dos métodos, erros associados à divisão dos extratos, ao uso de diferentes instrumentos, erros de origem desconhecida ou mesmo a contaminações não identificadas. O uso de curvas analíticas distintas também pode ter influenciado nessas diferenças de concentrações, uma vez que a faixa de concentração observada encontra-se, para ambos os métodos, na extremidade inferior das curvas analíticas, onde o erro é maior. Essa série de fatores podem acarretar elevadas variações nas quantificações realizadas.

Além do exposto, as análises do método UnB foram realizadas em triplicata, enquanto as do método INCTAA foram feitas com uma única medição. Dessa forma, este último método não foi capaz de fornecer a faixa de erro em que os resultados

podem se encontrar. Diante disso, em alguns casos, os valores poderiam ser considerados iguais de acordo com a faixa de incerteza de cada medida. Não foi possível realizar medidas em triplicata para o método INCTAA devido à elevada quantidade de amostras a serem analisadas nesse projeto, já que, além das amostras de Brasília, estavam incluídas amostras de todo país. Dessa forma, a realização de replicatas seria dispendiosa devido ao elevado número de amostras. Mesmo assim, estes resultados revelam a necessidade de revisão dos parâmetros de mérito e de controle/garantia de qualidade para o método INCTAA. Além disso, testes de transferência de calibração também podem ser sugeridos com base na matriz de dados fornecida por esta dissertação.

Além das diferenças de concentrações, os métodos também apresentaram diferenças nas recuperações realizadas tanto para atrazina quanto para cafeína, sendo essas recuperações muito superiores no método INCTAA. O método UnB não levou em consideração o efeito de matriz, que foi considerado pelo método INCTAA, ocasionando diferenças nas recuperações. As recuperações do método UnB foram consideradas baixas e, para a continuação desse trabalho, propõem-se a otimização dessas recuperações.

## 6. Conclusão

O presente trabalho permitiu o desenvolvimento e a validação de um novo método que poderá ser utilizado em trabalhos posteriores. A precisão, expressada por meio da repetitividade e da precisão intermediária, apresentou CVs entre 1,06% e 28,3%. Em apenas dois casos esses valores ultrapassaram 15 %, que pode ser considerado bom para esse tipo de matriz. Os limites de detecção variaram entre 0,27 e 0,76 ng/L, enquanto que os de quantificação variaram entre 0,53 e 2,37 ng/L, mostrando-se bastante baixos e compatíveis com as concentrações das substâncias nas amostras. Apenas os ensaios de recuperação não apresentaram a mesma qualidade que os demais resultados, uma vez que variaram entre 23,7% e 64,8%. Como continuação deste trabalho, propõe-se realizar novos testes de recuperação explorando a otimização de diferentes parâmetros com o intuito de melhorar a recuperação das substâncias estudadas.

Através das determinações realizadas, foi constatado que as maiores concentrações das substâncias investigadas, por ambos os métodos, foram encontradas no Lago Paranoá. Nele, a cafeína mostrou-se o contaminante mais abundante, atingindo concentrações de até  $228 \pm 18$  ng/L pelo Método UnB. O estudo também permitiu avaliar o efeito sazonal nas concentrações das substâncias investigadas em amostras do Lago. Durante a estiagem, as concentrações se mostraram, em geral, mais elevadas, enquanto que na estação chuvosa mostraram-se menores, evidenciando o efeito de diluição decorrente da elevada pluviosidade nesta estação. Para o atenolol, por exemplo, as concentrações máximas determinadas nos períodos de estiagem e de chuva foram de  $90,0 \pm 19,7$  e  $18,8 \pm 1,9$  ng/L, respectivamente. No método INCTAA, a fenoltaleína foi detectada apenas no período de estiagem e apresentou frequência de detecção de 100%. Também foi possível observar que a atrazina não apresenta a mesma origem que os demais analitos, ou seja, o esgoto. Este fato pode ser explicado pelo tipo uso dessa substância, um herbicida aplicado, geralmente, em lavouras.

Esse primeiro levantamento é o passo inicial para mostrar o panorama regional e, até certo ponto, nacional sobre a ocorrência de contaminantes emergentes em águas superficiais. Embora muitos estudos tenham sido realizados

no Brasil, nos últimos anos, eles concentram-se notadamente na região sudeste, sendo que ainda há pouca informação sobre esses contaminantes em várias regiões brasileiras. Desta maneira, o estudo em outras regiões é de grande importância para suprir a escassez de dados. Tendo em vista a comprovação da contaminação desses corpos d'água, tratamentos mais adequados para águas poderão ser aplicados tendo-se como base os níveis de concentração destas substâncias nos corpos receptores investigados. Obviamente que medidas preventivas e/ou corretivas só terão efeito quando muitos contaminantes emergentes forem legislados, o que pode ocorrer a partir do momento em que ensaios ecotoxicológicos forem realizados no sentido de complementar as análises químicas realizadas.

## 7. Referências Bibliográficas

Aga, D.S.; Batt, A.L., *Anal. Chem.*, **2006**, 77, 2940.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. 2003.

Applied Biosystems, **Treinamento operacional plataforma 3200QTrap®**, 2009.

Bendz, D.; Paxéus, N. A.; Ginn, T. R.; Loge, F. J.; *J. Harz. Mater.*, **2005**, 122, 195.

Benotti, M. J.; Trenholm, R. A.; Holady, J. C.; Stanford, B. D.; Snyder, S. A.; *Environ. Sci Tech.*, **2009**, 43, 597.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518. **Diário Oficial da União** n.º 59, de 26 de março de 2004, seção 1, 266 p.

BRASIL. Portal Brasil – <http://www.brasil.gov.br/sobre/ciencia-e-tecnologia/tecnologia-em-saude>, acessada em outubro 2012.

Buerge, I. J.; Poiger, T., Muller, M. D.; Buser, H.R., *Environ. Sci Tech.*, **2003**, 37, 691.

Cahil, M.G.; Caprioli, G.; Stack, M.; Vittori, S.; James, K.J.; *Anal. Bioanal. Chem.*, **2011**, 400, 587.

Calza, P.; Medana, C.; Raso, E.; Giancotti, V.; Minero, C.; *Sci. Total Environ.*, **2011**, 409, 3894.

Campos A. M. Água do lago Paranoá vai para a torneira dos moradores do DF. *Correio Braziliense*  
[http://www.ibram.df.gov.br/003/00301015.asp?ttCD\\_CHAVE=91044](http://www.ibram.df.gov.br/003/00301015.asp?ttCD_CHAVE=91044), acessada em outubro de 2009.

Castillo, M.; Barceló, D.; *Trends Anal. Chem.*, **1997**, 16, 10.

Cleuvers, M.; *Chemosphere*, **2005**, 59, 199.

Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB). **Sinopse do sistema de esgotamento sanitário do Distrito Federal**. 2008.

Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB). **Sinopse do sistema de abastecimento de água do Distrito Federal**. 2011.

Costanzo, S. D.; Watkinson, A.J.; Murby, E. J.; Kolpin, D. W.; Sandstrom, M. W.; *Sci. Total Environ.*, **2007**, 384, 214.

Daneshvar, A.; Aboufadi, K.; Viglino, L.; Broséus, R.; Sauvé, S.; Humery, A. S. M.; Weyhenmeyer, G. A.; Prévost, M.; *Chemosphere*, **2012**, 88, 131.

Ferreira, A. P.; *Cad. Saúde Públ.*, **2005**, 21, 1884.

Fonseca, F. O. (Org.). **Olhares sobre o Lago Paranoá**. Brasília: SEMARH, 2001.

Froehner, S.; Machado, K.S.; Falcão, F.; Monnich, C.; Bessa, M.; *Water Air Soil Pollut*, **2011**, 215, 251.

Ghiselli, G.; Jardim, W. F.; *Quim. Nova*, **2007**, 30, 695.

Ghiselli, G; **Avaliação da Qualidade das Águas Destinadas ao Abastecimento Público na Região de Campinas: Ocorrência e Determinação dos Interferentes Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal (PFHP)**. 2006. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

Glassmeyer, S. T.; Furlong, E. T.; Kolpin, D.W.; Cahill, J. D.; Zaugg, S.D.; Werner, S. L.; Meyer, M. T.; Kryak, D. D.; *Environ. Sci. Tech.*, **2005**, 39, 5157.

Gros, M.; Petrovic, M.; Barceló, D.; *Talanta*, **2006**, 70, 678.

Hayes, T., Haston, K.; Tsui, M.; Hoang, A.; Haeffele, C.; Vonk, A.; *Environ. Health Persp.* **2003**, 111, 568.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – <http://www.censo2010.ibge.gov.br/sinopse/index.php?uf=53&dados=1>

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia – [http://www.inmet.gov.br/sim/gera\\_graficos.php?chklist=11%2C&UF=&mostrar=1&imgmap=&Data=01%2F2011&Data2=2011&enviar=Mostrar+Gr%E1ficos](http://www.inmet.gov.br/sim/gera_graficos.php?chklist=11%2C&UF=&mostrar=1&imgmap=&Data=01%2F2011&Data2=2011&enviar=Mostrar+Gr%E1ficos), acessada em setembro de 2012.

Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Renováveis (IBAMA). **Produtos Agrotóxicos e afins comercializados em 2009 no Brasil: Uma abordagem ambiental**. 2010.

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro). **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. 2011.

Kidd, K.A.; Blanchfield, P.J.; Mills, K.; Palace, V.P.; Evans, R.E.; Lazorchak, J. M.; Flick, R.W.; *PNAS*, **2007**, 104, 21, 8897.

- Kim, J. W.; Jang, S. H.; Kim, J. G.; Ishibashi, H.; Hirano, M.; Nasu, K.; Ichikawa, N.; Takao, Y.; Shinohara, R.; Arizono, K.; *J. Health Sci.*, **2009**, 55, 249.
- Kim, S.D.; Cho, J.; Kim, I. S., Vanderford, B.J.; Snyder, S.A.; *Water Res.*, **2007**, 41, 1013.
- Kolpin, D.W.; Furlog, E. T.; Meyer, M.; Thurman, E. M.; Zaugg, S. D.; Barber, L. B.; Buxton, H. T.; *Environ. Sci. Tech.*, **2002**, 36, 1202.
- Kuch, H. M.; Ballschmitter, K.; *Environ. Sci. Tech.*, **2001**, 35, 3201.
- Kurissery, S.; Kanavillil, N.; Verenitch, S.; Mazumder, A.; *Ecol. Ind.*, **2012**, 23, 501.
- Kuster, M.; Azevedo, D. A., Alda, M.J.L.; Neto, F.R.A.; Barceló, D.; *Environ. Intern.*, **2009**, 35, 997.
- Lanças, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: Rima, 2004.
- Laws, S. C.; Carey, S. A.; Ferrell, J. M.; Bodman, G. J.; Cooper, R. L.; *Toxicol. Sci.*, **2000**, 54, 154.
- Locatelli, M. A. F.; Sodr e, F. F.; Jardim, W. F.; *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **2011**, 60, 385.
- Matamoros, V.; Arias, C. A.; Nguyen, L. X.; Salvadó, V.; Brix, H.; *Chemosphere*, **2012**, 88, 1083.
- Miller, J. N.; Miller, J. C.; **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 5th ed. Edinburgh: Pearson, 2005.
- Ministério da Saúde (MS). **Formulário Terapêutico Nacional**. 2010.
- Montagner, C. C.; Jardim, W. F.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2011**, 22, 1452.
- Mozaz, S.R.; Alda, M. J. L ; Barcel o, D.; *J. Chromatogr.A*, **2004**, 1045, 85.
- Nogueira, E. N.; Dores, E. F. G. C.; Pinto, A. A.; Amorim, R. S. S.; Ribeiro, M. L.; Lourencetti, C.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **2012**, 23, 1476.
- Pedrouzo, M.Borrull, F.; Pocurull, E.; Marc e, R.M.; *Water Air Soil Pollut*, **2011**, 217, 267.
- Pereira, W. E.; Hostettler, F. D.; *Environ. Sci. Tech.*, **1993**, 27,1542.
- Raimundo, C. C. M.; **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas do rio Atibaia**. 2007. Disserta o (Mestrado em Química

Analítica) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

Roldán, R. L.; Alda, M. L.; Gros, M.; Petrovic, M.; Alonso, J. M.; Barceló, D.; *Chemosphere*, **2010**, 80, 1337.

Saal, F. S.; Hughes, C.; *Environ. Health Persp.*, **2005**, 113, 926.

Salvia, M. V.; Vulliet, E.; Wiest, L.; Baudot, R.; Olivé, C. C.; *J Chromatogr. A*, **2012**, 1245, 123.

Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS). **Diagnóstico dos serviços de água e esgotos**. 2012.

Sodré, F. F.; Locatelli, M. A.; Jardim, W. F.; *Quím. Nova*, **2010**, 33, 216. (b)

Sodré, F. F.; Montagner, C. C.; Locatelli, M. A. F.; Jardim, W. F.; *J. Braz. Soc. Ecotoxcol.*, **2007**, 2, 187.

Sodré, F. F.; Pescara, I. C.; Montagner, C. C.; Jardim, W. F.; *Microchem. J.*, **2010**, 96, 92. (a)

Spongber, A. L.; Witter, J. D.; Acuña, J.; Vargas, J.; Murillo, M.; Umaña, G.; Gómez, E.; Perez, G.; *Water Res.*, **2011**, 45, 6709.

Sumpter, J.; Johnson, A. C.; *Environ. Sci Tech.*, **2005**, 39, 4321.

Sun, L.; Yong, W.; Chu, X.; Lin, J. M.; *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216, 5416.

Thurman, E. M.; Goolsby, D. A.; Meyer, M. T.; Kolpin, D. W.; *Environ. Sci Tech.*, **1991**, 25, 1794.

Trenholm, R.A.; Vanderford, B. J.; Drewes, J. E.; Snyder, S.A.; *J Chromatogr. A*, **2008**, 1190, 253.

Umbuzeiro, G. A. (coord.); **Guia de potabilidade para substâncias químicas**. São Paulo: Limiar, 2012.

Umbuzeiro, G. A.; Silvério, P. F. (coord); **Subsídios para a legislação nacional de água para consumo humano**. São Paulo: Limiar, 2010. v. 1.

USEPA. *United States Environmental Protection Agency* – <http://extoxnet.orst.edu/faqs/pesticide/endocrine.htm>, acessada em setembro de 2012.

USEPA. *United States Environmental Protection Agency* – <http://www.epa.gov/esd/bios/pdf/contaminants-biosolids2.pdf>, acessada em Outubro de 2011.

USGS *United States Geological Survey* – <http://toxics.usgs.gov/regional/emc/index.html>, acessada em novembro de 2012.

Valcárcel, Y.; Alonso, S. G.; Gil, J. L. R.; Catalá, M.; *Chemosphere*, **2011**, 84, 1336.

Vanderford, B. J.; Pearson, R. A.; Rexing, D. J.; Snyder, S. A. *Anal Chem.*, **2003**, 75, 6265.

Verlicchi, P.; Aukidy, M. A.; Galletti, A.; Petrovic, M.; Barceló, D.; *Sci. Total Environ.*, **2012**, 430, 109.

Vystavna, Y.; Huneau, F.; Grynenko, V.; Vergeles, Y; Jeanton, H. C.; Tapie, N.; Budzinski, H.; Costumer, P.; *Water Air Soil Pollut.*, **2012**, 223, 2111.

Wang, C.; Shi, H.; Adams C. D.; Gamagedara, S.; Stayton, I.; Timmons, T.; Ma, Y.; *Water Res.*, **2011**, 45, 1818.

Weigel, S.; Kuhlmann, J.; Huhnerfuss, H; *Sci. Total Environ.*, **2002**, 295, 131.

Westerhoff, P.; Yoon, Y.; Snyder, S.; Wert, E.; *Environ. Sci. Tech.*, **2005**, 39, 6649.

Ye, X.; Bishop, A. M.; Needham, L. L.; Calafat, *Anal. Chim. Acta*, **2008**, 622, 150.

Yoon, Y.; Ryu, J.; Oh, K.; Choi, B. G.; Snyder, S. A.; *Sci. Total Environ*, **2010**, 408, 636.