

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA

RENATO ITAMAR DUARTE FONSECA

OCORRÊNCIA E DETERMINAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS DE
ABASTECIMENTO NA BACIA DO RIO PITANGUI

PONTA GROSSA
2014

RENATO ITAMAR DUARTE FONSECA

OCORRÊNCIA E DETERMINAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS DE
ABASTECIMENTO NA BACIA DO RIO PITANGUI

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química Aplicada no Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa Dra Elizabeth W. O. Scheffer

Co-Orientadora: Profa Dra Rosilene Prestes

PONTA GROSSA
2014

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

F676 Fonseca, Renato Itamar Duarte
Ocorrência e determinação de triclosan em águas de abastecimento na Bacia do Rio Pitangui/ Renato Itamar Duarte Fonseca. Ponta Grossa, 2014.
88f.

Dissertação (Mestrado em Química Aplicada - Área de Concentração: Química), Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientadora: Prof^a Dr^a Elizabeth W. O. Scheffer.
Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Rosilene Prestes.

1. Triclosan. 2. Cromatografia líquida de alta eficiência. 3. Águas superficiais. 4. Efluente. I. Scheffer, Elizabeth W. O.. II. Prestes, Rosilene. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Química Aplicada. IV. T.

CDD: 628.16


TERMO DE APROVAÇÃO

RENATO ITAMAR DUARTE FONSECA

**“OCORRÊNCIA E DETERMINAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS
DE ABASTECIMENTO NA BACIA DO RIO PITANGUI.”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Orientador:


Prof. Dra. Elizabeth Weinhardt O. Scheffer
UEPG/PR


Prof. Dr. Ciro Mauricio Zimmermann
UTFPR/PR


Prof. Dr. Sandro Xavier de Campos
UEPG/PR

Ponta Grossa, 07 de março de 2014.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus por sua bondade, fidelidade e amor imensuráveis. A minha amada esposa Kennia pelos momentos de encorajamento e cuidado. A todos que me apoiaram direta ou indiretamente nesta longa jornada, minha imensa gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre acreditar e nunca desistir de mim.

A minha querida esposa pelo suporte e amor incondicional. Por sonhar junto comigo e por sempre estar ao meu lado nos bons e maus momentos em que passamos juntos.

A todos os meus familiares que contribuíram para a realização deste projeto.

A todos os meus queridos amigos que nos ajudaram direta e indiretamente para a conclusão deste objetivo tão almejado.

A minha orientadora professora Dra Elizabeth W. O. Scheffer pelo apoio incondicional e por toda a ajuda neste trabalho. Obrigado professora por acreditar e me incentivar durante todo este tempo em que compartilhamos este trabalho juntos. Que Deus possa te retribuir por tudo de forma grandiosa.

Meus sinceros agradecimentos ao químico MSc Alexandre Emmel, responsável pelo Laboratório Ambiental do SESI/SENAI de Curitiba/PR, pela cooperação científica nas análises cromatográficas.

A minha co-orientadora professora Dra Rosilene Prestes pelo auxílio técnico e pelo suporte científico durante a construção deste trabalho.

Ao professor Dr. Ciro Maurício Zimmermann pelo apoio durante as coletas e também pela ajuda com os parâmetros físico-químicos.

Ao professor Dr. Eduardo Sidinei Chaves e professora Dra Elenise Sauer pelo apoio institucional da UTFPR neste trabalho.

A professora Dra Vanessa Lima Torres pela amizade e apoio para a conclusão deste trabalho.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da UEPG pela oportunidade.

A SANEPAR pela parceria técnica e pela disponibilidade em contribuir neste trabalho.

*“Em Cristo estão escondidos todos os
tesouros da sabedoria e do conhecimento.”
Cl 2:3*

RESUMO

Os micropoluentes emergentes são caracterizados como potenciais fatores de riscos ambientais e de problemas para a saúde humana. Dentre estes micropoluentes, está o Triclosan (TCS), que com ação antimicrobiana vem sendo amplamente utilizado principalmente em produtos de higiene pessoal, mas que no ambiente pode afetar a biota e produzir resistência bacteriana. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença de TCS em águas superficiais e efluente de Estação de Tratamento de Esgoto (ETE). Amostras de águas superficiais foram coletadas (10 coletas) na área urbana da cidade de Ponta Grossa no Arroio Pilão de Pedra (ponto 1), no Rio Verde a montante (ponto 2) e a jusante (ponto 3) da ETE, e amostras de efluente coletadas no interior da ETE Rio Verde antes (ponto 4) e após tratamento anaeróbio (ponto 5), avaliando assim o próprio efluente quanto a presença de TCS. Avaliações físico-químicas também foram realizadas nos pontos 1, 2 e 3 com a finalidade de verificar a qualidade do ambiente aquático. As técnicas utilizadas para as avaliações físico-químicas estiveram baseadas na Espectroscopia de Absorção Molecular no Ultravioleta (UV), sendo todas estas realizadas em triplicata. Já para a determinação do TCS empregou-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) precedida de pré-concentração em fase sólida, sendo a técnica implantada após validação. As análises cromatográficas foram realizadas empregando-se um cromatógrafo Allcrom YL9100 com coluna C-18 (250 mm x 4,6 mm x 5 m), fase móvel acetoneitrilal/água (65:35), com eluição isocrática e detector UV-Vis. Os solventes utilizados são todos grau HPLC e a água ultra-pura Milli-Q®. As análises cromatográficas foram realizadas sob um fluxo (vazão) de 1mL/min, volume de injeção de 400 µL, pressão média de 2360 psi e temperatura de 30°C. A pré-concentração das amostras foi realizada através da técnica de extração em fase sólida (EFS) empregando cartuchos C18/18 Applied Separations. A avaliação físico-química das amostras coletadas no Rio Verde mostrou declínio da qualidade da água após descarte de efluente tratado. Alta demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e alta demanda química de oxigênio (DQO), concentrações elevadas de carbono orgânico total (COT), surfactantes (SFT) e fósforo total (FOST), assim como níveis reduzidos de oxigênio dissolvido (OD) foram verificados no Rio Verde a jusante da ETE. O Arroio Pilão de Pedra apresentou características semelhantes ao Rio Verde após descarte do efluente tratado. O TCS foi detectado em dois dos pontos selecionados para análise cromatográfica (pontos 3 e 4) em concentrações médias de 33, 23ug L⁻¹. Os resultados demonstram uma relação entre águas impactadas por esgoto bruto ou pelo aporte de efluente da ETE, e a presença de TCS.

Palavras-chave: Triclosan. Cromatografia líquida de alta eficiência. Águas superficiais. Efluente.

ABSTRACT

Emerging micropollutants are characterized as potential risk factors for the environment and for human health. Among these micropollutants is Triclosan (TCS), with antimicrobial action that has been widely used mainly in personal care products which in the environment can affect the biota and produce bacterial resistance. This study aimed to evaluate the presence of TCS in surface waters and effluent from the Sewage Treatment Plant (STP). Surface water samples were collected (10 samples) in the urban area of the city of Ponta Grossa in Arroio Pilão de Pedra (point 1), the Rio Verde upstream (point 2) and downstream (point 3) of the ETE and effluent samples collected within the ETE Rio Verde before (point 4) and after anaerobic treatment (point 5), thus evaluating the effluent itself and the presence of TCS. Physical and chemical evaluations were also conducted on points 1, 2 and 3 in order to verify the quality of the aquatic environment. The techniques used for the physical-chemical evaluations were based on Molecular Spectroscopy UV absorption, which are all carried out in triplicate. As for the determination of TCS, a high performance chromatography liquid was employed (HPLC) preceded by pre-concentration in the solid state with the technique being implemented after validation. The chromatographic analyzes were performed employing a chromatograph Allcrom YL9100 with C-18 (250 mm x 4.6 mm x 5 m), mobile phase acetonitrilal / water (65:35) with isocratic elution and UV-Vis detector. The solvents used are all HPLC grade and ultrapure Milli-Q water[®]. The chromatographic analyzes were performed under a flow (output) of 1mL/min, injection volume 400 µL, average pressure of 2360 psi and a temperature of 30 ° C. The pre-concentration of the samples was performed using the technique of solid phase extraction (SPE) using cartridges C18/18 Applied Separations. The physical-chemical evaluation of the samples collected in the Green River showed a decline in the quality of the water after disposal of treated effluent. High biochemical oxygen demand (BOD) and high chemical oxygen demand (COD), high concentrations of total organic carbon (TOC), surfactants (SFT) and total phosphorus (TPHO), as well as reduced levels of dissolved oxygen (DO) were observed in the Rio Verde downstream of ETE. The Arroio Pilão de Pedra showed similar characteristics to the Rio Verde after disposal of treated effluent. TCS was detected in two of the selected points for the chromatographic analysis (points 3 and 4) at concentrations averaging 33, 23ug L⁻¹ points. The results demonstrate a relationship between waters impacted by raw sewage or the effluent of ETE inflow, and the presence of TCS.

Key-words: Triclosan. High performance liquid chromatography. Surface water. Effluent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química do MTCS.....	18
Figura 2	Estrutura química do 2,4-diclorofenol.....	19
Figura 3	Produtos de fotodegradação do TCS.....	20
Figura 4	Estrutura química do TCS.....	20
Figura 5	Locais de coleta: águas superficiais no Rio Verde a montante e a jusante da ETE e efluente da ETE.....	29
Figura 6	Local de coleta: Arroio Pilão de Pedra.....	30
Figura 7	Localização da bacia hidrográfica do Rio Pitangui, nos municípios de Ponta Grossa, Castro e Carambeí, PR.....	31
Figura 8	Foto do ponto de coleta no Arroio Pilão de Pedra – região central de Ponta Grossa.....	33
Figura 9	Foto do ponto de coleta no Rio Verde – a montante da ETE.....	34
Figura 10	Foto do ponto de coleta no Rio Verde – a jusante da ETE.....	35
Figura 11	Foto do ponto de coleta no Rio Verde – a jusante da ETE.....	36
Figura 12	Foto do ponto de coleta antes do RALF.....	37
Figura 13	Foto do ponto de coleta no RALF.....	38
Figura 14	Resumo esquemático dos procedimentos analíticos empregados na determinação do TCS.....	40
Figura 15	Relação entre a variação de temperatura e as concentrações de OD nas 10 coletas realizadas nos pontos de amostragem. (a) Arroio Pilão de Pedra; (b) Rio Verde a montante da ETE; (c) Rio Verde a jusante da ETE.....	45
Figura 16	Variação nas concentrações de DBO_5 nos três pontos de amostragem nas 10 coletas realizadas.....	47
Figura 17	Variação nas concentrações de DQO ($mg L^{-1}$) nos três pontos de amostragem nas 10 coletas realizadas.....	48
Figura 18	Variação nas concentrações de COT ($mg L^{-1}$) nos três pontos de amostragem nas 10 coletas realizadas.....	49
Figura 19	Variação nas concentrações de fósforo total ($mg L^{-1}$) nos pontos de amostragem nas 10 coletas realizadas.....	51
Figura 20	Cromatograma indicando tempo de retenção do TCS ($1 mg L^{-1}$) para a	

	combinação MeOH/água a 80:20 em 280 nm.....	55
Figura 21	Cromatograma indicando tempo de retenção do TCS (1 mg L ⁻¹) para a combinação ACN/água a 65:35 em 280 nm.....	56
Figura 22	Cromatograma obtido na análise do TCS em comprimentos de onda de 260 e 280 nm.....	59
Figura 23	Curva analítica para o TCS em comprimento de onda de 280 nm....	62
Figura 24	Cromatograma das amostras padrão, água superficial e água superficial com adição de padrão.....	68
Figura 25	Cromatograma de amostras aquáticas sem TCS e com 1 mg L ⁻¹	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Concentração de OD (mg L^{-1}) na 10 coletas realizadas nos 4 pontos de amostragem de águas superficiais.....	44
Tabela 2	Níveis de DQO (mg L^{-1}) nas 10 coletas realizadas nos 4 pontos de amostragem para águas superficiais.....	47
Tabela 3	Valores médios de NO_3 (mg L^{-1}) nas 10 coletas realizadas nos 4 pontos de amostragem para águas superficiais.....	52
Tabela 4	Ensaio de validação do cartucho C18/18.....	57
Tabela 5	Ensaio de recuperação de TCS em amostras de águas superficiais.....	58
Tabela 6	Valores experimentais TCS analisados através do CLAE para a construção da curva analítica.....	61
Tabela 7	Ensaio analítico para avaliação da exatidão do método.....	63
Tabela 8	Desvio Padrão para os ensaios de repetibilidade na faixa de concentrações de 1 a 5 mg L^{-1} de TCS.....	65
Tabela 9	Valores de desvio padrão relativo (DPR).....	65
Tabela 10	Ensaio de reprodutibilidade interlaboratoriais.....	66
Tabela 11	Valores de desvio padrão relativo (DPR) para o ensaio de reprodutibilidade.....	67
Tabela 12	Resultados da análise cromatográfica para TCS nos Pontos 3 e 4.....	71

LISTA DE SIGLAS

ACN – Acetonitrila
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CG – Cromatografia gasosa
CLAE – Cromatografia Líquida de alta eficiência
COT – Carbono orgânico total
CV% – Coeficiente de variação
DBO – Demanda bioquímica de oxigênio
DBO₅ – Demanda bioquímica de oxigênio
DP – Desvio padrão
DPM – Desvio padrão médio
DPR – Desvio padrão relativo
DQO – Demanda química de oxigênio
EFS – Extração em fase sólida
ER – Erro relativo
ETAs – Estações de Tratamento de Água
ETEs – Estações de tratamento de esgoto
FC – Fator de correção
FDA – Food and Drug Administration
FT – Fósforo total
HOH – Água
INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IR – Índice de recuperação
LD – Limite de Detecção
LQ – Limite de Quantificação
MTCS – Metil-triclosan
MtOH – Metanol
NO₃ – Nitrato
OD – Oxigênio dissolvido
PFHP – Produtos farmacêuticos e de higiene pessoal
SANEPAR – Companhia de Saneamento do Paraná
SST – Sólidos suspensos totais
SUR – Surfactantes

S² – Média dos quadrados dos desvios

T – Temperatura

TCS – Triclosan

UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

	RESUMO	
	ABSTRACT	
	LISTA DE FIGURAS	
	LISTA DE TABELAS	
	LISTA DE SIGLAS	
1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Justificativa.....	16
1.2	Revisão bibliográfica.....	17
1.2.1	Fármacos e o meio ambiente.....	17
1.2.2	Características do triclosan (TCS).....	20
1.3	Delimitação do problema.....	21
1.4	Objetivos gerais.....	22
1.5	Hipótese.....	22
1.6	Técnicas e seus fundamentos.....	23
1.6.1	Pré-concentração do analito.....	23
1.6.2	Validação da metodologia.....	25
2	OBJETIVOS	27
2.1	Objetivo Geral.....	27
2.2	Objetivos Específicos.....	27
3	MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1	Coleta e Amostragem.....	28
3.2	Locais de Amostragem.....	28
3.3	Pré-concentração das Amostras.....	38
3.4	Determinação de TCS.....	39
3.5	Parâmetros Aquáticos.....	41
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1	Caracterização dos pontos de amostragem.....	43

4.2	Determinação do triclosan.....	53
4.2.1	Otimização da metodologia para análise por CLAE.....	53
4.2.1.1	Seleção da fase móvel (FM) empregada na CLAE.....	54
4.2.1.2	Pré-concentração das amostras.....	56
4.2.1.3	Taxa de recuperação na CLAE.....	57
4.2.1.4	Seleção do melhor comprimento de onda com detector UV/Vis.....	58
4.2.2	Processo de validação analítica.....	59
4.2.2.1	Linearidade e faixa de aplicação.....	60
4.2.2.2	Exatidão.....	62
4.2.2.3	Precisão.....	63
4.2.2.4	Especificidade e seletividade.....	67
4.2.2.5	Limite de detecção (LD) ou sensibilidade.....	68
4.2.3	Determinação do TCS em amostras reais.....	70
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
	ANEXO I.....	88

1. INTRODUÇÃO

1.1 Justificativa

Produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP) estão entre as substâncias denominadas “poluentes emergentes”, pelo fato de serem novos contaminantes, cujas concentrações no ambiente ainda não foram regulamentadas, e que anteriormente não eram detectados ou não tinham sido considerados como um risco ao meio ambiente. Entre estes emergentes tem merecido destaque o composto Triclosan (TCS), um conservante, que devido a sua ação antimicrobiana é utilizado cada vez mais em produtos de higiene pessoal como sabonetes bactericidas, enxaguantes bucais, desodorantes e cremes dentais.

O TCS está entre os conservantes adicionados aos cosméticos para aumentar o tempo de vida útil dos produtos. De maneira geral, os conservantes ou preservantes agem impedindo o desenvolvimento de bactérias, fungos e leveduras. De acordo com a indústria de cosméticos, é importante que o produto tenha um bom sistema conservante formado por uma ou mais substâncias para prevenir alterações de cor, odor, consistência, visando garantir a segurança do consumidor e manter a estabilidade do produto (ADOLFSSON-ERICI et al., 2002).

Trata-se de um composto orgânico sintético encontrado também em produtos de limpeza e incorporado em diversos itens de consumo como brinquedos, utensílios de cozinha, meias e sacos de lixo (LUMBRERAS-GONZAL et. al., 2014). Há evidências que o TCS não é biodegradado ou eliminado completamente em estações de tratamento de esgoto (ETEs), permanecendo nos efluentes lançados nos rios (ERICKSON, 2002).

Considerando o potencial impactante deste micropoluinte, buscou-se neste trabalho validar e implantar procedimento analítico para quantificação de TCS em amostras de água e efluente coletadas: i) no Arroio Pilão de Pedra na área central de Ponta Grossa; ii) no Rio Verde, a montante e a jusante da ETE Rio Verde; iii) no interior da ETE Rio Verde, antes do esgoto bruto e depois do esgoto tratado. A metodologia para quantificação do TCS está baseada em processo de extração em fase sólida (EFS) e na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Parâmetros físico-químicos também formam mensurados com a finalidade de avaliar o cenário ambiental.

1.2 Revisão Bibliográfica

1.2.1 Fármacos e o meio ambiente

Estudos iniciais sobre a presença de fármacos no meio ambiente datam da década de 70, onde pesquisas foram realizadas em águas residuais de ETEs nos Estados Unidos, detectando a presença de ácido clofíbrico, clorofibrato e etofibrato, substâncias estas classificadas como antilipêmicas, reguladoras de ácidos graxos e colesterol (CRESTANA e SILVA, 2011 apud GARRISON et al., 1976; HIGNITE e AZARNOFF, 1977).

No final da década de 90, com o crescimento dos conhecimentos na área da química ambiental, iniciou-se o estudo da disposição dos compostos farmacêuticos, e dos seus metabólitos, no ambiente, principalmente no compartimento aquático. A grande maioria dos trabalhos publicados refere-se à avaliação destas substâncias em rios e lagos como também em efluentes domésticos e água de abastecimento. Embora os riscos associados com a exposição dos fármacos sejam provavelmente mais significativos no ambiente natural, o interesse tem sido focado na exposição humana, principalmente em áreas nas quais se pratica o reuso indireto da água, onde o efluente de esgoto é descartado diretamente em córregos e rios, e que servem como fonte de água para abastecimento das comunidades (JONES et al., 2001; CAMINADA, 2008).

Segundo BILA e DEZOTTI (2003), toneladas de medicamentos são produzidas por ano e aplicadas na medicina humana e veterinária. Desta forma, a presença residual destes fármacos no esgoto doméstico e nas águas naturais é atualmente um importante tópico internacional.

O monitoramento de fármacos residuais no meio ambiente tem demonstrado frequentemente a presença dessas substâncias em efluentes de ETEs e águas naturais, em concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} (BILA e DEZOTTI, 2003; MELO et al., 2009).

As consequências do uso desenfreado de antimicrobianos como o TCS incluem a contaminação dos recursos hídricos, e a possível resistência adquirida por microrganismos, através de mudanças no seu material genético (MULROY, 2001; BILA e DEZOTTI, 2003).

Assim, a presença de fármacos de forma residual no meio ambiente, principalmente em águas destinadas ao consumo humano, tem aumentado o interesse científico na avaliação qualitativa e quantitativa desses compostos. De acordo com HIRSCH et al. (2004), o monitoramento de drogas residuais em ambientes aquáticos é foco de um número cada vez maior de pesquisas, verificando-se a presença de inúmeros compostos farmacêuticos em efluentes de ETEs e águas superficiais, em níveis traço.

A importância do achado residual do TCS no meio ambiente deve-se não apenas a sua ação antimicrobiana e possibilidade de resistência, como também aos danos à biota aquática, com elevada toxicidade para algumas espécies de algas. Estudos demonstraram ainda possíveis alterações na função da tiróide em anfíbios quando expostos a concentrações na ordem de mg L^{-1} (ETGES, 2013).

Outro aspecto é a produção de compostos derivados, ainda mais tóxicos, a partir de sua fotodegradação, principalmente em ETEs. De acordo com CHEN et al. (2011), existem três formas de tratamento de águas residuais: aeróbia (presença de oxigênio), anaeróbia (ausência de oxigênio) e anóxica (ausência de oxigênio, porém nitrato presente), sendo que estes três processos podem ser empregados em uma ETE. Para o autor a maior taxa de formação de TCS em metil-triclosan (MTCS) acontece em sistemas aeróbios através da metilação do TCS (Figura 1).

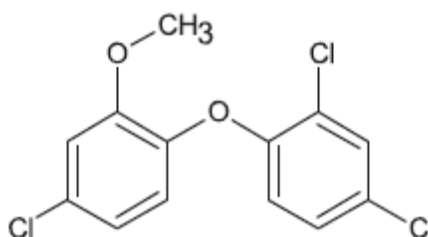


Figura 1 – Estrutura química do MTCS

Fonte: CHEN et al., 2011.

O TCS também pode ser degradado em ambientes aquáticos pela exposição à radiação solar e ao cloro livre. Esta degradação pode gerar compostos fenólicos

como o 2,4-diclorofenol (Figura 2), o qual também é considerado um disruptor endócrino (ZHENG et al., 2011).

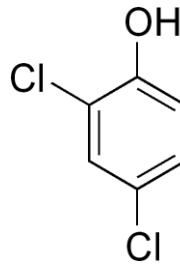


Figura 2 – Estrutura química do 2,4-diclorofenol

Fonte: ZHENG et al., 2011.

A fotodegradação do TCS é caracterizada por sua afinidade molecular ao ultravioleta próximo emitido pela a radiação solar. Existem quatro fotoprodutos já identificados (Figura 3): 2,8-diclorodibenzodioxina (2,8-DCDD) resultado de ciclização; 4,5'-dicloro-[1,1'-bifenil]-2,2'-diol ((OH)₂PCB-13) envolvendo um rearranjo esquelético do difenil éter para uma estrutura hidroxibifenil central; 5-cloro-2-(4-clorofenoxi)-fenol resultante de reações de substituição ou hidrodessalogenação do substituinte cloro por um átomo de hidrogênio; 2,4-diclorofenol resultante da clivagem da ligação éter do TCS. A polimerização também pode ocorrer quando grandes concentrações de TCS estão presentes (KLIEGMAN et al, 2013).

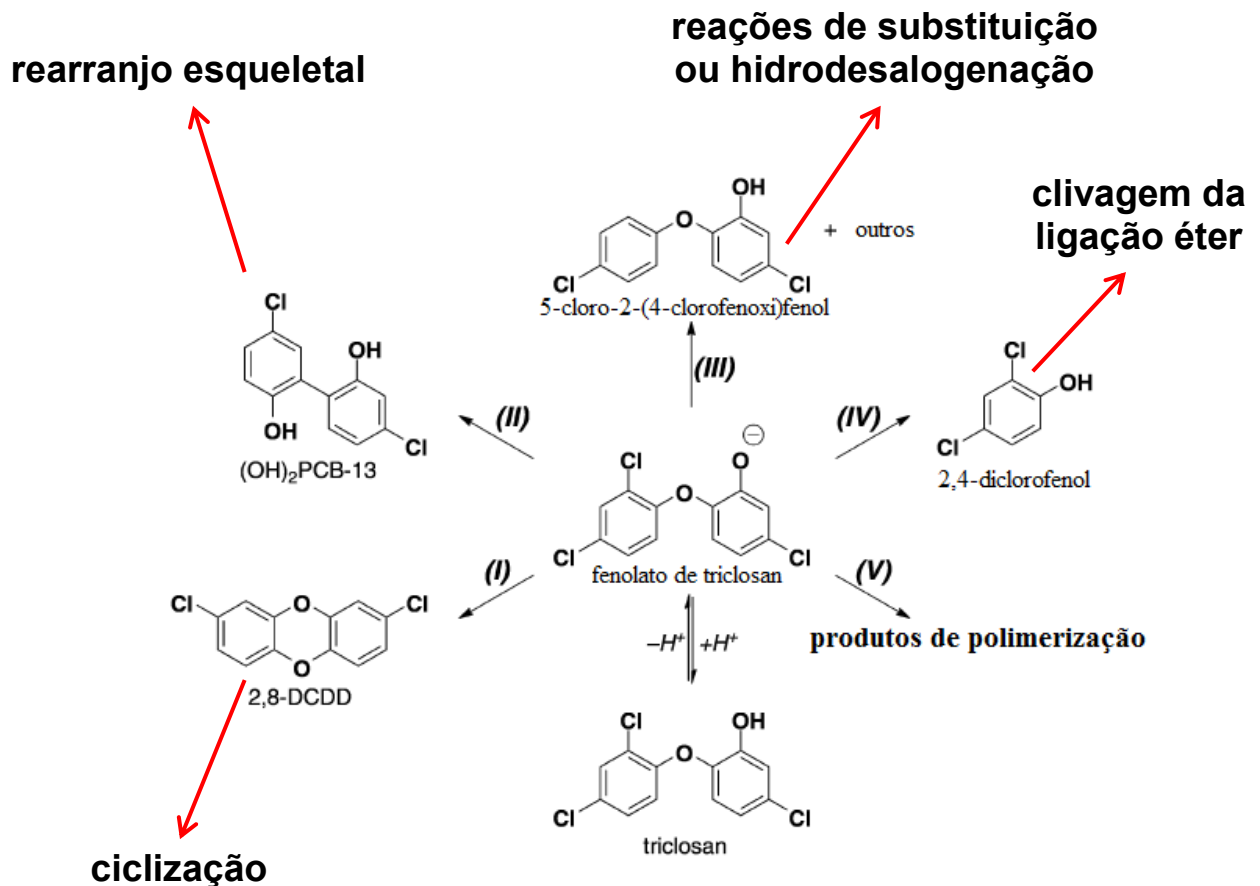


Figura 3 – Produtos de fotodegradação do TCS

Fonte: KLIEGMAN et al, 2013 - Adaptado

1.2.2 Características do TCS

O TCS é caracterizado quimicamente como 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxidifenil éter, (Figura 4), possui função bacteriostática (inibe a multiplicação e crescimento bacteriano) em baixas concentrações e bactericida (destrói a estrutura bacteriana, provocando sua morte) em altas concentrações, com amplo espectro de ação sobre bactérias Gram positivas e negativas (APUA, 2011).

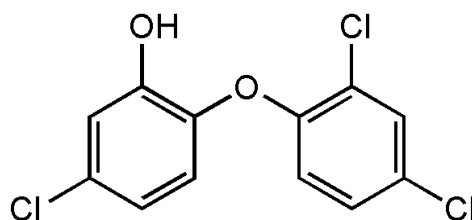


Figura 4 – Estrutura química do TCS

Fonte: PICCOLI et al., 2002.

O espectro de ação do TCS também envolve sua eficácia sobre outros microrganismos, como fungos e vírus (LUMBRERAS-GONZAL et. al., 2014). Ele é um agente antimicrobiano que atua especificamente através de inibição enzimática da enoil-(proteína de transporte de acila) redutase, a qual é fundamental para síntese de ácidos graxos em diversos microrganismos (ZHU et al, 2010).

É um fenil éter, com ampla capacidade antimicrobiana, classificado pela *Food and Drug Administration (FDA)* como droga de classe III (compostos de alta solubilidade e baixa permeabilidade) (APUA, 2011); e como substância de ação conservante utilizada em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 29, de 1º de junho de 2012. Para GARCIA (2011), seu mecanismo de ação envolve ligação à membrana citoplasmática das bactérias, porém SCHWEIZER (2001), afirma que seu mecanismo de ação envolve o bloqueio da biossíntese de lipídios através da enzima transportadora enoil-acil-redutase.

O TCS é um excelente agente preservante, pois é capaz de inibir o crescimento microbiano quando adicionado em produtos de consumo. Sua ação bactericida produz efeitos inibitórios importantes em microrganismos potencialmente patogênicos. Segundo o FDA (2010), para alguns produtos o TCS traz benefícios evidentes, como no caso de tratamento de gengivite com creme dental, porém outros produtos como sabonete líquido não tiveram ainda eficácia comprovada. Mas, o que há de consenso é que apesar de suas aplicações, o TCS tem sido descrito como poluente emergente (SILVA, 2010).

1.3 Delimitação do problema

Nas áreas urbanas, os principais agentes poluidores de águas são os esgotos, muitas vezes lançados diretamente nos corpos de água, sem tratamento prévio. Frente à intensa degradação dos recursos hídricos, houve no Brasil, nas últimas décadas, a ampliação do tratamento das águas residuais, com a construção de ETEs, que operam com diferentes sistemas tecnológicos (BOEIRA, 2013). Depois do tratamento, o efluente retorna aos mananciais dentro de padrões estabelecidos

pela legislação (BRASIL, 2005; BRASIL, 2008), entretanto poluentes como o TCS, podem não ser totalmente eliminados.

O tratamento padrão das ETEs parece não ser eficiente na remoção do TCS, assim como em Estações de Tratamento de Água (ETAs), o que sugere a possibilidade da sua presença ou de seus subprodutos na água tratada, e aponta para a necessidade de investigação em águas superficiais, principalmente quando voltadas para abastecimento público.

No presente trabalho após implantação de metodologia para pré-concentração do analito e da metodologia analítica empregando CLAE para quantificação de TCS, buscou-se a presença deste fármaco em cinco locais de amostragem. Estes, localizados no Arroio Pilão de Pedra (região central de Ponta Grossa/PR), na ETE Rio Verde (antes e após tratamento do Reator Anaeróbio de Manto de Fluxo e Lodo - RALF) e no Rio Verde (a montante e a jusante da ETE).

1.4 Objetivos Gerais

- Determinar através de procedimentos analíticos previamente validados, a concentração de TCS em águas superficiais na área central da cidade de Ponta Grossa, e em pontos específicos no Rio Verde avaliando a influência do aporte do efluente de ETE, e no próprio efluente coletado diretamente na estação.

1.5 Hipótese

Sendo a bacia do Rio Pitangui, frequentemente impactada pelo crescente adensamento populacional, com perda na sua qualidade hídrica, principalmente pelo aporte de esgoto não tratado e de efluentes de ETEs, é esperada a presença de TCS em amostras de água coletadas no Rio Verde, principal tributário do Rio Pitangui. Além disso, na região central da cidade de Ponta Grossa, no Arroio Pilão de Pedra, visualmente degradado pelo aporte de esgoto doméstico, estima-se a

possibilidade de quantificação de TCS pelo método cromatográfico validado nesta pesquisa.

1.6 Técnicas e seus fundamentos

Diversos métodos analíticos têm sido empregados para a pesquisa de TCS em diferentes matrizes, desde produtos de higiene pessoal a efluentes e águas superficiais, entre os quais espectroscopia de absorção molecular (LU et al., 2009), métodos eletroanalíticos (LIMA, 2009), métodos cromatográficos (BLACK e MUIR, 2003), em especial a CLAE (SILVA e NOGUEIRA, 2008; ZHOU et al., 2009) que foi empregada na presente pesquisa.

A detecção de TCS por métodos cromatográficos é sem dúvidas muito eficiente devido à sensibilidade e à seletividade dessa técnica. A cromatografia compreende um grupo diversificado e importante de métodos que permitem separar componentes muito semelhantes de misturas complexas (SKOOG et al., 2002), como amostras ambientais (águas superficiais, efluentes, etc) com alta complexidade devido ao seu grande volume e possibilidade de contaminação.

As separações analíticas em química ambiental geralmente envolvem duas técnicas cromatográficas mais conhecidas: a CLAE e a cromatografia gasosa (CG) (SILVA e COLLINS, 2011).

Características como a alta sensibilidade, fácil adaptação para determinações quantitativas acuradas, adequação à separação de espécies não voláteis (termicamente frágeis) e sua ampla aplicabilidade industrial fazem da CLAE a mais usada de todas as técnicas analíticas de separação (SKOOG et al., 2002).

1.6.1 Pré-concentração do analito

A aplicação da CLAE para amostras ambientais exige, em geral, tratamento inicial da amostra com etapa de pré-concentração e EFS. A técnica por EFS é bastante empregada em matrizes complexas e utiliza os mesmos materiais adsorventes empregados em cromatografia líquida, dentre os quais se destacam os


derivados de sílica ligados a Octil (C8), Octadecil (C18) e Ciano (CN) (QUEIROZ et al., 2001).

Os mecanismos de retenção na EFS assemelham-se aqueles envolvidos na cromatografia líquida em coluna (POOLE et al., 1990) e, dependem do adsorvente, do analito e do modo como é empregado. A EFS é dividida em três tipos de acordo com as interações entre analito e adsorvente: fase reversa, fase normal e troca iônica.

Nos casos das fases reversas (C8, C18 e CN), a retenção do analito acontece primeiramente, devido às interações de Van der Waals não polares, entre as ligações carbono-hidrogênio do analito com os grupos funcionais da superfície da sílica. Esta foi a interação esperada neste trabalho para o fármaco TCS, sendo o grupo adsorvente o octadecilsilano. Já no modo normal, as principais interações são entre grupos polares do analito e do solvente de eluição através de ligações de hidrogênio, interações π - π e dipolo-dipolo. Finalmente, no modo troca iônica as interações eletrostáticas são as responsáveis pela extração seletiva do analito (SNYDER et al., 1997).

A EFS conta com uma grande variedade de adsorventes disponíveis, que podem ser empregados com os mais diversos tipos de matrizes e classes de compostos (Quadro 1) (QUEIROZ et al., 2001; ORLANDO et. al., 2009).

Quadro 1 - Características da EFS empregada nos modos reverso, normal e troca iônica.

	ANALITOS	MATRIZES	GRUPOS ADSORVENTES	SOLVENTES DE ELUIÇÃO
Fase Reversa	Apolares: fármacos, pesticidas, peptídeos	Aquosas: fluidos biológicos, água, tecidos, tampões	octadecilsilano $\equiv\text{Si}-(\text{CH}_2)_{17}-\text{CH}_3$ octilsilano $\equiv\text{Si}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3$ metilsilano $\equiv\text{Si}-\text{CH}_3$ cicloexilsilano $\equiv\text{Si}$ 	Metanol, acetonitrila, clorofórmio, hexano
Fase Normal	Polares: carboidratos, fenóis, metabólitos de vitaminas	Oleosas: óleos, lipídios, tecidos gordurosos	sílica $\equiv\text{Si}-\text{OH}$ alumina Al_2O_3 florisil MgO_3Si aminopropilsilano $\equiv\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$	Metanol, etanol, acetona
Troca Iônica	Catiônicos: bases iônicas ou ionizáveis (fármacos, herbicidas, catecolaminas)	Aquosas: fluidos biológicos, água, tecidos, tampões	Carboximetilsilano $\equiv\text{Si}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ sulfonilpropilsilano $\equiv\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{SO}_3\text{Na}^+$	Tampões básicos ou com alta força iônica
	Aniônicos: ácidos iônicos ou ionizáveis (ácidos orgânicos, fármacos, vitaminas, ácidos graxos, fosfatos)	Aquosas: fluidos biológicos, água, tecidos, tampões	Dietilaminopropilsilano $\equiv\text{Si}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3-\text{N}(\text{CH}_2-\text{CH}_3)_2$ trimetilaminopropilsilano $\equiv\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$	Tampões ácidos Ou com alta força iônica

Fonte: Adaptado de Orlando et. al., 2009.

1.6.2 Validação da metodologia analítica

O processo de validação deve garantir confiabilidade analítica, e isto abrange diversos processos que garantam a qualidade da análise e envolve desde a capacidade técnica do analista, como também dos equipamentos e insumos empregados durante determinada análise. Segundo LEITE (2008), validar em análise química é avaliar a confiabilidade química do laboratório e do método escolhido ou desenvolvido para se obter o resultado desejado.

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou implementação de método conhecido, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório. Esse processo costuma ser denominado de validação. Segundo BRITO et al. (2003), várias definições estão descritas na literatura para validação, tratando-se portanto de termo não-específico. Determinado método é considerado validado se suas características estiverem de acordo com os pré-requisitos estabelecidos. Desta forma, existe diferença entre a execução de experimentos que determinam os diversos parâmetros (coleta dos dados

experimentais) e a validação. Essa última deve avaliar a relação entre os resultados experimentais e as questões que o método se propõe a responder.

O principal objetivo da validação consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para o seu propósito. A validação deve ser considerada quando se desenvolve ou efetua adaptações em metodologias já validadas, inclusão de novas técnicas ou uso de diferentes equipamentos (BRITO et al., 2003).

A literatura dispõe de vários trabalhos que relatam a validação de métodos analíticos e definem os critérios que devem ser seguidos durante seu desenvolvimento. Dentre esses, muitos são das áreas biológica (HUBERT et al., 1999; CAUSON, 1997), farmacêutica (BRESSOLLE et al., 1996; CHASIN et al., 1994) e química (PEREIRA et al., 2000). Tais artigos abordam os critérios de validação de acordo com sua área específica, enfatizando a exatidão, a precisão e os limites de detecção e quantificação.

O processo de validação de um método deve estar descrito em um procedimento, e os estudos para determinar os parâmetros de validação devem ser realizados com equipamentos e instrumentos dentro das especificações, funcionando corretamente e adequadamente calibrados (BRASIL, 2010).

Dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e mesmo a prejuízos financeiros irreparáveis, assim, a necessidade de se mostrar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida. Assim, para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve ser validado (RIBANI et al., 2004).

Frequentemente, os parâmetros de validação de métodos analíticos envolvem especificidade/seletividade, função da resposta (gráfico analítico), intervalo de trabalho, linearidade, sensibilidade, exatidão, precisão (repetitividade, precisão intermediária e reprodutividade), limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e robustez (BRITO et al., 2003).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

- Através de procedimentos analíticos previamente validados, quantificar TCS em efluentes de ETE e em amostras de águas superficiais, coletadas periodicamente em afluentes da bacia do Pitangui, na cidade de Ponta Grossa.

2.2 Objetivos Específicos

- Validar a metodologia aplicada (EFS e CLAE) através das figuras de mérito: linearidade, exatidão, precisão, especificidade, seletividade e limite de detecção.
- Realizar procedimentos de extração em fase sólida, através de cartuchos C18, visando a pré-concentração do analito.
- Quantificar TCS, empregando CLAE, em amostras de águas superficiais, coletadas quinzenalmente no Arroio Pilão de Pedra, na região central de Ponta Grossa, no Rio Verde, a montante e a jusante da ETE Rio Verde e no efluente da ETE Rio Verde.
- Avaliar os locais de amostragem de águas superficiais através da determinação de parâmetros físico-químicos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta e Amostragem

Todas as análises foram realizadas com os cuidados que cabem quando se busca minimizar interferências de contaminantes em determinações de espécies que ocorrem no meio ambiente em níveis traço, tais como a utilização de reagentes de grau analítico e, principalmente, cuidados especiais na amostragem e manuseio das amostras (CAMPOS e ROHLFS, 2010).

Inicialmente todo material a ser utilizado na coleta e análise foi lavado com água corrente e detergente comercial incolor, com o objetivo de remover resíduos orgânicos. Em seguida, enxaguado exaustivamente com água corrente, com água do tipo Milli-Q (Millipore), e posteriormente colocado em banho ácido que consiste em recipientes com tampa contendo HNO_3 1 mol L^{-1} , onde o material fica imerso. Antes da utilização, todo material foi novamente lavado com água Milli-Q.

Para manuseio de reagentes ou materiais foram utilizadas luvas descartáveis de polietileno e bandejas plásticas, evitando-se o contato direto de qualquer material com a bancada. Os frascos tampados foram então embalados em sacos plásticos, individualmente, e depois dois a dois, sendo fechados com elástico.

No momento da coleta os frascos foram enxaguados pelo menos duas vezes, com a própria água a ser coletada, para serem ambientados. Todas as informações sobre a coleta, tais como: local, horários de início e término da coleta, número de amostras, temperatura da amostra e do ambiente, observações sobre as condições do local de amostragem, etc. foram registradas.

As amostras foram coletadas com o auxílio de um balde de polietileno e, imediatamente, transferidas para os frascos de polietileno. Para cada local de amostragem foram utilizados dois frascos de 1 L de capacidade. Em seguida, os frascos foram colocados individualmente em sacos plásticos e acondicionados em caixa de isopor com gelo. A preservação das amostras em baixas temperaturas é uma forma de preservação física que dispensa a adição de compostos químicos, mantendo-se, portanto, uma composição que reflete o estado real do meio estudado (NAMIESNIK, 2003).

No laboratório, as amostras foram filtradas sob pressão reduzida, utilizando-se membranas de acetato de celulose com $0,45 \mu\text{m}$ de porosidade (Schleicher & Shuell). Alíquotas das amostras *in natura* foram preservadas a 4°C , em refrigerador, até a realização de todas as análises.

3.2 Locais de Amostragem

Os locais de amostragem estão localizados no Arroio Pilão de Pedra e no Rio Verde, ambos fazem parte da Bacia do Rio Pitangui, além do que foram selecionados buscando locais com alto grau de urbanização com aporte de efluente de ETE. As amostras foram coletadas no período de 15/05/2013 à 20/11/2013, num total de 10 coletas.

As Figuras 5 e 6 apresentam a localização dos pontos de coleta.



Figura 5 – Locais de coleta: águas superficiais no Rio Verde a montante e a jusante da ETE e efluente da ETE.

Localização: S $25^{\circ} 02' 44,3''$, W $50^{\circ} 07' 40,1''$. Altitude 852 m.

Fonte: Google Maps[®] - Adaptado.



Figura 6 – Local de coleta: Arroio Pilão de Pedra.

Localização: S 25° 05' 13,5", W 50° 09' 13,5". Altitude 908,7 m.

Fonte: Google Maps® - Adaptado.

A bacia hidrográfica do rio Pitangui, importante afluente da margem direita do Rio Tibagi, situa-se nos Campos Gerais do Paraná, drenando parte dos municípios de Castro, Carambeí e Ponta Grossa (Figura 7), tendo por limites as latitudes 25°07'38" e 25°49'06"S e as longitudes 49°46'40"S e 50°17'38" W, compreendendo uma área de 927,3 km², Seu estado atual de conservação está intimamente ligado à ocupação humana e ao avanço da agropecuária sobre as pastagens e campos nativos (GEALH et al., 2010).

O Pitangui é um rio antecedente, ou seja, um rio antigo cujo traçado geral, de leste para o interior, antecede o relevo atual e que no seu percurso precisa atravessar degraus topográficos. Tem suas nascentes e curso no Primeiro Planalto Paranaense (PPP), após seu represamento no reservatório de Alagados, penetra no Segundo Planalto Paranaense (SPP), atravessando a Escarpa Devoniana num curso encaixado em fraturas geológicas (MELO et al., 2009). A bacia hidrográfica do Pitangui possui cerca de um terço de seu território situado no PPP, enquanto os dois terços restantes situam-se em um relevo de transição no SPP. O represamento do

rio no município de Ponta Grossa garante o abastecimento de água da cidade, além de participar da geração de energia elétrica através das usinas São Jorge e Pitanguí (UEPG, 2002). A represa, bastante antiga e com problemas recorrentes de eutrofização natural e cultural, tem a margem esquerda urbanizada, com muitas atividades de pesca e esportes náuticos (WIECHETECK et al., 2001; UEPG, 2002).

O principal afluente é o Rio Verde, que deságua em direção Nordeste para o Rio Pitanguí, e tem sua nascente na região rural do município, percorrendo áreas de agricultura e pecuária (Figura 7). No trecho urbano, próximo às suas margens, destaca-se a presença de construções utilizadas para fins residenciais, o matadouro municipal e uma estação de tratamento de esgoto da Companhia de Saneamento do Paraná (SANEPAR).

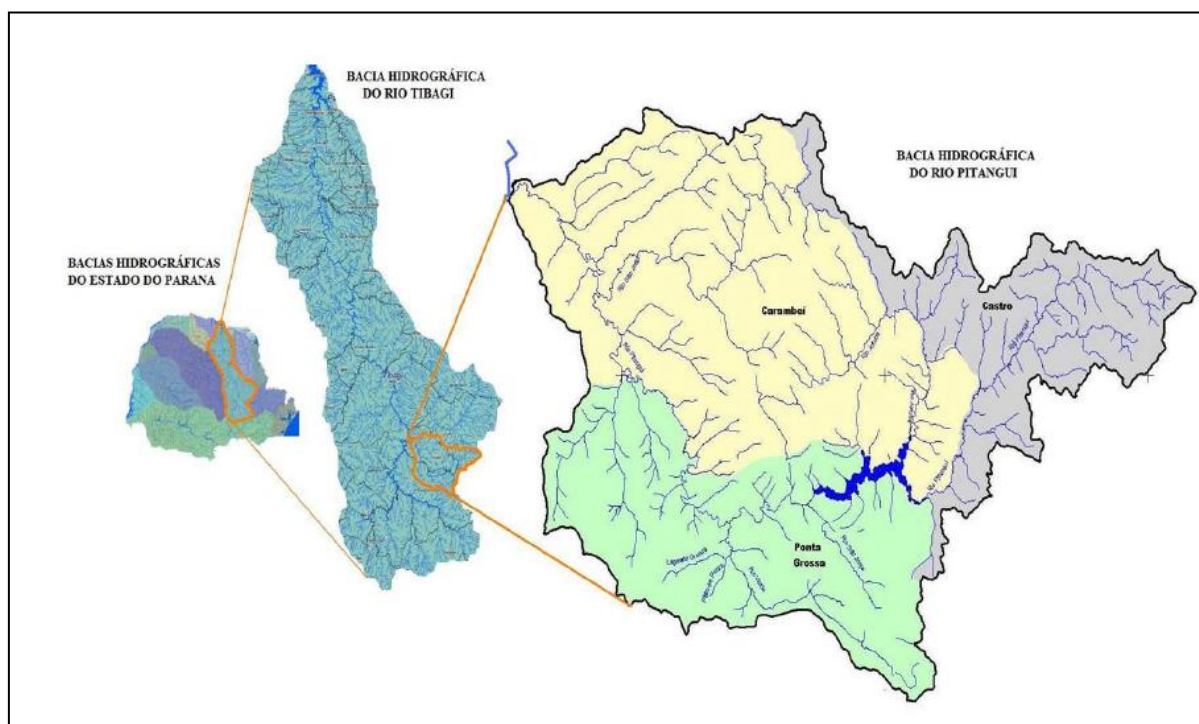


Figura 7 – Localização da bacia hidrográfica do Rio Pitanguí, nos municípios de Ponta Grossa, Castro e Carambeí, PR. Adaptado de Melo et al. (2009).

A bacia hidrográfica do Arroio Pilão de Pedra encontra-se no Segundo Planalto Paranaense, nos Campos Gerais, e possui um perímetro de 14,73 km e abrange uma área de 8,48 km² entre bairros e vilas. O arroio possui uma extensão de 5.929,30m da sua nascente na área central da cidade de Ponta Grossa, na Praça Barão do Rio Branco, até a confluência com o Arroio Lageado Grande nas proximidades da vila Baraúna (BAHR, 2005).

Em sua maior parte, o processo de degradação ambiental na bacia do Arroio Pilão de Pedra, ocorre pelas ocupações irregulares e pelas características socioeconômicas e culturais da população que ocupa essa área do que pelos fatores ambientais e a dinâmica natural. O processo de urbanização nas últimas décadas apresenta uma expansão desordenada na cidade de Ponta Grossa, com ocupações em terrenos íngremes nas cabeceiras dos arroios (LOMBARDI et al. 2013). A cidade apresenta aspectos físico-naturais peculiares no seu sítio urbano, demarcado pela topografia com encostas íngremes e talvegues encaixados. Na área central, onde se situa o alto topográfico, estão localizadas as cabeceiras dos arroios de onde partem 12 bacias hidrográficas em direção aos bairros e vilas, totalizando 170 km de arroios em áreas urbanas. (ROGALSKI, 2011).

Os prejuízos, danos e riscos envolvem além dos ambientais, como também risco direto e danos ao ser humano. A retirada da vegetação e a exposição dos solos, somadas as características geológicas e geomorfológicas, são fatores condicionantes de problemas geoambientais, pois a área se torna mais susceptível a processos erosivos. As famílias que ocupam as margens de rio, neste caso o Arroio Pilão de Pedra, correm risco por deslizamentos e desmoronamentos nas encostas e enchentes nas áreas planas.

A bacia hidrográfica do Arroio Pilão de Pedra abrange cinco bairros, além da região central da cidade, estão os bairros Jardim Carvalho, Neves, Orfãs e Uvaranas. Nas vilas Ana Rita, Vilela e Mariana, são onde estão localizados os assentamentos mais precários, irregulares e de baixa infraestrutura. Como se observa, as famílias ocupam a faixa dos 30 metros da margem do Arroio Pilão de Pedra. Muitas famílias que moram nas margens do Arroio Pilão de Pedra, se encontram nesse local há 30 anos. Lombardi e colaboradores (2013) relatam que o volume da água do arroio era menor e com o passar dos anos aumentou, mas que, aumentaram também os resíduos depositados no arroio pelos próprios moradores. Dentro do arroio existe todo tipo de resíduo e mesmo existindo a coleta de lixo alguns moradores ainda o despejam no local (LOMBARDI et al. 2013).

A escolha de locais de coleta representa, portanto uma forma de avaliar os efeitos da ocupação antropogênica sobre a bacia. O ponto de coleta 1 (Figura 8) numa região densamente povoada, com alto grau de impactação por descarte de esgoto doméstico *in natura* e lixo, tem as seguintes coordenadas geográficas

S25°05'13,5" W50°09'13,5", a uma altitude de 908,7 m, e localiza-se no final da rua Professor Brunning, próximo a um curtume, a 1,8 km da praça Barão do Rio Branco (nascente).



Figura 8 – Foto do ponto de coleta no Arroio Pilão de Pedra – região central de Ponta Grossa.

Fonte: O autor.

Os pontos 2 e 3 localizam-se no Rio Verde (Figura 9), a montante (ponto 2) e a jusante (ponto 3) da ETE Rio Verde.

O Rio Verde é caracterizado como Rio urbano, percorrendo diversos bairros da cidade de Ponta Grossa como Vila Dal'Col, Jardim Lagoa Dourada, Núcleo Rio Verde, entre outros, e recebe os arroios Pilão de Pedra, Lajeado e Lajeado Grande, os quais nascem dentro da área urbana. Como consequência, o Rio Verde encontra-se atualmente bastante impactado, com grande carga de esgoto doméstico sem tratamento, lixo urbano, além da descarga de efluente da ETE Rio Verde. Apresenta-se em grande parte de sua extensão, impróprio para consumo com alterações nas propriedades físico-químicas e elevada incidência de coliformes fecais (GEALH et al., 2010).



Figura 9 – Foto do ponto de coleta no Rio Verde – a montante da ETE

Fonte: O autor.

A ETE Rio Verde, em operação há 23 anos (fundada em 1991), funciona através de processo anaeróbio, sendo o efluente tratado descartado em um canal que deságua no Rio Verde (Figura 10), localizado no bairro Jardim Carvalho, na região norte de Ponta Grossa, a uma distância aproximada de 150 m à montante do ponto de coleta 3 (JULIO, 2010).



Figura 10 – Foto do ponto de coleta no Rio Verde – a jusante da ETE

Fonte: O autor.

A ETE Rio Verde possui estrutura física eficaz para o tratamento do esgoto bruto, sendo que esta estrutura está descrita no fluxograma apresentado na figura 11.



Figura 11 – Foto do ponto de coleta no Rio Verde – a jusante da ETE

Fonte: SANEPAR.

As coordenadas geográficas destes pontos descritos anteriormente, localizados a apenas 500 m da UTFPR, são S 25° 02' 44,3", W 50° 07' 40,1", altitude 852 m. Houve, ainda, dois locais de coleta no interior da ETE Rio Verde, após tratamento primário por gradeamento (Figura 12) – ponto 4 e depois do processo de tratamento do efluente pelo RALF (Figura 13) – ponto 5.



Figura 12 – Foto do ponto de coleta após gradeamento do esgoto.

Fonte: O autor.



Figura 13 – Foto do ponto de coleta no RALF.

Fonte: O autor.

Além disso, os locais de coleta foram selecionados pela proximidade do laboratório, o que limita a área geográfica de abrangência.

3.3 Pré-concentração das Amostras

A pré-concentração de amostras líquidas é empregada em diversos tipos de matrizes, sejam elas aquosas ou oleosas. Existem vários processos de pré-concentração de amostras que podem envolver extração líquido-líquido, EFS, extração por fluido supercrítico e extração por membranas líquidas ou sólidas (QUEIROZ, 2001). Na corrente pesquisa a EFS foi selecionada devido a sua especificidade para com o analito investigado.

A grande capacidade diluente e a complexidade da matriz aquática requerem um processo analítico que busque encontrar o composto em questão em meio a uma imensa quantidade de outros compostos químicos. Assim, as técnicas de

extração permitem a possibilidade de encontrar compostos específicos, em baixas concentrações e em meio a uma solução complexa.

A EFS é uma técnica de pré-concentração usada para reduzir a complexidade cromatográfica e aumentar sua sensibilidade analítica (*LC-GC North America, 2013*). O uso de EFS em matrizes complexas, como em soluções aquáticas, tem componentes semelhantes aos empregados em cromatografia líquida, em especial o uso de fase estacionária composta de sílica C8, C18 e CN. O tipo de agente adsorvente irá determinar o tipo de EFS, seja ela de modo reverso, normal ou de troca iônica (QUEIROZ, 2001).

Para a pré-concentração das amostras aquáticas foram empregados cartuchos de extração em fase sólida C18/18 contendo octadecil 18% e 500mg de sílica, para volume extrator de 6ml, da Marca *Applied Separation*. A técnica buscou extrair (pré-concentrar) o analito (TCS) contido em 1 litro de cada amostra de água, através do sorvente octadecil silano-C18 contido no cartucho. Além disso, os cartuchos foram previamente ativados com o eluente acetonitrila (ACN).

3.4 Determinação de TCS

A técnica utilizada para quantificar TCS em águas naturais foi a CLAE, através de um cromatógrafo Allcrom YL9100 com coluna C-18 (250 mm x 4,6 mm x 5 m), fase móvel constante (eluição isocrática) com acetonitrilal/água (65:35) e detector UV-Vis na faixa espectrofotométrica de 260 e 280nm. Estas análises foram realizadas no laboratório de química instrumental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) no município de Ponta Grossa/PR.

A análise proposta para a determinação de TCS foi baseada e adaptada de acordo com ZHENG et al. (2011), VERMA e XIA (2010) e FEITOSA et al. (2010). Uma solução estoque de 100 mg L⁻¹ de TCS (Merck®) foi preparada em ACN e água (65:35) avaliando-se a linearidade na faixa de concentração de 1 mg L⁻¹ a 5 mg L⁻¹. Os solventes utilizados foram todos de grau HPLC e a água deionizada Milli-Q®. As análises cromatográficas foram realizadas sob um fluxo (vazão) de 1 mL/min, volume de injeção manual de 400 uL, pressão média de 2360 psi (160,59 atm) e temperatura média de 30°C.

Todas as amostras aquáticas selecionadas para análise cromatográfica passaram previamente por processos de filtração, pré-concentração e ajuste de fase móvel. Para tanto, sequencialmente, membranas de 0,45 μm , cartuchos C18, e adição de ACN na amostra foram necessários. Após estes processos a amostra foi ultrassonicada com a finalidade de excluir possíveis bolhas na amostra, garantindo assim a eficiência cromatográfica (Figura 14).

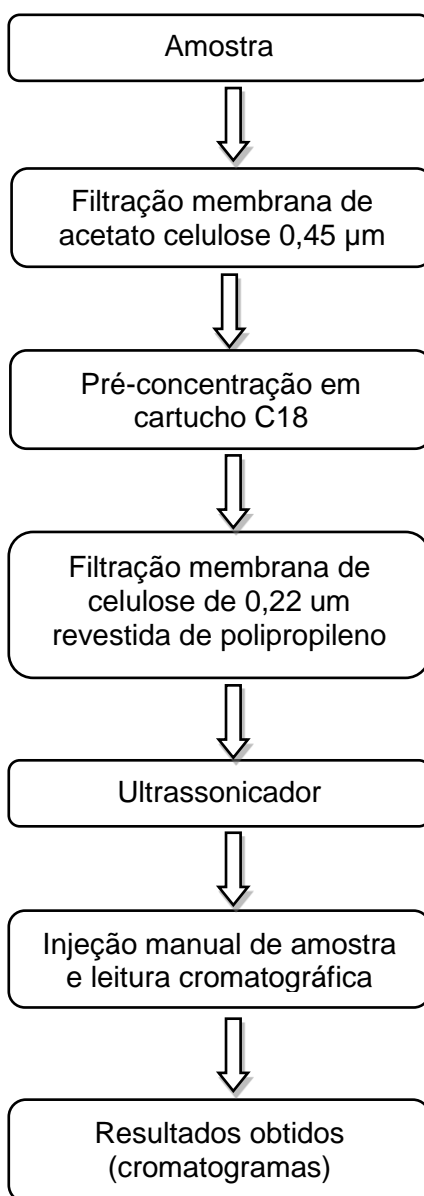


Figura 14 – Resumo esquemático dos procedimentos analíticos empregados na determinação do TCS.

Fonte: O autor.

As análises cromatográficas das amostras reais foram realizadas em triplicata para garantir a precisão analítica através da repetibilidade. Todas estas análises foram realizadas a partir da pré-concentração de 1 L da amostra em cartucho próprio com subsequente extração através da adição de 6 mL de ACN e adição posterior de água mili-Q até a proporção ACN/água 65:35 (adicionado 3,23 mL de água mili-Q em 6 mL de ACN). Esta adição de água mili-Q garantiu a proporção correta de ACN/água utilizada para as leituras cromatográficas. A aplicação do fator de correção (FC) igual a 3,02 para o cartucho extrator, obtido em ensaio de recuperação, foi realizada nos cálculos de concentração.

3.5 Parâmetros Aquáticos

Os seguintes parâmetros físico-químicos foram avaliados nesta pesquisa: sólidos suspensos totais (SST), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), carbono orgânico total (COT), nitrato (NO_3), surfactantes (SUR), fósforo total (FT), pH, oxigênio dissolvido (OD) e temperatura (T), todos determinados nas 10 coletas de amostras obtidas no Rio Verde (a montante e a jusante da ETE) e no Arroio Pilão de Pedra.

Quanto às técnicas utilizadas para as determinações físico-químicas, os parâmetros SST, DQO, DBO, COT, NO_3 e SUR foram determinados em triplicata através de Espectroscopia de Absorção Molecular UV empregando um Espectrofotômetro *Pastel UV - Secomam*. O *Pastel UV – Secoman* foi amplamente utilizado em estudos internacionais, como os estudos desenvolvidos por MARINOVIC et al. (2010), ROIG et al. (2007) e GONZALEZ et al. (2007). A análise consiste na coleta de 1 mL da amostra sem pré-tratamento devidamente homogeneizada para cada repetição, este volume é inserido na célula de quartzo, a qual é introduzida no equipamento. A leitura é realizada simultaneamente para os seis parâmetros mencionados anteriormente em mg L^{-1} . Ressalta-se a importância da homogeneização, da troca de ponteira da micropipeta para cada amostra e da lavagem da célula de quartzo com água destilada e com a própria amostra. A concentração de FT foi determinada por Método Espectrofotométrico (quantificação

em 880 nm), fundamentado em digestão ácida da amostra e posterior tratamento com ácido ascórbico (APHA, 1995).

Os índices de pH, temperatura e OD foram realizados *in situ* com o auxílio do equipamento portátil multiparâmetros HANNA HI-9828.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização dos pontos de amostragem

Uma oferta de água confiável é vital para a saúde. A qualidade das águas superficiais, como verificado nesta pesquisa, vem sendo comprometida a cada dia devido a fatores relacionados: à falta de proteção das áreas em seu entorno; à ocupação inadequada destas áreas por assentamentos humanos; ao aporte de efluentes principalmente domésticos lançados *in natura* ou de sistemas inadequados de tratamentos de esgoto; e à elevada concentração de cargas poluentes e resíduos, tanto de origem urbana como rural (SCHEFFER et al., 2010).

Em países em desenvolvimento como o Brasil, o aporte de esgotos não tratados é uma das principais causas do comprometimento da qualidade da água. O maior impacto causado pelo despejo de esgotos é a diminuição da concentração de oxigênio dissolvido disponível na água (SCHEFFER, 2007, BRAGA et al., 2002), entretanto tais efluentes podem também conter, além de matéria orgânica, substâncias tóxicas como pesticidas, metais, subprodutos orgânicos e inorgânicos de origem industrial, além de organismos patogênicos. Recentemente, a presença de fármacos residuais, principalmente antibióticos, estrogênios e componentes químicos de produtos de higiene pessoal têm sido freqüentemente verificados em águas naturais e em efluentes de ETEs, ocorrência que tem gerado uma crescente preocupação com os possíveis impactos ambientais e com as suas conseqüências ecotoxicológicas.

Assim, neste trabalho, parâmetros físico-químicos foram avaliados buscando rastrear através da qualidade da água, a presença de TCS. A concentração de oxigênio dissolvido (OD) é um dos parâmetros mais importantes para o exame da qualidade da água, pois revela a possibilidade de manutenção de vida dos organismos aquáticos aeróbios, como peixes, por exemplo. O teor de OD indica, sobretudo, as condições de preservação do corpo aquático, visto que a redução na sua concentração tem diversas implicações do ponto de vista ambiental (SCHEFFER e BUSH, 2010).

No caso do Rio Verde, no Ponto 2, a montante da ETE, as concentrações de OD mantiveram-se, em média, em torno de 5 mg L⁻¹ em todas as coletas realizadas (Tabela 1), o que corresponde ao limite mínimo previsto na legislação vigente para

rios de classe II (CONAMA 357, 2005). Entretanto, a jusante da ETE (Ponto 3), e no Arroio Pilão de Pedra (Ponto 1), níveis de OD extremamente críticos foram observados o que caracteriza estes pontos como rios de classe III.

Tabela 1 – Concentração de OD para as amostras obtidas em 10 coletas realizadas nos 4 pontos de amostragem de águas superficiais.

PONTOS DE COLETA	Concentração de OD (mg L ⁻¹)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Arroio Pilão de Pedra	1,7	3,2	2,9	1,9	1,6	2,8	4,2	3,7	2,3	2,4
Rio Verde (a montante)	5,6	5,1	5,9	5,7	6,2	4,9	5,8	6,2	5,9	5,9
Rio Verde (a jusante)	2,2	4,6	3,9	3,6	3,7	3,3	3,8	3,7	3,9	4,2

Fonte: O autor.

Buscou-se então uma associação entre a temperatura e a variação da concentração de OD (Figura 15), mas não foi possível estabelecer uma relação direta, pois embora haja influência sazonal determinada pela variação de temperatura, neste caso, a redução das concentrações do OD está principalmente relacionada ao aumento na concentração de matéria orgânica no corpo aquático.

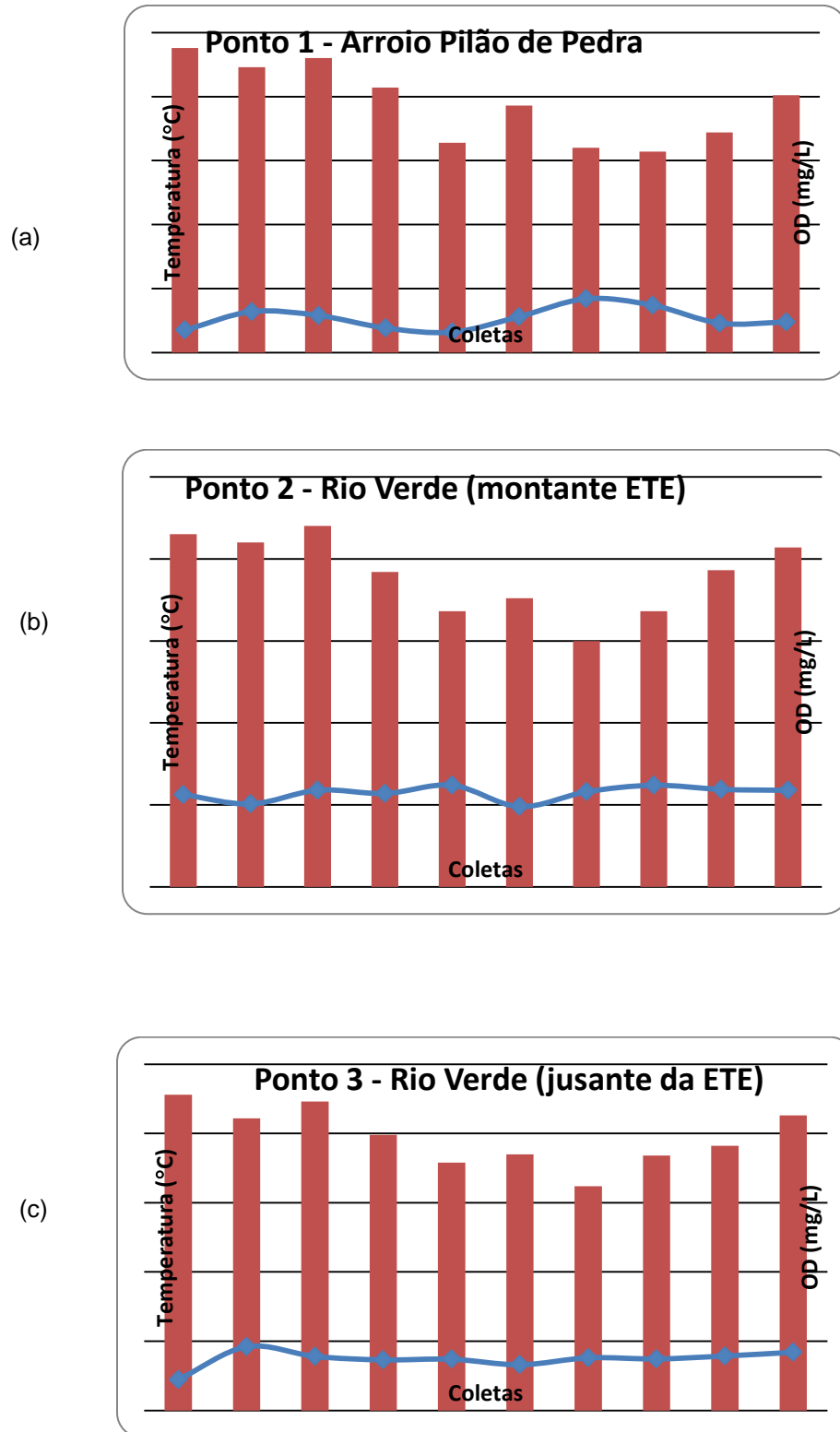


Figura 15 – Relação entre a variação de temperatura e as concentrações de OD nas 10 coletas realizadas nos pontos de amostragem. (a) Arroio Pilão de Pedra; (b) Rio Verde a montante da ETE; (c) Rio Verde a jusante da ETE.

Fonte: O autor.

Se a concentração de OD é baixa, isso pode também indicar que ele está sendo consumido no próprio ambiente aquático através da intensa atividade bacteriana realizada para decompor a matéria orgânica. Pode-se dizer que quanto maior for o volume lançado de esgotos ou efluentes orgânicos em um determinado sistema aquático, maior será o consumo de oxigênio provocado no mesmo, ou seja, quanto maior for a concentração de matéria orgânica, maior será a "demanda de oxigênio".

Segundo SCHEFFER e BUSCH (2010), no que diz respeito ao conteúdo orgânico de águas superficiais, pode-se empregar a DQO como seu indicador, apesar da resolução CONAMA 357/05 não fazer referência a este parâmetro na classificação dos corpos d'água, ficando restrito a apenas algumas legislações ambientais estaduais que estabelecem seus limites.

Também a demanda bioquímica de oxigênio (DBO_5) é um índice relacionado a presença de matéria orgânica. Este índice mostra a quantidade de oxigênio necessária para oxidar a matéria orgânica biodegradável em condições aeróbias, ou seja, a quantidade de O_2 , que será consumido pelos organismos aeróbios ao degradarem a matéria orgânica (MACEDO, 2002).

Neste trabalho, os valores para DBO_5 estiveram acima do limite de 5 mg L^{-1} de O_2 estabelecido pela Resolução CONAMA 357 (2005) para rios classe 2 nos três locais avaliados na maioria das coletas (Figura 16). No caso do Rio Verde, os valores a jusante da ETE, demonstram que a carga orgânica do efluente é elevada e traz prejuízo às condições daquele corpo d'água. Após o aporte do efluente da ETE, a DBO_5 torna-se mais elevada no Rio Verde do que no Arroio Pilão de Pedra, impactado pelo aporte de esgoto não tratado na região central de Ponta Grossa. No caso da 1ª e 4ª coletas, o aporte do efluente chega a elevar em 4 vezes o teor de DBO_5 no Rio Verde.

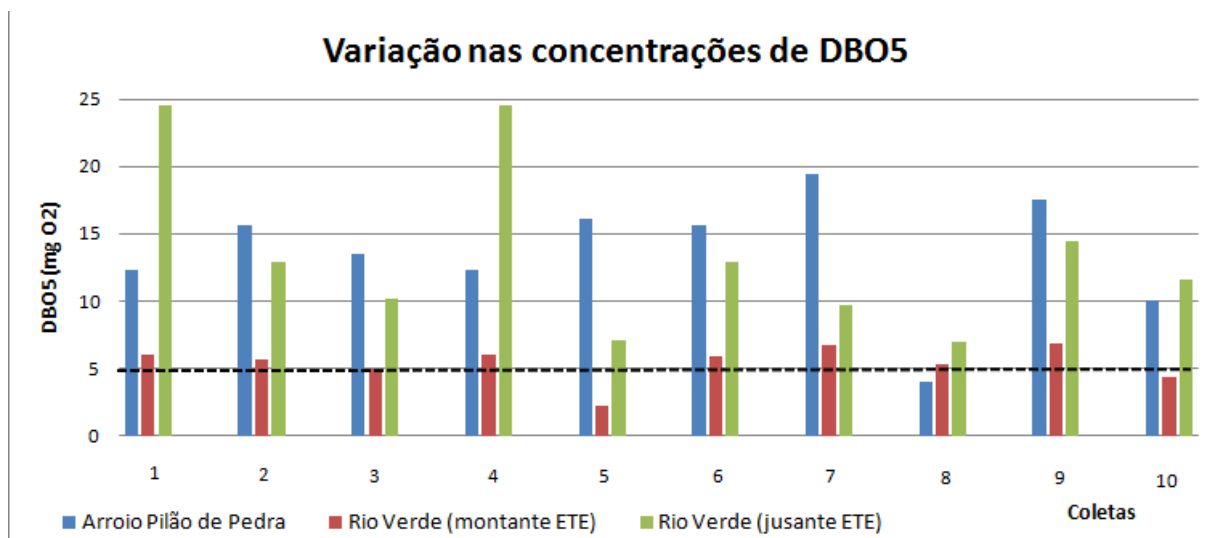


Figura 16 – Variação nas concentrações de DBO₅ nos três pontos de amostragens nas 10 coletas realizadas.

Fonte: O autor.

No caso da DQO, não havendo legislação para águas superficiais, pode-se realizar uma abordagem comparativa entre pontos ou períodos de coleta (Tabela 2).

Tabela 2 – Níveis de DQO nas 10 coletas realizadas nos 4 pontos de amostragem para águas superficiais.

Pontos de coleta	Níveis de DQO (mg L ⁻¹)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Arroio Pilão de Pedra	26,7	40,7	31,3	26,7	36,0	40,7	36,5	14,8	45,5	34,1
Rio Verde (a montante)	15,5	15,7	16,2	15,5	5,7	15,7	16,7	12,8	16,5	12,3
Rio Verde (a jusante)	51,3	31,5	31,3	51,3	16,5	31,7	23,7	16,1	30,5	23,6

Fonte: O autor.

Dessa forma, observa-se DQO mais elevada no Arroio Pilão de Pedra e no Rio Verde a jusante da ETE, por outro lado entre os pontos não há variação considerável nas concentrações no Rio Verde a montante da ETE, ficando o valor médio entre 12 a 17 mg L⁻¹, com exceção da 5ª coleta, realizada no período de inverno (Figura 17).

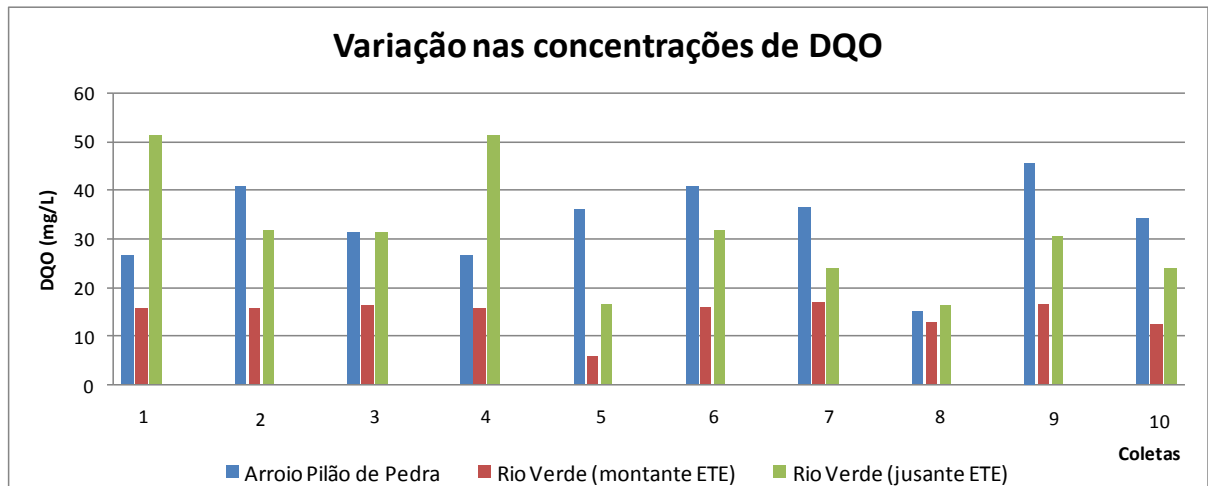


Figura 17 – Variação nas concentrações de DQO (mg L^{-1}) nos três pontos de amostragens nas 10 coletas realizadas.

Fonte: O autor.

Havendo indicações de que os níveis de OD são suprimidos nas reações de oxidação do material orgânico presente nos corpos aquáticos estudados, avaliou-se também as concentrações totais de carbono orgânico (Figura 18). O nível de COT é capaz de informar o conteúdo de toda a substância orgânica presente em águas ou sedimentos. É um importante indicador do nível de carbono associado à matéria orgânica presente em águas superficiais e/ou residuárias. Este parâmetro pode ser associado com a DQO de tal forma que a relação COT/DQO avalia o grau de remoção da matéria orgânica em sistemas de tratamento de água.

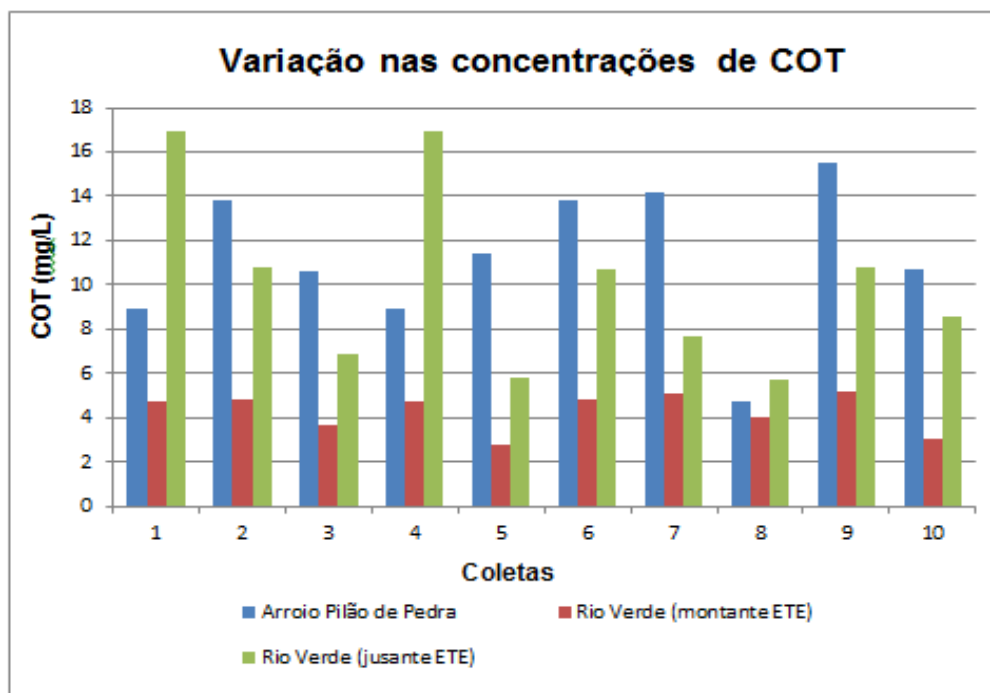


Figura 18 – Variação nas concentrações de COT (mg L^{-1}) nos três pontos de amostragem nas 10 coletas realizadas.

Fonte: O autor.

O Arroio Pilão de Pedra como pode ser observado na Figura 17, tem os mais altos índices de carbono orgânico em 7 das 10 coletas realizadas, com concentrações aproximadas entre $9,0$ a $13,0 \text{ mg L}^{-1}$. Mas o fato a ser destacado trata-se da elevação nas concentrações de COT após o Rio Verde receber o efluente da ETE. Como já discutido anteriormente, as águas do Rio Verde perdem qualidade a jusante da ETE. A concentração de COT tornou-se 3,5 vezes maior após o aporte do efluente nas coletas 1 e 4, mas em todas as amostragens o comportamento se repetiu, sendo COT a jusante sempre maior do que a montante da ETE.

De maneira que, tanto no rio Verde a jusante da ETE, quanto no Arroio Pilão de Pedra é possível estabelecer uma relação entre o aporte de matéria orgânica proveniente de esgoto doméstico ou de efluente da ETE, e as baixas concentrações de OD dissolvido e as taxas de DQO e DBO.

Outra relação importante com a carga orgânica dos rios estudados está na presença de SUR e nas concentrações de FT e NO_3 . Os teores de nutrientes inorgânicos dissolvidos como fósforo e nitrogênio representam o suprimento necessário à produção primária em ecossistemas aquáticos. O aumento da

disponibilidade de nutrientes inorgânicos dissolvidos (principalmente através do lançamento de esgotos domésticos e efluentes industriais) tem como consequência direta, o incremento da biomassa de certos tipos de algas e de macrófitas aquáticas, o que contribui com a degradação da qualidade da água pela redução do OD (LIMA et al., 2006).

A presença de fósforo é caracterizada como um grande indicador da qualidade da água no que se refere à contaminação desencadeada por aumento significativo de algas. A principal origem do fósforo é agrícola, através das plantações próximas aos corpos d'água (GLEBER, 2012).

O fósforo é um nutriente essencial para a manutenção da vida, fazendo parte de diversas moléculas dos organismos vivos (ATP, ácidos nucleicos, fosfolípidios). Este elemento é, também, considerado um nutriente limitante para a produção primária das células fitoplanctônicas (células de organismos vegetais que compõem a comunidade flutuante na massa de água) dos sistemas aquáticos costeiros e tem sido considerado como principal responsável pela eutrofização artificial em águas continentais (SCHEFFER e BUSCH, 2010, FROELICH et al., 1982; BERNER et al., 1994; ESTEVES, 1998).

Segundo a resolução CONAMA 357 (2005) a concentração de fósforo total para amostras de rio classe 2, considerando especificamente o tipo de ambiente e o tempo de residência nas águas do Rio Verde e do Arroio Pilão de Pedra, pode ser de até $0,050 \text{ mg L}^{-1}$.

As concentrações de fósforo total para as amostras encontram-se acima do limite aceitável para os 3 pontos de amostragem (Figura 19). A grande carga poluidora proveniente de esgoto doméstico da cidade de Ponta Grossa está relacionada às altas concentrações de fósforo.

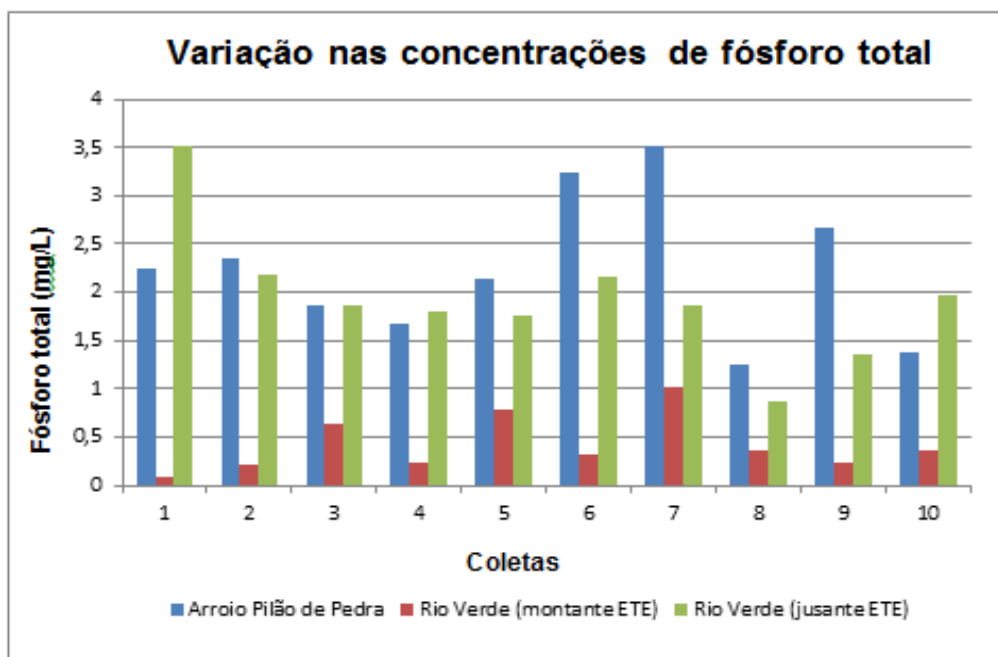


Figura 19 – Variação nas concentrações de fósforo total (mg L⁻¹) nos três pontos de amostragens nas 10 coletas realizadas.

Fonte: O autor.

O fósforo de origem antrópica encontra-se principalmente nas formas inorgânicas, devido ao uso indiscriminado de fertilizantes químicos nos solos, como o diidrogenofosfato de cálcio $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, altamente solúvel em água, ou pelas emissões de efluentes urbanos, que contêm polifosfatos dos produtos de limpeza, ortofosfato e fosfatos inorgânicos condensados dos esgotamentos sanitários não tratados (OSORIO e OLIVEIRA, 2001).

Assim como o fósforo, concentrações elevadas de nitrogênio também podem contribuir para a produção primária e acelerar, indesejavelmente, em determinadas condições, o processo de eutrofização de águas continentais.

O nitrogênio pode ser encontrado nas águas nas formas de nitrogênio orgânico, amoniacal, nitrito e NO_3 . As duas primeiras são formas reduzidas e as duas últimas, formas oxidadas. No caso das amostras coletadas no Rio Verde, as concentrações de nitrato (tabela 3) mantiveram-se dentro da faixa estabelecida pela legislação vigente, com valores inferiores a $10,0 \text{ mg L}^{-1}$. Em águas superficiais o nitrogênio amoniacal é um indicador mais específico do aporte de esgotos sanitários, pois é derivado da hidrólise sofrida pela uréia na água (CETESB, 2012).

Tabela 3 – Valores médios de NO₃ nas 10 coletas realizadas nos 4 pontos de amostragem para águas superficiais.

Pontos de coleta	Níveis de NO ₃ (mg L ⁻¹)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Arroio Pilão de Pedra	0,5	1,1	0,6	0,5	0,9	1,1	2,6	2,7	1,5	1,2
Rio Verde (a montante)	0,9	0,7	1,7	<0,5	1,1	0,7	1,4	2,3	0,8	0,8
Rio Verde (a jusante)	0,5	0,2	1,2	0,5	0,8	<0,5	1,1	1,8	0,9	0,4

Fonte: O autor.

Os SUR são compostos químicos que possuem grande utilidade na indústria de diversos setores. Eles são moléculas anfipáticas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma porção hidrofílica. A presença destes compostos no ambiente aquático tende a gerar filmes moleculares reduzindo assim a tensão superficial (NITSCHKE, 2002).

Sabões e detergentes são surfactantes, ou seja, possibilitam que substâncias não polares, como óleo e graxa se emulsifiquem, e sejam removidos com água que é um solvente polar. Em 1985, o Brasil aprovou a Lei nº 7.365 (BRASIL, 2008), que regulamentou a produção de detergentes que não fossem biodegradáveis. Os detergentes contêm aditivos: polifosfatos, agentes trocadores de íons, carbonato de sódio, silicato de sódio para evitar a corrosão, amido, antiespumantes, espessantes, agentes de suspensão, carboximetilcelulose, clareadores, branqueadores óticos, amaciantes de tecidos, enzimas, fragrâncias, corantes e diluentes (CETESB, 2012).

Além disso, os detergentes podem exercer efeitos tóxicos sobre os ecossistemas aquáticos (sabe-se que exercem efeito tóxico sobre o zooplâncton, predador natural das algas). Os testes de toxicidade têm sido mais bem desenvolvidos e há certa tendência em passarem a ser mais utilizados nos programas de controle de poluição (CETESB, 2014).

Assim, a presença de concentrações elevadas de FT e SUR, encontradas neste trabalho, aponta para presença de detergentes cuja principal origem é o esgoto doméstico.

Alguns dos parâmetros aquáticos apresentaram resultados compatíveis com a legislação vigente como o pH que se manteve em torno de 7,1(±0,09) para o Arroio Pilão de Pedra; 6,9 (±0,07) para o Rio Verde (montante da ETE) e 7,0 (±0,03) a jusante da ETE, e que segundo a legislação CONAMA 357 (2005), deve estar entre

6,0 e 9,0. Também a concentração de sólidos suspensos totais (SST), que se manteve abaixo de 50 mg L^{-1} na maioria das coletas em todos os pontos, com exceção da 5ª coleta para o Arroio Pilão de Pedra, onde foram verificadas concentrações de 65 mg L^{-1} para SST, e 1ª e 4ª coletas a montante da ETE no Rio Verde. A Resolução CONAMA 357 (2005) traz indicações não exatamente para SST, mas para sólidos dissolvidos totais (SDT), sendo aceitas concentrações de até 500 mg L^{-1} , o que nos permite afirmar que a quantidade encontrada é relativamente baixa.

Entretanto, a maioria dos parâmetros aquáticos determinados neste trabalho (Anexo I), permitiu diferenciar as condições locais de impactação. O ponto menos impactado é aquele localizado no Rio Verde a montante da ETE, é claro, que comparativamente aos outros, pois também têm fortes indicativos de perda da qualidade hídrica.

Assim, através desta abordagem podemos configurar o cenário onde se buscou a presença de TCS. Principalmente os altos índices de fósforo e de matéria orgânica, que resultaram em níveis extremamente baixos de OD, nos dão indicações claras da presença de esgoto doméstico, e aumentando assim a possibilidade da presença de TCS. No caso do efluente descartado no Rio Verde, observou-se que contribuiu com alta carga orgânica naquele rio, praticamente tendo a ETE o papel de pré-concentrar o esgoto recebido para tratamento, onde pode se supor também, TCS na sua composição. Assim, é possível sugerir que se os níveis de OD são baixos e de matéria orgânica alta, há presença esgoto e, portanto, de TCS considerando o seu amplo uso.

4.2 Determinação do triclosan

Para a determinação do TCS nas amostras aquáticas utilizou-se CLAE associada à espectroscopia de absorção molecular na região ultravioleta (280 nm). Foi realizada também uma criteriosa avaliação das condições experimentais: fase móvel, vazão, temperatura e volume de injeção. Todas as análises cromatográficas foram realizadas em triplicata.

4.2.1 Otimização da metodologia para análise por CLAE

A metodologia analítica empregada nesta pesquisa está baseada em literatura especializada (SILVA, 2010; SILVA e COLLINS, 2011) sobre o emprego de CLAE na determinação de poluentes emergentes em níveis traço para amostras naturais.

Para garantir a eficiência da metodologia analítica foi necessário que todo processo de validação do sistema analítico fosse realizado. Os procedimentos de validação analítica devem demonstrar que o método utilizado, para determinação qualitativa e quantitativa de determinado analito, é apropriado para a finalidade a qual foi selecionado (BRASIL, 2003).

4.2.1.1 Seleção da fase móvel (FM) empregada na CLAE

A FM da CLAE deve ser caracterizada por um solvente que respeite diversas características conferidas por esse método analítico. A principal característica é que a fase móvel dissolva a amostra sem qualquer interação química entre ambas. Esta fase deve ter alto grau de pureza ou ser de fácil purificação, para que a análise alcance alta sensibilidade, sem interferência de impurezas na detecção do analito. A FM deve ser compatível com o detector empregado e, também possuir polaridade adequada para permitir uma separação conveniente dos componentes da amostra (VIEIRA et al., 1998). Previamente, três solventes foram selecionados para análise: água, metanol (MtOH) e acetonitrila (ACN).

Após adaptação de revisão literária sobre a metodologia seguida na presente pesquisa (ZHENG et al. 2011, VERMA e XIA 2010 e FEITOSA et al. 2010), foi realizada a seleção do solvente buscando maior sensibilidade analítica, considerando equipamento, colunas e detector utilizados. Os solventes avaliados foram os citados anteriormente, porém empregados em combinações distintas (Figuras 20 e 21).

Outros parâmetros como colunas, temperatura, vazão e detectores, também influenciam na seleção do melhor tempo de retenção. Desta forma, buscou-se uma correlação eficiente entre todas estas variáveis envolvidas.

Primeiramente, uma coluna C-18 (250 mm X 4,6 mm X 5 m) foi selecionada (devido ao seu alto grau de afinidade pelo analito TCS) e acoplada ao cromatógrafo. A temperatura foi programada para 30 °C e a vazão em 1 mL/min, conforme a literatura. Em seguida, duas combinações de solventes foram avaliadas: MtOH:água e ACN: água. As combinações foram utilizadas com base nos estudos de VERMA e XIA (2010) e FEITOSA et al. (2010), os quais utilizaram a combinação ACN: água na proporção 70:30 e comprimento de onda do detector em 260 e 280 nm, respectivamente. Já ZHENG et al. (2011), utilizou a combinação MtOH: água a 80:20, com comprimento de onda do detector em 280 nm. As análises foram realizadas com base nas características citadas anteriormente e em detector a 280 nm. Após diversas análises observou-se, como descrito nos cromatogramas a seguir, que os tempos de retenção obtidos foram de 18,6 min para a combinação MtOH e água (80:20) (Figura 20) e de 10,21 min para ACN e água (65:35) (Figura 21).

Segundo SKOOG et al. (2002), o tempo de retenção é definido como o tempo gasto desde o ato de injeção até sua detecção por determinado componente do sistema cromatográfico. Desta forma, a combinação ACN: água a 65:35 apresentou melhor tempo de retenção e foi a escolhida para as análises por CLAE.

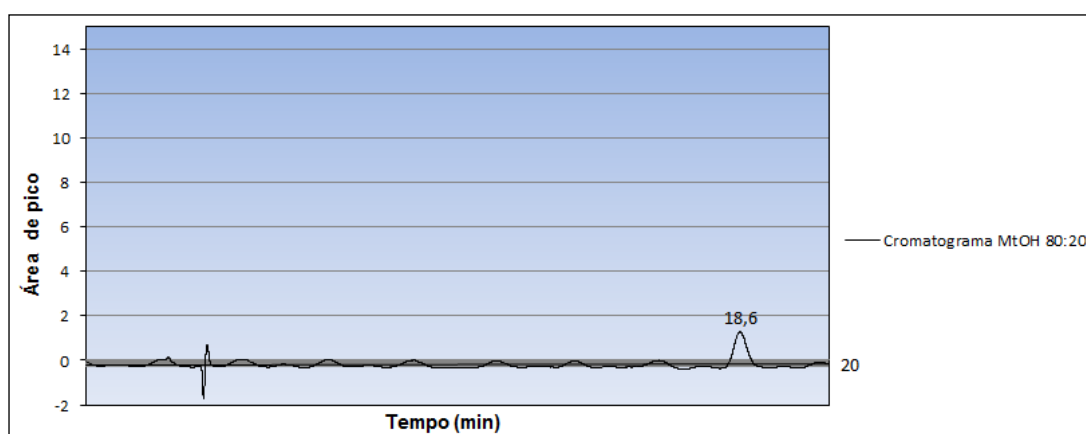


Figura 20 – Cromatograma indicando tempo de retenção do TCS (1 mg L^{-1}) para a combinação MtOH/ água a 80:20 em 280 nm.

Fonte: O autor.

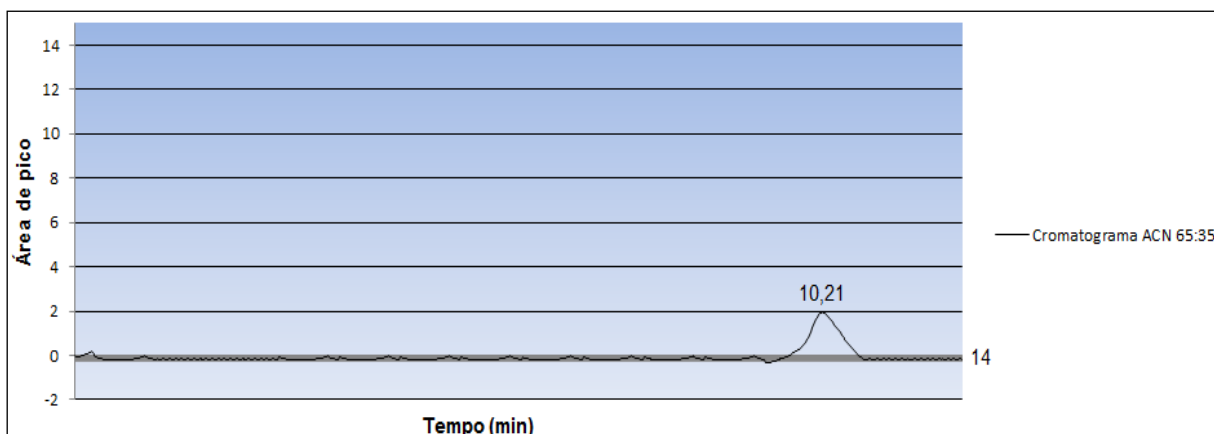


Figura 21 – Cromatograma indicando tempo de retenção do TCS (1 mg L^{-1}) para a combinação ACN/ água a 65:35 em 280 nm.

Fonte: O autor.

4.2.1.2 Pré-concentração das amostras

Para pré-concentrar as amostras em relação ao analito TCS utilizou-se a técnica de EFS. Para esta etapa 1 L de cada amostra aquática foi filtrada em cartuchos C18/18 Applied Separations sob pressão negativa e posteriormente eluída em 6 mL de ACN. Desta maneira o analito contido em 1 litro da amostra de água e retido no cartucho passa a estar concentrado em um volume de apenas 6 mL, consistindo no resultado da extração em fase sólida.

O funcionamento do cartucho tem por base a retenção primária de forma intensa de compostos não polares em matrizes como água e fluidos biológicos aquosos (APPLIED SEPARATIONS, 2012). Assim, os grupos funcionais não polares do TCS serão ligados a fase sólida através de ligações de Van der Waals e posteriormente eluídos em 6 mL de ACN.

Deve-se destacar que anteriormente à pré-concentração foi necessária à filtração da amostra real em três etapas: i) papel filtro qualitativo; ii) membrana de acetato de celulose $0,45 \mu\text{m}$; iii) membrana de celulose de $0,22 \mu\text{m}$ revestida de polipropileno. Após as etapas de filtração a amostra passou por processo de ultrassonicação para evitar a presença de bolhas.

Estudos para validação da eficiência do cartucho C18/18, utilizado na pré-concentração das amostras em águas superficiais no presente trabalho, foram realizados através de ensaios de recuperação de solução padrão de TCS, em triplicata.

Uma alíquota de 40 mL da solução padrão de TCS a 100 mg L^{-1} foi pré-concentrada no cartucho sob pressão reduzida. Na sequência, eluiu-se o TCS retido com 6 mL de ACN, de acordo com recomendações do fabricante. Este volume de 6 mL foi transferido para balão volumétrico de 1000 mL, e completado com solvente ACN: água 65:35. Desta forma, a concentração final teórica obtida após pré-concentração foi de 4 mg L^{-1} . Ensaios cromatográficos subsequentes foram realizados em triplicata para validação. (tabela 4).

Tabela 4 – Ensaios de validação do cartucho C18/18.

	Injeção 1	Injeção 2	Injeção 3	Média	Variância	Desvio padrão	Recuperação em %	Fator de correção
Área de Pico	0,44	0,45	0,46	0,45	1,1042 E-04	0,01		
Concentração real em mg L^{-1}	1,31	1,33	1,33	1,32			33	3,0

Fonte: O autor

4.2.1.3 Taxa de recuperação na CLAE

De acordo com o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) (2010), a recuperação de determinado analito pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com concentrações conhecidas do mesmo. Estas podem ser fortificadas com o analito em pelo menos três diferentes concentrações: baixa, média e alta, da faixa de uso do método.

Amostras reais foram submetidas ao teste de adição do padrão (SKOOG et al., 2002). Estas foram analisadas com e sem fortificação por CLAE nas seguintes condições: branco e em concentrações baixa, média e alta.

A amostra real selecionada para fortificação apresentava uma concentração inicial de $1,3 \text{ mg L}^{-1}$ de TCS e foi fortificada em três níveis: baixo ($1,6 \text{ mg L}^{-1}$), médio ($3,1 \text{ mg L}^{-1}$) e alto ($6,2 \text{ mg L}^{-1}$). Baseado nestes dados foi possível verificar o índice de fortificação nas análises cromatográficas. A tabela 5 traz os resultados obtidos no

processo de fortificação, bem como o índice de recuperação (IR) apresentado em cada um dos níveis de fortificação.

Tabela 5 – Ensaio de recuperação de TCS em amostras de águas superficiais.

	Branco	Concentração baixa	IR %	Concentração média	IR %	Concentração alta	IR %
Area de pico obtida	0,36	1,7	-	1,9	-	3,2	-
C (mg L ⁻¹) fortificações	-	1,6	-	3,1	-	6,2	-
C (mg L ⁻¹) obtida	1,10	3,1	-	5,1	-	8,5	-
C (mg L ⁻¹) esperada	-	2,7	116,5	4,2	121,9	7,3	115,1

Fonte: O autor

4.2.1.4 Seleção do melhor comprimento de onda com detector UV/Vis

Na etapa de implantação da metodologia e validação analítica foi também realizada a seleção do comprimento de onda ideal para a quantificação do TCS, ou seja, a seleção da região do espectro eletromagnético no qual houve o maior coeficiente de absorvidade molar para o analito.

Segundo VERMA e XIA (2010), a absorção máxima de TCS em eluição isocrática, empregando-se a combinação ACN/ água 65:35, foi alcançada em 260 nm e de acordo com FEITOSA et al. (2010), em 280 nm, através de detector UV/Vis.

Baseado nestes dados encontrados na literatura e nas condições experimentais do presente trabalho, foi realizada uma varredura para solução com concentração de 1 mg L⁻¹, evidenciando-se que em 280 nm (Figura 22) a área de pico detectada (1,2) foi maior do que em 260 nm (0,9), garantindo assim maior sensibilidade analítica para o método.

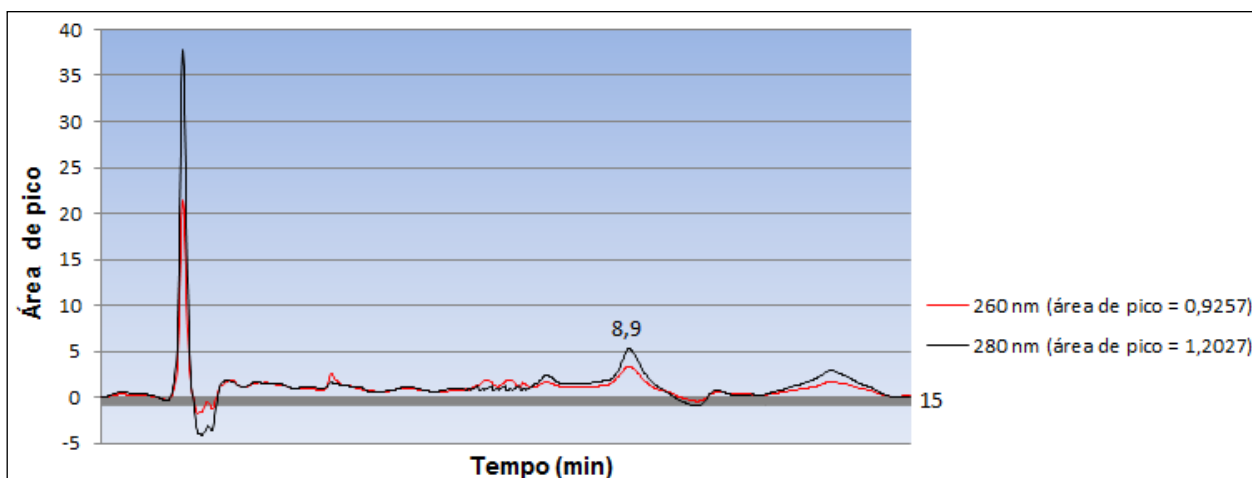


Figura 22 – Cromatograma obtido na análise do TCS comprimentos de onda de 260 e 280 nm.

Fonte: O autor.

4.2.2 Processo de validação analítica

O desenvolvimento de um novo método analítico, a adaptação ou aplicação de um método conhecido, envolve um processo de avaliação que ateste a sua eficiência em usos em rotina. Tal procedimento é denominado validação (RIBANI et al., 2004; LEITE, 2002). O INMETRO (BRASIL, 2010) define validação como a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou uso específico foram atendidos. Segundo ANDRADE et al. (2009), esta é a definição que consta da NBR ISO 9000. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2003) considera que "a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados".

Na validação de métodos cromatográficos, os parâmetros analíticos normalmente determinados são: seletividade; linearidade; precisão; exatidão; faixa linear; robustez; limite de detecção e limite de quantificação (RIBANI, 2004). Estes termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico, características de desempenho e, algumas vezes, como figuras analíticas de mérito (ANDRADE et al., 2009).

No presente trabalho, as figuras de mérito selecionadas foram as seguintes:

- a) Linearidade e faixa de aplicação;
- b) Exatidão;
- c) Precisão;
- d) Especificidade e seletividade;
- e) Limite de detecção (sensibilidade).

4.2.2.1 Linearidade e faixa de aplicação

De acordo com BRASIL (2010), a linearidade de um método pode ser observada pelo gráfico dos resultados dos ensaios em função da concentração do analito e verificada a partir da equação da regressão linear, determinada pelo método dos mínimos quadrados. Para tal, deve ser verificada a ausência de valores discrepantes para cada nível de concentração e a homocedasticidade (homogeneidade da variância dos resíduos) dos dados, antes de fazer a regressão linear. Podemos também definir a linearidade como a capacidade que uma metodologia analítica possui em demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (BRASIL, 2003).

A linearidade foi determinada segundo ANVISA (BRASIL, 2003), através da análise em triplicata de 5 concentrações distintas (1 mg L^{-1} , 2 mg L^{-1} , 3 mg L^{-1} , 4 mg L^{-1} e 5 mg L^{-1}), obtendo-se um coeficiente de correlação médio (R^2) de três curvas analíticas de 0,99847 e alcance de 80% a 120% da concentração teórica do teste. Os valores experimentais obtidos para a construção da curva analítica através da média da análise em triplicata de cada um dos 5 pontos escolhidos estão demonstrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores experimentais de TCS analisados através de CLAE para a construção da curva analítica.

Concentração teórica em mg L ⁻¹	Absorbância	Concentração prática em mg L ⁻¹
1 mg L ⁻¹	0,37	0,98
	0,35	0,93
	0,33	0,90
	MÉDIA: 0,3	MÉDIA: 0,9
2 mg L ⁻¹	0,68	1,82
	0,74	1,97
	0,69	1,85
	MÉDIA: 0,70	MÉDIA: 1,9
3 mg L ⁻¹	1,12	2,99
	1,1	2,96
	0,98	2,64
	MÉDIA: 1,1	MÉDIA: 2,9
4 mg L ⁻¹	1,48	3,96
	1,49	3,99
	1,45	3,8799
	MÉDIA: 1,5	MÉDIA: 3,9
5 mg L ⁻¹	1,99	5,35
	1,79	4,81
	2,01	5,40
	MÉDIA: 1,9	MÉDIA: 5,2

Fonte: O autor.

Após o cálculo da média das triplicatas de cada ponto obtido experimentalmente, a curva analítica foi construída com o auxílio dos softwares Origin 8.0[®] e Excel 2010[®], a qual está demonstrada na figura 23. O valor do R² obtido está de acordo com protocolo pré-estabelecido pela ANVISA (BRASIL, 2003) que deve ser de no mínimo 0,99.

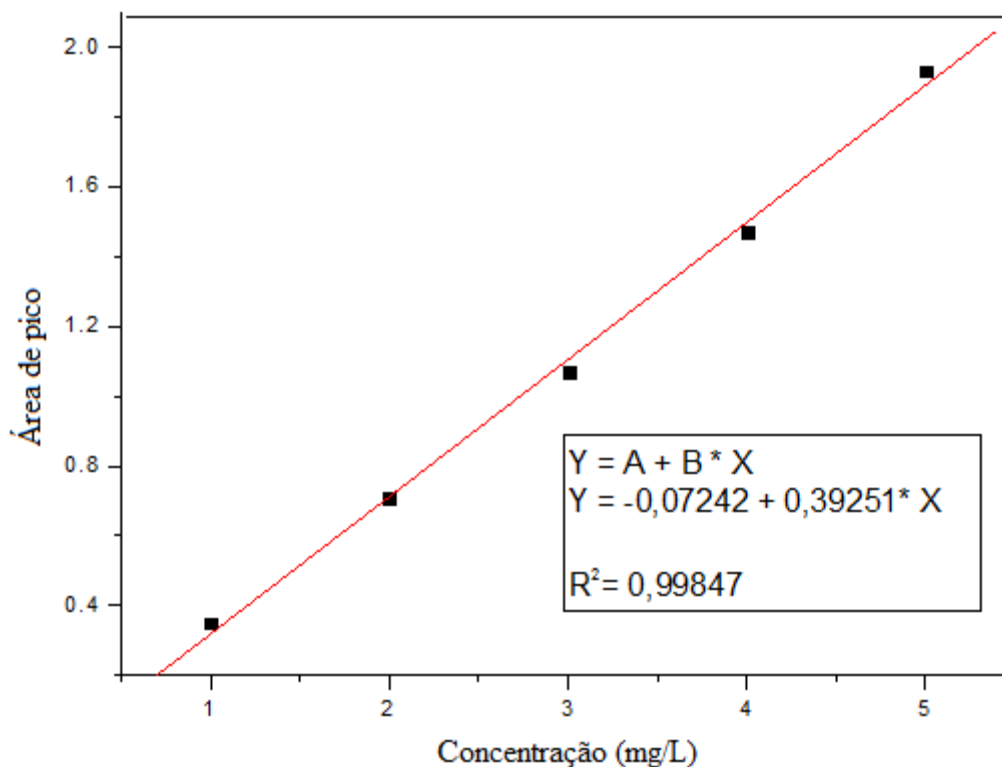


Figura 23 – Curva analítica para o TCS em comprimento de onda de 280 nm.

Fonte: O autor.

4.2.2.2 Exatidão

Segundo ANVISA (BRASIL, 2003), a exatidão de um método analítico indica a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. Desta forma, a exatidão do método foi estabelecida após o alcance da linearidade do mesmo.

A exatidão pode ser alcançada por meio do cálculo do erro relativo (ER), expresso em porcentagem (INMETRO, 2010). De acordo com as normas da Resolução n° 899 de maio de 2003, a exatidão pode ser calculada como a diferença percentual entre as médias e o valor verdadeiro aceito, acrescida dos intervalos de confiança, de acordo com a equação 1, a seguir:

$$\text{EXATIDÃO} = \frac{\text{Concentração Média Experimental}}{\text{Concentração Teórica (Padrão Referência)}} \times 100 \quad (1)$$

Assim, para o cálculo de exatidão utilizou-se um padrão de referência, onde um intervalo linear foi estabelecido através da determinação de 3 concentrações, baixa (1 mg L^{-1}), média (3 mg L^{-1}) e alta (5 mg L^{-1}), todas analisadas em réplicas (Tabela 7).

Tabela 7 – Ensaio analítico para avaliação da exatidão do método.

Concentração	Concentração Teórica (mg L^{-1})	Concentração 1ª injeção	Concentração 2ª injeção	Concentração média experimental	Exatidão (%)
Baixa	1	0,91	0,85	0,88	88,0
Média	3	2,81	2,91	2,86	95,3
Alta	5	4,43	4,37	4,4	88,0

Fonte: O autor.

A exatidão do método foi estabelecida através da relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente. Segundo a ANVISA (BRASIL, 2003), todos os valores obtidos encontram-se dentro do estabelecido pela legislação, a qual estabelece valores entre 80 e 120% de alcance do teor do analito em pesquisa.

4.2.2.3 Precisão

De acordo com ANVISA (BRASIL, 2003), podemos definir precisão como a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Desta forma, podemos alcançá-la em três níveis:

- a) Repetibilidade (precisão intra-corrída);
- b) Precisão intermediária (precisão inter-corrídas);
- c) Reprodutibilidade (precisão interlaboratorial).

No presente trabalho a repetibilidade e a reprodutibilidade foram avaliadas, porém a precisão intermediária não foi obtida devido a instrumentação única dos operadores nos respectivos laboratórios participantes da pesquisa.

Segundo SKOOG et al (2002), a precisão dos dados analíticos é o grau de concordância mútua entre os dados que foram obtidos do mesmo modo. Para tanto, a avaliação da precisão pode ser expressa como desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%). Para o DPR emprega-se a equação 2, a seguir (BRASIL, 2003):

$$\text{DESVIO PADRÃO RELATIVO (DPR)} = \frac{\text{Desvio Padrão (DP)}}{\text{Concentração Média Determinada (CMD)}} \times 100 \quad (2)$$

Para este cálculo é necessário obter previamente o DP e a CMD.

O desvio padrão (DP) é uma medida de dispersão usada com a média. Mede a variabilidade dos valores à volta da média. Para ANVISA (BRASIL, 2003), o valor mínimo do DP é 0 e o máximo não pode exceder 5%, indicando que não há variabilidade, ou seja, que todos os valores são iguais à média.

Para (POCINHO, 2009), o DP pode ser definido como a raiz quadrada da variância (VR), e a variância é caracterizada pela média dos quadrados dos desvios (S^2) de acordo com as equações 3 e 4, a seguir:

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \quad (3)$$

$$\text{DP} = \sqrt{S^2} \quad (4)$$

Desta forma, para os ensaios de repetibilidade avaliaram-se as triplicatas das áreas do pico para a faixa de concentrações do TCS na curva analítica, em 280 nm, obtendo-se os seguintes valores para o seguinte DP e para a VR (Tabela 8):

Tabela 8 – Desvio Padrão para os ensaios de repetibilidade - faixa de concentrações de 1 a 5 mg L⁻¹ de TCS.

Concentração (mg L ⁻¹)	Área do Pico Replicata 1	Área do Pico Replicata 2	Área do Pico Replicata 3	Média	Variância	Desvio Padrão
1	0,37	0,35	0,33	0,35	2,62E-04	0,02
2	0,68	0,74	0,69	0,70	9,32E-04	0,03
3	1,12	1,10	0,98	1,07	5,30E-03	0,07
4	1,48	1,49	1,45	1,47	4,90E-04	0,02
5	1,99	1,79	2,01	1,93	1,43E-02	0,12

Fonte: O autor.

O DP é uma medida que indica a dispersão dos dados dentro da amostra, isto é, o quanto os resultados diferem da média. Por isso que ele sempre é apresentado junto da média. Um não faz sentido sem o outro. Quanto menor o DP, mais homogêneo é o resultado.

Uma vez obtido o DP, pode-se então calcular DPR que evidencia a precisão do método. Este valor consiste na razão do DP pela concentração média determinada (CMD) expressa em %.

No que diz respeito à precisão intra-corrída, ou seja, a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla, o método apresentou boa precisão (Tabela 9), com exceção para a concentração de 3 e 5 mg L⁻¹. Porém, quando avaliamos a média do DPR de todas as medidas obtemos um resultado igual a 4,7%, podendo considerar o método com boa precisão uma vez que de acordo com ANVISA (BRASIL, 2003) o valor não deve ser superior a 5%.

Tabela 9 – Valores de desvio padrão relativo (DPR)

Concentração (mg L ⁻¹)	DPR (%)
1	4,6
2	4,4
3	6,8
4	1,5
5	6,2

Fonte: O autor.

Portanto, o DPR para a metodologia implantada, conforme as condições experimentais descritas anteriormente é igual a 4,7%, podendo considerar o método com boa precisão uma vez que de acordo com ANVISA (BRASIL, 2003) o valor não deve ser superior a 5%.

A precisão interlaboratorial também foi avaliada através de análises realizadas no Laboratório Ambiental do SESI/SENAI em Curitiba. Naquele laboratório empregou-se um equipamento HPLC Merck-Hitachi modelo LaCrhom com detector de UV, eluição isocrática (ACN/água 65:35) em 280nm, tempo de retenção de 4,37 min e volume de Injeção de 20uL. As soluções de TCS avaliadas, denominadas amostras 1, 2 e 3, foram analisadas previamente no laboratório da UTFPR e possuíam as concentrações de 1,08 mg L⁻¹, 0,55 mg L⁻¹ e 0,66 L⁻¹ mg, respectivamente.

Tabela 10 – Ensaio de reprodutibilidade interlaboratoriais

Amostras	Concentração (mg L ⁻¹) Laboratório UTFPR				Concentração (mg L ⁻¹) Laboratório SESI/SENAI				Média das análises	
	Replicata 1	Replicata 2	Média	DP	Replicata 1	Replicata 2	Média	DP		DPM
1	1,08	1,06	1,07	0,10	1,37	1,39	1,38	0,01	1,23	0,06
2	0,55	0,59	0,57	0,01	1,25	1,27	1,26	0,01	0,91	0,01
3	0,66	0,62	0,64	0,01	1,42	1,49	1,46	0,12	1,05	0,06

Fonte: O autor.

Calculado o DPM do ensaio inter-laboratorial, a equação 2 foi aplicada e os resultados referentes ao DPR obtidos para os ensaios de reprodutibilidade estão descritos na tabela 11. Estes resultados demonstram que a precisão inter-laboratorial apresentou bons resultados para as amostras 1 e 2, com exceção da amostra 3 que apresentou resultado acima de 5%. Por outro lado, quando avaliamos a média do DPR das 3 medidas obtemos um resultado igual a 3,93%, o que expressa um bom resultado ANVISA (BRASIL, 2003).

Tabela 11 – Valores de desvio padrão relativo (DPR) para o ensaio de reprodutibilidade.

Amostras	DPR (%)
1	4,7
2	1,0
3	6,1

Fonte: O autor

Baseado nos ensaios de precisão é possível afirmar que o método analítico empregado apresentou bons resultados para análise do TCS.

4.2.2.4 Especificidade e seletividade

Segundo ANVISA (BRASIL, 2003), a especificidade e a seletividade são definidas como a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto na presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação (metabólitos) e componentes da matriz. Desta forma, precisamos lançar mão de uma análise qualitativa (identificação) e quantitativa (concentração).

Para a análise qualitativa necessitamos identificar no método sua capacidade em selecionar o analito em questão na presença de compostos estruturalmente semelhantes. Esta análise deve ser obtida através de comparação entre resultados positivos (amostras que possuam o fármaco) e resultados negativos (amostras sem a presença do fármaco, mas com composto presente estruturalmente semelhante a ele).

No presente trabalho, apenas a influência dos componentes da matriz foi avaliada, pois é a complexidade da matriz ambiental o principal fator que pode interferir na análise. Desta forma, fez-se uma comparação da análise cromatográfica do padrão, da amostra de água superficial sem adição de padrão e da amostra de água superficial com adição de padrão (Figura 24). Assim, verificou-se que nos cromatogramas apresentados não há interferência da matriz no pico do TCS.

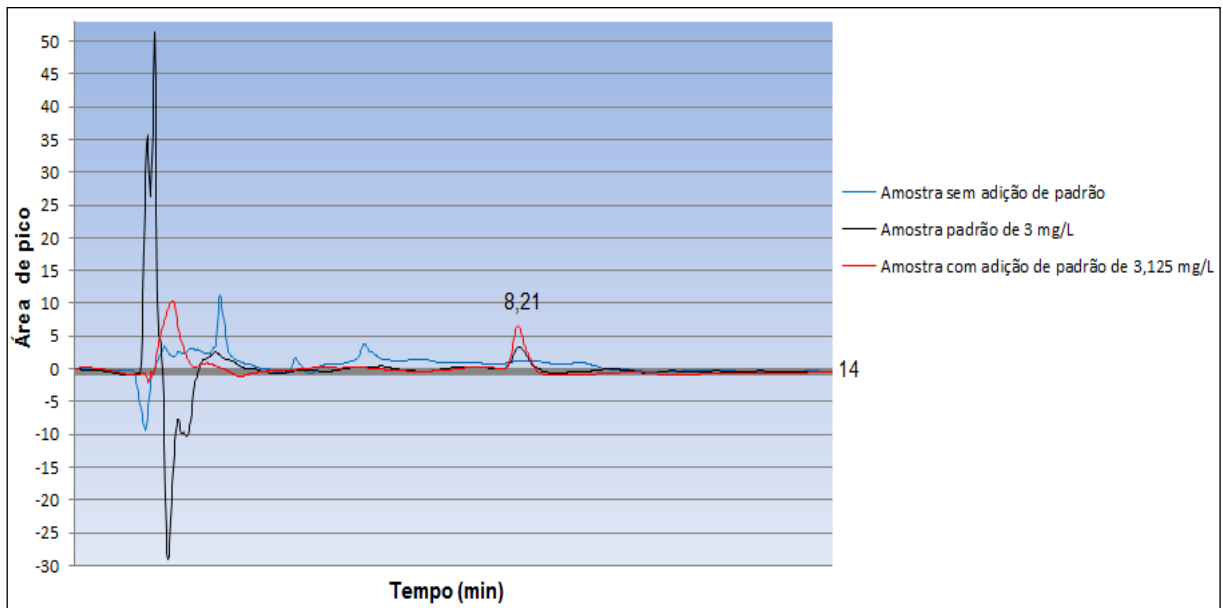


Figura 24 – Cromatograma das amostras padrão, água superficial e água superficial com adição de padrão.

Fonte: O autor.

Os cromatogramas descritos acima certificam que os componentes presentes na matriz aquática não interferiram no pico cromatográfico de TCS obtido em aproximadamente 8,21 min. Assim, pode-se afirmar que de acordo com os dados apresentados, a possibilidade de determinação do TCS em amostras de águas superficiais.

4.2.2.5 Limite de detecção (LD) ou sensibilidade

Define-se LD como a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2003; NIJHUIS et al., 1999; HUBER, 1998).

Segundo RIBEIRO et al. (2003), analistas, quando desenvolvem métodos novos ou modificados para análise de traços, frequentemente definem LD em termos do desvio-padrão de medidas do branco. Entretanto, sendo o branco constituído de todos os reagentes, com exceção da amostra e do analito, não reproduz as mesmas condições a que o analito estará sujeito durante a análise. O LD determinado dessa

forma pode avaliar mudanças ocorridas durante o desenvolvimento do método, ou para comparação de instrumentos. Entretanto, em relação à análise prática, esses valores são extremamente baixos e não representam a realidade.

O limite de detecção pode ainda ser determinado mediante a relação sinal/ruído, através do desvio-padrão da resposta e do coeficiente angular, e também por processos estatísticos. O sinal/ruído pode ser aplicado somente para processos analíticos que exibem linha de base. A determinação da razão sinal/ruído é realizada por meio da comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, estabelecendo-se a concentração mínima na qual o analito pode ser detectado. A razão sinal/ruído com valor 3 é geralmente considerada aceitável para estimar o LD (HUBER, 1998).

Neste trabalho, optou-se por analisar padrões de TCS em concentrações cada vez menores, comparando-se o pico correspondente em seu tempo de retenção ao ruído.

Observa-se no cromatograma (Figura 25) para uma amostra de TCS a 1 mg L⁻¹ (menor concentração da curva analítica) que a relação de 2 a 3 vezes entre o pico cromatográfico e o ruído apresentado pelo equipamento foi obedecida, pois a área de pico do TCS foi de 0,34 já a amostra aquática sem TCS não apresentou pico cromatográfico no tempo de retenção do TCS.

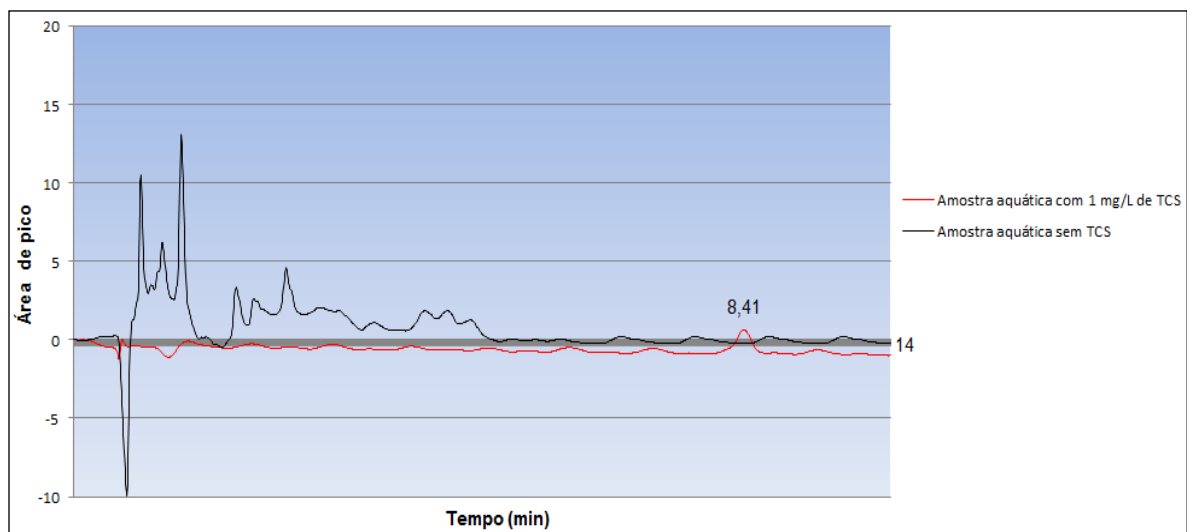


Figura 25 – Cromatograma de amostras aquáticas sem TCS e com 1 mg L⁻¹.
Fonte: O autor.

4.2.3 Determinação do TCS em amostras reais

As análises cromatográficas realizadas com detectaram TCS em dois pontos (pontos 3 e 4) daqueles selecionados para amostragem (Quadro 2).

Quadro 2 – Locais de amostragem selecionados para análise cromatográfica.

Pontos de amostragem	Local de coleta
Ponto 1	Arroio Pilão de Pedra
Ponto 2	Rio Verde antes do descarte da ETE (a montante)
Ponto 3	Rio Verde após descarte da ETE (a jusante)
Ponto 4	ETE após processo de tratamento apenas por barreira física
Ponto 5	ETE após processo de tratamento em RALF

Fonte: O autor.

Nas duas primeiras coletas as amostras foram obtidas em 4 pontos (pontos 1, 2, 3 e 5), sendo TCS detectado em concentração de $28\mu\text{g L}^{-1}$ na amostra do Ponto 3 da primeira coleta. Comparando-se as condições entre as duas amostragens, constatou-se que na primeira coleta a ETE estava em manutenção, no tipo de funcionamento chamado *bypass*, ou seja, o efluente descartado no Rio Verde não havia passado por tratamento adequado, pois o reator não estava em funcionamento. Dessa forma, incluiu-se o ponto 4, no interior da ETE antes do reator, seguindo a pista de que o TCS havia sido detectado no Rio Verde após recebimento do efluente não tratado da ETE.

Durante esta pesquisa foram 10 coletas realizadas em dias distintos, durante o período de maio a novembro de 2013, incluindo estações de outono, inverno e primavera, com maior pluviosidade no mês julho e períodos com relativa estiagem no mês outubro (IAPAR, 2014).

As análises cromatográficas permitiram detectar TCS nas amostras de água superficial apenas no Rio Verde a jusante da ETE, na 1ª e 5ª coletas, sendo que em ambas a ETE estava em manutenção, descartando efluente sem tratamento. Por outro lado, todas as análises realizadas no interior da ETE, no efluente antes do RALF, tiveram concentrações de TCS quantificadas (Tabela 12).

Tabela 12 – Resultados da análise cromatográfica para TCS nos Pontos 3 e 4.

Data da coleta	Local	Área de pico média	Concentração em mg/6 mL	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração após fator de correção ($\mu\text{g L}^{-1}$)
15/05/2013	Ponto 3	0,3	1,6	9,5	28,8
23/05/2013	Ponto 3	ND	ND	ND	ND
12/06/2013	Ponto 3	ND	ND	ND	ND
	Ponto 4	0,3	1,5	9,3	28,1
16/07/2013	Ponto 3	ND	ND	ND	ND
	Ponto 4	0,6	2,8	16,9	51,1
30/07/2013	Ponto 3	0,3	1,4	8,7	26,4
	Ponto 4	0,3	1,3	8,1	24,5
23/08/2013	Ponto 3	ND	ND	ND	ND
	Ponto 4	0,8	3,5	21,1	63,8
25/09/2013	Ponto 3	ND	ND	ND	ND
	Ponto 4	0,3	1,6	9,9	30,0
09/10/2013	Ponto 3	ND	ND	ND	ND
	Ponto 4	0,6	2,5	15,1	45,8
30/10/2013	Ponto 3	ND	ND	ND	ND
	Ponto 4	0,1	0,8	5,1	15,3
06/11/2013	Ponto 3	ND	ND	ND	ND
	Ponto 4	0,2	1,0	6,1	18,5

Fonte: O autor.

Nos pontos 1, 2 e 5, não foram detectadas concentrações de TCS.

Um alto nível de impactação caracteriza o Arroio Pilão de Pedra, que corta a região central de Ponta Grossa, densamente povoada. E essa constatação não se dá apenas pelo seu aspecto e odor verificados no local, como através dos resultados dos parâmetros físico-químicos, indicando aporte de esgoto em suas águas. Entretanto, não foi possível identificar a presença de TCS nas análises cromatográficas.

De acordo com FREIRE (2008), clorofenóis como o TCS, apresentam elevada toxicidade, uma vez que são considerados as maiores fontes de dioxinas, as quais possuem capacidade de persistência no meio ambiente. Estas dioxinas são geradas durante processo de biodegradação por ação da biota aquática ou por fotodegradação. Desta forma, é possível que o TCS presente no ambiente aquático tenha sofrido decomposição havendo assim uma redução em sua concentração, o que pode justificar não ter sido detectado em níveis de concentração dentro do limite LD (1 mg L^{-1}) do método analítico empregado. A degradação do TCS gera outros metabólitos como o MTCS e o 2,4-diclorofenol (CHEN et al., 2011; ZHENG et al., 2011).

Também no ponto 2, localizado a montante da ETE Rio Verde, não se encontrou TCS dentro dos limites de detecção deste trabalho. Como a presença de TCS está diretamente ligada à impactação aquática por esgoto doméstico, e todos os parâmetros físico-químicos para este ponto não apresentaram alterações significativas, estima-se que havendo TCS neste ponto de coleta, as concentrações estão em níveis traço.

Já no ponto 3, a jusante da ETE Rio Verde, concentração média de $28 \mu\text{g L}^{-1}$ de TCS em duas coletas realizadas em maio e julho/2013 ocorreu pelo fato de que a ETE utilizou processo conhecido como “bypass” com descarte de efluente não tratado diretamente no Rio Verde, durante manutenção do sistema de tratamento. O ponto 3 tem um nível de impactação semelhante ao do Arroio Pilão de Pedra, mas nas demais coletas, apesar do efluente trazer grande prejuízo à qualidade da água, não detectou-se TCS.

O ponto 4 foi o local onde a presença de TCS ocorreu em todas as análises cromatográficas realizadas, lembrando que para as duas primeiras coletas não foram realizados cromatogramas deste ponto de coleta. Nesse ponto o TCS encontrado é oriundo de todo o esgoto que é tratado na ETE Rio Verde. Trata-se do efluente praticamente como esgoto bruto, antes de passar pelo RALF.

No ponto 5, no efluente após o reator, a redução do TCS pode estar relacionada ao elevado tempo de retenção hidráulica no interior do RALF (WANG, 1986; GARDNER, 1988; PFEFFER, 1989; TSUNO, 1996; SUIDAN, 1996; KHODADOUST et al, 1997). Assim, o sistema de tratamento de efluente através de RALF parece ser eficiente no processo de degradação do TCS em concentrações abaixo de 1 mg L^{-1} de amostras aquáticas previamente pré-concentradas. Porém, é

interessante ressaltar que os metabólitos gerados pelo TCS, apesar de não detectados pelo sistema analítico empregado no presente trabalho, podem estar presentes. Estudos dirigidos por FREIRE (2008) apresentaram resultados satisfatórios na remoção de compostos organoclorados em RALF com eficiência de 72% a 92%. Desta forma, é possível que boa parte do TCS tenha sofrido degradação durante o processo de tratamento anaeróbio no RALF.

Segundo GHISELLI e JARDIM (2006), o comportamento e os efeitos dos contaminantes emergentes em matrizes ambientais e biológicas dependem das características físico-químicas de cada substância. Assim, determinado contaminante pode apresentar maior afinidade com a água ou com compostos mais apolares, influenciando seu comportamento e a forma como ele pode ser encontrado no ambiente. Os compostos farmacêuticos apresentam características diferentes, que podem variar de hidrofóbicos a hidrofílicos na seguinte sequência: estrógenos; tranquilizantes; analgésicos; antibióticos

Assim, as suas características de hidrofiliidade e hidrofobicidade podem controlar a quantidade em que estes fármacos são encontrados em águas naturais, solos, sedimentos, e também comandam os processos biológicos de absorção dos medicamentos. Os compostos farmacêuticos de características mais hidrofóbicas, presentes em um sistema aquático, apresentam a tendência de possuir maior afinidade com a matéria orgânica dissolvida ou particulada. Assim, eles podem ser adsorvidos no material em suspensão, minimizando a sua mobilidade no ambiente (TORRES, 2009).

As características físico-químicas dos contaminantes emergentes também podem determinar a porcentagem de remoção destas substâncias pelas ETEs. Os processos de tratamento de esgoto convencionais envolvem etapas de adsorção em sólidos suspensos, interação com óleos e ácidos graxos, biodegradação aeróbia e anaeróbia, degradação química e volatilização. Desta forma, contaminantes com características mais hidrofóbicas podem apresentar maiores taxas de remoção, pelas estações de tratamento de esgoto, que substâncias mais hidrofílicas (BILA e DEZOTTI, 2003).

Além disso, os contaminantes emergentes apresentam estabilidade química distintas, sendo uns mais facilmente degradados que outros. Alguns são fotossensíveis, pela ação da radiação ultravioleta, sofrem degradação no ambiente, através de fotólise direta (BILA e DEZOTTI, 2003).

As propriedades físico-químicas destas substâncias, podem também afetar os processos de absorção e metabolização destes compostos pelos organismos vivos. Algumas substâncias não são facilmente metabolizadas e acabam se acumulando ao longo do tempo em órgãos e tecidos de seres vivos. A este processo dá-se o nome de bioacumulação. Quando estes organismos contaminados são consumidos por outros seres ao longo da cadeia alimentar, o processo de bioacumulação alcança proporções maiores, sendo chamado de biomagnificação. Onde os predadores que se alimentam dos seres contaminados, apresentarão concentrações maiores da substância no organismo (BILA e DEZOTTI, 2003).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos demonstraram que a metodologia estabelecida apresenta requisitos necessários para a quantificação do TCS, pois a mesma apresentou características analíticas adequadas de acordo com a legislação vigente e literatura científica especializada.

Os parâmetros físico-químicos determinados apontam altos níveis de impactação ambiental desencadeados pelo descarte de efluente à jusante do Rio Verde e também do esgoto doméstico no Arroio Pilão de Pedra.

Apesar de não ter sido detectada a presença de TCS no Rio Verde a montante da ETE e no Arroio Pilão de Pedra, podemos sugerir que a não quantificação de TCS deve-se a fotodegradação ao quais estes ambientes estão expostos. É importante mencionar também que estudos futuros que permitam o alcance de um melhor LD para esta metodologia são fundamentais para a quantificação do TCS nos pontos em que não foi possível detectar a presença desse analito.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADOLFSSON-ERICI, M.; PETTERSSON, M.; PARKKONEN, J.; STURVE, J. Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. **Chemosphere**. v. 46; p. 1485 - 1489, 2002.

Alliance for the Prudent Use of Antibiotics (APUA). **Triclosan**. White Paper prepared by The Alliance for the Prudent Use of Antibiotics, 2011.

ANDRADE, J.B.; Aragão, N.M.; Veloso, M.C.C. Validação de métodos cromatográficos de análise – um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da “química verde” na determinação de metilxantinas em bebidas. **Química Nova**. v. 32, No. 9, 2476-2481, 2009.

BAHR, G. C. **Geoprocessamento aplicado ao mapeamento e análise socioambiental da bacia hidrográfica do arroio Pilão de Pedra, Ponta Grossa-PR**. 128 f. Monografia. (Trabalho de conclusão do curso em Bacharelado em Geografia). Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2005.

BERNER, R. A.; RAO, J. L.; Phosphorus in sediments of the Amazon River and estuary: Implications for the global flux of phosphorus to the sea. **Geochimica et Cosmochimica Acta**. v. 58, 2333, 1994.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, No. 4, 523-530, 2003.

BLACK, R. M.; MUIR, B. Derivatisation reactions in the chromatographic analysis of chemical warfare agents and their degradation products. **Journal of Chromatography A**. v. 1000, p. 253-281, 2003.

BOEIRA, R. C. Reciclagem agrícola de lodo de esgoto como adubo nitrogenado: risco ou benefício ao meio ambiente? **Jornal Ambiente Brasil**. Disponível em: <http://ambientes.ambientebrasil.com.br/residuos/artigos/reciclagem_agricola_de_lo

do_de_esgoto_como_adubo_nitrogenado%3A_risco_ou_beneficio_ao_meio_ambiente%3F.html>. Acesso em: jan. 2013.

BRAGA, B.; CONEJO, J. G.; BARROS, M. T.; SPENCER, M.; PORTO, M.; NUCCI, N.; JULIANO, N.; EIGE, S. **Introdução à Engenharia Ambiental**. São Paulo: Prentice Hall, 2002.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003**.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução nº 357, DE 17 de março de 2005**.

BRASIL. Conselho Nacional de Recursos Hídricos. **Resolução nº 91, de 05 de novembro de 2008**.

BRASIL. **Saneamento Básico e Tratamento de Rejeitos e Resíduos. Coleção Ambiental**. v.7. Brasília : Senado Federal, Subsecretaria de Edições Técnicas, 153 p., 2008.

BRASIL. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008, Revisão 03, 02/2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RE nº 29, de 01/06/2012**.

BRESSOLLE, F.; BROMET-PETIT, M.; AUDRAN, M. Validation of liquid chromatographic and gas chromatographic methods: applications to pharmacokinetics. **Journal of chromatography B, Biomedical applications**. v. 686, p.3-10, 1996.

BRITO, N. M.; AMARANTE Jr., O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de Métodos Analíticos: estratégia e discussão. **Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. v. 13, p. 129-146, 2003.

CAMINADA, S. M. L. **Estudo da biodegradação do hidrocloreto de fluoxetina, empregando ensaios de respirometria e toxicidade**. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2008.

CAMPOS, T. S, ROHLFS, B.D. Avaliação dos valores de nitrato em águas subterrâneas e sua correlação com atividades antrópicas no município de águas lindas de Goiás. **Pontifícia Universidade Católica de Goiás**. Brasília, DF. [s.d], 17p. 2010.

CAUSON, R. **Validation of chromatographic methods in biomedical analysis: viewpoint and discussion**. **Journal of chromatography B**. v. 689, 175-180, 1997.

CETESB – Companhia de tecnologia e saneamento ambiental. **Relatório de qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo: relatório técnico**. São Paulo, 2012.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/>>. Acesso em: 05/01/2014.

CHASIN, A. M.; CHASIN, M.; SALVADORI, M. C. Validação de métodos cromatográficos em análises toxicológicas. **Revista de Farmácia e Bioquímica**. v. 30, n. 2, p. 49-53, 1994.

CHEN, X.; NIELSEN, J. L.; FURGAL, K.; LIU, Y.; LOLAS, I. B.; BESTER, K. Biodegradation of triclosan and formation of methyl-triclosan in activated sludge under aerobic conditions. **Chemosphere**. v 84 (2011) 452–456, 2011.

CRESTANA, G. B.; SILVA, J. H. Fármacos residuais: Panorama de um cenário negligenciado. **Revista Internacional de Direito e Cidadania**. v. 9, p. 55-65, 2011.

ERICKSON, B. E. Analysing the ignored environmental contaminants. **Environmental Science & Technology**. V. 36, p. 140-145, 2002.

ESTEVEES, F. A.; **Fundamentos de Limnologia**. 2ª ed., Interciência: Rio de Janeiro, 1998.

ETGES, J. P. Saúde e Bem-Estar: Voluntários Online. Disponível em: <<http://blog.voluntariosonline.org.br/estudo-aponta-perigos-de-bactericida-usado-em-pasta-de-dente/>>. Acesso em 23/11/2013.

FEITOSA, L.; HERIQUES, D. M. OLIVIER, B. C.; CHIAPETTA, S. Desenvolvimento de metodologia para determinação de Triclosan em cremes empregando-se Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência. **Sociedade Brasileira de Química (SBQ) - Livro de Resumos**. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010.

Food and Drug Administratio (FDA). **Triclosan: What consumers should know**. FDA Consumer Health Information / U. S. Food and Drug Administration, 2010.

FREIRE, F. B.; PIRES, E. C.; FREIRE, J. T. Tratamento anaeróbio de pentaclorofenol em reator de leito fluidificado alimentado com água residuária sintética contendo glicose como fonte única de carbono. **Engenharia Sanitária Ambiental**. v. 13, n. 3, p. 339-346, jul/set 2008.

FROELICH, P. N.; BENDER, M. L.; LUEDTKE, N. A.; HEATH, G. H.; DEVRIES, T. **The marine phosphorus cicle**. American Journal of Science. v 282, 474, 1982.

GARCIA, A. J. C. **Metodologia analítica para determinação de triclosan e clorofenois por Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência (HPLC) e Cromatografia por Injeção Sequencial (SIC) com uso de coluna monolítica e empacotada**. 135 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Univesidade de São Paulo, 2011.

GARDNER, D.A. et al. Role of GAC activity and particle size during the fluidized-bed anaerobic treatment of refinery sour water stripper bottoms. **Journal Water Pollution Control Federation**. v. 60, p.505-513, 1988.

GARRISON, A. W.; POPE, J. D.; ALLEN, F. R. Identification and analysis of organic pollutants in water. **Acta hydrochimica et hydrobiologica**. p. 517-566, 1976.

GEALH, A. M.; MELO, M. S. de; MORO, R. S. **Pitangui, rio de contrastes, seus lugares, seus peixes, sua gente**. Ponta Grossa: Ed. UEPG, 2010.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. **Abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. Tese de doutorado (área química analítica) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Instituto de Química, 2006.

GLEBER, L.; BERTOL, I.; RAMOS, R. R.; LOUZADA, J. A. S.; MIQUELLUTI, D. J. Fósforo reativo: Arraste superficial sob chuvas simuladas para diferentes coberturas vegetais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.16, n.1, p.99–107, 2012.

GONZALEZ, C. PRICHARD, E.; SPINELLI, S.; GILLE, J.; TOURAUD E.; Validation procedure for existing and emerginhag screening methods. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 26 (4):315-322, 2007.

HIGNITE, C.; AZARNOFF, D. L. Degradation of residual pharmaceuticals by advanced oxidation processes. **Life Science**. v. 20, n. 2, p. 220, 1977.

HIRSCH, R.; TERNES, T.; HABERER, K.; KRATZ, K. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science of the Total Environment**. n. 329, 99–113, 2004.

HUBER, L. **Validation of analytical methods: review and strategy**. LC/GC International, Feb 1998, p. 96-105. Disponível em: <<http://www.labcompliance.com/index.htm>>. Acesso em: jan. 2013.

HUBERT, P.; P. CHIAP; J. CROMMEN; B. BOULANGER; E. CHAPUZET; N. MERCIER; S. BERVOAS-MARTIN; P. CHEVALIER; D. GRANDJEAN; P. LAGORCE; M. LALLIER; M.C. LAPARRA; M. LAURENTIE; J.C. NIVET. The SFSTP guide on the validation of chromatographic methods for drug bioanalysis: from the Washington Conference to the laboratory. **Analytica Chimica Acta**. v. 391, p.135-139, 1999.

IAPAR – Instituto Agronômico do Paraná. **Desvios de precipitação**. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=984>>. Acesso em: 10/02/2014.

JONES, O. A. H.; VOULVOULIS, N.; LESTER, J. N. Human pharmaceuticals in the aquatic environment - a review. **Ingentaconnect™ Environmental Technology**. v. 22, p. 1383–1394, 2001.

JULIO, M.; VOLSKI, J.; FILHO, O. S.; FIORAVANTE, D. A. Evolução do sistema de esgotamento sanitário do município de Ponta Grossa/PR. **Revista de Engenharia e Tecnologia**. v. 2, nº 1, p 24, 2010.

KLIEGMAN, S.; EUSTIS, S. N.; ARNOLD, W. A.; MCNEILL, K. Experimental and Theoretical Insights into the Involvement of Radicals in Triclosan Phototransformation. **Environmental Science and Technology**. v. 47 (6756–6763), 2013.

KHODADOUST, A.P.; WAGNER, J. A.; SUIDAN, M. T.; BRENNER, R. C. Anaerobic treatment of PCP in fluidized-bed GAC bioreactors. **Water Research**. v. 31, p.1776-1786, 1997.

LEITE, F.; **Validação em Análise Química**, 4ª ed., Ed. Átomo: Campinas, 2002.

LEITE, F.; **Validação em Análise Química**, 5ª ed., Ed. Átomo: Campinas, 2008.

LIMA, E. M. S. **Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de triclosan em águas naturais**. Dissertação (Mestrado). São Cristóvão – SE, Núcleo de pós-graduação em química da Universidade Federal de Sergipe, 2009.

LIMA, L. S.; FILHO, H. J. I.; CHAVES, F. J. M. Determinação de demanda bioquímica de oxigênio para teores 5 mg L⁻¹ O₂. **Revista Analytica**. n° 25, Outubro/Novembro de 2006.

LOMBARDI, A.P.; PRETTO, F.M.; ROZA, W.S.S.; SANTOS, Z.R. dos. **O Processo de urbanização e a degradação ambiental: Programa de regularização de assentamentos precários da bacia hidrográfica do Arroio Pilão de Pedra na cidade de Ponta Grossa - Paraná - Brasil**. Livro de Resumos: Reencuentro de saberes territoriales latinoamericanos. Perú, 2013. Disponível em http://www.egal2013.pe/wp-content/uploads/2013/07/Tra_Anna-Fabelis-William-Z%C3%ADngara.pdf.

LU, H.; MA, H.; TAO, G. Spectrophotometric determination of triclosan in personal care products. **Spectrochimica Acta A**. n. 73, p. 854–857, 2009.

LUMBRERAS-GONZALO, R.; LANDALUZE-SANZ, J.; CÁMARA, C. Analytical performance of two miniaturised extraction methods for triclosan and methyltriclosan, in fish roe and surimi samples. **Food Chemistry**. p. 146 (141–148), 2014.

MACEDO, J. A. B. **Introdução a Química Ambiental. - Química e meio ambiente e sociedade**. 2a ed., Editora O Locutor: Belo Horizonte-MG, 2002.

MARINOVIC, D.; STOJANOVIĆ, M.; POPOVIĆ, D. **Purification of waters and elimination of organochloric insecticides by means of active coal**. Journal of the Serbian Chemical Society. v. 75 (4): 575-586, 2010.

MELO, S. A. S.; TROVO, A. G.; BAUTITZ, I. R.; NOGUEIRA, R. F. Degradação de fármacos residuais por processos oxidativos avançados. **Química Nova**. v. 32, No. 1, 188-197, 2009.

MULROY, A. Monitoring and Analysis of Water and Wastes. **Water Environment Technology**. v. 13 (2): 32-36, 2001.

NAMIESNIK, J.; SLIWKA-KASZYNSKA, M.; KOT-WASIK, A. Preservation and Storage of water samples. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**. v. 33(1): 31-44, 2003.

NIJHUIS, A.; KNAAP, H. C. M. Van der; JONG, S. de; VANDEGINSTE, B. G. M. Strategy for ruggedness tests in chromatographic method validation. **Analytica Chimica Acta**. v. 391, p. 187-202, 1999.

NITSCHKE, M.; PASTORE, G. M. Biossurfactantes: propriedades e aplicações. **Química Nova**. v. 25, No. 5, 772-776, 2002.

ORLANDO, R. M.; CORDEIRO, D. D.; MATHIAS, A. E. B.; REZENDE, K. R.; GIL, E. S. Pré-tratamento de amostras. **Vita et Sanitas, Trindade-Go**. n. 03, 2009.

OSORIO, V. K. L.; OLIVEIRA, W.; Polifosfatos em detergentes em pó comerciais. **Química Nova**. v. 24, nº 5, 700 - 708, 2001.

PEREIRA, D. M. C.; ARCOS, M. A. S. V.; AMARANTE Jr., O. P. de; CALDAS, E. P. A. Comparação de métodos dicromatômicos para determinação de ferro total em minérios de ferro. **Anais da Associação Brasileira Química**. v. 49, n. 4, p. 198-203, 2000.

PFEFFER, J.T.; SUIDAN, M.T. Continuous processing of toxic organics in a fluidized-bed GAC reactor employing carbon replacement. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 33, p.139-148, 1989.

PICCOLI, A.; FIORI, J.; ANDRISANO, V.; ORIOLI, M. Determination of triclosan in personal health care products by liquid chromatography (HPLC). **Elsevier – IL Farmaco**. n. 57, p. 369–372, 2002.

POCINHO, M. **Estatística – Teoria e exercícios**. Editora Local, v. I, 2009.

POOLE, S. K.; DEAN, T. A.; OUDSEMA, J. W.; POOLE, C. F. Sample preparation for chromatographic separation: An overview. **Analytica Chimica Acta**. v. 236: 3-42, 1990.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Methods of extraction and/or concentration of compounds found in biological fluids for subsequent chromatographic determination. **Química Nova**. v. 24, p. 68-76, 2001.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**. v. 27, n. 5, 771-780, 2004.

RIBEIRO, M.L.; BRITO, N.M.; AMARANTE JR., O.P.; POLESE, L. Validação de Métodos Analíticos: Estratégia e Discussão. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. v.13, p. 129-146, jan/dez, 2003.

ROGALSKI, S. R. **Índice de degradação ambiental da bacia hidrográfica do arroio Olarias, em Ponta Grossa-PR, entre 1980 e 2005**. 145 f. Dissertação. (Mestrado em Geografia). Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2011.

ROIG, B.; VALAT, C.; BERHO, C.; ALLAN, I.J.; GUIGUES, N.; MILLS, G.A.; ULITZUR, N.; GREENWOOD, R. The use of field studies to establish the performance of a range of tools for monitoring water quality. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 26(4): 274-282, 2007.

SCHEFFER, E. W. O., SODRÉ, F. F.; GRASSI, M. T.; Fatores que governam a especiação do cobre em ambientes aquáticos urbanos: evidências da contribuição de sulfetos solúveis. **Química Nova**. v. 30: 332, 2007.

SCHEFFER, E.W.O.; BUSCH, O.M.S. Qualidade da água. In: GEALH, A.M., MELO, M.S; MORO, R.S. **Pitangui, rio de contrastes - seus lugares, seus peixes, sua gente**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2010. Cap. 5., p. 43-51.

SCHEFFER, E. W. O.; RIBICKI, A.C.; VIANA, A.G. Avaliação das águas do Rio Pitangui através da aplicação de índices de qualidade. **Terr@Plural**. v.4, n.2, p.163-177, jul./dez. 2010.

SCHWEIZER, H.P. Triclosan: a widely used biocide and its link to antibiotics. **FEMS Microbiology Letters**. v. 202, 1-7, 2001.

SILVA, A. R. M.; NOGUEIRA, J. M. F. New approach on trace analysis of triclosan in personal care products, biological and environmental matrices. **Talanta**. n. 74, p. 1948 - 1504, 2008.

SILVA, A. R. M. **Desenvolvimento de novas metodologias analíticas para monitorização de PPCPs em matrizes reais**. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Departamento de Química e Bioquímica, 2010.

SILVA, C. G. A; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**. v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5a ed. São Paulo: Editora Bookman /Artmed S.A, 2002.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC method development**. 2. ed., New York: John Wiley Professional, 1997.

Solid Phase Extraction and Flash Chromatography - APPLIED SEPARATIONS. Disponível em: <<http://www.appliedseparations.com/SPE/>>. Acesso em: Out. 2012.

Solid-phase extraction - LC-GC North America. *Academic OneFile*. Acesso em: 10 Jan. 2014.

Standard Methods for Examination of Water and Wastewater 19th edition. **American Public Health Association (APHA)**, 1995.

SUIDAN, M.T. et al. Anaerobic dechlorination using a fluidized-bed GAC reactor. **Water Research**. v.30, p.160-170, 1996.

TORRES, N. H. **Monitoração de resíduos dos hormônios 17 α -etinilestradiol, 17 β -estradiol e estriol em águas de abastecimento urbano da cidade de Piracicaba, SP**. Tese de mestrado (ciências) – Universidade de São Paulo (USP), centro de energia nuclear na agricultura, 2009.

TSUNO, H. et al. Anaerobic degradation of pentachlorophenol (PCP) in biological expanded-bed reactor. **Water Science and Technology**. v.34, p.335-344, 1996.

UEPG/ NUCLEAM. Bacia hidrográfica do manancial Alagados. Ponta Grossa, 2002. **Relatório técnico** (CD-ROM).

VERMA, K. S.; XIA, K. Analysis of Triclosan and Triclocarban in Soil and Biosolids Using Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction Coupled with HPLC-UV. **Journal of AOAC International**. v. 93, n.4, 2010.

VIEIRA, P.C.; DEGANI, A.L.G.; CASS, Q.B. Cromatografia: um breve ensaio. **Química Nova Na Escola**. n. 7, maio, 1998.

WANG, Y. et al. Anaerobic treatment of phenol by an expanded bed reactor. **Journal Water Pollution Control Federation**. v.58, p.227-233, 1986.

WIECHETECK, G.K.; BUSCH, O.M.S.; HINSCHING, M.A. de O. **Análise dos impactos ambientais sobre a qualidade de água no manancial do Rio Pitangui (Ponta Grossa – PR) – um estudo de caso**. Relatório de Pesquisa. Ponta Grossa: UEPG, 2001.

ZHENG C.; ZHAO J.; BAO P.; GAO J. Dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet followed by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of triclosan and 2,4-dichlorophenol in water samples. **Journal of Chromatography A**. v. 1218-25, p. 3830-3836, 2011.

ZHOU, X. F.; ZHOU, S. B.; SHANG, Y. L.; SHI, L. Determination of triclosan in the wastewater using solid phase extraction and high performance liquid chromatography with ultra-violet detection. **Bioinformatics and Biomedical Engineering**. 3rd International Conference, 2009.

ZHU, L., LIN, J., MA, J., CRONAN, J. E., WANG, H. Triclosan Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Is Due to FabV, a Triclosan-Resistant Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase. **Antimicrobial agents and chemotherapy**. p. 689–698, 2010.

ANEXO I

Quadro 3 – Resultados dos parâmetros físico-químicos obtidos durante as coletas realizadas no período de 15/05/2013 à 20/11/2013.

Locais	Coletas	Data	*SST (mg L ⁻¹)	*DBO (mg L ⁻¹)	*DQO (mg L ⁻¹)	*COT (mg L ⁻¹)	*NO3 (mg L ⁻¹)	*Surfactantes (mg L ⁻¹)	Fósforo (mg L ⁻¹)	pH	OD (mg L ⁻¹)	T (°C)
			Média (DP)									
Ponto 1 (Pilão de Pedra)	1	15/05/2013	25,0 (0,2)	12,3 (0,4)	26,7 (0,4)	8,9 (0,3)	0,50 (0,0)	2,9 (0,0)	2,2	7,1	1,7	23,8
	2	23/05/2013	43,5 (0,1)	15,6 (0,2)	40,7 (0,3)	13,8 (0,0)	1,1 (0,1)	3,1 (0,0)	2,4	7,0	3,2	22,3
	3	12/06/2013	26,4 (0,1)	13,5 (0,4)	31,3 (0,5)	10,6 (0,3)	0,6 (0,1)	2,8 (0,2)	1,8	7,2	2,9	23,0
	4	17/07/2013	24,8 (0,3)	12,3 (0,4)	26,7 (0,4)	8,9 (0,3)	0,5 (0,0)	2,9 (0,0)	1,7	7,4	1,9	20,7
	5	31/07/2013	65,2 (0,8)	16,1 (0,5)	36,0 (0,5)	11,4 (0,1)	0,9 (0,0)	0,4 (0,0)	2,4	7,1	1,6	16,4
	6	23/08/2013	43,5 (0)	15,6 (0,0)	40,7 (0,6)	13,8 (0,0)	1,1 (0,0)	3,1 (0,1)	3,2	7,0	2,8	19,3
	7	25/09/2013	41,3 (0,9)	19,4 (0,2)	36,5 (0,5)	14,2 (0,3)	2,6 (0,2)	7,4 (0,4)	3,5	7,2	4,2	16,0
	8	09/10/2013	11,0 (0,5)	4,0 (0,2)	14,9 (0,3)	4,7 (0,2)	2,7 (0,2)	0,5 (0,0)	1,2	7,2	3,7	15,7
	9	06/11/2013	41,3 (0,9)	17,5 (0,5)	45,5 (0,5)	15,5 (0,4)	1,5 (0,0)	4,2 (0,1)	2,7	7,1	2,3	17,2
	10	20/11/2013	28,3 (0,6)	10,0 (0,1)	34,1 (0,6)	10,7 (0,1)	1,2 (0,0)	0,8 (0,1)	1,4	7,2	2,4	20,1
Ponto 2 (montante ETE)	1	15/05/2013	21,5 (0,6)	6,0 (0,2)	15,5 (0,5)	4,8 (0,2)	0,9 (0,0)	0,4 (0,0)	0,1	6,9	5,6	21,5
	2	23/05/2013	20,9 (0,4)	5,7 (0,1)	15,7 (0,2)	4,8 (0,1)	0,7 (0,0)	0,4 (0,3)	0,2	6,9	5,1	21,0
	3	12/06/2013	16,2 (0,4)	4,9 (0,2)	16,2 (0,4)	3,7 (0,2)	1,7 (0,0)	0,4 (0,0)	0,6	6,8	5,9	22,0
	4	17/07/2013	21,5 (0,6)	6,0 (0,2)	15,5 (0,5)	4,8 (0,2)	0,5 (0,0)	1,0 (0,0)	0,2	7,0	5,7	19,2
	5	31/07/2013	2,5 (0,0)	2,2 (0,2)	5,7 (0,2)	2,8 (0,1)	1,1 (0,1)	0,3 (0,0)	0,8	6,9	6,2	16,8
	6	23/08/2013	20,9 (0,5)	5,9 (0,2)	15,7 (0,4)	4,8 (0,0)	0,7 (0,1)	0,5 (0,0)	0,3	6,9	4,9	17,6
	7	25/09/2013	23,6 (0,2)	6,7 (0,1)	16,7 (0,1)	5,1 (0,1)	1,4 (0,0)	0,3 (0,0)	1,0	6,7	5,8	15,0
	8	09/10/2013	17,5 (0,7)	5,3 (0,2)	12,8 (0,3)	4,0 (0,1)	2,3 (0,1)	0,5 (0,0)	0,4	6,8	6,2	16,8
	9	06/11/2013	22,7 (1,6)	6,8 (0,4)	16,5 (1,1)	5,2 (0,3)	0,8 (0,1)	0,5 (0,0)	0,2	6,9	5,9	19,3
	10	20/11/2013	2,5 (0,2)	4,4 (0,2)	12,3 (1,4)	3,1 (0,2)	0,8 (0,0)	0,4 (0,0)	0,4	6,9	5,9	20,7
Ponto 3 (jusante ETE)	1	15/05/2013	81,3 (1,1)	24,5 (0,5)	51,3 (0,9)	16,9 (0,4)	0,5 (0,0)	3,2 (0,2)	3,5	7,1	2,2	22,8
	2	23/05/2013	40,3 (0,6)	12,9 (0,1)	31,5 (0,3)	10,8 (0,1)	0,2 (0,0)	2,2 (0,1)	2,2	7,1	4,6	21,1
	3	12/06/2013	38,7 (0,2)	10,1 (0,3)	31,3 (1,3)	6,87 (0,3)	1,2 (0,1)	1,1 (0,1)	1,9	7,0	3,9	22,3
	4	17/07/2013	81,3 (1,1)	24,5 (0,5)	51,3 (0,9)	16,9 (0,4)	0,5 (0,0)	3,0 (0,2)	1,8	7,1	3,6	19,9
	5	31/07/2013	17,8 (0,8)	7,1 (0,2)	16,5 (0,6)	5,8 (0,3)	0,8 (0,1)	3,4 (0,1)	1,8	7,1	3,7	17,9
	6	23/08/2013	40,3 (0,7)	12,9 (0,1)	31,7 (0,1)	10,7 (0,3)	0,5 (0,0)	2,2 (0,1)	2,2	7,1	3,3	18,5
	7	25/09/2013	32,5 (0,5)	9,7 (0,3)	23,7 (0,7)	7,7 (0,1)	1,1 (0,0)	1,2 (0,1)	1,8	7,0	3,8	16,2
	8	09/10/2013	17,2 (0,3)	7,0 (0,2)	16,1 (0,5)	5,7 (0,2)	1,8 (0,0)	2,0 (0,1)	0,8	7,1	3,7	18,4
	9	06/11/2013	30,0 (0,9)	14,4 (0,4)	30,5 (0,7)	10,8 (0,3)	0,9 (0,0)	4,5 (0,1)	1,4	7,1	3,9	19,1
	10	20/11/2013	24,0 (0,4)	11,6 (0,4)	23,6 (0,6)	8,5 (0,3)	0,4 (0,0)	3,9 (0,2)	1,9	7,1	4,2	21,3

*Parâmetro analisado em triplicata. Fonte: O autor.