

XXIII Encontro Técnico AESABESP

AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES PELAS ETA CONVENCIONAIS DO ESTADO DE SÃO PAULO – UMA NOVA ABORDAGEM RELACIONADA À AVALIAÇÃO DE RISCO.

Wilson F. Jardim⁽¹⁾

Professor titular do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas. Coordenador do Laboratório de Química Ambiental (LQA). A área de pesquisa abrange especial interesse em Processos Oxidativos Avançados, remediação de áreas contaminadas, contaminantes emergentes em águas, fotocatalise, desinfecção de atmosferas, mercúrio na Amazônia. Licenciado em Química pela Universidade Federal de São Carlos (1975) e doutorado em Ciências Ambientais pela The University of Liverpool (1983).

Cassiana C. Montagner

Pós-doutoranda – Faculdade de Tecnologia - UNICAMP

Igor C. Pescara

Doutorando – Instituto de Química – UNICAMP

Endereço⁽¹⁾: Av. Zeferino Vaz, s/n, Laboratório de Química Ambiental, bloco I-155, Instituto de Química, UNICAMP – Barão Geraldo - Campinas - SP - CEP: 13083-970 - Brasil - Tel: +55 (19) 3521-3037 - Fax: +55 (19) 3521-3135 - e-mail: wfjardim@iqm.unicamp.br

RESUMO

Muitos compostos orgânicos são classificados como interferentes endócrinos (IE) por diversas agências ambientais e organizações não-governamentais de todo o mundo. Estas substâncias têm a capacidade de alterar as funções endócrinas de seres vivos e causar efeitos mesmo em concentrações na ordem de ng L^{-1} . Estudos sobre avaliação de risco, relacionado à exposição a essas substâncias, requer ferramentas analíticas bastante sofisticadas que permitem a detecção de contaminantes em baixas concentrações. No entanto, trabalhos recentes têm apontado a cafeína como um excelente traçador do aporte de esgoto doméstico nos mananciais, a qual pode ser determinada empregando técnicas analíticas mais simples, que permite a sua inclusão em análises de rotina. Apesar de não ser considerada um IE, a presença de cafeína em água pode indicar o nível de contaminação por uma série de outros contaminantes orgânicos. Esse trabalho traz a avaliação da capacidade de remoção de alguns IE e cafeína por cinco ETA do Estado de São Paulo que captam água de mananciais em diferentes estágios de degradação. Além disso, aponta a cafeína como um traçador químico eficiente, e torna possível se obter uma nova abordagem para a avaliação da contaminação tanto de águas brutas, como tratadas em complemento ao uso de *E. Coli*.

PALAVRAS-CHAVE: contaminantes emergentes, cafeína, eficiência das ETA de SP.

INTRODUÇÃO

Muitos compostos orgânicos têm sido classificados como interferentes endócrinos (IE) por diversas agências ambientais e organizações não-governamentais de todo o mundo. As principais classes de IE são os hormônios endógenos e sintéticos e os xenoestrogênios. Estrogênios sintéticos apresentam maior capacidade de interferir no sistema endócrino humano em comparação aos demais tipos de estrogênios, enquanto que os xenoestrogênios são menos potentes, porém mais facilmente encontrados no ambiente. Dentre os compostos classificados como IE, os que vêm merecendo maior destaque dentro da comunidade científica são os estrogênios e alguns xenoestrogênios tais como os alquilfenóis, o bisfenol A e os ftalatos. Estes compostos têm sido mais estudados, pois suas ocorrências no ambiente e seus possíveis efeitos sobre a biota somente agora vêm sendo elucidados (Cheek et al., 1998; Ghiselli e Jardim, 2007). O termo xenoestrogênios é aplicado livremente a uma série de substâncias químicas antropogênicas que confundem os receptores celulares dos estrogênios no organismo, interferindo nas mensagens bioquímicas naturais. Atualmente contaminam diversos ecossistemas e organismos vivos. Alguns são lipossolúveis e se acumulam nos tecidos gordurosos, no cérebro,

no aparelho reprodutor e em outros órgãos, favorecendo a biomagnificação na cadeia trófica (Cunningham et al., 1997). Outros, por outro lado, são mais solúveis e possuem elevado tempo de residência hídrica. Os estrogênios sintéticos, encontrados em produtos farmacêuticos, são esteróides que tiveram suas estruturas moleculares alteradas. Os principais compostos dessa classe são o 17 α -etinilestradiol e o dietilstilbestrol, ambos empregados em pílulas anticoncepcionais. Terapias de reposição hormonal também representam atividades em que se utilizam os estrogênios sintéticos (Sonnenschein e Soto, 1998). Esses compostos estão incluídos na grande classe contaminantes não legislados chamados contaminantes emergentes.

Dentre os contaminantes emergentes, outro composto que merece atenção é a cafeína (1,3,7-trimetilxantina). Pertencente ao grupo de compostos químicos chamados metilxantinas, estão presentes em cerca de 60 espécies de plantas no mundo. Produtos alimentícios como café, chás, cola e chocolate contém aproximadamente 100, 50, 40 e 10 mg de cafeína por porção, respectivamente (Buerge et al., 2003). Também é encontrada no guaraná, no tabaco, em alguns condimentos além de medicamentos do tipo analgésico, antigripais e inibidores de apetite. As xantinas são substâncias capazes de estimular o sistema nervoso, produzindo um estado de alerta de curta duração (Gardinali e Zhao, 2002). A absorção da cafeína no organismo é muito rápida, assim como a distribuição, passando rapidamente para o sistema nervoso central. Toda a ação da cafeína no corpo depende da forma de preparo do produto, da quantidade utilizada e das condições do organismo que a consome, podendo o efeito variar de indivíduo para indivíduo. O corpo humano não necessita de cafeína, embora o seu consumo moderado não esteja associado a nenhum risco à saúde, exceto em algumas situações especiais, como a gestação e a hipertensão, por exemplo. Trata-se de um dos produtos mais consumidos no mundo e, a presença deste composto nos corpos d'água é, sobretudo de origem antrópica. Estudos têm mostrado que entre 3 e 10 % da cafeína ingerida não é absorvida pelo organismo e é excretada na urina (Gardinali e Zhao, 2002).

Embora não seja considerada uma substância suspeita de causar alteração no sistema endócrino, e não se conheça efeitos causados à biota oriundos da exposição a este contaminante, em países onde há tratamento de esgoto adequado, a cafeína tem sido usada como traçador de contaminação por esgoto doméstico em situações onde há vazamentos na rede coletora capazes de atingir outros cursos d'água. É considerado um marcador químico sensível e específico que pode ser detectado rapidamente, pois se apresenta em altas concentrações no esgoto, é estável e bastante solúvel em água, principais motivos pelos quais a cafeína tem substituído outros marcadores biológicos como o *E. Coli*, por exemplo (Raimundo, 2011; Froehner et al., 2010; Young et al., 2008; Gonçalves, 2008; Ferreira, 2005; Glassmeyer et al., 2005; Buerge et al., 2003; Chen et al., 2002; Gardinali e Zhao, 2002; Picos e de la Cruz, 2000). No Brasil, a presença de cafeína em águas naturais é notoriamente esperada tendo em vista a situação de saneamento básico, principalmente das grandes cidades que tiveram um rápido crescimento populacional e não apresentaram um sistema de esgotamento sanitário adequado para receber e tratar grandes volumes de esgoto que, portanto, são lançados nos corpos d'água. O Censo 2010 do IBGE indicou que 32,9 % da população brasileira possuem rede coletora de esgoto, e apenas parte deste esgoto coletado recebe algum tipo de tratamento antes de serem lançados nos corpos d'água.

Inúmeras atividades contribuem para o aporte de substâncias químicas no meio ambiente. Entretanto, o descarte de esgoto bruto e de efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETE), vem sendo consideradas as principais vias de aporte de contaminantes emergentes para sistemas aquáticos. A Figura 1 mostra as vias de transporte de estrogênios para o ambiente. A rota (1) representa o enriquecimento do esgoto bruto com estrogênios a partir da excreção fecal e/ou urinária por seres vivos, além da contribuição do descarte de fármacos nos sistemas de captação de esgotos. Os serviços de esgotamento sanitário são representados pelas rotas (2) e (3), sendo que a primeira corresponde à canalização do esgoto até as ETE, e a segunda, ao serviço de afastamento do esgoto bruto da população. O descarte clandestino do esgoto também é contemplado na rota (3).

Em ETE convencionais, os métodos de tratamento não são totalmente eficientes para a eliminação de interferentes endócrinos. Alguns estudos têm demonstrado que até 40% do conteúdo de estrogênios no esgoto bruto não é removido por estações de lodo ativado em condições normais de operação (Lee e Peart, 1998; Nasu et al., 2001). Nas ETE, as características físico-químicas do composto irão determinar sua partição entre as fases líquida e sólida. O efluente líquido é descartado em sistemas de águas naturais (rota (4)) enquanto que o material sólido pode ser utilizado para fertilização e/ou condicionamento de solos agricultáveis (rota (5)). Estrogênios presentes no lodo de esgoto aplicado ao solo podem surgir em águas naturais por meio do escoamento superficial (rota (6)) ou da lixiviação (rota (7)).

Em muitos países, efluentes de ETE representam a principal fonte de aporte de IE para águas superficiais (López de Alda e Barceló, 2000; Shimada et al., 2001). O descarte de efluentes de ETE pode promover a feminização de peixes (Diniz et al., 2005; Salo et al., 2007) e contribuir para o desenvolvimento anormal de órgãos em diferentes organismos aquáticos (Pickering e Sumpter, 2003; Diniz et al., 2005). No Brasil, pouco se sabe sobre a origem, destino e efeitos de interferentes endócrinos no ambiente. Entretanto, acredita-se que a principal via de aporte de IE em águas brasileiras não está relacionada à contribuição dos efluentes de ETE

uma vez que cerca de 85% dos municípios brasileiros descartam esgoto bruto diretamente em rios (IBGE, 2002). Neste caso, o aporte de esgoto bruto, representado pela rota (3), deve ser a principal via de aporte de IE para sistemas de águas naturais.

A rota (8), mostrada na Figura 1, representa a interface existente entre os sistemas aquáticos superficiais e subterrâneos. A água subterrânea pode ser bombeada e utilizada para fins de consumo (rota (9)) ou submetida a tratamento. Águas superficiais são captadas e canalizadas para estações de tratamento de águas (ETA). Assim como nas ETE, os processos convencionais de tratamento nas ETA não são eficientes para a eliminação de IE. Alguns trabalhos evidenciam que a remoção de IE nas ETA depende tanto das características intrínsecas de cada composto, quanto dos métodos de tratamento. Westerhoff e colaboradores (2005) demonstraram que métodos convencionais promovem a remoção de menos de 25% da concentração da maioria dos IE. A presença de uma etapa de cloração, muito comum para desinfecção de águas no Brasil, promove uma redução de 20 a 90% nos níveis de concentração, dependendo das características de cada composto.

Finalmente, a rota (10) representa a distribuição de água para consumo humano por meio de redes municipais de distribuição ou caminhões-pipa. A preocupação com relação à presença de IE em águas brasileiras surge em função de dois aspectos distintos: (i) a exposição da biota e dos seres humanos frente aos IE, seja via recreacional ou por meio da ingestão e/ou absorção dérmica e (ii) a possibilidade de contaminação de mananciais de água bruta possibilitando, consequentemente, a transferência destas substâncias para as ETA e para a água destinada ao consumo humano.

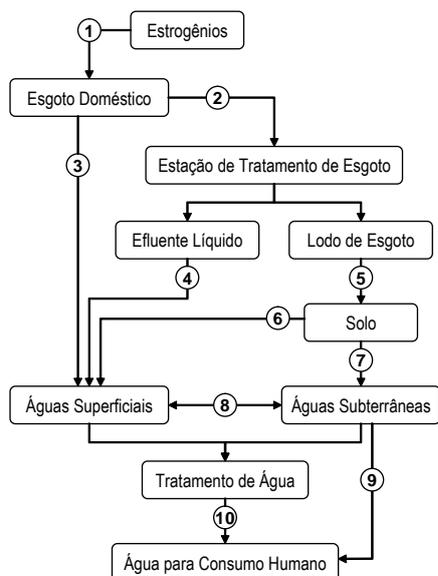


Figura 1: Origem e destino de estrogênios no ambiente. Adaptado de Lintelmann et al. (2003) e Campell et al. (2006).

OBJETIVOS

Tendo em vista o precário sistema brasileiro de saneamento, o objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de remoção de alguns interferentes endócrinos pelas ETA, as quais empregam tratamentos convencionais e que lançam mão de diferentes mananciais do Estado de São Paulo e, inferir sobre a sua eficiência, usando a cafeína como um traçador químico, a fim de se obter uma nova abordagem relacionada ao estágio de contaminação dos mananciais e a qualidade da água distribuída à população.

Foi feita uma investigação sobre a ocorrência de interferentes endócrinos e cafeína em amostras de mananciais e água para consumo humano do Estado de São Paulo, considerando-se a qualidade da água dos mananciais. No Estado de São Paulo, a captação de água bruta para fins de abastecimento público é realizada em mananciais que apresentam diferentes características físicas, químicas e biológicas. O monitoramento das características de alguns mananciais, tanto superficiais quanto subterrâneos, vem sendo realizado desde 1974 pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). Os relatórios elaborados pela CETESB, sobre a qualidade das águas superficiais do Estado, mostram que muitos mananciais apresentam baixos índices de qualidade da água para fins de abastecimento público (IAP), indicando maior dificuldade para o tratamento da água. No entanto as concessionárias de água devem adequar seus processos de tratamento para atender a Portaria MS nº 2914 de 12/12/2011 que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Além disso, muitos mananciais

encontram-se inseridos em bacias hidrográficas caracterizadas por predominância de atividades industrial ou agrícola, enquanto outras bacias encontram-se mais conservadas. A proximidade entre um manancial e regiões mais densamente urbanizadas, também foi considerada, assim como a predominância de fontes de contaminação difusa, mais comuns em áreas rurais.

MATERIAIS E MÉTODOS

AMOSTRAGEM

Foram coletadas amostras de águas brutas e tratadas provenientes de mananciais superficiais e subterrâneos localizados em sete municípios do Estado de São Paulo, levando-se em consideração o tipo de manancial e a qualidade da água bruta captada. Com base em inúmeros parâmetros, a CETESB atribui diferentes índices de qualidade para as águas brutas do Estado de São Paulo. Para águas superficiais, por exemplo, o IAP (índice de qualidade para fins de abastecimento público) computado em 2007 foi empregado como parâmetro para a seleção dos pontos amostrais (CETESB, 2007). O IAP para águas dos seis mananciais superficiais originalmente selecionados é mostrado na Figura 2. As localizações dos pontos amostrais estabelecidos em mananciais de águas superficiais são mostrados na Figura 3.

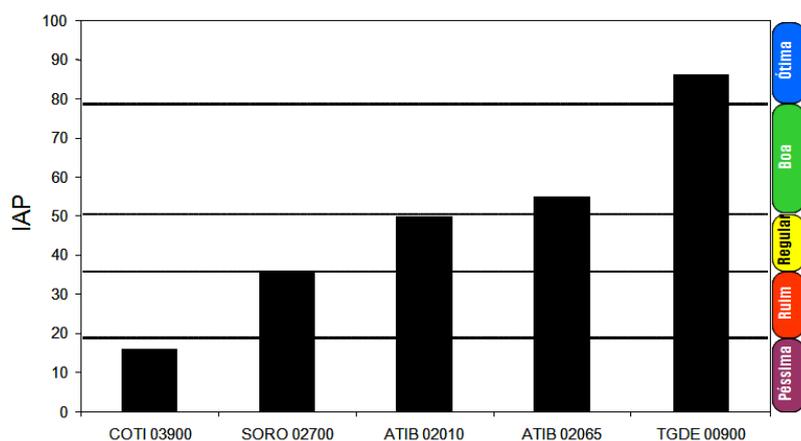


Figura 2: Índices de qualidade para fins de abastecimento público (IAP) nos pontos amostrais selecionados neste projeto. Adaptado de CETESB, 2007.

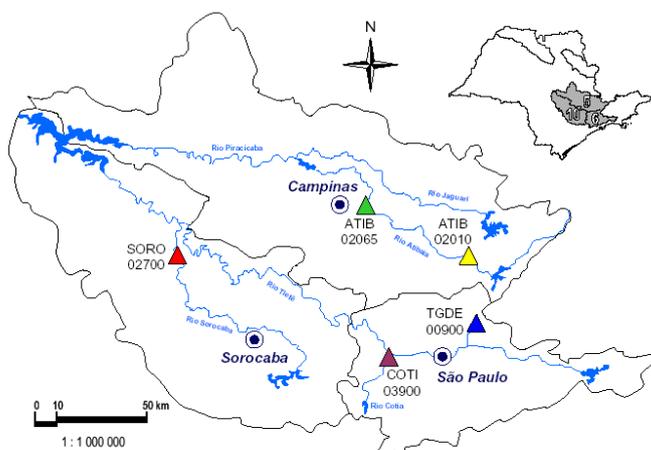


Figura 3: Localização dos pontos amostrais em mananciais superficiais nas UGRHI 5 (Piracicaba / Capivari / Jundiaí), 6 (Alto Tietê) e 10 (Médio Tietê / Sorocaba). Adaptado de CETESB, 2007.

Os pontos amostrais, mostrados na Figura 3, apresentam distâncias médias de 90 km entre si, o que viabilizou um trabalho de campo adequado ao se considerar uma periodicidade bimestral das campanhas amostrais. Amostras de água para consumo humano foram coletadas em pontos localizados nos municípios atendidos pelos mananciais mostrados na Figura 3. A coleta foi realizada em edifícios públicos de acesso irrestrito. Neste caso, optou-se pela coleta da água proveniente de cavaletes ou de torneiras interligadas diretamente à rede de distribuição de água, evitando-se a amostragem da água proveniente de caixas d'água. As especificidades de cada ponto amostral e a descrição da região em que cada ponto encontra-se inserido são mostradas, detalhadamente, a seguir.

COTI 03900: Este ponto amostral é situado no Rio Cotia, no canal de captação de águas para a ETA Baixo Cotia, principal responsável pelo tratamento e distribuição de água de abastecimento público para os municípios de Barueri, Jandira e Itapevi. Nesta região, a SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo) é a concessionária dos serviços de água e esgoto e, por este motivo, o acesso a este ponto amostral é restrito. Desta maneira, não foi possível realizar coletas no canal de captação de águas utilizado pela SABESP, sendo assim, o ponto de coleta de água bruta localiza-se à aproximadamente 100 m à montante da ETA Baixo Cotia. Neste mesmo município, amostras de água para consumo humano foram coletadas em torneiras em dois pontos, nas dependências do Velório Municipal e outro nas dependências do posto BR da Av. Henriqueta Mendes Guerra.

SORO 02700: Este ponto amostral localiza-se no Rio Sorocaba, à jusante do ponto de captação do Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) do município de Cerquilha. A SAAEC é a autarquia municipal responsável pela captação, tratamento e distribuição de água para consumo humano em Cerquilha. A captação das águas do Rio Sorocaba é realizada por dois conjuntos de motobombas que bombeiam a água bruta por meio de 4.300 metros de adutora até a ETA Caldana. Assim como em Barueri, o acesso ao ponto de captação é restrito, entretanto, o ponto de monitoramento da CETESB é localizado na estrada que liga os municípios de Cerquilha e Cesário Lange, sendo um local de livre acesso. O local selecionado para a amostragem da água do Rio Sorocaba foi uma ponte da estrada intermunicipal, ponto *CRQ RAW*. Amostras de água para consumo humano foram coletadas em torneira situada na parede externa do Ginásio Municipal de Esportes Mário Pilon, ponto *CRQ TAP*.

ATIB 02010: Este ponto amostral é situado na estação de captação de águas da SAAE (Saneamento Ambiental de Atibaia) no Rio Atibaia. No município de Atibaia, cerca de 80% da água distribuída à população é oriunda do Rio Atibaia. A água bruta é captada por três conjuntos de motobombas e enviada para tratamento convencional nas ETA I e II, localizadas na sede central da SAAE. O acesso ao ponto de captação foi permitido e, portanto, a coleta de água bruta foi realizada nas dependências da SAAE, às margens do Rio Atibaia, ponto *ATB RAW*. A coleta de amostras de água para consumo humano foi realizada em um cavalete situado no edifício da Prefeitura de Atibaia, ao lado da entrada principal da Secretaria de Infraestrutura. Este ponto amostral, denominado *ATB TAP*, situado na Av. 3º Centenário esquina com a Av. Horácio Neto, localiza-se a menos de 200 m da sede central da SAAE.

ATIB 02065: Situado no Rio Atibaia, ao lado da captação de água bruta da SANASA (Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento S/A) este ponto é denominado *CPS RAW*. Cerca de 95% da população de Campinas é abastecida pelas águas do Rio Atibaia após tratamento nas ETA 1, 2, 3 e 4. Amostras de água para consumo humano foram coletadas no Parque Portugal, ponto *CPS TAP*.

TGDE 0900: Este ponto é situado na barragem do Reservatório Tanque Grande, um dos mananciais utilizados pela SAAE (Serviço Autônomo de Água e Esgoto) de Guarulhos, para o abastecimento da população do município. A vazão total captada pelo município é de 3.700 L s^{-1} , sendo que apenas 3% é oriunda do Reservatório Tanque Grande. Entretanto, toda água proveniente deste manancial é tratada convencionalmente na ETA Tanque Grande e distribuída apenas para a população residente no bairro Jardim Fortaleza, mais afastado do centro da cidade de Guarulhos. Amostras de água bruta foram coletadas no Reservatório Tanque Grande, ponto *GRU RAW*, à montante da captação de água para tratamento, enquanto que a coleta de água para consumo humano foi realizada no Posto de Saúde USF do Jardim Fortaleza, ponto *GRU TAP*.

Todas as amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar. Cerca de um litro (1L) de amostra foi coletada em cada manancial superficial, enquanto que amostras de água tratada e de água subterrânea foram coletadas em frascos com capacidade para armazenar cerca de quatro litros (4 L) de água. Antes da coleta, todos os frascos foram ambientados com a própria água a ser coletada. Após a coleta, os frascos contendo as amostras foram selados com papel alumínio, tampados e acondicionados em caixa de isopor para transporte. Durante todo o período de amostragem foram utilizadas luvas nitrílicas limpas para evitar a contaminação das amostras. No laboratório ou em locais apropriados, as amostras foram preservadas a $4 \text{ }^\circ\text{C}$, em refrigerador, até a realização dos procedimentos de extração dos compostos alvos.

REAGENTES E PADRÕES

Todos os reagentes empregados durante o tratamento das amostras apresentaram elevado grau de pureza. O metanol utilizado na etapa de extração, preparação dos extratos e injeção foi de grau nanograde ou pesticida (Mallinckrodt e/ou J.T. Baker). A Tabela 1 mostra os compostos investigados neste trabalho, assim como algumas informações sobre os padrões utilizados. A Figura 4 mostra a estrutura química dos compostos alvos.

Tabela 1: Compostos investigados neste trabalho e padrões utilizados para identificação e quantificação

Compostos	Fórmula	Massa exata (g mol ⁻¹)	Abreviação	Número CAS ^a	Marca	Pureza (%)
Atrazina	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215,68	ATZ	1912-24-9	Sigma	99+
Bisfenol A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228,12	BPA	80-05-7	Aldrich	97
Cafeína	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,19	CAF	58-08-2	Aldrich	99
Dietilstilbestrol	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	268,12	DES	56-53-1	Sigma	99+
Estrona	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270,16	E1	53-16-7	Aldrich	99+
17β-Estradiol	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272,18	E2	50-28-2	Aldrich	97
Estriol	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	288,17	E3	50-27-1	Fluka	97+
17α-Etinilestradiol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,18	EE2	57-63-6	Aldrich	98
Fenoltaleína	C ₂₀ H ₁₄ O ₄	318,32	PhPh	77-09-08	Riedel	98+
4-n-nonilfenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220,18	nNP	104-40-5	Supelco	99+
4-n-octilfenol	C ₁₄ H ₂₂ O	206,17	nOP	1806-26-4	Supelco	99+
Mestranol	C ₂₁ H ₂₆ O ₂	310,44	MEE	72-33-3	Aldrich	-
Levonorgestrel	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	312,5	NGT	797-63-7	Sigma	99
Progesterona	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314,47	PROG	57-83-0	Aldrich	98
Testosterona	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288,42	TTN	58-22-0	Sigma	99+
Triclosan	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂	289,54	TCS	3380-34-5	Fluka	97+

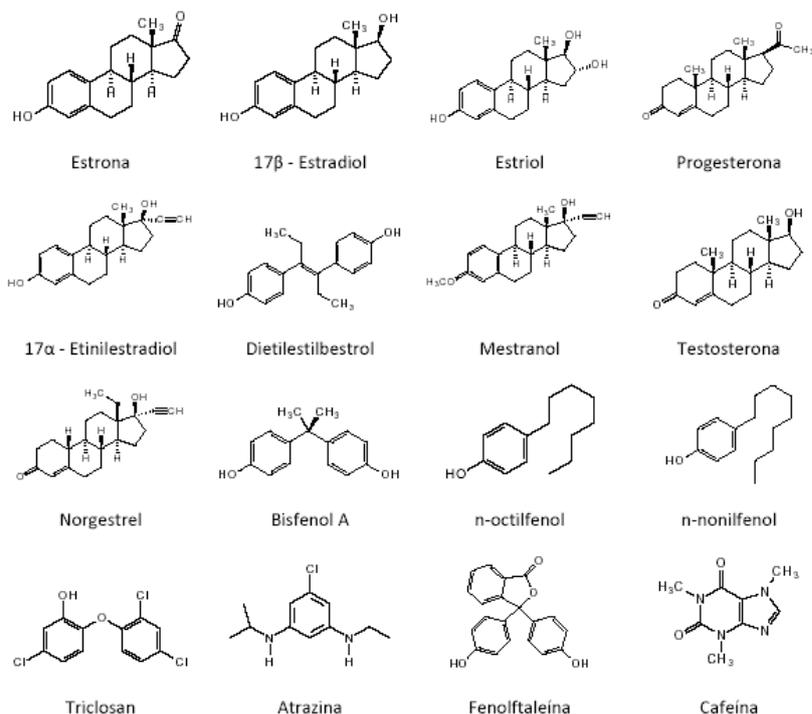


Figura 4: Estrutura química dos 16 compostos abordados neste trabalho.

Soluções-estoque dos compostos foram preparadas em metanol a partir da medição exata da massa dos padrões. Em seguida, foram armazenadas em refrigerador ($\leq 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) por, no máximo, quarenta e cinco dias. Soluções de trabalho, obtidas por meio da diluição das soluções estoque, foram preparadas em H₂O:MeOH 70:30 (v/v) e armazenadas em geladeira por, no máximo, duas semanas. A quantificação dos compostos foi realizada por meio da construção de curvas analíticas.

PREPARO DE AMOSTRAS

Todos os compostos foram extraídos empregando-se métodos de extração em fase sólida (SPE). A extração foi realizada a vácuo empregando-se cartuchos HLB Oasis (Waters) contendo 500 mg de fase sólida condicionados com 6 mL de metanol. Antes da extração, amostras de águas superficiais foram filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45 μm de porosidade para separar a fração operacionalmente definida como dissolvida. Após a filtração, cerca de um litro de cada amostra de água superficial foi utilizado para extração. A extração dos compostos alvos em águas para consumo humano e águas subterrâneas foi realizada empregando-se 4 L de amostra. Grande parte destas amostras, principalmente aquelas provenientes de redes de distribuição, foi submetida à extração sem a necessidade de uma etapa adicional de filtração. Após a extração, os cartuchos foram mantidos sob um fluxo brando de N₂ 4.0 para eliminar o excesso de umidade. A eluição dos compostos foi feita a 8 mL min⁻¹ em um manifold à vácuo de 12 portas (PrepSep - Fisher Scientific) por meio da adição de 6 mL de metanol em cada cartucho de extração. Cada eluato foi recolhido em tubo de ensaio de 7 mL de capacidade com tampa de PTFE (Teflon® - politetrafluoretileno). O volume de cada extrato foi reduzido sob fluxo de N₂ 4.0 até cerca de 1,0 mL. O material restante foi transferido, quantitativamente, para vial de 2,0 mL de capacidade munido de tampa com septo (Agilent). Finalmente, o eluato restante foi seco sob N₂ 4.0 e o volume final foi ajustado para 500 μL por meio da adição de uma solução H₂O:MeOH 70:30 (v/v) contendo 0,1% de NH₄OH.

QUANTIFICAÇÃO DOS ANALITOS

A quantificação dos contaminantes emergentes foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS-MS). Foi utilizado um cromatógrafo Agilent modelo 1200, equipado com bomba binária, injetor automático e compartimento de coluna termostaticado. A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna Zorbax SB-C18 (2,1x30 mm, tamanho de partícula de 3,5 μm) a 25°C. A fase móvel foi constituída de água ultrapura (A) e metanol (B), previamente filtrados em membranas com 0,2 μm de porosidade, contendo 0,1% (v/v) de NH₄OH, um aditivo à formação de íons. A composição do gradiente, em função da concentração do solvente B, foi a seguinte: início com 30% e aumento para 70% em 3 min seguido do aumento para 100% em 5 min. Esta composição foi mantida por 5 min. Entre cada corrida cromatográfica o sistema era mantido à 30% de B por 6 min para recondicionamento da coluna. O tempo total de cada corrida cromatográfica, a uma vazão de 0,3 mL min⁻¹, foi de 16 min incluindo-se o tempo destinado ao condicionamento da coluna. A identificação e a quantificação dos compostos foram realizadas por espectrometria de massas em um equipamento Agilent com triplo quadrupolo (modelo 6410B) equipado com bomba de vácuo auxiliar operando na célula de colisão (Hot Box). Os analitos foram ionizados em uma fonte de electrospray nos modos negativo e positivo. Nitrogênio ultrapuro foi utilizado na célula de colisão e como gás de arraste/secagem a uma vazão de 10 L min⁻¹ (350°C). A pressão do nebulizador foi fixada em 35 psi e a voltagem RF na interface entre o espectrômetro e a fonte de ionização foi fixada em 4000 V. Os analitos foram monitorados pelo modo MRM (*Multiple Reaction Monitoring*) e os parâmetros estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros do espectrômetro de massas para a quantificação dos 16 compostos alvos.

Composto	Notação	IP ^a	Frag. ^b	Quantificação		Confirmação 1		Confirmação 2	
				m/z	EC ^c	m/z	EC ^c	m/z	EC ^c
ATZ	[M+H] ⁺	216,2	100	174,1	15	132,1	15	103,9	15
BPA	[M-H] ⁻	227,0	110	132,9	25	210,9	30	-	-
CAF	[M+H] ⁺	195,1	110	138,1	15	110,1	20	69,1	20
DES	[M-H] ⁻	267,2	130	222,0	30	237,1	25	251,1	15
E1	[M-H] ⁻	269,0	100	144,9	30	182,9	35	143,0	40
E2	[M-H] ⁻	271,0	90	144,9	30	183,0	35	143,0	40
E3	[M-H] ⁻	287,0	110	170,9	30	144,9	35	143,0	40
EE2	[M-H] ⁻	295,0	100	144,9	30	158,9	30	143,0	40
PhPh	[M-H] ⁻	317,1	90	93,1	05	272,2	15	180,2	20
nNP	[M-H] ⁻	219,0	120	106,0	15	119,0	35	-	-
nOP	[M-H] ⁻	205,0	120	106,0	15	132,0	25	-	-
MEE	[M+H] ⁺	311,2	110	121,1	20	91,1	50	159,2	05
NGT	[M+H] ⁺	313,3	130	91,2	60	109,1	20	77,2	60
PROG	[M+H] ⁺	315,3	130	97,2	15	109,1	25	79,2	50
TTN	[M+H] ⁺	289,3	130	97,1	20	109,1	25	79,1	40
TCS	[M-H] ⁻	287,0	70	35,1	05	37,1 [†]	05	-	-

^a Ion Precursor^b Fragmentor^c Energia de Colisão[†] Ion Precursor 289,0

RESULTADOS

A Tabela 3 apresenta as figuras de mérito do método analítico empregado. As faixas de trabalho foram determinadas de acordo com a sensibilidade do método para cada analito e as respectivas concentrações médias encontradas nas amostras analisadas. O limite de quantificação variou entre 0,5 e 10 ng L⁻¹, para norgestrel e dietilestilbestrol respectivamente, e o coeficiente de correlação variou de 0,7782 para o n-octilfenol e 0,9987 para estrona.

Tabela 3: Figuras de mérito do método analítico empregado na quantificação dos compostos alvo.

Composto	Faixa linear (pg na coluna)	LD (pg na coluna)	LQ (pg na coluna)	LD (ng L ⁻¹)	LQ (ng L ⁻¹)	r
ATZ	12,5 - 2000	60	197,5	2,4	7,9	0,8601
BPA	12,5 - 3000	12,5	25	0,5	1,0	0,9527
CAF	62,5 - 2000	25	62,5	1,0	2,5	0,9948
DES	5 - 500	125	250	5,0	10	0,8505
E1	12,5 - 500	12,5	25	0,5	1,0	0,9987
E2	25 - 500	25	62,5	1,0	2,5	0,9877
E3	25 - 2000	0,5	25	0,5	1,0	0,9975
EE2	62,5 - 3000	62,5	125	2,5	5,0	0,9852
PhPh	12,5 - 500	12,5	25	0,5	1,0	0,9921
nNP	12,5 - 125	12,5	25	0,5	1,0	0,9821
nOP	25 - 500	12,5	25	0,5	1,0	0,7782
MEE	125 - 1500	62,5	125	2,5	5,0	0,9678
NGT	12,5 - 250	12,5	12,5	0,5	0,5	0,8314
PROG	25 - 250	12,5	25	0,5	1,0	0,9949
TTN	12,5 - 3000	12,5	25	0,5	1,0	0,9832
TCS	125 - 2000	25	125	1,0	5,0	0,9549

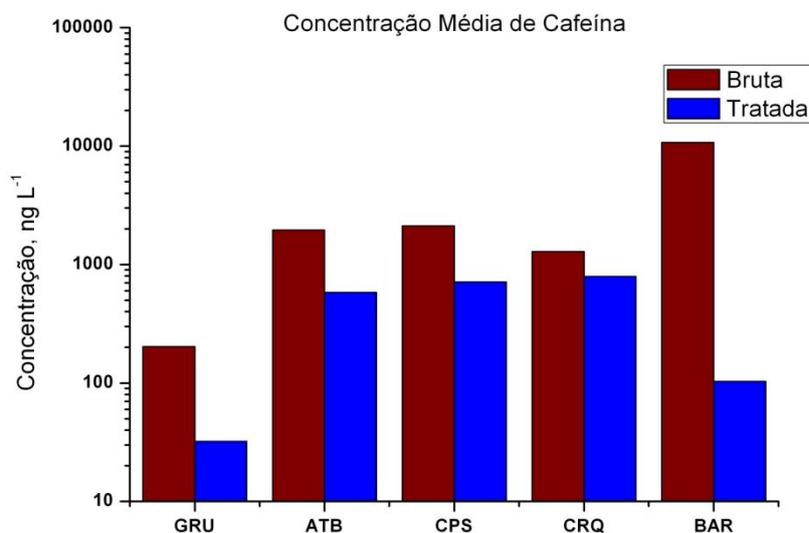


Figura 5: Concentração média de cafeína em amostras de água bruta e tratada.

A Figura 5 apresenta as concentrações médias de cafeína encontradas nas amostras de água bruta e tratada das cinco cidades investigadas. Pode-se observar que a distribuição da concentração média de cafeína em água bruta é coerente com a qualidade dos mananciais (IAP) divulgados pela CETESB, ou seja, os mananciais que

apresentaram as maiores concentrações de cafeína foram aqueles que receberam os piores índices pela agência. Por meio da visualização das concentrações médias de cafeína em água bruta e água tratada, é possível avaliar a eficiência das ETA na remoção desta substância pelos tratamentos convencionais de água. Verifica-se que na cidade de Guarulhos foram encontradas as menores concentrações de cafeína, tanto para o manancial quanto para a água tratada, entretanto, a ETA Baixo Cotia da cidade de Barueri apresentou uma capacidade de remoção de cafeína superior à ETA de Guarulhos. Também é ilustrado que a capacidade de remoção de cafeína pelas ETA das cidades de Atibaia, Campinas e Cerquillo foram sequencialmente menores. Com base nestas informações pode-se inferir que a preservação do manancial contribui com o processo de tratamento, contudo, se as operações unitárias das ETA estiverem mal equacionadas, a água tratada pode apresentar substâncias em concentrações superiores à água tratada proveniente de mananciais pouco preservados. Estes resultados ainda demonstram que, apesar de as ETA produzirem água tratada que atendam os padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde, o tratamento convencional pode não remover completamente outras substâncias presentes na água bruta. Outra informação que se constata é que uma substância, possivelmente proveniente de contaminação antrópica, está presente na para consumo humano.

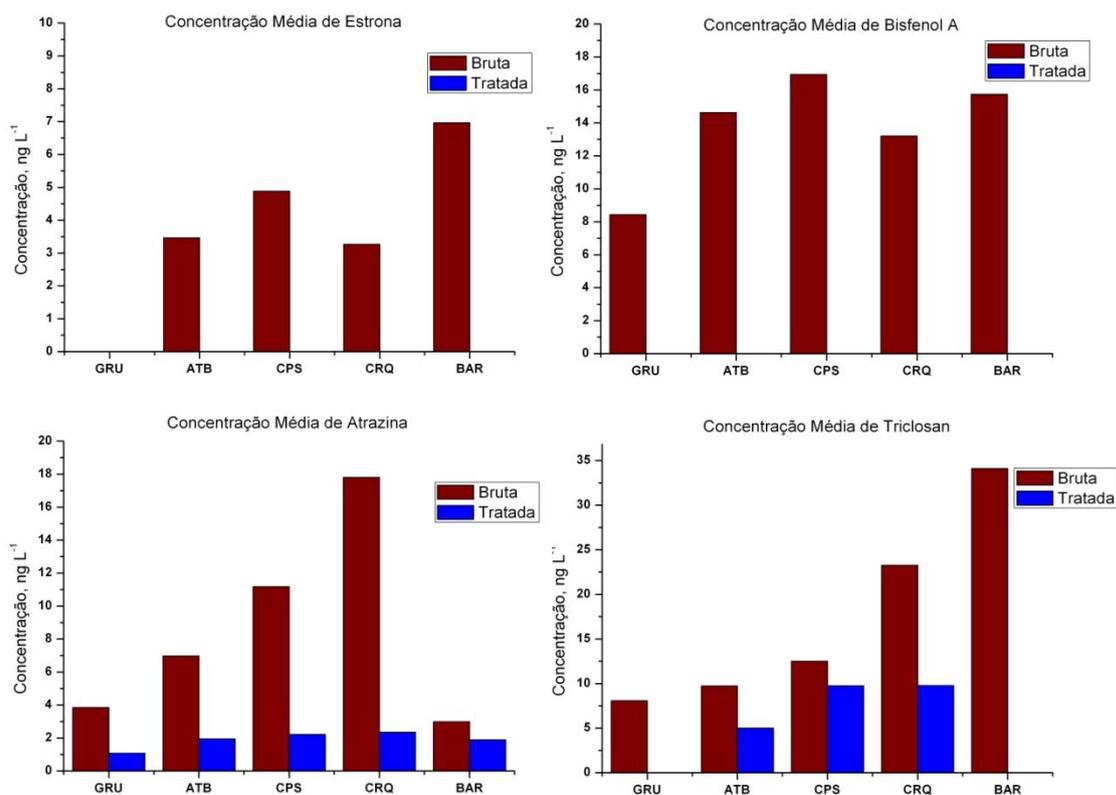


Figura 6: Concentrações médias de estrona, bisfenol A, atrazina e triclosan em água bruta e tratada.

Na Figura 6 são apresentadas as concentrações médias de estrona, bisfenol A, atrazina e triclosan em água bruta e tratada das cidades de Guarulhos, Atibaia, Campinas, Cerquillo e Barueri. Observa-se que, com exceção da estrona nas amostras de água bruta de Guarulhos, as quatro substâncias são encontradas nos mananciais estudados e suas concentrações seguem um perfil semelhante às concentrações de cafeína. Novamente observa-se que as concentrações encontradas para cada substância nos diferentes mananciais corroboram com o IAP de cada corpo aquático. Estrona e bisfenol A não foram encontrados em concentrações quantificáveis em todas as amostras de água tratada, demonstrando que as ETA foram capazes de remover as concentrações destas substâncias para valores inferiores aos limites de quantificação do método empregado. Apesar de a atrazina ser contemplada na legislação e, as concentrações encontradas para esta substância nas amostras de água tratada atenderem os níveis exigidos, os dados de água bruta e tratada para este composto demonstram que a ETA de Cerquillo apresentou a maior capacidade de remoção de atrazina, seguido das ETA das cidades de Campinas e Atibaia. O perfil de concentração de atrazina na água bruta nas cinco cidades é coerente com o uso e ocupação do solo em cada região, e sua fonte mais provável é da aplicação desta substância nas plantações de cana-de-açúcar. Para triclosan as concentrações em água bruta novamente estão

relacionadas com a preservação do manancial e, para água tratada verifica-se que em Atibaia, Campinas e Cerquilha esta substância chega até o consumidor final. Assim como para cafeína, a remoção de triclosan pela ETA Baixo Cotia de Barueri foi superior às porcentagens de remoção para mesma substância nas ETA de Guarulhos, Cerquilha, Atibaia e Campinas, respectivamente.

Os demais compostos monitorados foram detectados em várias amostras de água bruta, porém não apresentaram concentrações quantificáveis tanto para água bruta quanto para água tratada.

CONCLUSÃO

Conforme esperado, a cafeína foi a substância avaliada que apresentou as maiores concentrações nas amostras de água bruta e tratada. Estes resultados estão intimamente relacionados com o alto consumo desta substância e a precariedade do sistema nacional de saneamento básico. As faixas das concentrações encontradas para cafeína confirmam a possibilidade de quantificação desta substância tanto em água bruta quanto tratada por métodos mais simples. Apesar do rio Cotia ter apresentado a maior concentração média de cafeína, a ETA Baixo Cotia de Barueri apresentou a maior capacidade de remoção dentre as ETA avaliadas, no entanto a concentração média de cafeína na água tratada de Barueri foi superior à encontrada na água tratada da cidade de Guarulhos.

Os resultados de estrona, bisfenol A, atrazina e triclosan indicam que a ocorrência destas substâncias nos mananciais estudados está relacionada a qualidade do rio e que, em alguns casos, as ETA não são capazes de remover completamente estes poluentes. Assim, verifica-se que, apesar de as ETA produzirem água tratada que atenda a portaria em vigência do Ministério da Saúde, o tratamento convencional não impede que substâncias que oferecem risco à saúde sejam enviadas à população pelo sistema de abastecimento público.

Assim, a facilidade na determinação de cafeína por técnicas pouco sofisticadas e sua correlação na concentração de outras substâncias, classificam a cafeína como um importante traçador químico.

RECOMENDAÇÃO

A inclusão do monitoramento de cafeína nos ensaios de rotina é sugerida para avaliar, em paralelo com o monitoramento de *E. Coli*, o nível de contaminação das águas bruta e tratada por esgoto doméstico, empregando assim um indicador microbiológico e outro químico. Este monitoramento foi sugerido na proposta da ABES-SP na reformulação da portaria 518/2004 do Ministério da Saúde, tendo em vista que estes dados podem ser utilizados para inferir sobre a possível ocorrência de substâncias não contempladas na legislação tanto em água bruta quanto tratada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHEEK, A.O., VONIER, P.M., OBERDÖRSTER, E., BUROW B.C., MCLACHLAN, J.A. Environmental signaling: a biological context for endocrine disruption. *Environ. Health Perspect.*, v 106, p. 5-10, 1998.
2. GHISELLI, G., JARDIM, W.F. Interferentes endócrinos no ambiente. *Química Nova*, v 30, p. 695-706, 2007.
3. CUNNINGHAM, A.R., KLOPMAN, G., ROSENKRANZ, H.S. A dichotomy in the lipophilicity of natural estrogens, xenoestrogens, and phytoestrogens. *Environ. Health Perspect.*, v105, p. 665-668, 1997.
4. SONNENSCHNEIN, C., SOTO, A.M. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, v 65, p.143-150, 1998.
5. BUERGE, I.J., POIGER T., MULLER, M.D., BUSER, H.R. Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. *Environ. Sci. Technol.*, v 37; p. 691, 2003.
6. GARDINALI, P.R., ZHAO, X. Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (LC-APCI-MS). *Environ. Int.*, v 28, p. 521, 2002.
7. RAIMUNDO, C.C.M. Contaminantes emergentes em água tratada e seus mananciais: sazonalidade, remoção e atividade estrogênica. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, 204 pp. 2011.

8. FROEHNER, S., SOUZA, D.B., MACHADO, K.S., ROSA, E.C. Tracking anthropogenic inputs in Barigui River, Brazil using biomarkers. *Water Air Soil Pollut.*, v 210, p. 33, 2010.
9. YOUNG, T.A., HEIDLER, J., MATOS-PEREZ, C.R., SAPKOTA, A., TOLER, T., GIBSON, K.E., SCHWAB, K.J., HALDEN, R.U. An initio and in situ comparison of caffeine, triclosan, and triclocarban as indicators of sewage-derived microbes in surface waters. *Environ. Sci. Technol.*, v 42, p. 3335, 2008.
10. GONÇALVES, E.S. Uso da Cafeína como Indicador de Contaminação por Esgoto Doméstico em Águas Superficiais. Dissertação de mestrado; Universidade Federal Fluminense, 90 pp., 2008.
11. FERREIRA, C.G., ROCHA, J.C. *Oncologia Molecular*. Ed. Atheneu, São Paulo, p.136, 2004.
12. GLASSEMAYER, S.T., FURLONG, E.T., KOLPIN, D.W., CAHILL, J.D., ZAUGG, S.D., WERNER, S.L., MEYER, M.T., KRYAK, D.D. Transport of chemical and microbial compounds from known wastewater discharges: Potential for use as indicators of human fecal contamination. *Environ. Sci. Technol.*, v 39; p. 5157, 2005.
13. CHEN, P., PAVELIC, P., DILLON, P., NAIDU, R. Determination of caffeine as a tracer of sewage effluent in natural waters by SPE-LC-DAD. *Water Res.*, v 36; p. 4830, 2002.
14. PIOCOS, E.A., DE LA CRUZ, A.A. SPE-HPLC-DAD of chemical indicators of human fecal contamination in water. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, v 23; p. 1281, 2000.
15. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Censo 2010.
16. LEE, H.B., PEART, T.E. Determination of bisphenol A in sewage effluent and sludge by solid-phase and super critical fluid extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *J AOAC Int.*, v 83, P. 290-297, 2000.
17. NASU, M., GOTO, M., KATO, H., OSHIMA, Y., TANAKA, H. Study on endocrine disrupting chemicals in wastewater treatment plants. *Water Sci. Technol.*, v 43, p. 101-108, 2001.
18. LÓPEZ DE ALDA, M.J., BARCELÓ, D. Determination of steroid sex hormones and related synthetic compounds considered as endocrine disrupters in water by LC-DAD-MS. *J. Chromatogr. A*, v 892, p. 391, 2000.
19. SHIMADA, K., MITAMURA, K., HIGASHI, T. Gas chromatography and high performance liquid chromatography of natural steroids. *J. Chromatogr. A*, v 935, p. 141-172, 2001.
20. DINIZ, M.S., PERES, I., MAGALHÃES-ANTOINE, I., FALLAB, J., PIHAN, J.C. Estrogenic effects in crucian carp (*Carassius carassius*) exposed to treated sewage effluent. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v 62, p. 427, 2005.
21. SALO, H.M., HEBERT, N., DAUTREMEPUITS, C., CEJKA, P., CYR, D.G., FOURNIER, M. Effects of Montreal municipal sewage effluents on immune responses of juvenile female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicol.*, v 84; p. 406, 2007.
22. PICKERING, A.D., SUMPTER, J.P. Comprehending endocrine disrupters in aquatic environments. *Environ. Sci. Technol.*, v 37; p. 331, 2003.
23. WESTERHOFF, P., YOON, Y., SNYDER, S., WERT, A. Fate of endocrine-disruptor, pharmaceutical, and personal care product chemicals during simulated drinking water treatment processes. *Environ. Sci. Technol.*, v 39; p. 6649, 2005.
24. LINTELMANN, J., KATAYAMA, A., KURIHARA, N. Endocrine disruptors in the environment. *Pure Appl.Chem.*, v 75; p. 631, 2003.

25. CAMPBELL, C.G., BORGLIN, S.E., GREEN, F.B., GRAYSON, A., WOZEI, E., STRINGFELLOW, W.T. Biologically directed environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic endocrine disrupting compounds in water: a review. *Chemosphere*, v 65; p. 1265, 2006.
26. CETESB Relatório de qualidade das águas superficiais no Estado de São Paulo (2009), Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, Secretaria de Estado do Meio Ambiente, Série Relatórios, São Paulo. Disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br/publicacoes/publicacoes.asp>