

IV-091 - AVALIAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES NO RIO GUANDU, ESTADO DO RIO DE JANEIRO (BRASIL)

Flávia Maria da Silva Licurgo⁽¹⁾

Química Industrial pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Mestre em Química com área de concentração em Química Orgânica pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Alexsandro Araujo da Silva⁽²⁾

Bacharel/Licenciatura em Química e Mestre em Agroquímica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Doutor em Ciências/Química pela Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Prof. Adjunto IV no Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (IQ/UERJ).

Daniele Maia Bila⁽³⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Mestre, Doutora em Engenharia Química pela COPPE/UFRJ. Prof. Adjunto no Depto. de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da FEN/UERJ.

Endereço⁽¹⁾: Rua São Francisco Xavier, 524 - Maracanã - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 20550-900 - Brasil - Tel: +55 (21) 2334-0032 - e-mail: flavia-li@hotmail.com

RESUMO

Os ftalatos e alquilfenóis são grupos de substâncias classificadas como desreguladores endócrinos (DEs) por órgãos internacionais, sendo assim, sua presença nas diversas matrizes ambientais é preocupante, visto que mesmo em concentrações muito baixas são capazes de alterar o funcionamento normal de um organismo podendo causar anomalias no sistema reprodutor animal, câncer, obesidade, infertilidade, entre outros. No Brasil, há poucos estudos sobre a ocorrência e comportamento dos ftalatos e alquilfenóis no meio ambiente. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi estudar a presença do dimetil ftalato (DMP), bis(2-etil-hexil) ftalato (DEHP), 4-octilfenol (4-OP) e 4-nonilfenol (4-NP) em água superficial e potável provenientes do rio Guandu, que é um dos principais rios de abastecimento público do Estado do Rio de Janeiro, Brasil, e avaliar seus potenciais estrogênicos. Para isto, entre março e dezembro de 2015, foram realizadas seis amostragens: de água superficial, nos municípios de Nova Iguaçu e Japeri, e de água potável, no município de Nova Iguaçu, próximo à estação de tratamento de água da região. Uma metodologia analítica foi desenvolvida utilizando extração em fase sólida combinada à cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas em modo de monitoramento seletivo de íons (EFS-CGAR-EM-MSI) para a separação e quantificação simultânea dos DEs estudados. O menor limite de detecção (LD) do método foi de 5,8 µg.L⁻¹, para o DMP, e o maior LD foi de 39,6 µg.L⁻¹, para o 4-NP. As curvas dos padrões obedeceram aos critérios do INMETRO, apresentando boa linearidade, com $r > 0.90$. Foi utilizado o ensaio *in vitro* Yeast Estrogen Screen (YES) para se determinar a atividade estrogênica dos ftalatos e alquilfenóis e das amostras de água, tendo sido observado que o DMP, 4-OP e 4-NP apresentaram resposta estrogênica nas faixas de concentração analisadas e que 75% das amostras de água superficial apresentaram atividade estrogênica, alcançando um valor de EQ-E2 de 1,6 ng.L⁻¹. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o método analítico desenvolvido e sua aplicação foi uma importante contribuição para o estudo de DEs presentes nas águas do rio Guandu.

PALAVRAS-CHAVE: Desreguladores Endócrinos, Ftalatos, Alquilfenóis, Yeast Estrogen Screen, Cromatografia Gasosa.

INTRODUÇÃO

Produtos sintéticos são fabricados diariamente para facilitar as práticas industriais e suprir necessidades domésticas e pessoais, com isso diversas substâncias químicas são lançadas no meio ambiente contaminando diferentes matrizes ambientais. Muitas são lançadas *in natura* nos corpos d'água causando contaminação permanente, o que pode provocar sérios riscos à saúde de seres humanos e de outros animais¹.

Devido a isso, a comunidade científica tem focado sua atenção sobre contaminantes emergentes como fármacos, hormônios e produtos de cuidado pessoal. Substâncias como o bisfenol A e as pertencentes à classe dos alquilfenóis e ftalatos são também motivo de preocupação e precisam ser monitoradas, pois são capazes de prejudicar a biota aquática, ainda que em pequenas concentrações. Esta preocupação decorre do fato de que essas e outras substâncias são capazes de prejudicar o sistema endócrino de animais expostos constantemente a elas. Pouco se sabe a respeito dos possíveis efeitos que podem causar à saúde humana. Algumas evidências sugerem que a antecipação da menarca, a deterioração da qualidade do sêmen e o aumento da incidência de câncer de mama podem estar relacionados à exposição humana a esses compostos².

Em seres humanos e animais a desregulação endócrina é um mecanismo de efeito relacionado ao funcionamento do sistema endócrino. Segundo a União Européia (UE), um desregulador endócrino pode: danificar diretamente um órgão endócrino; alterar diretamente a função de um órgão endócrino; interagir com um receptor de hormônios ou alterar o metabolismo de um hormônio em um órgão endócrino³.

Muitas substâncias possuem a capacidade de interferir no funcionamento normal do sistema endócrino, tais como substâncias sintéticas (alquilfenóis, ftalatos, pesticidas, policloretos de bifenila, bisfenol A, fármacos, entre outras) e substâncias naturais (metais pesados, estrogênios naturais e fitoestrogênios)⁴.

Nesse estudo, destacaram-se dois grupos: os ftalatos e os alquilfenóis. Optou-se por estudá-los, uma vez que podem ser encontrados em produtos muito comuns de uso industrial e doméstico. Os ftalatos são utilizados principalmente como plastificantes, o que significa que eles são comumente encontrados em diversos produtos, tais como embalagens de alimentos, brinquedos, tintas, artigos de higiene pessoal, cosméticos, entre outros⁵. Os alquilfenóis são derivados da degradação de seus compostos etoxilados⁶ que compõem a classe dos surfactantes não iônicos mais utilizados, podendo ser encontrados em detergentes, lubrificantes, praguicidas, antioxidantes e óleos lubrificantes^{7,8}.

Foram escolhidos dois ftalatos que compõem a lista de poluentes prioritários da United States Environmental Protection Agency (USEPA), sendo eles o dimetil ftalato e o bis(2-etil-hexil) ftalato⁹. Os alquilfenóis selecionados foram o 4-octilfenol e o 4-nonilfenol, pois esses compostos e seus isômeros integram a lista de substâncias prioritárias no campo da política da água, segundo a Diretiva 2013/39/EU do Parlamento Europeu e do Conselho da União Européia¹⁰.

A área selecionada para o estudo foi o rio Guandu, situado no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, que é destinado principalmente ao abastecimento para consumo humano. Foi, então, investigada a presença dos citados compostos nessa matriz aquática, em quais níveis atingem a população e se esses níveis podem apresentar algum risco à saúde.

Diante da gravidade da situação com relação à qualidade das águas utilizadas para o abastecimento público e por não se ter, no Brasil, nenhuma legislação que regulamenta a quantidade máxima aceitável destas substâncias em águas superficiais e potáveis, além da inexistência de relatos na literatura sobre a presença quantitativa ou não dessas substâncias no rio Guandu, veio a motivação para este trabalho em desenvolver uma metodologia analítica que pudesse contribuir para o entendimento do nível de contaminação no qual se encontra o principal rio de abastecimento público da cidade do Rio de Janeiro e seus afluentes.

Em vista disso, foi desenvolvida uma metodologia analítica utilizando a extração em fase sólida e a cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas em modo de monitoramento seletivo de íons (EFS-CGAR-EM-MSI) para detectar e quantificar ftalatos e alquilfenóis em água superficial e potável. Para avaliar a atividade estrogênica das substâncias estudadas e investigar se as águas provenientes do rio Guandu apresentam estrogenicidade, utilizou-se o ensaio *in vitro* Yeast Estrogen Screen (YES).

MATERIAIS E MÉTODOS

PRODUTOS QUÍMICOS E MATERIAIS

Os padrões analíticos dimetil ftalato (99.5%), bis(2-etil hexil) ftalato (99.7%), 4-octilfenol (99%) e 4-nonilfenol (99.8%), foram adquiridos da Sigma-Aldrich®. Todos os reagentes utilizados nos ensaios *in vitro* YES foram da Sigma-Aldrich® e possuíam alto grau de pureza, os solventes etanol anidro, metanol, hexano, diclorometano e acetona, todos de grau HPLC/Spectro, foram adquiridos da Tedia® Brasil. A água ultrapura foi obtida através do sistema de purificação MilliQ-Millipore. O ácido clorídrico P.A. foi obtido da Merck®. As membranas de fibra de vidro de 0.7 µm de porosidade (AP40) e de acetato de celulose de 0.45 µm de porosidade (HNWP) usadas na filtração das amostras de água foram da Merck Millipore. Para a extração em fase sólida utilizaram-se os cartuchos Strata-X (fase estacionária polimérica à base de estireno-divinilbenzeno com superfície modificada), 500 mg/6 mL da Phenomenex® e um sistema de extração Manifold, da Agilent Technologies. O gás nitrogênio, de pureza de 99.999%, foi adquirido da CityGas.

DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE AMOSTRAGEM

O rio Guandu está localizado no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, sendo destinado principalmente ao consumo humano. A bacia desse rio, incluindo seus afluentes, abrange uma região de 1400 km² e abastece 15 municípios. Para esse estudo foram coletadas amostras de água em dois municípios: Nova Iguaçu e Japeri. A **Figura 1** apresenta toda a região abastecida pelo rio Guandu e localiza os pontos de amostragem.

As amostragens foram realizadas em três pontos do rio Guandu:

- Ponto 1 - água bruta coletada na superfície do rio, no município de Nova Iguaçu, a, aproximadamente, 150 m antes da captação pela ETA;
- Ponto 2 - água bruta coletada na superfície do rio, no município de Japeri, a, aproximadamente, 17.5 Km antes da captação pela ETA;
- Ponto 3 - água potável coletada da torneira de um comércio localizado a, aproximadamente, 1 Km da saída da água da ETA após passar pelo tratamento convencional.

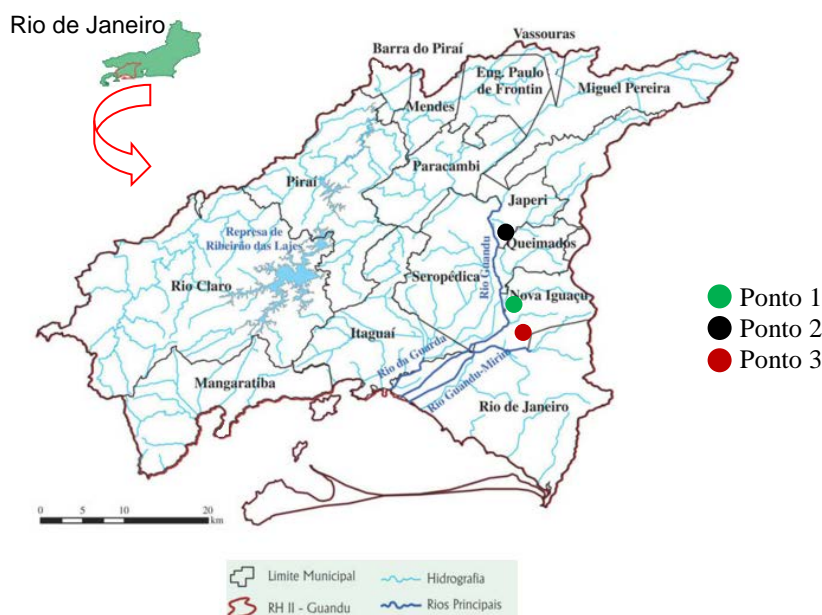


Figura 1: Pontos de amostragem de água bruta e potável do rio Guandu¹¹.

A **Tabela 1** apresenta as coordenadas (latitude e longitude) dos pontos de amostragem de água do rio Guandu.

Tabela 1: Coordenadas geográficas dos pontos de amostragem.

Pontos de amostragem	Latitude	Longitude
1	22° 48' 28.512" S	43° 37' 35.234" W
2	22° 39' 25.405" S	43° 39' 51.332" W
3	22° 50' 46.201" S	43° 36' 21.812" W

Para todos os pontos as amostras foram obtidas em duplicata para o ensaio YES e em triplicata para a análise cromatográfica. Foram realizadas 6 coletas entre março e dezembro de 2015, em dias de chuva ou dias secos (**Tabela 2**), sendo a primeira apenas dos pontos 1 e 2 e as demais coletas dos pontos 1 ao 3.

Tabela 2: Data e período de amostragem.

Amostragem	Data de coleta	Tempo
1 ^a	Março/2015	Chuvoso
2 ^a	Junho/2015	Chuvoso
3 ^a	Julho/2015	Seco
4 ^a	Setembro/2015	Seco
5 ^a	Novembro/2015	Seco
6 ^a	Dezembro/2015	Chuvoso

MÉTODOS ANALÍTICOS

EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (EFS)

Para a remoção do material particulado, as amostras foram filtradas à vácuo em membrana de fibra de vidro e de acetato de celulose com porosidades de 0.7 e 0.45 μm , respectivamente. Em seguida utilizou-se HCl (3 mol.L⁻¹) para ajuste do pH (a pH 2).

Antes de percolar as amostras pelos cartuchos de EFS (Strata X), estes foram condicionados com a seguinte sequência de solventes: 6 mL de hexano, 2 mL de acetona, 6 mL de metanol e 10 mL de água ultrapura a pH 3. Após o condicionamento, as amostras foram conectadas aos cartuchos através de canais de teflon isentos de plastificantes e percolaram pela fase sólida a um fluxo de, aproximadamente, 3 mL.min⁻¹.

Com o fim da extração dos analitos, foi feito o clean up com 10 mL de solução de metanol e água ultrapura (1:9), com o vácuo ligado sob fluxo de, aproximadamente, 3 mL.min⁻¹. Os analitos foram então eluídos com 4 mL de acetona e, em seguida, foram secos sob fluxo de N₂ e ressuspensos em 2 mL de etanol anidro, para os ensaios *in vitro* YES, e em 1 mL de diclorometano, para as análises cromatográficas.

Para avaliar a recuperação dos ftalatos e alquilfenóis, 1L de amostra de água superficial do rio Guandu foi fortificada com os padrões sintéticos DMP, DEHP, 4-OP e 4-NP em concentrações de 50 e 100 ng.L⁻¹, aproximadamente, em triplicata. Em seguida, essas amostras, assim como uma triplicata do branco, passaram por todas as etapas descritas anteriormente, sendo o eluato, após ter sido seco sob fluxo de N₂, ressuspensionado em 1 mL de diclorometano para análise e avaliação dos resultados pelo método cromatográfico desenvolvido.

CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

As soluções concentradas das amostras e dos padrões sintéticos de ftalatos e alquilfenóis obtidas no processo de EFS foram analisadas em cromatógrafo gasoso de alta resolução (456-GC, Bruker Daltonics Inc.) acoplado a um espectrômetro de massas (Scion MS-TQ, Bruker Daltonics Inc.) - CGAR-EM. A ionização foi realizada a 70 eV. Hélio, sob um fluxo constante de 1,2 mL.min⁻¹, foi usado como gás de arraste. Uma coluna de sílica BR-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm) foi utilizada com a seguinte programação do forno do CGAR: 100°C

(0.60 min), 220°C à 5°C/min, 275°C à 3°C/min (10 min). O volume de injeção foi de 2.0 µL em modo splitless. Ambas as temperaturas do injetor e da interface foram de 250°C, enquanto que a temperatura da fonte de íons foi de 230°C. As amostras e soluções-padrão foram analisadas em modo de monitoramento seletivo de íons (MSI) para identificação e quantificação dos compostos analisados.

As análises quantitativas foram realizadas utilizando o modo de padronização externa. Trabalhou-se com soluções-padrão contendo os ftalatos e alquilfenóis estudados em concentrações que variavam de 1 a 1000 µg.L⁻¹. Tais soluções foram preparadas a partir de diluições sucessivas da solução-estoque. Cada padrão foi identificado através de seus fragmentos de massa (**Tabela 3**). Para analisar e identificar os picos nos cromatogramas utilizou-se o software MS Workstation da Bruker (MSWS 8: System Control).

Após a análise dos dados foi possível avaliar a linearidade das curvas analíticas e determinar o limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) do método cromatográfico desenvolvido.

Tabela 3: Parâmetros de identificação das substâncias estudadas.

Compostos	Abreviação	T _R (min)	Íons monitorados (m/z)
Dimetil ftalato	DMP	9.55 ± 0.05	163
4-Octilfenol	4-OP	16.46 ± 0.02	107
4-Nonilfenol	4-NP	18.58 ± 0.02	107
Bis(2-etil hexil) ftalato	DEHP	31.05 ± 0.08	149, 167, 279

T_R = Tempo de Retenção.

ENSAIO IN VITRO YES

Os desreguladores endócrinos (DEs) tendem a mimetizar a atividade dos estrogênios naturais, como, por exemplo, o 17β-estradiol (E2). A atividade estrogênica das amostras de água foi calculada fazendo um comparativo à atividade do E2 (controle positivo) e expressando os resultados em equivalente estradiol (EQ-E2). As soluções-estoque do DMP, DEHP, 4-OP e 4-NP para o ensaio YES foram preparadas em etanol anidro, em diferentes concentrações, para se determinar em que faixa de concentração tais substâncias apresentam atividade estrogênica por este ensaio. A **Tabela 4** mostra a faixa das concentrações dos padrões de ftalatos e alquilfenóis analisadas no ensaio *in vitro* YES.

Tabela 4: Faixas das concentrações dos ftalatos e alquilfenóis testadas no ensaio YES.

Padrão	Concentração (µg.L ⁻¹)
DMP	23.25 – 47610.75
4-OP	24.99 – 51183
	24.75 – 50688
4-NP	26.07 – 53393
	26.1 – 53442.9
DEHP	29.43 – 60268.65
	46.61 – 95462.75

As amostras de água, após passarem pela etapa de extração em fase sólida (EFS), e as soluções dos padrões sintéticos foram analisadas, no ensaio YES, em duplicata, juntamente com a curva do 17β-estradiol (controle positivo), de acordo com o ensaio desenvolvido por Routledge e Sumpter¹².

RESULTADOS E DISCUSSÃO

AVALIAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO DESENVOLVIDO

Como resultado da metodologia cromatográfica desenvolvida, a linearidade, que é determinada através do coeficiente de correlação (r), foi obtida para cada curva analítica das substâncias estudadas. Para a avaliação da sensibilidade do método foram calculados o LD e o LQ. Há três formas de estimar esses parâmetros: método visual, método da relação sinal-ruído e método baseado em parâmetros da curva analítica. Utilizando a planilha desenvolvida por Ribeiro *et al.*¹³ foi possível calcular esses parâmetros baseando-se na curva analítica de cada composto, seguindo as orientações da ANVISA¹⁴ e do INMETRO¹⁵. A **Tabela 5** apresenta os resultados encontrados para a faixa de r , LD, LQ e taxa de recuperação dos analitos.

Tabela 5: Linearidade, LD, LQ e taxa de recuperação de cada composto.

Padrão	r	LD ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Recuperação (%)
DMP	0.9917 – 0.9997	5.8	6.0	81.6 ± 12.4
4-OP	0.9913 – 0.9986	10.6	11.1	122.6 ± 8.7
4-NP	0.9804 – 0.9990	39.6	39.9	115.7 ± 2.6
DEHP	0.9783 – 0.9894	7.3	7.5	98.2 ± 25.7

Os valores de r obtidos para todas as curvas analíticas estão em conformidade com os especificados pela ANVISA (0.99) ou pelo INMETRO (> 0.90). A técnica cromatográfica desenvolvida apresentou boa sensibilidade, alcançando limites de detecção de 5.8 a 39.6 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e limites de quantificação maiores ou iguais ao LD, como o esperado, variando de 6.0 a 39.9 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

De acordo com Ribani *et al.*¹⁶, os intervalos de recuperação aceitáveis na análise de resíduos a nível de traço geralmente estão entre 70-120% com precisão de até $\pm 20\%$. Com base nisso, pode-se observar que houve boa recuperação de todos os compostos estudados.

CONCENTRAÇÃO DOS FALATOS E ALQUILFENÓIS NAS ÁGUAS DO RIO GUANDU

As concentrações dos ftalatos e alquilfenóis encontradas nas amostras de água estão apresentadas nas **Figuras 2 a 4**. Tais resultados são expressos como a média aritmética das concentrações obtidas nas replicatas das amostras de cada ponto de coleta, uma vez que todo o procedimento foi realizado em triplicata.

As amostras foram coletadas em diferentes períodos: em dias de chuva e em dias secos. Os resultados obtidos mostram que o 4-OP não foi encontrado nas amostras. Em 50% das amostras de água superficial do rio Guandu, coletadas nos municípios de Nova Iguaçu e Japeri, e em 40% das amostras de água potável, o DEHP esteve presente em concentrações superiores a 1000 ng.L^{-1} . Essas altas concentrações foram encontradas nas coletas realizadas em dias de chuva, em março, junho e dezembro de 2015, para os três pontos de amostragem (1ª, 2ª e 6ª coletas, respectivamente). O DMP esteve mais presente, nos três pontos de amostragem, na 1ª e 2ª coletas, março e junho de 2015, respectivamente, que correspondem às coletas realizadas em dias de chuva, na faixa de concentração de 5.5 a 26.4 ng.L^{-1} . Materiais plásticos que contêm as substâncias analisadas e esgotos domésticos e industriais são carregados direta ou indiretamente para o rio Guandu, por meio dos rios que desagüam nele. Esses materiais são provenientes de resíduos sólidos que são comumente encontrados no interior ou mesmo na margem dos rios, onde passam dias liberando, no solo, essas e outras substâncias não abordadas nesse estudo, que podem ser arrastadas para os rios em época de cheia.

O 4-NP não seguiu esse padrão, tendo sido detectado na faixa de 49.4 a 172.6 ng.L^{-1} , em dias de chuva, e de 57.4 a 65.5 ng.L^{-1} , em dias secos.

O DEHP foi a substância encontrada em maiores concentrações em todos os pontos de coleta, provavelmente por ser o plastificante mais utilizado atualmente e seu uso no Brasil não ser proibido. A detecção de altas concentrações do DEHP nas águas do rio Guandu é preocupante, pois esse composto é classificado como desregulador endócrino, é tóxico para o sistema reprodutor e é considerado carcinogênico¹⁷.

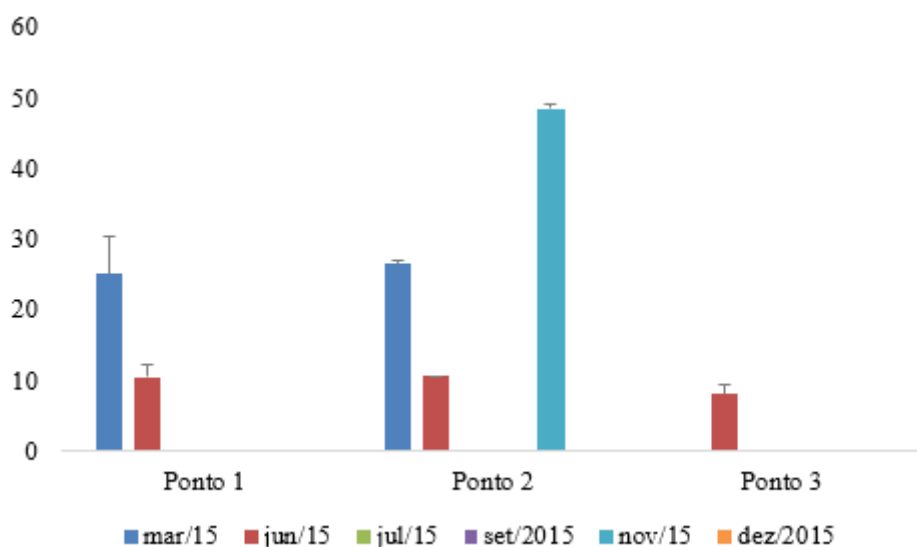


Figura 2: Concentrações do DMP em 1L de amostra de água provenientes do rio Guandu nos três pontos de coleta.

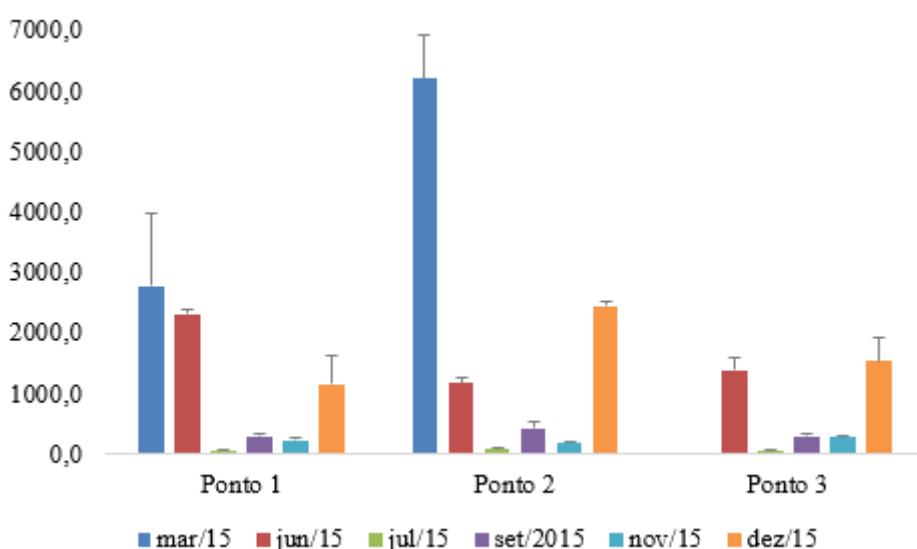


Figura 3: Concentrações do DEHP em 1L de amostra de água provenientes do rio Guandu nos três pontos de coleta.

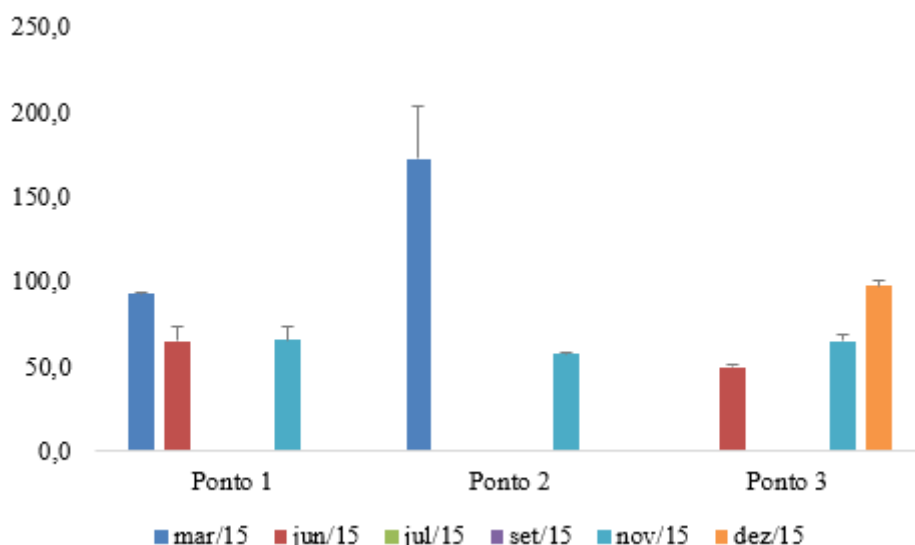


Figura 4: Concentrações do 4-NP em 1L de amostra de água provenientes do rio Guandu nos três pontos de coleta.

AVALIAÇÃO DO ENSAIO *IN VITRO* YES

Para cada ensaio, uma curva dose-resposta do controle positivo 17 β -estradiol foi construída, na faixa de 2724 a 1.3301 ng.L⁻¹. A média dos valores de CE₅₀ das curvas dose-resposta do 17 β -estradiol obtidas com os ensaios das amostras de água foi de 33.21 \pm 15.42 ng.L⁻¹.

Após terem sido realizados os ensaios dos padrões, foram construídas curvas dose-resposta dos mesmos que estão apresentadas na **Figura 5**, juntamente com a curva dose-resposta do 17 β -estradiol. A curva do DMP apresentada foi obtida na faixa de 23.25 x 10³ a 47.6 x 10⁶ ng.L⁻¹, a do DEHP, de 29.43 x 10³ a 60.3 x 10⁶ ng.L⁻¹, a do 4-OP, na faixa de 24.99 x 10³ a 51.2 x 10⁶ e a do 4-NP, de 26.07 x 10³ a 53.4 x 10⁶ ng.L⁻¹.

Nas faixas de concentração analisadas, observou-se que o DEHP foi o único composto que não apresentou atividade estrogênica. O DMP foi o único que apresentou uma curva sigmoidal semelhante à do controle positivo, sendo, portanto, possível realizar o cálculo da potência relativa (PR) estrogênica desse ftalato. Dessa forma observou-se que o DMP é 4.23 x 10⁻⁵ vezes menos estrogênico do que o 17 β -estradiol. Para ambas as faixas de concentração analisadas, o 4-OP apresentou toxicidade à *Saccharomyces cerevisiae* nas concentrações mais altas e deixou de causar a inibição do crescimento da levedura a partir de, aproximadamente, 1.6 x 10⁶ ng.L⁻¹.

Embora as concentrações do DMP e do 4-NP analisadas no ensaio YES tenham sido muito maiores do que as encontradas nas amostras, a resposta estrogênica apresentada por tais compostos é preocupante, pois podem contribuir para o efeito sinérgico, já que nas amostras naturais estão presentes vários outros compostos com atividade estrogênica.

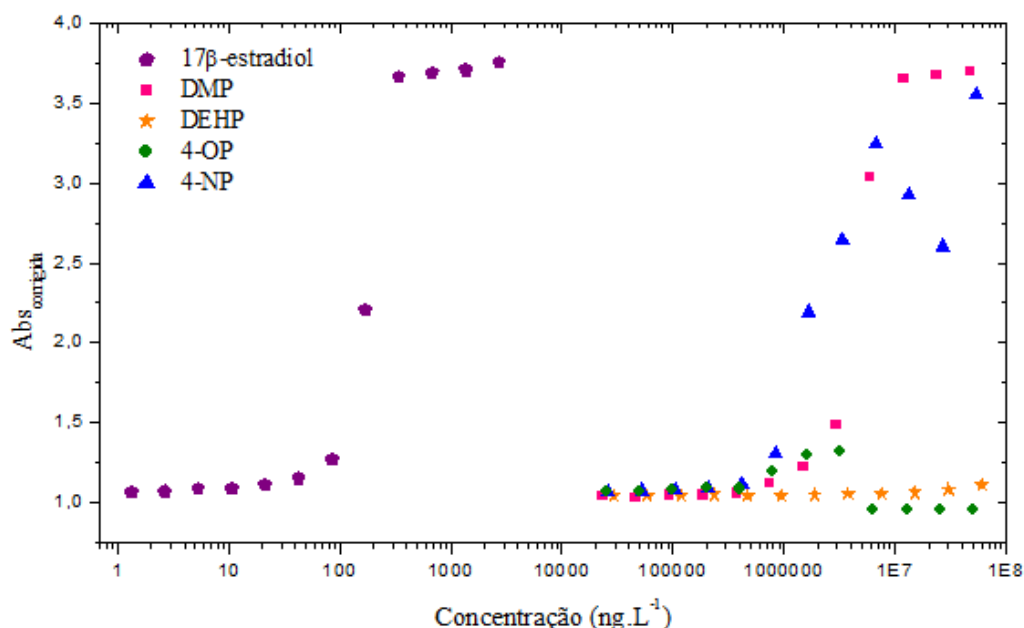


Figura 5: Curva dose-resposta do controle positivo 17β-estradiol e dos padrões de ftalatos e alquilfenóis.

Observou-se que 75% das amostras de água superficial do rio Guandu apresentaram atividade estrogênica e que as amostras de água potável não apresentaram estrogenicidade. Os valores do equivalente estradiol (EQ-E2) das amostras de água superficial variaram de 0.06 a 0.4 ng.L⁻¹ e de 0.05 a 1.6 ng.L⁻¹, para os municípios de Nova Iguaçu (Ponto 1) e Japeri (Ponto 2), respectivamente. O resultado da estrogenicidade das amostras está apresentado na **Figura 6**, sendo expresso pela média aritmética das replicatas de cada coleta.

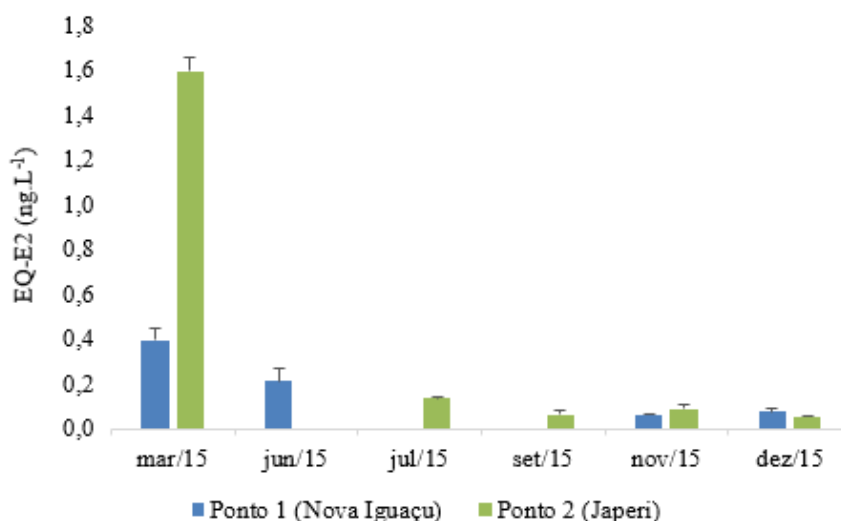


Figura 6: Valores de EQ-E2 das amostras de água superficial do rio Guandu coletadas no período de março a dezembro de 2015.

CONCLUSÕES

Com a metodologia de extração em fase sólida, utilizando cartuchos Strata-X (phenomenex), aliada à técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, foi possível identificar e quantificar os ftalatos e alquilfenóis propostos neste estudo, nas águas provenientes do rio Guandu. O método de EFS foi eficiente,

apresentando boa recuperação dos analitos. O método cromatográfico desenvolvido apresentou boa sensibilidade, tendo sido alcançados limites de detecção entre 5.8 e 39.6 $\mu\text{g.L}^{-1}$, e as curvas analíticas de todos os compostos estudados apresentaram boa linearidade, obedecendo aos critérios do INMETRO (2003).

O ensaio YES mostrou-se uma importante ferramenta de monitoramento e avaliação da qualidade da água do rio Guandu, tendo sido encontrada atividade estrogênica em 75% das amostras de água superficial analisadas, sendo que o valor máximo do EQ-E2 foi de 1.6 ng.L^{-1} . Valores de EQ-E2 acima de 1 ng.L^{-1} é motivo de preocupação, visto que essa concentração já pode causar danos à saúde de seres humanos e animais. O DMP, 4-NP e 4-OP apresentaram resposta estrogênica pelo ensaio *in vitro* YES, nas faixas de concentração analisadas.

Esse estudo mostrou que há presença de DEs no rio Guandu, entre eles o DEHP, o qual é comprovadamente responsável por danos na biota e de grande discussão e preocupação nos Estados Unidos e na Europa. O 4-NP, classificado como substância perigosa prioritária pela European Community Water Framework Directive 200/60/EC e pela Final European Union número 2455/2001/EC, também foi detectado nas amostras analisadas.

Devido à ausência, no Brasil, de uma legislação vigente que regulamente a quantidade máxima aceitável destas substâncias em águas superficiais e potáveis, é de suma importância seu estudo, de modo a contribuir para o entendimento do nível de contaminação no qual se encontra o principal rio de abastecimento público da cidade do Rio de Janeiro e seus afluentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPERJ, ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BILA, D.M.; DEZOTTI, M. Fármacos no Meio Ambiente. *Quím. Nova*, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.
2. MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal Variations of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 22, n. 8, p. 1452-1462, 2011.
3. EUROPEAN WORKSHOP ON ENDOCRINE DISRUPTERS. European ED workshop, Aronsborg (Balsa), Sweden, 2001.
4. BILA, D.M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. *Quím. Nova*, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007.
5. DOMÍNGUEZ-MORUECO, N.; GONZÁLEZ-ALONSO, S.; VALCÁRCEL, Y. Phthalate occurrence in rivers and tap water from central Spain. *Science of the Total Environ.*, v. 500-501, p. 139-146, 2014.
6. WANG, H-X.; ZHOU, Y.; JIANG, Q-W. Simultaneous screening of estrogens, progestogens, and phenols and their metabolites in potable water and river water by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Microchemical Journal*, v. 100, p. 83-94, 2012.
7. ZGOŁA-GRZESKOWIAK, A. Dispersive liquid-liquid microextraction applied to isolation and concentration of alkylphenols and their short-chained ethoxylates in water samples. *Journal of Chromatography A*, Poznan, Poland, v. 1217, p. 1761-1766, 2010.
8. SILVA, F. V. da et al. Alquilfenóis e alquilfenóis etoxilados: uma visão ambiental. *Revista Brasileira de Toxicologia*, v. 20, n. 1 e 2, p. 1-12, 2007.
9. UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Priority pollutant list. 2 p., 2014.
10. OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION. I Legislative acts: Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. 17 p., 2013.
11. GUANDU: COMITÊ DA BACIA HIDROGRÁFICA. Região hidrográfica. In color. Disponível em: <<http://www.comiteguandu.org.br/hidrografica.php>>. Acesso em 24 out. 2015.



12. ROUTLEDGE, E. J.; SUMPTER, J. P. Estrogenic Activity of Surfactants and Some of their Degradation Products Assessed Using a Recombinant Yeast Screen. *Environmental Toxicology and Chemistry*, [S.I.], v. 15, n. 3, p. 241-248, 1996.
13. RIBEIRO, F. A. L. et al. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Quím. Nova*, v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008.
14. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução 899 de 29 de maio de 2003.
15. INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA NORMATIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Revisão: 1 de março de 2003.
16. RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quím. Nova*, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
17. LI, N. et al. Di-(2-ethylhexyl) phthalate reduces progesterone levels and induces apoptosis of ovarian granulosa cell in adult female ICR mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, v. 34, p. 869-875, 2012.