



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

POLLYANA CRISTINA VASCONCELOS DE MORAIS

DISTRIBUIÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DE ESTERÓIS E HORMÔNIOS ESTRÓGENOS  
E O SEU POTENCIAL TOXICOLÓGICO NO SEDIMENTO DO RIO JAGUARIBE/CE

FORTALEZA-CE

2018

POLLYANA CRISTINA VASCONCELOS DE MORAIS

AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DE ESTERÓIS E HORMÔNIOS ESTRÓGENOS NO  
SEDIMENTO COMO MARCADOR POTENCIAL DE CONTAMINAÇÃO E  
TOXICIDADE - RIO JAGUARIBE/CE

Tese ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas  
Tropicais do Instituto de Ciências do Mar, como requisito  
parcial para obtenção do título de Doutor, outorgada pela  
Universidade Federal do Ceará.

Orientador: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante

Co-Orientador: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa

FORTALEZA-CEARÁ

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- M826a Morais, Pollyana Cristina Vasconcelos de.  
AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DE ESTERÓIS E HORMÔNIOS ESTRÓGENOS NO SEDIMENTO  
COMO MARCADOR POTENCIAL DE CONTAMINAÇÃO E TOXICIDADE - RIO JAGUARIBE/CE /  
Pollyana Cristina Vasconcelos de Morais. – 2018.  
139 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante.  
Coorientação: Prof. Dr. Denis Moledo de Souza Abessa.

1. Contaminação, esteróis, hormônios estrógenos, esgoto, criação animal, toxicidade.. I. Título.

CDD 551.46

---

POLLYANA CRISTINA VASCONCELOS DE MORAIS

AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO DE ESTERÓIS E HORMÔNIOS ESTRÓGENOS NO  
SEDIMENTO COMO MARCADOR POTENCIAL DE CONTAMINAÇÃO E  
TOXICIDADE - RIO JAGUARIBE/CE.

Tese ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas  
Tropicais do Instituto de Ciências do Mar, como requisito  
parcial para obtenção do título de Doutor, outorgada pela  
Universidade Federal do Ceará.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.Dr. Rivelino Martins Cavalcante (Presidente)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa (Membro interno)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr. Tristan Charles Clitandre Rousseau (Membro externo ao programa)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Profa. Dra. Sarah de Abreu Moreira (Membro externo)  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE

---

Dra. Carla Bastos Vidal (Membro externo)  
Centro Universitário Devry Brasil – UNIFANOR

Dedico esse trabalho ao fluxo da vida,  
aos ciclos da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

À energia Divina que escolho como guia nos momentos difíceis.

À minha Mãe e Vó que são exemplos fortaleza, com elas e por elas enfrento minhas lutas diárias de cabeça erguida e com o coração cheio de esperança.

Ao meu irmão que me obriga a ser sempre melhor em todos os aspectos que assumo na vida, e no aspecto cientista com ele aprendi que determinação e disciplina é o caminho.

Ao meu orientador, Rivelino Cavalcante, que me deu oportunidade de realizar o sonho da pós-graduação. Com ele aprendi muito sobre teorias e técnicas analíticas, mas foi, além disso, com ele aprendi lições para vida. Professor Riva, muito obrigada pelo apoio e por acreditar que sempre é possível, sempre há uma solução. Sua loucura é muitas vezes instigante.

Aos amigos do Laboratório de Análise de Contaminantes Orgânicos (LACOr), André, Allyne, Camille, Felipe, Íthala, Luana, Marcielly, pelo companheirismo ao longo dessa jornada, e em especial ao Davi e Gabrielle, vocês tornaram os meus dias melhores, principalmente na reta de finalização, sem vocês tudo seria mais difícil e solitário.

As amigas que o LABOMAR me presenteou, Carol, Érika, Cecília, Nívia, Ana Beatriz (Bia), Tati Garcia, Renata e Katherine tenho nem como descrever o agradecimento que tenho por vocês. Só digo uma coisa: Levo vocês comigo para o resto da vida.

Aos amigos da vida, Luciane, Carlinha e Davizinho (primo, amigo e irmão), trago vocês desde a época de colégio, agradeço pelo apoio, força e companheirismo em tantas fases minhas.

À professora Dra. Lidriana Pinheiro e Cida do Laboratório de Oceanografia Geológica pelas análises granulométricas.

Ao professor Dr. Ronaldo Nascimento e aos alunos do Laboratório de Análises de Traços (LAT) da UFC pelo apoio técnico, em especial ao Vitor Paulo, pela sua paciência, ensinamentos e prontidão em ajudar sempre.

Ao Professor Dr. Denis Abessa por me receber no NEPEA/UNESP e me dar a oportunidade de conhecer sobre um novo mundo. Aos colegas do NEPEA/UNESP, em especial a Carol, Guacira e Gabi, pelo fundamental auxílio nas análises e ecotoxicológicas.

Ao Professor Diego Lomonaco do Laboratório de Produtos e Tecnologia em Processos (LPT) pela possibilidade e executar as análises de carbono negro.

Ao Laboratório de Poços de Caldas – LAPOC/Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN pela execução das análises de datação

Aos membros da banca examinadora pela disponibilidade e pelas importantes colaborações e sugestões.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro e concessão da bolsa.

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, em especial a secretária Isabela Abreu (Bela) pela ajuda constante, por me receber sempre com um sorriso largo.

Para fazer pesquisa é preciso  
Coragem e Resistência.

É preciso encarar os fatos com  
simplicidade, para progredir.

É preciso sentir a felicidade das  
conexões e descobertas.

É preciso encontrar sanidade mental  
e emocional dentro do caos.

Para tudo isso, simplesmente:

“Comece de onde você está. Use o  
que você tiver. Faça o que você  
puder” – Arthur Ashe, tenista.



## RESUMO

O rio Jaguaribe possui a maior bacia hidrográfica do estado do Ceará. Ela abrange 50% dele e é exatamente por isso que o rio recebe influência de múltiplas fontes de contaminação. O aporte de efluentes, a maior dessas fontes para ambientes aquáticos, causam efeitos negativos ao equilíbrio do ecossistema e afeta a saúde pública. Isso ocorre devido ao volume e falta de tratamento desses resíduos. A qualidade do sedimento do rio Jaguaribe foi avaliada por meio da identificação e quantificação de esteróis e hormônios estrógenos tanto em amostras superficiais quanto em testemunhos. Para isso, foi otimizado, testado e validado um método de extração de multi-resíduos, seguido de análises por cromatografia gasosa. Além disso, realizou-se uma avaliação ambiental baseada em razões de diagnóstico e, por fim, foi realizados ensaios ecotoxicológico a fim de se identificar as condições tóxicas tanto dos sedimentos amostrados quanto dos hormônios estrógenos sintéticos. Os resultados encontrados para análise do sedimento superficial mostrou que o Coprostanol não foi o esterol mais evidente, já que ele representou 4,8% do total de esteróis. Porém, o Colesterol e o Colestanol, que também podem ser associados a esgoto, representaram 21,1% e 8,8%, respectivamente, nas amostras locais. O Estigmasterol foi o esterol predominante, ele é característico do aporte biogênico. Com base nas razões diagnósticas, o TJ1 está totalmente contaminado, enquanto o TJ2 apresentou duas classificações de não contaminado. Na avaliação de hormônios estrógenos, os compostos sintéticos ( $\Sigma$ Sintéticos) foram predominantes para a constituição do somatório total de hormônios ( $\Sigma$ total) nos sedimentos superficiais. Os  $\Sigma$ Sintéticos representaram 76,6% do  $\Sigma$ total, enquanto que o somatório dos naturais ( $\Sigma$ Naturais) foi responsável por 23,5%. Em relação aos dois testemunhos, que foram fracionados em 10 camadas datadas, o testemunho TJ1 teve uma variação temporal de 1937 a 2002, já o TJ2 representava os anos de 1947 a 2003. Considerando os hormônios estrógenos sintéticos, o Etinilestradiol foi o mais abundante nos dois testemunhos. Nas análises ecotoxicológica foi visto que os pontos PJ1, PJ2, PJ4, PJ9, PJ10, PJ12, PJ14 apresentaram toxicidade nos ensaios realizados. O ensaio de spking identificou que os hormônios estrógenos sintéticos foram tóxicos para as concentrações expostas: 1, 10, 100 ng/g e que apenas o EE2 não apresentou toxicidade nas concentrações 1 e 2,5 ng/g. Diante do que foi encontrado pode-se afirmar que há aporte de efluentes oriundos de várias formas de uso e ocupação do médio e baixo Jaguaribe.

**Palavras chave:** Contaminação, esteróis, hormônios estrógenos, esgoto, criação animal, toxicidade.

## ABSTRACT

The Jaguaribe River has the largest drainage basin in the state of Ceará, occupying 50% of the state and thereby it is influenced by multiple sources of contamination. The contribution of effluents is the largest source of contaminants for aquatic environments, due to its volume and its lack of treatment. Therefore, it causes negative effects to the balance of the ecosystem and affects public health. The quality of the sediment of the Jaguaribe River was evaluated by identification and quantification of sterols and estrogen hormones. To do this, a multiresidue extraction method was optimized, tested, and validated, followed by gas chromatographic analysis. Finally, ecotoxicological tests were carried out in order to analyze the toxic conditions of both sampled sediments and synthetic estrogen hormones. Looking into superficial sediment, COP was not the most evident sterol, representing 4,8% of total sterols. On the other hand, COL and COLN, which can also be associated with sewage, represented 21,1% and 8,8% of total sterols in all sampling sites, respectively. Based on the sterol diagnostic ratios, superficial sediments were classified as contaminated. Regarding to estrogen hormones, sum of synthetic compounds ( $\Sigma$ Synthetic) were predominant for the constitution of the total sum of hormones ( $\Sigma$ total) in superficial sediments. They represented 76,6% of  $\Sigma$ total, while sum of natural compounds ( $\Sigma$ Nature) were responsible for 23,5%. In respect of the two sediment cores, each of them were fractioned in 10 sections which were dated. Sediment core TJ1 temporal variation was from 1937 to 2002, while sediment core TJ2 temporal variation was from 1947 to 2003. ESTIG was the predominant sterol in these sediments, which is characteristic of biogenic contribution. Based on the sterol diagnostic ratios, TJ1 was considered contaminated for every fraction, while TJ2 presented two uncontaminated fractions. Related to synthetic estrogen hormones, EE2 was the most abundant in the two sediment cores. Ecotoxicological analysis showed points PJ1, PJ2, PJ4, PJ9, PJ10, PJ12, and PJ14 as toxic in the tests performed. In the spiked test, synthetic estrogen hormones were toxic at the exposed concentrations (1, 10, 100 ng/g), only EE2 showed no toxicity at concentrations 1 and 2.5 ng/g. Based on all these evidences, it can be stated that there are effluents from many forms of use and occupation of the medium and low Jaguaribe.

**Key words:** Contamination, sterols, estrogen hormones, sewage, animal husbandry, toxicity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Possíveis rotas de inúmeros fármacos, incluso os hormônios estrógenos, em matrizes ambientais.....	27
Figura 2 - Rampa de temperatura para separação dos analitos de interesse. ....	33
Figura 3 – Equipamentos usados no procedimento de extração.....	39
Figura 4 – Coluna de <i>Clean up</i> .....	40
Figura 5 – Exemplo da reação de derivatização.....	41
Figura 6- Fluxograma do procedimento de análise realizado com o sedimento.....	42
Figura 7 – Mapa de localização e pontos de amostragem no rio Jaguaribe .....	44
Figura 8– Etapas da caracterização granulométrica .....	48
Figura 9 – Sistema de vasos comunicantes (Calcímetro de Bernard) .....	49
Figura 10– Ilustração da análise de determinação do teor de MO.....	51
Figura 11 – Ilustração da análise executada para determinação de AH e AF .....	52
Figura 12 – Materiais usados no preparo das amostras para a análise de CN .....	54
Figura 13 – Foto dos testemunhos coletados no rio Jaguaribe. ....	55
Figura 14 – Ilustração de refratômetro e fita indicadora de pH .....	56
Figura 15- Ilustração do <i>Mysidopsis juniae</i> .....	58
Figura 16 – Teste de interface sedimento/água .....	58
Figura 17- Esquema sobre o ensaio com <i>Nitocra</i> sp.....	60
Figura 18- Ilustração das fases de vida do copepodo <i>Nitocra</i> sp.....	60
Figura 19 – Esquema do ensaio <i>Spiked</i> com <i>Nitocra</i> sp.....	62
Figura 20 - Recuperação dos esteróis e hormônios estrógenos no teste do método de extração .....	68
Figura 21- Taxas de desvio padrão relativo para cada classe de contaminante.....	69
Figura 22- Porcentagem granulométrica dos sedimentos superficiais.....	71
Figura 23- Porcentagem granulométrica dos testemunhos .....	72
Figura 24 - Porcentagem de CaCO <sub>3</sub> nos testemunhos.....	73
Figura 25 - Caracterização dos sedimentos superficiais do rio Jaguaribe.....	75

Figura 26- Caracterização química do testemunho 1 (TJ1).....	76
Figura 27- Caracterização química do testemunho 2 (TJ2).....	77
Figura 28 – Caracterização hidroquímica dos pontos amostrais .....	78
Figura 29 – Concentrações de COP e Esteróis totais no sedimento superficial do rio Jaguaribe .....	81
Figura 30 – Concentrações de COL e COLN no sedimento superficial do rio Jaguaribe .....	83
Figura 31 - Razões de diagnóstico para amostras superficiais do rio Jaguaribe.....	85
Figura 32 - Plot tridimensional da AF/PCA usando dados esteróis e características dos sedimentos..	88
Figura 33 - Score das componentes principais (Fator 1 x Fator 2; Fator 1 x Fator 3) usando dados esteróis e características dos sedimentos.....	89
Figura 34 - Porcentagem individual dos esteróis nos testemunhos 1 e 2 .....	90
Figura 35 - Gráficos mostrando a distribuição dos esteróis no testemunho1 (TJ1). .....	92
Figura 36- Gráficos mostrando a distribuição dos esteróis no testemunho2 (TJ2). .....	93
Figura 37 – Concentrações dos $\Sigma$ total, $\Sigma$ Sintéticos e $\Sigma$ Naturais no rio Jaguaribe .....	96
Figura 38 – Concentrações individuais dos hormônios estrógenos sintéticos e naturais. ....	98
Figura 39 - Plot tridimensional da AF/PCA usando dados esteróis e características dos sedimentos	102
Figura 40 - Score das componentes principais (Fator 1 x Fator 2; Fator 1 x Fator 3) usando dados hormônios estrógenos e características dos sedimentos .....	104
Figura 41 - Porcentagem individual dos Hormônios estrógenos no testemunho1 e 2.....	105
Figura 42- Gráficos mostrando a distribuição dos hormônios estrógenos no testemunho1. ....	107
Figura 43- Gráficos mostrando a distribuição dos hormônios estrógenos no testemunho 2. ....	108
Figura 44 – Porcentagem de sobrevivência (média $\pm$ desvio padrão) dos organismos ( <i>M. juniae</i> ) expostos à amostras de sedimento superficial do rio Jaguaribe .....	111
Figura 45 - Prole de copépodos <i>Nitocra</i> sp. (média $\pm$ desvio padrão) expostos à amostras de sedimento superficial do rio Jaguaribe .....	113
Figura 46 - Prole de <i>Nitocra</i> sp. (média $\pm$ desvio padrão) resultante a exposição de diferentes concentrações dos hormônios estrógenos sintéticos.....	115

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características dos esteróis estudados. ....	22
Tabela 2 - Descrição das possíveis fontes de esteróis. ....	23
Tabela 3 – Razões diagnóstico dos esteróis.....	24
Tabela 4 – Características dos hormônios estrógenos estudados. ....	26
Tabela 5 – Padrões usados para o preparo de soluções analíticas.....	31
Tabela 6 - Tempos de retenção e razões (m/z) de cada composto. ....	34
Tabela 7 - Misturas de solventes usados na etapa de extração.....	38
Tabela 8– Frações retiradas do extrato de amostras, solventes usados e classes obtidas.....	40
Tabela 9 - Coordenadas de localização dos pontos de coleta.....	45
Tabela 10- Parâmetros de avaliados no método cromatográfico.....	65
Tabela 11- Repetibilidade da área do pico e do tempo de retenção dos analitos .....	66
Tabela 12 - Classificação granulométrica dos testemunhos.....	72
Tabela 13 - Parâmetros para o cálculo das datas de sedimentação e datas de sedimentação dos testemunhos. ....	79
Tabela 14 – Faixas de concentração do esterol fecal COP em sedimentos em diferentes estudos. ....	81
Tabela 15- Diagnóstico final com base nas razões para as amostras superficiais do rio Jaguaribe.....	86
Tabela 16 - Valores obtidos por FA/PCA usando dados esteróis e características dos sedimentos superficiais do rio Jaguaribe (fator de corte > 0,70).....	87
Tabela 17 - Diagnóstico geral dos testemunhos 1 e 2 no rio Jaguaribe .....	95
Tabela 18 - Concentrações dos hormônios estrógenos no presente trabalho, em outros locais (Brasil e mundo). ....	100
Tabela 19 - Valores obtidos por FA/PCA usando dados de hormônios e características dos sedimentos superficiais do rio Jaguaribe (fator de corte > 0,70).....	102
Tabela 20 - Correlação não linear de Spearman ( $p < 0,10$ ) para dependência dos compostos no rio Jaguaribe (Sedimento superficial e testemunhos). ....	109
Tabela 21 - Tabela integrativa com resultados sumarizados dos sedimentos superficiais do rio Jaguaribe.....	116

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ΣEST</b>	Soma da concentração dos esteróis
<b>17α-E2</b>	17α-Estradiol
<b>17β-E2</b>	17β-Estradiol
<b>ACP</b>	Análise de Componentes Principais
<b>AF</b>	Ácidos Fúlvicos
<b>AH</b>	Ácidos Húmicos
<b>C. MeOH</b>	Controle Metanol
<b>C. Sed.</b>	Controle de sedimento
<b>CaCO3</b>	Carbonato de cálcio
<b>CG-EM</b>	Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massas
<b>CO</b>	Carbono Orgânico
<b>COL</b>	Colesterol
<b>COLN</b>	Colestanol
<b>COP</b>	Coprostanol
<b>DEs</b>	Disruptores Endócrinos
<b>DES</b>	Dietilestilbestrol
<b>DES 1</b>	Dietilestilbestrol 1ng/g
<b>DES 100</b>	Dietilestilbestrol 100ng/g
<b>DES10</b>	Dietilestilbestrol 10ng/g
<b>DIE</b>	Dienestrol
<b>DIE 1</b>	Dienestrol 1ng/g
<b>DIE 10</b>	Dienestrol 10ng/g
<b>DIE 100</b>	Dienestrol 10ng/g
<b>E1</b>	Estrona
<b>E3</b>	Estriol
<b>EE2</b>	17α-Etinilestradiol
<b>EE2 1</b>	17α-Etinilestradiol 1ng/g
<b>EE2 10</b>	17α-Etinilestradiol 10ng/g
<b>EE2 2,5</b>	17α-Etinilestradiol 2,5ng/g
<b>EE2 5</b>	17α-Etinilestradiol 5ng/g
<b>ERG</b>	Ergosterol

<b>ESTIG</b>	Estigmasterol
<b>Kow</b>	Coefficiente de partição octanol-água
<b>LD</b>	Limite de Detecção
<b>LQ</b>	Limite de Quantificação
<b>MES</b>	Mestranol
<b>MES 1</b>	Mestranol 1ng/g
<b>MES 10</b>	Mestranol 10ng/g
<b>MES 100</b>	Mestranol 100ng/g
<b>MO</b>	Matéria orgânica
<b>PI</b>	Padrão Interno
<b>PS</b>	Padrão Surrogate
<b>TJ1</b>	Testemunho 1
<b>TJ2</b>	Testemunho 2
<b>β-SITO</b>	β-Sitosterol

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	19
<b>1.1 Hipótese Científica</b> .....	21
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	21
<b>2.1. Objetivo geral</b> .....	21
<b>2.2. Objetivos específicos</b> .....	21
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	22
<b>3.1. Esteróis</b> .....	22
<b>3.2. Hormônios estrógenos</b> .....	24
<b>3.3. Ecotoxicologia</b> .....	27
<b>4. ÁREA DE ESTUDO – RIO JAGUARIBE</b> .....	28
<b>4.1. Bacia hidrográfica do rio Jaguaribe</b> .....	28
<b>4.2. Uso e ocupação da Bacia Hidrográfica do Rio Jaguaribe</b> .....	29
<b>5. METODOLOGIA</b> .....	30
<b>5.1. Controle analítico do método de experimental</b> .....	30
<b>5.2. Limpeza de materiais e vidrarias</b> .....	30
<b>5.3. Padrões e soluções</b> .....	31
<b>5.4. Controle de qualidade do método cromatográfico</b> .....	32
5.4.1. Condições Cromatográficas – Cromatografia Gasosa.....	32
5.4.2. Linearidade e Curva de Calibração .....	34
5.4.3. Limite de Detecção (LD) e Quantificação (LQ).....	35
5.4.4. Precisão .....	36
5.4.5. Exatidão – Recuperação PS (%).....	36
5.4.6. Padrão interno.....	37
<b>5.5. Método de extração e <i>clean up</i></b> .....	37
5.5.1. Otimização do método de extração e <i>clean up</i> .....	37
5.5.2. Derivatização.....	41
<b>5.6. Coletas de amostras – Rio Jaguaribe</b> .....	43
5.6.1. Pré-tratamento das amostras.....	46
<b>5.7. Caracterização sedimentar das amostras</b> .....	46
5.7.1. Análise granulométrica.....	47
5.7.2. Carbonato de cálcio (CaCO <sub>3</sub> ) .....	48



5.7.3.	Matéria orgânica (MO).....	49
5.7.4.	Ácidos húmicos (AH) e Ácidos fúlvicos (AF).....	51
5.7.5.	Carbono negro (CN).....	53
5.7.6.	Datação.....	55
<b>5.8.</b>	<b>Propriedades hidroquímicas</b> .....	<b>56</b>
<b>5.9.</b>	<b>Ecotoxicologia</b> .....	<b>56</b>
5.9.1.	Teste de toxicidade de efeito agudo de interface sedimento/água (ISA).....	57
5.9.2.	Teste de toxicidade de efeito crônico em sedimento integral com <i>Nitocra</i> sp .....	59
5.5.3	Contaminação de sedimentos ( <i>Spiked</i> ) e ensaio com <i>Nitocra</i> sp. ....	60
<b>6.</b>	<b>TRATAMENTO ESTATÍSTICO</b> .....	<b>63</b>
<b>7.</b>	<b>INTEGRAÇÃO DOS DADOS</b> .....	<b>64</b>
<b>8.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>64</b>
<b>8.1.</b>	<b>Controle de qualidade do método cromatográfico</b> .....	<b>64</b>
8.1.1.	Linearidade e Curva de Calibração .....	64
8.1.2.	Limite de Detecção (LD) e Quantificação (LQ).....	64
8.1.3.	Precisão .....	65
8.1.4.	Exatidão.....	66
<b>8.2.</b>	<b>Método de extração e <i>clean up</i></b> .....	<b>67</b>
<b>8.3.</b>	<b>Caracterização sedimentar das amostras</b> .....	<b>69</b>
8.3.1.	Granulometria e CaCO <sub>3</sub> .....	69
8.3.2.	Teor de matéria orgânica e suas frações (CO, AH, AF e CN).....	73
8.3.3.	Salinidade e pH .....	77
8.3.4.	Datação dos testemunhos .....	78
<b>8.4.</b>	<b>Distribuição de Esteróis no Rio Jaguaribe</b> .....	<b>80</b>
8.4.1.	Sedimento superficial.....	80
8.4.2.	Testemunhos.....	89
<b>8.5.</b>	<b>Distribuição de Hormônios estrógenos no Rio Jaguaribe</b> .....	<b>95</b>
8.5.1.	Sedimento superficial.....	95
8.5.2.	Testemunhos.....	104
<b>8.6.</b>	<b>Fatores dependentes para a distribuição de Esteróis e Hormônios estrógenos</b> .....	<b>108</b>
<b>8.7.</b>	<b>Ecotoxicologia</b> .....	<b>110</b>
8.7.1.	Teste de toxicidade de efeito agudo - ISA.....	110
8.7.2.	Teste de toxicidade de efeito crônico em sedimento integral com <i>Nitocra</i> sp. ....	112

8.7.3. Contaminação de sedimentos ( <i>Spiked</i> ) e ensaio com <i>Nitocra</i> sp. ....	114
<b>9. Integração dos resultados - Tabela de decisão.....</b>	<b>115</b>
<b>10. Conclusões.....</b>	<b>117</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>119</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>134</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os ambientes aquáticos são fundamentais para a realização de inúmeras atividades antrópicas, que vai desde o suprimento pessoal até o desenvolvimento de atividades econômicas. Exatamente por isso a presença desses ambientes é um fator determinante para a fixação de aglomerações populacionais. Dentro desse contexto, pode-se destacar que zonas costeiras e estuarinas são intensamente exploradas. Miranda, Castro, Kjerfve (2002) afirmam que aproximadamente 60% das grandes cidades do mundo estão fixadas próximas a estuários.

A consequência é que ao longo dos anos, os ambientes naturais típicos das regiões costeiras vêm sendo gradativamente substituídos pela implantação de polos industriais, construção de portos, viveiros de aquicultura, ampliação de áreas agricultáveis e pela expansão urbana (CHEN *et al.*, 2004; SOUZA; RAMOS e SILVA, 2011).

Nesse contexto, é possível ter uma noção do valor que os recursos hídricos exercem para a manutenção dos padrões de vida da sociedade. Porém os múltiplos usos desses ambientes, sem planejamento e ordenação, têm gerado grandes desequilíbrios, tornando-os suscetíveis.

O aporte de contaminantes, que é um dos usos mais comuns, oriundos das atividades antrópicas nesses ambientes, pode causar a contaminação de diferentes compartimentos do sistema (águas, sedimentos e biota). Pode-se destacar que o sedimento é de suma importância para o funcionamento, produtividade e equilíbrio dos ambientes aquáticos, uma vez que essa matriz ambiental acumula grande parte dos contaminantes hidrofóbicos, e a partir disso os sedimentos passam a funcionar não só como repositório, mas como fonte de contaminação para o ambiente (PUSCEDDU *et al.*, 2007).

Diante da infinidade de contaminantes existentes, os poluentes orgânicos se destacam, por terem fontes difusas e pontuais, são inseridos no meio ambiente através da lixiviação provocada pelas águas da chuva, atividades agrícolas e pecuárias e por meio de lançamentos de efluentes domésticos e industriais (BAIRD, 2002; PESSOA *et al.*, 2012; ABREU-MOTA *et al.*, 2014; ÁLVAREZ-MUÑOZ *et al.*, 2016), além de possuírem a capacidade de se bioacumular na biota e causar efeitos nocivos.

Na tentativa de se estabelecer a fonte da contaminação em um determinado ecossistema, se faz necessário o uso de compostos que sejam associados a fontes de origem específicas, dentro desse contexto há os esteróis e hormônios estrógenos, que são classes de contaminantes aplicados como traçadores de atividades humanas, como por exemplo: esgoto,

deposição incorreta de resíduos e atividades de agropastoris. Os esteróis são comumente usados como traçadores de aporte de esgoto (MARTINS *et al.*, 2012; CARREIRA *et al.*, 2015; ABREU-MOTA *et al.*, 2014). Já os hormônios estrógenos podem ocorrer naturalmente no ambiente e/ou serem excretados pelos humanos e levados ao ambiente através de esgoto (ZHANG *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 2009; ARAÚJO, 2014).

Diante de todos os fatos apresentados, fica a certeza de que cada vez mais é necessário avaliar o ambiente para se conhecer suas reais condições. Desse modo, o presente estudo visa avaliar as condições ambientais da Bacia do Rio Jaguaribe, uma vez que essa bacia ocupa mais de 50% do estado do Ceará e possui diversas formas de uso e ocupação como por áreas agrícolas, de pastos e urbanas (GODOY, 2011). Evidências de aportes de esgoto no Rio Jaguaribe existem, tais como, Marins (2007) encontrou indicativos de que esgotos urbanos representa a maior fonte de fósforo na região. Paula, Morais e Pinheiro (2006) identificaram que atividades de descarga de efluentes domésticos, deposição de resíduos sólidos e escoamento superficial de áreas agrícolas estão contaminando o ecossistema.

O presente trabalho se justifica pela carência de estudos sobre contaminação orgânica na região e pelo fato dos tratamentos de esgotos implantados no Ceará serem ineficientes. Isso reforça a necessidade de estudos sobre a ocorrência e distribuição de esteróis e Hormônios estrógenos associados à contaminação por lançamento de esgoto no ambiente. Sendo importante identificar as possíveis fontes de contaminação orgânica no rio Jaguaribe para que seja possível fornecer dados e subsídios para o monitoramento, políticas públicas e preservação deste importante ecossistema.

## 1.1 Hipótese Científica

- O aumento da ocupação e do uso do solo, por moradia e/ou atividades econômicas, em conjunto com o sistema de esgotamento ineficiente ameaça a qualidade ambiental bacia do rio Jaguaribe.
- No Rio Jaguaribe há abundante presença de compostos, esteróis e hormônios estrógenos, que caracterizam contaminação oriunda de atividade humana ou de manejo animal.
- Os hormônios estrógenos sintéticos apresentam toxicidade para a biota.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

O objetivo geral do trabalho é avaliar a qualidade ambiental do sedimento do Rio Jaguaribe, por meio de abordagens ecotoxicológica e química, envolvendo a distribuição espaço/temporal de marcadores moleculares antropogênicos.

### 2.2. Objetivos específicos

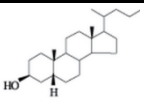
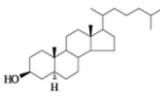
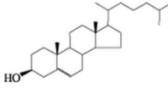
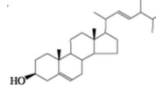
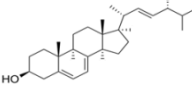
- Validar o método analítico de extração dos compostos de interesse do sedimento;
- Determinar os níveis de esteróis e Hormônios estrógenos em sedimentos superficiais e testemunho do rio Jaguaribe;
- Analisar a distribuição espaço/temporal dos esteróis e Hormônios estrógenos no sedimento fluvio-estuarino;
- Realizar a geocronologia das frações do testemunho sedimentar
- Avaliar a toxicidade do sedimento superficial do Rio Jaguaribe e confrontar esses dados com a concentração de esteróis e estrógenos;
- Mensurar o potencial tóxicos dos hormônios estrógenos sintéticos.

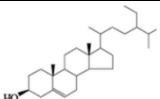
### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. Esteróis

Os esteróis são biomarcadores usados para identificar a entrada de matéria orgânica antropogênica no meio ambiente, bem como para diferenciá-la das fontes de material fecal (BUJAGIĆ *et al.*, 2016). Eles apresentam boa especificidade com a fonte de origem, são resistentes à ação de microorganismos e podem ser quantificados mesmo que em baixas concentrações (CANUEL, 2001; SALIOT *et al.*, 1991). Por possuírem a característica de serem hidrofóbicos, os esteróis tendem a se associarem ao material particulado, e acabam por decantar junto aos sedimentos, e somado a isso há a capacidade de resistência à degradação por microorganismos (TAKADA; EGANHOUSE; 1998). Sendo assim, constituem uma classe de contaminantes importante para se entender os mecanismos atuantes em determinadas áreas. A hidrofobicidade dos esteróis é confirmada quando os valores do coeficiente de partição octanol-água (Kow) são levados em consideração, uma vez que estes compostos possuem  $\log Kow > 4$ . Para Froehner *et al.* (2012) compostos com alto potencial de sorção possuem  $\log Kow > 4$ , enquanto possuem baixo potencial de sorção aqueles compostos com  $\log Kow < 2,5$ . As características químicas e as fórmulas moleculares dessas substâncias estão descritos na Tabela 1

**Tabela 1** – Características dos esteróis estudados.

Composto	Estrutura*	Nome oficial (IUPAC)	Fórmula molecular*	Log Kow**
Coprostanol (COP)		5b-colestan-3b-ol	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O	9,4
Colestanol (COLN)		5a-colestan-3b-ol	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O	9,4
Colesterol (COL)		colest-5-em-3b-ol	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O	8,7
Estigmaterol (ESTIG)		24-etilcolest-5,22(E)-dien-3b-ol	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	8,6
Ergosterol (ERG)		Ergosta-5,7,22-trien-3β-ol	C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O	7,4

$\beta$ – sitosterol ( $\beta$ –SITO)		24 $\beta$ -etil-colestan- 5-en-3 $\beta$ -ol	$C_{29}H_{50}O$	9,3
--	---	--	-----------------	-----

\*NIST

\*\* THE PUBCHEM PROJECT

Os esteróis estudados neste trabalho são divididos por suas fontes de origem, resultando em esteróis fecais, naturais e mistos. O esterol fecal é o coprostanol, pois é formado no intestino humano e de animais superiores por meio da conversão das moléculas de colesterol por redução bacteriana (CARREIRA; WAGENER; READMAN, 2004; LEEMING; NICHOLS, 1996; ROSENFELD; GALLAGHER, 1964). Dentre os marcadores fecais reportados na literatura, o coprostanol é o mais representativo em fezes humanas, constituindo cerca de 40-60% dos esteróis totais excretados (GRILO et al., 2013). Os esteróis naturais são: ergosterol,  $\beta$ –sitosterol, estigmasterol, e os de origem mista são o colesterol e colestanol. Na Tabela 2 está explicada detalhadamente a fonte de cada esterol.

**Tabela 2** - Descrição das possíveis fontes de esteróis.

Nome usual	Descrição da fonte
<b>Coprostanol</b>	Biomarcador fecal; quantidade relativa indica contaminação fecal <sup>a</sup>
<b>Colesterol</b>	Esterol mais onipresente <sup>b</sup> ; Não tem origem específica <sup>b</sup> ; É associado ao fito e no zooplâncton <sup>b</sup> ; Associado a esgoto <sup>c</sup>
<b>Colestanol</b>	Redução química do colesterol <sup>d</sup>
<b>Estigmasterol</b>	Usualmente usado como esterol terrestre; plantas superiores <sup>e</sup>
<b>Ergosterol</b>	Decomposição realizada por fungos <sup>f</sup>
<b><math>\beta</math> - sitosterol</b>	Usualmente usado como esterol terrestre; plantas superiores <sup>g</sup>

a) TAKADA; EGANHOUSE, 1998; b) VOLKMAN *et al.*, 1998; c) MATIĆ *et al.*, 2014; RADA *et al.*, 2016; d) BULL *et al.*, 2002, 2003; e) VOLKMAN, 1986; f) GONG; GUAN; WITTER, 2001; g) PRATT *et al.*, 2005; 2008.

Os esteróis são comumente aplicados como indicadores de contaminação em áreas onde há muitas possíveis fontes de contaminação, como é o caso de vários sistemas estuarinos ao redor do mundo. Esses compostos foram aplicados como traçadores para atividades humanas ao longo de áreas costeiras, de centros industriais e urbanos em várias regiões do

mundo (BÍCEGO *et al.*, 2006; MUNIZ *et al.*, 2006; MARTINS *et al.*, 2012). Contudo, apenas medidas dos níveis de coprostanol não são suficientes para determinar o nível de contaminação no ambiente. Assim, empregam-se razões de diagnóstico entre o coprostanol e outros esteróis para tornar a avaliação mais confiável (Tabela 3). Os valores resultantes destas razões tendem a auxiliar na distinção das fontes dos esteróis e estimar a ocorrência de contaminação (ISOBE *et al.*, 2004; CORDEIRO, 2006).

**Tabela 3** – Razões diagnóstico dos esteróis

<b>Índices</b>	<b>Indicativo</b>	<b>Área contaminada</b>	<b>Área não contaminada</b>	<b>Referência</b>
COP/COL	Contribuição de esgoto	> 1,0	< 1,0	TAKADA <i>et al.</i> (1994); MUDGE; BEBIANNO (1997)
COP/COLN	Contaminação fecal humana	> 0,5	< 0,3	SHAH <i>et al.</i> (2007)
COP/(COP + COLN)	Contaminação fecal humana	> 0,7	< 0,3	GRIMALT <i>et al.</i> (1990)
COP/(COLN + COL)	Contribuição de esgoto	> 0,2	< 0,15	TAKADA; EGANHOUSE (1998); CHAN <i>et al.</i> , (1998)

Legenda: COP (coprostanol); COLN (colestanol); COL (colesterol).

Fonte: Adaptado de CORDEIRO (2006)

### 3.2. Hormônios estrógenos

Os hormônios estrógenos são compostos que causam alterações no sistema endócrino de animais e seres humanos, podendo ser divididos em naturais ou sintéticos. De acordo com Ghiselli e Jardim (2007) os hormônios naturais são os presentes no organismo de animais e humanos, podendo ser incluídos nesse grupo os fitoestrogênios, que estão presentes nas plantas. As substâncias sintéticas desenvolvidas pelo homem são idênticas às naturais e imitam suas funções, sendo usadas em contraceptivos orais, na reposição hormonal e como aditivo na alimentação animal.

Para entender a sua distribuição nos compartimentos ambientais como água e sedimento, é preciso conhecer suas propriedades químicas (ADEEL *et al.*, 2017). Os hormônios estrógenos são caracterizados como compostos hidrofóbicos, de baixa volatilidade,



persistentes e bioacumulativos (YING; KOOKANA; RU, 2002) Na presente pesquisa foram estudados os compostos naturais: Estrona(E1), 17 $\beta$ -estradiol ( $\beta$ E2), 17 $\alpha$ -estradiol ( $\alpha$ E2) e estriol (E3) e os sintéticos: 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2), Dietilestilbestrol (DES) e Mestranol (MES) e Dienestrol (DIE). Tais compostos possuem coeficiente variáveis de partição octanol-água ( $K_{ow}$  - que indica sua hidrofobicidade): os que têm valor de  $\log K_{ow} > 4$  são potencialmente adsorvidos pelas partículas sólidas (FROEHNER *et al.*, 2012) e os compostos com  $\log K_{ow}$  entre 2,4 e 4 são moderadamente hidrofóbicos (ADEEL *et al.*, 2017). Na Tabela 4 estão especificadas as características individuais de cada hormônio estrógeno avaliado.

Por serem compostos hidrofóbicos, o destino final dessas substâncias são, predominantemente, o sedimento, atuando como fonte de hormônio e expondo a biota à esses compostos (SANGSTER *et al.*, 2014). Mesmo em baixas concentrações no ambiente, esses compostos colocam em risco a vida dos peixes e de outros organismos aquáticos, já que podem causar a diminuição da fertilidade, a feminização e o hermafroditismo nesses animais (TETREAULT *et al.*, 2011).

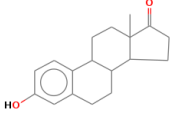
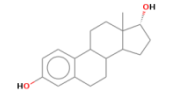
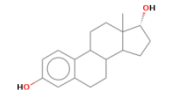
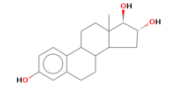
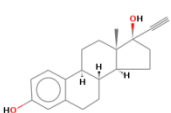
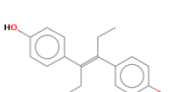
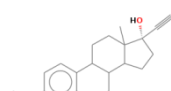
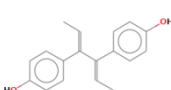
As fontes mais comuns de hormônios estrógenos são os efluentes urbanos, os resíduos hospitalares e industriais (YING; KOOKANA; RU, 2002). Porém não se pode desconsiderar que as atividades de criação animal como fontes desses compostos. Atividades rurais, como criação de gado confinado, criação de aves (granjas), agricultura intensiva, com uso de esterco animal e/ou lodo das estações de tratamento de esgoto como fertilizante do solo (ADEEL *et al.*, 2017; KUMAR *et al.*, 2012; XUAN *et al.*, 2008). Essa classe de contaminante é usada em práticas veterinárias como suplementos na pecuária e aquicultura (ORLANDO *et al.*, 2004). Andaluri *et al.*, (2012) relata que o estrume oriundo das criações de aves (granja) e vacas podem conter as maiores quantidades de estrogênios. Os estrógenos tanto naturais quanto sintéticos são excretados diariamente através da urina e fezes de humanos e animais (ANDALURI *et al.*, 2012; BILA E DEZOTTI, 2003 LAURENSO *et al.*, 2014).

Esses hormônios chegam aos corpos hídricos, por exemplo, quando infiltram nas águas subterrâneas, ou são despejados de maneira errônea, ou quando escoam das plantações, no caso em que os estrumes são usados na adubação. (ARIS; SHAMSUDDIN; PRAVEENA, 2014). Os estrógenos tanto naturais quanto sintéticos são excretados diariamente através da urina e fezes de humanos e animais (ANDALURI *et al.*, 2012; LAURENSO *et al.*, 2014). Na

Figura 1 está apresentada as possíveis fontes e rotas dos hormônios estrógenos em matrizes ambientais.

Vale ressaltar que o 17-βEstradiol é o estrogênio feminino natural mais importante, sendo usado para a fabricação do principal composto encontrado nos contraceptivos: o 17α-etinilestradiol (FROEHNER *et al.*, 2012). O mestranol também é utilizado na composição de pílulas anticoncepcionais (TERNES *et al.*, 1999).

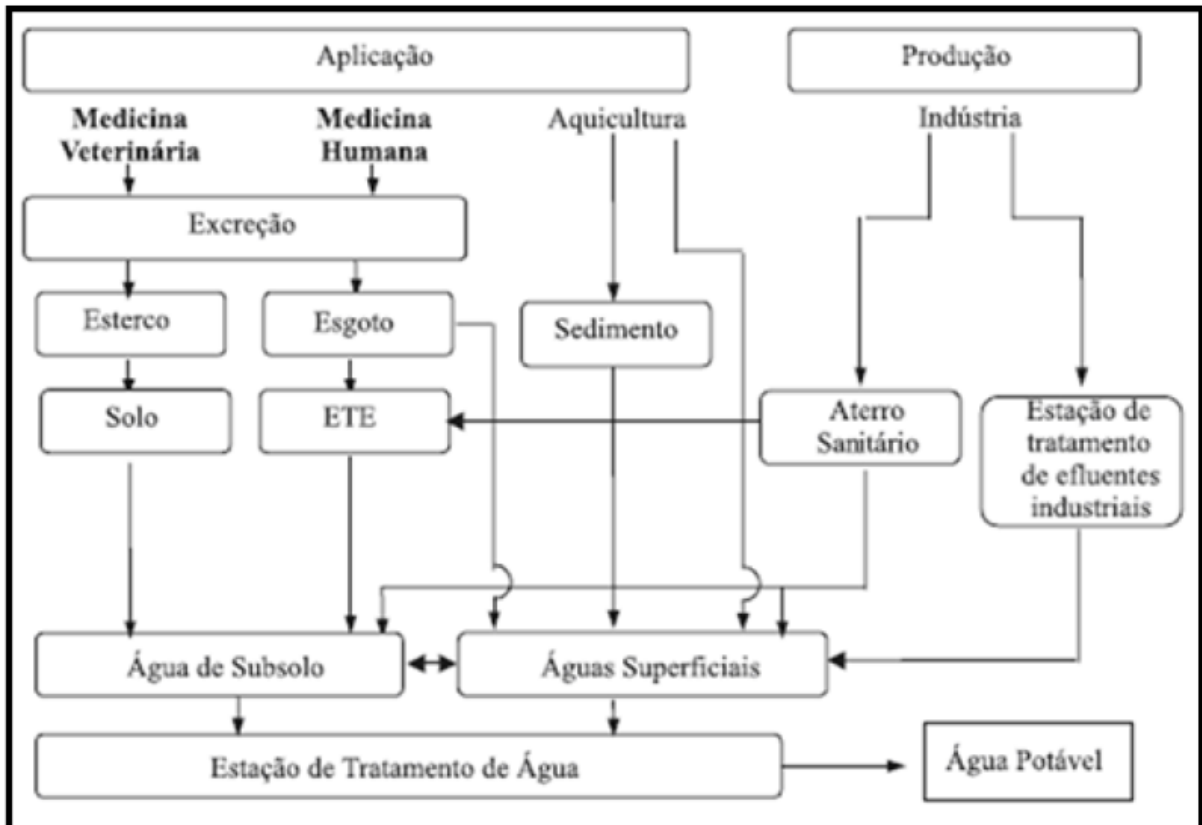
**Tabela 4** – Características dos hormônios estrógenos estudados.

Composto	Estrutura*	Fórmula molecular*	Log Kow**
Estrona (E1)		C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	3,43
17α estradiol (17αE2)		C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	-
17β estradiol (17βE2)		C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	3,94
Estriol (E3)		C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	2,81
17α Etilnilestradiol (EE2)		C <sub>20</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	4,15
Dietilestilbestrol (DES)		C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	5,07
Mestranol (MES)		C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	4,67
Dienestrol (DIE)		C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	5,43

\*NIST

\*\* THE PUBCHEM PROJECT

**Figura 1** - Possíveis rotas de inúmeros fármacos, incluso os hormônios estrógenos, em matrizes ambientais.



Fonte: BILA E DEZOTTI, 2003.

### 3.3. Ecotoxicologia

O descarte de rejeitos antrópicos (industriais ou domésticos) em corpos hídricos é uma ação antiga do homem, porém com o estilo de vida moderno esses rejeitos estão cada vez mais enriquecidos com substâncias sintéticas, ou seja, substâncias que o ambiente não consegue degradar, principalmente pela quantidade e frequência lançadas.

A maior parte dos contaminantes lançados em corpos hídricos acaba sendo adsorvida aos sedimentos, resultando em efeitos tóxicos sobre a fauna e afetando o equilíbrio ecológico (ABESSA, 2006). Assim, é necessário o uso de variadas formas da avaliação da qualidade dos sedimentos. Em abordagem eficiente há os testes de toxicidade, que consistem na exposição de organismos e determinação de efeitos letais e subletais.

A Ecotoxicologia é a ciência que estuda os efeitos dos contaminantes em matrizes ambientais. De acordo com Abessa (2002) a ecotoxicologia fornece significado biológico para

os dados de contaminação, possibilitando o desenvolvimento de métodos eficazes para a conservação e gestão ambiental. Essa ciência foi baseada na toxicologia tradicional, porém tenta revelar os efeitos deletérios dos poluentes sobre organismos e sua possível consequência para o ecossistema ao qual o organismo estava inserido (AZEVEDO; CHASIN, 2004). Os ensaios de toxicidade podem indicar efeitos (ou toxicidades) agudos e crônicos, sendo que os testes de toxicidade aguda são mais empregados para avaliar os efeitos de agentes tóxicos sobre organismos em um curto período de tempo (em média de 24h-96h). Já os testes de toxicidade crônica têm uma exposição mais longa (em geral, superior a 72h), e visam medir o efeito, geralmente subletal, de determinada substância química sobre organismos testes (ARAGÃO; ARAÚJO, 2006; COSTA *et al.*, 2008).

Para execução dos bioensaios pode-se usar diversos tipos de organismos, por exemplo, microalgas ou peixes, porém a sua escolha deve ser baseada na relevância ecológica e sensibilidade (SILVA, 2015). O teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Mysidopsis juniae* é devidamente padronizado (BRASIL, 2011). *Mysidopsis juniae* é usado para teste de interface sedimento- água (ISA) devido a sua característica nectônica de repousar em curtos períodos de tempo sobre a camada de sedimento, ficando exposto a troca de sorção entre o sedimento e a coluna de água acima. O ensaio crônico com *Nitocra* sp. para amostras de água intersticial e sedimento de regiões estuarinas é padronizado por Lotufo e Abessa, (2002). Esses organismos tem interação direta com o sedimento, pois possuem hábito bentônico e se alimentam do biofilme, de matéria orgânica e de partículas de argila.

#### **4. ÁREA DE ESTUDO – RIO JAGUARIBE**

##### **4.1. Bacia hidrográfica do rio Jaguaribe**

O rio Jaguaribe possui a maior bacia hidrográfica do estado do Ceará, ocupando 50% do estado, e é dividida em 5 sub-bacias que são: Alto Jaguaribe, Médio Jaguaribe, Baixo Jaguaribe, Banabuiú e Salgado. Esse rio se situa na zona leste do estado do Ceará e percorre aproximadamente 610 km desde suas nascentes na Serra da Joanhina (Tauá - Ceará) até a sua foz litorânea (Fortim – Ceará), abrange uma área de drenagem de 80.000 km<sup>2</sup>. Sua bacia total possui variabilidade de forma, onde no alto e médio curso tem largura média de 220Km, e no baixo curso tem largura de 80Km com decaimento gradativo até 40km de largura na região do encontro com o mar. A zona estuarina do Rio Jaguaribe é limitada pela barragem de Itaiçaba e tem extensão de 36Km com área de aproximadamente 641.216 km<sup>2</sup>. O recorte espacial da área do presente estudo contempla o médio e baixo Jaguaribe acerca dos municípios de

Jaguaribara, São João do Jaguaribe, Tabuleiro do Norte, Limoeiro do Norte, Quixeré, Russas, Jaguaruana, Itaiçaba, Aracati e Fortim. As principais vias de acesso à área são a rodovias estadual CE-040 e federal BR-116.

A região onde essa bacia está situada possui clima tropical semiárido, o qual se caracteriza por pequenas variações nas temperaturas médias anuais ( $>18^{\circ}\text{C}$ ), com períodos secos de junho a dezembro e possíveis períodos de chuva concentrados entre os meses de janeiro a maio com precipitação média anual de 704,5 e 742,2 (mm) no baixo e médio Jaguaribe, respectivamente (FUNCEME, 2016). A bacia hidrográfica do rio Jaguaribe possui um relevante número de afluentes e sendo a maioria desses intermitentes, se adequando aos aspectos climáticos da região (DIAS, 2007).

Sobre a vegetação da área há a divisão em litorânea, ao norte, caatinga densa, a oeste, e mata ciliar em toda margem do rio (INESP, 2009), além da zona de mangue no estuário.

Para a descrição geológica a região dessa bacia é formada por rochas do embasamento Pré-Cambriano e Sedimentos Cretáceos e morfologicamente constituída por Relevo Litorâneo, Tabuleiros Pré-Litorâneos, Borda Norte Ocidental da Chapada do Apodi e Rochas cristalinas (PANTALENA, MAIA, 2014).

#### **4.2. Uso e ocupação da Bacia Hidrográfica do Rio Jaguaribe**

A bacia do Rio Jaguaribe é a maior bacia do estado do Ceará e por isso compõe uma grande diversidade de ocupações e uso do solo, possuindo áreas agrícolas, áreas de pasto, áreas urbanas, áreas de criação de camarão e também regiões de vegetação natural. Das atividades antrópicas existentes na região, a carcinicultura provavelmente é que oferece mais danos ao ecossistema. Segundo Paula, Morais e Pinheiro (2006) nessa região existem aproximadamente 174 tanques de carcinicultura instalados, entre licenciados e não licenciados, sendo 122 na zona estuarina, nas proximidades dos municípios de Fortim, Aracati e Itaiçaba.

No aspecto da urbanização, de acordo com o Instituto de Estudo e Pesquisas para Desenvolvimento do Estado do Ceará (INESP, 2009ab) alguns municípios do Médio e Baixo Jaguaribe apresentaram redução da população urbana de 2000 a 2007. Para o tópico de saneamento básico os dados indicam que 64.1% tem abastecimento de água no Baixo Jaguaribe e 73.5% no Médio Jaguaribe. Para esgotamento sanitário a maioria dos municípios não dispõe de instalações para conexão a rede de coleta de esgoto, no Médio Jaguaribe apenas Jaguaribara (79.2%), São João do Jaguaribe (64.1%) e Tabuleiro do Norte (16.6%) e no Baixo

Jaguaribe apenas Aracati, Limoeiro do Norte, Russas e Quixeré tem esse benefício (com 4%, 20.2%, 47.5%, 13.2%, respectivamente). Segundo Maia et al (2006), no estudo de zoneamento ecológico-econômico do estado do Ceará, é retratado que os municípios que abrangem a região estuarina do rio Jaguaribe possuem sérios problemas ambientais, tais como: deposição final do lixo urbano em áreas inadequadas, ausência de rede de esgoto em algumas localidades, ocupação de áreas de proteção para desenvolver atividades econômicas, entre outros.

## **5. METODOLOGIA**

### **5.1. Controle analítico do método de experimental**

A presente pesquisa foi desenvolvida em 3 etapas. Primeiramente, o procedimento analítico empregando cromatografia gasosa foi determinado com base na verificação das figuras analíticas de mérito. Esta etapa foi executada com o intuito de se ter um método analítico eficiente para o reconhecimento dos esteróis e hormônios estrógenos. No segundo momento, foi aprimorado o protocolo de extração e *clean up* (limpeza e fracionamento) já estabelecido nas práticas laboratoriais, para que fosse possível extrair mais de uma classe de contaminantes em um único procedimento. No terceiro momento, foi realizada a coleta de amostras do rio Jaguaribe para ser efetuado o diagnóstico ambiental, usando os métodos pré-estabelecidos e validados.

### **5.2. Limpeza de materiais e vidrarias**

A limpeza do material utilizado nas análises laboratoriais, principalmente aquelas que trabalham com concentrações na ordem de traços ( $\mu\text{g/g}$  e/ou  $\text{ng/g}$ ), é uma etapa de total relevância, pois através dela é possível garantir a ausência de interferentes que possam alterar os resultados encontrados. Por isso, todas as vidrarias utilizadas nesse estudo passaram por um rigoroso procedimento de limpeza, onde foram lavadas com detergente aniônico (Extran - 3% v/v) (Merck), submergidos em banhos de solução do mesmo detergente (20% v/v) de detergente aniônico por 12 horas e enxaguados em água corrente. Depois disso, foram imersos em solução de ácido clorídrico (5% v/v), por 12 horas, lavados em água corrente, secos a  $60^\circ\text{C}$  e deixados em estufa a  $250^\circ\text{C}$  por 6-8 horas.

### 5.3. Padrões e soluções

Durante a extração, *clean up* e preparo das soluções padrões foram utilizados os solventes: hexano, acetona, acetato de etila, diclorometano e metanol. Todos estes pertencentes à marca TEDIA grau HPLC. No *clean up* foram utilizados cobre em pó e alumina da Merck, enquanto o sulfato de sódio anidro e a sílica gel (70 a 230 mesh) da Vetec. Para se determinar o método cromatográfico mais adequado e eficiente para o estudo de qualquer analito é necessário se fazer curvas de calibrações, e para este estudo foram usados padrões analíticos de esteróis e hormônios estrógenos descritos na Tabela 5. Além dos padrões de cada analito também foi utilizado um reagente derivatizante N, O-bis (trimetil-silil-triflúor-acetamida)/trimetil-cloro-silano com 1% TMCS (trimethylchlorosilane) (BSTFA/TMCS – 99:1). Esse reagente tem pureza de >99%, grau cromatográfico, marca Sigma-Aldrich.

**Tabela 5** – Padrões usados para o preparo de soluções analíticas

<b>Esteróis</b>			
<b>Compostos</b>	<b>Pureza</b>	<b>CAS</b>	
Coprostanol (COP)	≥98	360-68-9	Sigma-aldrich
Colesterol (COL)	97.7	57-88-5	
Colestanol (COLN)	99.6	80-97-7	
Ergosterol (ERG)	97	57-87-4	
Stigmasterol (ESTIG)	95.5	83-48-7	
β-Sitosterol (β-SITO)	99.9	83-46-5	
<b>Hormônios estrógenos</b>			
Estrona (E1)	99	53-16-7	Absolute Standard, Inc
17α - Estradiol (α - E2)	99	57-91-0	
17β - Estradiol (β - E2)	97	00050-28-2	
Estriol (E3)	97	00050-27-1	Sigma-Aldrich
17α -Etinilestradiol (EE2)	99.4	57-63-6	
Dietilstilbestrol (DES)	99.9	56-53-1	
Dienestrol (DIE)	98.1	84-17-3	
Mestranol (MES)	99.5	72-33-3	
5α - Colestano (Padrão Interno)	99.9	481-21-0	Sigma - Aldrich
Estrona- 2,4d2 (Padrão Surrogate)	≥99	350820-16-5	CDN Isotopes
Androstanol (Padrão Surrogate)	≥97.5	1224-92-6	Sigma - Aldrich

Fonte: Autora

#### 5.4. Controle de qualidade do método cromatográfico

O controle de qualidade foi realizado a partir do uso de padrões surrogates (PS), padrão interno (PI), brancos da coluna no CG-EM e branco de solvente. Além disso, o método cromatográfico estabelecido na presente pesquisa passou por um controle de qualidade analítico, conhecido como validação de método. Essa validação objetiva apresentar dados que comprovem a viabilidade, eficiência e confiabilidade do método usado para se identificar os analitos de interesse (RIBANI *et al.*, 2004; LANÇAS, 2040). Para isso, algumas figuras analíticas de mérito foram definidas tais como: linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão (repetibilidade) e exatidão (% recuperação do PS). A escolha destas foi realizada por meio do atendimento aos critérios descrito pela ANVISA (2003) e INMETRO (2011). Estas análises cromatográficas foram executadas no Laboratório de Análise Traço (LAT/UFC).

##### 5.4.1. Condições Cromatográficas – Cromatografia Gasosa

Os extratos das amostras foram injetadas no cromatógrafo gasoso (CG-EM), modelo QP2010-Shimadzu, interfaciado com detector de massa acoplado a uma coluna DB-5 (5% Difenil – 95% Dimetil Polissiloxano) (30 m × 0,25 mm*i* × 0,25 μm de filme). As condições de operação do equipamento para análise de Esteróis e Hormônios estrógenos:

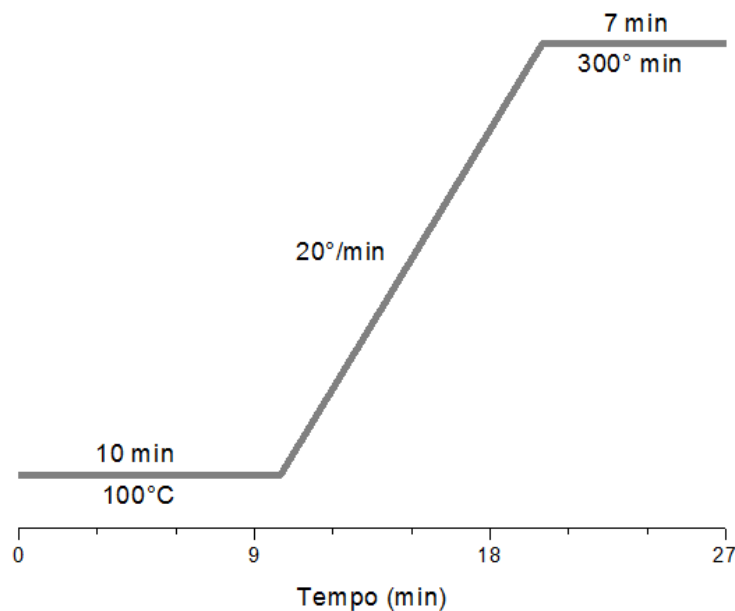
- ✓ Gás de arraste (fase móvel) – Hélio
- ✓ Modo de injeção: Splitless
- ✓ Modo de detecção: SIM
- ✓ Pressão na coluna – 145,2 kPa
- ✓ Temperatura do injetor - 260 °C
- ✓ Temperatura do detector - 260 °C
- ✓ Temperatura final – 300°C
- ✓ Temperatura inicial – 100°C
- ✓ Vazão total – 25 mL min<sup>-1</sup>
- ✓ Vazão na coluna – 2 mL/min
- ✓ Volume de injeção: 2 μL



As condições cromatográficas quanto a programação de temperatura foram:

Temperatura inicial a 100°C esta foi mantida por um período de 10min até que se elevou para 300°C a uma taxa de variação de 20°C/min onde se estabilizou por 7min (Figura 2), concluindo o tempo de corrida total de 27min.

**Figura 2** - Rampa de temperatura para separação dos analitos de interesse.



Fonte: Autora.

Os analitos de interesse de estudo, assim como o padrão interno (5 $\alpha$ - Colestano) e padrão *surrogate* (Androstanol e E1 2,4-d2) foram identificados nos cromatogramas através dos seus respectivos tempos de retenção e fragmentos massa/carga (m/z), estes foram obtidos através de consulta da biblioteca NIST05, informações estão descritas na Tabela 6.

Para se determinar os tempos de retenção de cada composto, inicialmente foi realizada uma varredura de uma solução mix (um ponto da curva) no modo SCAN utilizando as condições cromatográficas previamente estabelecidas, descritas acima. Sendo conhecidos os tempos de retenção individuais foi realizada uma nova corrida cromatográfica, dessa vez no modo SIM (monitoramento de íon selecionado), a fim de obter uma maior sensibilidade

analítica e uma melhor resolução na separação dos compostos monitorados na análise. Todas as amostras e curva de calibração foram executadas pelo método SIM.

**Tabela 6** - Tempos de retenção e razões (m/z) de cada composto.

Compostos	Tempo de Retenção (TR) min.	Relação (m/z)
Androstanol - PS	19,031	95/81/93
DES	19,191	145 / 107 / 268
DIE	19,269	73 / 266 / 121
17 $\alpha$ - E2	20,421	73 / 159 / 146
17 $\beta$ - E2	20,430	73 / 129 / 160
E1	20,471	73 / 257 / 342
E1 2,4- d2 - PS	20,492	147 / 159 / 160
MES	20,612	227 / 147 / 174
E3	20,738	73 / 285 / 129
EE2	20,914	213 / 73 / 285
5 $\alpha$ -colestano – (PI)	21,543	81 / 95 / 149
COP	22,731	75 / 95 / 107
COL	23,336	73 / 95 / 81
COLN	23,466	75 / 95 / 81
ERG	24,631	81 / 55 / 69
ESTIG	24,997	83 / 55 / 81
$\beta$ -SITO	25,118	73 / 95 / 57

Fonte: Autora

#### 5.4.2. Linearidade e Curva de Calibração

A linearidade corresponde a capacidade do método analítico de demonstrar resultados diretamente proporcionais a concentração do analito na matriz amostral, e é calculada a partir da equação da regressão linear (Equação 1) (INMETRO, 2011) em conjunto com uma curva de calibração, que deve ter no mínimo 5 níveis de concentração diferentes (ANVISA, 2003). Pela equação também é possível calcular o coeficiente de correlação linear (R), que permite

estimar a qualidade da curva, onde quanto mais próximo de 1,0 for o valor de R menor é a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados.

$$y=ax+b$$

Equação 1

Onde:

$y$  = sinal analítico (absorbância, altura ou área do pico, etc.);

$x$  = concentração do analito;

$a$  = coeficiente angular;

$b$  = coeficiente linear;

#### 5.4.3. Limite de Detecção (LD) e Quantificação (LQ)

O LD representa a menor detecção do analito de interesse que pode ser encontrado em uma amostra, porém não necessariamente quantificado (ANVISA, 2003; INMETRO, 2003). O LD pode ser calculado por três formas, pelo método visual, método relação sinal-ruído e o método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004). Nesse trabalho o LD foi determinado pelo método baseado em parâmetros da curva analítica, utilizando a equação 2, seguindo a ANVISA (2003).

$$LD = 3 \times DP / S$$

Equação 2

Onde:

DP = estimativa do desvio padrão da resposta dos brancos.

S = coeficiente angular da equação da reta.

O LQ é a menor quantidade de um analito em uma amostra que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis (ANVISA, 2003). O LQ nesse trabalho foi calculado com na equação 3:

$$LQ = 10 \times DP / S$$

Equação 3

Onde:

DP = estimativa do desvio padrão da resposta dos brancos.

S = coeficiente angular da equação da reta.

#### 5.4.4. Precisão

A precisão de um método analítico representa o grau de concordância entre resultados de testes individuais de análises repetidas de uma amostra (ANVISA, 2003). As duas principais maneiras de se determiná-la são por meio da repetibilidade e precisão intermediária, que são expressas pelo desvio-padrão(s) e desvio-padrão relativo (DPR) (INMETRO, 2011). Nesse trabalho a precisão foi calculada pela repetibilidade.

Por se tratar de uma análise cromatográfica é importante conhecer a repetibilidade de pelo menos dois parâmetros: o TR (usada para confirmar a identidade do composto – análise qualitativa) e a área do pico (parâmetro utilizado na quantificação dos compostos de interesse – análise quantitativa) (LANÇAS, 2004). A precisão foi estimada por meio do DPR.

#### 5.4.5. Exatidão – Recuperação PS (%)

Nesse trabalho a avaliação da exatidão do método analítico foi realizada por meio do teste de recuperação, onde esta pode ser entendida como a correção de erros sistemáticos oriundos de perdas procedentes do processo analítico, ao qual a amostra foi submetida, assim interferindo na quantificação dos analitos de interesse (RIBANI et al., 2004). A recuperação foi realizada através da fortificação da amostra por Padrão Surrogate (PS), onde esse é um composto que possui características físico-químicas semelhantes aos analitos de interesse (CAVALCANTE, 2008), contudo é necessário a não existência desse composto nas amostras. A recuperação do PS é um controle para a eficiência das metodologias envolvidas, pois relaciona a quantidade de padrão adicionada no começo e a obtida no final dos processos (LANÇAS, 2004).

Para avaliar a recuperação dos esteróis e hormônios estrógenos foi usado como PS o Androstanol e E1 2,4-d2, respectivamente, adicionando 50µl de uma solução com concentração de 10 ppm nas amostras antes de se iniciar todo processo analítico, ou seja, antes do processo de extração e o cálculo foi realizado de acordo com a equação 4:

$$R(\%) = \left( \frac{\text{Área do PS na amostra}}{\text{Área do PS no vial 100\%}} \right) * 100$$

Equação 4

#### 5.4.6. Padrão interno

O método de padronização interna visa garantir a precisão da análise quantitativa, minimizando os erros associados à injeção, principalmente de injeções manuais. Idealmente, para que uma substância seja usada como padrão interno é necessário que tenha característica química similar ao dos analitos de interesse e não reaja com nenhum constituinte da amostra (MCNAIR e MILLER, 1998; COLLINS, BRAGA, BONATO, 1997). Para que o padrão interno seja eficiente deve-se avaliar a boa resolução do seu pico referente aos demais picos gerados pelos componentes da amostra (LIGIERO et al , 2009) e é essencial que produza um espectro característico para sua identificação.

O padrão interno escolhido nesse estudo foi o 5 $\alpha$  colestano, que foi adicionado nas amostras e nas soluções padrões. O cálculo das concentrações dos analitos nas amostras foi realizado através das razões entre as áreas dos cromatogramas de cada composto pela área do PI (área do composto/área do PI).

### 5.5. Método de extração e *clean up*

O sedimento é caracterizado por ser uma matriz ambiental complexa, por isso os solventes usados na técnica de extração e *clean-up* foram selecionados baseados nas propriedades físico-químicas dos compostos, principalmente o Kow, pois indica a hidrofobicidade dos analitos (Tabela 1 e Tabela 4). Esta etapa foi executada no Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos (LACOr/Labomar-UFC).

#### 5.5.1. Otimização do método de extração e *clean up*

O método de extração foi pensado com intuito de tornar possível a separação de algumas classes de contaminantes orgânicos (Alifáticos, Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), Pesticidas, Esteróis e Hormônios estrógenos) em uma única extração e, assim, diminuir tempo de trabalho laboratorial, quantidade de amostra necessária, consumo de material de laboratório e descartes gerados. Para isso, o método de extração proposto seguiu

as seguintes etapas: primeiramente, foi selecionado o sedimento experimental, em seguida, foram pesados 15g desse sedimento liofilizado (em triplicata), realizou-se a contaminação com os compostos (dopagem) e seguiu-se para extração e fracionamento do extrato (*clean up*). Também foi preparado réplica desse mesmo sedimento para realização do branco de matriz, ou seja, que não foi adicionado de contaminantes. Além disso, foi realizado branco de solvente, onde o solvente sem adição de contaminantes foi submetido às mesmas condições das amostras.

A contaminação das réplicas de sedimento foi realizada pela dopagem de 50µL de uma solução mix (10ppm), essa solução é composta com padrões analíticos de todas as classes que se pretendia extrair (Apêndice A). Além disso, foi adicionada 50µL de uma solução mix (10ppm) dos padrões *surrogates* (PS) de cada classe de compostos analisada (Apêndice A). Após as dopagens, as réplicas foram homogeneizadas manualmente por 5 min.

Foi realizada uma extração sólido-líquida por agitação em ultrassom (sonicação), onde as amostras foram expostas a mistura de solventes (Tabela 7), selecionado pelos seus índices de polaridades. Em seguida, o extrato foi centrifugado a 5000 rpm por 15 min e o sobrenadante foi recolhido em balão de fundo redondo de 250 mL e pré-concentrado para 1mL por rotaevaporação. Esse procedimento foi realizado no sedimento dopado (triplicata), no branco da matriz e no branco de solvente. Na Figura 3 estão apresentados os equipamentos usados nessa etapa de extração.

**Tabela 7** - Misturas de solventes usados na etapa de extração

<b>Mistura de solvente</b>	<b>Tempo no ultrassom</b>
25 mL de acetona	20 min
25 mL de acetato de etila	20 min
25 mL de diclorometano	20 min
25 mL de hexano	20 min
25 mL da mistura de acetona, acetato de etila, diclorometano e hexano (1:1:1:1)	20 min

Fonte: Autora

**Figura 3** – Equipamentos usados no procedimento de extração



Fonte: Autora

Legenda: Liofilizador (a), Ultrassom (b), Centrífuga (c), Rotaevaporador (d).

O *clean up* foi executado com intuito de remover interferentes indesejados e fracionar os extratos de amostras provenientes da etapa anterior em 3 fases, usando os princípios que regem uma análise de cromatografia de coluna aberta. Esta coluna foi construída manualmente para cada réplica com 8g de sílica gel, seguida de 4 g de alumina, ambas em hexano e previamente ativadas. Em seguida, foi colocado  $\pm 0,5$  cm de cobre em pó, seguido de 3 cm de sulfato de sódio anidro, também previamente ativados. Após o preparo da coluna (Figura 4), a mesma foi lavada com 10 mL de hexano, tornando-a pronta para a adição do extrato das amostras. Ao final dessa etapa, obteve-se o extrato por classe de compostos

orgânicos, separados com base na faixa crescente do índice de polaridade dos solventes usados para cada fração (

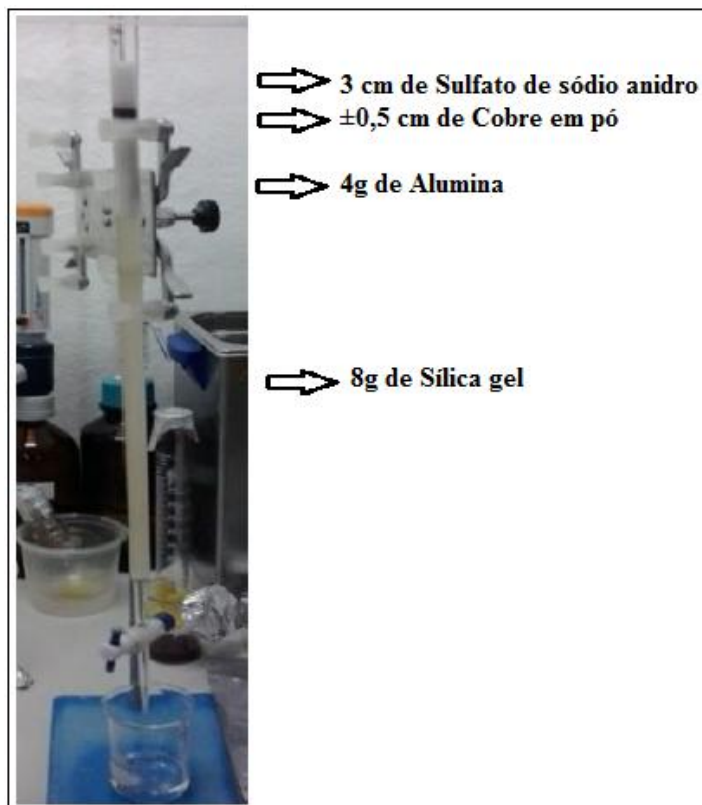
Tabela 8). Cada fração foi pré-concentrada a 1mL antes de ser injetada no CG/EM.

Cada fração foi injetada em triplicata nos métodos cromatográficos previamente desenvolvidos para cada classe de compostos. Nesta pesquisa, apenas a fração F3 foi analisada. Vale salientar que antes da análise no CG/EM, este extrato (F3) foi derivatizado, para tornar os compostos voláteis e possíveis para detecção.

A eficiência dessa técnica analítica de extração e *clean up* foi medida com base no estudo de recuperação realizado a partir da equação 5:

$$\%R = \frac{\text{área do sedimento dopado} - \text{área do branco de matriz}}{\text{área dos analitos adicionados}} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

**Figura 4** – Coluna de *Clean up*



Fonte: Autora

**Tabela 8**– Frações retiradas do extrato de amostras, solventes usados e classes obtidas



Fração	Solventes	P* *	Classes
F1	40ml Hexano	0	Alifáticos e LABs
F2	60ml Hexano:DCM:Acet. etila (3:3:1) (v/v)	1,96	HPAs e Pesticidas
F3	50 ml DCM:MeOH (9:1) (v/v)	3,3	Esteróis e Hormônios

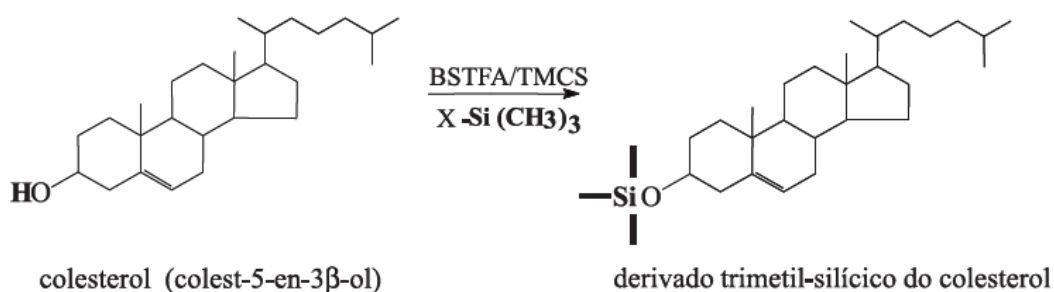
Fonte: Autora

\*Índice de polaridade

### 5.5.2. Derivatização

Antes da análise cromatográfica, tanto a curva de calibração como os extratos de amostras passaram pelo processo de derivatização. Este passo é inevitável devido às características de baixa volatilidade dos compostos em estudo, então esse procedimento tem o intuito de tornar a análise cromatográfica mais eficiente na detecção dos esteróis e hormônios estrógenos. Neste procedimento os compostos são convertidos em éteres trimetil-silícios através da adição de do reagente N, O-bis (trimetil-silil-triflúor-acetamida)/trimetil-cloro-silano com 1% TMCS (trimethylchlorosilane) (BSTFA/TMCS-99:1) (Figura 5).

**Figura 5** – Exemplo da reação de derivatização.

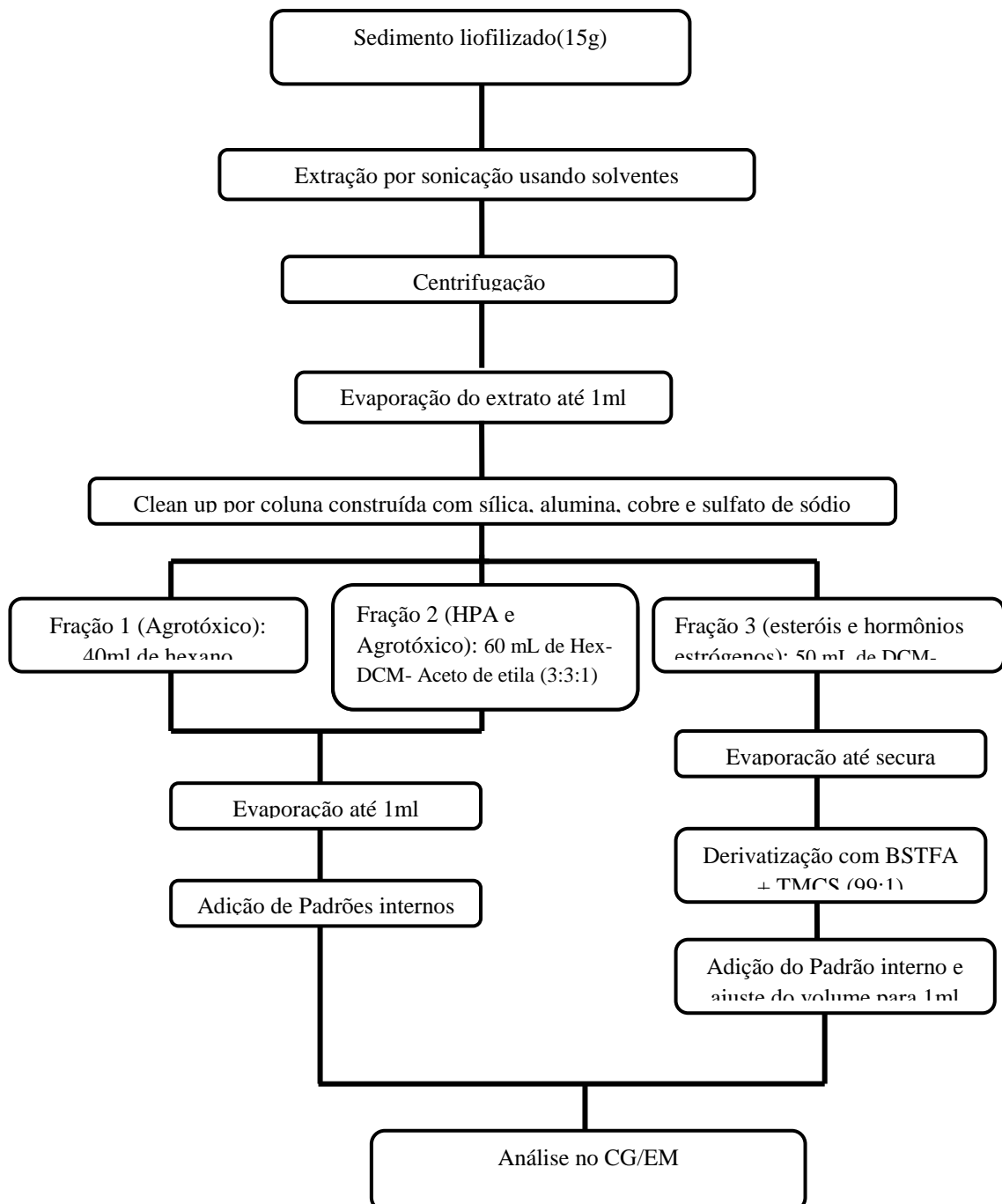


Fonte: MARTINS *et al.*(2008)

Para se realizar a derivatização o vial com extrato da fração F3 foi securo por gás N<sub>2</sub>, depois foi adicionando 50μL da substância derivatizante (BSTFA/TMCS – 99:1) e 200μL do solvente acetonitrila, como catalisador da reação, posteriormente foi aquecido em banho maria de areia a 65-70°C por 90min. Ao término do aquecimento, a solução foi novamente seca em N<sub>2</sub> e os compostos foram ressuspensos com 500μL de solução de acetonitrila/metanol (1:1 v/v). Antes da injeção no cromatógrafo para a identificação e quantificação dos compostos, foi adicionados 50μL da solução de 10 ppm do padrão interno (5α-

Colestano). Na Figura 6 está resumido o tutorial de como as amostras foram processadas e fracionadas em classes de compostos.

**Figura 6-** Fluxograma do procedimento de análise realizado com o sedimento.



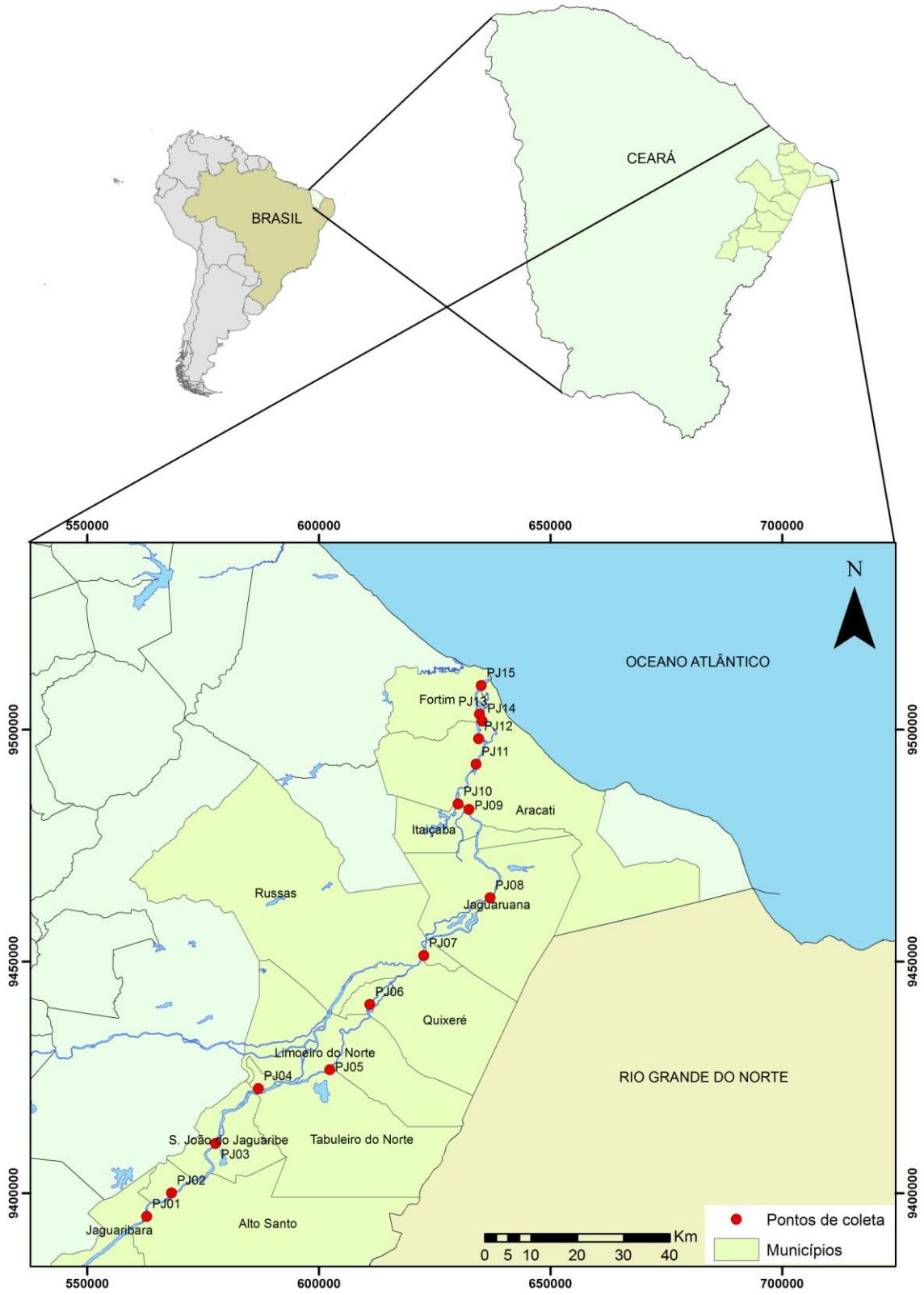
Fonte: Autora

## **5.6. Coletas de amostras – Rio Jaguaribe**

A campanha de coleta dessa pesquisa foi realizada nos dias 1 e 2 de abril de 2016, ao longo do Médio e Baixo Jaguaribe. Foram selecionados 15 pontos de coleta desde a jusante do barramento do açude Castanhão (PJ01, em Jaguaribara) até a foz do rio nas proximidades de Fortim (PJ15). A seleção dos pontos foi elaborada com base em imagens de satélite. Foram coletadas 15 amostras de sedimento superficial e 3 testemunhos, estes foram coletados no mesmo local que os pontos superficiais PJ05, PJ09 e PJ13. Na Figura 7 está apresentada a distribuição espacial dos pontos amostrais e na Tabela 9 estão descritas as coordenadas geográficas de cada ponto de coleta, juntamente com características físicas observadas em campo.

O material utilizado na coleta das amostras superficiais foi de alumínio, para garantir que não haveria influência sobre as concentrações dos compostos de interesse nas amostras. O sedimento foi conservado sob baixas temperaturas até a chegada ao laboratório, onde foram congeladas, até a etapa de extração. Para a coleta dos testemunhos, foram utilizados dois tipos de materiais, de acordo com a finalidade de análise do sedimento. Para as análises físicas do sedimento foi utilizado cano de PVC de 3 polegadas e para as demais análises foi utilizado cano de alumínio de 2 polegadas.

**Figura 7** – Mapa de localização e pontos de amostragem no rio Jaguaribe



Fonte: Autora

**Tabela 9** - Coordenadas de localização dos pontos de coleta.

COORDENADAS DOS PONTOS DE COLETA (UTM)			CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS EM CAMPO
PONTOS	LONGITUDE	LATITUDE	
<b>PJ01</b>	562812	9394969	Rastros de animais (Pegadas e fezes)
<b>PJ02</b>	568211	9400042	Animais (boi/vaca); Água em volume baixo; Lodo (biofilme) bem espesso.
<b>PJ03</b>	577689	9410740	Plantação de subsistência
<b>PJ04</b>	586965	9422546	Ponto do rio que não secou*. Animais presentes (cabras/ bodes).
<b>PJ05</b>	602342	9426626	Esse ponto secou completamente e voltou a encher duas semanas antes do dia da coleta*.
<b>PJ06</b>	611016	9440709	Nenhum aspecto chamativo
<b>PJ07</b>	622640	9451223	Muitas algas; Peixes mortos pelo solo; Filete de água (rio seco) e água parada; Mau cheiro de matéria em decomposição.
<b>PJ08</b>	636969	9463690	Registro de queimadas nas margens do rio; Rio muito seco, água parada; Presença de boi e vaca.
<b>PJ09/TJ1</b>	632431	9482777	Rio bem mais cheio; Presença de pescador com barco a remo, pescando com rede.
<b>PJ10</b>	630067	9483979	Presença maciça de viveiros nas margens do rio. Animais presentes (vacas e cavalos)
<b>PJ11</b>	633963	9492529	Localizado antes da ponte do Aracati; Indícios de atividades pesqueiras; Vários barcos a remo e a motor na encosta.
<b>PJ12</b>	634534	9498018	Depois da ponte de Aracati; Presença de pescadores, barcos a remo e a motor; Muitas casas (comunidade bem formada na margem); Barcos recém pintados; Muitos resíduos de plásticos (garrafas pet, sacos, copos), latas de alumínio (cervejas/refrigerante, de tinta) e isopor.
<b>PJ13/TJ2</b>	634729	9503309	Presença de balsas para passeio; Pescadores em atividade com barcos e redes de pesca; Restaurantes na margem; Barcos a remo e a motor na margem.
<b>PJ14</b>	635246	9501823	Mangue morrendo, bem seco (esbranquiçado).
<b>PJ15</b>	635101	9509508	Foz em Aracati; Área com odor muito forte; Mangue todo esbranquiçado.

Fonte: Autora

\*Informação dos moradores das redondezas.

### 5.6.1. Pré-tratamento das amostras

As amostras de sedimento foram homogeneizadas e subdivididas para diferentes tratamentos. Uma parte das amostras foi seca em estufa (Medicate MD 12) a 65 °C e usadas para a caracterização física (granulometria e carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>)). A outra parte foi usada para análises de matéria orgânica (MO), ácidos húmicos (AH), ácidos fúlvicos (AF), carbono negro (CN) e extração dos analitos de interesse, para isso as amostras foram liofilizadas, o que consiste na secagem por sublimação, garantindo as condições químicas do sedimento. Para a liofilização, as amostras foram congeladas em frascos de vidro e depois colocadas no liofilizador, por aproximadamente 48h. Após esse processo o sedimento foi passado na peneira de 2mm para retirada de materiais maiores (folhagem, animais bentônicos, entre outros).

Os testemunhos coletados em material de alumínio, foram seccionados em frações de 5 em 5 cm, sendo usado para análises de caracterização química e extração dos analitos de interesse. Já os testemunhos coletados em material de PVC foi seccionado em frações de 1 em 1cm e foram usados nas análises físicas. Durante o processamento inicial das amostras, foi descartado o testemunho 1 em razão da sua característica física ser totalmente de pedregulho. Assim, apenas dois testemunhos foram estudados.

Além da caracterização físico-química da matriz ambiental, também foi executado técnicas de extração, *clean-up*, derivatização e análise por cromatografia gasosa, a fim de determinar e quantificar esteróis e hormônios estrógenos nos sedimentos.

### **5.7. Caracterização sedimentar das amostras**

O estudo concomitante de determinação de compostos orgânicos e parâmetros de caracterização dos sedimentos fornece um diagnóstico confiável, seguro e preciso das condições ambientais da área de estudo. Por isso, foi realizado a caracterização física do sedimento (Granulometria e CaCO<sub>3</sub>), no Laboratório de Oceanografia Geológica (LOG) e as análises de caracterização química (CO, AH, e AF) foram realizadas no Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos (LACOr), ambos fazem parte do Instituto de Ciência do Mar (LABOMAR). A análise de CN foi realizada no laboratório de Produtos e Tecnologia em Processos (LPT) do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Todos estes setores são integrantes da Universidade Federal do Ceará (UFC). A Datação dos sedimentos dos

testemunhos foi executado no Laboratório de Poços de Caldas (LAPOC)/Comissão Nacional de Energia Nuclear(CNEN), em Minas Gerais.

#### 5.7.1. Análise granulométrica

Para a caracterização granulométrica foi seguido o protocolo sugerido por Suguio (1973). Inicialmente as amostras foram secas em estufa a 60 °C, seguido do processo de destorroamento e pesado 100g de cada. A partir, disso foi realizado o peneiramento úmido e o seco para separação das frações granulométricas. O peneiramento úmido tem a função de separar a fração arenosa da fração fina (silte + argila) e é feito através da lavagem do sedimento em peneira 0,062 mm sob um filete de água corrente. O material retido na peneira, foi levado à estufa. Os grãos inferiores a 0,062 mm de diâmetro foram recolhidos em baldes e reservados para decantação.

Após a secagem dos grãos em estufa, esse material foi submetido a agitação mecânica no agitador eletromagnético (*Rotup*) por 10 min (Figura 8a), em um conjunto de peneiras de diferentes aberturas. Em seguida, a fração contida em cada peneira, foi retirada, pesada e os valores foram anotados.

O material fino, que estava decantado nos baldes, foi transferido para provetas de 1000mL (Figura 8b), dispensado o excesso da água sem sedimento. Na proveta é adicionado 0,67g de oxalato de sódio para evitar a floculação, foi aferido o volume com água destilada e por fim foram feitos movimentos circulares com bastão de vidro, para dissolver o reagente e se iniciar a pipetagem. Esta foi realizada nos tempos 0:00'58", 0:03'52", 0:07'44", 0:31'00" e 2:03'00", sendo os dois primeiros coletados a 20 cm abaixo da cota de 1000 mL da proveta e os outros três a 10 cm. O material pipetado foi colocado na estufa e após seco foi pesado. O peso do sedimento foi calculado pela diferença entre o peso do béquer com sedimento e o peso do béquer vazio.

Ao final, os dados obtidos foram tratados no programa ANASED 5.0i, que é licenciado para o Laboratório de Geologia Marinha e Aplicada da UFC, no qual foram determinados os teores de fração arenosa e fina.

**Figura 8**– Etapas da caracterização granulométrica





Fonte: Lima, 2016

Legenda: a) Conjunto de peneiras no *Rotup*; b) Provetas com material decantando.

### 5.7.2. Carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ )

A análise para determinar o teor de  $\text{CaCO}_3$  nos sedimentos amostrados seguiu o método clássico do calcímetro de Bernard adaptado (LAMAS *et al.*, 2005). Esse processo consiste em medir indiretamente a concentração de carbonato, através do volume de uma solução salina deslocada pelo gás carbônico gerado em reação com ácido clorídrico (HCl) e o carbonato contido na amostra, isso em um sistema de vasos comunicantes. A análise é feita em um sistema fechado formado pelo instrumento Calcímetro de Bernard e um kitassato (Erlenmeyer adaptado) (Figura 9).

Para realizar o procedimento 0,5g de carbonato de cálcio em pó é adicionado no interior do kitassato, depois são adicionados 2mL de HCl (10%) no tubo de ensaio do Kitassato e o sistema é fechado com uma rolha. Assim, o carbonato de cálcio foi então misturado com o HCL, liberando gás carbônico, que desloca a coluna d'água no interior do sistema, representando o máximo que a coluna d'água pode chegar. Este procedimento foi feito com cada amostra individualmente. Para a determinação da porcentagem do carbonato de cálcio na amostra, multiplicou-se o valor encontrado em cada amostra, por 99 e então se dividiu pelo valor encontrado no procedimento onde se utilizou o carbonato de cálcio em pó (Branco), tendo como resultado o teor de  $\text{CaCO}_3$  de cada amostra.

**Figura 9** – Sistema de vasos comunicantes (Calcímetro de Bernard)



Fonte: Lima, 2016

### 5.7.3. Matéria orgânica (MO)

O teor de MO foi realizado seguindo a metodologia descrita por Camargo et al (2009), que se baseia na oxidação da matéria orgânica do sedimento pela solução de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) e ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), com titulação do excesso de dicromato com sulfato ferroso amoniacal (SFA).

Foi pesado 1 grama do sedimento liofilizado em erlenmeyer de 500 mL, e adicionados 10 mL da solução de  $K_2Cr_2O_7$  1N, seguido de 20 mL de  $H_2SO_4$  concentrado . Essa mistura foi agitada por 1 min com leve rotação manual do frasco e depois foi aquecida a 50 °C por 5 minutos com o auxílio de uma chapa aquecedora (

Figura 10a), em seguida as amostras foram deixadas em repouso por 30 minutos. Após esse período de descanso foram adicionados 200 mL de água destilada, 10 mL de ácido ortofosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) concentrado e 1 mL de difenilamina 1%. E por último foi titulado com solução de SFA 0,25 M (

Figura 10b), até a viragem para cor verde (

Figura 10c). Todo esse procedimento foi feito em triplicata para cada amostra e para um branco. O teor de CO foi calculado pela equação (6) abaixo:

$$\%C = \frac{[10 - (\frac{V_2 \times 10}{V_1})] \times 0,4}{p}$$

Equação 6

Onde:

V<sub>1</sub>: volume de SFA gasto na titulação do branco (mL);

V<sub>2</sub>: volume de SFA gasto na titulação da amostra (mL);

p: peso da amostra (g).

Já o teor de MO, que é a análise usada na caracterização do sedimento no presente estudo foi calculado pela equação 7:

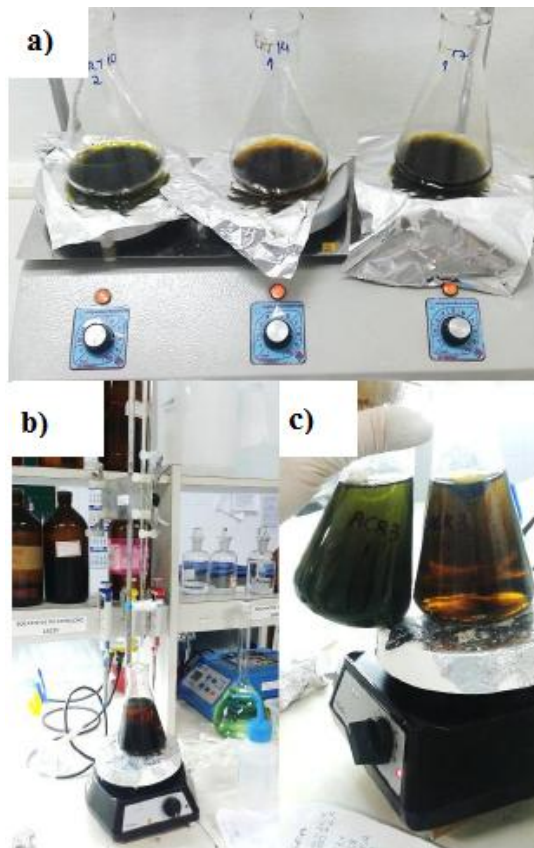
$$\%MO = \%C \times 1,725$$

Equação 7

Onde:

%C: é a porcentagem de carbono orgânico determinado em uma 1 g de sedimento

**Figura 10**– Ilustração da análise de determinação do teor de MO.



Fonte: Lima (2016).

Legenda: a) Chapa aquecedora; b) Titulação;

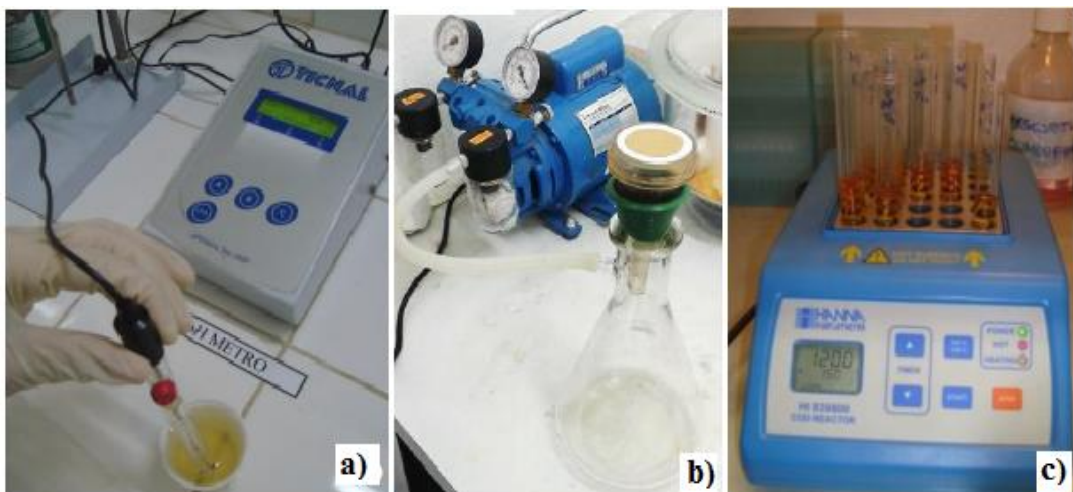
c) Diferença na cor da solução antes e depois da titulação.

#### 5.7.4. Ácidos húmicos (AH) e Ácidos fúlvicos (AF)

A extração e o fracionamento destas substâncias foram determinados pelo procedimento descrito por Benites, Madari e Machado (2003), protocolo utilizado pela Embrapa. Para executar esse procedimento foi pesado sedimento que continha

aproximadamente 30 mg de carbono orgânico e colocado em tubo de centrífuga com tampa, no tubo adicionou-se 20 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 M; agitou-se manualmente e deixou em repouso por 24 h. Após o repouso, as amostras foram centrifugadas a 5.000 g por 30 min e recolheu-se o sobrenadante em copo de plástico descartável de 50 mL e reservou-se. Em seguida adicionou-se 20 mL de NaOH 0,1 M a cada amostra e agitou-se manualmente até o desprendimento e ressuspensão do precipitado, deixando em repouso por 1 h e centrifugou-se novamente, sob as mesmas condições anteriores, sendo sobrenadante recolhido junto ao anterior. O pH do extrato alcalino foi ajustado para pH 1,0 pela adição de gotas de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% e foi deixando decantar por 18 h. Após esse período o extrato foi filtrado em filtro de membrana de 0,45 µm sob vácuo, recolhe-se o filtrado aferindo em um balão de 50 mL com água destilada (fração AF). Para a coleta da fração AH, adiciona-se NaOH 0,1 M sobre o precipitado até a lavagem total do filtro aferindo com água destilada em um balão de 50 mL. Uma alíquota de 5 mL da solução de AF de cada amostra foi transferida para tubos de digestão, adicionou-se 1mL de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 0,042 M e 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. O mesmo procedimento foi realizado para AH e também em quatro tubos contendo 5 mL de água destilada (brancos). Os tubos com alíquotas de cada amostra (tanto para AF quanto AH) e dois dos quatros brancos foram levados para bloco digestor pré-aquecido a 150 °C e por 30 min, dentro de capela. Transferiu-se quantitativamente o conteúdo dos tubos de digestão para frascos erlenmeyer de 125 mL (amostras + dois brancos aquecidos + dois brancos sem aquecimento) e adicionou-se 3 gotas de indicador ferroína e procedeu-se à titulação com SFA 0,0125 M sob agitação. Na Figura 11 estão ilustradas as diferentes fases da análise.

**Figura 11** – Ilustração da análise executada para determinação de AH e AF



Fonte: Autora.

Legenda: a) Ajuste do pH; b) Separação por filtração; d) Tubos no bloco digestor.

A análise das substâncias fúlvicas e húmicas foi realizada em triplicata. Os cálculos para determinação de AH e AF foram feitos a partir das equações (8 e 9) descritas abaixo.

$$X = \frac{(V_{baq} - V_{am})N_{SFAcorr} \times 12 \times 50}{4 \times \text{peso da amostra} \times \text{alíquota}(ml)}$$

Equação 8

Em que:

X - mg CO na forma de ácido húmico ou fúlvico por grama de solo

$V_{baq}$  - Volume (mL) de SFA consumido na titulação do branco aquecido

$V_{am}$  - Volume (mL) de SFA consumido na titulação da amostra

$N_{SFAcorr}$  - Normalidade do SFA corrigida pela equação:

$$N_{SFAcorr} = \frac{\text{Volume de dicromato} \times \text{Normalidade do dicromato}}{\text{Volume de SFA consumido na titulação do branco sem aquecimento}}$$

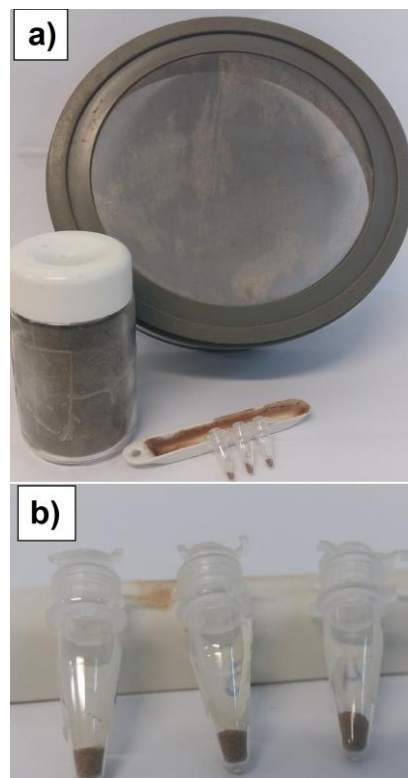
Equação 9

#### 5.7.5. Carbono negro (CN)

A determinação de CN em sedimento foi realizada pelo método da oxidação térmica adaptado de Luz *et al* (2007). O CN é definido como o teor percentual de carbono que sofreu redução térmica, após a retirada de carbonatos e de componentes que não são CN pelo tratamento térmico. Para isso, uma fração de 10 mg de sedimento liofilizado e passado na peneira (<63  $\mu\text{m}$ ) foram pesados em uma balança analítica (precisão 0,01 mg). Em seguida, foram tratadas com HCl (puro) para remoção dos carbonatos e levados a secar em uma estufa (100°C). Foi aguardado as amostras chegarem à temperatura ambiente, e posteriormente foram levadas a mufla (QUIMIS, Modelo Q318M24) para serem calcinadas.

A temperatura utilizada para calcinação foi de 375 °C ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ) sob fluxo de ar permanente por 24 h. Onde a temperatura subia 10°C/min até 300 °C e depois 1 °C/min até 375 °C e a descida da temperatura foi de 10°C/min até 27 °C. Após a oxidação térmica das amostras, o material restante foi quantificado e os teores de CN foram determinados em um analisador elementar da marca Perkin Elmer modelo 2400 Series II CHNS/O, operando em modo CHN. As análises foram realizadas em duplicata, utilizando-se amostras de  $2,000 \pm 0,100$  mg, pesadas em micro-balança acoplada ao equipamento. O padrão de referência utilizado foi acetanilida (C=71,09%, H=6,71%, N=10,36%). Na Figura 12 estão apresentados os materiais usados nesta análise.

**Figura 12** – Materiais usados no preparo das amostras para a análise de CN



Fonte: Autora.

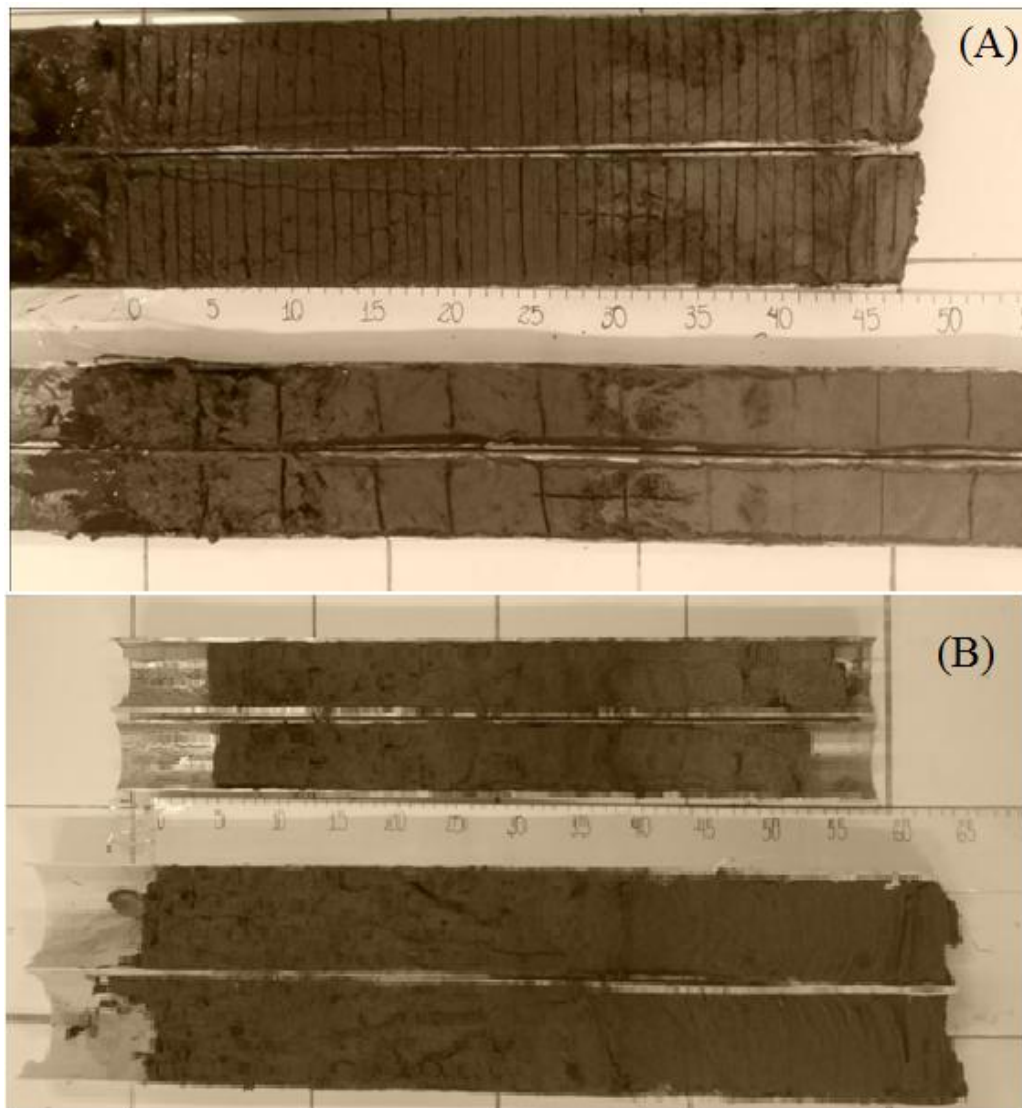
Legenda: a) Amostra analisada, peneira, cubeta de porcelana usada para o processo térmico; b) Material restante do tratamento térmico e usado para determinar o CN.



#### 5.7.6. Datação

A geocronologia foi realizada apenas para os sedimentos coletados em testemunhos. O método realizado foi o de espectrometria gama de alta resolução usando o parâmetro de  $^{210}\text{Pb}$  e  $^{226}\text{Ra}$ . Esta análise foi objetiva estabelecer uma escala temporal (datação) para cada fração sedimentar. Os testemunhos coletados no material de PVC foram seccionados de 1 em 1 cm (Figura 13), cada parte foi armazenada em recipientes de alumínio, foram congeladas e posteriormente liofilizadas. Após este processo de secura, as amostras foram passadas na peneira de 2mm, separado 20g de cada fração e enviados para análise.

**Figura 13** – Foto dos testemunhos coletados no rio Jaguaribe.



Fonte: Autora

Legenda: A – Testemunho 1 (TJ1); B – Testemunho 2 (TJ2)

### 5.8. Propriedades hidroquímicas

As propriedades hidroquímicas foram medidas *in situ* no momento da coleta por meio do refratômetro (salinidade) e por fita papel indicador de pH da MERCK, ambos representados na Figura 14.

**Figura 14** – Ilustração de refratômetro e fita indicadora de pH



Fonte: [www.milkpoint.com.br](http://www.milkpoint.com.br) e [www.a3bs.com](http://www.a3bs.com)

## 5.9. Ecotoxicologia

Para o estudo de toxicidade dos sedimentos foram realizadas duas abordagens: Teste de toxicidade aguda de interface sedimento/água (ISA) utilizando microcrustáceo sensível *Mysidopsis juniae*, com o propósito de avaliar a sobrevivência dos organismos em contato com as amostras. Teste de toxicidade crônica de sedimentos integral com o copépodo *Nitocra* sp, com intuito de avaliar os efeitos sub-letais, em relação à taxa de reprodução, causados aos organismos pelo contato direto com as amostras de sedimento. Também foi realizado o teste com sedimento fortificado (do inglês “*spiked sediment*”), também por meio do ensaio de toxicidade crônica com *Nitocra* sp, com objetivo de avaliar concentrações de efeito dos Hormônios estrógenos sintéticos.

O teste ISA foi realizado no Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia Marinha (LaBBMar/UFC). Já os testes crônicos foram realizados no Laboratório do Núcleo de Estudos em Poluição e Ecotoxicologia Aquática, da Universidade Estadual Paulista (NEPEA/UNESP)

### 5.9.1. Teste de toxicidade de efeito agudo de interface sedimento/água (ISA)

Este bioensaio consiste em expor os organismos por 96h às amostras, seguindo a norma técnica NBR 15308:2011 (BRASIL, 2011). Os misidáceos (*Mysidopsis juniae*) (Figura 15) expostos às amostras de sedimento foram os da fase juvenil, entre 6-8 dias de idade, por serem os mais sensíveis a estressores. Esses indivíduos tem característica de repousar em curtos espaços de tempo sobre a camada de sedimento, recebendo assim influência da troca de sorção entre o sedimento e a coluna de água, por isso é aplicado como teste de interface

sedimento/água. O efeito resultante é baseado na sobrevivência dos organismos ao final do ciclo experimental (96h), sendo feita uma comparação com os controles, representados por amostras sem a presença de contaminantes (ASTM, 1992, USEPA, 2002). As amostras sedimentares usadas como área controle (área de referência) foram coletadas no arquipélago de São Pedro e São Paulo, localizado em Pernambuco, essa escolha foi feita considerando que essa área sofre mínima intervenção humana e pertence a um mosaico de unidades de conservação.

Para a execução do teste foram usados béqueres de 400mL como câmaras teste, sendo preparadas três réplicas para cada amostra. Em cada câmara teste foram adicionadas uma camada de 2cm ( $\pm 200$ g) de sedimento, 200mL de água do mar filtrada e com salinidade próxima a 35‰, e em seguida foram acopladas bombas de aeração, para garantir oxigenação constante durante todo processo. Após 24h do sistema montado, foram adicionados 10 organismos. Os indivíduos de *Mysidopsis juniae* utilizados são originários do cultivo de misidáceos do Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia Marinha (LaBBMar). A porcentagem de sobrevivência foi verificada todos os dias, por meio de contagem dos indivíduos vivos, até completar as 96h exigidas no protocolo. Diariamente os organismos eram alimentados com náuplios do microcrustáceo *Artemia* sp. com idade de 48h e enriquecida com óleo de peixe. Além disso, foram diariamente verificados a salinidade, o pH e o funcionamento das bombas de aeração. O teste foi mantido em sala climatizada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e com regulação de fotoperíodo (12h/12h - claro/escuro). Na Figura 16 pode se observar o esquema de como era executado o teste.

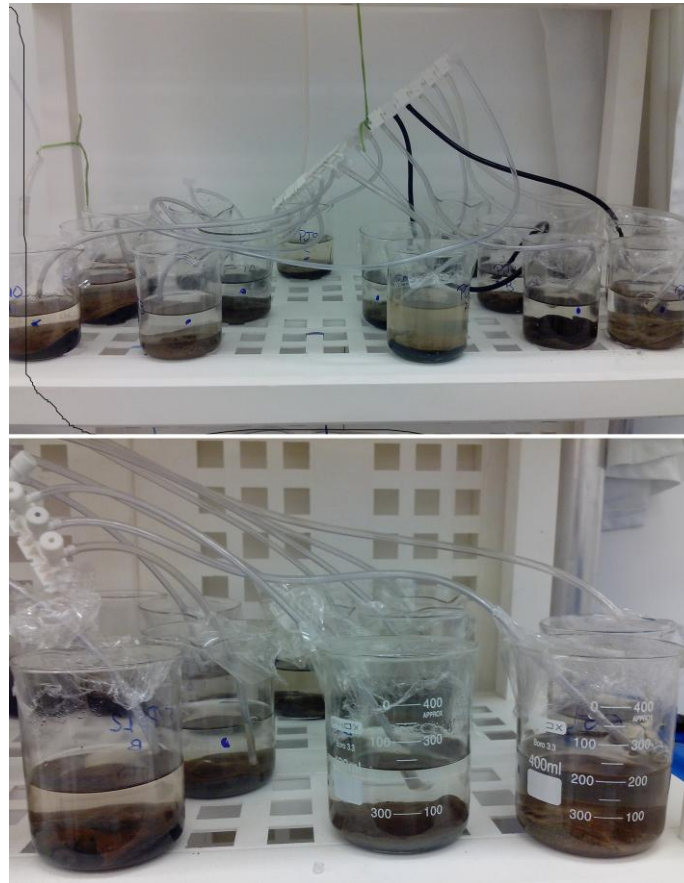
Para averiguar a sensibilidade dos organismos do cultivo foram realizados testes de referência com o Zinco como substância de referência e os organismos se mostraram dentro da faixa de sensibilidade aceita pela literatura.

**Figura 15-** Ilustração do *Mysidopsis juniae*



Fonte: Badaró-Pedroso (1993)

**Figura 16** – Teste de interface sedimento/água



Fonte: Autora.

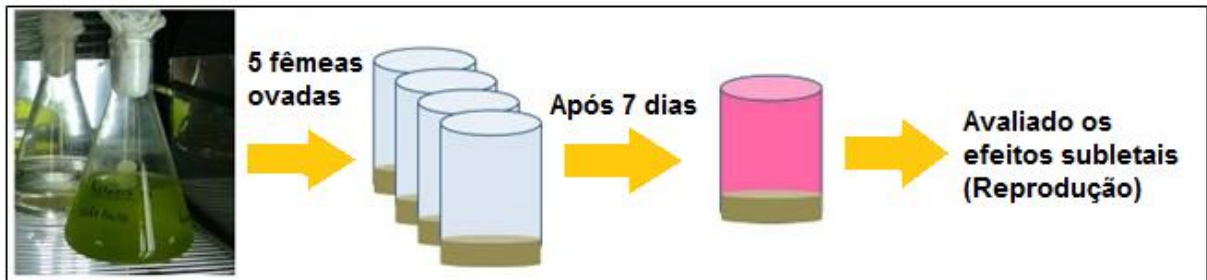
### 5.9.2. Teste de toxicidade de efeito crônico em sedimento integral com *Nitocra* sp

O experimento de efeito crônico realizado com *Nitocra* sp., foi realizado seguindo o protocolo de Lotufo e Abessa, (2002). Os animais expostos nos ensaios foram selecionados dos cultivos mantidos sob condições controladas no laboratório do NEPEA/UNESP.

Para esse teste de toxicidade de sedimento integral foram usados aproximadamente 2g de amostra de cada ponto e do sedimento de referência (este último proveniente de Ilhabela, litoral norte de SP), considerado isento de contaminantes. O experimento foi montado em recipientes de polipropileno de 15 ml, em quatro réplicas. Em cada frasco foram adicionadas as amostras, e em seguida cada um foi preenchido com 10 ml de água do mar autoclavada, aerada e ajustada para salinidade 17‰, mesmas condições dos cultivos. Após montar o sistema, os frascos ficaram em repouso na incubadora com temperatura controlada ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), por 24 h. Posteriormente, cada sistema recebeu 5 fêmeas ovadas (Figura 17), previamente selecionadas do cultivo, em seguida foi fornecido alimento e o ensaio foi mantido durante 7 dias dentro de uma câmara de incubação com fotoperíodo de 16:8 de luz:escuro e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Os parâmetros físico-químicos: salinidade, oxigênio dissolvido e pH foram medidos no início e no final do ensaio. Para encerrar o ensaio foram adicionados 1 mL de formaldeído (10%) e 2 ml de Rosa de Bengala (1%) a cada réplica, e os frascos mantidos em repouso por no mínimo 2 dias a fim de se obter melhor coloração. Esse procedimento é realizado para fixar e corar os animais presentes no final do ensaio. Os organismos foram isolados do sedimento por meio de lavagem das amostras usando peneira de malha de  $45\mu\text{m}$  e água. O material retido na peneira foi levado ao estereomicroscópio onde foram identificados e classificados como fêmeas, náuplios e copepoditos (Figura 18), para obtenção do número de indivíduos da prole (náuplios + copepoditos) por fêmea. Os valores médios obtidos em cada amostra de sedimento integral foram comparados estatisticamente com os obtidos para o sedimento controle.

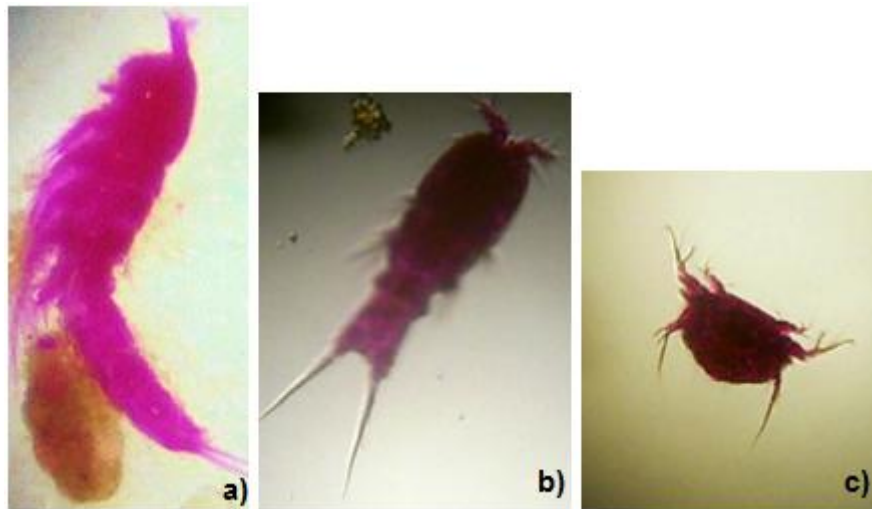
Para legitimar os ensaios e assegurar que a sensibilidade dos organismos do cultivo encontrava-se dentro da faixa aceitável, realizou-se um teste usando uma substância de referência, dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), com alguns indivíduos do cultivo. O efeito avaliado foi a mortalidade e o resultado obtido estavam dentro do padrão estabelecido em literatura.

**Figura 17-** Esquema sobre o ensaio com *Nitocra* sp.



Fonte: Autora

**Figura 18-** Ilustração das fases de vida do copepodo *Nitocra* sp



Fonte: Arquivos do NEPEA (UNESP)

Legenda: a) Fêmea ovada; b) Copepodito; c) Náuplio

### 5.5.3 Contaminação de sedimentos (*Spiked*) e ensaio com *Nitocra* sp.

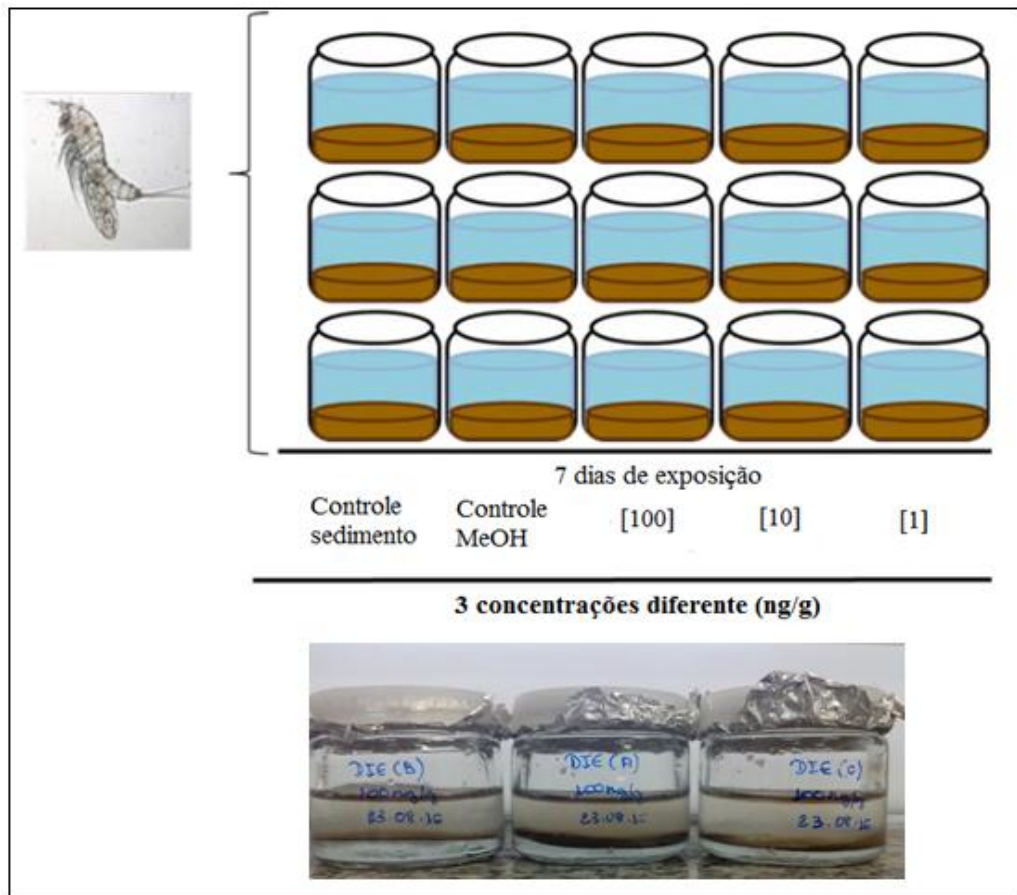
O método de *spiked* consiste em isolar um sedimento de referência e adicionar substâncias de interesse em concentração conhecida. Com esse método é possível avaliar o poder tóxico, através das relações de causa e efeito entre os produtos químicos e as respostas biológicas (ASTM, 2008). Para isso, não há um único protocolo a ser seguido, porém há algumas considerações e recomendações que devem ser seguidas (ASTM, 2008).

Os compostos usados na contaminação do sedimento foram 4 hormônios estrógenos sintéticos (Mestranol, Dienestrol, Dietilestilbestrol e o  $17\alpha$ -Ethinilestradiol). A escolha pelos estrógenos sintéticos se deu considerando a relativa baixa solubilidade dos mesmos. Neste estudo o sedimento contaminado foi utilizado no ensaio de toxicidade de efeito crônico com *Nitocra* sp, descrito detalhadamente no subitem 5.5.2.

Para executar a dopagem (contaminação) do sedimento foi preparada uma solução estoque individual, em MEOH, para cada hormônio com concentração de 10.000 ppb e a partir dela foram retirados volumes para dopar o sedimento, de modo a atingir concentrações finais de 100 ng/g, 10 ng/g e 1ng/g para o MES, DIE e DES, em triplicata. Já para o EE2 o sedimento foi contaminado com as seguintes concentrações: 10ng/g, 5ng/g, 2,5ng/g e 1ng/g, em triplicata (Figura 19). Essa diferenciação para o EE2 ocorreu pelo fato de haver na literatura estudos especificando que a menor concentração que causa efeito é 2,4ng/g. Assim foi escolhida uma concentração abaixo da concentração de efeito, conhecida como concentração na qual não se observa efeito (CENO), outra concentração próxima a de efeito e duas acima. Todas as concentrações usadas nessa pesquisa foram escolhidas com o intuito de abranger a faixa de concentrações ambientais encontradas em pesquisas.

Figura 19 – Esquema do ensaio *Spiked* com *Nitocra* sp





Fonte: Autora

O sedimento usado para ser dopado foi coletado em Cananéia (SP), que é uma área de baixa influência antrópica e inserida na APA de Cananéia-Iguape-Peruíbe, área de proteção federal. Antes de iniciar o ensaio o sedimento foi seco em estufa durante 2 dias a 60°C, para minimizar qualquer interferente que pudesse existir no mesmo. Ao sair da estufa foi devolvida a umidade natural do sedimento com água do mar autoclavada e filtrada. Após esse preparo as compostos químicos foram adicionados ao sedimento úmido e vigorosamente agitados manualmente durante 30 minutos. Em seguida, o sedimento foi deixado em repouso, protegido da luz e armazenado à temperatura de  $\pm 4^{\circ}\text{C}$  por 7 dias, para garantir a estabilidade do contaminante no sistema montado. Após o repouso foram separados 2g desse sedimento dopado para cada réplica em frascos de vidro com tampa (Figura 19), em seguida foram adicionados 10 ml de água autoclavada, aerada e de salinidade 17‰, e então adicionou-se os organismos teste, sendo aguardado o período de 7 dias. Após o fim do experimento, a prole foi contada e foram então realizados os testes estatísticos. Durante esse ensaio, além do sedimento dopado também foi realizado um

controle de sedimentos, onde a mesma matriz usada no experimento é usada como controle e passa por todos os processos, porém essa réplica não é dopada com os Hormônios estrógenos. E também é feito o controle de solvente, para atestar que o sedimento e/ou solvente não exerceram função sobre o copépode *Nitocra* sp.

## 6. TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Todos os resultados obtidos nas análises de caracterização do sedimento passaram pelo teste estatístico de rejeição - teste Q (também conhecido como teste de Cochran), considerando que se o valor de Qcalculado > valor de Qtabelado (nível de confiança de 95%), o dado foi rejeitado, ou seja, a análise foi realizada novamente. Para calcular o teste Q foi usada a equação (10) descrita abaixo.

$$Q = \frac{(\text{valor suspeito} - \text{valor mais próximo})}{\text{maior valor} - \text{menos valor}}$$

Equação 10

Para analisar os dados de distribuição espaço-temporal dos Esteróis e Hormônios estrógenos foi realizado correlação de spearman ( $p < 0,10$ ) com os dados abióticos do sedimento, tais como: granulometria, MO, AH, AF, CN, utilizando o software Statistica 7. Também foi realizado a integração dos resultados através do método de análise multivariada, submetendo os dados a análise fatorial (FA) com extração das componentes principais (PCA) usando o software Statistica 7. Para se determinar a adequabilidade da extração de fatores foram estabelecidos dois critérios: Kaiser (eingevalue >1), esse foi confirmado pelo scree test, e variância acumulada (acima de 60%) (Figueiredo e Silva, 2010). Para estabelecer as associações das variáveis que tiveram contribuição de maior significância nas componentes, foi considerado um fator de corte (Factor loading) igual a 0,70, respeitando o percentual de variâncias estabelecido por Comrey e Lee (1992).

Os resultados dos ensaios ecotoxicológico foram submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilks) e homocedasticidade (Barlett's). Após estes testes os resultados dos ensaios agudos (Misidáceos) e crônicos (Copépodos) passaram pelo teste t'student e a partir disso comparados com os respectivos controles. Para os ensaios de contaminação (*Spiked*) foi realizado o teste ANOVA de uma via e o teste *post hoc* de Bonferroni, comparando as concentrações dos compostos com os controles de sedimento e controle de solvente. Para

todos os teste foi previamente estabelecido um nível de significância de  $p < 0,05$ , quando se determinava diferença significativa os sedimentos e as concentrações foram considerados tóxicos. Para estes dados foi usado o software Prism.

## 7. INTEGRAÇÃO DOS DADOS

Para integrar os dados de sedimentos superficiais foi utilizada a ferramenta de tabelas de decisão (CHAPMAN *et al.*, 1996; CARR *et al.*, 1996; ABESSA, 2002; ABESSA *et al.*, 2008). Nessas tabelas, é definido os componentes que foram analisados individualmente, no presente estudo foram as razões diagnósticos dos esteróis, as concentrações do  $\Sigma$ hormônios estrógenos sintéticos e os testes ecotoxicológicos. A tabela foi organizada da seguinte forma: nas linhas foram dispostos os pontos amostrados e nas colunas cada componente analisado isoladamente. Os resultados para cada componente é dado na forma de efeito/não efeito. Em cada coluna é assinalado um sinal de (+) quando houver degradação ou efeito negativo, ou um sinal de (-) no caso de não efeito. Desse modo, é possível evidenciar e comparar os resultados entre cada análise realizada.

## 8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 8.1. Controle de qualidade do método cromatográfico

#### 8.1.1. Linearidade e Curva de Calibração

A linearidade foi realizada pelo estudo da curva de calibração, onde foi determinado 5 concentrações diferentes dentro da faixa de 50-1000  $\mu\text{g.L}^{-1}$  com valores do coeficiente de correlação (R) acima de 0,99 (Tabela 10), comprovando que os dados estão ajustados e estão em conformidade com ANVISA (2003) e INMETRO (2003) que recomendam um  $R = 0,99$  e  $0,90$ , respectivamente.

#### 8.1.2. Limite de Detecção (LD) e Quantificação (LQ)

Os valores de LD e LQ dos compostos analisados podem ser visualizados na Tabela 10 e variaram de 6,20 a 68,94  $\text{ng.g}^{-1}$  e de 9,12 a 38,26  $\text{ng.g}^{-1}$  para LD dos hormônios estrógenos e esteróis, respectivamente. Para LQ variaram de 20,66 a 229,80  $\text{ng.g}^{-1}$ , para hormônios estrógenos e 33,98 a 127,55  $\text{ng.g}^{-1}$  esteróis.

**Tabela 10-** Parâmetros de avaliados no método cromatográfico.

Compostos	Linearidade		LD	LQ
	Equação de regressão	Coefficiente de Correlação (R)		
<b>HORMÔNIOS ESTRÓGENOS</b>				
DES	$y = 0.0001x + 0.0081$	0.9910	36,64	122,12
DIE	$y = 0.0015x + 0.0226$	0.9940	6,20	20,66
a-E2	$y = 0.0004x + 0.0088$	0.9989	10,01	33,36
b-E2	$y = 0.0009x + 0.0075$	0.9993	15,58	51,93
E1	$y = 0.0006x + 0.0131$	0.9933	41,66	138,87
MES	$y = 0.0003x + 0.0035$	0.9980	21,93	73,09
E3	$y = 0.001x + 0.0285$	0.9998	68,94	229,80
EE2	$y = 0.0005x + 0.0034$	0.9993	24,47	81,55
<b>ESTERÓIS</b>				
COP	$y = 0.0016x + 0.0629$	0.9992	9,12	30,40
COL	$y = 0.0013x + 0.0458$	0.9972	16,57	55,24
COLN	$y = 0.0014x + 0.0552$	0.9982	38,26	127,55
ERG	$y = 0.0008x + 0.0094$	0.9921	12,65	42,16
ESTG	$y = 0.0001x + 0.0219$	0.9993	10,19	33,98
B-SITO	$y = 0.0008x + 0.0094$	0.9996	23,45	78,17

Fonte: Autora.

### 8.1.3. Precisão

A precisão foi medida com base na repetibilidade, onde o ponto de 500 ppb da curva foi injetado 7 vezes, sob as mesmas condições operacionais durante um curto intervalo de tempo e expresso como um desvio padrão relativo (DPR). Cavalcante *et al* (2012) salienta que é importante avaliar a repetibilidade de pelo menos dois parâmetros do método analítico, então nesse estudo usou-se o tempo de retenção (confirmando a do analito de interesse) e a área do pico (referente a quantificação do analito de interesse). A repetibilidade do método, em termos de DPR, variou de 6,76 a 19,87% da área do pico (análise quantitativa) e de 0,00 a 0,30% do tempo de retenção (análise qualitativa) (Tabela 11). Para os órgão reguladores como INMETRO(2003) e ANVISA (2003) é aceito valores de DPR(%) de até 20% para

determinação de contaminantes por métodos cromatográficos, com isso prova-se que o método proposto tem precisão.

**Tabela 11-** Repetibilidade da área do pico e do tempo de retenção dos analitos

Compostos	Área do pico		TR	
	Média	DPR	Média	DPR
<b>DES</b>	203016,33±13724,55	6,76	19217,33±57,74	0,30
<b>DIE</b>	136997,33±9092,37	6,64	19230,00±58,03	0,30
<b>a-E2</b>	626395,00±79002,65	12,61	20389,33±57,45	0,28
<b>b-E2</b>	23710,33±4710,12	19,87	20445,67±5,77	0,03
<b>E1</b>	201732,00±34112,34	16,91	20476,67±58,60	0,29
<b>MES</b>	150473,00±25285,87	16,80	20627,00±1,00	0,00
<b>E3-1</b>	524938,00±38407,02	7,32	20695,00±57,17	0,28
<b>EE2</b>	169018,67±27924,56	16,52	20888,33±1,15	0,01
<b>COP</b>	756637,67±72750,58	9,61	22755,00±58,03	0,26
<b>COL</b>	535312,67±60613,00	11,32	23511,00±58,03	0,25
<b>COLN</b>	605473,33±68708,26	11,35	23648,00±2,65	0,01
<b>ERG</b>	44767,00±5831,33	13,03	24103,00±1,00	0,00
<b>ESTG</b>	491441,33±47840,34	9,73	24839,67±56,01	0,23
<b>B-SITO</b>	233661,33±25078,32	10,73	25531,33±3,21	0,01

Fonte: Autora

#### 8.1.4. Exatidão

A exatidão do método analítico foi avaliada por testes de recuperação do PS, que nesse estudo foram usados dois compostos, o E1-2,4d2 e o Androstanol. Uma solução mix com esses dois padrões de 10ppm foi usada para dopar as amostras (50 µL dessa solução em cada amostra). A fortificação da matriz com essa solução era feita antes de se iniciar o processo de extração e medido após a análise cromatográfica. De modo geral, foi observado que a média do percentual encontrado foi de 104,25% para E1-2,4d2 e 41,72 para o androstanol, sendo considerado satisfatório para estudos em matrizes complexas, como sedimento (CAVALCANTE *et al.*, 2012). Na literatura, a porcentagem de recuperação aceita é de 70 a 120% (ANVISA, 2003; RIBANI *et al.*, 2004). A USEPA (1990) relata que valores entre 30 a 115% são aceitos como boa recuperação.

## 8.2. Método de extração e *clean up*

Em virtude da escassez de procedimentos que possibilitem a extração e análise multicontaminantes, esforços significativos têm sido aplicados para o desenvolvimento de métodos eficientes dos mesmos. Diante disso, é possível afirmar que a possibilidade de um método analítico para a determinação de multicontaminantes em uma única extração seria de grande valia, de modo que iria diminuir tempo de trabalho laboratorial, massa necessária de amostras, consumo de material de laboratório e descartes gerados. Até o momento, a extração de contaminantes orgânicos do sedimento por ultrassom seguidos de *clean up* é utilizada (OLIVEIRA *et al.*, 2016, DUAVÍ *et al.*, 2015), e esses métodos são baseados na força eluotrópica dos solventes. Com isso, mostra-se que a seleção dos solventes usados na extração é um dos pontos essenciais em um método de extração multicontaminantes. Para a escolha dos solventes foram considerados alguns aspectos, tais como: habilidade de extração de um amplo espectro de contaminantes com diferentes polaridades, apresentar seletividade durante a extração, compatibilidade com diferentes técnicas cromatográficas, baixo custo e segurança (MAŠTOVSKÁ; LEHOTAY, 2004; PRESTES *et al.*, 2009).

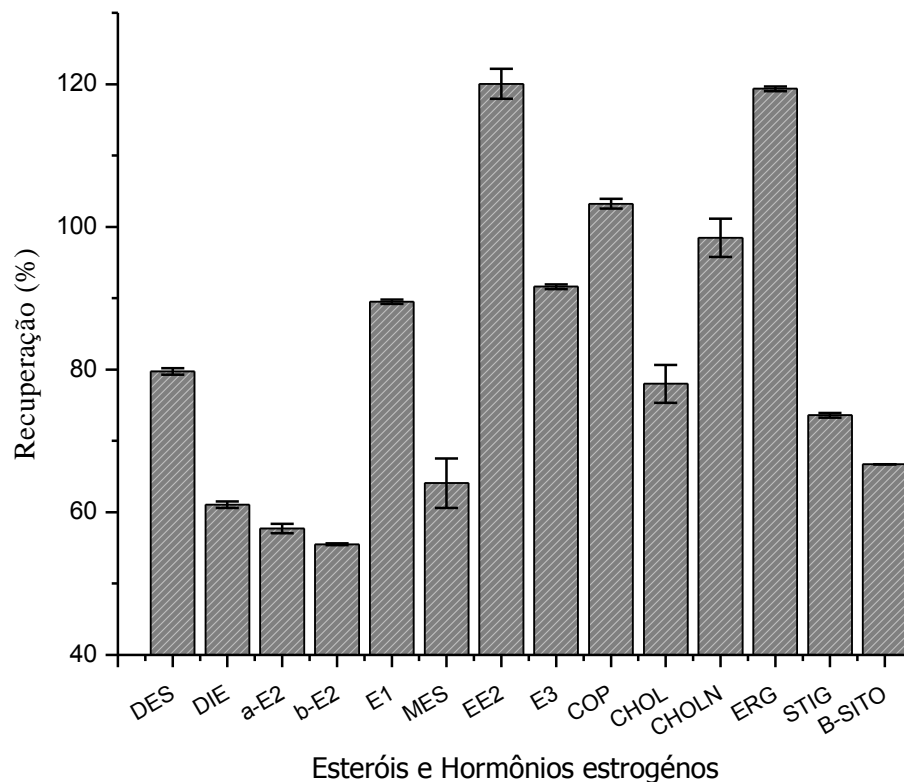
Para assegurar que a técnica de extração por sonicação em ultrassom, seguida pelo processo de *clean up* (por cromatografia de coluna aberta) resultou na separação de diferentes classes de contaminantes, tais como: HPAs, Alifáticos, Agrotóxicos, Esteróis e Hormônios estrógenos, gerando três frações (F1, F2 e F3) distintas, e cada fração foi injetada em métodos cromatográficos previamente estabelecidos para identificação específica de cada classe de contaminantes.

Como na presente pesquisa se objetiva avaliar contaminação antrópica, advinda de esgoto doméstico ou de atividades de manejo animal. Esclarecido isso, no presente trabalho foram utilizados somente a fração que continha esteróis e hormônios estrógenos, no entanto os extratos dos demais contaminantes foram guardados para realização de outros trabalhos.

Então, para verificar e confirmar em qual a fração que saíram os esteróis e hormônios estrógenos, cada fração foi injetada, em triplicata, no método cromatográfico desenvolvido para esses contaminantes. Ou seja, F1, F2 e F3 foram injetados no método pré-estabelecido para identificar e quantificar esteróis e hormônios estrógenos. Com isso, pode-se admitir que as classes de esteróis e Hormônios estrógenos foram isoladas apenas na F3. Após essa confirmação, foi realizado um estudo para averiguar se o método de extração foi eficiente para os compostos de interesse. Essa verificação se deu pela recuperação dos analitos

utilizados para fortificar o sedimento. Também foi analisado o branco da matriz (matriz sem dopagem com os padrões dos contaminantes, mas dopada com PS) e branco do solvente. A quantificação foi realizada utilizando o método do *vial* 100% (solução que contém os padrões analíticos de todos os esteróis e hormônios estrógenos analisados diluídos em solvente para que fiquem na mesma concentração que foi dopada as amostras). Na Figura 20 está apresentado os resultados da recuperação desses analitos.

**Figura 20** - Recuperação dos esteróis e hormônios estrógenos no teste do método de extração



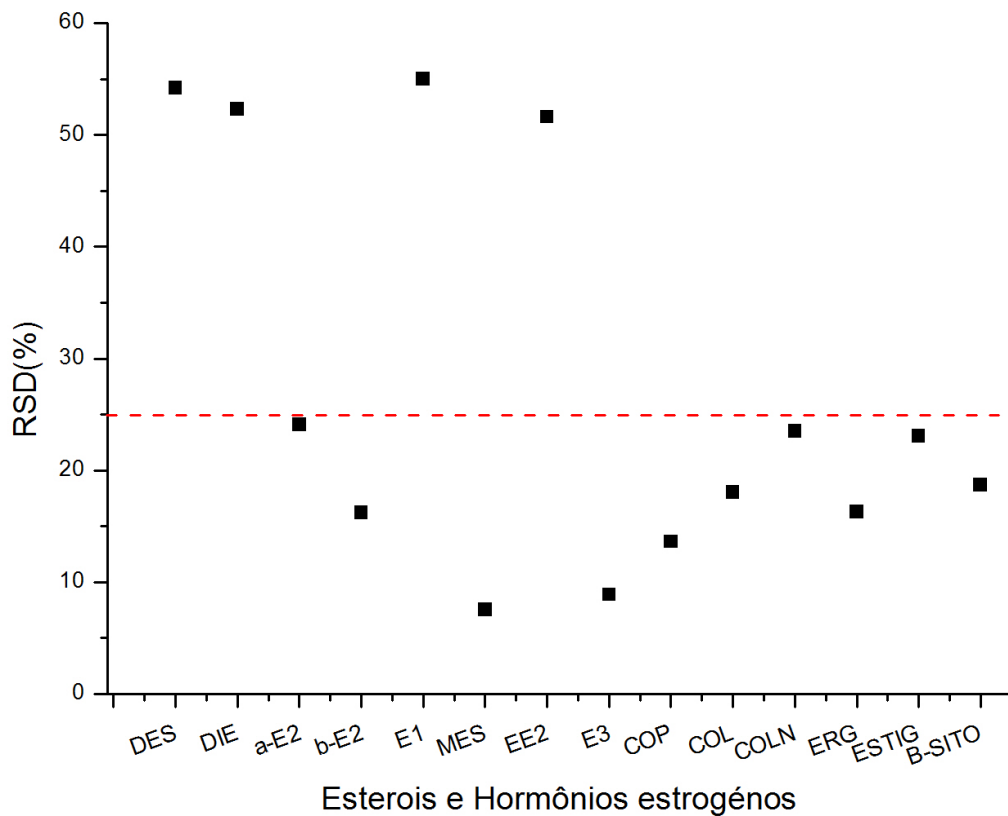
Fonte: Autora

Os valores de recuperação para os compostos estudados variaram de 55,51 a 120,05%. Essa recuperação é aceitável para a determinação do analito de interesse, uma vez que os intervalos definidos pela ANVISA (2003) e pela USEPA (1990) que admitem valores nos intervalos de 70 a 120 %, de 40 a 120 % e de 30 a 115 %, respectivamente.

Para avaliar a precisão dos dados de recuperação foi realizado a análise do desvio padrão relativo (RSD), que indicou alguns valores acima de 25 %, porém o método ainda

pode ser considerado preciso para essa classe, pois a maioria dos compostos analisados obtiveram  $RSD < 25\%$ , como está mostrado na Figura 21. De acordo com Denoux et al. (1998) o método é considerado confiável quando no mínimo 75% dos compostos tem RSD inferior a 25%.

**Figura 21-** Taxas de desvio padrão relativo para cada classe de contaminante.



Fonte: Autora

### 8.3. Caracterização sedimentar das amostras

#### 8.3.1. Granulometria e $\text{CaCO}_3$

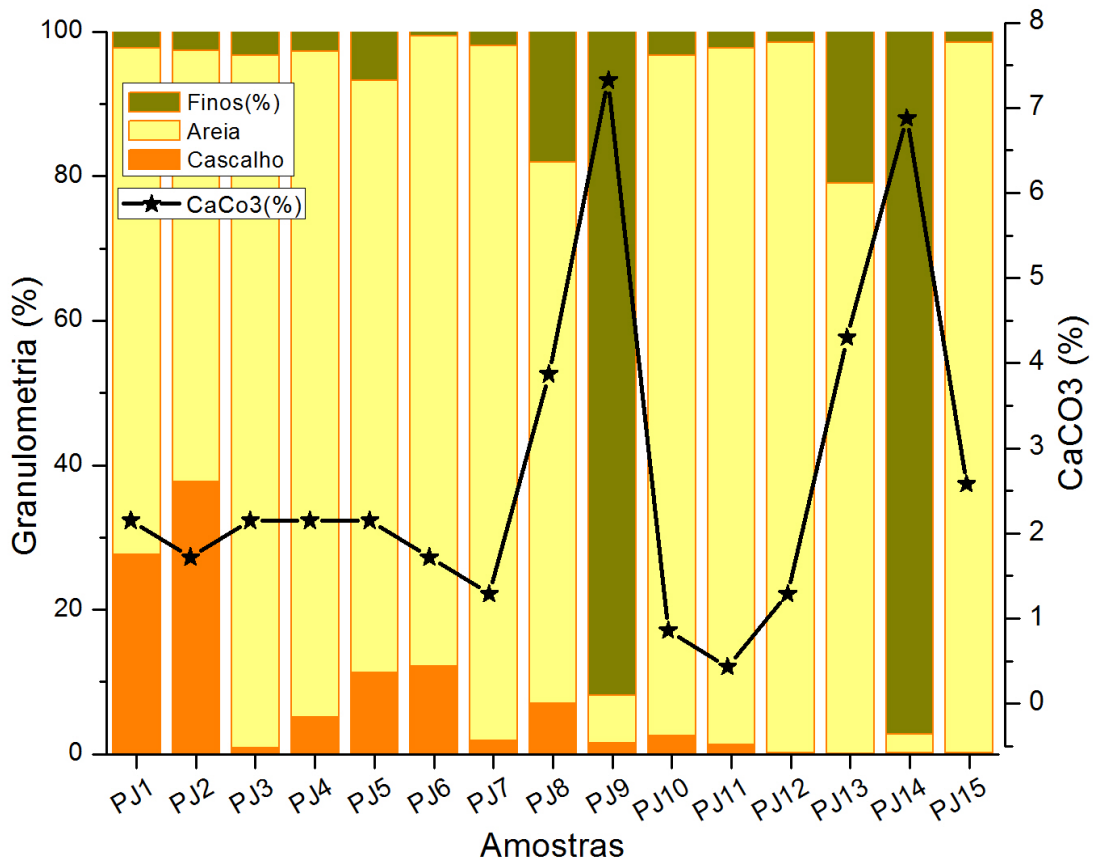
O importante de se conhecer o perfil granulométrico de uma área de estudo é devido ao potencial de acúmulo da matéria orgânica nas frações finas (silte e argila), sendo assim propício a reter compostos orgânicos e inorgânicos (CHEN *et al.*, 2011; MATER *et al.*, 2004). Enquanto que as frações grossas tem redução nessa interação, o que pode sugerir dificuldade no acúmulo de compostos.



Os sedimentos superficiais apresentaram predominância de frações arenosas em termos gerais. Na zona fluvial (pontos PJ1 a PJ9) houve predominância de frações arenosas com aproximadamente 59,67 % a 96,14 % nos pontos PJ1 a PJ7. Para os pontos localizados na porção estuarina (PJ10 a PJ15) fração arenosa ainda foi dominante, com valores de 94,16% no PJ10 e 98,29% no PJ15. Os pontos PJ9 e PJ14 apresentaram maior porcentagem de finos (91,86 e 93,40%, respectivamente). Essa característica do PJ9 é justificada por está localizado próximo a barragem de Itaiçaba, mais precisamente a montante, além disso, essa área é zona de planície de inundação e por isso tem baixo fluxo de energia que conduz a deposição sedimentar. O ponto PJ14 pode ser explicado pela proximidade com área de mangue. Em relação a outros estudos, o rio Jaguaribe foi caracterizado por ter predominância de sedimento arenoso Godoy (2011), Andrade (2012) e Oliveira *et al* (2016). A caracterização granulométrica foi realizada nos 15 pontos de coleta de sedimento superficial e os resultados obtidos estão apresentados na Figura 22.

Com relação ao teor de  $\text{CaCO}_3$  os valores alcançados nos sedimentos superficiais foram de 0,43 a 7,32 (%), nos pontos PJ11 e PJ9 respectivamente. Essas porcentagens estão abaixo do que é relatado em outros estudos de rios do estado do Ceará, por exemplo, Aguiar, Gomes e Freire (2008) encontraram uma variação de 4,4 a 38,5% em Icapuí. Como os maiores valores encontrados (7,32 - PJ9 e 6,88%- PJ14) correspondem aos pontos classificados como lamosos (com maior percentual de silte e argila) pode-se afirmar que são carbonatos de lama. Aguiar (2014) afirma que esse carbonato de lama são depósitos comuns em ambientes de baixa energia. Além disso, nesses dois pontos foram identificados, em campo, a presença muitas conchas e Morse (2003) explica que as carapaças de organismos podem se acumular e se tornar fontes de  $\text{CaCO}_3$ .

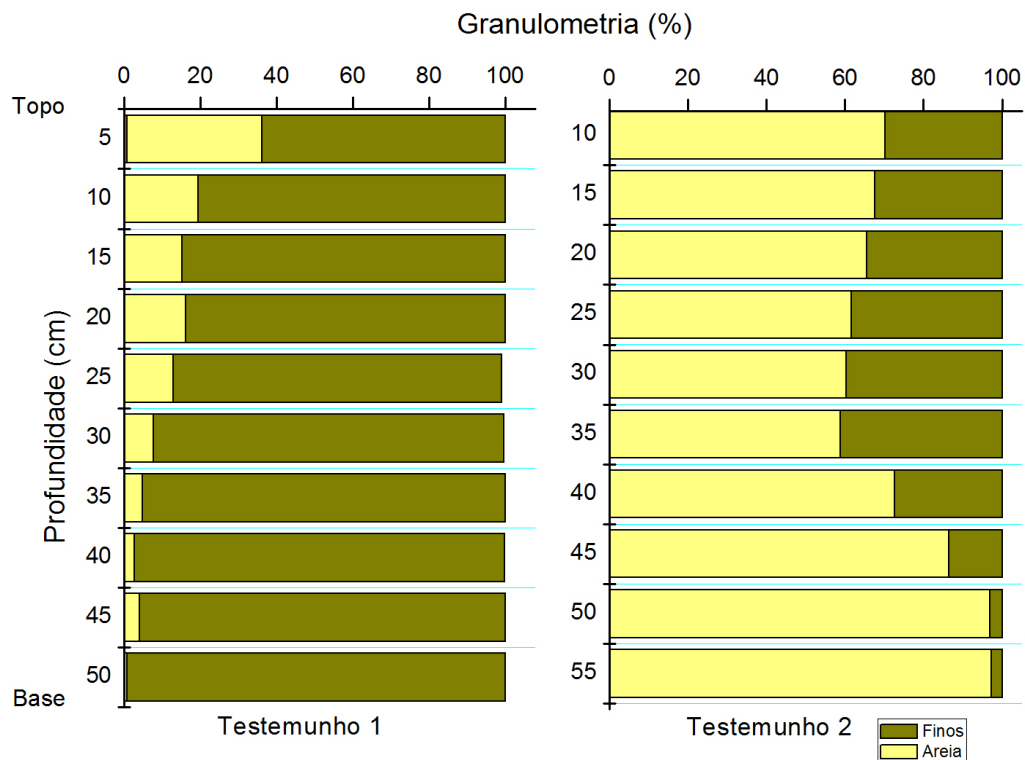
**Figura 22-** Porcentagem granulométrica dos sedimentos superficiais



Fonte: Autora

Na caracterização granulométrica dos testemunhos foi visto que o testemunho 1 (TJ1) tem predominância da fração fina, onde apenas na porção mais superior se obteve uma maior quantidade de areia (35,54%) (Figura 23). Já o testemunho 2 (TJ2) a fração arenosa foi dominante, variando de 58,77 a 97,28(%). A fração fina teve representatividade em apenas três porções da coluna de sedimento, 25cm com 38,32(%), 30cm com 39,74(%) e 35cm com 41,23(%) (Figura 23). Essa conjuntura pode ser explicada pela dinâmica sedimentar na área de estudo, onde o TJ1 é localizado a montante da barragem de Itaiçaba (no mesmo local do ponto superficial PJ9), Bezerra (2010) esclarece que construções de barramento ocasionam a diminuição da velocidade do fluxo dos sedimentos, favorecendo a decantação do material fino. Já o TJ2 está mais próximo da foz do rio (no mesmo local do ponto superficial PJ13) e possui uma dinâmica de fluxo energético maior. Além disso, no baixo Jaguaribe há evidências de construção de sucessivas passagens molhadas, seja para propiciar a travessia de veículos e pedestres ou para utilização na irrigação em pequenas propriedades (BEZERRA, 2010), ocasionando a diminuição do material fino ao logo do percurso final do rio. Na classificação de Shepard o TJ1 é predominantemente lama e TJ2 é areia lamosa (Tabela 12).

**Figura 23-** Porcentagem granulométrica dos testemunhos



Fonte: Autora

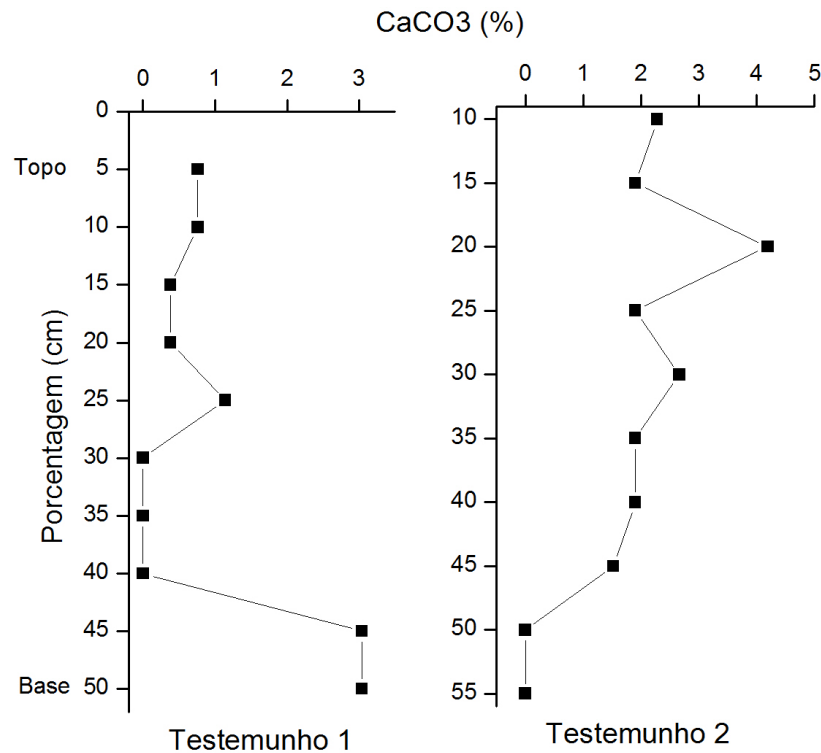
**Tabela 12** - Classificação granulométrica dos testemunhos

Frações dos Testemunhos	Shepard
TJ1 05cm	Lama arenosa
TJ1 10cm	Lama
TJ1 15cm	Lama
TJ1 20cm	Lama
TJ1 25cm	Lama
TJ1 30cm	Lama
TJ1 35cm	Lama
TJ1 40cm	Lama
TJ1 45cm	Lama
TJ1 50cm	Lama
<hr style="border-top: 1px dashed red;"/>	
TJ2 10cm	Areia Lamosa
TJ2 15cm	Areia Lamosa
TJ2 20cm	Areia Lamosa
TJ2 25cm	Areia Lamosa
TJ2 30cm	Areia Lamosa
TJ2 35cm	Areia Lamosa
TJ2 40cm	Areia Lamosa
TJ2 45cm	Areia
TJ2 50cm	Areia
TJ2 55cm	Areia

Fonte: Autora

Em relação ao teor  $\text{CaCO}_3$  nas frações dos testemunhos foi observado que no TJ1 os maiores valores encontrados estão nas camadas mais profundas do mesmo (45 e 50cm) com aproximadamente 3,04% para ambas (Figura 24). Enquanto que no TJ2 apresentou os valores maiores na zona mais próxima da superfície, nos 20cm de profundidade (Figura 24). A variação geral obtida foi de 0 a 3,04(%) no TJ1 e 0 a 4,19(%) no TJ2 (Figura 24). Miola (2013) reportou porcentagens de 7,2 a 27,1(%) em amostras de testemunho do rio Coreau. Lima (2016) estudou o rio Acaraú e encontrou porcentagens de 0 a 6,20(%) em amostras de testemunhos. Os carbonatos podem ter origem pela erosão de rochas continentais e serem carregados pelos rios (MIOLA, 2013) ou podem ser provenientes de substratos de organismos (MORSE, 2003).

**Figura 24** - Porcentagem de  $\text{CaCO}_3$  nos testemunhos



Fonte: Autora

### 8.3.2. Teor de matéria orgânica e suas frações (CO, AH, AF e CN)

Conhecer a composição da matéria orgânica do sedimento é extremamente importante, uma vez que seus constituintes podem regular a sorção dos contaminantes existentes no

ambiente. Vários estudos demonstram que há uma relação direta entre o acúmulo de compostos químicos orgânicos e a sorção pela matéria orgânica e suas frações como: carbono negro, ácidos húmicos e fúlvicos (CAVALCANTE *et al.*, 2012; HUNG *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2016; SUN *et al.* 2007). O CN, por exemplo, tem uma alta capacidade de sorção para contaminantes orgânicos (CORNELISSEN *et al.*, 2005; GUO *et al.*, 2016; LUO *et al.*, 2011), devido sua característica de alta hidrofobicidade muitas vezes o CN apresenta um forte poder de adsorção para os contaminantes orgânicos hidrofóbicos (GUO *et al.*, 2016; LUZ *et al.*, 2010). Existem estudos que afirmam que o AH é o principal fator de controle sorção de compostos orgânicos, por ser resultado de misturas heterogêneas de uma variedade de compostos orgânicos (HUR e SCHLAUTMAN, 2004; SUN *et al.* 2007).

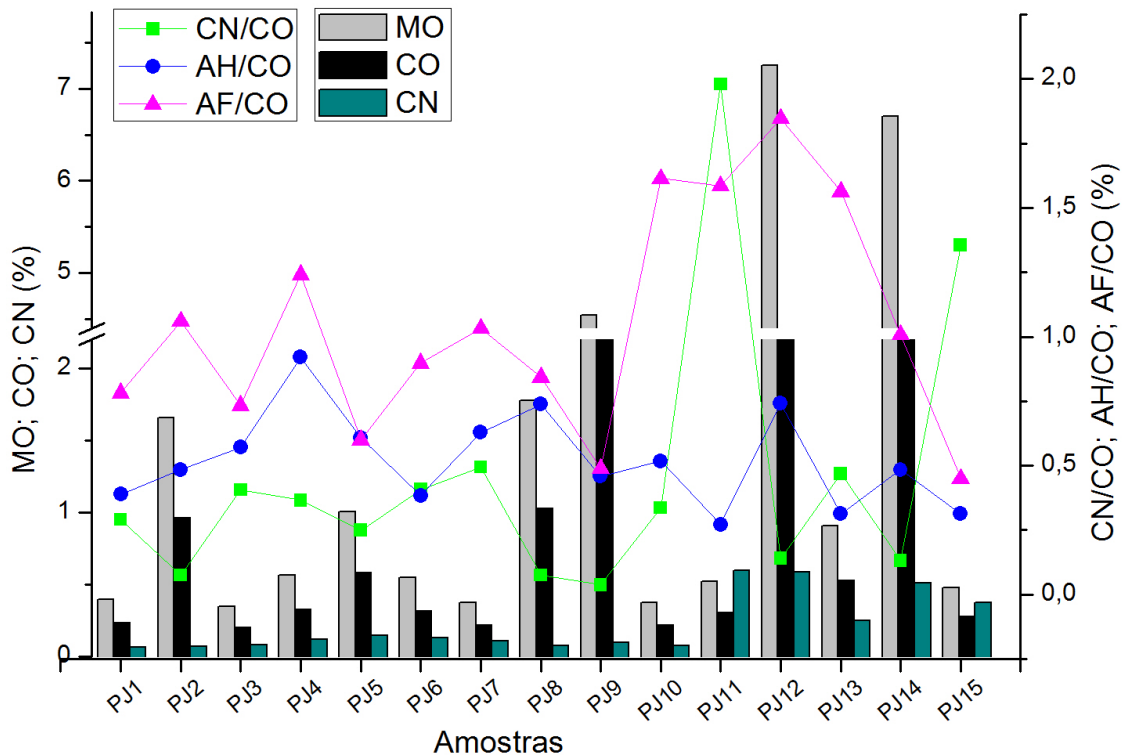
A maioria das amostras de sedimentos superficiais analisada apresentou baixo teor de MO, com exceção das amostras dos pontos PJ9, PJ12 e P14 que apresentaram teores de 4,54; 7,29 e 6,71, respectivamente (Figura 25). Esses valores corroboram com o teor de MO encontrado por Godoy (2011) e Oliveira (2012) na mesma área de estudo.

As porcentagens das frações orgânicas nos termos das razões entre CN/CO (variou de 0,04 - 1,98%), AH/CO (variou de 0,27 – 0,92%), AF/CO (variou de 0,60-1,24%) (Figura 25), mostram que o padrão está abaixo do é encontrado em estudos de regiões semelhantes. Mauad *et al.* (2013) obteve uma variação de 6,3-18,5% nos sedimentos da Baía de Guanabara. Já Oliveira *et al.* (2016) que avaliou o rio Jaguaribe, em 2011, encontrou valores médios de 11,4% para CN/CO, 9,85% para AH/CO e 8,75% para AF/CO, reafirmando uma taxa menor dos valores encontrado no presente estudo. Mauad *et al.* (2013) afirma que em sedimentos recém depositados há uma diminuição na contribuição de CN para a razão CN/CO, sugerindo que CO proveniente da decomposição de esgotos é mais evidente do que carbono associado a combustão de substratos fósseis e de biomassa. Sugerindo assim, um forte indício de que o aumento no teor de carbono ocorreu devido a condição de crescente aporte de nutrientes no ambiente.

Os níveis de CN, individuais, reportados no presente estudo variaram de 0,07 – 0,60(%) (Figura 25), e possuem similaridade com os valores apresentados em outras pesquisas, tais como: Gustafsson *et al.* (1997) obteve uma faixa de 0,2-0,7(%) em sedimento estuarino na Inglaterra. De la Rosa *et al.* (2011) apresentou 0,02 – 0,15(%) no norte do Golfo de Cádiz, entre Portugal e Espanha. Lohmann *et al.* (2009) encontrou valores de 0,50; 0,80,

1,01(%) em três pontos no sudoeste da costa brasileira e 0,11 e 1,17(%) em dois pontos do nordestes da costa brasileira.

**Figura 25** - Caracterização dos sedimentos superficiais do rio Jaguaribe



Fonte: Autora

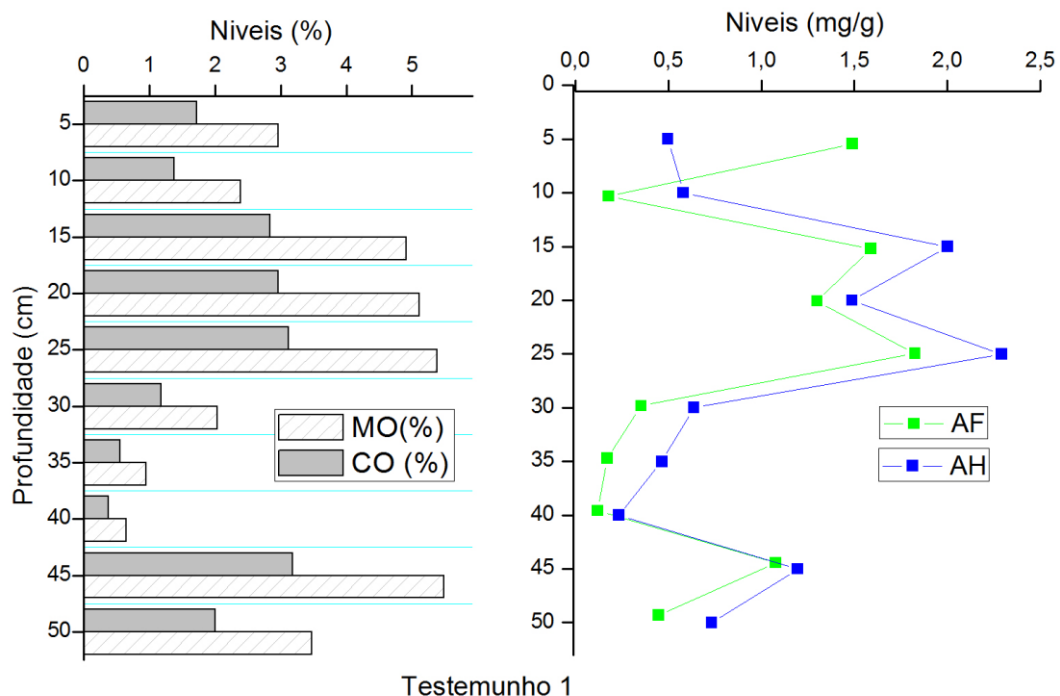
Legenda: MO= matéria orgânica; CO= carbono orgânico; CN= carbono negro; AH = ácido húmico; AF = ácido fúlvico.

Os níveis de MO e CO(%) para as frações de sedimento oriundas dos testemunhos estão apresentadas nas Figura 26 para valores do TJ1, e Figura 27 com valores de TJ2. O TJ1 apresentou variação de 0,65 a 5,48(%) nas frações de 40cm e 45cm, respectivamente. Nesse mesmo testemunho foi quantificado alta MO na fração de 15cm (4,91%), 20cm (5,11%) e 25cm (5,38%). Os valores reportados no TJ2 tiveram os maiores valores nas frações de profundidade de 15cm a 35cm, onde 15cm teve teor de 2,08%, 20cm de 1,90%, 25cm de 1,46%, 30cm de 1,48% e 35cm de 1,76(%) O níveis de CO apresentaram a mesma distribuição que a MO, uma vez que o valor CO é usado para se determinar o valor da MO. No TJ1 foi encontrado maiores valores de MO e suas frações (CO, AH, AF) quando comparado com TJ2, coincidindo com a granulometria predominante de material fino no TJ1,

enquanto que a granulometria do TJ2 é mais arenosa. Em outros estudos no estado do Ceará foram encontrados valores similares ao da presente pesquisa, por exemplo Miola (2013) relata variação de 1,05 a 5,3(%) entre dois testemunhos do rios Coreaú. Já Fernandes (2016) encontrou valores de 0,17 a 2,18(%) no rio Acaraú. Soares (2016) que estudou a Lagoa da Parangaba encontrou níveis de 0,04 a 1,5(%)

Em relação aos níveis de AH e AF nos testemunhos, o TJ1 teve uma variação de 0,03 a 2,34(%) para AH e 0,12 a 1,83(%) para AF. No TJ2 a variação foi de 0,07 a 0,83(%) para AH e 0,20 a 1,45(%) para AF (Figura 26 e Figura 27). Essas frações da MO são governantes para adsorção de contaminantes, Baldotto e Baldotto (2014) explica que diversos compostos orgânicos de baixa massa molecular, contendo domínios predominantemente hidrofílicos irão se associar aos AF, e os hidrofílico-hidrofóbicos se relacionarão com AH. Os AF são hidrofílicos e sólvavel em qualquer pH enquanto que AH em meio ácido se precipita (BALDOTTO *et al.*, 2011).

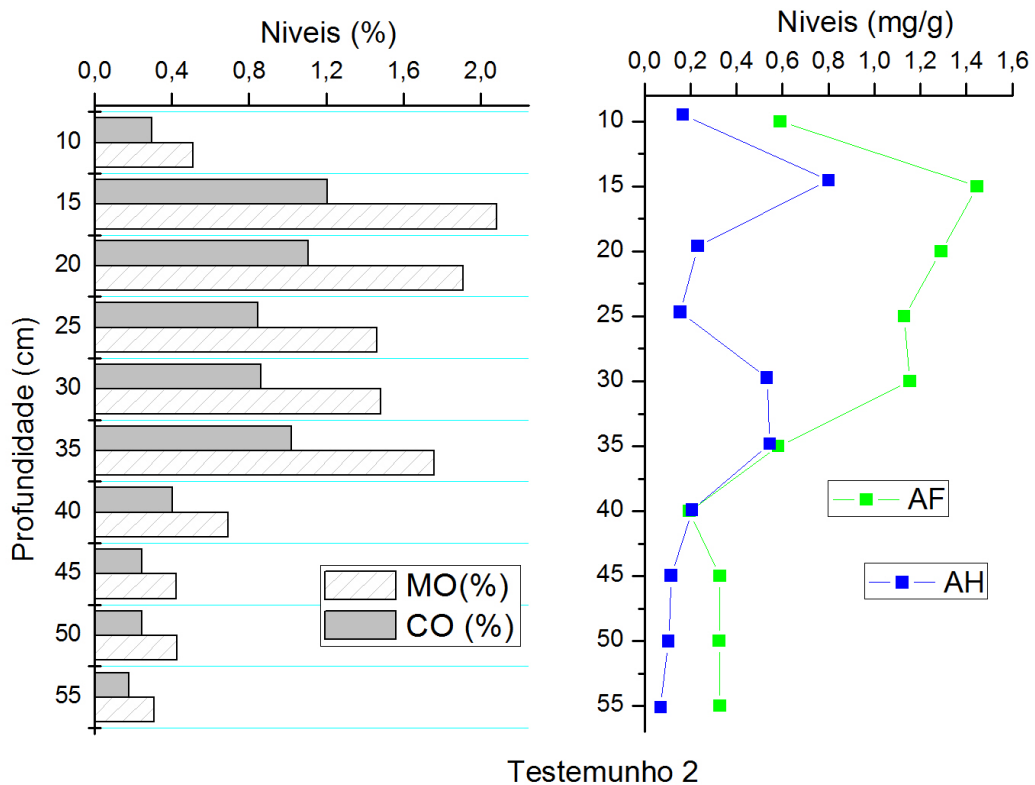
**Figura 26-** Caracterização química do testemunho 1 (TJ1)



Fonte: Autora

Legenda: MO= matéria orgânica; CO= carbono orgânico; CN= carbono negro; AH = ácido húmico; AF = ácido fúlvico.

**Figura 27-** Caracterização química do testemunho 2 (TJ2)



Fonte: Autora

Legenda: MO= matéria orgânica; CO= carbono orgânico; CN= carbono negro; AH = ácido húmico; AF = ácido fúlvico.

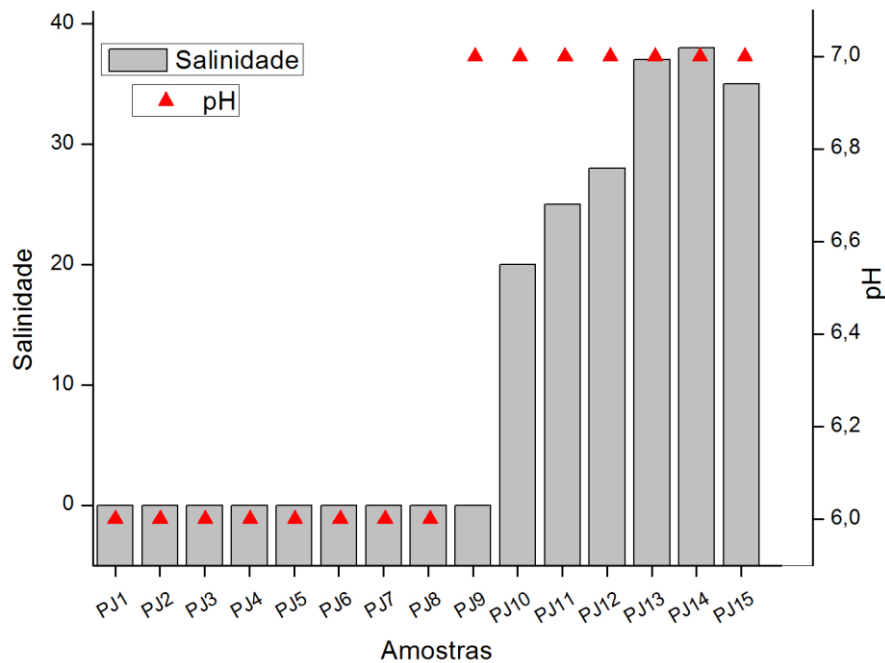
### 8.3.3. Salinidade e pH

A caracterização hidroquímica é de fundamental importância para o entendimento do processo de partição e sorção da maioria dos contaminantes orgânicos. Pan e You (2010) explicam que a interação entre os compostos orgânicos hidrofóbicos e os sólidos em suspensão e/ou sedimento de fundo varia de acordo com as condições ambientais locais, sendo governada por fatores como: composição da matéria orgânica, salinidade, pH, temperatura. A influência da salinidade sob a adsorção dos contaminantes orgânicos pode ser regida pelos efeitos de *salting out* ou *salting in*. O *salting out* ocasiona uma redução dos contaminantes a medida que a salinidade sobe (XIE; SHIU; MACKAY, 1997), já o *salting in* aumenta a solubilidade dos compostos de acordo com que diminui a força iônica (TREMBLAY et al., 2005). Em relação a atuação do pH, You, Jia e Pan (2010) descrevem que o aumento do pH propicia condições para que a superfície do sedimento desenvolva mais sítios de natureza básica e isso facilita a sorção de contaminantes orgânicos por efeito



eletrostático. Os resultados dos parâmetros hidroquímicos medidos nesse estudo estão mostrados na Figura 28.

**Figura 28** – Caracterização hidroquímica dos pontos amostrais



Fonte: Autora

#### 8.3.4. Datação dos testemunhos

A datação (geocronologia) das camadas dos testemunhos é uma ferramenta importante para se estabelecer dados cerca do avanço dos impactos antrópicos sob o ambiente. Através dessa ferramenta é possível adquirir perfis de concentrações da distribuição de contaminantes e atrelar a eventos históricos, climáticos e de usos e ocupação da área estudada (GALE *et al.* 1995; GATTI *et al.*, 1999; CAZOTTI, 2006). Assim, o estudo se torna mais completos, ultrapassando as lacunas deixadas pela ausência de dados de longa série temporal e viabilizando o gerenciamento na integra da bacia hidrográfica do médio e baixo Jaguaribe. As informações das concentrações dos radionuclídeos e as idades em anos calculadas para cada testemunho estão descrita na Tabela 13.

**Tabela 13** - Parâmetros para o cálculo das datas de sedimentação e datas de sedimentação dos testemunhos.

Testemunhos	Prof. Real (cm)	Umid. U(%)	Dens. Ds (g.cm <sup>-3</sup> )	Massa Sólidos (g)	Massa acumulada (g.cm <sup>-2</sup> )	Prof. Corrigida (cm)	<sup>210</sup> Pb (Bq.Kg <sup>-1</sup> )	<sup>226</sup> Ra (Bq.Kg <sup>-1</sup> )	Idade (anos)	Ano
TJ1	5	31,88	1,30	91,49	2,19	2,47	52	36	14	<b>2002</b>
TJ1	10	35,29	1,30	89,75	2,14	3,94	71	50	24	<b>1992</b>
TJ1	15	28,97	1,30	98,25	2,35	6,52	55	45	39	<b>1977</b>
TJ1	20	28,55	1,30	111,59	2,67	8,38	43	41	48	<b>1968</b>
TJ1	25	34,02	1,30	94,34	2,25	10,78	44	50	58	<b>1958</b>
TJ1	30	29,69	1,30	102,76	2,46	12,60	35	52	63	<b>1953</b>
TJ1	35	31,11	1,30	93,56	2,24	15,24	56	52	70	<b>1946</b>
TJ1	40	30,41	1,30	106,03	2,53	17,08	70	61	75	<b>1941</b>
TJ1	45	30,77	1,30	101,83	2,43	17,99	63	69	77	<b>1939</b>
TJ1	50	30,88	1,30	112,23	2,68	18,99	105	103	79	<b>1937</b>
TJ2	10	26,47	1,50	98,51	2,35	3,40	43	32	13	<b>2003</b>
TJ2	15	27,15	1,50	105,36	2,52	5,67	37	35	21	<b>1995</b>
TJ2	20	29,01	1,50	92,64	2,21	7,11	66	27	26	<b>1990</b>
TJ2	25	31,86	1,50	95,07	2,27	9,37	40	42	33	<b>1983</b>
TJ2	30	30,76	1,50	95,52	2,28	10,81	47	30	39	<b>1977</b>
TJ2	35	23,75	1,50	105,36	2,52	13,15	35	34	46	<b>1970</b>
TJ2	40	22,82	1,50	107,86	2,58	14,80	15	31	51	<b>1965</b>
TJ2	45	20,93	1,50	105,93	2,53	17,26	27	17	59	<b>1957</b>
TJ2	50	20,78	1,50	112,36	2,68	19,01	34	26	64	<b>1952</b>
TJ2	55	21,08	1,50	123,64	2,95	20,80	20	10	69	<b>1947</b>

Fonte: Autora

## 8.4. Distribuição de Esteróis no Rio Jaguaribe

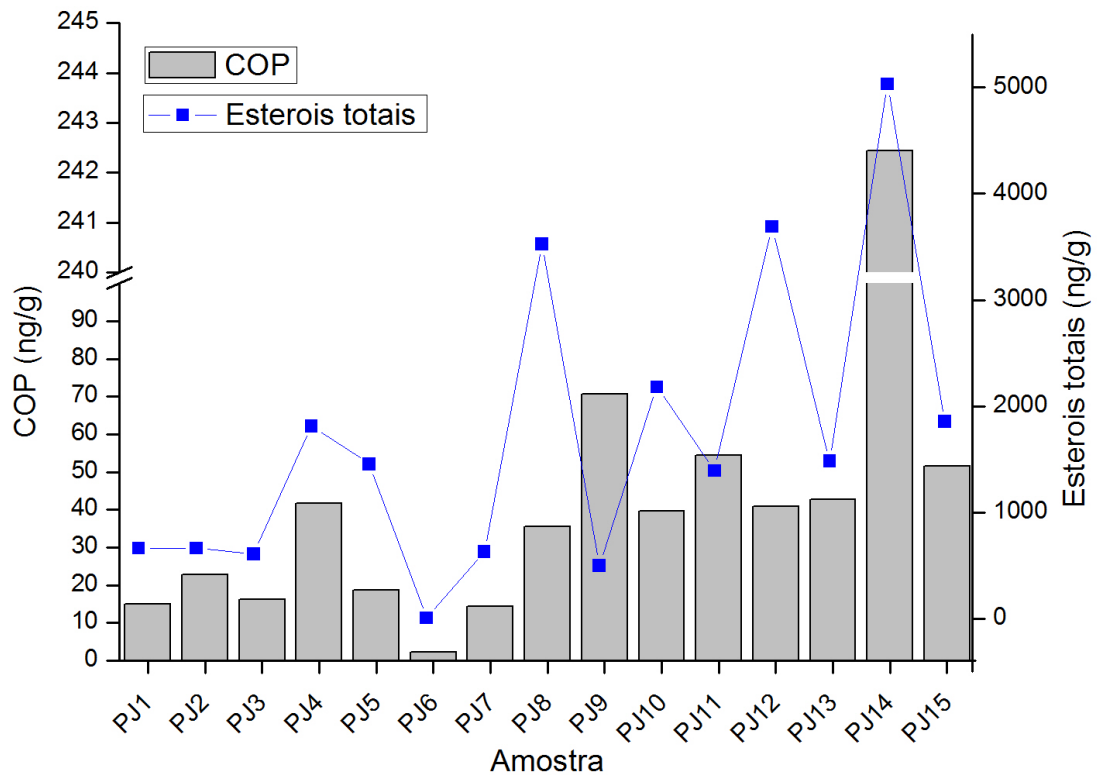
### 8.4.1. Sedimento superficial

Os esteróis avaliados COP, COL, COLN, ESTIG, ERG e  $\beta$ -SITO resultaram em esteróis totais (somatório total de esteróis) com alcance entre 7,29 ng/g (PJ6) a 5031,40 ng/g (PJ14). As maiores concentrações para os esteróis totais foram registradas nos pontos PJ8 (3525,15 ng/g), PJ12 (3689,70 ng/g) e PJ14 (4798,77 ng/g), onde os esses dois últimos pontos fazem parte do contexto estuarino do rio Jaguaribe, apontando que o mangue e sua dinâmica exercem forte influência na matéria orgânica e esteróis totais encontrados em região de estuário (GHOSH *et al.*, 1985; Martins *et al.*, 2010). Já o ponto PJ8 fica localizado em zona próxima a cidade de Jaguaruana podendo gerar acúmulo de outras fontes de MO além das naturais. Vale resaltar que esses três pontos (PJ8, PJ12, PJ14) também apresentaram níveis significativos de MO, semelhante caso foi encontrado por Martins *et al.* (2008). Na Figura 29 estão apresentadas todas as concentrações de esteróis totais.

Dentre os compostos da classe de esteróis, o COP é o mais representativo em fezes humanas, por esse motivo, vem sendo amplamente utilizado como um marcador geoquímico confiável da contaminação ambiental por esgotos (FRENA *et al.*, 2016; KALAS *et al.*, 2009; MARTINS *et al.*, 2012). Ao avaliar a distribuição espacial do COP ao longo do médio e baixo Jaguaribe, se obteve valores que variaram entre 15,04 ng/g (PJ1) a 303,34 ng/g (PJ14) (Figura 29). As maiores concentrações de COP foram detectados no PJ9 e PJ14 (Figura 29), que são os pontos de maior teor de sedimento finos e MO. O COP não foi o esterol mais abundante na área analisada, representou 4,8% do total de esteróis. Como não há documentos legais que estabeleçam níveis de concentrações permitidas ou não do COP no ambiente, se faz pertinente recorrer à literatura e comparar valores relatados. Assim, é possível encontrar estudos que definem valores que indicam contaminação por esse composto, como por exemplo, Gonzalez-Oreja e Saiz-Salinas (1998) que afirma que em ambientes com concentrações de COP acima de 500 (ng/g) indica contaminação por esgotos. Já na pesquisa de Writer *et al.* (1995), afirma-se que valores maiores que 100 (ng/g) pressupõe aporte de esgoto. Então, ao considerar os valores de COP determinados nesses estudos, pode-se elucidar que o rio Jaguaribe tem contaminação por esgoto no ponto PJ14, que fica próximo à foz, para valores maiores que 100 (ng/g). Quando comparado com o valor de 500 (ng/g) o rio foi considerado sem poluição quanto ao COP.

Os níveis encontrados para COP nesse estudo estão abaixo quando comparados com pesquisas de outros países ou estados brasileiros, como pode ser observado nas concentrações apresentadas na Tabela 14. Esse cenário é pode ser justificável com devido às distintas características sedimentológicas, hidrodinâmicas e até climática de cada local. Contudo, há registro de concentrações similares às estabelecidas no rio Jaguaribe, como a máxima de 184,1 (ng/g) no Rio Sergipe (Carreira *et al.*, 2015), 270 (ng/g) na Baía de Ubatuba (Muniz *et al.*, 2006) e 420(ng/g) na Baía de Sepetiba (Carreira *et al.*, 2009).

**Figura 29** – Concentrações de COP e Esteróis totais no sedimento superficial do rio Jaguaribe



Fonte: Autora

**Tabela 14** – Faixas de concentração do esteroide fecal COP em sedimentos em diferentes estudos.

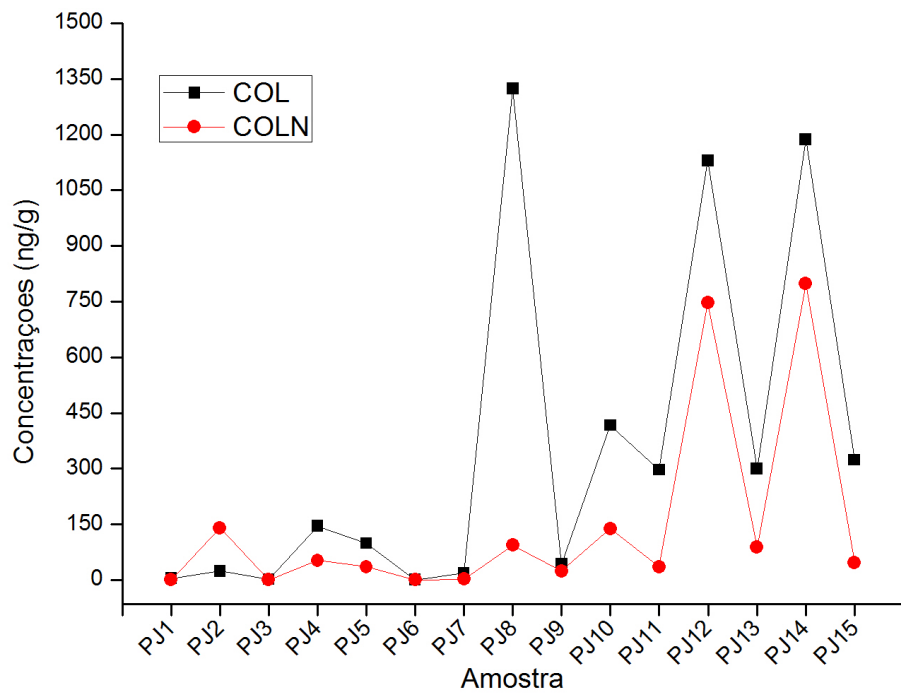
<b>Local</b>	<b>Faixa de Concentração COP (ng/g)</b>	<b>Referência</b>
Rio Jaguaribe - Ceará	15,04 - 303,34	Presente estudo
<b>BRASIL</b>		
Complexo estuarino-lagunar de Mundaú-Manguaba - Alagoas	150-5650	ARAUJO; COSTA; CARREIRA (2011)
Estuário de Santos - São Paulo	2 - 48,2	BATAGLION <i>et al.</i> (2015)
Estuário Cottinga - Paraná	<10 - 1690	ABREU-MOTA <i>et al.</i> (2014)
Estuário Itajaí-Açu – Santa Catarina	<4 - 8930	FRENA <i>et al.</i> (2016)
Sistema estuarino do Paranaguá - Paraná	<LD - 2220	MARTINS <i>et al.</i> (2010)
Rio São Francisco - Alagoas	<LD – 24,1	CARREIRA <i>et al.</i> (2015)
Rio Sergipe - Sergipe	<LD – 184,1	CARREIRA <i>et al.</i> (2015)
Baía de Ubatuba – São Paulo	<LD - 270	MUNIZ <i>et al.</i> (2006)
Baía de Sepetiba – Rio de Janeiro	10 - 420	CARREIRA <i>et al.</i> (2009)
<b>OUTROS PAÍSES</b>		
Ria de Aveiro e Rio Mondego-Portugal	49 – 16600	RADA <i>et al.</i> (2016)
Rio Siak - Indonésia	50 – 10530	LIEBEZEIT; WOSTMAN (2010)
Zona costeira da cidade Kuwait - Kuwait	874 – 41230	SAEED <i>et al.</i> (2012)

Fonte: Autora. Legenda: COP- coprostanol e LD – limite de detecção.

Em paralelo com as concentrações de COP há também a análise dos valores expressos pelo COL e COLN na área estudada. O COL é um esteroide comumente quantificado em estudos relacionados com contaminação por esgoto (MATIĆ *et al.*, 2014; RADA *et al.*, 2016), além de ser abundante em sedimentos marinhos por ser associado ao fitoplâncton e zooplâncton (VOLKMAN *et al.*, 1998; TAKADA; EGANHOUSE, 1998). O COLN é gerado pela redução microbiana do COL, isso ocorre tanto em organismo (humano/animal) (GRIMALT *et al.*, 1990) quanto no ambiente (ARAUJO; COSTA; CARREIRA, 2011). As concentrações determinadas no rio Jaguaribe foram na faixa de 2,19(ng/g) (PJ3) a 1323,35(ng/g) (PJ8) para COL e 1,37 (PJ1) a 746,79(ng/g) (PJ12) para COLN (Figura 30).

Como o COL, com 21,1%, foi mais abundante que o COLN, com 8,8%, pode-se supor que há baixa atividade microbiana na região. Os valores determinados são esperados, uma vez que estão em acordo com o que é reportado em outros estudos de áreas densamente ocupadas. Matić *et al.* (2014) encontrou concentrações de 386 – 1507 (ng/g) no rio Danúbio. Martins *et al.* (2007) relatou valores de <LD – 998,3(ng/g) na Lagoa dos Patos no Rio Grande do Sul.

**Figura 30** – Concentrações de COL e COLN no sedimento superficial do rio Jaguaribe



Fonte: Autora

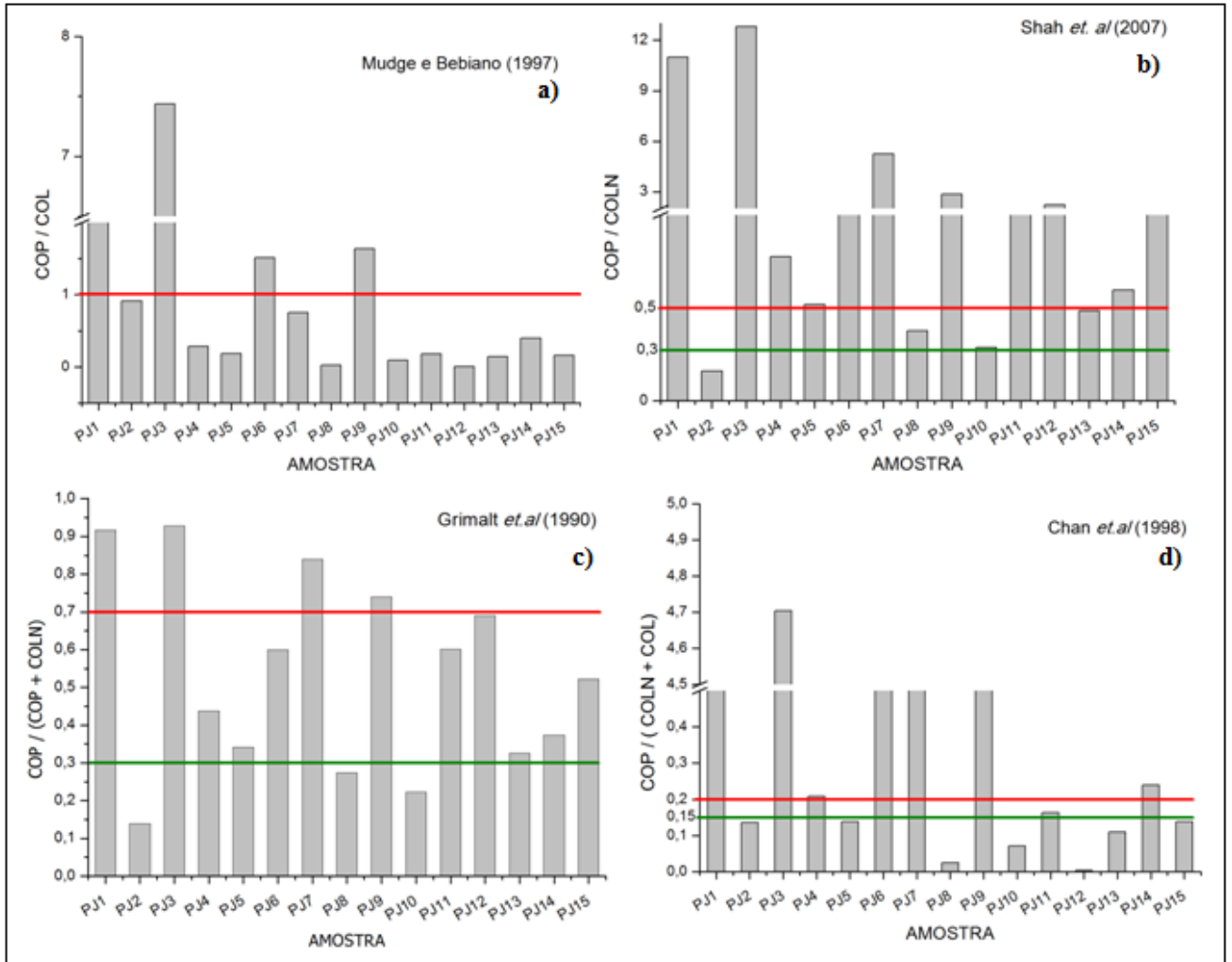
Para aumentar a confiabilidade da avaliação de contaminação por esgoto usando esteróis, razões diagnósticos entre esteróis têm sido amplamente empregadas (GRIMALT *et al.*, 1990; TAKADA; EGANHOUSE, 1998). Neste estudo foram usadas 4 razões diagnósticos que relacionam COP, COL e COLN e indicam qualidade ambiental (Razão 1 - COP/COL; Razão 2 - COP/COLN; Razão 3 - COP/(COP + COLN); Razão 4 - COP/(COL + COLN)). Essas razões foram calculadas com as concentrações encontradas nas amostras superficiais do rio Jaguaribe, que está apresentada na Figura 31, onde a linha vermelha representa o valor de contaminação e o verde o de não contaminado.

Na a Razão 1 valores <1 são reportados para indicar a origem biogênica, enquanto valores >1 indicam fonte de esgoto (MUDGE; BEBIANNO, 1997). Como pode ser visualizado na Figura31a os pontos PJ1, PJ3, PJ6 e PJ9 tiveram uma resposta >1 indicando

que a MO tem origem fecal, ou seja, há contaminação por esgoto doméstico. Contudo, há pesquisas afirmando que valores  $<1$  sugerem fonte de material fecal animal e apenas valores  $<0,2$  indicam fontes biogênicas de colesterol (PATTON; REEVES, 1999; VECCHIATO *et al.*, 2014). Com isso, apenas os pontos PJ2, PJ8, PJ10, tem fontes naturais, pois tiveram resultados de 0,1; 0,2; 0,2 na Razão 1. Enquanto que os PJ4, PJ5, PJ7, PJ11, PJ12, PJ13, PJ14, PJ15 indicam presença de material fecal animal. Na Razão 2 é considerado não contaminado por contribuição fecal humana valores  $<0,3$  (SHAH *et al.*, 2007) e apenas a amostra PJ2 e PJ10 ficou abaixo desse marco. Valores  $>0,5$  indica contaminação fecal (SHAH *et al.*, 2007) e foi a situação da maioria dos pontos (Figura 31b). Os pontos PJ8 e PJ13 não apresentaram comportamento decisivo a cerca dessa razão. A Razão 3 apresentou que os pontos PJ1, PJ3, PJ7, PJ9, PJ12 estão contaminados por esgoto, pois tiveram valores  $>0,7$ , estando de acordo com Grimalt *et al.*, (1990). PJ2, PJ8 e PJ10 não estão contaminados, por apresentarem ter valores  $<0,3$  (Figura 31c). Para Razão 4 (CHAN *et al.*, 1998) estipula como limite  $>0,2$  para considerar contaminação, e PJ1, PJ3, PJ6, PJ7, PJ9, PJ14 assumiram valores acima desse valor (Figura 31d).

Na Tabela 15 foi resumido o diagnóstico final encontrado com a análise das razões, onde se permite verificar que apenas as amostras de sedimento superficial que não apresentaram contaminação foram PJ2, PJ8, PJ10. Relacionando esses pontos com as características sedimentares, pode-se afirmar que não mostraram altos teores de MO, em relação a todos os pontos amostrados, e possuem classificação granulométrica predominantemente de areia, tais fatores podem ser a justificativa para tal diagnóstico.

Figura 31 - Razões de diagnóstico para amostras superficiais do rio Jaguaribe.



Fonte: Autora.



**Tabela 15-** Diagnóstico final com base nas razões para as amostras superficiais do rio Jaguaribe.

Amostra	Razão 1	Razão 2	Razão 3	Razão 4	Diagnóstico
PJ1	C	C	C	C	Contaminado
PJ2	MFA*	NC	NC	NC	Não Contaminado
PJ3	C	C	C	C	Contaminado
PJ4	MFA*	C	**	C	Contaminado
PJ5	MFA*	C	**	NC	Contaminado
PJ6	C	C	**	C	Contaminado
PJ7	MFA*	C	C	C	Contaminado
PJ8	NC	**	NC	NC	Não Contaminado
PJ9	C	C	C	C	Contaminado
PJ10	NC	**	NC	NC	Não Contaminado
PJ11	MFA*	C	**	**	Contaminado
PJ12	NC	C	C	NC	Contaminado
PJ13	MFA*	C	**	NC	Contaminado
PJ14	MFA*	C	**	C	Contaminado
PJ15	MFA*	C	**	NC	Contaminado

Fonte: Autora.

\*Presença de material fecal animal de acordo com PATTON; REEVES (1999); VECCHIATO *et al.* (2014).

\*\* Não foi decisivo. (Ficou acima do valor para não contaminado e abaixo do valor para contaminado)

C – Contaminado

NC – Não Contaminado

Em complemento há os esteróis naturais (ESTIG, ERG e  $\beta$ -SITO) que podem ser usados para determinar a contribuição por organismos marinhos, plantas superiores e fungos (ARAUJO, COSTA, CARREIRA, 2011; GONG, GUAN, WITTER, 2001; PRATT *et al.*, 2008; VOLKMAN, 1986). Nos sedimentos superficiais o ESTIG foi o esterol mais abundante dentre todos determinados, apresentou a maior porcentagem ( $\pm 43\%$ ), com variação da concentração de 1,44 - 1502,28(ng/g). A presença marcante desse composto indica que há um relevante aporte natural na área de estudo, especificamente de plantas superiores (VOLKMAN, 1986; ARAUJO, COSTA, CARREIRA, 2011). O ERG teve representatividade de  $\pm 14\%$  com variação de concentração de 0,21 - 754,44(ng/g).  $\beta$ -SITO expôs a menor porcentagem (9%) e faixa de 5,50 - 856,12(ng/g). A presença expressiva desses compostos, principalmente o ESTIG, nos PJ2, PJ8, PJ10 (as amostras diagnosticadas não contaminadas) reflete a entrada biogênica de MO. Carreira *et al.* (2004) explica que esses compostos tem concentrações relevantes em áreas que não são contaminadas por esgoto doméstico.

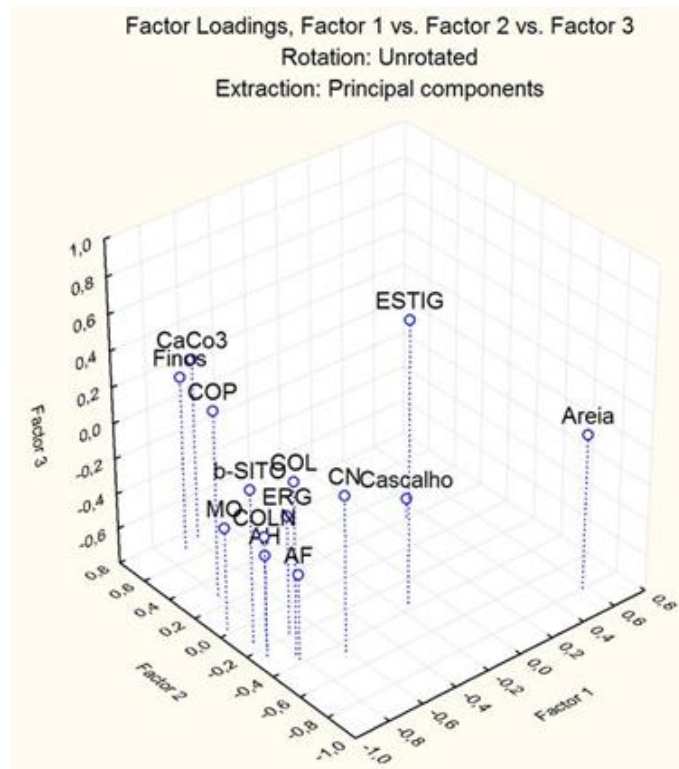
Com a finalidade de identificar a associação das variáveis quantificadas ~~em~~ nessa pesquisa foi realizado uma análise fatorial com extração de componentes principais. Os resultados obtidos nesse tratamento para os dados de esteróis e características sedimentares estão sumarizados na Tabela 16 e os valores podem ser melhor visualizados na Figura 32. A AF/PCA reorganizou os dados originais e determinou que o mínimo de 3 fatores principais, que de forma acumulada explicam 81,73% das variâncias totais dos dados originais.

**Tabela 16** - Valores obtidos por FA/PCA usando dados esteróis e características dos sedimentos superficiais do rio Jaguaribe (fator de corte > 0,70).

<b>Variável analisada</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>
Cascalho	0,33	0,21	<b>-0,70</b>
Areia	0,58	<b>-0,79</b>	0,07
Finos	-0,68	<b>0,70</b>	0,17
CaCO <sub>3</sub>	-0,57	<b>0,74</b>	0,22
MO	<b>-0,93</b>	0,03	-0,23
AH	<b>-0,87</b>	-0,19	-0,29
AF	<b>-0,82</b>	-0,37	-0,32
CN	-0,61	-0,46	<b>0,70</b>
COP	<b>-0,80</b>	0,28	0,24
COL	<b>-0,81</b>	-0,33	0,16
COLN	<b>-0,92</b>	-0,25	-0,13
ERG	<b>-0,73</b>	-0,18	-0,14
ESTIG	-0,14	-0,35	<b>0,77</b>
B-SITO	<b>-0,90</b>	-0,13	0,05
Variância Total (%)	52,87	17,95	10,91
Variância acumulada (%)	52,87	70,82	81,73

\*Os valores destacados indicam as correlações mais fortes.

**Figura 32** - Plot tridimensional da AF/PCA usando dados esteróis e características dos sedimentos

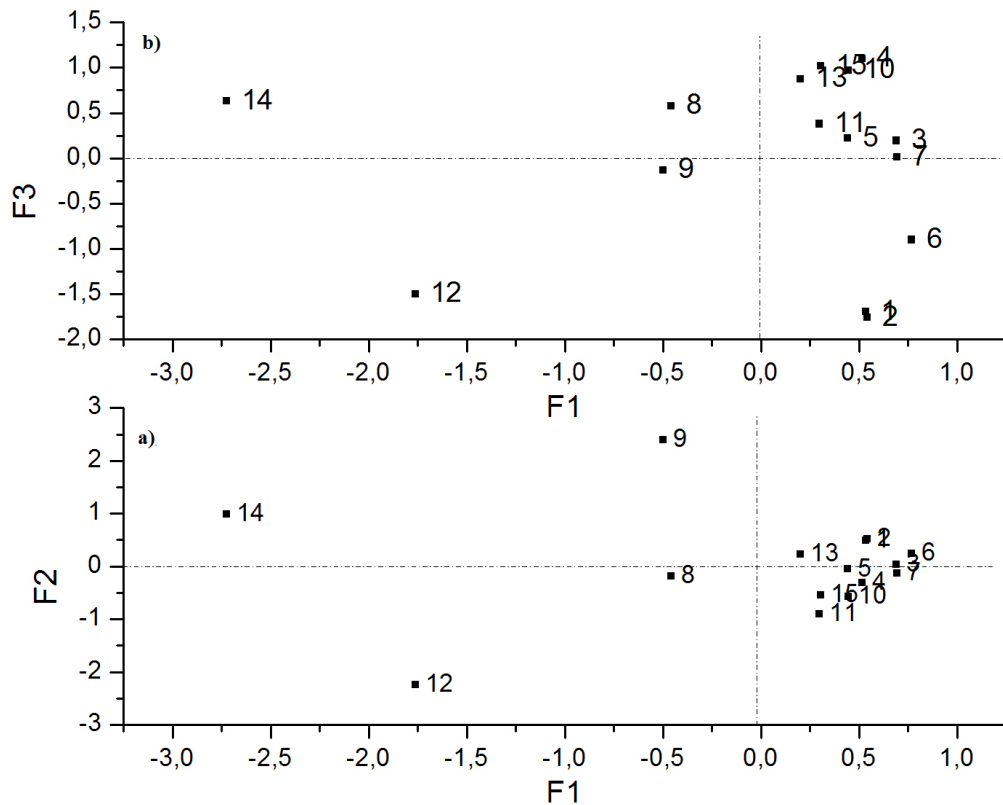


Para compreender a distribuição nos fatores na Figura 32 é necessário interpretar a Tabela 16, onde se verifica que o primeiro fator (F1) explicou os dados com 52,87% da variância total, foi carregado negativamente no COP, COL, COLN (compostos traço de esgoto), mostrando assim que os valores negativos para o F1 podem ser associados a contaminação por insumos de esgoto. Ainda analisando o Fator 1 afirma-se forte associação do COP, COL, COLN com matéria orgânica e suas frações (MO, AH, AF). O segundo fator (F2) foi carregado positivamente para o material fino e CaCO<sub>3</sub> e negativamente com areia, indicando baixa influencia dessas características com os compostos analisados. O terceiro fator (F3) teve o ESTIG e CN carregado positivamente, indicando que valores carregados positivamente no F3 tem relação com o aporte natural.

Os pontos amostrais PJ8, PJ9, PJ12 e PJ14 apresentaram valores negativos no F1 (Figura 33 ab), sendo assim associados à contaminação de esgoto. Para o F3 os pontos PJ3, PJ4, PJ5, PJ8, PJ10, PJ11, PJ13, PJ14, PJ15 foram carregados positivamente (Figura 33b)

sugerindo aporte biogênico. Por fim, pode-se supor que os pontos PJ8 e PJ14 têm fontes mistas de MO. Os PJ1, PJ2, PJ6 e PJ7 não possuem fontes expressivas e os outros pontos são associados ao ESTIG, que foi um esterol bastante relevante no rio Jaguaribe.

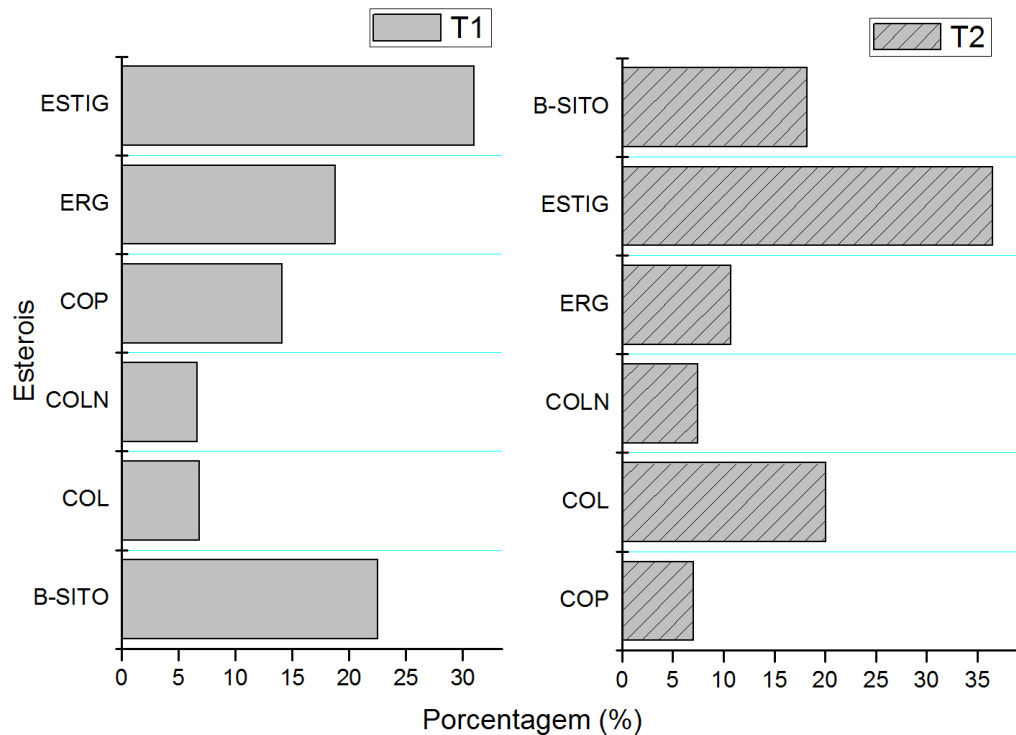
**Figura 33** - Score das componentes principais (Fator 1 x Fator 2; Fator 1 x Fator 3) usando dados esteróis e características dos sedimentos



#### 8.4.2. Testemunhos

Os sedimentos oriundos dos furos de testemunhos foram submetidos a análise por frações, totalizando 10 frações para cada furo, em cada fração foi detectado e quantificado todos esteróis propostos. Pode-se observar a predominância de ESTIG nos dois testemunhos, com 31% no testemunho 1 e 36 % no testemunho 2, esse fato confirma que o aporte de MO nesse ambiente é característico de aporte biogênico. A porcentagem dos esteróis em cada testemunho está detalhada na

Figura 34.

**Figura 34 - Porcentagem individual dos esteróis nos testemunhos 1 e 2**

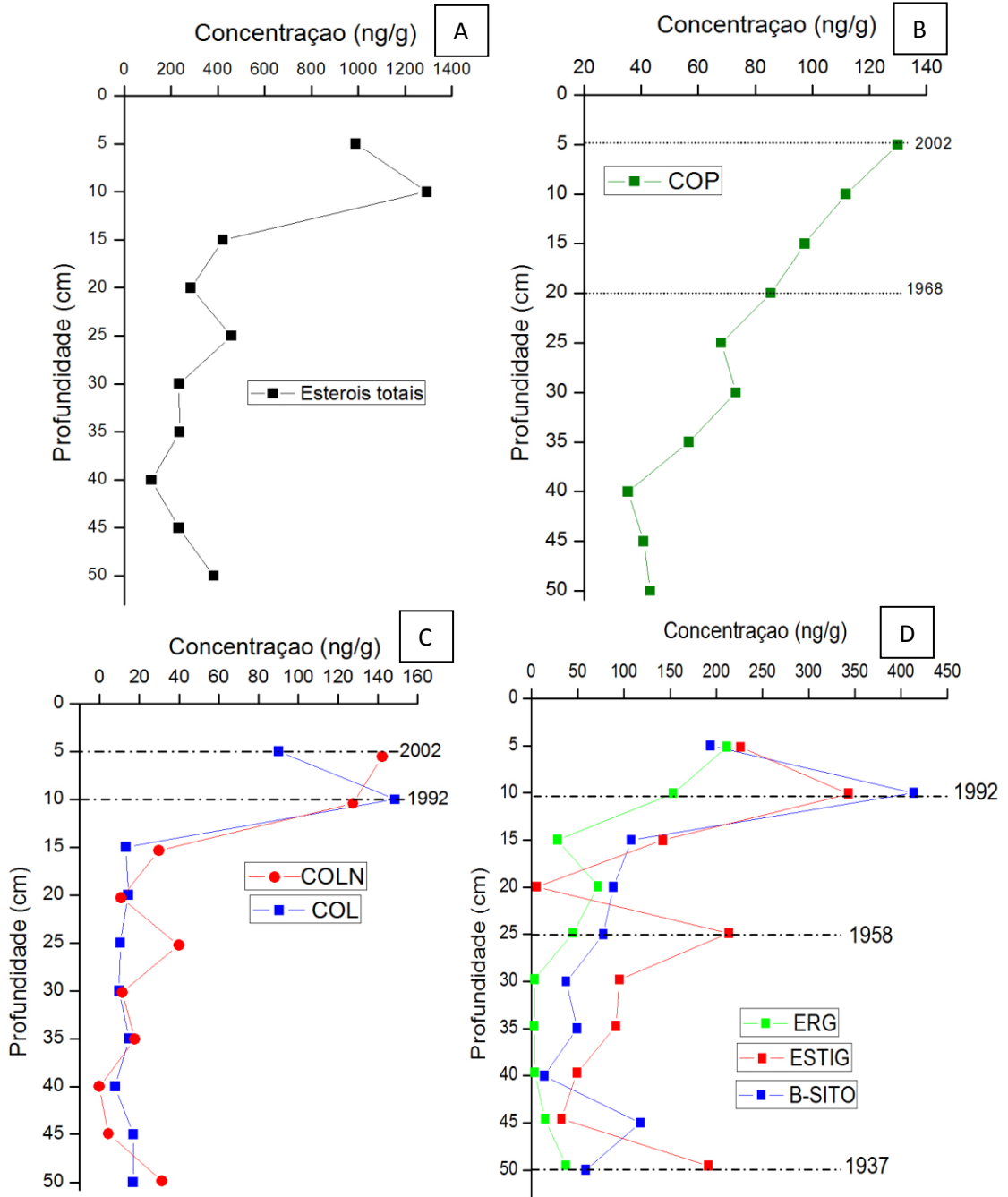
Os esteróis totais (somatório total de esteróis) no perfil do TJ1 variou de 115,40(ng/g) (na fração dos 40cm de profundidade) – 1293,18 ng.g<sup>-1</sup> (na fração dos 10cm de profundidade) (Figura 35A) e no TJ2 variou de 188,61(ng/g) (50cm) – 2214,58(ng/g) (10cm) (Figura 36A). As maiores concentrações foram obtidas na fração dos 10cm com uma pequena diminuição para as concentrações encontradas na fração de 5cm, esse comportamento foi comum aos dois testemunhos. Montone *et al.* (2010) encontrou os maiores níveis de esteróis nas primeiras camadas do furo analisado coincidindo com o início do aporte de esgoto na região. Tse *et al.*, (2014) relacionou o aumento das concentrações de esteróis ao crescimento industrial e urbanização da área estudada.

Ao analisar o gráfico que apresenta a distribuição do COP ao longo do TJ1, pode-se declarar que há uma crescente concentração de COP à medida que se aproxima da superfície,

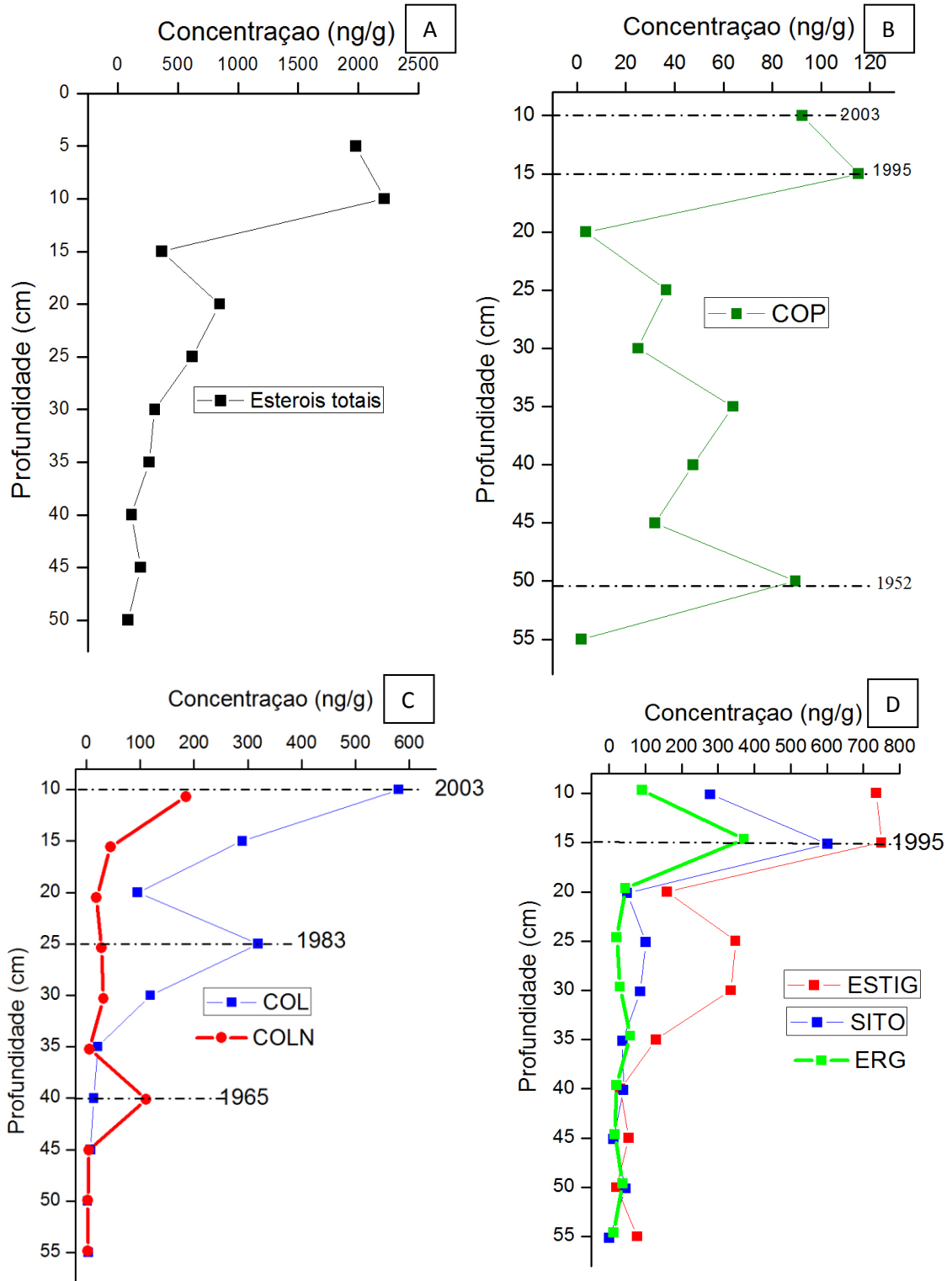
dos 20cm (85,45 ng/g) até os 5cm (129,89 ng/g) (Figura 35B), evidenciando o aumento de lançamento de esgoto, o que sugere um crescimento do uso e ocupação local. Baseado nos dados de datação a porção dos 20cm de profundidade é referente ao período de 1968 e os 10cm é datado de 1992. Relacionando a datação do sedimento e os acontecimentos na região, pode-se concluir que o padrão de mudança visto, coincide com o planejamento político de construção de açudes, que segundo Pereira e Cuellar (2015) teve início em 1960 e foi implantado em 1990, ou seja, com a promessa de água a população cresce nas localidades próxima ao rio Jaguaribe. Para o TJ2 as concentrações de COP teve um comportamento irregular, gerando um perfil em zig-zag, isso possivelmente está associado as características locais, pois esse testemunho foi coletado na região de estuário próximo a região de mangue e foz. A característica de área próxima a foz é que há uma deposição dos sólidos de forma mais lenta devido ao alto fluxo energético e constante revolvimento do sedimento de superfície. A maior concentração obtida no TJ2 foi na fração dos 15cm com 115,35 (ng/g) que corresponde ao ano de 2003 (Figura 36B). Para os compostos COL e COLN no TJ1 houve variação de 7,84(ng/g) (40cm) - 148,66(ng/g) (10cm) e <LD (40cm) – 123,70(ng/g) (5cm), para os respectivos compostos (Figura 35C). No TJ2 COL apresentou concentrações (ng/g) de 2,04 (50 cm) – 580,19 (10cm) e COLN com <LD (50cm) – 195,21(10cm) (Figura 36C). Nos dois testemunhos os maiores níveis desses compostos que podem ser relacionados ao esgoto (COP, COL, COLN), tiveram evidente presença nas frações referentes ao período de 1992 no TJ1 e 2003 no TJ2. Esses períodos apresentaram uma quadra chuvosa bem marcada de acordo com os postos pluviométricos da FUNCEME, no posto de Itaiçaba, o mais próximo ao ponto de coleta do TJ1, foi registrado chuvas de 733mm em 1992 e no posto de Fortim, próximo ao ponto de coleta do TJ2, foi marcado 955mm em 2003. Os eventos de chuva ocasionam a lavagem do solo e a consequência disso é o carreamento de resíduos para o rio.

No TJ1 e TJ2 os compostos B-SITO, ERG, ESTIG apresentaram o mesmo comportamento descrito acima, onde na fração dos 10cm, no TJ1, se teve as maiores concentrações, essa porção foi datada em 1992 (Figura 35D), e na porção dos 15cm foi quantificado os maiores níveis no TJ2, datado de 1995 (Figura 36D). No TJ1, ESTIG teve quantificação marcantes de níveis nas frações 50cm (1937) e 25cm (1958), esse esterol é indicador de fontes terrestres por plantas superiores e como para 1958 há registro de intensa seca na região (Pereira; Cuellar, 2015), acredita-se que haja interação entre esses eventos. Para 1937 não há registro histórico ou climático que esclareça tal pico de concentração.

Figura 35 - Gráficos mostrando a distribuição dos esteróis no testemunho 1 (TJ1).



**Figura 36-** Gráficos mostrando a distribuição dos esteróis no testemunho2 (TJ2).





Como dito anteriormente, não existe um consenso do nível de COP que seja indicativo de contaminação fecal, então é comumente usado razões diagnósticas que relacionam o COP com COL e COLN, que são esteróis também possíveis indicadores de aporte de esgoto. Na Tabela 17 - **Diagnóstico geral dos testemunhos 1 e 2** Tabela 17 está sumarizado o diagnóstico geral constado para cada testemunho.

A razão COP/COL no TJ1 classificou que apenas a camada de 10cm não está contaminada com resíduos humanos, isso ocorreu devido aos valores de COL nessa fração ser maior que o valor de COP. O COL é um esterol de fonte ubíqua, ou seja, está relacionado a contaminação resultante de atividades antrópicas ou de fonte natural. A mesma razão para TJ2 foi visto que apenas as camadas 35cm, 40cm, 45cm estão contaminadas, justamente por apresentarem predominância do COP. A razão COP/COLN diagnosticou o TJ1 como contaminado e no TJ2 as frações de 10cm, 40cm não tiveram resposta conclusiva, pois não atingiram valores  $<0,3$  para serem classificadas como não contaminada. Na razão  $COP/(COP+COLN)$  nenhuma camada do TJ1 foi diagnosticada como não contaminada, porém as frações de 5cm, 10cm, 25cm, 50cm não receberam respostas conclusivas, por não terem valores  $<0,3$  ou  $>0,7$ . TJ2 para essa mesma razão mostrou que as camadas 35cm, 45cm e 50cm estão contaminadas com resíduos humanos. A razão  $COP/(COL+COLN)$  classificou o TJ1 como contaminado por inteiro e no TJ2 nas camadas 10cm, 20cm e 25cm foram classificadas como não contaminadas devido aos altos valores de COL.

**Tabela 17** - Diagnóstico geral dos testemunhos 1 e 2 no rio Jaguaribe

<b>TESTEMUNHO 1 (TJ1)</b>				
<b>Fração</b>	<b>COP/COL</b>	<b>COP/COLN</b>	<b>COP/(COP+COLN)</b>	<b>COP/(COL+COLN)</b>
5cm	1,44	1,05	0,51	0,61
10cm	0,75	1,01	0,50	0,43
15cm	7,29	3,73	0,79	2,47
20cm	5,91	8,92	0,90	3,55
25cm	6,52	1,95	0,66	1,50
30cm	7,46	7,18	0,88	3,66
35cm	3,81	3,65	0,78	1,86
40cm	4,52	2,41	1,00	4,52
45cm	2,41	9,89	0,91	1,94
50cm	2,56	1,57	0,61	0,97
<b>Diagnóstico</b>	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Contaminado
<b>TESTEMUNHO 2 (TJ2)</b>				
<b>Fração</b>	<b>COP/COL</b>	<b>COP/COLN</b>	<b>COP/(COP+COLN)</b>	<b>COP/(COL+COLN)</b>
10cm	0,16	0,47	0,32	0,12
15cm	0,40	2,54	0,72	0,34
20cm	0,04	0,21	0,17	0,03
25cm	0,11	1,33	0,57	0,11
30cm	0,21	0,79	0,44	0,17
35cm	3,02	16,07	0,94	2,54
40cm	3,49	0,41	0,29	0,37
45cm	4,08	12,53	0,93	3,08
50cm	-	-	1,00	-
55cm	0,57	2,09	0,68	0,45
<b>Diagnóstico</b>	Não Contaminado	Contaminado	Não Contaminado	Contaminado

Fonte: Autora

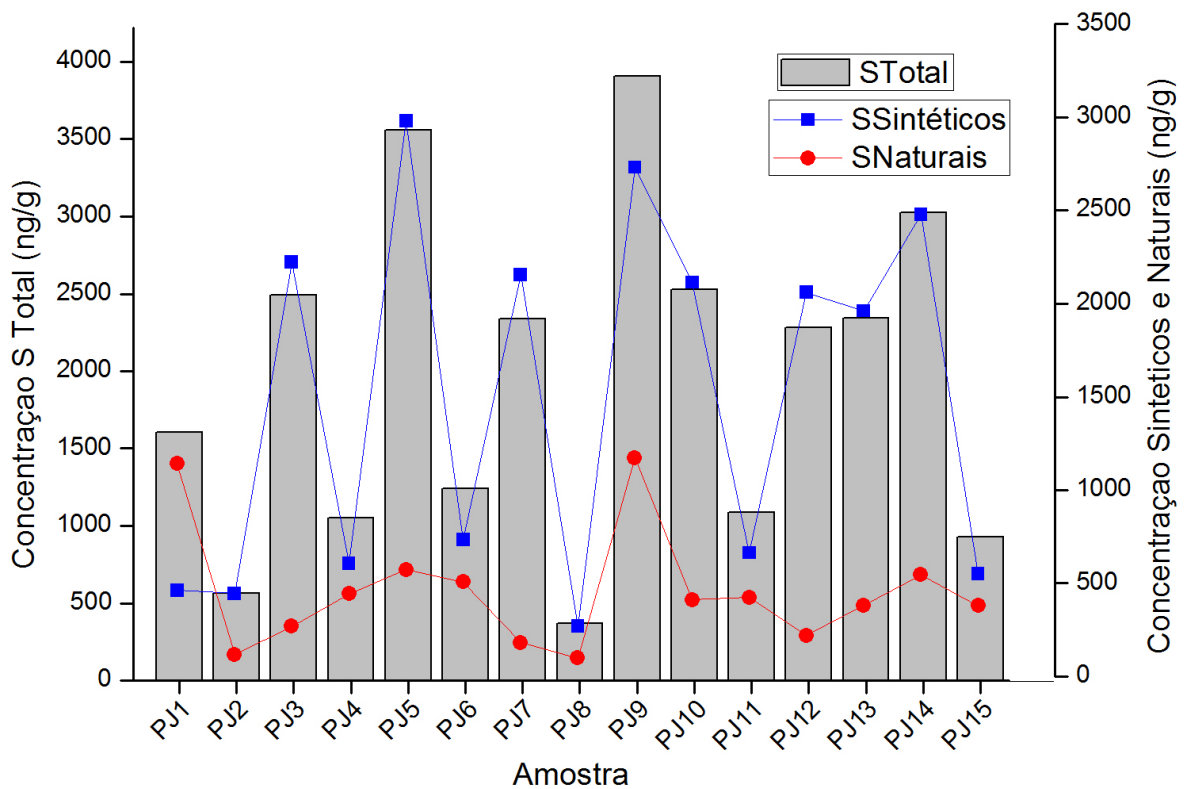
Valores de referência: COP/COL >1 contaminado (MUDGE E BEBIANNO, 1997); COP/COLN <0,3 não contaminado e >0,5 contaminado (SHAH et al., 2007); COP/(COP+COLN) <0,3 não contaminado e >0,7 contaminado (GRIMALT et al., 1990); COP/(COL+COLN) <0,15 não contaminado e >0,2 contaminado.

## 8.5. Distribuição de Hormônios estrógenos no Rio Jaguaribe

### 8.5.1. Sedimento superficial

Nas amostras do rio Jaguaribe foram identificados e quantificados os 8 hormônios estrógenos proposto no estudo, alcançando valores para  $\Sigma_{\text{total}}$  de 368,38 (ng/g) (PJ8) - 3906,59(ng/g) (PJ9) (Figura 37). Os hormônios sintéticos foram predominantes para a constituição do  $\Sigma_{\text{total}}$ , onde o  $\Sigma_{\text{Sintéticos}}$  mediram entre 270,10(ng/g) (PJ8) - 2981,15(ng/g) (PJ5) (Figura 37)) e as maiores representações seguiram a ordem de MES>DES>EE2>DIE com 48,5(%), 17,2(%), 9,9(%) e 1,0(%), respectivamente. Os  $\Sigma_{\text{Naturais}}$  teve variação de 98,28(ng/g) (PJ8) - 1173,95(ng/g) (PJ9) (Figura 37), onde a ordem de prevalência foi de E3>17 $\alpha$ E2>E1>17 $\beta$ E2 com 15,1(%), 5,9(%), 1,76(%), 0,7(%) respectivamente.

**Figura 37** – Concentrações dos  $\Sigma_{\text{total}}$ ,  $\Sigma_{\text{Sintéticos}}$  e  $\Sigma_{\text{Naturais}}$  no rio Jaguaribe



Considerando os hormônios naturais foi observado que o intervalo de concentrações (ng/g) individuais oscilou de 91,47 (PJ7) – 1011,88 (PJ1) para E3; 1,28 (PJ8) – 226,77 (PJ13) para 17 $\alpha$ E2; <LD (PJ7) - 89,92 (PJ5) para E1; 1,28 (PJ8) – 29,03 (PJ10) para 17 $\beta$ E2. Já para os hormônios sintéticos foi apresentado taxas de 16,72 (PJ8) – 593,79(PJ9) para DES; 4,39 (PJ13) – 121,41 (PJ12) para DIE; 53,65 (PJ8) – 1960,98 (PJ9) para MES; 69,70 (PJ6) –

524,21 (PJ13) para EE2. Na Figura 38 está apresentada a distribuição individual dos hormônios estrógenos pelo rio Jaguaribe.

Os hormônios naturais tiveram representação de  $\pm 23,46\%$ , foram os menos expressivos na área de estudo, mesmo com a produção e excreção em larga escala por humanos e animais. Contudo, esse acontecimento pode ser compreendido devido a biodegradabilidade que esses compostos estão suscetíveis. Há estudos que comprovam a degradação dos estrógenos naturais por microorganismos aeróbicos (ANDERSEN et al., 2003; TERNES et al., 1999). A presença marcante de E3, por exemplo, pode ser explicada pelo fato que em ambiente aquático o  $17\beta E2$  é facilmente degradado para E1, que por sua vez é oxidado para E3 (JUERGENS et al., 1999; SODRÉ et al., 2007). O  $17\beta E2$  é retratado como o mais ativo e abundante estrógeno natural, porém no rio Jaguaribe foi encontrado menores níveis quando comparado com o  $17\alpha E2$  (

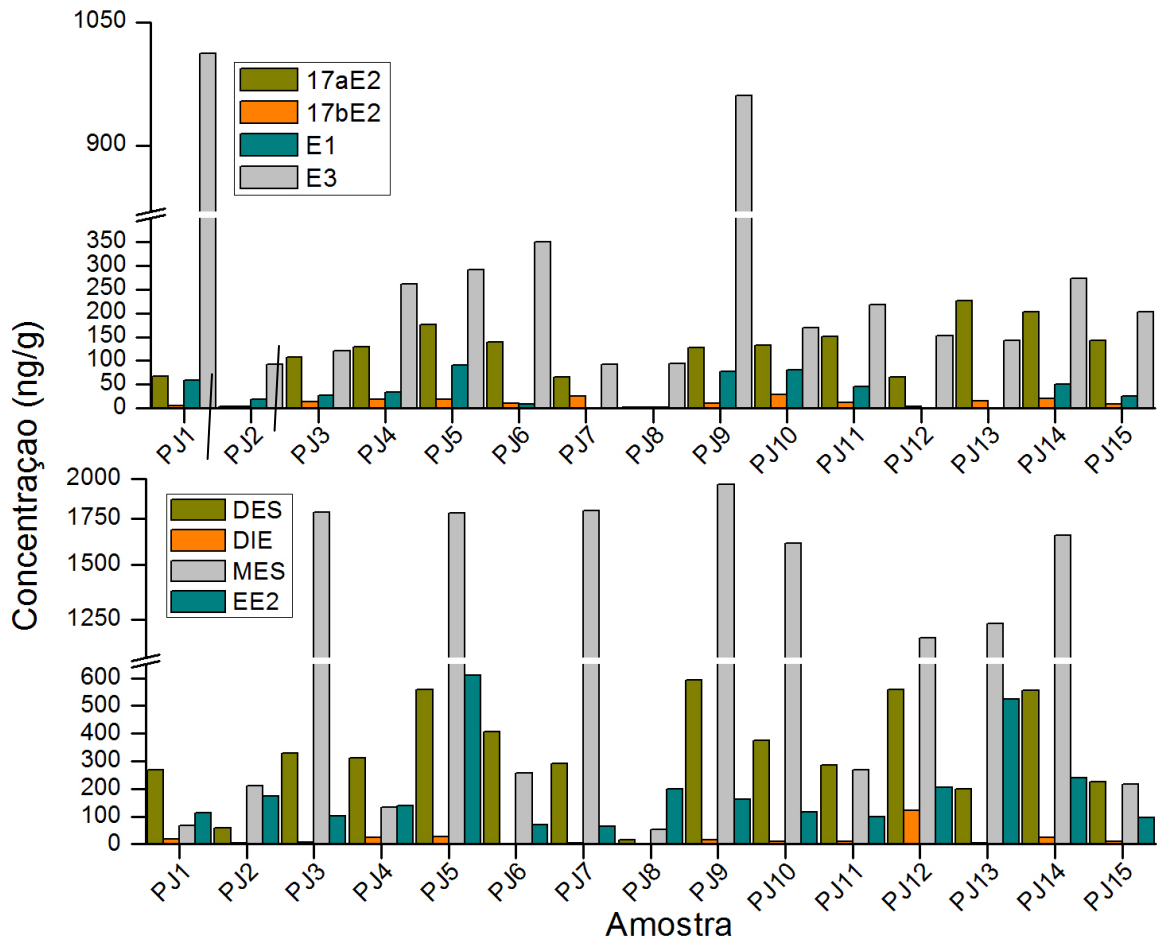
Figura 38). Kinani *et. al.*, (2008) relata que a presença de  $17\alpha E2$  em matriz ambiental é forte indicativo de aporte de áreas rurais destinadas à agropecuária. Segundo HOFFMANN; PINHO; SCHULER, (1997)  $17\alpha E2$  é o estrógeno predominante nas fezes e urina de bovinos.

Os hormônios sintéticos apresentaram comportamento mais significativo nas amostras analisadas, representando  $\pm 76\%$  do total de estrógenos analisados. Em comparação com os hormônios naturais esse resultado pode ser justificado pela característica de hidrofobicidade, e conseqüente alta afinidade de sorção, uma vez que a maioria hormônios sintéticos possuem  $Kow > 4$ . Vários estudos relatam que os estrógenos são adsorvidos a partículas sólidas devido aos seus significativos valores de  $Kow$  (ADEEL *et.al.*, 2017; MATIĆ *et.al.*, 2014; PAL *et.al.*, 2010). Outro fator relevante na discussão da solubilidade dos hormônios estrógenos é o pH. Shareef *et.al.* (2006) afirma que a solubilidade desses compostos é dependente pH, onde em pH 10 a solubilidade é relativamente maior, porém em condições de pH 4 e 7 permanece a mesma. As condições ambientais da área de estudo apresentaram pH de 6 e 7 (Figura 28), assim confirma-se que esse fator não é interferente para a adsorção dos estrógenos nesse estudo.

O MES foi o composto sintético que teve a maior abundância no rio Jaguaribe, com expressiva concentração na maioria dos pontos amostrados (Figura 38). Em conjunto com o DES e EE2, esses foram os compostos mais representativos nessa pesquisa. O MES e EE2 são os estrógenos sintéticos mais utilizados em tratamentos hormonais, principalmente em

anticoncepcionais (ARIS et.al., 2014; GHISELLI e JARDIM, 2007; ZHANG et.al., 2009). Além disso, são mais resistentes a degradação e assim tem maior probabilidade de serem determinados em amostras ambientais (FROEHNER et al., 2012). O DES que era comumente usado para prevenir aborto espontâneo em 1948 a 1971 (GHISELLI e JARDIM, 2007), atualmente tem seu uso restrito em muitos países, devido a efeitos prejudiciais a saúde humana (BLATT *et al.*, 2003). Já o DIE que foi o estrógeno sintético com menor abundância é geralmente usado como creme em tratamentos dos sintomas da menopausa e pós-menopausa (HEALTH SCIENCES DESCRIPTORS, 2017).

Figura 38 – Concentrações individuais dos hormônios estrógenos sintéticos e naturais.



Fonte: Autora

A presença de hormônios estrógenos no ambiente denuncia a presença de algumas fontes de contribuição passíveis de causar contaminação ambiental, tais como: o aporte de

esgoto doméstico, lançamento de resíduos provenientes de atividades como criação e manejo animal (pecuária/aquicultura/carcinicultura) e agricultura.

Os estrógenos naturais são produzidos no organismo humano e excretados nas fezes e/ou urina diariamente, sendo assim lançados constantemente ao ambiente. Lintelmann *et al.*, (2003) relata que uma mulher grávida excreta cerca de 2 a 20 µg/dia E1, 3 a 65 µg/dia E3, e 0,3 a 5 µg/dia 17βE2. Em outros estudos se declara que homens excretam, em µg/dia, aproximadamente 3,9 de E1, 1,5 de E3, 1,6 de 17βE2, enquanto mulheres em menstruação excretam 8,0 de E1, 4,8 de E3, 3,5 de 17βE2 e mulheres em gestação 600 de E1, 6000 de E3, 259 de 17βE2 (JOHNSON, BELFROID E DI CORCIA, 2000; YING, KOOKANA E RU, 2002; JOHNSON E WILLIAMS, 2004). Os estrógenos sintéticos são apenas expelidos por organismos submetidos a práticas de tratamentos hormonais. Adeel *et.al.* (2017) explica que a população humana do mundo, que tem cerca de 7 bilhões de pessoas adiciona aproximadamente 700 kg/ano de EE2 em matrizes ambientais.

Outra importante fonte de hormônios estrógenos é atividade de criação animal (aves, gados, porcos). Essa contribuição é considerada de alta relevância uma vez que a criação e manejo animal estão intrinsecamente ligados à produção de alimentos, por exemplo, a indústria pecuária leiteira já teve como prática o uso de uma variedade de hormônios reguladores para aumentar as taxas de crescimento do gado (ADEEL *et al.*, 2017). Com isso, pode se mencionar que além da produção natural do organismo de animais vivos, há ainda a eliminação de compostos estrógenos advinda da utilização de fármacos aplicados em práticas veterinárias (COLUCCI, BORK E TOPP, 2001; ZHENG, 2008). Gadd *et al* (2010) explica que EE2 é usado para melhorar a produtividade da atividade de criação de animais (por exemplo, aves) e Hanselman *et al.* (2003) afirma que na urina de porco e galinha há excreção de αE2 e E1. A excreção de estrogênios por animais ocorre pela urina e fezes, sendo que apenas pelas fezes os compostos são expelidos na forma ativa biologicamente (LARSSON *et al.*, 1999). Bovinos excretam os estrogênios principalmente pelas fezes, enquanto suínos, pela urina (KHANAL *et al.*, 2006). A excreção fecal e urinária de bovinos e suínos varia de 0,1 a 160 mg/dia (RAMAN *et al.*, 2004).

Ainda há como fonte, o uso do esterco animal ou lodo da estação de tratamento como adubo e fertilizante de solo em áreas de cultivo agrícola (ORLANDO *et al.*, 2004). De acordo com Raman *et al.* (2004), a contaminação ambiental por hormônios, oriundo de estações de

tratamento e armazenamento de esterco animal, é negligenciado em razão das transformações físicas, químicas e biológicas que ocorrem, tais como: diluição pela chuva e degradação aeróbica, que podem alterar as concentrações disponibilizada.

Explorando a área de estudo em campo, foi possível perceber ao longo das margens do rio Jaguaribe a presença de pequenos currais, criação de vacas leiteiras (com pequeno número de animais). Foi identificado muito rastros de fezes animais, pegadas e também presença isoladas de animais (bodes e bovinos). Também foi visto pequenas plantações de milho e arroz em alguns pontos distintos. De acordo com Pereira e Cuellar (2015) o baixo Jaguaribe é marcado pela existência da agricultura familiar baseada em lavouras temporárias como o milho, o feijão e a mandioca. Além desses usos, foi visualizado em todo curso do rio (médio e baixo Jaguaribe) presença maciça de fazendas de camarão, tanto em plena atividade quanto desativadas. Segundo Soares *et al.* (2007) houve um densa ocupação no rio Jaguaribe pela atividade de carcinicultura, de 1999 a 2002 o crescimento foi de 22% e de 2002 a 2005 foi de 54%, havendo assim um ganho de 767,46ha de novos empreendimentos nesse período total. Diante do exposto, afirma-se que há presença de muitas fontes de contribuição dos hormônios estrógenos na área de estudo.

Apesar de não haver na literatura ou na legislação limites estabelecidos para classificar se há ou não contaminação quanto os hormônios estrógenos, naturais e sintéticos, em matrizes ambientais, pode-se comparar com as concentrações estabelecidas em outros estudos (Tabela 18). Com isso, observou-se que os sedimentos superficiais do rio Jaguaribe apresentam fortes indicativos de contaminação, pelo motivo de ter níveis mais altos do que os encontrados em outros lugares. O resultado encontrado está compatível com a situação precária de saneamento ambiental do Nordeste brasileiro.

**Tabela 18** - Concentrações dos hormônios estrógenos no presente trabalho, em outros locais (Brasil e mundo).

Local	Hormônios estrógenos	Faixa de concentração (ng/g)	Referência
Rio Jaguaribe - Ceará	E1	<LD – 89,90	Presente estudo
	$\alpha$ -E2	1,28 – 226,77	
	$\beta$ -E2	1,28 – 29,03	
	E3	91,47 - 1011,88	

	DES	16,72 – 593,76	
	DIE	4,39 – 121,41	
	MES	53,65 – 1960,98	
	EE2	69,70 – 609,71	
	E1	187.39	
	$\alpha$ -E2	1.36	
	$\beta$ -E2	52.82	
Rio Pacoti/ Ceará	EE2	70.28	Pimentel <i>et al.</i> (2016)
	DES	453.69	
	E3	34.68	
	E1	<2,5 – 42,18	
Rio Iguaçú / Paraná	$\beta$ -E2	<2,5 – 137,9	Machado (2010)
	EE2	<3,0 – 36,60	
	E1	nd - 0.96	
Estuário Itacorubi / Santa Catarina	$\beta$ -E2	nd - 39.77	Froehner <i>et al.</i> , 2012
	EE2	nd - 129.75	
	E1	0,2 - 1,2	
Sydney /Austrália	$\beta$ -E2	0,2 - 2,5	Braga <i>et al</i> 2005
	EE2	<0,05 - 0,5	
	E1	nd - 7,4	
	$\beta$ -E2	nd - 2,4	
Baía Xiamen / China	EE2	nd - 2,2	Zhang <i>et al.</i> , 2009
	DES	nd - 8,8	

Fonte: Autora

Assim como para a classe de Esteróis, nessa seção da pesquisa também foi realizada uma análise multivariada (AF/PCA) a fim de conhecer a associação das variáveis quantificadas. Então, na análise os dados primários foram reordenados apresentando a necessidade de 3 fatores com rotação varimax para justificar adequadamente o uso desse



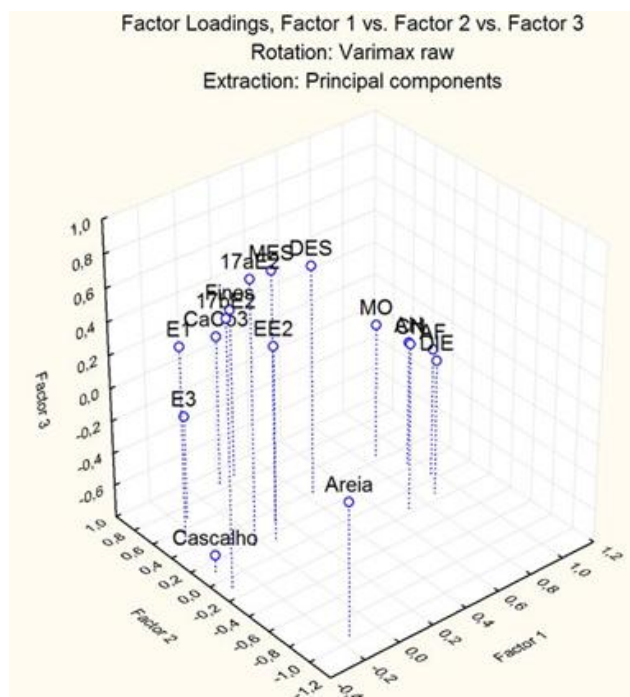
tratamento, que explicou 71,64% da variância total. Na Tabela 19 e Figura 39 estão apresentados os valores adquiridos para cada variável e fator.

**Tabela 19** - Valores obtidos por FA/PCA usando dados de hormônios e características dos sedimentos superficiais do rio Jaguaribe (fator de corte > 0,70).

<b>Variável analisada</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>
Cascalho	-0,31	0,11	<b>-0,70</b>
Areia	-0,14	<b>-0,95</b>	0,01
Finos	0,24	<b>0,88</b>	0,23
CaCo3	0,15	<b>0,87</b>	0,12
MO	<b>0,88</b>	0,46	0,03
AH	<b>0,95</b>	0,25	-0,04
AF	<b>0,98</b>	0,06	-0,02
CN	<b>0,71</b>	-0,15	0,22
DES	0,44	0,39	<b>0,71</b>
DIE	<b>0,89</b>	-0,13	0,03
MES	0,16	0,30	<b>0,72</b>
EE2	0,07	0,38	<b>0,74</b>
17aB2	-0,04	0,17	<b>0,81</b>
17bB2	-0,32	-0,09	<b>0,81</b>
E1	-0,27	<b>0,79</b>	0,39
E3	-0,15	<b>0,70</b>	-0,17
Variância Total (%)	34,38	21,34	15,92
Variância acumulada (%)	34,38	55,72	71,64

\*Os valores destacados indicam as correlações mais fortes.

**Figura 39** - Plot tridimensional da AF/PCA usando dados esteróis e características dos sedimentos

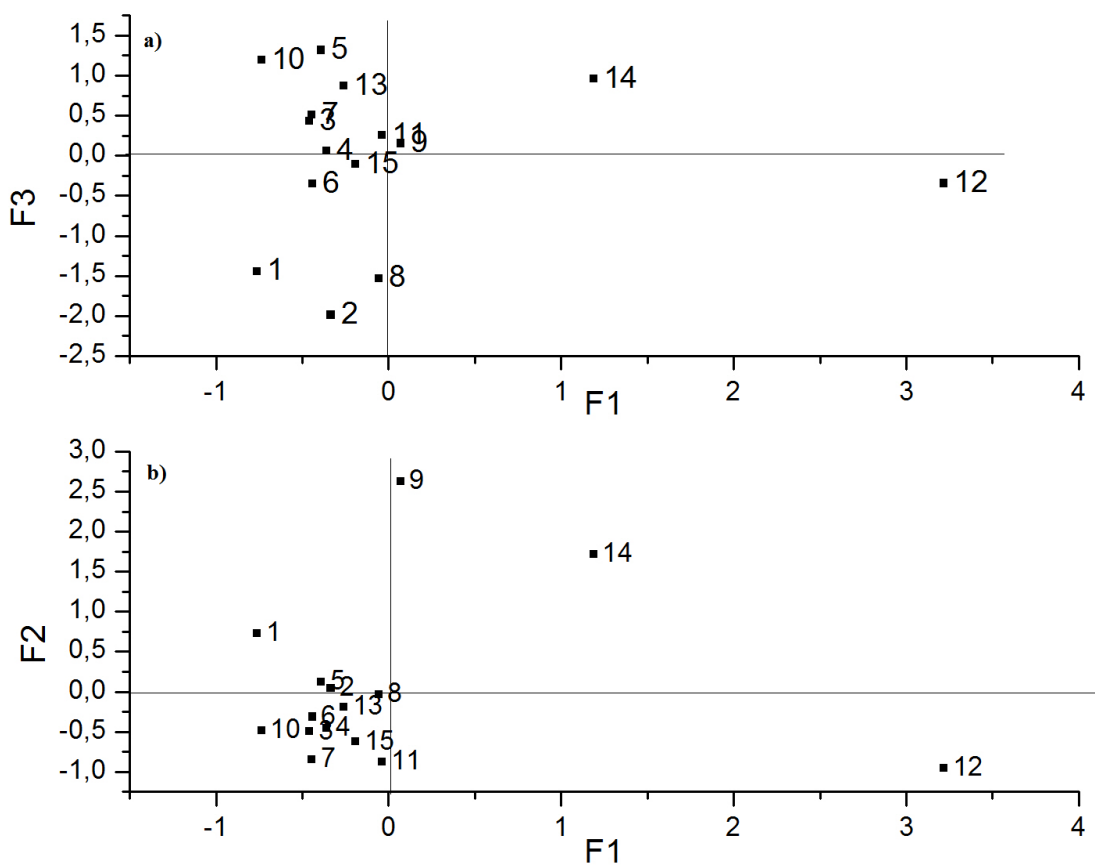


O primeiro fator (F1) explicou 34,38% da variância total (Tabela 19) e foi carregado positivamente com DIE, com a matéria orgânica e suas frações (AF, AH, CN) (Figura 39). Com isso, os valores positivos para F1 pode ser associado com contaminação pelo aporte de hormônios sintéticos. O segundo fator (F2) explicou 21,34% da variância total (Tabela 19) e foi carregado positivamente com Finos, CaCO<sub>3</sub>, E1 e E3 (Figura 39), resultando que valores positivos para esse fator tem associação com aporte de hormônios naturais. O terceiro fator (F3) explicou 15,92% (Tabela 19) e carregou positivamente os estrogênios sintéticos, DES, MES, EE2 e os naturais 17αE2 e 17βE2 (Figura 39) apresentando assim que valores positivos para o F3 tem contaminação mista (naturais e sintéticos) de contaminação.

Os pontos PJ9, PJ12 e PJ14 foram carregados positivamente para F1 (Figura 40ab) sendo assim associado com contaminação mais expressiva por estrógenos sintéticos. Para F2 os pontos amostrais PJ1, PJ2, PJ5, PJ9, PJ14 tem predominância de aporte de hormônios naturais (Figura 40a). Enquanto PJ3, PJ4, PJ5, PJ7, PJ9, PJ10, PJ11, PJ13, PJ14 apresentaram associação com contaminação mista (Figura 40b). Como resultado desse tratamento é a possível afirmar que os pontos PJ9 e PJ14 são expressivamente influenciados por todos os hormônios estrógenos quantificados. No caso do PJ9 isso pode ser integrado à condição de estar localizado próximo a um canal de lançamento de uma fazenda de carcinicultura e

próximo há uma pequena comunidade de casas. O PJ14 fica bem próximo a uma cidade pequena (distrito de Aracati) e também tem fazendas de carcinicultura nas proximidades

**Figura 40** - Score das componentes principais (Fator 1 x Fator 2; Fator 1 x Fator 3) usando dados hormônios estrógenos e características dos sedimentos

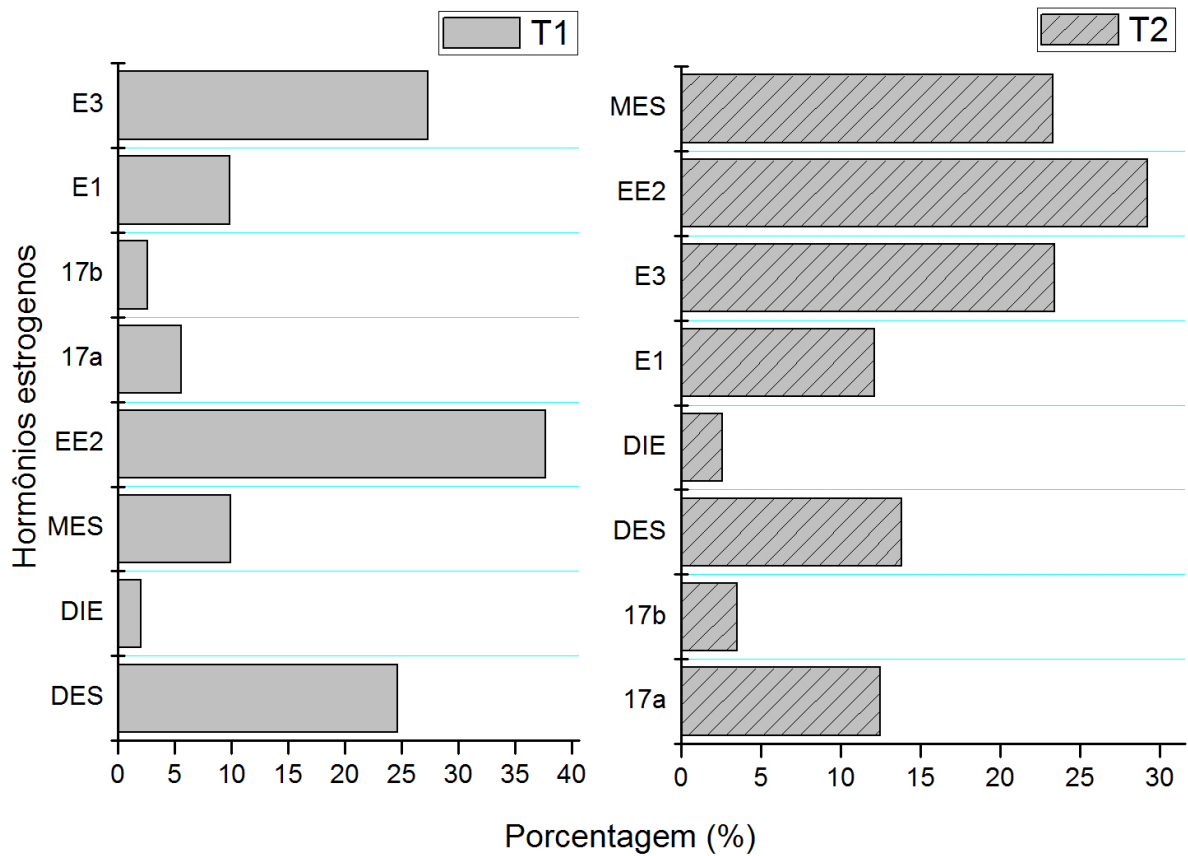


### 8.5.2. Testemunhos

A porcentagem individual dos Hormônios estrógenos no TJ1 indica que o EE2 é o composto mais abundante no mesmo, com 37,65% do total de estrogênios analisados, seguido do DES com 24,61% e E3 com 27,30 % (Figura 41).

O EE2 e DES são Hormônios estrógenos sintéticos comumente usados em pílulas anticoncepcionais e em tratamentos hormonais, então o cenário encontrado pode sugerir aporte de esgoto doméstico no rio Jaguaribe. Já o E3 é um hormônio natural com menor poder estrogênico e é amplamente produzido por mulheres grávidas, além disso, é resultado da oxidação de E1. Para o TJ2 (Figura 41) o EE2 também apresentou abundância dentre os outros Hormônios estrógenos estudados com 29,23%, e foi seguido do E3 (23,38%) e MES (23,28%).

**Figura 41** - Porcentagem individual dos Hormônios estrógenos no testemunho1 e 2



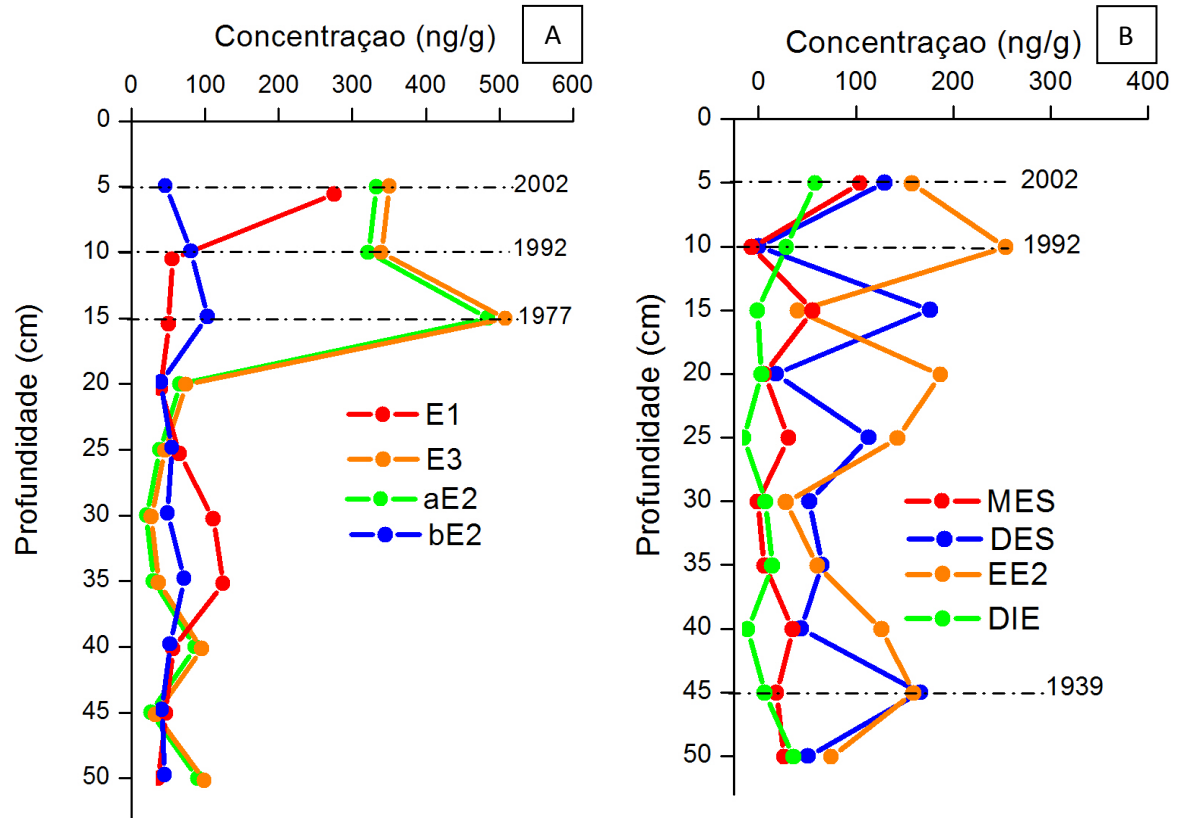
O perfil de distribuição de hormônios estrógenos nos TJ1 e TJ2 está apresentado nas Figura 42 e Figura 43. Os estrogênios naturais,  $17\alpha E2$  e  $E3$ , no TJ1 apresentaram maiores concentrações nas camadas superiores, de 15cm, 10cm e 5cm, datadas em 1977, 1992 e 2002, respectivamente (Figura 42A). O  $17\alpha E2$  é um hormônio presente em fezes e urina de bovinos, assim é usado como indicativo de contaminação oriunda de áreas usadas para criação de animais (KINANI *et al.*, 2008; NOPPE, 2006). Em 1992 e 2002 o posto pluviométrico da FUNCEME alocado em Itaiçaba registrou chuvas de 733mm e 1072mm, para os respectivos anos. Diante disso, se confirma a presença de atividades agropecuárias e prever que o escoamento pluvial que percola por essas áreas esteja contribuindo para o aporte de  $17\alpha E2$  na área estudada. No TJ2 a fração referente aos 20cm de profundidade foi a que apresentou os maiores níveis para o  $17\alpha E2$  e essa camada foi datada para 1990 (Figura 43A). O topo desse testemunho, a camada de 10cm, teve predominância do  $E1$  e  $E3$  (Figura 43A), e esses são excretados pelo corpo humano (Adeel *et al.*, 2017). Isso comprova que a região onde foi coletado o TJ2 sofre influência da ocupação urbana, sendo destino final de esgotos.

Na avaliação do comportamento do  $17\beta E2$ , foram constatadas as menores concentrações em ambos os testemunhos. A alternância entre as concentrações do  $17\beta E2$  e  $E1$  no TJ1, corrobora com a característica de que  $17\beta E2$  é facilmente oxidado a  $E1$  (JOSS *et al.*, 2004; LOPES *et al.*, 2010). O valor mais alto para  $17\beta E2$  foi na porção de 15cm e para  $E1$  foi na camada de 5cm (Figura 42A). Já no TJ2 o  $E1$  apresentou as maiores concentrações em relação ao  $17\beta E2$ . Analisando todo o perfil do testemunho, apenas na camada de 40cm o  $17\beta E2$  ultrapassou o  $E1$ ,  $17\beta E2$  com 65,70 (ng/g) e  $E1$  com 12,15 (ng/g) (Figura 43A). Lintelmann *et al.*, (2003) relata que a degradação dos hormônios naturais ocorre nas seguintes condições: elevada carga de nutrientes e oxigênio dissolvido. A camada de 40 cm representa aproximadamente o ano de 1957, nesse período, de acordo com Pereira e Cuellar (2015), foi registrada uma intensa seca na região nordeste. Esse fato afetou a dinâmica do rio Jaguaribe, justificando a baixa capacidade de oxidação de um composto para o outro.

Os hormônios sintéticos mostraram um comportamento mais desordenado ao longo dos testemunhos, variando entre  $<LD - 308,37$  (ng/g) no TJ1 e  $5,76 - 376,58$  no TJ2. Esses compostos são mais resistentes a degradação microbiológica (FROEHNER *et al.*, 2012; ZUO *et al.*, 2013), e assim permanecem mais tempo no ambiente. Nos dois testemunhos o  $DIE$  teve com as menores concentrações e foi o único que apresentou a clássica distribuição de na camada mais próxima a superfície ter os maiores níveis, no TJ1 na fração de 5cm (datado para

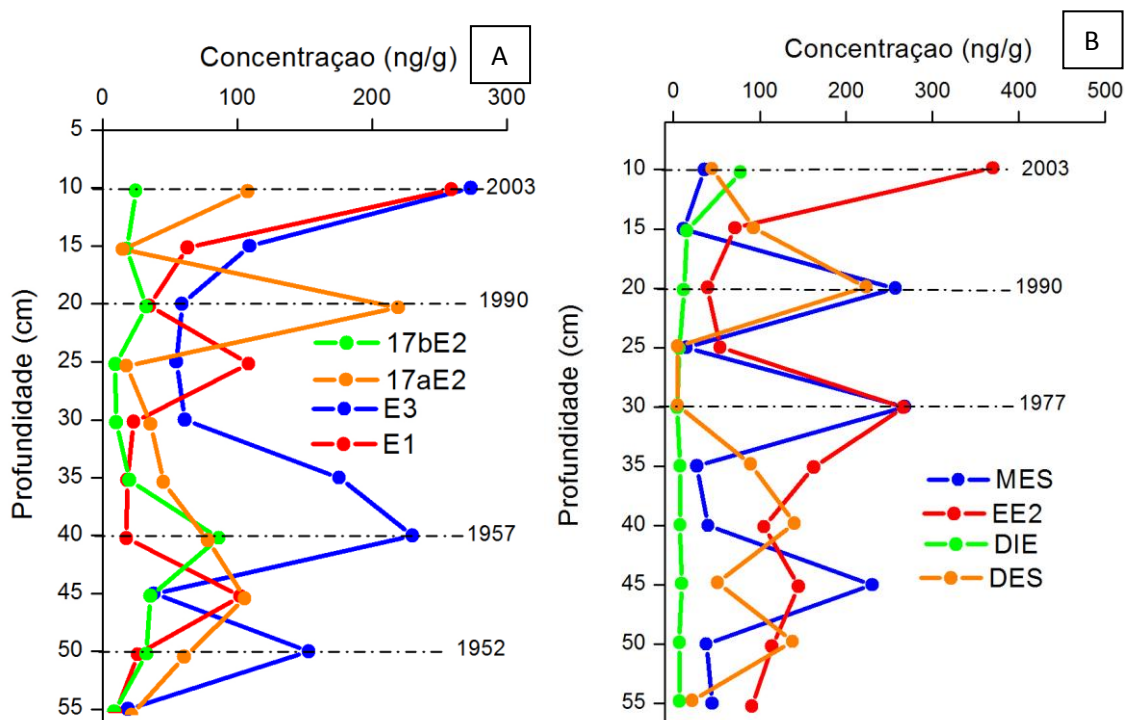
2002) teve valor de 25,24 (ng/g) e TJ2 na fração dos 10cm (datado para 2003) teve 72,18(ng/g). O DIE vem sendo mais comumente usado em cremes para tratamentos em mulheres na menopausa (HEALTH SCIENCES DESCRIPTORS, 2017), por isso esse composto mostrou presença para os períodos de 2002-2003. Em ambos os testemunhos o MES, DES, EE2, foram bem representativos, assim como no sedimento superficial. Esse fato é justificável ao considerar que os estrógenos sintéticos são comumente usados em tratamentos hormonais para humanos e animais (ARIS *et.al.*, 2014; ZHANG *et.al.*, 2009). No TJ1 o EE2 foi o mais abundante, com concentrações máximas de 308,37(ng/g) na fração de 10cm, essa camada foi datada para o período de 1992 (Figura 42B). Esse período corrobora com o fato da carcinicultura no rio Jaguaribe ter começado no fim da década de 80 (GODOY, 2011). Além disso, o ponto de coleta desse testemunho é próximo a uma fazenda de criação de camarão. Diante dessas informações, pode-se inferir que há influência dessa atividade na região. Na camada mais superficial (10cm) do TJ2 também foi constatado a maior concentração desse furo, que é referente ao EE2 com valor de 376,58 (ng/g) (Figura 43B). Nas camadas de 20cm (datada em 1990) houve dominância do DES (141,01 ng/g) e MES (257,06 ng/g) (Figura 43B). A camada de 30cm (datada em 1977) foi marcado pela presença de EE2 e MES. O TJ2 está localizado próximo ao município de Fortim e tem pontos ocupados pela carcinicultura, provavelmente esses usos estão lançando rejeitos no rio Jaguaribe.

**Figura 42-** Gráficos mostrando a distribuição dos hormônios estrógenos no testemunho1.



Legenda: A - Naturais; B - Sintéticos.

**Figura 43-** Gráficos mostrando a distribuição dos hormônios estrógenos no testemunho 2.



Legenda: A - Naturais; B - Sintéticos.

## 8.6. Fatores dependentes para a distribuição de Esteróis e Hormônios estrógenos

Para um diagnóstico efetivo da qualidade ambiental de um ecossistema, é necessário quantificar contaminantes e relacioná-los com as condições físico-químicas da matriz avaliada, a fim de conhecer a dependência entre os mesmos. A mobilidade de contaminantes orgânicos nos ecossistemas aquáticos ocorre pela associação aos sólidos suspenso ou pela dissolução em água (PAN; YOU, 2010). Essa associação também é resultante da frequência e quantidade despejada no ambiente e condições climáticas.

Com o intuito de verificar a contribuição das frações orgânica e inorgânica dos sedimentos para a distribuição dos compostos no rio Jaguaribe foi realizado a correlação estatística de spearman, listada na Tabela 20.

**Tabela 20** - Correlação não linear de Spearman ( $p < 0,10$ ) para dependência dos compostos no rio Jaguaribe (Sedimento superficial e testemunhos).





E1	-	-	-	-	-	-	0,60
E3	-	-	-	-	-	0,56	-

Na Tabela 20 foi observado que no sedimento superficial os esteróis apresentaram correlação significativa com MO, AF e CN. Já para os hormônios estrógenos, apenas o EE2 teve correlação com MO, AH e AF. Em ambas as classes não houve relação de dependência com os parâmetros inorgânicos. No Testemunho 1 e 2 os esteróis tiveram correlação significativa para a areia, CaCO<sub>3</sub>, MO, AH e AF. Enquanto que os hormônios não apresentaram dependência com tais parâmetros. Consequentemente, constata-se que não há uma relação de dependência bem estabelecida entre as frações constituintes do sedimento com as classes de compostos analisados. Assim, a distribuição espaço-temporal encontrada para os esteróis e hormônios estrógenos no rio Jaguaribe pode ter maior relação com a proximidade da fonte de lançamento do que propriamente com os parâmetros físico-químicos do sedimento.

## 8.7. Ecotoxicologia

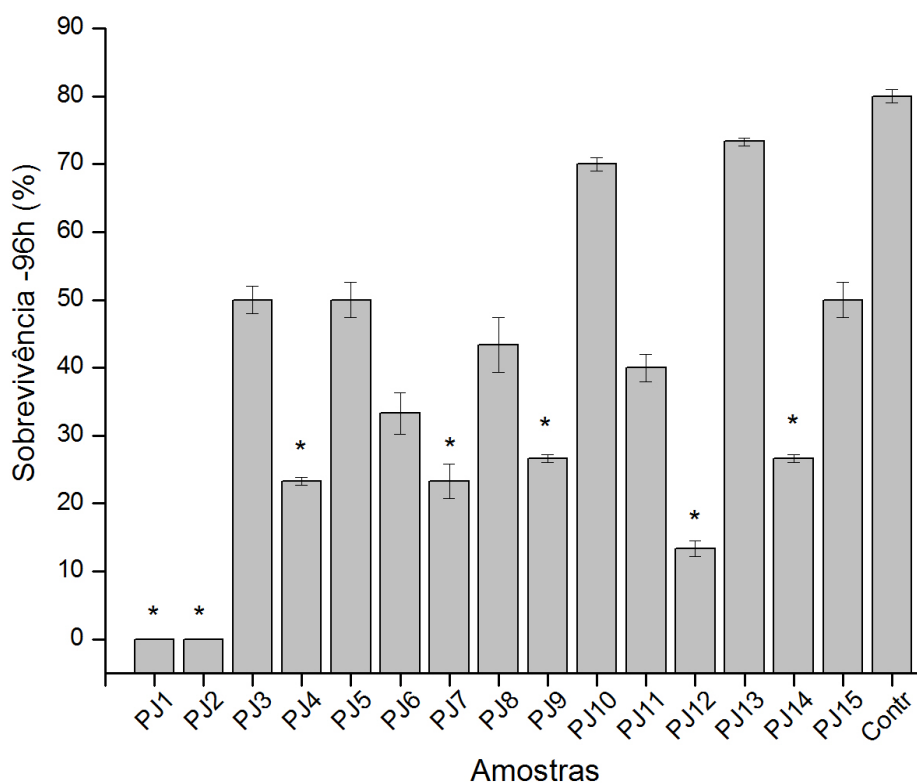
### 8.7.1. Teste de toxicidade de efeito agudo - ISA

Os valores de pH e salinidade para início e fim do experimento realizado com as amostras do rio Jaguaribe, variaram de 6 a 7 para pH e 30 a 35 para salinidade (Apêndice H), e assim não demonstraram diferença significativa no período de execução do ensaio, garantindo que esses parâmetros não foram determinantes para taxa de mortalidade dos organismos.

O teste de ISA, propriamente dito, mostrou que nos pontos PJ1, PJ2, PJ4, PJ7, PJ9, PJ12, PJ14 a sobrevivência dos misidáceos foi reduzida significativamente em relação ao sedimento controle, variando de 0 a 26% (Figura 44). As amostras do PJ1 e PJ2 finalizaram o ensaio sem organismos vivos. Esses pontos estavam com volume de água bastante reduzido durante a coleta isso pode ter ocasionado o acúmulo de poluentes que provavelmente afetaram os organismos expostos. Além disso, em campo ao rio Jaguaribe foi notado uma grande quantidade de biofilme (lodo espesso) na superfície de fundo e nas margens do rio, esse

material pode gerar condições adversas aos *Mysidopsis juniae*. A situação de toxicidade encontrada para as amostras do PJ9, PJ12 e PJ14 nesse ensaio, com sobrevivência de  $\pm$  26%, 13% e 26%, respectivamente (Figura 44), corresponde com o resultado obtido na avaliação de contaminantes, onde tais pontos foram considerados contaminados com presença de hormônios estrógenos sintéticos. Outro fator preponderante que rege tais pontos classificados como tóxicos nesse ensaio, é o uso e ocupação da área próxima. Em visita de campo e pela análise por imagem de satélite foi verificado presença de fazendas de carcinicultura nas proximidades dos mesmos. De acordo com Carballeira *et al.* (2012) os descartes do processo de cultivo de organismos aquáticos são abundantes em compostos de diversas classes. Dentre essa gama de compostos é comum encontrar produtos farmacêuticos (Henry *et al.*, 2004), e nessa classe se encaixam os hormônios estrógenos.

**Figura 44** – Porcentagem de sobrevivência (média  $\pm$  desvio padrão) dos organismos (*M. juniae*) expostos à amostras de sedimento superficial do rio Jaguaribe



\* Amostras que tiveram diferença significativa em relação ao controle ( $p \leq 0,05$ ).

#### 8.7.2. Teste de toxicidade de efeito crônico em sedimento integral com *Nitocra* sp.

Durante o teste com *Nitocra* sp. os parâmetros físico-químicos, OD, salinidade e pH, tiveram níveis considerados aceitáveis de acordo com o Lotufo e Abessa (2002), ou seja, pH < 7,0; salinidade entre 5 e 30; OD < 3 mg/L; temperatura de 25 °C ( $\pm 2$ ). Os valores para tais parâmetros do ensaio executado estão sumarizado no apêndice I. A salinidade inicial variou de 15 a 17 e a final de 15 a 18. Os níveis de OD no início do experimento variou de 2,1 a 4,1(mg/L) e o final entre 3,0 e 6,5(mg/L). O pH inicial ficou de 7,2 a 7,6 e o final entre 6,3 a 7,18. A temperatura manteve-se constante a  $24\pm 2^\circ\text{C}$ .

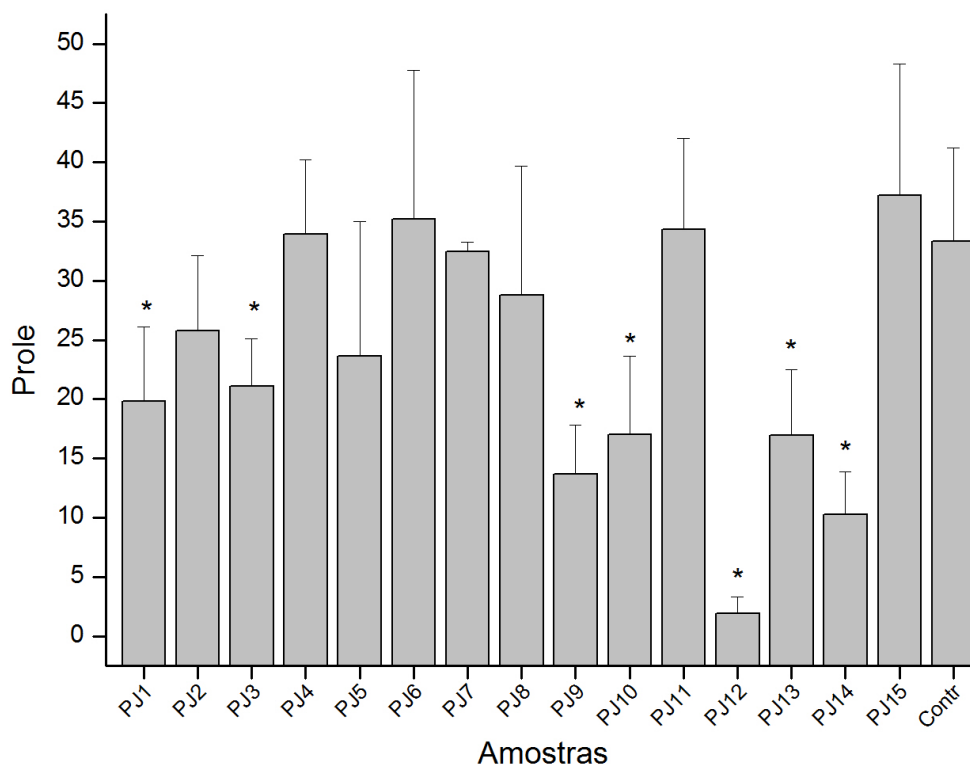
O lote de *Nitocra* sp. usados no teste de sedimento integral tinham sensibilidade de acordo com os limites aceitáveis, seguindo a carta-controle da sensibilidade dos copépodos cultivados no NEPEA/UNESP.

Para legitimar o ensaio seguiram-se as orientações de Lotufo e Abessa (2002) que relatam não haver número limite de jovens (fecundidade) que valide o teste, porém é necessário que haja reprodução nas amostras controles. Os autores afirmam que uma fêmea ovada exposta ao sedimento controle, por 10 dias, pode chegar a produzir  $39,6\pm 10,8$  copepoditos e náuplios. Como o sedimento controle do ensaio executado nesta pesquisa teve média de reprodução de 33,3 jovens por fêmea em 7 dias, considera-se esse valor dentro da faixa adequada de reprodução.

O número médio de indivíduos da prole variou entre  $2,90\pm 1,16$  (PJ12) a  $32,4\pm 0,78$  (PJ7) de jovens (copepodito + náuplio) por fêmeas, sendo a maior parte dos pontos amostrais classificados como tóxicos pertencentes a zona estuarina, que é a região de maior uso e ocupação da área estudada. Na Figura 45 está mostrado que os pontos amostrais PJ1, PJ3, PJ9, PJ10, PJ12, PJ13, PJ14 foram considerados tóxicos para os organismos testados quando comparados ao sedimento controle. Tal conjuntura corrobora com a situação diagnosticada tanto na fase de quantificação dos esteróis e hormônios estrógenos quanto no ensaio de ISA com misidáceo. Em ambas as análises os pontos PJ9, PJ12 e PJ14 também foram classificados como contaminados por estrógenos sintéticos e tóxicos. O PJ1 e PJ3 não foram classificados como contaminado pelos compostos analisados neste trabalho. Com isso, se destaca a dificuldade de garantir que algum contaminante específico seja o causador absoluto dos efeitos encontrados em um ambiente com inúmeros fatores de influências antrópicas. Essa realidade foi constatada por Thompson *et al.* (1999), os quais verificaram que inúmeras causas podem explicar a situação de toxicidade de um ambiente, como por exemplo: apenas um contaminante em alta concentração pode causar efeito, ou diferentes contaminantes interagindo entre si (mesmo que em baixas concentrações), ou até misturas de compostos com os fatores

naturais. Sendo assim, todas essas possibilidades podem ocorrer no rio Jaguaribe e ser as causas do efeito tóxico obtido.

**Figura 45** - Prole de copéodos *Nitocra* sp. (média  $\pm$  desvio padrão) expostos à amostras de sedimento superficial do rio Jaguaribe



\* Amostras que tiveram diferença significativa em relação ao grupo controle ( $p \leq 0,05$ ).

Para haver uma melhor compreensão da influência dos contaminantes analisados nos testes ecotoxicológico, foi realizada uma análise de correlação linear (correlação de Pearson;  $p < 0,05$ ) a fim de averiguar a dependência entre esteróis, hormônios estrógenos sintéticos e naturais e os testes toxicológicos (agudo e crônico). O resultado mostrou que os hormônios estrógenos sintéticos apresentam correlação para ambos os testes,  $r = 0,30$  para correlação entre  $\Sigma$ hormônios sintéticos e teste agudo (misidáceos) e  $0,60 \Sigma$ hormônios sintéticos e teste crônico (copepodo). O  $\Sigma$ esteróis teve correlação de  $0,08$  com o teste agudo. Com esses resultados observa-se uma forte influência da presença dos hormônios estrógenos sintéticos com a qualidade ambiental do ecossistema avaliado.

### 8.7.3. Contaminação de sedimentos (*Spiked*) e ensaio com *Nitocra* sp.

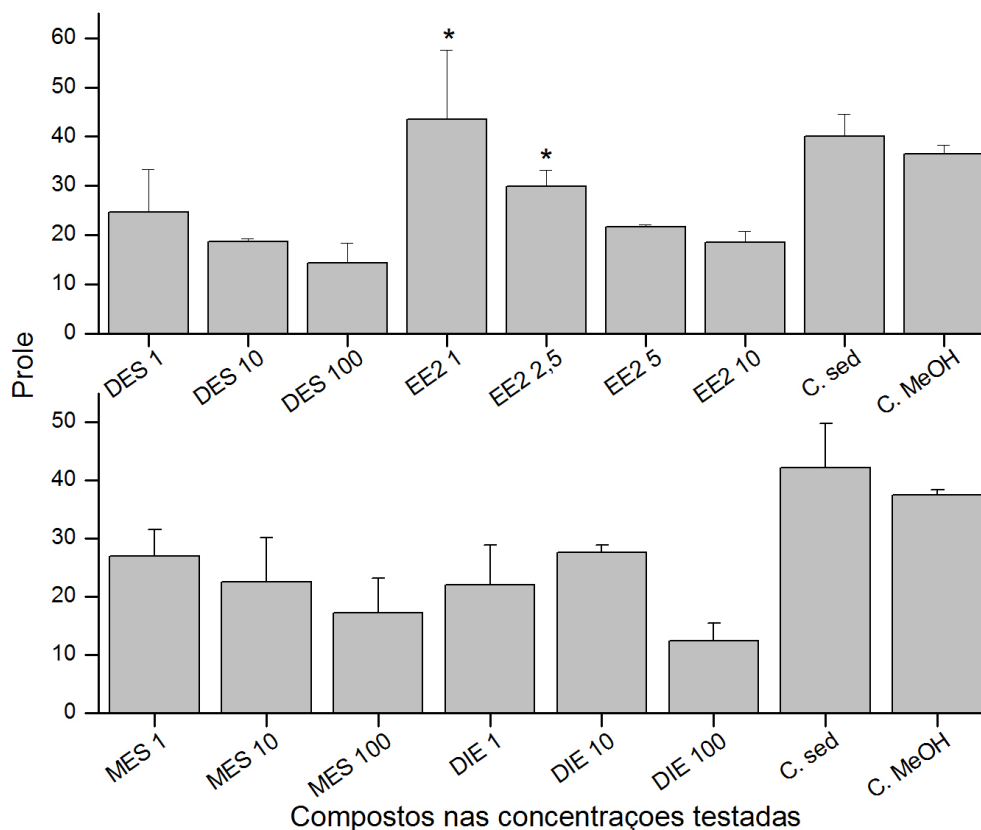
Durante o ensaio de exposição do *Nitocra* sp. ao sedimento contaminados com os hormônios sintéticos os parâmetros físico-químicos tiveram uma variação aceitável de acordo com o que é descrito por Lotufo e Abessa (2002). O pH variou entre 7,0 a 7,9, a salinidade de 15 a 17 e OD de 4,8 a 7,6, entre início e fim do experimento (Apêndice J).

Para haver a garantia de que os efeitos obtidos fossem realmente dos compostos analisados foi realizado o controle do solvente MeOH. Ao submeter os resultados aos tratamentos estatísticos no teste post hoc de Bonferroni, foi conferido que a fecundidade dos organismos expostos ao controle de MeOH não teve diferença significativa com a observada nos organismos do controle de sedimento.

O ensaio realizado mostrou que as concentrações dos hormônios sintéticos analisadas foram capazes de diminuir significativamente o número de prole, ou seja, são concentrações que causam efeito aos organismos testados (Figura 46). Apenas o EE2 que apresentou duas concentrações (1 ng/g e 2,5 ng/g) que não tiveram diferença significativa. Dos compostos avaliados o EE2 é único que tem alguns estudos que explicam seu comportamento tóxico. Como por exemplo, no estudo de Maranhão *et al.* (2015a) foi observado inibição do crescimento de um tipo de alga em concentrações de 5,0 e 1,0(ng/g) de EE2. Scholz & Gutzeit (2000), por sua vez, detectou consequências de inibição da produção de ovos de peixes após exposição ao EE2 a 10(ng/L). Maranhão *et al.* (2015b) constatou que concentrações de 10 a 100 (ng/g) de EE2 pode inferir efeito agudo em poliquetas.

Para o restante dos compostos, até o momento pouco se conhece sobre seus comportamentos de efeito nos organismos marinhos, por isso foi selecionado concentrações de valores baixos, como 1ng/g, até valores muito altos, de 100n/g, para a avaliação. Também foi considerado as concentrações determinadas na fase de identificação e quantificação dos hormônios estrógenos sintéticos nos sedimentos do rio Jaguaribe, que teve variação de <LD a 1960(ng/g) entre os quatro sintéticos analisados.

**Figura 46** - Prole de *Nitocra* sp. (média  $\pm$  desvio padrão) resultante a exposição de diferentes concentrações dos hormônios estrógenos sintéticos.



\* Concentrações de EE2 que não tiveram diferença significativa em relação aos controles de sedimento e solvente ( $p \leq 0,05$ ).

## 9. Integração dos resultados - Tabela de decisão

Para integrar os dados de sedimentos superficiais foi utilizada a ferramenta de tabelas de decisão, onde se fez uma análise em conjunto dos dados obtidos nas razões diagnósticos dos esteróis, as concentrações do  $\Sigma$  hormônios estrógenos e os testes ecotoxicológicos (Tabela 21).

Os resultados para determinação dos compostos químicos, esteróis e hormônios estrógenos, mostraram que em todas as amostras analisadas foram identificados e quantificados tais compostos. Sendo que para as razões diagnósticas dos esteróis, foi observado que os pontos PJ2, PJ8 e PJ10 não possuem efeito significativo. Para a classe dos hormônios estrógenos foi detectado altos níveis em todas as amostras analisadas. Essa situação pode ser claramente associada aos múltiplos usos do rio Jaguaribe e pelos hormônios estrógenos terem várias fontes de origem. Contudo os pontos PJ5, PJ9 e PJ14 foram os mais expressivos quanto a presença desses compostos.

Em relação ao estudo ecotoxicológico foi observado que na maioria dos pontos houve efeitos adversos nos organismos testes expostos, assim pode-se supor que as classes de contaminantes avaliadas nesse estudo são também causadores de danos ao ambiente.

No geral, os dados apresentados na Tabela de decisão demonstram que em todos locais amostrados há alguma forma de alteração na qualidade dos sedimentos do rio Jaguaribe. Nos pontos PJ1, PJ3, PJ4, PJ9, PJ11, PJ13, PJ14 foi diagnosticado efeito em todas as componentes avaliadas, isso sugere que esses locais estão avançados quanto a situação de contaminação, ou seja, já são locais em degradação.

**Tabela 21** - Tabela integrativa com resultados sumarizados dos sedimentos superficiais do rio Jaguaribe

Amostra	Razão Diagnóstico	Hormônios estrógenos	Toxicologia	Conclusões possíveis
PJ1	+	+	+	Forte evidência de degradação
PJ2	-	+	+	Há condições com potencial para causar degradação
PJ3	+	+	+	Forte evidência de degradação
PJ4	+	+	+	Forte evidência de degradação
PJ5	+	+	-	Há condições com potencial para causar degradação
PJ6	+	+	-	Há condições com potencial para causar degradação
PJ7	+	+	-	Há condições com potencial para causar degradação
PJ8	-	+	-	Há condições com potencial para causar degradação
PJ9	+	+	+	Forte evidência de degradação
PJ10	-	+	+	Há condições com potencial para causar degradação
PJ11	+	+	-	Há condições com potencial para causar degradação
PJ12	+	+	+	Forte evidência de degradação
PJ13	+	+	+	Forte evidência de degradação
PJ14	+	+	+	Forte evidência de degradação
PJ15	+	+	-	Há condições com potencial para causar degradação

Fonte: Autora. Legenda: (+) Efeito e (-) Não efeito

## 10. Conclusões



- ✓ O método analítico testado foi satisfatório para análise de múltiplos marcadores orgânicos geoquímicos em sedimentos. Em complemento, o processo de *clean up* mostrou-se eficiente na separação das frações propostas (HPAs, Agrotóxicos, esteróis e hormônios estrógenos), e assim foi possível obter em uma única extração mais de uma classe de compostos;
- ✓ Os resultados quanto a situação de contaminação do rio Jaguaribe, indicam que a qualidade dos sedimentos estão alterados, sendo ocasionada por uma combinação de fontes naturais e antrópicas, convertendo-se em efeito tóxico.
- ✓ Apesar da contribuição discreta de COP nos sedimentos superficiais, a contaminação por esgoto não pode ser descartada, principalmente porque o COL e COLN também evidenciaram o aporte desse substrato na área estudada. Com base, na avaliação final realizada pela análise das razões diagnósticas de esteróis, foi verificado que apenas as amostras PJ2, PJ8 e PJ10 não apresentaram contaminação pela entrada de efluentes in natura.
- ✓ Para os testemunhos todas as razões diagnósticas classificaram o TJ1 como contaminado para o aporte de esgotos. Já o TJ2 não foi classificado como contaminado para as razões que relacionam apenas COP e COLN.
- ✓ Os hormônios sintéticos apresentaram comportamento mais significativo nas amostras analisadas, tanto para os sedimentos superficiais quanto para os testemunhos. Sendo que, nos superficiais o mais expressivo foi o MES, enquanto que nos testemunhos foi o EE2. Através da avaliação da área pelas concentrações encontradas para essa classe de compostos, foi possível confirmar que as inúmeras atividades que usam e ocupam a região do rio Jaguaribe estão destruindo sua qualidade ambiental. Essa realidade já traz consequências desastrosas para as questões socioambientais, uma vez que o rio é usado como fonte de renda e sobrevivência para muitas comunidades ao longo do seu percurso.
- ✓ Na análise de datação dos testemunhos foi estabelecido que a sedimentação das frações ocorreram no período de 1937 a 2002 para TJ1 e 1947 a 2003 para TJ2.
- ✓ Nas avaliações ecotoxicológicas chegou-se a conclusão de que os sedimentos da área de estudo apresenta toxicidade aguda e crônica em alguns pontos, mais evidente na porção

estuarina da área. Os resultados ecotoxicológicos obtidos no presente estudo sugerem que a resposta de toxicidade mostrada pelos organismos testados parece estar associada com as áreas onde existem fontes de contaminação para o sistema, indicando que contribuições de esgotos e efluente advindos de atividades econômicas, como carcinicultura. E os estrógenos sintéticos apresentaram alto desempenho de toxicidade, onde apenas o EE2 nas concentrações de 1 e 2,5 ng/g não foram tóxicos aos organismos testados.

## **REFERÊNCIAS**

- ABESSA, D. M. S.; CARR, R. S.; SOUSA, E. C. P. M.; RACHID, B. R. F.; ZARONI, L. P.; GASPARRO, M. R.; PINTO, Y.A.; BICEGO, M.; HORTELLANI, M.; SARKIS, J. E. S.; MUNIZ, P. **Integrative ecotoxicological assessment of contaminated sediments in a complex tropical estuarine system.** In: *Marine Pollution:New Research.* p. 1–36. 2008.
- ABESSA, D.M.S. , SOUSA, E. C.P. M.; TOMMASI, L.R. **Utilização de testes de toxicidade na avaliação da qualidade de sedimentos marinhos.** *Revista de Geologia*, Vol. 19, nº 2, 253-261, 2006.
- ABESSA, D.M.S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema Estuarino de Santos.** Tese (Doutorado). São Paulo: USP, Instituto Oceanográfico. 290 p. 2002.
- ABREU-MOTA, M. A.; DE MOURA BARBOZA, C. A.; BICEGO, M. C.; MARTINS, C. C. **Sedimentary biomarkers along a contamination gradient in a human-impacted sub-estuary in Southern Brazil: a multi-parameter approach based on spatial and seasonal variability.** *Chemosphere*, 103, p. 156-163, 2014.
- ADEEL, M., SONG, X., WANG, Y., FRANCIS, D., YANG, Y. **Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review.** *Environ. Int.* 99, 107-119, 2017.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**, RE nº 899, de 29/05/2003.
- AGUIAR NETO, A.B.; GOMES, D.F.; FREIRE, G.S.S. **Níveis e origem de calcio em sedimentos dos manguezais de Icapui-CE, Nordeste do Brasil.** *Revista de Geologia*, Vol. 21, no 2, p. 135-146, 2008.
- AGUIAR, J. E. **CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA MINERALOGIA DE SEDIMENTOS NA PLATAFORMA CONTINENTAL DOS ESTADOS DO CEARÁ, PIAUÍ E MARANHÃO ATRAVÉS DA MICROSCOPIA ANALÍTICA SEM/EDS.** Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceara, INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR, Programa de PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS. Fortaleza, 2014.
- ANDALURI, G., SURI, R.P., KUMAR, K. **Occurrence of estrogen hormones in biosolids, animal manure and mushroom compost.** *Environ. Monit. Assess.* 184, 1197–1205. 2012.
- ANDERSEN, H.; Siegrist, H.; Halling-Sørensen, B.; Ternes, T. A. **Fate of estrogens in a municipal sewage treatment plant.** *Environmental Science & Technology*, v. 37, n. 18, p. 4021–4026, 2003. DOI: 10.1021/es026192a
- ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. **Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos.** In: ZAGATTO, Pedro A.; BERTOLETTI, Eduardo. *Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações.* 1 ed. São Carlos: Rima, Cap. 6, p. 117-152. 2006.
- ARAUJO, M. P.; COSTA, T. L. F.; CARREIRA, R. S. **Esterois como indicadores do acúmulo de esgotos domésticos em sedimentos de um sistema estuarino-lagunar tropical (Mundaú - Manguaba, AL).** *Química Nova*, v. 34, n. 1, p. 64-70, 2011.

- ARIS, A. Z.; SHAMSUDDIN, A.S.; PRAVEENA, S. M. **Occurrence of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review.** Environment International, [s.l.], v. 69, p.104-119, ago. 2014.
- ARIS,A. Z., SHAMSUDDIN,A. S. PRAVEENA,S. M. **Occurrence of 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review.** Environ. Int. 69, 104-119, 2014.
- ASTM (American Society for Testing and Materials) - **Standard guide for conducting 10 days static sediment toxicity tests with marine and estuarine amphipods.** In: Annual Book of ASTM Standards-section 11:268 water and environmental technology, E 1367-90. Philadelphia, American Society for Testing and Materials, p.1083-1115, 1992.
- ASTM (American Society for Testing and Materials) - **Standard test method for measuring the toxicity of sediment-associated contaminants with estuarine and marine invertebrates, Annual Book of ASTM Standards.** E1367-03 (redline). Waters and Environmental Technology. 2008.
- AZEVEDO, F. A. ; CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia.** Ed Rima e InterTox, p.340, 2004.
- BADARÓ-PEDROSO, C. **Toxicidade crônica de amostras do canal de São Sebastião e de substâncias puras a *Mysidopsis juniae* (Crustácea – Mysidacea).** Dissertação (Mestrado em Engenharia), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 165 f. 1993.
- BALDOTTO, M.A.; BALDOTTO, L. E. B.; **Ácidos húmicos.** Rev. Ceres, Viçosa , v. 61, supl. p. 856-881, 2014 .
- BALDOTTO, M.A.; CANELLAS L.P.; ROSA, R.C.C.; RANGEL, T.P.; SALOMÃO, M.S.M.B.; REZENDE, C.E. **Capacidade de oxidação como índice de estabilidade da matéria orgânica de sedimentos de acordo com gradiente fluvial-estuarino do Rio Paraíba do Sul.** *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 6, 973-978, 2011.
- BATAGLION, G. A.; MEURER, E.; de ALBERGARIA-BARBOSA, A. C. R.; BICEGO, M.C.; WEBER, R. R.; EBERLIN, M. N. **Determination of Geochemically Important Sterols and Triterpenols in Sediments Using Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (UHPLC–MS/MS).** Anal. Chem, 87, p. 7771-7778, 2015.
- BENITES, V. M.; MADARI, B.; MACHADO, P. L. O. A. **Extração e Fracionamento Quantitativo de Substancias Húmicas do Solo: um Procedimento Simplificado de Baixo Custo.** Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2003. (Embrapa Solos. Comunicado Tecnico, 16).
- BEZERRA, M. D. B. **Impactos de passagens molhadas na morfodinamica fluvial do baixo curso do rio Jaguaribe: uma analise a partir da barragem das pedrinhas em limoeiro do norte–Ceará.** 114p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Ceara, Fortaleza-CE, 2010.
- BICEGO, M. C.; TANIGUCHI, S.; YOGUI, G.; MONTONE, R.; DA SILVA, D.; LOURENÇO, R.; MARTINS, C.; SASAKI, T.S.; PELLIZARI, V.; WEBER, R. **Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of**

- the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil.** *Marine Pollution Bulletin*, v. 52, n. 12, p. 1784–1804, 2006.
- BILA, D.; DEZOTTI, M. **Farmácos no Meio Ambiente.** *Quimica Nova*, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.
- BLATT, J.; VAN LE, L.; WEINER, T.; SAILER, S. **Ovarian carcinoma in an adolescent with transgenerational exposure to diethylstilbestrol.** *J. Pediat. Hematol. Oncol.*, 25, p. 635-636, 2003.
- BRAGA, O; Smythe, G.A; Schäfer, A.I; Feitz, A.J. **Steroid estrogens in ocean sediments.** *Chemosphere*, v. 61, n. 6, p. 827–833, 2005.
- BRASIL. ABNT- ASSOCIACAO BRASILEIRA DE NORMAS TECNICAS. NBR 15308-2011: **Ecotoxicologia aquática - toxicidade aguda - método de ensaio com misídeos (Crustácea).** Sao Paulo: ABNT, p. 19, 2011.
- BUJAGIĆ, I. M.; GRUJIĆ, S.; JAUKOVIĆ, Z.; LAUSEVIĆ, M. **Sterol ratios as a tool for sewage pollution assessment of river sediments in Serbia.** *Environmental Pollution*, v.213, p. 76-83, 2016.
- BULL, I.D.; ELHMMALI, M.M.; ROBERTS, D.J.; EVERSHERD, R.P. **The application of steroidal biomarkers to track the abandonment of a Roman wastewater course at the Agora (Athens, Greece).** *Archaeometry*, 45, p. 149-61, 2003.
- BULL, I.D.; LOCKHEART, M.J.; ELHMMALI, M.M.; ROBERTS, D.J.; EVERSHERD, R.P. **The origin of faeces by means of biomarker detection.** *Environ Int*, 27, p. 647-54, 2002.
- CAMARGO, O. A.; MONIZ, A. C.; JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. **Métodos de Análise Química, Mineralógica e Física de Solos do Instituto Agronômico de Campinas.** Campinas, Instituto Agronomico, (Boletim técnico, 106, Edição revista e atualizada). p. 77, 2009.
- CANUEL, E. A. **Relations between river flow, primary production and fatty acid composition of particulate organic matter in San Francisco and Chesapeake Bays: a multivariate approach.** *Organic Geochemistry*, v. 32, p. 563-583, 2001.
- CARBALLEIRA, C.; RAMOS-GÓMEZ, J.; MARTÍN-DÍAZ, L.; DELVALLS, T.A. **Identification of specific malformations of sea urchin larvae for toxicity assessment: Application to marine pisciculture effluents.** *Marine Environmental Research*, Cádiz, v. 77,p.12-22, 2012.
- CARREIRA, R. S.; RIBEIRO, P. V.; SILVA, E. M.; FARIAS, C.O. **Hydrocarbons and sterols as indicators of source and fate of organic matter in sediments from Sepetiba Bay, Rio de Janeiro.** *Quim. Nova*, 32, p. 1805-1811, 2009.
- CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R.; READMAN, J. W. **Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): Space-time variations.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 60, n. 4, p. 587–598, 2004.
- CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L.R.; READMAN, J. W. **Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space–time**

- variations.** Estuarine, Coastal And Shelf Science, [s.l.], v. 60, n. 4, p.587-598, ago. Elsevier BV. 2004.
- CARREIRA, R.S.; ALBERGARIA-BARBOSA, A.C.R.; ARGUELHO, M.L.P.M.; GARCIA, C.A.B. **Evidence of sewage input to inner shelf sediments in the NE coast of Brazil obtained by molecular markers distribution.** Marine Pollution Bulletin, v. 90, n. 1–2, p. 312–316, 2015.
- CAVALCANTE, R.M; LIMA, D.M.; CORREIA, L.M.; NASCIMENTO, R.F. **Técnicas de extrações e procedimentos de *clean-up* para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em sedimentos da costa do Ceará.** Química Nova, v. 31, n. 6, p. 1371-1377, 2008.
- CHAN, K. H.; LAM, M. H. W.; POON, K. F.; YEUNG, H. Y.; CHIU, T. K. T. **Application of sedimentary fecal stanols and sterols in tracing sewage pollution in coastal waters.** Water Research, v. 32, n. 1, p. 225-235, 1998.
- CHAPMAN, P. M.; PAINE, M.D.; ARTHUR, A.D.; TAYLOR, L.A. **A triad study of sediment quality associated with a major, relatively untreated sewage discharge.** Marine Pollution Bulltin, 32, 47-64, 1996.
- CHEN, J. L.; WONG, M.H.; WONG, Y.S.; TAM, N.F.Y. **Modeling sorption and biodegradation of phenanthrene in mangrove sediment slurry.** Journal of Hazardous Materials, v. 190, n. 1-3, p. 409–415, 2011.
- COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a Métodos Cromatográficos.** 7ª ed., Editora da UNICAMP: Campinas, 1997.
- COLUCCI, M. S.; BORK, H. e TOPP, E. **Persistence of Estrogenic Hormones in Agricultural Soils: I. 17 $\beta$ -Estradiol and Estrone.** Journal Environmental Qual., v. 30, p. 2070 - 2076, 2001.
- COMREY, A.L.; LEE, H.B.A. **First Course in Factor Analysis. Second edition.** L. Erlbaum Associates, Hillsdale. 1992.
- CORDEIRO, L. G. M. S. **Esteróis como marcadores moleculares da contaminação fecal no sistema estuarino Iguaçú- Sarapuú, noroeste da Baía de Guanabara (RJ).** Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química. 169 f. 2006.
- CORNELISSEN, G., GUSTAFSSON, Ö., BUCHELI, T.D., JONKER, M.T.O., KOELMANS, A.A., VAN NOORT, P.C.M. **Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerogen in sediments and soils: mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation.** Environ. Sci. Technol. 39, 6881–6895, 2005.
- COSTA, C.R.; OLIVI, P.; BOTTA, C.M.R.; ESPINDOLA, L. G. **A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação.** Química Nova, 31(7): 1820-1830. 2008.
- DE LA ROSA, J.M. ; SÁNCHEZ GARCÍA, L.; DE ANDRÉS, J.R. ; GONZÁLEZ-VILA, F.J. ; González-Pérez, J.A.; Knicker, H. **Contribution of black carbon in recent sediments of the Gulf of Cadiz. Applicability of different quantification methodologies** Quat. Int., 243 , pp. 264-272, 2011.

- DENOUX, G. J.; GARDINALI, P.; WADE, T. L.; NOAA Technical Memorandum NOS ORCA, Rockville, 130, 129, 1998.
- DIAS, F.J.S. **Hidrodinâmica das descargas fluviais para o estuário do Rio Jaguaribe (CE)**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Ciências do Mar – LABOMAR, UFC, Fortaleza, 111p. 2007.
- FERNADES, G. M. **Caracterização de fontes de contaminação no semi-árido Cearense usando hidrocarbonetos de petróleo (Rio Acaraú - Ceará)**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceara, INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR, Programa de PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS. Fortaleza, 2016.
- FIGUEIREDO, D. ; SILVA, J. **Visão além do alcance: uma introdução à análise fatorial**. Campinas, vol. 16, nº 1, Junho, p. 160-185, 2010.
- FRENA, M.; SOUZA, M.R.R.; DAMASCENO, F.C.; MADUREIRA, L.A.S.; ALEXANDRE, M.R. **Evaluation of anthropogenic contamination using sterol markers in a tropical estuarine system of northeast Brazil**. *Marine Pollution Bulletin*, v. 109, n. 1, p. 619–623, 2016.
- FROEHNER, S.; MACHADO, K.S.; STEFAN, E.; BLENINGER, T.; da ROSA, E.C.; MARTINS, C.C. **Occurrence of selected estrogens in mangrove sediments**. *Marine Pollution Bulletin*, v. 64, n. 1, p. 75–79, 2012.
- FROEHNER, S.; MACHADO, K.S.; STEFAN, E.; BLENINGER, T.; da ROSA, E.C.; MARTINS, C.C. **Occurrence of selected estrogens in mangrove sediments**. *Marine Pollution Bulletin*, v. 64, n. 1, p. 75-79, 2012.
- FROEHNER, S.; MACHADO, K.S.; STEFAN, E.; BLENINGER, T.; da ROSA, E.C.; MARTINS, C.C. **Occurrence of selected estrogens in mangrove sediments**. *Marine Pollution Bulletin*, v. 64, n. 1, p. 75-79, 2012.
- FUNCEME. **Calendário das chuvas. Governo do Estado do Ceará**. 2016 <http://funceme.br/app/calendario/produto/regioes/media/anual?data=2012-1-1> <acessado em: 22 de dezembro 2017>
- FUNCEME. **Calendário das chuvas. Governo do Estado do Ceará**. 2016 <http://funceme.br/app/calendario/produto/regioes/media/anual?data=2012-1-1> <acessado em: 22 de dezembro 2017>
- GADD J.B., TREMBLAY L.A., NORTHCOTT G.L. **Steroid estrogens, conjugated estrogens and estrogenic activity in farm dairy shed effluents**. *Environ Pollut*,158:730–6. 2010.
- GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. **Interferentes endócrinos no meio ambiente**. *Quimica Nova*, v. 30, n. 3, p. 695–706, 2007.
- GHOSH, A.; MISRA, S.; DUTTA, A. K.; CHOUDHURY, A. **Pentacyclic triterpenoids and sterols from seven species of mangrove**. *Phytochemistry*, v. 24, n. 8, p. 1725-1727, 1985.
- GODOY, M.D.P. **Mudanças na Sedimentação no Estuário do Rio Jaguaribe (Ce) devido a mudanças nos usos do solo**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceara,

INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR, Programa de PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS. Fortaleza, 2011.

- GONG, P.; GUAN, X.; WITTER, E. **A rapid method to extract ergosterol from soil by physical disruption.** Applied Soil Ecology, v. 17, n. 3, p. 285-289, 2001.
- GONZALEZ-OREJA, J.A.; SAIZ-SALINAS, J.I. **Short-term spatio-temporal changes in urban pollution by means of faecal sterols analysis.** Mar. Pollut. Bull, 36, p. 868-875, 1998.
- GRILO, C. F.; Neto, R.R.; Vicente, M.A.; de Castro, E.V.R.; Figueira, R.C.L.; Carreira R.S. **Evaluation of the influence of urbanization processes using mangrove and fecal markers in recent organic matter in a tropical tidal flat estuary.** Applied Geochemistry, v. 38, p. 82–91, 2013.
- GRIMALT, J.O.; FERNANDES, P., BAYONA, J.M.; ALBALGÉS, J. **Assessment of Fecal Sterols and Ketones as Indicators of Urban Sewage Inputs to Coastal Waters.** Environmental Science and Technology, v.24, p. 357-362, 1990.
- GRIMALT, J.O.; FERNANDEZ, P.; BAYONA, P.; ALBAIGES, J. **Assessment of fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters.** Environmental Science & Technology, p. 357-363, 1990.
- GUO, X.; MIAO, Y.; YANG, C.; ZHANG, Q.; GAO, L.; HU, Y. **Sorption of tylosin on black carbon from different sources.** Volume 4, Issue 3, Pages 3393-3400, 2016.
- GUSTAFSSON, O.; HAGHSETA, F.; CHAN, C.; MACFARLANE, J.; GSCHWEND, P. M. **Quantification of the Dilute Sedimentary Soot Phase: Implications for PAH Speciation and Bioavailability.** Environmental Science Technology, vol. 31, p. 203- 209, 1997.
- HEALTH SCIENCES DESCRIPTORS: DeCS [Internet]. 2017ed. São Paulo (SP): BIREME / PAHO / WHO. 2017 [updated 2017 May 18; cited 2017 Jun 13]. Available from: <http://decs.bvsalud.org/I/homepagei.htm> > Acessado em: 22.12.2017
- HENRY, T. B.; KWON, J.; ARMBRUST, K. L.; BLACK, M. C. **Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*.** Environmental Toxicology And Chemistry, Athens, v. 23, n. 9, p.2229-2233, 2004.
- HOFFMANN, B.; PINHO, T. G. DE; SCHULER, G. **Endocrinology & Diabetes.** Exp Clin Endocrinol Diabetes, v. 109, p. 296–303, 1997.
- HUNG, C.C.; GONG, G. C.; CHEN, H. Y.; HSIEH, H. L.; SANTSCI, P. H.; WADE, T. L.; SERICANO J. L. **Relationships between pesticides and organic carbon fractions in sediments of the Danshui River estuary and adjacent coastal areas of Taiwan.** Environmental Pollution, v. 148, p. 546-554, 2007.
- INESP. Instituto de Estudos e Pesquisas para Desenvolvimento do Estado do Ceará. **Caderno Regional das sub-bacia Baixo Jaguaribe/ Conselho de Altos Estudos e Assuntos Estratégicos,** Assembleia Legislativa do Estado do Ceará. Fortaleza, v. 10, 104p. 2009a.



- INESP. Instituto de Estudos e Pesquisas para Desenvolvimento do Estado do Ceará. **Caderno Regional das sub-bacia Médio Jaguaribe** / Conselho de Altos Estudos e Assuntos Estratégicos, Assembleia Legislativa do Estado do Ceará. Fortaleza, v. 10, 102p. 2009b.
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO. **Orientações sobre validação de métodos de analíticos**. Revisão 04, DOQ-CGCRE-008. 2011.
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO). **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008**. 2003.
- ISOBE, K. O.; TARAO, M.; CHIEM, N. H.; MIN, L. Y.; TAKADA, H. **Effect of Environmental Factors on the Relationship between Concentrations of Coprostanol and Fecal Indicator Bacteria in Tropical (Mekong Delta) and Temperate (Tokyo) Freshwaters**. *Applied Environmental Microbiology*, v.70, p.814, 2004.
- JOHNSON A. C.; BELFROID A.; DI CORCIA A. **Estimating steroid oestrogen input into activated sludge treatment works and observation on their removal from the effluent**. *Science Total Environment*; v. 256; p.163- 173; 2000.
- JOHNSON E WILLIAMS. **A Model to Estimate Influent and Effluent Concentrations of Estradiol, Estrone, and Ethinylestradiol at Sewage Treatment Works**. *Environmental Sciences. Technology*, v. 38, p. 3649-3658, 2004.
- JOSS, A.; ANDERSEN, H.; TERNES, T.; RICHLE, P.R.; SIEGRIST, H. **Removal of estrogens in municipal wastewater treatment under aerobic and anaerobic conditions: consequences for plant optimization**. *Environ. Sci. Technol.*, v. 38, n. 11, p. 3047–55, 2004.
- Juergens, M.D., Williams, R.J., Johnson, A.C. **Fate and behavior of steroid oestrogens in rivers: a scoping study**. Environmental Agency Bristol, R D Technical Report, 161, 1999.
- KALAS, F. A. et al. **Molecular and isotopic characterization of the particulate organic matter from an eutrophic coastal bay in SE Brazil**. *Continental Shelf Research*, v. 29, n. 19, p. 2293–2302, 2009.
- KHANAL, S.K.; XIE, B.; THOMPSON, M.L.; SUNG, S.; ONG, S.K.; LEEUWEN, V. **Fate, Transport, and Biodegradation of Natural Estrogens in the Environment and Engineered Systems**. *Environmental Science e Technology*, v. 40, n. 21, p. 6547-6556, 2006.
- KINANI, S.; Bouchonnet, S.; Bourcier, S.; Creusot, N.; Porcher, J.M.; Aït-Aïssa, S. **Extraction and purification procedures for simultaneous quantification of phenolic xenoestrogens and steroid estrogens in river sediment by gas chromatography/ion trap mass spectrometry**. *Rapid Commun. Mass Spectrom*, v. 22, p. 3651–3661, 2008.
- KUMAR, A.; WILLIAMS, M.; WOODS, M.; KOOKANA, R.; BARBER, L.; VAJDA, A.; DOAN, H.; GREGG, A.; GONZAGO, D.; BAIN, P. **Treated effluent in the aquatic environment: impact assessment of endocrine disrupting chemicals**. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Water for a Healthy Country National Research Flagship South Victoria, Australia, 2012.

- LAMAS, F.; IRIGARAY, C.; OTEO, C.; CHACON, J. **Selection of the most appropriate method to determine the carbonate content for engineering purposes with particular regard to marls.** *Engineer geologist*, v. 81, p. 32-41, 2005.
- LANÇAS, F. **Validação de métodos cromatográficos de análise.** São Paulo: Editora RiMa, p. 9-28. 2004.
- LARSSON, D. G. J.; ADOLFSSON-ERICI, M.; PARKKONEN, J.; PETTERSSON, M.; BERG, A. H.; OLSSON, P. E.; FORLIN, L. **Ethinylestradiol – an undesired fish contraceptive?** *Aquatic Toxicology*, v. 45, p. 91-97, 1999.
- LAURENSEN, J.P., BLOOM, R.A., PAGE, S., SADRIEH, N. **Ethinylestradiol and other human pharmaceutical estrogens in the aquatic environment: a review of recent risk assessment data.** *AAPS J.* 16, 299–310. 2014.
- LEEMING, R.; NICHOLS, P.D. **Concentrations of coprostanol that correspond to existing bacterial indicator guideline limits.** *Water Research*, [s.l.], v. 30, n. 12, p.2997-3006, dez. 1996.
- LIEBEZEIT, G.; WOSTMANN, R. **Coprostanol in Siak River Sediments, Sumatra, Indonesia.** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 85, n. 6, p. 585-588, 2010.
- LIGIERO, C.B.P.; REIS, L.A.; PARRILHA, G.L; BATISTA FILHO, M.; CANELA, M.C. **Comparação entre métodos de quantificação em cromatografia gasosa: um experimento para cursos de química.** *Quím. Nova* [online]. vol.32, n.5, pp. 1338-1341. ISSN 0100-4042. 2009.
- LIMA, Marcielly Freitas Bezerra de. **Esteróis e disruptores endócrinos em sedimentos como indicadores da contaminação no rio Acaraú-ce.** 2016. 86f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.
- LINTELMANN, J.; KATAYAMA, A.; KURIHARA, N.; SHORE, L.; WENZEL, A. **Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report).** *Pure and Applied Chemistry*, v. 75, n. 5, p. 631–681, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1351/pac200375050631>.
- LOHMANN, R., BOLLINGER, K., CANTWELL, M., FEICHTER, J., FISCHER-BRUNS, I., ZABEL, M. **Fluxes of soot black carbon to South Atlantic sediments.** *Global Biogeochemical Cycles* **23**, GB1015. 2009. doi:10.1029/2008GB003253.
- LOPES, L. G. ; MARCHI, M. R. R.; SOUZA, J. B. G.; MOURA, J. A. ; LORENZON, C. S.; CRUZ, C.; AMARAL, L. A. **Estrogênios em águas naturais e tratadas da região de Jaboticabal - São Paulo.** *Química Nova*, v. 33, n. 3, p. 639–643, 2010.
- LOTUFO, G. R., ABESSA, D. M. S. **Testes de toxicidade com sedimentos total e água intersticial estuarinos utilizando copépodos bentônicos.** In: Nascimento, I.A.; Sousa, E.C.P.M.; Nipper, M.G. Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil. Artes Gráficas e Indústria Ltda, São Paulo, cap.13, 151-162. 2002.
- LOTUFO, G.R., Abessa, D.M.S., **Testes de toxicidade com sedimentos total e água intersticial estuarinos utilizando copépodos bentônicos.** In: NASCIMENTO, I.A.; SOUZA, E.C.P.M.,

- NIPPER, M.G. (ed)., Métodos em Ecotoxicologia Marinha: Aplicações no Brasil. São Paulo: Artes Gráficas e Indústria Ltda, p. 151-162. 2002.
- LUO, L.; CUI, X.; WU, B.; HOU, J.; XUN, B. ; XU, X.; CHEN, Y. **Sorption and desorption of pentachlorophenol to black carbon of three different origins**. J. Hazard. Mater. 185, 639–646. 2011.
- LUZ , L. G. ; CARREIRA, R. S.; FARIAS, C. O.; SCOFIELD , A DE L.; NUDI, A. H.; WAGENER, A. de L.R. **Trends in PAH and black carbon source and abundance in a tropical mangrove system and possible association with bioavailability**. Organic Geochemistry 41, 1146–1155, 2010.
- LUZ, L. G. **Investigação sobre o Carbono Negro em Sedimentos da Baía de Guanabara e Manguezais: Distribuição e Influência na Sorção de HPAs**. Dissertação de Mestrado, Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, 2007.
- MACHADO, K. S. **Determinação de hormônios sexuais femininos na Bacia do Alto Iguaçu, região metropolitana de Curitiba-PR**. 116p. Dissertação de Mestrado. Departamento de Recursos Hídricos e Ambiental. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2010.
- MAIA, L.P.; CAVALCANTE, M.D.; MIRANDA, P.T.C. **Zoneamento Ecológico-Econômico do Ceará. Fortaleza**. SEMACE. Vol. 01. 2006.
- MARANHO, L.A.; ANDRÉ, C.; DELVALLS, T.A.; GAGNÉ, F.; MARTÍN-DÍAZ, M.L. **Toxicological evaluation of sediment samples spiked with human pharmaceutical products: Energy status and neuroendocrine effects in marine polychaetes *Hediste diversicolor***. Ecotoxicology and Environmental Safety, 118:27–36. 2015b.
- MARANHO, L.A.; GARRIDO-PÉREZ, M.C.; DELVALLS, T.A.; MARTÍN-DÍAZ, M.L. **Suitability of Standardized Acute Toxicity Tests for Marine Sediment Assessment: Pharmaceutical Contamination**. Water Air Soil Pollut, 226:65. 2015a.
- MARTINS, C. C.; BÍCEGO, M.C.; FIGUEIRA, R.C.L.; J. L. F. ANGELLI; COMBI, T.; GALLICE, W. C.; MANSUR, A. V.; NARDES, E.; ROCHA, M.L.; WISNIESKI, E.; CESCHIM, L. M.M.; RIBEIRO, A.P. **Multi-molecular markers and metals as tracers of organic matter inputs and contamination status from an Environmental Protection Area in the SW Atlantic (Laranjeiras Bay, Brazil)**. Science of the Total Environment, v. 417–418, p. 158–168, 2012.
- MARTINS, C. C.; Braun, J. A.F.; Seyffert, B. H.; Machado, E.C.; Fillmann, G. **Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system, Brazil)**. Marine Pollution Bulletin. Vol. 60, n. 11, Pages 2137-2143, 2010.
- MARTINS, C. C.; FERREIRA, J. A.; TANIGUCHI, S.; MAHIQUES, M. M.; BICEGO, M. C.; MONTONE, R. C. **Spatial distribution of sedimentary linear alkylbenzenes and faecal steroids of Santos Bay and adjoining continental shelf, SW Atlantic, Brazil: origin and fate of sewage contamination in the shallow coastal environment**. Marine Pollution Bulletin, v. 56, n.7, p. 1359-1363, 2008.

- MARTINS, C. de C.; GOMES, F. B. A.; FERREIRA, J. A.; MONTONE, R.C. **Marcadores orgânicos de contaminação por esgotos sanitários em sedimentos superficiais da baía de Santos, São Paulo.** Quím. Nova [online], vol.31, n.5, 2008.
- MARTINS, C.C.; BÍCEGO, M.C.; FILGUEIRA, R.C.L.; ANGELLI, J.L.F.; COMBI, T.; GALLICE, W.C.; MANSUR, A.V.; NARDES, E.; ROCHA, M.; WISNIESKI, E.; CESCHIM, L. M.M.; RIBEIRO, A.P. **Multi-molecular markers and metals as tracers of organic matter inputs and contamination status from an Environmental Protection Area in the SW Atlantic (Laranjeiras Bay, Brazil).** Science of the Total Environment, v. 417–418, p. 158–168, 2012.
- MARTINS, C.C.; FILLMANN, G.; MONTONE, R.C. **Natural and anthropogenic sterols inputs in surface sediments of Patos Lagoon, Brazil.** J. Braz. Chem. Soc. 18, 106–115, 2007.
- MATER, L.; ALEXANDRE, M.R.; HANSEL, F.A.; MADUREIRA, L.A.S. **Assessment of lipid compounds and phosphorus in mangrove sediments of Santa Catarina Island, SC, Brazil.** J. Braz. Chem. Soc., São Paulo , v. 15, n. 5, p. 725-734, 2004.
- MATIĆ, I., GRUJIĆ, S., JAUKOVIĆ, Z., LAUŠEVIĆ, M. **Trace analysis of selected hormones and sterols in river sediments by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry.** J. Chromatogr. A 1364, 117–127, 2014.
- MAUAD, C.R., WAGENER, A.D.L.R., FARIAS, C.D.O., RUIZ, N.M.S., CARREIRA, R.S., VASCONCELOS, C., GODOY, J.M., MENEZES, S.M.C.D., SCOFIELD, A.D.L. **Reconstructing historical changes in combustion patterns by means of black carbon and PAH evaluation in dated sediments from Guanabara bay, Rio de Janeiro.** J. Braz. Chem. Soc. 24, 1818–1831, 2013.
- MCNAIR, H. M.; MILLER, J. M.; **Basic Gas Chromatography.** John Wiley & Sons, Inc.: Nova Iorque, 1998.
- MIOLA, Brígida. **Caracterização geoquímica e mineralógica dos sedimentos do manguezal do estuário do Rio CoreaÚ, Ceara- Brasil.** Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceara, Instituto de Ciências do Mar, Fortaleza - CE, 87 f. 2013.
- MONTONE, R. C.; MARTINS, C. C.; BICEGO, M. C.; TANIGUCHI, S.; DA SILVA, D. A.M.; CAMPOS, L. S.; WEBER, R. R. **Distribution of sewage input in marine sediments around a maritime Antarctic research station indicated by molecular geochemical indicators.** Science of the total environment, v. 408, n. 20, p. 4665-4671, 2010.
- MORAIS, L.G. **Toxicidade de Sedimentos Contaminados com Clorotalonil em Laboratório sobre Organismos Marinhos.** Dissertação de Mestrado (Análise Ambiental Integrada) - Universidade Federal de São Paulo - Campus Diadema. 57 f. 2016. CDD 571.95
- MORSE, J. **Formation and diagenesis of carbonate sediments.** Treatise on geochemistry, v. 7, p. 67-85, 2003.
- MUDGE, S. M.; BEBIANNO, M. J. **Sewage contamination following in a accidental spillage in the Ria Formosa, Portugal.** Marine Pollution Bulletin, v. 34, n. 3, p. 163-170, 1997.

- MUNIZ P, PIRES-VANIN AMS, MARTINS CC, MONTONE RC, BÍCEGO MC. **Trace metals and organic compounds in the benthic environment of a subtropical embayment (Ubatuba Bay, Brazil)**. Mar Pollut Bull; 52:1090–117. 2006.
- MUNIZ, P., VANIN, A.M.S.P., MARTINS, C.C., MONTONE, R.C., BÍCEGO, M.C. **Trace metals and organic compounds in the benthic environment of a subtropical embayment (Ubatuba Bay, Brazil)**. Marine Pollution Bulletin 52, 1090–1117. 2006.
- OLIVEIRA, A. H. B. **Avaliação Ambiental e Forma de Transporte de Agrotóxicos Organoclorados no Rio Jaguaribe-Ce**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Ceara, INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR, Programa de PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS. Fortaleza, 2012.
- OLIVEIRA, A. H. B.; CAVALCANTE, R. M.; DUAVÍ, W. C.; FERNANDES, G. M.; NASCIMENTO, R. F.; QUEIROZ, M. E. L. R.; MENDONÇA, K. V. **The legacy of organochlorine pesticide usage in a tropical semi-arid region (Jaguaribe River, Ceará, Brazil): Implications of the influence of sediment parameters on occurrence, distribution and fate**. Science of the Total Environment, v. 542, p. 254–263, 2016.
- ORLANDO, E.F.; KOLOK, A.S.; BINZCIK, G.A.; GATES, J.L.; HORTON, M.K.; LAMBRIGHT, C.S.; GRAY, L.E.; SOTO, A.M.; GUILLETTE, L.J. **Endocrine-disrupting effects of cattle feedlot effluent on an aquatic sentinel species, the fathead minnow**. Environ. Health Persp. 112, p. 353-358, 2004.
- ORLANDO, E.F.; KOLOK, A.S.; BINZCIK, G.A.; GATES, J.L.; HORTON, M.K.; LAMBRIGHT, C.S.; GRAY, L.E.; SOTO, A.M.; GUILLETTE, L.J. **Endocrine-disrupting effects of cattle feedlot effluent on an aquatic sentinel species, the fathead minnow**. Environ. Health Persp. 112, p. 353-358, 2004.
- PAL, A., GIN, K.Y.-H., LIN, A.Y.-C., REINHARD, M. **Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects**. Sci. Total Environ. 408, 6062–6069, 2010.
- PAN, G.; YOU, C. **Sediment-water distribution of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in Yangtze River Estuary**. Environmental Pollution, vol. 158, n. 5, p. 1363-1367, 2010.
- PANTALENA, A. F.; MAIA, L. P. **Marcas da ação antrópica na história ambiental do Rio Jaguaribe, Ceará, Brasil**. Rev Gestão Costeira Integr, Lisboa, v. 14, n. 3, p. 459-470, 2014.
- PATTON D.; REEVES A.D. **Sterol concentrations and temporal variations on the north shore mudflats of the firth of Tay, Scotland**. Mar Pollut Bull, v. 38, n. 7, p. 613-618, 1999.
- PAULA, D. P., MORAIS, J. O., PINHEIRO, L. S. **Análise geoambiental do estuário do rio jaguaribe-ce: tensores naturais e antrópicos**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE GEOMORFOLOGIA/REGIONAL CONFERENCE ON GEOMORPHOLOGY, Goiânia, 2006. Disponível em: <<http://www.labogef.iesa.ufg.br/links/sinageo/articles/245.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2016.
- PEREIRA, G.R.; CUELLAR, M.D.Z. **Conflitos pela água em tempos de seca no Baixo Jaguaribe, Estado do Ceará**. Estudos Avançados 29 (84), 2015. DOI: 10.1590/S0103-40142015000200008

- PIMENTEL, M.F., DAMASCENO, É.P., JIMENEZ, P.C., ARAÚJO, P.F.R., BEZERRA, M.F., DE MORAIS, P.C.V., CAVALCANTE, R.M., LOUREIRO, S. AND LOTUFO, L.V.C. **Endocrine disruption in *Sphoeroides testudineus* tissues and sediments highlights contamination in a northeastern Brazilian estuary.** *Environ. Monit. Assess.* 188, 1-13, 2016.
- PRATT, C. **Investigations into faecal sterols and *E. coli* as indicators of sewage and non-sewage inputs into a subtropical estuarine embayment system in South Eastern QLD, Australia.** Queensland, 2005. Tese (Doctor of Philosophy) – Department of Environmental and Applied Sciences, Griffith University.
- PRATT, C.; WARNKEN, J.; LEEMING, R.; ARTHUR, M. J.; GRICE, D. I. **Degradation and responses of coprostanol and selected sterol biomarkers in sediments to a simulated major sewage pollution event: A microcosm experiment under sub-tropical estuarine conditions.** *Organic Geochemistry*, v. 39, n. 3, p. 353-369, 2008.
- PRATT, C.; WARNKEN, J.; LEEMING, R.; ARTHUR, M.J.; GRICE, D.I. **Degradation and responses of coprostanol and selected sterol biomarkers in sediments to a simulated major sewage pollution event: A microcosm experiment under subtropical estuarine conditions.** *Organic Geochemistry* 39, p. 353-369, 2008.
- Quantification of the Dilute Sedimentary Soot Phase: Implications for PAH Speciation and Bioavailability** *Environ. Sci. Technol.*, 37, 203 - 209, 1997.
- RADA, J. P.A.; DUARTE, A. C.; PATO, P.; CACHADA, A.; CARREIRA, R. S. **Sewage contamination of sediments from two Portuguese Atlantic coastal systems, revealed by fecal sterols.** *Marine Pollution Bulletin*, v. 103, N. 1-2, p. 319–324. 2016.
- RAMAN D.R.; WILLIAMS E.; LAYTON A.C.; BURNS R.; EASTER J.P.; DAUGHERTY A.; MULLEN M.; SAYLER G. **Estrogen Content of Dairy and Swine Wastes.** *Environmental Science Technology*, v 38, p. 3567-3573, 2004.
- 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, p. 771-780, 2004.
- ROSENFELD, R.S.; GALLAGHER, T.F. **Further studies of the biotransformation of cholesterol to coprostanol.** *Steroids*, [s.l.], v. 4, n. 4, p.515-520, out. 1964.
- SAEED, T.; AL-BLOUSHI, A.; ABDULLAH, H. I.; AL-KHABBAZ, A.; JAMAL, Z. **Preliminary assessment of sewage contamination in coastal sediments of Kuwait following a major pumping station failure using fecal sterol markers.** *Aquatic Ecosystem Health & Management*, v.15, edição especial: SI (suplemento1), p. 25-32, 2012.
- SALIOT, A.; LAUREILLARD, J.; SCRIBE, P.; SICRE, M. A. **Evolutionary trends in the lipid biomarker approach for investigating the biogeochemistry of organic matter in the marine environment.** *Marine Chemistry*, v. 36, n. 1-4, p. 233- 248, 1991.
- SANGSTER, J.L. ; ZHANG, Y. ; HERNANDEZ, R. ; GARCIA, Y.A. ; SIVILS, J.C. ; COX, M.B. ; SNOW, D.D.; KOLOK, A.S. ; BARTELT-HUNT, S.L. **Bioavailability and fate of sediment-associated trenbolone and estradiol in aquatic systems.** *Sci. Total Environ.*, 496, pp. 576-584. 2014.

- SCHOLZ, S. & GUTZEIT, H.O. 2000. **17- $\alpha$ -ethinylestradiol affects reproductive, sexual differentiation and aromatase gene expression of the medaka (*Oryzias latipes*)**. *Aquat Toxicol.*, 50:363–73p. 2000.
- SEYFFERT, B. H. **Distribuição e identificação das principais fontes naturais e antrópicas de hidrocarbonetos Estuarino de Paranaguá (Paraná, BR)**. Tese de Doutorado da Universidade Federal do Rio Grande, 2008.
- SHAH, V. G.; HUGH DUNSTAN, R.; GEARY, P. M.; COOMBES, P.; ROBERTS, T. K.; VON NAGY-FELSOBUKI, E. **Evaluating potential applications of faecal sterols in distinguishing sources of faecal contamination from mixed faecal samples**. *Water Research*, v. 41, n. 16, p. 3691-3700, 2007.
- SHAREEF, A., ANGOVE, M.J., WELLS, J.D., JOHNSON, B.B. **Aqueous solubilities of estrone, 17 $\beta$ -estradiol, 17 $\alpha$ -ethinylestradiol, and bisphenol A**. *J. Chem. Eng. Data* 51, 879–881, 2006.
- SILVA, A. Q.da. ***Sarcocornia ambigua* (Michx) NA FITORREMEDIAÇÃO DE EFLUENTES DE FAZENDA DE CARCINICULTURA**. Dissertação (mestrado acadêmico). Universidade Estadual do Ceará. 2015.
- SOARES, T. C. M. **AVALIAÇÃO DO HISTÓRICO DE IMPACTOS ANTRÓPICOS NA BACIA DE DRENAGEM DA LAGOA DE PARANGABA (FORTALEZA – CE) COM BASE NOS ESTOQUES DE METAIS PESADOS E COMPOSTOS ORGÂNICOS EM SEDIMENTO LACUSTRE**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Ceara, INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR, Programa de PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS. Fortaleza, 2016.
- SODRÉ, F. F., MONTAGNER, C.C., LOCATELLI, M.A.F., JARDIM, W.F. **Ocorrência de Interferentes Endócrinos e Produtos Farmacêuticos em Águas Superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil)**. p. 187–196, 2007.
- SUGUIO, K. **Introdução a Sedimentologia**. Editora Edgard Blucher Lt-EDUSP, Sao Paulo, 1973.
- SUN, W.L. ; NI, J.R. ; XU, N.; SUN, L.Y. **Fluorescence of sediment humic substance and its effect on the sorption of selected endocrine disruptors**. *Chemosphere* 66, 700–707, 2007.
- TAKADA, H.; EGANHOUSE, R. P. **Molecular markers of anthropogenic waste**. In: **Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation**. Meyers, R. A., Ed. John Wiley e Sons; New York, p. 2883-2940, 1998.
- TAKADA, H.; EGANHOUSE, R. P. **Molecular markers of anthropogenic waste**. In: **Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation**; Meyers, R. A., Ed. John Wiley e Sons; New York, p. 2883-2940, 1998.
- TERNES, T.A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R.D.; SERVOS, M. **Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-I: investigations in Germany, Canada and Brazil**. *Sci. Total Environ.*, 225, p. 81-90, 1999.
- TERNES, T.A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R.D.; SERVOS, M. **Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants-I: investigations in Germany, Canada and Brazil**. *Sci. Total Environ.*, 225, p. 81-90, 1999.

- TETREAULT, G.R.; BENNETT, C.J.; SHIRES, K.; KNIGHT, B.; SERVOS, M.R.; MCMASTER, M.E. **Intersex and reproductive impairment of wild fish exposed to multiple municipal wastewater discharges.** *Aquat. Toxicol.*, 104, pp. 278-290, 2011.
- THOMPSON, B.; ANDERSON, B.; HUNT, J.; TABERSKI, K.; PHILLIPS, B. **Relationships between sediment contamination and toxicity.** *Marine Environmental Research*, v. 48, p. 285–309, 1999.
- TREMBLAY, L.; KOHL, S.D.; RICE, J.A.; GAGNE, J.P. **Effects of temperature, salinity, and dissolved humic substances on the sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to estuarine particles.** *Marine Chemistry*, v. 96, n. 1-2, p. 21-34, 2005.
- TSE, T.J. ; CODLING, G.; JONES, P.D.; THOMS, K., LIBER, K.; GIESY, J.P., WHEATER, H.; DOIG, L.E. **Reconstructing long-term trends in municipal sewage discharge into a small lake in northern Manitoba, Canada.** *Chemosphere*, 103, 299–305, 2014.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. EPA/821/R-02/014: **Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to marine and estuarine organisms.** Cincinnati: USEPA. 464 p, 2002.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency. Method 550.1 – **Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in drinking water by liquid – solid extraction and HPLC with coupled ultraviolet and fluorescence detection, Cincinnati, Ohio, 1990.**
- VECCHIATO, M.; ZAMBON, S.; ARGIRIADIS, E.; BARBANTE, C.; GAMBARO, A.; PIAZZA R. **Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Antarctic ice-free areas: Influence of local sources on lakes and soils.** *Microchemical Journal*, 120, p. 26-33, 2014.
- VOLKMAN, J. K. **Sterols and other triterpenoids: source specificity and evolution of biosynthetic pathways.** *Organic Geochemistry*, v. 36, p. 139-159, 2005.
- VOLKMAN, J. K.; BARRET, S. M.; BLACKBURN, S. I.; MANSOUR, M. P.; SIKES, E. L.; GELIN, F. **Microalgal biomarkers: a review of recent research developments.** *Organic Geochemistry*, v. 29, n. 5-7, p. 1163-1179, 1998.
- VOLKMAN, J.K. **A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter.** *Organic Geochemistry*, v. 9, n. 2, p. 83-99, 1986.
- WRITER, J.H.; LEENHEER, J.A.; BARBER, L.B.; AMY, G.L.; CHAPRA, S.C. **Sewage contamination in the upper Mississippi river as measured by the faecal sterol, coprostanol.** *Water Res*, 29, p. 1427-36, 1995.
- XUAN, R., BLASSENGALE, A.A., WANG, Q. **Degradation of estrogenic hormones in a silt loam soil.** *J. Agric. Food Chem.* 56, 9152–9158. 2008.
- YING, G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y. **Occurrence and fate of hormone steroids in the environment.** *Environment International*, v.28, p.545-551, 2002.
- YING, G.; KOOKANA, R.; RU, Y. **Occurrence and fate of hormone steroids in the environment.** *Environment international*, v. 28, n. 6, p. 545-551, 2002.



- YOU, C.; JIA, C.; PAN, G. **Effect of salinity and sediment characteristics on the sorption and desorption of perfluorooctane sulfonate at sediment-water interface.** Environmental pollution (Barking, Essex : 1987), v. 158, n. 5, p. 1343–7, 2010.
- ZHANG, X.; LI, Q.; LI, G.; WANG, Z.; YAN, C. **Levels of estrogenic compounds in Xiamen Bay sediment, China.** Marine pollution bulletin, v. 58, n. 8, p. 1210-1216, 2009.
- ZHENG W.; YATES S.R.; BRADFORD S.A. **Analysis of Steroid Hormones in a Typical Dairy Waste Disposal System. Environmental. Science. Technology.** V.42, p.530–535, 2008.
- ZUO, Y., ZHANG, K., ZHOU, S. **Determination of estrogenic steroids and microbial and photochemical degradation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol (EE2) in lake surface water, a case study.** Environ. Sci. Proc. Impacts, 15, 1529–1535, 2013

## APÊNDICES

Apêndice A - Tabela de Padrões usados na otimização do método de extração e *clean up*

Analytes	Purity (%)	CAS	Source
<b>Pesticide</b>			
Atrazine (ATRA)	97,3	1912-24-9	Sigma-aldrich
Cipermethrin (CIPER)	97,6	52315-07-8	
Malathion (MALA)	99,0	121-75-5	
Chlorpyrifos (CHLORP)	100	2921-88-2	AccuStandard
Deltmethrin (DELT)	98,7	52918-63-5	
Bifenthrin (BIFE)	99,6	82657-04-3	
Cyfluthrin (CYFLU)	99,5	68359-37-5	
Ametryn (AMET)	100	834-12-8	
Metolachlor (METO)	96,4	51218-45-2	
Methyl parathion (MET PAR)	97,8	298-00-0	
Permethrin (PERM)	99,6	52645-53-1	
Propanil (PROP)	100	709-98-8	
p-Terphenyl-d14 (Internal standard)		1718-51-0	Sigma-Aldrich
<b>HPAs</b>			
Acenaphthene-d10 (ACE-d10) (Surrogate standard)	97,7	15067-26-2	Sigma-Aldrich
Chrysene-d12 (CHRY-d12) (Surrogate standard)	99,9	1719-03-5	
Perylene-d12 (PERY-d12) (Surrogate standard)	99,9	1520-96-3	
Phenanthrene-d10 (PHE-d10) (Surrogate standard)	99,4	1517-22-2	
p-Terphenyl-d14 (Internal standard)		1718-51-0	Sigma-Aldrich
<b>Sterols</b>			
Coprostanol (COP)	≥98	360-68-9	Sigma-aldrich
Cholesterol (CHOL)	97,7	57-88-5	
Cholestanol (CHOLN)	99,6	80-97-7	
Ergosterol (ERG)	97	57-87-4	
Campesterol (CAM)	95,5	83-48-7	
Stigmasterol (STIG)	99,9	83-46-5	
<b>Hormones</b>			
Estrone (E1)	99	53-16-7	Absolute Standard, Inc
17 $\alpha$ - Estradiol ( $\alpha$ - E2)	99	57-91-0	
17 $\beta$ - Estradiol ( $\beta$ - E2)	97	00050-28-2	
Estriol (E3)	97	00050-27-1	
17 $\alpha$ -Ethinylestradiol (EE2)	99,4	57-63-6	Sigma-Aldrich
Diethylstilbestrol (DES)	99,9	56-53-1	
Dienestrol (DIE)	98,1	84-17-3	
Mestranol (MES)	99,5	72-33-3	
5 $\alpha$ - Colestane (Internal standard)	99,9	481-21-0	Sigma - Aldrich
Estrone- 2,4d2 (Surrogate standard)	≥99	350820-16-5	CDN Isotopes
Androstanol (Surrogate standard)	≥97,5	1224-92-6	Sigma - Aldrich

**Apêndice B - Parâmetros medidos em campo**

	<b>pH</b>	<b>Salinidade</b>
<b>PJ1</b>	6	0
<b>PJ2</b>	6	0
<b>PJ3</b>	6	0
<b>PJ4</b>	6	0
<b>PJ5</b>	6	0
<b>PJ6</b>	6	0
<b>PJ7</b>	6	0
<b>PJ8</b>	6	0
<b>PJ9 / TJ1</b>	7	0
<b>PJ10</b>	7	20
<b>PJ11</b>	7	25
<b>PJ12</b>	7	28
<b>PJ13 / TJ2</b>	7	37
<b>PJ14</b>	7	38
<b>PJ15</b>	7	35

**Apêndice C - Concentrações Esteróis sedimento superficial**

<b>Amostra</b>	<b>Concentrações (ng/g)</b>						<b>Est Totais</b>
	<b>COP</b>	<b>COL</b>	<b>COLN</b>	<b>ERG</b>	<b>ESTIG</b>	<b>B-SITO</b>	
PJ1	15,04	4,90	1,37	609,42	26,34	5,50	662,57
PJ2	22,72	24,85	141,16	39,28	433,06	3,76	664,82
PJ3	16,29	2,19	1,27	64,90	509,07	17,31	611,02
PJ4	41,67	145,86	53,72	41,57	1502,28	27,64	1812,76
PJ5	18,72	99,21	36,13	197,42	1043,19	61,03	1455,69
PJ6	2,23	1,47	1,49	0,21	1,44	0,45	7,29
PJ7	14,33	19,02	2,73	116,40	468,62	8,63	629,73
PJ8	35,53	1323,35	94,49	422,53	1022,46	626,79	3525,15
PJ9	70,64	43,01	24,78	74,23	251,76	36,46	500,87
PJ10	39,59	417,16	138,65	196,29	1345,91	43,07	2180,67
PJ11	54,49	297,68	36,13	277,00	703,00	25,13	1393,44
PJ12	4,90	1129,90	2,19	145,86	99,21	1,47	1383,52
PJ13	42,72	299,86	88,30	83,20	936,92	30,53	1481,52
PJ14	475,07	1187,00	798,18	754,44	960,59	856,12	5031,40
PJ15	51,66	323,85	47,35	280,40	1120,96	31,73	1855,95

Continuação – Apêndice C

Amostra	Razões diagnósticos			
	COP/(COP + COLN)	COP/COL	COP/COLN	COP/(COLN + COL)
PJ1	0,92	3,07	10,99	2,40
PJ2	0,14	0,91	0,16	0,14
PJ3	0,93	7,44	12,79	4,70
PJ4	0,44	0,29	0,78	0,21
PJ5	0,34	0,19	0,52	0,14
PJ6	0,60	1,51	1,50	0,75
PJ7	0,84	0,75	5,24	0,66
PJ8	0,27	0,03	0,38	0,03
PJ9	0,74	1,64	2,85	1,04
PJ10	0,22	0,09	0,29	0,07
PJ11	0,60	0,18	1,51	0,16
PJ12	0,69	0,00	2,24	0,00
PJ13	0,33	0,14	0,48	0,11
PJ14	0,37	0,40	0,60	0,24
PJ15	0,52	0,16	1,09	0,14

## Apêndice D - Concentrações hormônios sedimento superficial

Amostra	Concentrações (ng/g)							
	DES	DIE	MES	EE2	17aE2	17bE2	E1	E3
PJ1	267,31	17,81	65,82	112,25	66,45	5,48	58,68	1011,88
PJ2	58,89	2,68	210,80	173,19	3,39	3,39	18,14	92,82
PJ3	327,74	5,66	1787,00	102,00	108,05	14,16	27,51	120,32
PJ4	312,27	23,00	133,85	138,47	129,95	18,08	33,93	261,33
PJ5	558,34	27,91	1785,19	609,71	175,28	18,00	89,92	291,26
PJ6	406,00	0,00	257,74	69,70	138,26	10,82	8,05	350,08
PJ7	291,53	4,68	1797,35	63,04	65,52	25,45	0,00	91,47
PJ8	16,72	1,20	53,65	198,54	1,28	1,28	1,99	93,73
PJ9	593,76	15,89	1960,98	162,01	126,77	9,36	76,85	960,98
PJ10	374,92	10,81	1612,52	116,98	133,10	29,03	81,28	168,85
PJ11	287,08	9,82	268,40	97,92	150,31	11,89	45,48	217,34
PJ12	557,64	121,41	1176,86	204,84	65,90	2,65	0,00	152,52
PJ13	200,92	4,39	1232,33	524,21	226,00	15,17	0,00	141,54
PJ14	556,95	23,94	1657,58	240,42	203,54	19,29	49,51	273,09
PJ15	225,19	10,07	217,70	97,05	142,02	8,35	25,76	203,07

## Apêndice E - Caracterização da composição química dos testemunhos do rio Jaguaribe

<b>Frações dos Testemunhos</b>	<b>MO(%)</b>	<b>CO(%)</b>	<b>AH (%)</b>	<b>AF (%)</b>
TJ1 05cm	2,96	1,72	0,03	0,15
TJ1 10cm	2,39	1,38	0,04	0,02
TJ1 15cm	4,91	2,84	0,20	0,16
TJ1 20cm	5,11	2,96	0,14	0,13
TJ1 25cm	5,38	3,12	0,23	0,18
TJ1 30cm	2,03	1,18	0,05	0,04
TJ1 35cm	0,95	0,55	0,03	0,02
TJ1 40cm	0,65	0,38	0,00	0,01
TJ1 45cm	5,48	3,18	0,11	0,11
TJ1 50cm	3,47	2,01	0,06	0,04
TJ2 10cm	ND	ND	ND	ND
TJ2 15cm	0,51	0,30	0,02	0,06
TJ2 20cm	2,08	1,21	0,08	0,14
TJ2 25cm	1,90	1,11	0,02	0,13
TJ2 30cm	1,46	0,85	0,02	0,13
TJ2 35cm	1,48	0,86	0,06	0,12
TJ2 40cm	1,76	1,02	0,06	0,06
TJ2 45cm	0,69	0,40	0,02	0,02
TJ2 50cm	0,42	0,24	0,01	0,03
TJ2 55cm	0,42	0,25	0,01	0,03

Fonte: Autora

## Apêndice F – Concentrações (ng/g) esteróis e hormônios estrógenos no testemunho 1 - TJ1

<b>Prof. (cm)</b>	<b>HORMÔNIOS ESTRÓGENOS</b>							
	<b>DES</b>	<b>DIE</b>	<b>MES</b>	<b>EE2</b>	<b>17aE2</b>	<b>17bE2</b>	<b>E1</b>	<b>E3</b>
<b>5</b>	129,25	25,24	124,87	210,25	37,13	4,76	228,86	332,65
<b>10</b>	ND	15,26	10,54	308,37	29,35	30,13	20,78	321,75
<b>15</b>	176,12	5,34	74,90	90,43	6,41	46,78	15,84	484,45
<b>20</b>	17,88	6,77	23,70	239,81	29,79	0,22	5,91	65,59
<b>25</b>	113,27	0,50	49,30	195,11	35,20	11,11	29,81	38,38
<b>30</b>	52,21	8,15	16,62	78,21	40,46	6,74	73,11	20,47
<b>35</b>	65,06	10,47	23,85	110,87	55,09	23,30	85,62	29,75
<b>40</b>	43,74	2,00	53,64	178,39	12,28	9,44	21,28	86,50
<b>45</b>	166,11	7,90	36,26	211,74	15,09	1,00	12,46	26,20
<b>50</b>	50,61	17,79	44,70	125,41	16,12	3,80	2,23	89,91

Continuação – Apêndice F

<b>ESTERÓIS</b>						
<b>Prof. (cm)</b>	<b>COP</b>	<b>COL</b>	<b>COLTAN</b>	<b>ERG</b>	<b>ESTIG</b>	<b>B-SITO</b>
<b>5</b>	129,89	90,13	123,70	224,82	227,09	193,57
<b>10</b>	111,75	148,66	110,83	164,38	343,73	413,82
<b>15</b>	97,34	13,34	26,07	33,81	142,83	108,21
<b>20</b>	85,45	14,46	9,58	79,07	6,51	88,80
<b>25</b>	68,11	10,44	34,85	51,16	214,34	77,81
<b>30</b>	73,30	9,83	10,20	7,92	95,99	37,51
<b>35</b>	56,70	14,89	15,53	7,39	92,09	49,25
<b>40</b>	35,45	7,84	0,00	7,98	50,25	13,88
<b>45</b>	40,88	16,95	4,13	19,72	33,35	118,14
<b>50</b>	43,27	16,91	27,49	43,11	192,27	58,80

Apêndice G – Concentrações (ng/g) esteróis e hormônios estrógenos no testemunho2 - TJ2

<b>Prof. (cm)</b>	<b>HORMÔNIOS ESTRÓGENOS</b>							
	<b>DES</b>	<b>DIE</b>	<b>MES</b>	<b>EE2</b>	<b>17aE2</b>	<b>17bE2</b>	<b>E1</b>	<b>E3</b>
<b>10</b>	33,10	72,18	35,91	376,58	100,92	15,08	254,14	273,25
<b>15</b>	62,33	13,08	11,76	75,45	4,79	9,76	57,59	109,22
<b>20</b>	141,01	9,76	257,06	43,58	216,85	21,49	29,19	58,98
<b>25</b>	9,09	4,93	15,05	58,21	7,74	2,79	103,17	54,77
<b>30</b>	9,06	2,28	267,69	272,20	26,41	3,16	17,66	61,19
<b>35</b>	60,23	5,76	27,35	167,37	36,17	11,23	12,96	175,57
<b>40</b>	90,95	5,61	40,08	109,26	70,53	65,70	12,15	229,91
<b>45</b>	37,10	7,38	230,26	149,66	98,79	24,15	97,01	38,17
<b>50</b>	89,50	4,95	37,94	118,47	52,27	21,71	20,62	152,86
<b>55</b>	19,33	4,99	44,85	95,14	11,81	1,95	4,14	18,79

<b>ESTERÓIS</b>						
	<b>COP</b>	<b>COL</b>	<b>COLTAN</b>	<b>ERG</b>	<b>ESTIG</b>	<b>B-SITO</b>
<b>10</b>	92,19	580,19	195,21	86,60	734,89	292,06
<b>15</b>	115,35	289,68	45,48	385,75	749,66	628,66
<b>20</b>	3,70	95,21	17,82	36,79	159,47	53,09
<b>25</b>	36,61	318,98	27,57	11,11	347,81	106,76
<b>30</b>	24,99	118,87	31,55	20,53	334,94	90,42
<b>35</b>	63,91	21,17	3,98	51,00	129,22	39,37
<b>40</b>	47,50	13,63	116,46	10,23	30,73	42,92
<b>45</b>	31,95	7,82	2,55	5,09	53,62	13,94
<b>50</b>	89,46	2,04	ND	28,27	20,34	48,51
<b>55</b>	1,82	3,20	0,87	2,25	77,61	1,27

**Apêndice H** - Parâmetros físico-químicos do teste de ISA

Amostras	Salinidade		pH	
	Início	Final	Início	Final
Controle	35	35	7	7
PJ1	34	31	6	7
PJ2	30	33	7	7
PJ3	30	31	7	7
PJ4	30	31	6	7
PJ5	34	34	6	7
PJ6	32	34	6	7
PJ7	31	34	7	7
PJ8	31	33	7	7
PJ9	30	30	7	7
PJ10	35	35	7	7
PJ11	34	35	6	7
PJ12	35	35	7	7
PJ13	35	35	7	7
PJ14	35	35	7	7

**Apêndice I** -Parâmetros físico-químicos do ensaio *Nitocra* sp - Amostras ambientais

Amostras	Início			Final		
	Salinidade	OD	pH	Salinidade	OD	pH
Controle	17	2,7	7,3	18	6,5	6,73
PJ1	17	4,1	7,2	15	5,1	6,3
PJ2	17	2,7	7,3	17	4,5	6,47
PJ3	17	3	7,43	17	4,7	6,64
PJ4	17	3,4	7,44	18	4,3	7,00
PJ5	15	3,9	7,5	15	3,7	6,73
PJ6	17	3,3	7,4	17	3,8	6,96
PJ7	18	3,1	7,32	17	4,0	6,91
PJ8	17	3,6	7,4	17	4,2	7,03
PJ9	15	2,9	7,3	15	3,1	6,95
PJ10	18	2,1	7,5	18	3,5	7,13
PJ11	17	3,9	7,44	18	3,9	7,00
PJ12	17	3,2	7,6	20	3,0	6,96
PJ13	18	3,7	7,4	20	3,6	7,13
PJ14	18	3,4	7,3	24	3,4	7,06
PJ15	18	2,1	7,5	18	3,6	7,18

## Apêndice J - Parâmetros físico-químicos do ensaio Spiked

Compostos	Início			Final			
	Sal.	pH	OD	Sal.	pH	OD	
<b>Contr. Sed.</b>	17	7,8	4,4	<b>Contr. Sed.</b>	17	7	6,4
<b>Contr. MeOH</b>	17	7,9	4,5	<b>Contr. MeOH</b>	17	7	6,5
<b>Contr. Sed.</b>	17	7,6	5,9	<b>Contr. Sed.</b>	17	7,8	6,8
<b>Contr. MeOH</b>	17	7,7	6,7	<b>Contr. MeOH</b>	17	7,6	6
<b>MES1</b>	17	7,7	4,8	<b>MES1</b>	15	6,8	5,8
<b>MES10</b>	17	7,6	5,9	<b>MES10</b>	15	6	6,9
<b>MES100</b>	17	7,8	5,1	<b>MES100</b>	17	6,3	6,1
<b>DIE 1</b>	17	7,8	5	<b>DIE 1</b>	16	7	5
<b>DIE 10</b>	15	7,1	4,6	<b>DIE 10</b>	17	7	5,7
<b>DIE 100</b>	17	7,8	4,7	<b>DIE 100</b>	17	7	5,7
<b>DES1</b>	17	7,8	5,5	<b>DES1</b>	16	7,5	5,8
<b>DES10</b>	17	7,8	5	<b>DES10</b>	16	7,7	6,6
<b>DES100</b>	17	7,6	6,1	<b>DES100</b>	17	7,6	6,3
<b>EE1</b>	17	7,5	5,6	<b>EE1</b>	15	7,8	7,6
<b>EE2,5</b>	17	7,8	5,5	<b>EE2,5</b>	17	7,8	6,5
<b>EE5</b>	17	7,8	5,2	<b>EE5</b>	17	7,4	6,8
<b>EE10</b>	17	7,7	6,5	<b>EE10</b>	17	7,5	6,7